

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00465

· 论 著 ·

缺血再灌注损伤大鼠肾脏 miRNA 表达谱的筛查与分析

查宜凤¹, 王嘉锋¹, 李和文², 边琪², 赖学莉², 于光^{2*}

1. 第二军医大学长海医院麻醉科, 上海 200433

2. 第二军医大学长海医院肾内科, 上海 200433

[摘要] **目的** 筛查可能与肾脏缺血再灌注损伤病理生理过程相关的 miRNA。**方法** 利用 SD 大鼠构建肾脏缺血再灌注损伤模型, 12 h 后心脏穿刺取血检测血尿素氮与肌酐水平, 并利用 miRNA 芯片检测肾脏 miRNA 表达谱的变化, 最后通过生物信息学检索的手段初步探讨差异表达 miRNA 可能的作用靶点。**结果** 肾脏缺血再灌注 12 h 后血清尿素氮与肌酐水平显著升高, 芯片检测结果显示肾脏有 36 条 miRNA 出现差异表达, 其中差异在 2 倍以上的 miRNA 有 15 条。实时定量 PCR 验证的结果与芯片基本相符, 表达上调的 miRNA 包括 miR-290、miR-894、miR-292-5p、miR-327、miR-374、miR-98、miR-352、miR-132、miR-146b 和 miR-196a, 下调的 miRNA 包括 miR-145、miR-329、miR-375、miR-140 * 和 miR-29a。生物信息学检索显示, 这些 miRNA 可能与炎症反应、细胞死亡与增殖、血管再生和纤维化有关。**结论** 肾脏缺血再灌注损伤时多条 miRNA 表达发生了改变, 其可能通过调控炎症反应、细胞死亡与增殖、血管再生和纤维化影响肾脏损伤的发生与发展, 但具体机制有待进一步研究证实。

[关键词] 微 RNAs; 再灌注损伤; 急性肾损伤; 炎症**[中图分类号]** R 692 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)05-0465-06

miRNA expression profile in rat kidney during renal ischemia/reperfusion injury: screening and analysis

ZHA Yi-feng¹, WANG Jia-feng¹, LI He-wen², BIAN Qi², LAI Xue-li², YU Guang^{2*}

1. Department of Anesthesiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Department of Nephrology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To screen for miRNAs potentially involved in the pathogenesis of renal ischemia/reperfusion injury. **Methods** Renal ischemia reperfusion injury model was established with SD rats. Twelve hours after reperfusion, blood urea nitrogen and serum creatinine were determined and miRNA expression in the kidney was detected using miRNA microarray. Bioinformatics methods were used for a preliminary analysis of potential targets for differentially expressed miRNAs. **Results** Blood urea nitrogen and serum creatinine were both elevated 12 h after reperfusion. miRNA microarray showed 36 aberrantly expressed miRNAs, with 15 miRNAs having an expression level higher than 2 folds. Results of real-time PCR were generally in accordance with the microarray results. The elevated miRNAs included miR-290, miR-894, miR-292-5p, miR-327, miR-374, miR-98, miR-352, miR-132, miR-146b and miR-196a; and the down-regulated miRNAs included miR-145, miR-329, miR-375, miR-140 * and miR-29a. Bioinformatics showed that these miRNAs were related to inflammation, cell death and proliferation, angiogenesis and fibrosis. **Conclusion** Several miRNAs are aberrantly expressed during renal ischemia/reperfusion injury, which may influence renal injury through regulating inflammation, cell death and proliferation, angiogenesis and fibrosis, but the exact mechanism remains to be further investigated.

[Key words] microRNAs; reperfusion injury; acute kidney injury; inflammation

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(5):465-470]

肾脏缺血再灌注损伤 (ischemia reperfusion injury, AKI) 的主要原因, 致死率与致残率均较高^[1-2], 其病因包括休克、脓毒症、肾动脉狭窄、冠状动脉旁路 injury, IRI) 是造成住院患者急性肾损伤 (kidney

[收稿日期] 2013-11-20 **[接受日期]** 2014-01-16**[基金项目]** 国家自然科学基金 (81372038), 上海市卫生局局级课题 (2009115). Supported by National Natural Science Foundation of China (81372038) and Scientific Project from Shanghai Health Bureau (2009115).**[作者简介]** 查宜凤, 住院医师. E-mail: 18217168298@163.com

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-31161417, E-mail: yug88808@126.com

