doi:10.11659/jjssx.01E017047

·基础研究·

血浆循环 miRNA-126、miRNA-28-3p 的表达与糖尿病的关系研究

邓仁生[1],朱小琴[2],刘长召[2],王 玲[2],陈文江[3] (1.恩施土家族苗族自治州中心医院内分泌科,湖北 恩施 445000;2.恩施土家族苗族自治州中心医院心内科,湖北 恩施 445000;3.广东医科大学附属医院心血管内科,广东 湛江 524001)

[摘 要] **目的** 探讨血浆中 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 的表达与糖尿病(DM)的关系,并进行相关机制探讨。**方法** 随机选取恩施土家族苗族自治州中心医院 DM 患者 80 例作为 DM 组,选取同期治疗的非 DM 患者 80 例作为对照组,采用 qRT-PCR 检测其血浆中循环 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 的表达水平,并对其靶基因、基本生物学功能和相关 lncRNA 和 circRNA 进行生物信息学预测。**结果** DM 患者血浆中 miRNA-126 的表达水平(0.115 0±0.014 4)较对照组患者(0.001 9±0.000 6)明显升高,差异具有极显著性统计学意义($P<0.01$);DM 患者血浆中 miRNA-28-3p 的表达水平(0.138 6±0.017 24)较对照组患者(0.000 6±0.000 05)明显升高,差异具有极显著性统计学意义($P<0.01$);miRNA-126 与 miRNA-28-3p 的 Pearson 相关系数为 0.433 5($P<0.01$);2 组患者 miRNA-126、miRNA-28-3p ROC 曲线下面积差异均有极显著性统计学意义($P<0.01$);生物信息学分析发现 miRNA-126、miRNA-28-3p 可能参与调控了胰岛素信号通路、胰岛素受体信号通路、胰岛素/胰岛素生长因子信号通路、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路和血管生成等信号通路,并可能与多种 lncRNA 和 circRNA 都有关。**结论** 血浆中循环 miRNA-126 与 miRNA-28-3p 可能通过调控胰岛素和胰岛素生长因子相关信号通路导致 DM 的发生,可以作为 DM 新型临床诊断生物标志物,并可能与多种 lncRNA 和 circRNA 有关。

[关键词] miRNA-126;miRNA-28-3p;糖尿病;生物标志物;生物信息学分析;循环 miRNA

[中图分类号] R587.1 [文献标识码] A [收稿日期] 2017-01-15

Clinical research on the mechanism of miRNA-126 and miRNA-28-3p in diabetes mellitus patients

DENG Ren-sheng[1], ZHU Xiao-qin[2], LIU Chang-zhao[2], WANG Ling[2], CHEN Wen-jiang[3] (1. Department of Endocrinology, Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi Hubei 445000, China; 2. Department of Cardiology, Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi Hubei 445000, China; 3. Department of Cardiovascular, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang Guangdong 524001, China)

Abstract: Objective To explore the mechanism of plasma circulating miRNA-126 and miRNA-28-3p in diabetes mellitus (DM) patients, and to identify the related bioinformatics analysis. **Methods** Randomly selected 80 DM patients as the observation group and 80 non-DM patients as the control group. The plasma circulating miRNA-126 and miRNA-28-3p were analyzed by qRT-PCR, and its target genes, biological information, related lncRNA and circRNA were predicted. **Results** The circulating miRNA-126 (0.115 0±0.014 4 *vs.* 0.0019±0.000 6) and miRNA-28-3p (0.1386±0.01724 *vs.* 0.000 6±0.000 05) levels in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.01$). Pearson correlation coefficient of miRNA-126 and miRNA-28-3p was 0.433 5 ($P<0.01$). ROC curve analysis of miRNA-126 and miRNA-28-3p showed that the differences of the area under curve were statistically significant between the two groups ($P<0.01$). Bioinformatics prediction showed that miRNA-126 and miRNA-28-3p may be involved in regulation of the insulin signaling pathway, insulin receptor signaling pathway, insulin/insulin growth factor signaling pathway, mitogen-activated protein kinase (MAPK) signaling pathway and angiogenesis. And it may be associated with a variety of lncRNA and circRNA. **Conclusion** Circulating miRNA-126 and miRNA-28-3p can be a novel biomarker of DM as it may participate in the mechanism of DM by regulating insulin and insulin growth factor related signaling pathways and be associated with some related lncRNA and circRNA.

