

Mol Sci, 2019, 20(14): 3423.

[24] FIGUEIREDO A M S, FERREIRA F A, BELTRAME C O, et al. The role of biofilms in persistent infections and factors involved in ica-independent biofilm development and gene regulation in *Staphylococcus aureus*[J]. Crit Rev Microbiol, 2017, 43(5): 1-19.

[25] 陈瑶, 刘张玲, 汤荣睿. 金黄色葡萄球菌生物膜预防和治理的研究进展[J]. 中国抗生素杂志, 2021, 46(1): 20-26.

[26] DE SOUZA C, FARIA Y V, DE OLIVEIRA SANT' ANNA L, et al. Biofilm production by multiresistant *Corynebacterium striatum* associated with nosocomial outbreak[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2015, 110(2):

242-248.

[27] QIN L, SAKAI Y, BAO R, et al. Characteristics of multi-drug-resistant *Corynebacterium* spp. isolated from blood Cultures of hospitalized patients in Japan[J]. Jpn J Infect Dis, 2017, 70(2): 152-157.

[28] SOUZA C D, MOTA H F, FARIA Y V, et al. Resistance to antiseptics and disinfectants of planktonic and biofilm-associated forms of *Corynebacterium striatum*[J]. Microb Drug Resist, 2020, 26(12): 1546-1558.

(收稿日期: 2022-04-03 修回日期: 2022-09-28)

• 综述 • DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2023.02.034

miRNAs 作为糖尿病肾脏疾病早期生物标志物的可行性及作用机制

邢晨皓¹, 唐红悦¹, 赵子今¹综述, 卢亚敏^{2△}审校

1. 河北北方学院研究生学院, 河北张家口 075000; 2. 河北省人民医院核医学科, 河北石家庄 050051

关键词: 糖尿病肾脏疾病; 微小核糖核酸; 早期生物标志物; 尿清蛋白与肌酐比; 肾小球滤过率
中图分类号: R587.2 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2023)02-0276-04

糖尿病肾脏疾病(DKD)是一种以持续性蛋白尿和肾功能进行性下降为特征的临床综合征,是一种典型的肾小球疾病,发病率逐年上升,已成为终末期肾病最常见的原因^[1],也是近几年暴发的新型冠状病毒感染严重结局的一项危险因素^[2]。蛋白尿是目前临床上评估和监测肾功能的指标之一,但是约有 1/3 的患者在蛋白尿发生前就已存在肾功能下降,因而仅检测蛋白尿不足以监测 DKD 的发病率和进展^[3]。事实上肾脏穿刺活检仍然是正确诊断 DKD 的金标准,但其为有创检查,不能被患者广泛接受,而且不能完全做到早期诊疗,它通常局限于显示非典型临床表现的病例。因此,DKD 的诊断仍然具有挑战性,迫切需要高特异性、快速、非侵入性的生物标志物来诊断 DKD^[4]。微小核糖核酸(miRNAs)是普遍存在的内源性非编码单链 RNA 转录物,最常见的长度为 19~25 个核苷酸,通过阻断蛋白质翻译和/或诱导信使 RNA 降解作为基因表达的转录后调节物。有研究表明,miRNAs 通过提供复杂的反馈系统来保持基因表达的稳定性,从而影响心脏、肾脏、脂肪和免疫组织中的干细胞活性^[5],并且在血液和尿液中稳定存在,其水平的高低影响疾病的进程,由此表明 miRNAs 有可能成为 DKD 的早期生物标志物。

1 miRNAs 作为 DKD 早期生物标志物的可行性

众所周知,持续性高血糖是糖尿病并发症的主要诱因,有研究报道显示,不同浓度的葡萄糖对肾小球内皮细胞中 miR-21 表达水平的影响不同,提示肾小球内皮细胞 miR-21 表达水平明显上调,且 miR-21 的