移植术或肾移植术等。尽管肾脏 IRI 的病理生理过程已经得到广泛的研究,但具体机制仍未明确。

microRNA(miRNA)是一类内源性具有调控功能的小片段非编码 RNA,可与靶基因 mRNA 3'端非编码区(untranslated region,UTR)完全或不完全结合在转录后水平调控蛋白合成^[3]。miRNA 对各种生命活动发挥着重要的调控作用,近年来研究显示,肾脏缺血再灌注损伤时 miRNA 也可通过多种机制调控肾脏损伤与修复过程。例如,Lan 等^[4]研究显示,miRNA-494 可通过抑制激活转录因子 3(ATF3)的表达来调控肾脏 IRI 时各种炎性介质或黏附分子的产生,从而影响肾损伤程度;Godwin 等^[5]发现,miR-21 通过调控 PDCD4 和 Bcl-2 影响肾小管上皮细胞的增殖与凋亡;但是,miRNA 对肾脏缺血再灌注损伤的调控作用极其复杂,仍有大量 miRNA 调控网络尚未明确。因此,本研究拟利用 miRNA 芯片检测 IRI 肾脏 miRNA 的表达谱变化情况,同时利用生物信息学检索的方法初步探讨其相关机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物 清洁级 10 周龄 SD 大鼠 12 只,雄性,体质量 180~200 g,购自第二军医大学实验动物中心,生产许可证号:SCXK(沪)2012-0003;使用许可证号:SYXK(沪)2012-2003。大鼠随机分为 2 组,每组 6 只,分别为肾脏 IRI 组和假手术组。

1.2 肾脏 IRI 的构建 大鼠适应性饲养 1 周后参照 Bellini 等^[6]的方法构建肾脏 IRI 模型,具体方法为:采用 10%水合氯醛 280~350 mg/kg 腹腔注射进行麻醉后经腹正中切口分别暴露双侧肾蒂,微血管夹夹闭双侧肾蒂,伤口覆盖纱布,灯烤保暖,45 min 后开放动脉,逐层缝合肌层和皮肤。假手术组小鼠采用同样手法暴露肾蒂并等待 45 min 后缝合伤口。动物建模 12 h 后再次麻醉大鼠,心脏穿刺抽血分离血清检测血尿素与肌酐水平验证造模成功情况,并取出双侧肾脏,断颈法处死。参照 Supavekin 等^[7]的研究,再灌注后 3 h 肾脏无明显变化,12 h 后即开始出现明显凋亡,因此选取 12 h 筛选差异表达的 miRNA。

1.3 肾脏总 RNA 的提取 采用酚氯仿法抽提总 RNA,具体如下。将单侧肾脏置于 1 mL TRIzol 溶

液(Invitrogen,美国)进行匀浆,加入 0.2 mL 氯仿,剧烈摇晃 15 s,3 min 后 $12\ 000\times g\ 4\ ^\circ\text{C}$ 离心 15 min,吸入上清液。加入 0.5 mL 异丙醇,静置 10 min, $12\ 000\times g\ 4\ ^\circ\text{C}$ 离心 10 min,去上清。加入 1 mL 75%乙醇洗涤 RNA 沉淀,振荡器混匀, $7\ 500\times g\ 4\ ^\circ\text{C}$ 离心 5 min,去上清,风干 5 min,用 DEPC 水重悬 RNA 沉淀。分光光度计测浓度与纯度后 $-80\ ^\circ\text{C}$ 冻存。

1.4 miRNA 芯片检测 利用美国联川生物公司提供的 miRNA 芯片进行筛查 IRI 肾脏 miRNA 表达谱,具体方法如下。将同组肾脏的总 RNA 混合后进行质控检测,经质控合格后经过 YM-100(Millipore)微离心过滤柱得到片段小于 300 nt 的小 RNA,Poly(A)聚合酶在分离到的小 RNA 3'端加上 poly(A)尾巴,再将一个寡聚核苷酸标记与这个 poly(A)尾巴连接用于后续的荧光标记。在双样品实验中,用 2 个不同的标记物来标记 2 个 RNA 样品。杂交反应通过微循环泵杂交仪器在 $\mu\text{ParaFlo}^{\text{TM}}$ 微流体芯片上过夜(Atactic Technologies)。杂交使用含有 25%的甲酰胺的 100 μL $6\times\text{SSPE}$ 缓冲液(0.90 mol/L NaCl,60 mmol/L Na_2HPO_4 ,6 mmol/L EDTA,pH 6.8),杂交温度 $34\ ^\circ\text{C}$ 。杂交检测使用 Cy3 和 Cy5 特异性荧光标记、激光扫描仪(GenePix 4000B,Molecular Device)采集杂交图像、Array-Pro(Media Cybernetics)软件对杂交图像进行数字化转换。数据处理和分析首先是扣除背景,计算重复点平均值和标准偏差,然后通过 LOWESS 过滤进行标准化。对于双色标记实验,将计算 2 种检测信号的比值(\log_2)和 t -test 的 P 值。检验水准(α)为 0.01。

