doi:10.11659/jjssx.12E022014

·临床研究·

血清miR-384、LIN28B在糖尿病视网膜病变中的表达及其诊断价值分析

唐云户,赵 媛,代 艳 (电子科技大学医学院附属绵阳医院/绵阳市中心医院眼科,四川 绵阳 621000)

[摘 要] **目的** 探讨糖尿病视网膜病变(DR)患者血清中microRNA-384(miR-384)、LIN28B的表达水平及其诊断价值。**方法** 选取2020年1月至2021年11月于本院确诊的100例2型糖尿病患者为研究对象,根据是否发生视网膜病变分为非DR组(40例)、DR组(60例);另选取同期本院的健康体检者40例作为对照组。采用qRT-PCR法检测血清miR-384、LIN28B相对表达水平,并分析两者与DR患者临床资料的关系。采用*Pearson*法分析DR患者血清中miR-384与LIN28B表达的相关性。采用*Logistic*回归分析DR发生的影响因素。采用受试者工作特征(*ROC*)曲线分析血清miR-384、LIN28B水平对DR患者的诊断价值。**结果** DR组患者血清中miR-384水平明显低于非DR组和对照组($P<0.05$),且非DR组低于对照组($P<0.05$);DR组患者血清中LIN28B水平明显高于非DR组和对照组($P<0.05$),且非DR组高于对照组($P<0.05$)。miR-384、LIN28B表达水平与患者糖尿病病程、血糖有关($P<0.05$)。*Pearson*法分析显示,DR患者血清中miR-384与LIN28B表达呈负相关($r=-0.296$,$P<0.05$)。*Logistic*回归分析结果显示,miR-384、LIN28B是DR发生的独立影响因素($P<0.05$)。*ROC*曲线分析结果显示,miR-384、LIN28B及二者联合检测诊断DR患者的曲线下面积(*AUC*)分别为0.625、0.646、0.682,特异度分别为67.50%、85.00%、97.50%。**结论** DR患者血清中miR-384呈低表达,LIN28B呈高表达,miR-384、LIN28B均是DR发生的影响因素,并且有望成为诊断DR的潜在血清学指标。

[关键词] 糖尿病视网膜病变;miR-384;LIN28B;诊断价值
[中图分类号] R587.2 [文献标识码] A [收稿日期] 2022-12-02

Expression of serum miR-384 and LIN28B in diabetic retinopathy and their diagnostic value

TANG Yun-hu, ZHAO Yuan, DAI Yan (Department of Ophthalmology, Mianyang Hospital Affiliated to School of Medicine University of Electronic Science and Technology/ Mianyang Central Hospital, Mianyang Sichuan 621000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression levels of microRNA-384 (miR-384) and LIN28B in serum of patients with diabetic retinopathy (DR) and their diagnostic value. **Methods** A total of 100 patients with type 2 diabetes diagnosed in our hospital from January 2020 to November 2021 were selected as the research subjects. According to the occurrence of retinopathy, the patients were divided into the non-DR group (40 cases) and the DR group (60 cases). In addition, 40 healthy person who underwent physical examination in our hospital during the same period were regarded as the control group. The relative expression levels of serum miR-384 and LIN28B were detected by qRT-PCR, and the relationship between the two indexes and the general clinical data of DR patients was analyzed. *Pearson* method was applied to analyze the correlation between the expression of miR-384 and LIN28B in serum of DR patients. *Logistic* regression was applied to analyze the influencing factors of DR. The diagnostic value of serum miR-384 and LIN28B levels for DR patients was analyzed by *receiver operating characteristic* (*ROC*) curve. **Results** The level of serum miR-384 in the DR group was obviously lower than that in the non-DR group and the control group ($P<0.05$), and the non-DR group was lower than the control group ($P<0.05$). The level of serum LIN28B in the DR group was obviously higher than that in the non-DR group and the control group ($P<0.05$), and the non-DR group was higher than the control group ($P<0.05$). The expression levels of miR-384 and LIN28B were related to the course of diabetes and blood glucose ($P<0.05$). *Pearson's* correlation analysis showed that the expression of miR-384 was negatively correlated with LIN28B in serum of DR patients ($r=-0.296$, $P<0.05$). *Logistic* regression analysis showed that miR-384 and LIN28B were the independent influencing factors for DR ($P<0.05$). The results of *ROC* curve analysis showed that the *area under the curve* (*AUC*) of miR-384, LIN28B and the combination of two in DR patients was 0.625, 0.646, and 0.682, respectively, and the specificity was 67.50%, 85.00%, and 97.50%, respectively. **Conclusion** The serum expression of miR-384 is low and LIN28B is high in DR patients. Both miR-384 and LIN28B are the influencing factors for the occurrence of DR and are expected to be potential serological markers for the diagnosis of DR.

