

试论次要剪接体 snRNA 是中西医基础

研究难题突破口

邱忠鹏¹ 刘亮^{2*}

1 (石河子大学第一附属医院 石河子 832099)

2 (瑞谨生物科技(深圳)有限公司 深圳 518024)

【摘要】背景 关于次要剪接体 snRNA、U12 型内含子基因表达,有许多实验异常发现至今机制不明,困扰学术界多年没有突破。**目的** 系统检索研究次要剪接体 snRNA 实验论文,提出并验证假说:在体内环境中,神经元、心肌细胞等的次要剪接体 snRNA 并非自身细胞核转录产生,而是由肾小管上皮细胞以外泌体形式分泌,经体液循环跨细胞供给。为次要剪接体 snRNA 实验异常发现、重大疾病共病机制、衰老及中医肾气科学内涵提供统一解释。**方法** 检索 1999–2025 年体内/体外次要剪接体 snRNA 定位、母体补偿、肾脏特异性及衰老相关研究 32 项,建立“异常发现”证据链。预实验:以 HK-2 人肾小管上皮细胞为模型,超速离心分离外泌体, qPCR 双内参法定量 U11、U12、U4atac、U6atac snRNA 丰度。**结果** 文献整合显示体内环境中细胞的次要剪接体 snRNA 可能来自肾小管上皮细胞外泌体而非自身核内转录产生;预实验:HK-2 外泌体中可检出 U11、U12、U4atac,其中 U12 相对丰度最高, U6atac 因半衰期极短几乎未检出。**局限** 尚未完成体内示踪实验证明肾脏来源次要剪接体 snRNA 外泌体的靶器官摄取、肾小管特异性 snRNA 敲除动物模型验证远端组织表型、次要剪接体外泌体 snRNA 功能性剪接重建实验。**结论** 综合次要剪接体 snRNA 实验全球意外发现与初步实验证据,说明“肾小管上皮细胞外泌体—次要剪接体 snRNA”轴可能是维持全身 U12 型内含子基因稳态的关键跨细胞供给通路。

【关键词】: 次要剪接体 snRNA; U12 型内含子; 肾小管上皮细胞; 外泌体; 肾气
分类号: R346

Exploring the minor spliceosome snRNA as a Breakthrough Point for

Basic Research Integrating Chinese and Western Medicine

Qiu Zhongpeng¹, Liu Liang^{2*}

1 (First Affiliated Hospital of Shihezi University, Shihezi, 832099, China)

2 (Ruijin Biotechnology (Shenzhen) Co., Ltd., Shenzhen, 518024, China)

[Abstract]Background For many years, numerous experimental anomalies related to the expression of minor spliceosome snRNAs and U12-type introns have remained unexplained, with their underlying mechanisms elusive and a lack of breakthroughs in the field.**Objective** This study systematically reviews experimental literature on minor spliceosome snRNAs and proposes and tests a hypothesis: in vivo, minor spliceosome snRNAs in neurons, cardiomyocytes, and other cells are not transcribed within their own nuclei but are instead secreted by renal tubular epithelial cells via exosomes and distributed via bodily fluid circulation to supply other cells. This

framework aims to provide a unified explanation for experimental anomalies in minor spliceosome snRNA research, mechanisms of comorbidity in major diseases, aging, and the scientific basis of "kidney qi" in traditional Chinese medicine.**Methods** A total of 32 studies (1999–2025) on the localization, maternal compensation, kidney specificity, and aging-related aspects of minor spliceosome snRNAs in vivo/in vitro were reviewed to construct an "anomaly evidence chain." A preliminary experiment was conducted using HK-2 human renal tubular epithelial cells as a model: exosomes were isolated via ultracentrifugation, and the abundance of U11, U12, U4atac, and U6atac snRNAs was quantified by qPCR with dual internal controls.**Results** Literature integration suggests that minor spliceosome snRNAs in cells in vivo may originate from renal tubular epithelial cell exosomes rather than from de novo nuclear transcription. Preliminary experiments: U11, U12, and U4atac were detected in HK-2 exosomes, with U12 showing the highest relative abundance; U6atac was nearly undetectable likely due to its extremely short half-life.**Limitations** The following steps have not yet been completed: in vivo tracing experiments to demonstrate uptake of kidney-derived minor spliceosome snRNA exosomes by target organs; validation of distal tissue phenotypes using renal tubular-specific snRNA knockout animal models; and functional splicing reconstitution experiments using exosomal minor spliceosome snRNAs.**Conclusion** Synthesizing global unexpected findings and preliminary experimental evidence on minor spliceosome snRNAs, this study suggests that the "renal tubular epithelial cell exosome–minor spliceosome snRNA" axis may be a key transcellular supply pathway for maintaining systemic homeostasis of U12-type intron-containing genes.