表达水平随葡萄糖浓度升高而逐渐升高,高浓度葡萄糖对 miR-21 表达水平的影响呈时间依赖性^[6]。由此得出,检测血清 miR-21 表达水平将为 DKD 早期肾小球内皮细胞损伤的诊断和临床肾脏功能受损情况的评估提供更敏感而可靠的依据。

miR-638 在 DKD 中表达水平下调, LIN 等^[7]研究证实,miR-638 低表达可以将 DKD 患者与 2 型糖尿病患者及健康对照者区分开来,因此,miR-638 可以作为 DKD 早期诊断的生物标志物。此外,miR-638 可能通过调节增殖和炎症参与 DKD,为 DKD 的治疗提供新的治疗靶点。JIA 等^[8]评估了在肾脏中呈高度表达的几种 miR(miR-192、miR-194 和 miR-215)在 DKD 早期诊断中的作用,比较了不同程度蛋白尿的 2 型糖尿病患者尿液中 miR-192、miR-194 和 miR-215 的表达水平,与微量清蛋白尿组比较,这 3 种 miRNAs 的表达水平均明显增加,且 miR-192 在区分正常清蛋白组和微量清蛋白组方面优于 miR-194 和 miR-215;人肾小管上皮细胞暴露于高浓度葡萄糖会增加细胞上清液囊泡 miR-192、miR-194 和 miR-215 的表达水平,表明这些标志物是一种潜在的内源性来源,因此,可作为 DKD 早期诊断的生物标志物。

在对 2 型糖尿病患者的研究中发现,无论正常蛋白尿还是过量蛋白尿患者,血清和尿液中白细胞介素(IL)-1 α 、IL-8、IL-18 与 miRNA 谱之间均存在显著相关性,miRNA-125a 直接调控 IL-6R,被认为参与了 DKD 的发病机制^[9]。miRNA-126 表达水平随着蛋白尿加重而下调,在早期阶段不能维持内皮细胞功能的

△ 通信作者, E-mail: xyluyamin@163.com.

完整性,与肾脏结构的改变密切相关。有研究报道血液中 miR-377 和 miR-192 作为 DKD 生物标志物的可能性,其受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析结果显示这两种 miRNA 能够明显区分 DKD 患者和健康受试者,具有区分正常清蛋白尿和微量清蛋白尿/大量清蛋白尿的能力,并且 miR-377 表达水平随着清蛋白尿的严重程度加重而增加^[10]。由此表明,在 DKD 早期血液中 miR-377 的表达水平就已经发生了变化,可以较早地提示 DKD 发生,可以作为 DKD 早期诊断的生物标志物。

2 miRNAs 在 DKD 中的作用机制

导致 DKD 发生和发展的因素有很多种,其中高血糖状态是 DKD 发生和发展的基础环节,脂代谢紊乱是 DKD 发生的重要危险因素,炎症和氧化应激激活是 DKD 病变的直接诱因。

2.1 miRNAs 与糖、脂代谢 近年来,miRNAs 已被证明在糖代谢调节的所有生理和病理过程中发挥关键作用,包括胰岛素利用、葡萄糖摄取和胰岛素分泌。miRNAs 可能是维持葡萄糖稳态有希望的靶点^[11]。miR-21 可以通过靶向叉头框蛋白 O1(FoxO1)通路介导的磷酸烯醇丙酮酸羧激酶和葡萄糖-6-磷酸酶下调来降低糖异生,并且靶向 3T3-L1 脂肪细胞中的磷酸酯酶与张力蛋白同源物(PTEN),导致胰岛素信号通路中 PI3K-Akt 激活的改变。miR-33a 和 miR-33b 调节胰岛素受体底物(IRS)-2 的表达,可以进一步影响信号网络中的下游蛋白,包括 FoxO1 细胞质定位和蛋白激酶 B 磷酸化(Akt 磷酸化)。miR-155 可以增强转基因小鼠肝脏、脂肪组织和骨骼肌中的糖酵解、IRS-1 磷酸化和胰岛素刺激的 Akt^[12]。miR-185-5p 通过靶向其 3'-非翻译区直接抑制葡萄糖 6 磷酸酶表达,抑制 db/db 小鼠肝糖异生和减轻高血糖作用。