Keywords: miRNA-126; miRNA-28-3p; diabetes mellitus; biomarkers; bioinformatics analysis; circulating miRNA

糖尿病(diabetes mellitus,DM)是我国乃至全世界常见的临床疾病之一,是以慢性高血糖为特征的一组代谢性疾病,是最重要的慢性非传染性疾病之一。我国 18 岁以上成人 DM 患病率为 11.6%,其中绝大部分为 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus,T2DM)[1-4]。由于我国城市化建设的加快、人口老龄化加重、生活方式改变(体力活动明显减少、脂肪摄入比例明显增加和生活节奏的加快)、肥胖和超重的比例增加,再加上亚裔人 DM 易感风险增加等因素,DM 的患病率有可能越来越高,DM 患病人群越来越多;DM 具有较高致残率和致死率,且是动脉粥样硬化性血管病的独立危险因素之一,为个人身体健康和社会带来了严重负担[5-7]。DM 的防治主要是降低病死率、致残率和改善生活质量,随着降糖药物的应用、血糖便捷监测方式的

[通信作者] 陈文江,E-mail:yezi62002413@163.com

普及、DM 并发症的控制和生活方式的干预等,DM 的防治取得了一定成效,其直接病死率有所下降;然而,由于我国特殊的流行病学现状、未诊断人群比例高和有大量的 DM 高危人群[4-5,7],故关于 DM 的防治还有待深入研究。

近年研究显示,RNA(MicroRNA,miRNA)与 DM 发病密切相关,miRNA-126、miRNA-28-3p 和 miRNA-423-5p 都可能与 DM 发病有关[8-9]。微小 miRNA 可能参与多种心血管疾病,如动脉粥样硬化、心肌梗死、心力衰竭、高血压、肺动脉高压、心律失常和心肌病等的发生发展[10-12];有研究发现部分血清或者血浆中的循环 miRNA 可以作为 DM 的潜在疾病诊断生物标志物[13-14],为 DM 的防治提供了新思路和新方法。然而目前关于血浆循环 miRNA-126、miRNA-28-3p 与 DM 的临床样本研究还较少。因此,本文拟探讨血浆循环 miRNA-126、miRNA-28-3p 与 DM 的关系,并进行相关生物信息学分析,以期为 DM 的防治探索新途径和提供理论支持。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择 2016 年 6 月至 9 月在恩施土家族苗族自治州中心医院内分泌科和心内科进行相关住院治疗的 T2DM 患者 80 例作为观察对象(DM 组),将同时期在内分泌科和心内科住院的无 DM 病的 80 例患者作为对照组。T2DM 的诊断标准采用《中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)》中所推荐的 DM 诊断、糖代谢状态分类标准和 DM 的分型体系标准进行诊断和分型。排除患有恶性肿瘤、急性感染及患全身免疫性疾病、甲状腺疾病、各种器官移植患者和严重的心、肺、肝、肾功能不全患者。

2 组患者在年龄、性别、体质量指数(body mass index,BMI)、吸烟史、冠心病、高血压和脑卒中等基本病史方面差异无统计学意义($P>0.05$);在常规心血管药物服用,如 β-受体阻滞剂、钙通道阻滞剂(calcium channel blocker,CCB)、血管紧张素转换酶抑制剂(angiotensin converting enzyme inhibitor,ACEI)和血管紧张素转换酶受体拮抗剂(angiotensin receptor blocker,ARB)等方面比较,差异无统计学意义($P>0.05$);在血肌酐(serum creatinine,Scr)、尿素氮(blood urea nitrogen,BUN)、血糖(glucose,Glu)、总胆固醇(total cholesterol,TC)和总甘油三酯(total cholesterol,TC)等生化检查方面差异无统计学意义($P>0.05$);DM 组患者患 DM 病年限平均为 5.246 年,最高空腹血糖平均为 12.02 mmol/L,餐后血糖平均 15.66 mmol/L;2 组患者血尿酸(serum uric acid,SUA)、脂蛋白(a)[lipoprotein(a),Lp(a)]、高密度脂蛋白(high density lipoprotein,HDL)等比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。而对照组低密度脂蛋白(low density lipoprotein,LDL)稍高于 DM 组,差异具有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

1.2 样本收集

所有入选患者于入院 4 h 内用 EDTA 抗凝管采集 2 mL 静脉血,然后于 2 h 内离心(2 500 r/min,4 ℃,10 min)分离血浆,分装于 1.5 mL EP 管于 -80 ℃冰箱保存,以备后续实验用;并收集患者基本病史、心血管疾病用药情况和基本生化检测指标等。

表 1 2 组患者基本病史和生化检查情况($n=80$)