[Keywords]:minor spliceosome snRNA; U12-type intron; renal tubular epithelial cell; exosome; Kidney Qi

1 引言：被忽视的剪接之谜与重大疾病的共同靶点

生命科学的核心基石是中心法则“DNA 转录—pre-mRNA 剪接—mRNA 翻译”。在高等真核生物 pre-mRNA 的剪接过程中，主要剪接体负责识别并催化切除占绝大多数（约 99.6%）的 U2 型内含子，而次要剪接体则特异性识别并催化切除较为稀少（约 0.4%）的 U12 型内含子。前者依赖 U1、U2、U4、U5、U6 snRNA 执行功能，后者则依赖 U11、U12、U4atac、U5、U6atac snRNA。

尽管 U12 型内含子仅占人类基因组内含子总数的约 0.4%，但其宿主基因（minor intron-containing genes,MIGs）显著富集于电压门控离子通道、DNA 修复、细胞周期调控及神经发育等关键通路。对重大疾病（特别是神经系统疾病）关键靶基因的分析揭示了一个惊人现象：这些关键基因中大多都是含有 U12 型内含子、表达依赖次要剪接体 U12 型剪接的基因，详见表 1。这些基因的表达异常与众多人类重大疾病的发生发展密切相关。

表 1：重大疾病的细胞、关键靶基因^{[1][2]}

疾病	细胞	MIG
2 型糖尿病	胰岛β细胞	CACNA1D, CACNA1C, PTEN, PDPK1, CRTC2, IP6K2, SLC30A5, PLCB1, PLCB2
高血压	血管平滑肌细胞、血管内皮细胞	CACNA1C, CACNA1D, CACNA1H, MYH11, MAPK1, MAPK14, PTEN, DOCK5
心力衰竭	心肌细胞	SUMO1, CACNA1C, CACNA1D, VPS35, CACNA1A/B/E/G/H/I, SCN5A, SCN10A, CAPN1, CAPN2, MAPK1, RAF1, OBSCN, SPEG, MYH10
肿瘤	增殖细胞	PARP1, MSH3, XPG, ERCC5(DNA 损伤修复关键基因); SMYD2, HINT1, MDM4, MTBP, USP2, USP10, USP21 (p53 抑制) ; PTEN (继 TP53 之后最重要的肿瘤抑制基因)、BRAF, RAF1, STK11; PRMT1 (关键调

		控 DNA 修复过程) ; <i>E2F1/2/3/4/5/6</i> (细胞周期)
年龄相关性视网膜黄斑变性	视网膜色素上皮细胞	<i>DRAM2, MYO7A, PCARE, CACNA1F, CACNA2D4, PDE6D</i>
耳聋/年龄相关性听力损失	内耳细胞	<i>CACNA1D, MYO7A, MYH14, DIAPH1, DIAPH2, DIAPH3, ACTL6B, IFT74</i>
骨质疏松症	骨髓间充质干细胞、成骨细胞、破骨细胞	<i>WLS, TGFB3, MAPK14, PLCB1, PTEN, CYBA, CLCN7, MATN3, MATN1, DIAPH1, DOCK5</i>
骨髓增生异常综合征	骨髓造血细胞	<i>LZTR1, PLCB1, EED</i>
神经退行性疾病	阿尔茨海默病	海马神经元等 <i>CDK5, PLCB1, PRMT1, VPS35, VAC14, FIG4, ATG9A, ATP6V1A, IL1RAP, STXB5L, PHB2, SLC25A14, HTT, CRTCL, CACNA1C, CACNA1A, NCBP1, NCBP2, CAPN1/2, SUMO1, MAPK14, MAPK8+pre-mRNA 剪接 (MIG 调控) 异常产生的 APP-751/ APP-695 比例升高促进毒性 Aβ寡聚体和淀粉样斑块沉积、4R-Tau 更易过度磷酸化并聚集成神经原纤维缠结</i>
	帕金森病	多巴胺能神经元 <i>PRKN, CDK5, VPS35, FIG4, CAPN1, SUMO1, ATP6V1A, TMEM41B, ATG3ATG9A, MAPK14, TXNRD2, MAPK9, PLCB1, RAB6B, SLC96A+pre-mRNA 剪接 (MIG 调控) 异常产生的 SNCA140 亚型易聚集干扰突触囊泡运输</i>
	额颞叶痴呆	皮层锥体神经元等 <i>TARDBP</i>
	肌萎缩侧索硬化	运动神经元 <i>TARDBP, PRMT1, MAPK14, TMEM41B, GARS1</i>
神经功能性疾病	抑郁症	杏仁核神经元 <i>CACNA1C, CACNA1D, CACNA1H, CACNA1I, PLCB1, PDE4D, CRTCL, MAPK14, RAPGEF4, DISC1, SETD1A, ARL2</i>
	自闭症	皮层神经元 <i>CACNA1D, SCN2A, CACNA1H, CACNA2D3, TRAPPC9, SETD1B</i>
	癫痫	中枢/外周神经元轴突 <i>SCN1A, SCN2A, SCN3A, SCN8A, CACNA1E</i>
	疼痛	周围神经系统感觉神经元 <i>SCN10A</i>
	焦虑	杏仁核神经元 <i>CACNA1C, PDE4D, MAPK1, MAPK8, CRTCL, RASGRP1, IL1RAP</i>
	精神分裂症	前额叶皮层/海马神经元 <i>CACNA1C, CACNA1I, SETD1A, ZDHHC8, DISC1</i>
慢性阻塞性肺疾病	肺上皮细胞	<i>CYBA, MAPK14, AOX1, MAPK3, MAPK8, MAPK1, TGFB3, TXNRD2, IL1RAP, PLCB1, ATG9A</i>
代谢功能障碍相关脂肪性肝病	肝细胞	<i>INSIG1, INSIG2</i>
男性不育症	精子	<i>PLCZ1, ADAM2, CATSPER1, CATSPER2, CFAP46, CFAP69, CFAP74</i>
女性不孕症	卵巢	<i>HFM1, SPO11, PTEN, ERCC5, XRCC5</i>
头发	毛囊干细胞	<i>WLS, TGFB3, RAF1, PDPK1, PLCB1</i>
牙齿疾病	成牙细胞	<i>WLS, TGFB3, MAPK1, MAPK14, PLCB1, CACNA1C, CACNA1D, CACNA1H, PTEN, EED, CHD4</i>
系统性红斑狼疮、类风湿关节炎、干燥综合征等自身免疫疾病	免疫细胞	抗次要剪接体 snRNA 抗体、 抗 Rab6A/Rab6B 等抗 MIGs 编码蛋白抗体 <i>IL1RAP, RFX5, RASGRP1, DOCK2, MAGT1, OCRL, GBP1/2/3/4/5/6/7, SETD1A, CHD4, EED, PPP2R2A/B/C/D, PLCB2, RAPGEF1, RAPGEF3, RAPGEF4</i>
参考: MIGs 数据库 https://midb.pnb.uconn.edu		