有研究结果表明,miRNAs 在调节脂质代谢中起至关重要的作用^[13],过氧化物酶体增殖物激活受体 α (PPAR- α) 是脂质代谢的关键调控因子,糖尿病大鼠肾组织中 miR-21 表达水平明显升高,PPAR- α mRNA 的表达水平明显降低,miR-21 通过调控炎症因子(IL-6 和 IL-18)及凋亡蛋白 Bax 途径,进而抑制下游靶基因 PPAR- α 的表达水平,从而促进脂质代谢紊乱,加剧细胞炎症与凋亡反应。

2.2 miRNAs 与炎症 有研究报道显示,高血糖诱导的 miR-467a-5p 可以抑制与调节炎症有关的血栓反应蛋白-1 产生^[14]。给小鼠注射 miR-467a-5p 拮抗剂,抑制 miR-467a-5p 可导致脂肪组织中巨噬细胞浸润增加,脂肪组织中 IL-6 水平升高,血浆胰岛素水平升高和葡萄糖清除率降低;miR-467a-5p 通过靶向血栓反应蛋白-1 来调控炎症。miRNAs 在 DKD 发展过程中的调节作用尤为突出^[15],在不同严重程度的 DKD 中,miRNAs 通过 PTEN、PI3K/Akt 和丝裂原活化蛋白激酶通路对转化生长因子(TGF)- β 进行调

节,从而控制不同炎症程度的表达。高糖通过己糖胺生物合成途径代谢介导细胞外基质的产生和炎症通路激活,刺激肾脏细胞中的 TGF- β 转录活性增加;同时己糖胺生物合成途径产生活化的氨基糖 UDP-N-乙酰基葡萄糖胺,催化蛋白质葡萄糖胺糖基化,影响一系列细胞过程,包括炎症、新陈代谢、运输和细胞骨架组织,在 DKD 的发展中起作用^[16]。

有研究发现,miR-192 在正常肾皮质中富集,且 miR-192 可能是肾脏病理改变过程 TGF- β 1/Smads 信号传导通路的重要下游介质^[17],所以 miR-192 对 TGF- β 1/Smads 炎症信号通路具有调控作用。在 DKD 肾组织和高葡萄糖刺激的足细胞中 miR-770-5p 表达水平上调^[18],敲低 miR-770-5p 可以抑制足细胞凋亡和炎症,表明 miR-770-5p 可能是 DKD 的潜在治疗靶点。

晚期糖基化终产物(AGEs)/高级糖基化终产物受体相互作用可触发活性氧(ROS)生成并激活下游信号通路,诱导内皮祖细胞凋亡,AGEs 在体内积累会引起一系列氧化应激反应及炎症^[19]。有新的证据表明,miRNAs 与 DKD 中 AGEs 介导的病理改变有关,经 AGEs 处理的内皮细胞通过上调 RhoA/ROCK2 信号通路抑制 miR-200b/miR-200c 的表达^[20]。miR-92b-3p 在 AGEs 对大鼠 DKD 模型中的表达水平变化最为明显,miR-92b-3p 可以与 AGEs 介导的 Smad7 的非编码区相互作用,使 Smad7 成为 DKD 相关的 miRNAs 的下游靶点^[20]。

在 DKD 大鼠组织和高葡萄糖处理的肾小管上皮(HK)-2 细胞中均发现 miR-365 的表达水平升高^[21]。miR-365 可调节脑源性神经营养因子中的原肌球蛋白相关激酶 B 信号轴诱导 DKD 纤维化。而沉默 miR-365 抑制了 HK-2 细胞中细胞外基质(ECM)成分的积累和炎症细胞因子的分泌,敲低 miR-365 可抑制脊髓性肌萎缩症,降低胶原蛋白 IV、TGF- β 1、肿瘤坏死因子- α 和 IL-6 水平,由此表明敲低 miR-365 可抑制肾纤维化。