1.5 miRNA 实时定量 PCR 法验证 采用实时定量 PCR 法验证 IRI 肾脏 miRNA 的表达谱。首先利用 Qiagen 公司提供的 miScript RT II kit 进行反转录实验(ABI 9700 PCR System,ABI,USA),步骤为 $37\ ^\circ\text{C}$ 60 min, $95\ ^\circ\text{C}$ 5 min,在这一步实验中,miRNA 3'端被加上 poly(A)结构以便展开后续的 PCR 实验;再利用 Qiagen 公司提供的 miScript SYBR Green PCR Kit 和 miScript Primer Assay 进行实时定量 PCR 实验(Rotor-gene 6000 PCR system,Corbett,Australia),步骤为: $95\ ^\circ\text{C}$ 15 min; $94\ ^\circ\text{C}$ 15 s, $55\ ^\circ\text{C}$ 30 s, $70\ ^\circ\text{C}$ 30 s,40 个循环;溶解曲线分析 $60\sim 95\ ^\circ\text{C}$ 。

1.6 生物信息学检索 根据 miRNA 芯片和实时定

量 PCR 验证结果,选择 IRI 肾脏和假手术大鼠肾脏表达差异在 2 倍以上的 miRNA 进行生物信息学检索分析。检索网站分别为 miRanda(<http://www.microrna.com>)、PicTar(http://pictar.mdc-berlin.de/cgi-bin/new_PicTar Vertebrate.cgi)和 TargetScan(<http://www.targetscan.org/>)。为进一步增加靶基因预测的可靠性,我们利用 RGB 通路数据库中的大鼠基因组数据库进行了进一步通路相关性分析。

1.7 统计学处理 应用 SPSS 16.0 统计软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 Student's *t* 检验。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 动物建模情况 所有动物均建模成功,肾脏 IRI

12 h 后大鼠血尿素氮水平为 (28.2 ± 3.5) mmol/L,肌酐水平为 (156.0 ± 12.1) μ mol/L,均高于假手术组大鼠[血尿素氮水平为 (6.8 ± 1.5) mmol/L,肌酐水平为 (28.2 ± 3.5) mmol/L, $P < 0.05$]。

2.2 miRNA 芯片结果 miRNA 芯片检测发现,IRI 肾脏一共有 36 条差异表达的 miRNA,并且表达差异在 2 倍以上的 miRNA 有 15 条,其中表达上调的有 10 条,包括 miR-290、miR-894、miR-292-5p、miR-327、miR-374、miR-98、miR-352、miR-132、miR-146b 和 miR-196a;表达下调的 miRNA 有 5 条,包括 miR-145、miR-329、miR-375、miR-140 * 和 miR-29a (图 1)。

2.3 miRNA 实时定量 PCR 验证结果 miRNA 实时定量 PCR 结果与芯片结果具有相同的趋势,具体数据如图 2 所示。

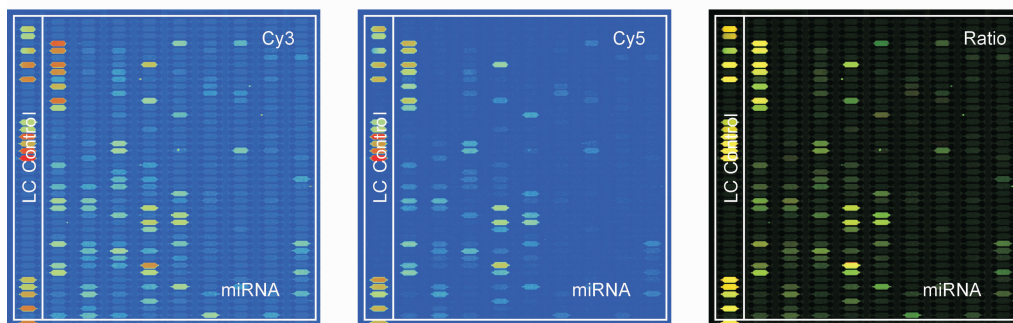


图 1 肾脏缺血再灌注损伤和假手术大鼠肾脏 miRNA 表达的芯片检测结果

Fig 1 Microarray analysis of renal miRNA expression in rats with renal ischemia/reperfusion injury and sham surgery