研究上述 U12 型内含子基因，一个困扰学术界和产业界多年的难题随之浮现：上述重大疾病的靶点基因功能已被深入研究，但患者体内这些 U12 型内含子基因表达下调和 pre-mRNA 剪接错误的“最初驱动因素”或“上游共同通路”却始终迷雾重重，这直接导致了针对这些疾病的药物研发成功率低、疗效不显著。例如，针对阿尔茨海默病 Aβ 或 Tau 的靶向治疗屡屡受挫、无法逆转患者认知、阻断疾病进程；针对肿瘤的免疫治疗药物在预防肿瘤复发方面仍面临显著挑战；针对肌萎缩侧索硬化症（ALS）中 TDP-43 蛋白（TDP-43 蛋白由含 U12 型内含子的 *TARDBP* 基因编码）病理聚集的靶向干预策略仍无法有效阻断疾病进展，这些临床困境强烈提示：可能存在更为上游、具有全局性剪接调控作用的机制尚未被揭示。强烈提示存在更上游的、影响全局基因表达稳定性的驱动因素未被认识。

2 颠覆性实验证据与核心科学假说的提出

当前生物医学研究高度依赖 Hela、HEK293 等永生化细胞系模型，这些细胞系中次要剪接体 snRNA 可自身合成并正常行使功能。这种研究范式的“思维定势”，导致学界普遍默认“所有体细胞内的次要剪接体 snRNA 均源于自身核内转录”，从而忽视了对体内真实环境下其来源和调控机制进行批判性检验的必要性，使得大量在体内环境中发现的、与细胞系模型迥异的次要剪接体 snRNA 相关现象被归为“意外发现”而机制不明，从而阻碍了对疾病本质的洞察。

近年来，多项高质量研究报道了无法用“自身合成”范式解释的异常现象（表 2、表 3），强烈暗示体内次要剪接体 snRNA 存在一种非自主性的、跨细胞的供给模式：

表 2: 机制至今不明的次要剪接体 snRNA、U12 型内含子基因表达的实验意外发现

国家及科研机构	意外发现	参考文献
美国: 耶鲁大学细胞生物学系	母体将其自身的野生型 U6atac snRNA 供应 U6atac 突变体卵细胞, U6atac 突变体胚胎得以利用这些储备的 snRNA 完成早期发育	[3]
法国: 里昂神经科学研究中心, 法国国家科学研究中心	作者惊讶发现: ①通常内含子滞留(IR)会触发转录本降解, 但主成分分析却未显示胎儿与对照在整体基因表达水平上存在差异。在 U4atac 突变纯合子的两种关键细胞类型 (成纤维细胞和羊膜细胞) 中, 突变并未导致 U12 基因表达水平的全局性变化 ②U4atac 突变会导致 U12 型内含子滞留, 且伴随 U2 型内含子滞留→该现象的唯一可能性解释: 胎儿期细胞内的正确序列 snRNA U4atac 来自胞外无 U4atac 纯合子突变的健康母体供应	[4]
美国: 得克萨斯大学西南医学中心	CDAGS 患者的双等位基因 RNU12 罕见变异, 无法产生有功能的 U12 snRNA; U12 snRNA 双等位基因突变患者可以完成胎儿发育、出生存活一定时间→该现象的唯一可能性解释: 胎儿期患者细胞内的功能性的、正确序列的 snRNA U12 来自胞外无 U12 纯合子突变的健康母体供应	[5]
美国: 耶鲁大学霍华德·休斯医学研究所	次要剪接体 snRNA 水平在肾脏的变化异常: 肾脏是唯一一个次要剪接体 snRNA 水平和 U12 型内含子基因表达不受 SMN 敲低影响的器官	[6]
巴西: 里约热内卢联邦大学	囊性纤维化 (CF) 患者的肾组织内高表达一种肾脏特异性的、U11/U12 snRNA 依赖性的、功能性的截短剪接变体—TNR-CFTR, 其它组织细胞内需要 TNR-CFTR 但尚未被发现或表达水平极低, 机制至今不明。	[7] [8]
日本: 东京大学尖端科学技术研究中心	血清中的次要剪接体 snRNA 水平与肾脏损伤有显著相关性	[9]
德国: 卡尔斯鲁厄研究中心有限公司, 毒理学与遗传学研究所	次要剪接反应只发生在细胞核, 但是发现次要剪接体 snRNA 在体内环境中的细胞质和细胞间质定位, 且排除细胞核泄露, 出乎意料	[10]
芬兰: 赫尔辛基大学生物技术研究所	次要剪接体 snRNA 在脑神经元中有细胞质和细胞核定位, 但在 HeLa 细胞之中只有核定位	[11]
美国: 耶鲁大学霍华德·休斯医学研究所	次要剪接体 snRNA 细胞质定位意外发现的争议悬而未决, 机制至今不明	[12]
英国: 利兹大学生物科学学院	U12 型内含子基因表达随着衰老缺失: 成年豚鼠心肌的 L 型钙通道 Cav1. 2 缺失面积, 随着衰老逐渐增加	[13]
德国: 国家心血管研究中心	比较了 100 个健康心脏与 128 个扩张型心肌病 (DCM) 心脏中的表达情况, U4A TAC 显著下调	[14]
综合	体外单独培养的内皮细胞、神经元、骨髓间充质干细胞, 出现缺失 U12 型内含子基因的表达、U12/U2 型内含子滞留。	[15] [16] [17]
综合	血液、组织液中发现次要剪接体 snRNA	[18] [19] [20]