2.3 miRNAs 与氧化应激 miR-377 在 DKD 的体外和体内模型中均被证实为过度表达,其水平增加抑制了 p21 活化激酶和锰超氧化物歧化酶 1、2 的翻译,并增强了纤维连接蛋白产生^[22],其成分的增加可导致系膜基质增多、系膜区扩张,最后导致弥漫性肾小球硬化和间质纤维化。有研究报道显示,miR-4449 水平在 DKD 患者血清外泌体中呈高表达,通过调控 IL-1 β 和 IL-18 水平,以及 ROS 水平和焦亡,从而在 DKD 的发病机制中起关键作用^[23]。此外,无论在 DKD 患者还是 HK-2 细胞中癌症超甲基化 1(HIC1)蛋白的表达与 miR-4449 的表达均呈负相关,HIC1 通过调控炎症和 miR-4449/HIC1 通路促进细胞焦亡和氧化应激。

miR-21 在对照组、DKD 早期和中晚期表达水平

依次降低,各组间均有明显差异,miR-21 与氧化应激指标丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、高级氧化蛋白质产物及烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸氧化酶 4 (NOX4)均呈负相关,与血红素加氧酶 1 呈正相关,进而使肾脏组织遭受氧化应激损伤,最终表现在氧化应激指标水平明显异常^[24]。miR-21 参与发病进程的具体机制主要可能是由 PTEN/Akt、TGF- β /Smads 及基质金属蛋白酶等有关信号途径而实现,再次证实血清 miR-21 与其机体的氧化应激反应联系紧密。同样也有相似报道显示,DKD 患者 miR-21 与 SOD、MDA、NOX4、胱抑素 C 均有明显相关性,且 ROC 曲线分析结果显示 miR-21 有较高的灵敏度和特异度^[25],由此提示,miR-21 对早期 DKD 的诊断有较好的价值,其与糖尿病患者肾功能损伤、氧化应激状态具有密切关系。

有报道显示,miR-205 协同高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1)在 DKD 发生和发展中起重要作用^[26],HMGB1 被鉴定并证实是 miR-205 的靶标,miR-205 通过靶向 HMGB1 对高葡萄糖诱导的细胞损伤起保护作用。过表达 miR-205 或敲低脂蛋白受体 6 可抑制核因子 κ B 信号通路,进一步调节高葡萄糖诱导的系膜细胞增殖、氧化应激、ECM 积累和炎症。

3 小 结

尽管 DKD 的发生机制还未完全阐明,但 miRNAs 的发现为 DKD 的分子水平研究提供了新的方向。miRNAs 与 DKD 的关系还需要更多的临床研究来证明,对 miRNAs 的深入研究及相关作用机制靶点的认识与探索,将为 DKD 的早期诊断和治疗带来新的思路和方法。