Cy3: Renal ischemia/reperfusion injury group; Cy5: Sham group

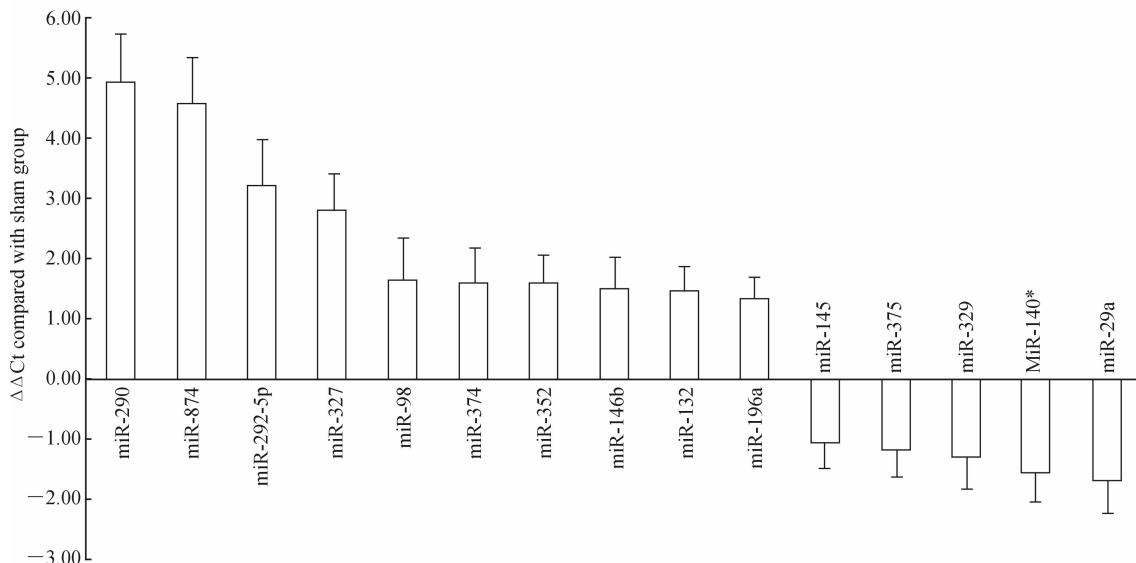


图 2 肾脏缺血再灌注损伤大鼠肾脏 miRNA 表达的实时定量 PCR 检测结果

Fig 2 Quantitative real-time PCR results of renal miRNA expression in rats with renal ischemia/reperfusion injury

$n = 6, \bar{x} \pm s$

2.4 生物信息学分析 遵循物种保守性,筛选可能与肾脏 IRI 相关的靶基因,结果见表 1。由表 1 可见,肾脏 IRI 相关的 miRNA 的靶基因可分为炎症反应、细胞死亡与增殖、血管再生和纤维化等有关。其中炎症反应相关的通路包括 mTOR、MAPK 和 NF-κB 等,而转化生长因子(transforming growth factor, TGF)和胰岛素样生长因子(insulin-like growth

factor, IGF)可能是参与缺氧诱导的机体反应中较为关键的两个因素。我们进一步对 MAPK 通路进行分析,结果显示,miR-290、miR-874、miR-292-5p、miR-29a、miR-98、miR-132 和 miR-145 等 miRNA 均可能参与了 JNK/MAPK 或 p38/MAPK 信号通路的调控(图 3)。