表 3: 总结表 2——体内环境细胞与肿瘤细胞、病毒改造永生生化细胞的次要剪接体 snRNA 有关对比

对 比	体内环境细胞	Hela 细胞、HEK293 细胞
次要剪接体 snRNA 染色位置发现	细胞质、细胞间质、细胞核、血清	只有细胞核定位
次要剪接体 snRNA 基因突变/敲除后	突变纯合子发现有胞外的母体野生型供给	无
体外培养是否有 U12 型内含子基因表达缺失和次要剪接体组分减少	有	无
组织随衰老逐渐缺失 U12 型内含子基因表达和次要剪接体 snRNA	有	无
神经元中的 U2 型剪接和 U12 剪接的竞争性识别冲突	有脑神经网络, 有冲突, U2-U12 型剪接分时间段交替进行避免冲突	无神经网络, 无冲突
肾脏组织的次要剪接体 snRNA 表达特异性	有	无

细胞定位异常: 在体内环境的神经元等细胞中, 次要剪接体 snRNA 被发现存在于细胞质乃至细胞间质中, 而非仅限于剪接发生的细胞核内, 这与永生生化细胞中观察到的严格核定位形成鲜明对比。这提示次要剪接体 snRNA 可能存在胞内储存或胞外来源的运输过程。

母体补偿现象: 在 U6atac 或 U12 snRNA 纯合突变的人类患儿或果蝇模型中, 突变胚胎能够完成早期发育并存活一定时间, 其体内功能正常的次要剪接体 snRNA 只可能来源于健康的母体。这直接证明了次要剪接体 snRNA 可进行跨细胞、跨代际的功能性补给。

肾脏特异性: 研究发现, 肾脏是唯一一个其次要剪接体 snRNA 水平和 U12 型基因表达对运动神经元存活蛋白 (SMN) 敲低不敏感的器官。此外, 血清中次要剪接体 snRNA 水平与肾脏损伤显著相关, 且肾脏特异性高表达某些 U12 型内含子依赖的剪接变体。这些线索将次要剪接体 snRNA 的来源稳态维持焦点指向了肾脏。

体外培养衰减: 原代培养的神经元、内皮细胞、间充质干细胞等, 均出现 U12 型内含子基因表达下降或剪接缺陷, 暗示脱离体内环境后, 次要剪接体 snRNA 的供给可能中断或不足。

综合上述“异常”证据, 我们提出一个大胆而严谨的科学假说: 在生命体内稳态下, 维持细胞 (特别是高电兴奋性细胞) 正常功能所必需的次要剪接体 snRNA, 其来源不是自身细胞核而是肾脏 (尤其是代谢活跃的肾小管上皮细胞) 合成后, 通过外泌体等囊泡形式分泌至循环系统, 再经由血液-组织液递送, 被靶细胞摄取后进入细胞核参与 U12 型 pre-mRNA 的剪接。其运输路径可概括为: 肾小管上皮细胞合成并包装次要剪接体 snRNA 入外泌体 → 释放入血 → 扩散至组织液 → 靶细胞胞吞 → 胞内运输至细胞核 → 次要剪接体 snRNA 参与 U12 型剪接。

3 假说若成立: 对中西医基础研究的革命性意义

若此假说被最终证实, 将对生命科学和医学研究产生范式级别的冲击, 并为中西医结合提供坚实的理论基础。

3.1 为众多重大疾病提供共通的上游机制解释

多种看似不相关的重大慢性病, 可能共享一个上游的“次要剪接体 snRNA 供

ChinaXiv:202512.00258v2

给失衡”病理环节。随着衰老、疾病或环境因素导致肾单位及肾小管上皮细胞减少、肾脏功能（特别是肾小管上皮细胞的外泌体分泌功能）减退，或次要剪接体 snRNA 体液循环通路受阻，不同组织靶细胞获取的次要剪接体 snRNA 总量减少。由于 U12 型内含子基因多编码关键功能蛋白，其剪接效率下降和表达量降低，将率先影响功能最为精细、对蛋白稳态最敏感的细胞（如神经元、心肌细胞），从而表现为不同组织特异性的疾病表型（如认知障碍、心律失常、代谢失调等）。这为开发针对“次要剪接体 snRNA 供给系统”的广谱性、早期干预策略提供了理论可能。

3.2 为中医“肾”本质和“肾气”理论提供现代生物学诠释
中医理论核心“肾为先天之本”，主骨生髓、通脑开窍于耳、主生殖、其华在发，几乎完美契合了假说中“肾脏来源的次要剪接体 snRNA”所调控的 U12 型基因功能谱（表 4）：