项目	DM 组	对照组	P
年龄(岁)	67.81 ± 1.11	64.95 ± 1.19	0.079 7
性别(男/女,例)	43/37	45/35	0.750 6
BMI(kg/m^2)	23.00 ± 0.20	25.35 ± 2.20	0.297 8
吸烟史(例)	35	37	0.750 6
冠心病(例)	25	28	0.614 3
高血压(例)	34	37	0.647 3
心房颤动(例)	17	15	0.692 6
脑卒中(例)	16	13	0.538 1
β-受体阻滞剂(例)	35	36	0.873 6
CCB(例)	30	22	0.493 3
ACEI(例)	25	27	0.866 1
ARB(例)	28	22	0.393 9
SUA(μmol/L)	328.22 ± 10.92	314.12 ± 13.47	0.412 6
SCR(μmol/L)	89.00 ± 6.42	96.40 ± 12.64	0.602 2
患 DM 时间(年)	5.25 ± 1.91	-	-
最高空腹血糖(mmol/L)	12.02 ± 0.60	-	-
餐后血糖(mmol/L)	15.66 ± 0.71	-	-
Glu(mmol/L)	5.56 ± 0.21	5.99 ± 0.16	0.102 9
Lp(a)(mmol/L)	204.82 ± 17.89	183.43 ± 17.67	0.399 3
BUN(mmol/L)	4.90 ± 0.23	8.88 ± 2.92	0.175 4
TC(mmol/L)	4.90 ± 0.12	5.14 ± 0.17	0.240 0
TG(mmol/L)	1.55 ± 0.08	1.43 ± 0.11	0.363 0
HDL(mmol/L)	1.43 ± 0.04	1.35 ± 0.04	0.144 3
LDL(mmol/L)	2.75 ± 0.11	3.09 ± 0.14	0.048 5

1.3 血浆 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 实时荧光定量检测

采用 miRNAcute miRNA 提取分离试剂盒(广州真知生物有限公司)柱式分离提取并纯化其 miRNA,然后按照其配套的 miRNAcute miRNA cDNA 第一链合成试剂盒(广州真知生物有限公司)将 miRNA 逆转录合成 cDNA,最后按照 miRNAcute miRNA SYBR Green 荧光定量检测试剂盒(广州真知生物有限公司)及试剂盒中的下游引物进行荧光定量检测。hsa-miR-126-3p(hsa-miR-126,MIMAT0000445,UCGUACCGUGAGUAAUAAUGCG)、hsa-miR-28-3p(MIMAT0004502,CACUAGAUUGUGAGCUCCUGGA)的上游引物和内参 U6 引物由广州真知生物有限公司提供,下游引物为试剂盒通用引物。所有操作步骤均按照试剂盒说明书进行,荧光定量过程:

94 ℃变性 2 min;PCR 循环中模板 94 ℃变性 20 s;60 ℃退火、延伸 34 s;共 30 个循环。本研究采用 $2^{-\Delta Ct}$ 相对定量方法进行数据分析:ΔCt(实验组) = Ct(实验组目标基因)-Ct(实验组内参基因);ΔCt(对照组) = Ct(对照组目标基因)-Ct(对照组内参)。

1.4 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 生物信息学预测

采用 targetScan、microRNA.org 和 miRanda 等生物信息学在线软件预测 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 的靶基因;采用 starBase 预测其基本生物信息学功能、可能参与调控的信号通路、相关的环状 RNA(circular RNA,circRNA)和长链非编码 RNA(long non-coding,lncRNA)等[15],并用 CircNet 软件进行汇总分析和作图[16];采用 miRNAMap2 预测 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 在各个器官的表达水平[17];采用 UCSC Genome Browser 预测 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 的内含子、外显子及基因多态性位点等[18-19]。

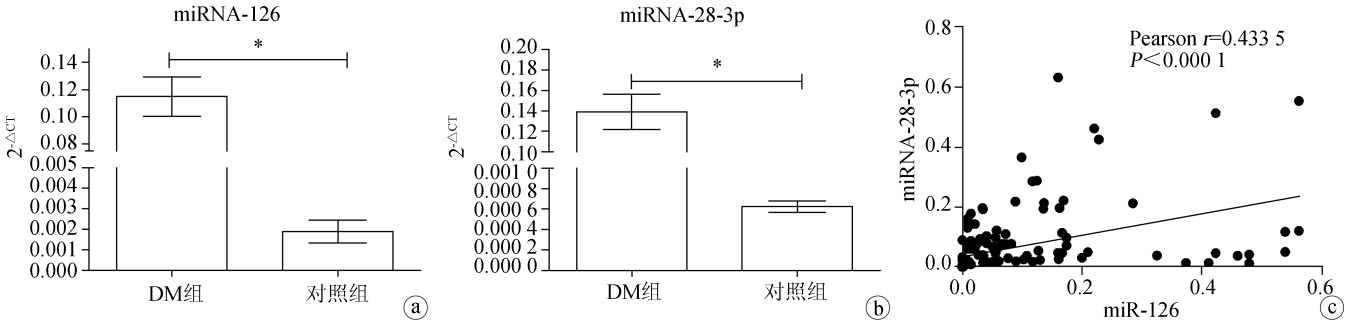
1.5 统计学分析

数据采用 GraphPad Prism 5(GraphPad Software Inc,CA,USA)和 IBM SPSS 19.00(IBM Analytics,USA)进行分析,定性资料采用 χ^2 检验或 Fisher 检验;计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验进行数据比较;接受者操作特性曲线(receiver operating characteristic curve,ROC 曲线)和 ROC 分析由 GraphPad Prism 5 完成。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义,$P<0.01$ 为差异具有极显著性统计学意义。