参考文献

- [1] 曹子彧,马东红.组蛋白修饰与糖尿病肾病[J].临床肾脏病杂志,2022,22(1):77-81.
- [2] LEON-ABARCA J A, MEMON R S, REHAN B, et al. The impact of COVID-19 in diabetic kidney disease and chronic kidney disease: a population-based study[J]. Acta Biomed, 2020, 91(4): e2020161.
- [3] ZHANG J, LIU J, QIN X. Advances in early biomarkers of diabetic nephropathy[J]. Rev Assoc Med Bras (1992), 2018, 64(1): 85-92.
- [4] CONSERVA F, BAROZZINO M, PESCE F, et al. Urinary miRNA-27b-3p and miRNA-1228-3p correlate with the progression of kidney fibrosis in diabetic nephropathy[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 11357.
- [5] DONDESKI R, SZCZEPANEK J, NARUSZEWICZ N, et al. Analysis of profibrogenic microRNAs (miRNAs) expression in urine and serum of chronic kidney disease (CKD) stage 1-4 patients and their relationship with proteinuria and kidney function[J]. Int Urol Nephrol, 2022, 54(4): 937-947.
- [6] 刘然.高浓度胰岛素/高浓度葡萄糖干预下 miR-21 对肾小球内皮细胞功能的调节作用研究[D].天津:天津医科大学,2019.
- [7] LIN M, SONG D, ZHANG S, et al. Dysregulation of miR-638 in diabetic nephropathy and its role in inflammatory response[J]. Diabetol Metab Syndr, 2021, 13(1): 122-126.
- [8] JIA Y, GUAN M, ZHENG Z, et al. MiRNAs in urine extracellular vesicles as predictors of early-stage diabetic nephropathy[J]. J Diabetes Res, 2016, 2016: 7932765.
- [9] PETRICA L, MILAS O, VLAD M, et al. Interleukins and miRNAs intervene in the early stages of diabetic kidney disease in type 2 diabetes mellitus patients[J]. Biomark Med, 2019, 13(18): 1577-1588.
- [10] AL-KAFAJI G, AL-MUHTARESH H A. Expression of microRNA 377 and microRNA 192 and their potential as blood based biomarkers for early detection of type 2 diabetic nephropathy[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(1): 1171-1180.
- [11] ZHANG B H, SHEN C A, ZHU B W, et al. Insight into miRNAs related with glucometabolic disorder[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 111: 657-665.
- [12] ZHENG H, WAN J, SHAN Y, et al. MicroRNA-185-5p inhibits hepatic gluconeogenesis and reduces fasting blood glucose levels by suppressing G6Pase[J]. Theranostics, 2021, 11(16): 7829-7843.
- [13] 向珈谊,张会芳,梁露群,等. miR-21 通过下调 PPAR- α 参与脂质代谢紊乱并促进糖尿病大鼠肾组织及肾小管上皮细胞纤维化病变[J].中国病理生理杂志,2021, 37(10): 1858-1867.
- [14] GAJETON J, KRUKOVETS L, YENDAMURI R, et al. MiR-467 regulates inflammation and blood insulin and glucose[J]. J Cell Mol Med, 2021, 25(5): 2549-2562.
- [15] REN H W, SHAO Y, MA X Y, et al. Interaction of circulating TGF β regulatory miRNAs in different severity of diabetic kidney disease[J]. Arch Physiol Biochem, 2022, 11: 1-15.
- [16] DANIELS M C, MCCLAIN D A, CROOK E D. Transcriptional regulation of transforming growth factor β 1 by glucose: investigation into the role of the hexosamine biosynthesis pathway[J]. Am J Med Sci, 2020, 359(2): 79-83.
- [17] EBADI Z, MORADI N, FARD T K, et al. Captopril and spironolactone can attenuate diabetic nephropathy in wistar rats by targeting microRNA-192 and microRNA-29a/b/c[J]. DNA Cell Biol, 2019, 38(10): 1134-1142.
- [18] WANG L, LI H. MiR-770-5p facilitates podocyte apoptosis and inflammation in diabetic nephropathy by targeting TIMP3[J]. Biosci Rep, 2020, 40(4): BSR20193653.
- [19] LI Q, XIA S, YIN Y, et al. MiR-5591-5p regulates the effect of ADSCs in repairing diabetic wound via targeting AGEs/AGER/JNK signaling axis [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(5): 566.
- [20] WANG L P, GENG J N, SUN B, et al. MiR-92b-3p is in-

duced by advanced glycation end products and involved in the pathogenesis of diabetic nephropathy[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2020, 2020:6050874.

- [21] ZHAO P, LI XQ, LI Y, et al. Mechanism of miR-365 in regulating BDNF-TrkB signal axis of HFD/STZ induced diabetic nephropathy fibrosis and renal function[J]. Int Urol Nephrol, 2021, 53(10):2177-2187.
- [22] FANG X, HU X, ZHENG Z, et al. Smad interacting protein 1 influences transforming growth factor- β /Smad signaling in extracellular matrix protein production and hypertrophic scar formation[J]. J Mol Histol, 2019, 50(6):503-514.
- [23] GAO C, WANG B Y, CHEN Q, et al. Serum exosomes from diabetic kidney disease patients promote pyroptosis

and oxidative stress through the miR-4449/HIC1 pathway[J]. Nutr Diabetes, 2021, 11(1):33.

- [24] 倡思聪, 杨伟, 罗鸿宇, 等. 血清微小 RNA-21 水平与糖尿病肾病患者氧化应激的相关性研究[J]. 现代生物医学进展, 2019, 19(9):1786-1789.
- [25] 宋娜, 苏东峰, 高宇, 等. 糖尿病肾病患者血清 miR-21、CysC 与氧化应激指标的关系及其诊断价值[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(15):3643-3646.
- [26] CHEN B, LI Y H, LIU Y, et al. CircLRP6 regulates high glucose-induced proliferation, oxidative stress, ECM accumulation, and inflammation in mesangial cells[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(11):21249-21259.