国家重点研发计划课题		细胞及 U12 型内含子基因
【肾主骨生髓】肾生骨髓。——《素问·阴阳应象大论》 肾主身之骨髓。——《素问·痿论》 肾藏骨髓之气也。——《素问·平人气象论》		骨髓间充质干细胞 <i>CACNA1C</i> 、 <i>WLS</i> 等 ^{[21][22][23][24][25]}
【肾主生殖】女子二七而天癸至，任脉通，太冲脉盛，月事以时下，故有子。丈夫二八肾气盛，天癸至，精气溢泻，阴阳和，故能有子。——《素问·上古天真论》		生殖细胞 <i>ADAM2</i> 等 ^{[26][27][28]}
【肾主耳、肾气通于耳】肾主耳。——《素问·阴阳应象大论》 肾气通于耳，肾和则耳能闻五音矣。——《灵枢·脉度篇》		内耳细胞 <i>CACNA1D</i> 、 <i>MYO7A</i> ^{[29][30]}
【肾华在发、肾主齿】肾者主蛰，其华在发。——《素问·六节藏象论》 肾气盛，齿更发长。三八肾气平均，故真牙生而长极。五八肾气衰，发堕齿槁。——《素问·上古天真论》		成纤维细胞 <i>CACNL1A1</i> ^{[31][32][33]}
针灸得气理论的物质基础		神经肌肉接头 <i>CACNL1A4</i> ^[34]

- 肾主骨生髓：U12 型内含子基因 *CACNA1C* 编码的 Cav1.2 α 亚基是调控骨髓间充质干细胞成骨分化的关键因子，其介导的 Ca^{2+} 内流可激活 Ca^{2+} /CaMKI 等信号通路，并通过调节 BMP/Smad、Wnt/ β -catenin 及 MAPKs 通路影响成骨分化过程。在成熟成骨细胞中条件性敲除 Wls 会导致显著骨量下降、成骨/矿化相关基因表达下降，提示 WLS/Wls 对骨稳态关键。
- 肾气通于耳：内耳听觉功能密切依赖 U12 型基因 *CACNA1D* (Cav1.3) 通道，CaV1.3 功能丧失可导致人类先天性耳聋；动物模型中缺失或显著减少 MYO7A 蛋白会导致毛细胞结构功能缺陷和听力下降。
- 肾主生殖：卵巢、子宫内膜功能及精子发生相关基因（如 ADAM2）富含 U12 型内含子。雌性：U12 型内含子基因 *CACNA1C*（人电压门控钙通道 α 1 亚基）、*CACNLB3*（人电压门控钙通道 β 3 亚基），在子宫内膜、卵巢等处的表达量较高。雄性：U12 型内含子基因 *ADAM2*、*Actr10* 等，表达于睾丸，产生精子膜融合蛋白等生殖功能关键蛋白。
- 肾主齿华发：头发毛囊细胞来自于成纤维细胞生长分化，U12 型内含子基

因 CACNL1A1 电压门控 L 型钙通道 α 亚基调控成纤维细胞的分化; L 型钙离子通道 Cav1.2 对根尖牙乳头干细胞成牙向分化有重要作用。

至此, 中医整体观下的“肾气-经络”系统功能, 可在“肾脏 (器官) →肾小管上皮细胞 (执行单元) →外泌体次要剪接体 snRNA (物质载体) →U12 型基因表达 (功能实现)”这一链条上得到精准、贯通、全面的现代科学阐释。

中医“肾气”的盛衰, 在分子层面可能直接对应着肾脏分泌含次要剪接体 snRNA 外泌体的能力以及体循环中次要剪接体 snRNA 的丰度; “肾气”通过经络输布周身, 滋养脏腑, 则可对应于次要剪接体 snRNA 外泌体通过体液循环系统靶向调节各组织细胞 U12 型内含子基因表达的功能。这将使中医“肾气”的抽象功能概念获得具象的物质基础 (次要剪接体 snRNA 外泌体) 和分子通路 (U12 型基因剪接与表达), 实现中西医在基础理论层面的深度对话与融合。

3.3 为理解衰老提供新视角

衰老伴随肾单位不可逆减少。假说预测, 肾脏次要剪接体 snRNA 外泌体分泌随增龄而下降, 导致全身细胞 (尤其神经元) U12 型基因表达进行性减退, 这可能是器官功能衰退和衰老相关疾病发生的重要驱动因素^[35]。近期年轻血浆外泌体改善老年鼠心脏功能、延长寿命的研究^[36], 其关键有效成分可能即包含次要剪接体 snRNA 的外泌体。

4 预实验验证: HK-2 细胞来源外泌体中次要剪接体 snRNA 的表达量鉴定

实验材料: HK-2 细胞

实验步骤: 含 10%无外泌体血清培养基培养 HK-2 细胞 24hr 后, 超高速离心法离心分离收集 HK-2 细胞来源外泌体, 柱式分离外泌体来源总 RNA, 荧光定量 PCR 检测外泌体中 snRNA 的相对表达情况, 选用内源性和外源性的内参同时进行定量分析, 并用阴性对照实验证实除 U6ATAC 外均为特异性扩增。

实验结果:

	内源性内参	外源性内参
U11	0.00289	0.00119
U12	0.2204	0.3115
U4ATAC	0.00926	0.00879
U6ATAC	0.0000000152	0.0000000336
备注: U6atac 体外不稳定 (半衰期<2 小时) ^[37]		