2 结果

2.1 血浆 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 的表达

经过对 2 组患者血浆 miRNA 的实时荧光定量检测结果分析,发现 DM 患者血浆中 miRNA-126 的表达水平(0.115 0 ± 0.014 4)较对照组患者(0.001 9 ± 0.000 6)明显升高,差异具有极显著性统计学意义($P<0.01$);DM 组血浆中 miRNA-126 的表达约为对照组的 60 倍(图 1a)。DM 患者血浆中 miRNA-28-3p 的表达水平(0.138 6 ± 0.017 2)较对照组患者(0.000 6 ± 0.000 1)明显升高,差异具有统计学意义($P<0.01$);DM 组血浆中 miRNA-28-3 的表达约为对照组的 230 倍(图 1b)。相关性分析发现 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 呈正相关(图 1c),二者的 Pearson 相关系数为 0.433 5,95% 可信区间(confidence interval,*CI*)为[0.298 4,0.551 6]($P<0.01$)。

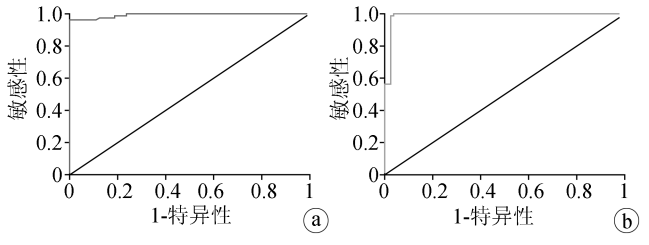


a:miRNA-126;b:miRNA-28-3p;c:miRNA-126 和 miRNA-28-3p 相关性分析 *:与对照组比较,$P<0.01$

图 1 血浆中 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 实时荧光定量结果及二者相关性分析

2.2 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 的 ROC 曲线分析

对 2 组患者血浆中 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 进行 ROC 曲线分析,发现 DM 患者 miRNA-126 的 ROC 曲线下面积(area under the curve,AUC)为 0.993 2,95% *CI* 为[0.984 7,1.000],与对照组比较差异均具有极显著性统计学意义($P<0.01$)。miRNA-126 ROC 曲线见图 2a,其截断值(cut-off)为 0.011 24,其灵敏度为 96.25%(89.43% ~ 99.22%),特异性为 98.75%(93.23% ~99.97%);DM 患者 miRNA-28-3p ROC 的 AUC 为 0.988 9,95% *CI* 为[0.973 6,1.000],与对照组比较差异具有极显著性统计学意义($P<0.01$)。其 ROC 曲线见图 2b,其 cut-off 值为 0.002 0,其灵敏度为 98.75%(93.23% ~99.97%),特异性为 97.50%(91.26% ~99.70%)。



a:miRNA-126;b:miRNA-28-3p

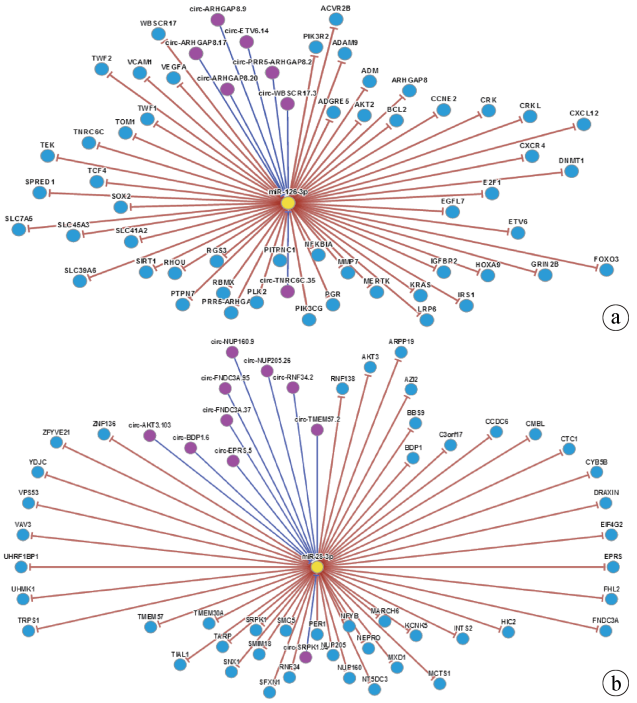
图 2 血浆中 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 表达的 ROC 曲线

2.3 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 生物信息学分析结果

通过多个软件的生物信息学分析发现,miRNA-126 的靶基因主要有:VEGFA、SPRED1、PIK3R2、PARP16、TNFRSF11B、ADAM9、SLC7A5 和 AKAP13;其生物学功能主要与结合蛋白、信号转导、细胞分化和调控细胞形态等有关;其主要可能参与调控信号通路有:

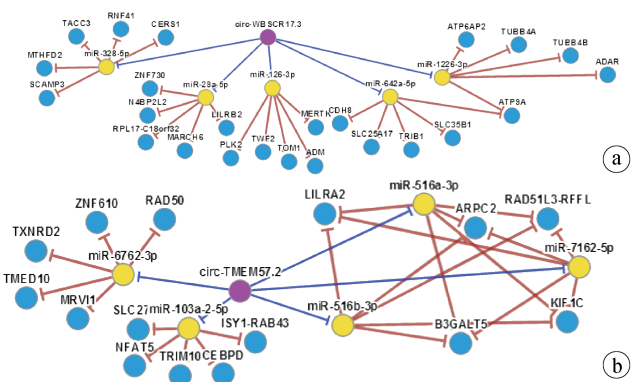
MAPK 信号通路(activation of MAPKK)、胰岛素受体信号通路(insulin receptor signaling pathway)、胰岛素信号通路(insulin signaling pathway)、趋化因子信号通路(chemokine signaling pathway)、连接蛋白-信号转导(Jak-STAT)通路和血管生成(angiogenesis)信号通路等。miRNA-28-3p 的靶基因主要有 IGF1、IGF2R、MAP2K3、MAPK1、RAF1、RASA1、COIL、PSAP、CSNK1G1、MTHFD2L、C4orf52、BIRC5、SGK269、AP3M1、IKBKB、SLC9A8、MAPK1、DRAM1、CDKN1A、SRPK1 和 BCL2L11 等;其生物学功能主要与细胞增殖、细胞凋亡、细胞迁移、信号转导、葡萄糖蛋白结合和脂肪酸氧化代谢等有关;其主要可能参与调控信号通路有:MAPK 信号通路(MAPK signaling pathway)、胰岛素/胰岛素生长因子(Insulin/IGF pathway)信号通路、内皮素信号通路(endothelin signaling pathway)、转化生长因子信号通路(TGF-beta signaling pathway)和血管生成(Angiogenesis)信号通路等。

通过对 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 的序列结构进行分析,对其可能相关的 lncRNA 和 circRNA 进行预测,发现与 miR-126 相关的 lncRNA 为 XIST,其相关 circRNA 为 PLXNB2_hsa_circ_000681;与 miRNA-28-3p 相关的 lncRNA 为 RP11-197N18.2、CTC-338M12.3、OIP5-AS1、MMP24-AS1、RP11-169K16.9、CTD-2116N17.1、RP11-815I9.4、RP11-384K6.6、PLK1S1、AJ271736.10、LOXL1-AS1、CTD-3014M21.4、AC092535.3、RP11-615I2.7、RP4-647J21.1 和 XIST 等,其相关 circRNA 为 ARL6IP4_hsa_circ_000812、ITPR1_hsa_circ_000705、C5orf25_hsa_circ_001525、KIF2A_hsa_circ_001171、FKBP8_hsa_circ_000270、KDM3B_hsa_circ_001423、KIAA1586_hsa_circ_001439、GBAS_hsa_circ_002070、STIM2_hsa_circ_001520、KPNB1_hsa_circ_002147、HIST1H3D_hsa_circ_000744、CPNE1_hsa_circ_000657、TIMELESS_hsa_circ_002140、FAM188A_hsa_circ_001836、FAM188A_hsa_circ_001349、FARSA_hsa_circ_000263、YLPM1_hsa_circ_001060 和 CHEK2_hsa_circ_001796 等。对二者相关靶基因和 circRNA 进行分析发现,多种基因和 circRNA 存在复杂的调控作用(图 3);关于 miRNA 与 circRNA 的相互作用机制,目前研究表明 circRNA 可能主要作为“海绵”(sponge)吸附 miRNA,而起到竞争性抑制 miRNA 靶基因的作用,我们通过软件分析发现了多种 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 的海绵 circRNA 和基因(图 4)。同时,miRNA 的表达可能具有细胞、组织和器官特异性,我们通过软件富集分析发现,miRNA-126 和 miRNA-28-3p 在各个器官的相对表达情况:发现 miRNA-126 在肺组织、肌肉组织和子宫等组织中的表达较高,而在肝和气管等组织中表达较低;miRNA-28-3p 在膀胱、前列腺、肌肉和子宫表达较高,而在肝、脂肪和脑组织中表达较低(图 5)。关于 miRNA 的研究,目前不单纯停留在 miRNA 的表达水平,大部分研究都进行深度功能研究,比如 miRNA 所在内含子、外显子、3'-UTR 和相关区域基因多态性位点(SNP)等方面的研究,我们通过生物信息学分析,发现 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 的相关生物信息学功能位置分布:miRNA-126 功能区域主要位于 9q12 染色体上 EGFL7 和 ve-statin 基因附近,并有多个 SNP 位点;miRNA-28-3p 主要位于 LPP 基因附近,并有多个 SNP 位点。