表 1 肾脏 IRI 相关 miRNA 的靶基因预测

Tab 1 Potential target genes of renal ischemia/reperfusion injury (IRI)-related miRNAs

miRNA	Predicted target gene	Function
miR-290	<i>Beclin-1</i>	Autophagy
miR-874	Mitogen-activated protein kinase kinase 4(MKK4)	Mitogen-activated protein kinase(MAPK)
miR-292-5p	<i>Beclin-1</i>	Autophagy
miR-327	Programmed death-ligand 1(PD-L1)	Apoptosis
miR-98	Transforming growth factor-β(TGF-β) receptor 1	Fibrosis
miR-374	Interleukin-10(IL-10)	Inflammation
miR-352	<i>Integrin</i> β8	Angiogenesis
miR-146b	Interleukin-1 receptor-associated kinase1 (IRAK1)	Nuclear factor kappa B(NF-κB)
miR-132	MAPK1	MAPK
miR-196a	Insulin-like growth factor-1(IGF-1)	Proliferation
miR-145	Angiopoietin-2	Angiogenesis
miR-375	Cell adhesion molecule 1(CADM1)	Leukocyte adhesion
miR-329	Integrin β3	Platelet adhesion
miR-140 *	TGF-β3	Fibrosis
miR-29a	<i>B7-H3</i>	Inflammation

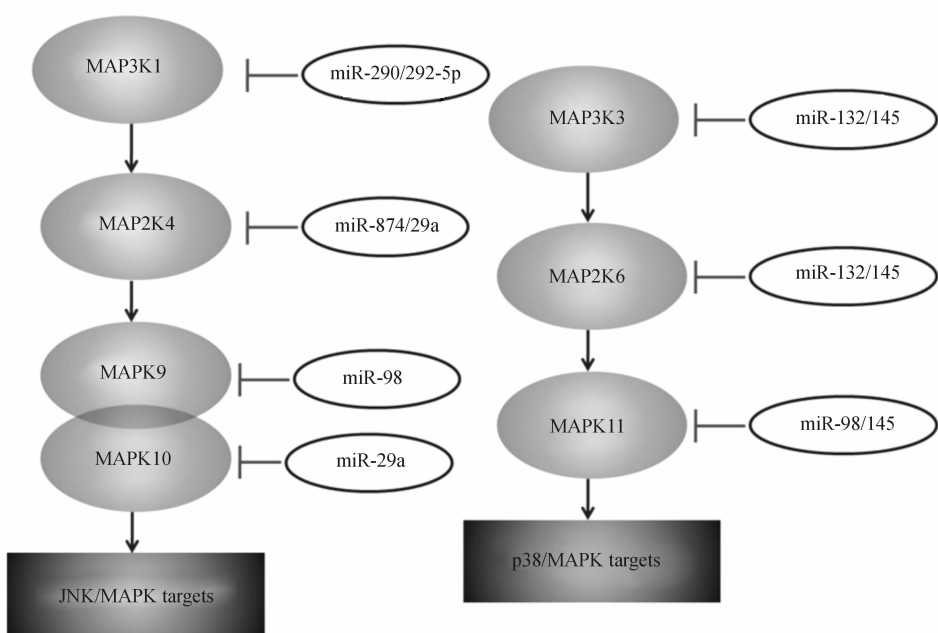


图 3 肾脏缺血再灌注损伤相关 miRNA 与 MAPK 通路的潜在相关性

Fig 3 Potential correlation of MAPK pathways and miRNAs related to renal ischemia/reperfusion injury

MAPK: Mitogen-activated protein kinase; JNK: C-jun N-terminal kinase

3 讨论

AKI 是临床危重病患者最常见的合并症之一,也是导致其死亡的重要原因。研究显示,AKI 在全部住院患者中的发病率为 7.2%,同时血清肌酐水平高于 265 $\mu\text{mol/L}$ 的患者病死率高达 37.8%^[7],而在加强医疗病房(intensive care unit,ICU)中其病死率更高,可达 45.6%^[8]。而肾脏 IRI 则是医院内发生 IRI 的重要原因之一。如脓毒症、休克和肾移植后发生的急性肾损伤。休克和肾移植中供体肾损伤是最经典的肾脏 IRI 模型,而脓毒症时发生的 AKI 往往发生在脓毒性休克后,其原因可能在于持续低灌注或者大剂量血管收缩药物导致的肾脏缺血。因此,防治肾脏 IRI 损伤是防治 AKI 的重要措施。