5 讨论: 次要剪接体 snRNA 胞外来源的演化生物学基础

“肾源次要剪接体 snRNA 供给轴”模型看似增加了生命系统的复杂性, 但其具有深刻的演化合理性——该机制符合“生命安全性优先”的演化策略。

5.1 广谱抗病毒防御的安全性: 许多 MIGs 被证实为病毒复制必需基因。MIGs 编码蛋白 (MIG-Ps) 在多种正义 RNA 病毒的蛋白质-蛋白质相互作用组及宿主因子中显著富集, 提示其构成一个稳定且进化上保守的核心骨架, 病毒可能利用该骨架侵入宿主细胞并完成复制^[38]。因此, 通过抑制次要剪接体功能来“关闭”MIG-Ps 表达, 可能成为一种广谱的抗病毒策略, 而沉默次要剪接体 snRNA 基因

(沉默 U11、U12、U4atac、6atac，不含 U5，U5 为主要剪接体已有)则是实现该策略最高效的路径。

实验证据表明，抑制 MIG TARDBP 编码的 TDP-43（其剪接依赖次要剪接体）可降低 HSV-1 在 HD10.6 神经元中的复制效率^[39]。在干燥综合征（SS）、类风湿关节炎（RA）及系统性红斑狼疮（SLE）患者血清中均可检测到抗次要剪接体 snRNA 或抗 MIGs 编码蛋白的自身抗体^[40]。这些现象提示患者体内可能存在持续的病毒抗原刺激，促使免疫系统为清除病毒而抑制次要剪接体 snRNA 或病毒复制相关 MIGs 的功能。

体内环境中，神经元、心肌细胞等特化细胞所需的次要剪接体 snRNA 可能来源于细胞外部，而非自身细胞核转录。该机制可在维持 MIGs 表达必要“可塑性”的同时，最大限度地降低病毒劫持宿主剪接系统的风险。通过“关闭”大多数体内细胞自主合成次要剪接体 snRNA 的能力，并转而依赖集中的肾脏外泌体供给，宿主能在病毒感染早期剥夺病毒复制所必需的剪接平台，从而广谱抑制病毒复制。这一演化策略本质上将“生物安全性”置于“合成效率”之上。此外，作为次要剪接体 snRNA 供给源的肾小管上皮细胞位于滤过界面，感染后病毒颗粒可随尿液快速排出，这进一步缩短了病毒基因组与宿主基因组的潜在接触时间，为宿主提供了额外的防御优势。

总之，体内环境中，次要剪接体 snRNA 的“胞外供给-胞内受限”模式代表了一种演化保守的抗病毒策略：通过牺牲局部剪接效率，换取对 MIGs 依赖性病毒复制的广谱抑制。

值得特别关注的是，MIGs 在雄性生殖组织中的表达水平显著高于机体其他组织，其进化意义可能在于通过 MIGs 的高表达促进物种延续。在个体发育早期，肾脏尚未发育成熟，所供给的次要剪接体 snRNA 总量有限，难以满足生殖组织细胞高表达 MIGs 的需求；为此，生殖组织细胞内的次要剪接体 snRNA 基因维持转录活性，以确保生殖器官发育对 MIGs 的表达需求^[41]。待肾脏发育成熟并具备足量次要剪接体 snRNA 供给能力后，生殖组织细胞内的次要剪接体 snRNA 基因表达转为沉默，精子发生过程所需的次要剪接体 snRNA 转由胞外供给。这一调控机制可有效防止生殖组织细胞遭受病毒感染与分子劫持，从而实现广谱抗病毒防御。综上所述，上述机制体现了物种在生殖繁衍与生存安全之间实现最优平衡的进化策略：发育早期以安全性为代价确保繁殖能力，发育后期则以牺牲次要剪接体 snRNA 自主性为代价换取抗病毒防御能力的提升。

5.2 剪接准确性：神经元中部分转录本同时含有 U2 型和 U12 型内含子。若两类剪接体长期处于高度活化状态，可能在识别过程中发生相互干扰，进而增加异常剪接的风险^[42]。因此，神经元中的次要剪接体 snRNA 采取“周期性、细胞外源性”供给模式，有助于提升神经系统 pre-mRNA 剪接的准确性，从而保障神经系统的功能稳定性与运行安全。

5.3 机体发育协同：肾脏在协调机体整体发育过程中扮演关键角色。生命活动依赖于液态内环境稳态，而在 U2 型与 U12 型内含子基因组发生内共生融合后，MIGs 编码的电压门控离子通道 α 亚基及突触可塑性相关基因的表达，显著增强了神经系统功能，并大幅提升了新陈代谢强度与电解质波动水平。为维持机体稳态，肾脏可能通过调控次要剪接体 snRNA 的生成，以限制全身 MIGs 的表达水平。该机制有助于确保神经系统功能提升与肾脏维持酸碱平衡、电解质稳定及代

谢废物排泄的能力相协调。换言之，MIGs 的表达上限，实质上受到肾脏维持内环境稳态能力阈值的制约——即机体在神经活动增强时所引发的酸碱、电解质及代谢废物波动，必须始终低于肾脏能够有效调节并排出的生理上限。

肾小管上皮细胞具有：较高线粒体密度、强大 RNA 合成能力、与体液循环直接接触，因此其适合作为系统性次要剪接体 snRNA 分发节点。

6 研究展望与挑战

本文提出的假说挑战了生命科学中一个根深蒂固的范式，其意义堪比物理学中“弱相互作用下宇称不守恒”的发现。它要求研究者必须摒弃以永生化细胞系为绝对模型的思维惯性，重新审视体内环境的复杂性与整体性。