(收稿日期:2022-03-24 修回日期:2022-10-25)

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.02.035

CRISPR/Cas9 系统简介及其在疟原虫研究中的应用进展

崔金花 综述, 乔继琛[△] 审校

江西中医药高等专科学校, 江西抚州 344000

关键词:成簇规律间隔短回文重复序列/Cas 关联蛋白 9 系统; 疟原虫; 基因编辑

中图法分类号:S852.7

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)02-0279-04

成簇规律间隔短回文重复序列/Cas 关联蛋白 9 (CRISPR/Cas9) 系统改造的基因编辑技术是继锌指核酸酶基因编辑技术和类转录激活因子效应物编辑技术后迅速发展起来的第 3 代基因编辑技术^[1]。CRISPR/Cas9 系统具有操作设计简单, 突变效率高, 成本低廉等优点, 迅速超越以往技术, 成为当前最热门的定点基因编辑工具。CRISPR/Cas9 基因编辑技术已经在多种动植物细胞中成功应用, 包括哺乳动物类甚至人类的细胞。目前已经报道在弓形虫、疟原虫、隐孢子虫、新杆状线虫、克氏锥虫、利什曼原虫等寄生虫领域均有应用。疟原虫是疟疾的病原体, 疟疾至今仍是全球面临的传染性疾疾病, 因此, CRISPR/Cas9 基因编辑技术被广泛应用于疟原虫的研究。CRISPR/Cas9 系统被《科学》杂志评为 2013 年度最重要的科学突破之一, JENNIFER 和 EMMANUELLE 2 位技术先驱共同获得了 2020 年诺贝尔化学奖的殊荣^[2]。本文阐述了 CRISPR/Cas9 系统的发现、分类、作用机制等, 重点分析在疟原虫研究领域的应用, 希望能够为疟原虫的基因修饰及其预防治疗提供参考。

1 CRISPR/Cas9 系统简介

1.1 CRISPR/Cas9 系统的发现 最早在 1987 年, CRISPR 由日本科学家在大肠埃希菌中发现, 随后在其他一些细菌的研究中这种类似基因结构也被陆续报道^[3]。2002 年, JANSEN 等^[4]将 CRISPR 序列正式命名为 CRISPR, 基因编码的各类蛋白质统称为

CRISPR 附属蛋白(Cas 蛋白)。2005 年, 3 个研究小组同时发现了 CRISPR 序列中的间隔序列与宿主菌的染色体外遗传物质具有高度同源性^[5-7], 推测其功能可能与细菌抵抗外源遗传物质入侵有关^[6]。MARRAFFINI 等^[8]在研究中发现, 在细菌中 CRISPR 系统具有对抗噬菌体入侵, 阻止外源质粒转移的作用, 并验证了 CRISPR 系统的功能。2011 年, DELTCHEVA 等^[9]揭示了 CRISPR/Cas9 系统的分子机制。2013 年, CONG 等^[10]报道了 CRISPR/Cas9 系统可高效编辑基因组, 实现了对小鼠细胞部分基因及人类细胞基因编辑, 标志着 CRISPR/Cas9 系统又一次革命性的飞跃, 开启了基因编辑的新纪元。

1.2 CRISPR/Cas9 系统的分类 CRISPR 系统共分为 I 型、II 型和 III 型 3 种类型^[11]。3 种类型均可以切割抵抗外源 DNA 入侵, 均由 Cas 蛋白发挥切割作用, 目前仅有 II 型系统被开发利用, I 型系统中的 Cas 蛋白既复杂又多, III 型次之。CRISPR 系统在发挥作用的过程中大概分为获得适应、转录表达、干扰切割 3 个阶段。在 I 型和 II 型 CRISPR 系统中均有原间隔区相关基序即 PAM 区。在适应阶段识别外源 DNA 原间隔的时候, PAM 区起重要作用。III 型 CRISPR 系统特有 Cas10 蛋白, 主要作用是参与 CRISPR RNA (crRNA) 成熟、切割外源入侵的 DNA^[12]。II 型是 CRISPR 系统最简单的一类, 仅包含 4 个 Cas 蛋白基因(Cas9、Cas1、Cas2、Cas4), 其中 Cas9 是最具特色

[△] 通信作者, E-mail: qiaojc1990@sina.com.