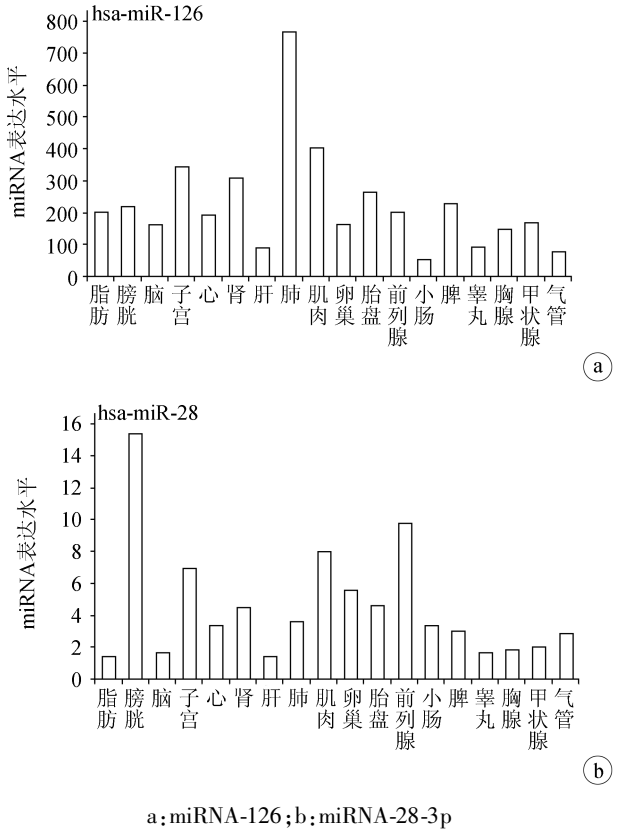
a:miRNA-126;b:miRNA-28-3p

图 3 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 与相关基因、circRNA 的调控图



a:miRNA-126;b:miRNA-28-3p

图 4 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 与相关的“海绵”基因和 circRNA



a:miRNA-126;b:miRNA-28-3p

图 5 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 器官特异性表达

3 讨论

我国 DM 患者人群众多,而且具有 DM 高危因素的人群基数较大,DM 的防治面临重大挑战。近年来关于 DM 与 miRNA 发病机制的研究成为热点,也发现了部分 miRNA 与 DM 发病机制密切相关,尤其近几年关于循环 miRNA 的发现和其检测技术的成熟,为 DM 的研究开辟了崭新途径和方法[20-21]。血清或血浆中存在大量的核酸外切酶,无修饰的 miRNA 在血浆患者血清中很快就被降解,血清或血浆中的循环 miRNA 稳定性较高,而且具有较强的对抗核糖核酸酶的能力,所以其检测具有较强可靠性[13,22]。王昱等[23]的研究发现, DM 患者血浆中 miRNA-296 的表达与血浆中瘦素水平有相关性,而 miRNA-9 的表达与胰岛素水平有相关性;晏少颖等[24]研究发现,DM 和 DM 前期患者血浆中存在差异表达的 miRNA,如 miRNA-1249、miRNA-320b、miRNA-572 和 miRNA-6069,可能是 DM 早期诊断新的生物标志物和潜在的治疗靶点;Wang 等[25]通过对伊朗和瑞典人群研究发现,DM 患者血浆中 miRNA-93、miRNA-103、miRNA-191、miRNA-423-3p、miRNA-425 和 miRNA-451 等都有差异表达,而且不同人群表达情况不一致;Pescador 等[26]研究发现,miRNA-138、miRNA-15b 和 miRNA-376a 都可能与 DM 发病有关,而且血清中 miRNA-503 和 miRNA-138 可以用来鉴别肥胖所致和非肥胖所致的 DM;另有研究表明,miR-143、miR-802 和 miR-200a/b/c 等可能通过作用于 mTORC2、GSK 而导致 DM 发生,miR-103、miR-107、miR-221 和 miR-223 等可能调控 PI3K-mTOR 信号通路而导致 DM 发生[11-12,27-28]。我们的临床样本初步研究发现,DM 患者血浆中 miRNA-126 的表达水平较对照组患者明显升高,DM 组血浆中 miRNA-126 的表达约为对照组的 60 倍;而 DM 患者血浆中 miRNA-28-3p 的表达水平约为对照组的 230 倍。该结果提示 DM 患者血浆中 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 呈现明显差异表达,而且循环 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 在 DM 患者血浆中的表达呈正相关(Pearson 相关系数为 0.433 5),说明 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 可能共同参与了 DM 的发病。