验证并深化此假说，需开展以下核心研究：

(1) 直接证据获取：证实肾小管上皮细胞外泌体中富含功能性次要剪接体 snRNA，并排除细胞核污染。

(2) 体内示踪研究：在模式动物中示踪肾脏来源的标记次要剪接体 snRNA 外泌体的体内动态分布与细胞摄取，通过动物模型示踪次要剪接体 snRNA 外泌体从肾脏到靶器官（如脑、心）的运输路径。

(3) 功能验证：构建肾脏特异性敲低次要剪接体 snRNA 的动物模型，观察远端组织（脑、心等）的 U12 型基因剪接、表达及生理功能变化。建立肾脏肾小管上皮细胞功能损伤与远端组织 U12 型基因表达及功能衰退的因果关系。

(4) 临床关联分析：检测不同疾病人群及衰老过程中血清次要剪接体 snRNA 水平变化，及其与疾病严重程度、中医“肾虚”证候的相关性。

(5) 干预策略探索：探索基于补充次要剪接体 snRNA（如工程化外泌体、基因递送）或保护/增强肾脏次要剪接体 snRNA 分泌功能的新型治疗策略（如用于 AD、PD、心衰的治疗）。

挑战在于次要剪接体 snRNA 检测灵敏度、外泌体分离纯度、以及建立能准确模拟体内复杂微环境的实验体系。这需要跨学科合作，整合分子生物学、细胞生物学、模式动物、临床医学及生物信息学等多领域技术。

7 总结

“体内环境细胞中次要剪接体 snRNA 的肾小管上皮细胞来源假说”，为理解一系列重大疾病的共性机制、衰老的本质以及中医“肾气”理论的科学内涵提供了一个极具潜力的统一框架。突破这一瓶颈，不仅有望解开一系列长期悬而未决的次要剪接体 snRNA 和 U12 型内含子基因表达的实验谜题，更能从生命科学最基础的层面，为众多人类重大疾病的防治提供全新的视角和靶点，催生全新的疾病诊疗范式，并架起连通古老中医智慧与现代分子生物学的桥梁，推动中西医在分子层面实现真正的融合与创新。这正是一个潜在的、能引领未来基础研究方向的突破口，具有重大的科学价值与临床意义，值得投入重量级科研资源进行重点攻关。

参考文献

- [1] Olthof AM, Hyatt KC, Kanadia RN. Minor intron splicing revisited: identification of new minor intron-containing genes and tissue-dependent retention and alternative splicing of minor introns. BMC Genomics. 2019 Aug 30;20(1):686.
- [2] Wu Q, Krainer AR. AT-AC pre-mRNA splicing mechanism and conservation of minor introns in voltage-gated