肾脏 IRI 的发病机制非常复杂,是多细胞多分子共同参与的结果。微血管内皮细胞损伤、炎细胞浸润、上皮细胞凋亡和成纤维细胞增生等构成了肾脏 IRI 的病理学基础,细胞因子、促炎介质和生长因子等介质则组成了其发生发展的分子机制^[9-11]。但是,迄今为止仍无从机制上有效干预肾脏 IRI 的特异性治疗手段,主要是因为这些介质构成的网络难以从单一靶点进行干预,或是干预的同时可能造成新的负面影响。

miRNA 是近年来研究的热点之一,它们通过与靶基因 3' UTR 完全或不完全结合负向调控 mRNA 翻译^[3]。这种调控作用往往缺乏特异性,一条 miRNA 可有多个靶基因,而一个靶基因可被多条 miRNA 调控。在诸多疾病模型中,miRNA 被证实为具有良好前景的干预靶点,肾脏 IRI 也不例外。但是,目前对肾脏 IRI 相关的 miRNA 了解甚少,有限的文献显示,miRNA 参与了肾脏 IRI 的炎症反应、纤维化和细胞死亡与修复^[4-5,12-14]。

本研究显示,IRI 后肾脏有 36 条 miRNA 出现差异性表达,其中表达差异在 2 倍以上的有 15 条。与文献相比,Liu 等^[15]在鼠肾脏 IRI 24 h 后用芯片检测发现,小鼠 IRI 肾脏中有 76 条表达差异大于 2 倍的 miRNA,与本研究相似的结果为 miR-290 表达的上调。Muratsu-Ikeda 等^[16]用芯片检测缺氧复氧培养后人肾小管上皮细胞株(HK-2)miRNA 表达的变化,结果发现 miR-29a 在复氧后 3 h 和 10 h 均显著上调,但是本研究中 miR-29a 表达是下调的。这

些 miRNA 表达谱的差异可能为种族差异与取材时间点的不同所致。但是,鉴于 miRNA 物种保守性的特点,我们推测,miR-29a 和 miR-290 可能是介导肾脏 IRI 的重要 miRNA。

根据生物信息学检索的结果,miR-290 和 miR-29a 均可调控炎症反应,其中 *Beclin-1* 和 *B7-H3* 分别是它们可能的靶基因。*Beclin-1* 是自噬相关分子,在细胞自噬时表达显著上调。Chung 等^[17]研究显示,尿路梗阻大鼠肾小管 *Beclin-1* 表达显著上调,与之对应的是肾小管凋亡与焦亡(pyroptosis)显著增加。Zeng 等^[18]发现马兜铃酸诱导肾小管上皮细胞自噬时 *Beclin-1* 显著上调,siRNA 阻断 *Beclin-1* 后上皮细胞凋亡加重,因此 *Beclin-1* 介导的自噬作用可能可抑制肾小管上皮细胞凋亡从而介导保护作用。肾脏 IRI 时 miR-290 与 miR-292-5p 表达上调,可能抑制 *Beclin-1* 的表达,从而加重了肾小管上皮细胞凋亡。*B7-H3* 是向淋巴细胞表面 CD28 传递刺激信号的 B7 家族成员之一,可负向调控 CD28 介导的免疫反应。在自身免疫性疾病和肿瘤免疫中,其可传递负向信号抑制淋巴细胞杀伤肿瘤的能力;在移植免疫中,*B7-H3* 阻断可加速排异反应的发生^[19]。因此,miR-29a 表达下调可导致 *B7-H3* 上调,可能是肾脏 IRI 时炎症反应的负反馈作用。根据靶基因预测的结果,数条 miRNA 均可能参与了 MAPK 通路的调控。MAPK 通路是丝氨酸/苏氨酸特异性蛋白激酶,其与细胞增殖、分化、存活与凋亡密切相关。多项研究显示 MAPK 通路的激活均可能参与了肾脏缺血再灌注损伤的发病机制,同时该通路也可能是肾脏缺血再灌注损伤治疗的潜在靶点^[20-21]。因此,针对本研究发现的这些 miRNA 进行深入研究,可能为将来利用转录后调控机制防治缺血性肾损害指引了方向。但是,这些仅仅是对于本研究中 miRNA 表达变化的推测,其具体作用机制还有待将来进一步研究。

本研究通过构建大鼠肾脏 IRI 模型,利用 miRNA 芯片检测了 IRI 时肾脏 miRNA 的表达谱,并通过生物信息学检索的手段初步探讨了 miRNA 表达变化可能的作用机制。这些 miRNA 可能是通过调控炎症反应、细胞死亡与增殖、血管再生和纤维化等病理生理过程来影响肾脏 IRI 的发生发展过程,但是具体作用机制仍有待进一步研究。