关于 DM 的诊断,目前主要依靠空腹血糖和餐后血糖的测量等进行诊断,然而,血糖的干扰因素较多,易受患者身体状态和饮食等影响,因此,积极探索其他诊治方法非常必要。我们通过对 2 组患者血浆中 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 进行 ROC 曲线分析,发现 miRNA-126 ROC 的 AUC 为 0.993 2,当其 cut-off 值为 0.011 24,其灵敏度高达 96.25%,特异性高达 98.75%;miRNA-28-3p ROC 的 AUC 为 0.988 9,当其 cut-off 值为 0.002 038,其灵敏度高达 98.75%,特异性高达 97.50%,该结果提示 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 都可以作为 DM 的潜在临床诊断新型生物标志物,并具有较高灵敏性和特异性,为 DM 的诊治提供了新途径。

关于 miRNA 的研究,归根结底还是要到功能研究的层面,我们先借助生物信息学分析,发现 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 都有可能参与了胰岛素信号通路和胰岛素生长因子信号通路(insulin signaling pathway、insulin/IGF pathway)和 MAPK 信号通路,由此可推测 miRNA-126 和 miRNA-28-3p 可能通过调控胰岛素信号通路等相关信号通路和靶基因而导致 DM 的发生,当然这还需要后续功能试验进行验证。

研究表明,miRNA 与 lncRNA 和 circRNA 等都有相互调控作用[29-32],尤其是 circRNA,由于其稳定性高、特异性表达能力强,其研究前景相当可观,因此,如果联合 miRNA、lncRNA 和 circRNA 三者进行研究,可以更深层次了解疾病的发生机制,为疾病的防治提供更好途径。我们通过生物信息学分析发现,miRNA-126 和 miRNA-28-3p 都调控着 lncRNA-XIST,而且与多种 circRNA 相关。

综上所述, miRNA-126 和 miRNA-28-3p 都可能参与了 DM 的发病,而且可以作为 DM 的潜在临床诊断新型生物标志物,主要机制可能是通过调控胰岛素信

号通路和胰岛素生长因子信号通路,并可能与 XIST 等 lncRNA 和多种 circRNA 有关。

[参考文献]

[1] Mozaffarian D,Benjamin EJ,Go AS,et al. Heart disease and stroke statistics-2016 update:a report from the American Heart Association[J]. Circulation,2016,133(4):e38 - 360. doi:10.1161/CIR.0000000000000350.

[2] Nichols M,Townsend N,Scarborough P,et al. Cardiovascular disease in Europe 2014:epidemiological update[J]. Eur Heart J,2014,35(42):2929. doi:10.1093/eurheartj/ehu378.

[3] Zhou M,Wang H,Zhu J,et al. Cause-specific mortality for 240 causes in China during 1990-2013:a systematic subnational analysis for the Global Burden of Disease Study 2013[J]. Lancet,2016,387(10015):251 - 272. doi:10.1016/S0140 - 6736(15)00551 - 6.

[4] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2015》概要[J].中国循环杂志,2016,31(6):521 - 528. doi:10.3969/j.issn.1000 - 3614.2016.06.001.

[5] 中华医学会内分泌学分会. 中国 2 型糖尿病合并肥胖综合管理专家共识[J]. 中华糖尿病杂志,2016,8(11):662 - 666. doi:10.3760/cma.j.issn.1674 - 5809.2016.11.006.

[6] 陆菊明. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)更新要点的解读[J]. 中国糖尿病杂志,2014,22(10):865 - 869. doi:10.3969/j.issn.1006 - 6187.2014.10.001.

[7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. 中国糖尿病杂志,2014,22(8):2 - 42. doi:10.3760/cma.j.issn.1674 - 5809.2014.07.004.

[8] 杨 薇,韩 睿. miRNA 在糖尿病及其并发症中的作用研究进展[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2015,9(6):994 - 998. doi:10.3877/cma.j.issn.1674 - 0785.2015.06.025.

[9] Feng J,Xing W,Xie L. Regulatory roles of microRNAs in diabetes[J]. Int J Mol Sci,2016,17(10):E1729. doi:10.3390/ijms17101729.

[10] 陈文江,陈 灿. 微 RNA 与心房颤动发病机制的研究进展[J]. 医学综述,2015,21(5):801 - 803. doi:10.3969/j.issn.1006 - 2084.2015.05.013.

[11] 成 力,李小庆,陈文江,等. miRNA-126-3p 与先天性心脏病肺动脉高压发病机制相关性的临床研究[J]. 重庆医学,2015,44(36):5103 - 5106. doi:10.3969/j.issn.1671 - 8348.2015.36.018.

[12] Beermann J,Piccoli MT,Viereck J,et al. Non-coding RNAs in development and disease:background,mechanisms,and therapeutic approaches[J]. Physiol Rev,2016,96(4):1297 - 1325. doi:10.1152/physrev.00041.2015.

[13] Navickas R,Gal D,Laucevicius A,et al. Identifying circulating microRNAs as biomarkers of cardiovascular disease:a systematic review[J]. Cardiovasc Res,2016,111(4):322 - 337. doi:10.1093/cvr/cvw174.