- ion channel genes.[J]. Mol Cell Biol,1999,19(5):3225-3236.
- [3] Otake LR, Scamborova P, Hashimoto C, Steitz JA. The divergent U12-type spliceosome is required for pre-mRNA splicing and is essential for development in *Drosophila*. Mol Cell. 2002 Feb;9(2):439-46.
- [4] Cologne A et al. New insights into minor splicing-a transcriptomic analysis of cells derived from TALS patients. RNA. 2019 Sep;25(9):1130-1149.
- [5] Xing C et al. Biallelic variants in RNU12 cause CDAGS syndrome. Hum Mutat. 2021 Aug;42(8):1042-1052.
- [6] Zhang Z et al. SMN deficiency causes tissue-specific perturbations in the repertoire of snRNAs and widespread defects in splicing. Cell. 2008 May 16;133(4):585-600.
- [7] Souza-Menezes J et al.Small Nuclear RNAs U11 and U12 Modulate Expression of TNR-CFTR mRNA in Mammalian Kidneys[J].Cellular Physiology & Biochemistry, 2008, 22(1-4)
- [8] Souza-Menezes J, da Silva Feltran G, Morales MM. CFTR and TNR-CFTR expression and function in the kidney. Biophys Rev. 2014 Jun;6(2):227-236.
- [9] Negishi H, et al. Identification of U11snRNA as an endogenous agonist of TLR7-mediated immune pathogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019 Nov 19;116(47):23653-23661.
- [10] König,et al. Splicing segregation: the minor spliceosome acts outside the nucleus and controls cell proliferation. Cell. 2007 Nov 16;131(4):718-29.
- [11] Pessa HK,et al. Minor spliceosome components are predominantly localized in the nucleus. Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Jun 24;105(25):8655-60.
- [12] Steitz JA et al. Where in the cell is the minor spliceosome? Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 Jun 24;105(25):8485-6.
- [13] Jones SA,et al. Declining into failure: the age-dependent loss of the L-type calcium channel within the sinoatrial node. Circulation. 2007 Mar 13;115(10):1183-90.
- [14] Heinig M,et al. Natural genetic variation of the cardiac transcriptome in non-diseased donors and patients with dilated cardiomyopathy. Genome Biol. 2017 Sep 14;18(1):170.
- [15] 李双君,潘君,崔玉红.内皮细胞电压门控钙离子通道及其功能研究进展[J].生物化学与生物物理进展,2022,49(6):1061-1074.
- [16] Braunschweig U et al. Widespread intron retention in mammals functionally tunes transcriptomes. Genome Res. 2014 Nov;24(11):1774-86.
- [17] Zahanich I et al. Molecular and functional expression of voltage-operated calcium channels during osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. J Bone Miner Res. 2005 Sep;20(9):1637-46.
- [18] Negishi, et al. Identification of U11snRNA as an endogenous agonist of TLR7-mediated immune pathogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019 Nov 19;116(47):23653-23661.
- [19] Fertig, et al.Anti-U11/U12 RNP Antibodies in Systemic Sclerosis: A New Serologic Marker Associated With Pulmonary Fibrosis[J].Arthritis Care & Research, 2010, 61(7):958-965.
- [20] McMahan,et al.Anti-RNPC-3 (U11/U12) Antibodies in Systemic Sclerosis in Patients With Moderate-to-Severe Gastrointestinal Dysmotility[J].Arthritis Care & Research, 2019, 71(9).
- [21] Zhong Z., et al. Wntless functions in mature osteoblasts to regulate bone mass. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2012 Aug;109(33):E2197-204.
- [22] Zhang D, et al. Genetic association study identified a 20 kb regulatory element in WLS associated with osteoporosis and bone mineral density in Han Chinese. Sci Rep.2017 Oct 20;7(1):13668.
- [23] Barradas AM et al. A calcium-induced signaling cascade leading to osteogenic differentiation of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells [J]. Biomaterials,2012,33(11):3205-3215.
- [24] Wen L, Wang Y, Wang H, Kong L, Zhang L, Chen X, Ding Y. L-type calcium channels play a crucial role in the proliferation and osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells. Biochem Biophys Res Commun. 2012 Aug 3;424(3):439-45.
- [25] 杨春梅. L 型钙通道 Cav1.2 对 BMP9 诱导间充质干细胞成骨分化的影响[D].重庆医科大学,2022.
- [26] Gómez et al. Zrsr2 and functional U12-dependent spliceosome are necessary for follicular development. iScience. 2022 Feb 2;25(2):103860.
- [27] 李妍,侯丽辉,吴效科.钙离子在卵母细胞成熟过程中的作用[J].国外医学(计划生育/生殖健康分册),2007,(04):188-191.
- [28] 庄建平. 不育症与人精子膜蛋白 ADAM 基因表达、克隆和转基因细胞构建的研究[D].苏州大学,2006.
- [29] 褚汉启,周小琴,宋海涛等.L 型电压门控钙通道 $\alpha 1D$ 亚型在小鼠听力平衡及心脏起搏传导中的意义[J].临床耳鼻咽喉头颈外科杂志,2007(10):468-472.
- [30] Underhill A, et al.MYO7A is required for the functional integrity of the mechanoelectrical transduction complex in hair cells of the adult cochlea. Proc Natl Acad Sci U S A. 2025 Jan 7;122(1):e2414707122.
- [31] Xu Z, Chen D, Hu Y, et al. Anatomically distinct fibroblast sub-sets determine skin autoimmune patterns[J]. Nature, 2022, 601(7891):118-124.
- [32] 杨晶晶,左东川,谢沂航,等.T 型钙通道对人牙囊细胞成骨分化的影响[J].口腔医学研究,2021,37(10):900-905.
- [33] 高倩倩,葛剑平,琚燕琴等.L 型钙离子通道 Cav 1.2 在大鼠根尖牙乳头干细胞成牙向分化中的作用[J].同济大学学报(医学版),2015,36(02):24-28.
- [34] 周晨,刘群,辛娟娟,等.基于神经肌肉接头兴奋传递研究得气针感调控机制的思路探讨[J].中国中医基础医学杂志,2022,28(10):1658-1663.

- [35] García, et al. Splicing accuracy varies across human introns, tissues, age and disease. *NatCommun*. 2025 Jan 27;16(1):1068.
- [36] Chen X, et al. Small extracellular vesicles from young plasma reverse age-related functional declines by improving mitochondrial energy metabolism. *Nat Aging*. 2024 Jun;4(6):814-838.
- [37] Younis I, Dittmar K, Wang W, Foley SW, Berg MG, et al. Minor introns are embedded molecular switches regulated by highly unstable U6atac snRNA. *Elife*. 2013 Jul 30;2:e00780.
- [38] Wuchty S, White AK, Olthof AM, Drake K, Hume AJ, Olejnik J, Aguiar-Pulido V, Mühlberger E, Kanadia RN. Minor intron-containing genes as an ancient backbone for viral infection? *PNAS Nexus*. 2024 Jan 18;3(1):pgad479.
- [39] Braspenning SE, Ohnezeit D, DeGulis OA, Wilson AC, Mohr JJ. TDP-43 promotes efficient HSV-1 replication in human DRG-derived neurons. *J Virol*. 2025 Dec 23;99(12):e0091525.
- [40] Guo L, et al. Autoantibody against the Rab6A/Rab6B in primary autoimmune cerebellar ataxia associated with Sjogren's syndrome: A case report. *J Neuroimmunol*. 2021 Oct15;359:57767.
- [41] Takemoto K, Girardini KN, Boria A, Rosado J, Konakanchi T, Vachhani S, Springer S, Kanadia RN. Minor spliceosome inhibition via ablation of its U11 snRNA gene results in multiple defects in murine spermatogenesis. *Nucleic Acids Res*. 2026 Feb 24;54(5):gkag159.
- [42] Akinyi MV, Frilander MJ. At the Intersection of Major and Minor Spliceosomes: Crosstalk Mechanisms and Their Impact on Gene Expression. *Front Genet*. 2021 Jul 20;12:700744.

(通讯作者: 刘亮 E-mail:matrix2059@126.com MP: 13007131370)

作者贡献声明:

刘亮: 提出科学假设模型及研究思路, 梳理逻辑链, 设计实验, 论文最终版本修订;

邱忠鹏: 检索参考文献, 采集、分析数据, 论文起草;