4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] Safian R D, Textor S C. Renal-artery stenosis[J]. *N Engl J Med*, 2001, 344: 431-442.
- [2] Schrier R W, Wang W. Acute renal failure and sepsis [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351: 159-169.
- [3] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116: 281-297.
- [4] Lan Y F, Chen H H, Lai P F, Cheng C F, Huang T, Lee Y C, et al. MicroRNA-494 reduces ATF3 expression and promotes AKI[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2012, 23: 2012-2023.
- [5] Godwin J G, Ge X, Stephan K, Jurisch A, Tullius S G, Iacomini J. Identification of a microRNA signature of renal ischemia reperfusion injury[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 14339-14344.
- [6] Bellini M H, Coutinho E L, Filgueiras T C, Maciel T T, Schor N. Endostatin expression in the murine model of ischaemia/reperfusion-induced acute renal failure [J]. *Nephrology (Carlton)*, 2007, 12: 459-465.
- [7] Supavekin S, Zhang W, Kucherlapati R, Kaskel F J, Moore L C, Devarajan P. Differential gene expression following early renal ischemia/reperfusion [J]. *Kid Int*, 2003, 63: 1714-1724.
- [8] Nash K, Hafeez A, Hou S. Hospital-acquired renal insufficiency[J]. *Am J Kidney Dis*, 2002, 39: 930-936.
- [9] Ostermann M, Chang R W. Acute kidney injury in the intensive care unit according to RIFLE[J]. *Crit Care Med*, 2007, 35: 1837-1843.
- [10] Daemen M A, de Vries B, Buurman W A. Apoptosis and inflammation in renal reperfusion injury [J]. *Transplantation*, 2002, 73: 1693-1700.
- [11] Molitoris B A, Sutton T A. Endothelial injury and dysfunction: role in the extension phase of acute renal failure[J]. *Kidney Int*, 2004, 66: 496-499.
- [12] Docherty N G, Pérez-Barriocanal F, Balboa N E, López-Novoa J M. Transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1): a potential recovery signal in the post-ischemic kidney[J]. *Ren Fail*, 2002, 24: 391-406.
- [13] Aurora A B, Mahmoud A I, Luo X, Johnson B A, van Rooij E, Matsuzaki S, et al. MicroRNA-214 protects the mouse heart from ischemic injury by controlling Ca^{2+} overload and cell death[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122: 1222-1232.
- [14] Kato M, Zhang J, Wang M, Lanting L, Yuan H, Rossi J J, et al. MicroRNA-192 in diabetic kidney glomeruli and its function in TGF- β -induced collagen expression via inhibition of E-box repressors[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104: 3432-3437.
- [15] Liu F, Lou Y L, Wu J, Ruan Q F, Xie A, Guo F, et al. Upregulation of microRNA-210 regulates renal angiogenesis mediated by activation of VEGF signaling pathway under ischemia/perfusion injury *in vivo* and *in vitro* [J]. *Kidney Blood Press Res*, 2012, 35: 182-191.
- [16] Muratsu-Ikeda S, Nangaku M, Ikeda Y, Tanaka T, Wada T, Inagi R. Downregulation of miR-205 modulates cell susceptibility to oxidative and endoplasmic reticulum stresses in renal tubular cells [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e41462.
- [17] Chung S D, Lai T Y, Chien C T, Yu H J. Activating Nrf-2 signaling depresses unilateral ureteral obstruction-evoked mitochondrial stress-related autophagy, apoptosis and pyroptosis in kidney [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e47299.
- [18] Zeng Y, Yang X, Wang J, Fan J, Kong Q, Yu X. Aristolochic acid I induced autophagy extenuates cell apoptosis via ERK 1/2 pathway in renal tubular epithelial cells[J]. *PLoS One*, 2012, 7: e30312.
- [19] Ueno T, Yeung M Y, McGrath M, Yang S, Zaman N, Snawder B, et al. Intact B7-H3 signaling promotes allograft prolongation through preferential suppression of Th1 effector responses[J]. *Eur J Immunol*, 2012, 42: 2343-2353.
- [20] Chen J, Wang W, Zhang Q, Li F, Lei T, Luo D, et al. Low molecular weight fucoidan against renal ischemia-reperfusion injury via inhibition of the MAPK signaling pathway[J]. *PLoS One*, 2013, 8: e56224.
- [21] Park K M, Fogelgren B, Zuo X, Kim J, Chung D C, Lipschutz J H. Exocyst Sec10 protects epithelial barrier integrity and enhances recovery following oxidative stress, by activation of the MAPK pathway[J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2010, 298: F818- F826.