[14] Busch A,Eken SM,Maegdefessel L. Prospective and therapeutic screening value of non-coding RNA as biomarkers in cardiovascular disease[J]. Ann Transl Med,2016,4(12):236. doi:10.21037/atm.2016.06.06.

[15] Li JH,Liu S,Zhou H,et al. starBase v2.0:decoding miRNA-ceRNA,miRNA-ncRNA and protein-RNA interaction networks from large-scale CLIP-Seq data[J]. Nucleic Acids Res,2014,42(Database issue):D92 - D97. doi:10.1093/nar/gkt1248.

[16] Liu YC,Li JR,Sun CH,et al. CircNet:a database of circular RNAs derived from transcriptome sequencing data[J]. Nucleic Acids Res,2016,44(D1):D209 - D215. doi:10.1093/nar/gkv940.

[17] Hsu SD,Chu CH,Tsou AP,et al. miRNAMap 2.0:genomic maps of microRNAs in metazoan genomes[J]. Nucleic Acids Res,2008,36(Database issue):D165 - D169. doi:10.1093/nar/gkm1012.

[18] Mulligan MK,Mozhui K,Prins P,et al. GeneNetwork:a toolbox for systems genetics[J]. Methods Mol Biol,2017,1488:75 - 120. doi:10.1007/978 - 1 - 4939 - 6427 - 7_4.

[19] Tyner C,Barber GP,Casper J,et al. The UCSC Genome Browser database:2017 update[J]. Nucleic Acids Res,2017,45(D1):D626 - D634. doi:10.1093/nar/gkw1134.

[20] Sebastiani G,Nigi L,Grieco GE,et al. Circulating microRNAs and diabetes mellitus:a novel tool for disease prediction,diagnosis,and staging[J]. J Endocrinol Invest,2017. doi:10.1007/s40618 - 017 - 0611 - 4.

[21] Villard A,Marchand L,Thivolet C,et al. Diagnostic value of cell-free circulating microRNAs for obesity and type 2 diabetes:a meta-analysis[J]. J Mol Biomark Diagn,2015,6(6):251. doi:10.4172/2155 - 9929.1000251.

[22] Chen H,Lan HY,Roukos DH,et al. Application of microRNAs in diabetes mellitus[J]. J Endocrinol,2014,222(1):R1 - R10. doi:10.1530/JOE - 13 - 0544.

[23] 王 昱,李杰玉,杜伟鹏,等. 2 型糖尿病患者血浆中瘦素、胰岛素水平及其 microRNA 表达的相关性研究[J]. 中国糖尿病杂志,2016,24(1):28 - 31. doi:10.3969/j.issn.1006 - 6187.2016.01.006.

[24] 晏少颖,王天琼,黄盛文,等. 糖尿病和糖尿病前期患者血浆微小 RNA 差异表达谱分析[J]. 广东医学,2015,36(20):3148 - 3152. doi:10.13820/j.cnki.gdyx.2015.20.009.

[25] Wang X,Sundquist J,Zoller B,et al. Determination of 14 circulating microRNAs in swedes and iraqis with and without diabetes mellitus type 2[J]. PLoS One,2014,9(1):e86792. doi:10.1371/journal.pone.0086792.

[26] Pescador N,Perez-Barba M,Ibarra JM,et al. Serum circulating microRNA profiling for identification of potential type 2 diabetes and obesity biomarkers[J]. PLoS One,2013,8(10):e77251. doi:10.1371/journal.pone.0077251.

[27] Mirra P,Raciti GA,Nigro C,et al. Circulating miRNAs as intercellular messengers,potential biomarkers and therapeutic targets for Type 2 diabetes[J]. Epigenomics,2015,7(4):653 - 667. doi:10.2217/epi.15.18.

[28] Chien HY,Lee TP,Chen CY,et al. Circulating microRNA as a diagnostic marker in populations with type 2 diabetes mellitus and diabetic complications[J]. J Chin Med Assoc,2015,78(4):204 - 211. doi:10.1016/j.jcma.2014.11.002.

[29] Wang K,Long B,Liu F,et al. A circular RNA protects the heart from pathological hypertrophy and heart failure by targeting miR-223[J]. Eur Heart J,2016,37(33):2602 - 2611. doi:10.1093/eurheartj/ehv713.

[30] 孔德沛,訾晓渊,孙颖浩. 环状 RNA 研究进展及临床应用[J]. 第二军医大学学报,2016,37(3):330 - 335. doi:10.16781/j.0258 - 879x.2016.03.0330.

[31] Xing Z,Lin A,Li C,et al. lncRNA directs cooperative epigenetic regulation downstream of chemokine signals[J]. Cell,2014,159(5):1110 - 1125. doi:10.1016/j.cell.2014.10.013.

[32] 施 冰,薛大卫. 长链非编码 RNA 在心血管疾病的研究进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2015,17(10):1108 - 1110. doi:10.3969/j.issn.1009 - 0126.2015.10.029.

(编辑:刘 艺)