Keywords: diabetic retinopathy; microRNA-384; LIN28B; diagnostic value

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy,DR)是2型糖尿病常见的微血管并发症,是老年人视力丧失的主要原因[1-2]。DR的发展与糖尿病病程、高血糖密切相关[3]。目前,DR的治疗已取得了进展,但由于医

[基金项目] 四川省卫生健康委员会科研课题(19PJ110)
[通信作者] 代 艳,E-mail:iiyiti@163.com

疗资源有限,部分地区眼底检查率较低,导致DR的治疗延误,患者预后不佳[4]。因此,寻找更多的血液学生物标志物诊断DR十分重要。miR-384作为非编码内源性microRNA(miRNAs)被广泛研究。研究表明,miRNAs可通过调控血管内皮生长因子的表达,从而在血管生成过程中发挥重要作用[5]。也有研究指出,miR-384-3p在DR小鼠模型中低表达,可影响模型小鼠视网膜新生血管的形成[6],提示miR-384可能参与DR的发生发展。LIN28B是一种高度保守的RNA结合蛋白,在调控机体发育中具有重要作用。研究发现,乳腺癌组织中LIN28B的阳性率明显高于癌旁组织,LIN28B的表达与患者远处转移、肿瘤分化程度、淋巴结转移呈正相关[7]。据报道,在糖尿病中miR-384和LIN28B之间具有一定联系[8]。然而,关于miR-384和LIN28B在DR患者血清中的表达水平及作用目前仍未可知。基于此,本研究通过检测DR患者、非DR患者及健康体检者血清中miR-384及LIN28B的表达水平,分析其与DR患者临床资料的关系,并绘制受试者工作特征(*receiver operating characteristic*,*ROC*)曲线以评价miR-384、LIN28B在DR患者中的临床诊断价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2020年1月至2021年11月于本院确诊的100例2型糖尿病患者作为观察组,其中男52例,女48例;年龄39~70岁,平均(56.51±7.92)岁。纳入标准:①符合2型糖尿病诊断标准[9];②完成DR筛查;③首次确诊并接受治疗。排除标准:①精神状态异常,无法正常交流;②合并青光眼、白内障等眼部疾病;③处于妊娠期或哺乳期;④临床信息不完整;⑤合并恶性肿瘤。根据是否合并视网膜病变将观察组患者分为非DR组(40例)和DR组(60例);另选取同期本院的健康体检者40例作为对照组,其中男18例,女22例;年龄38~68岁,平均(54.78±6.56)岁。观察组与对照组年龄和性别比较,差异无统计学意义(P>0.05)。本研究通过本院医学伦理委员会的批准(20191108002),患者及其家属了解本研究并签署知情同意书。

1.2 研究方法

收集整理患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、BMI、糖尿病病程、血糖等临床资料。采用qRT-PCR法检测DR组、非DR组患者及对照组健康体检者血清miR-384、LIN28B的相对表达水平,并进行比较。

1.3 统计学分析

利用SPSS 25.0统计软件进行数据分析,计数资料以率(%)表示,采用χ^2检验;计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用t或F检验。*Pearson*法分析DR患者血清中miR-384与LIN28B表达的相关性。*Logistic*回归分析DR发生的影响因素。*ROC*曲线分析血清miR-384、LIN28B水平对DR患者的诊断价值。P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清miR-384、LIN28B表达水平比较

DR组患者血清miR-384水平明显低于非DR组和对照组(P<0.05),且非DR组低于对照组(P<0.05);DR组患者血清LIN28B水平明显高于非DR组和对照组(P<0.05),且非DR组高于对照组(P<0.05),见表1。

表1 各组血清miR-384、LIN28B的表达情况($\bar{x}\pm s$)

组别	n	miR-384	LIN28B
对照组	40	0.97±0.21	1.03±0.26
非DR组	40	0.72±0.20*	1.31±0.32*
DR组	60	0.62±0.15*#	1.61±0.44*#
F		44.390	31.137
P		<0.001	<0.001

*:与对照组比较,P<0.05;#:与非DR组比较,P<0.05

2.2 DR患者血清miR-384、LIN28B表达水平与临床资料的关系

分别以DR患者血清miR-384、LIN28B表达水平的中位数0.64、1.38为临界值,将DR组患者分为miR-384高、低表达组和LIN28B高、低表达组,各30例。分析miR-384、LIN28B表达水平与DR患者临床资料的关系,结果显示,miR-384、LIN28B表达水平与患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、BMI无关(P>0.05),与糖尿病病程、血糖有关(P<0.05),见表2。

2.3 DR患者血清miR-384与LIN28B的相关性分析

*Pearson*法分析结果显示,DR患者血清中miR-384与LIN28B的表达呈负相关(r=−0.296,P<0.05),见图1。

2.4 多因素*Logistic*回归分析DR发生的危险因素

将2型糖尿病患者是否发生DR作为因变量(1=发生,0=未发生),以血清miR-384、LIN28B水平为自变量进行*Logistic*回归分析,结果显示,miR-384、LIN28B是DR发生的独立影响因素(P<0.05),见表3。

2.5 血清miR-384、LIN28B水平对DR患者的诊断效能

*ROC*曲线分析结果显示,miR-384、LIN28B单独诊断DR患者的*ROC*曲线下面积(*area under the curve*,*AUC*)及特异度均低于二者联合诊断的*AUC*及特异度,见表4、图2。

表2 DR患者血清miR-384、LIN28B表达水平与临床资料的关系[例(%)]

临床资料		n	miR-384低表达组	miR-384高表达组	χ^2	P	LIN28B低表达组	LIN28B高表达组	χ^2	P
年龄	<50岁	25	10(40.00)	15(60.00)	1.714	0.190	16(64.00)	9(36.00)	3.360	0.067
	≥50岁	35	20(57.14)	15(42.86)			14(40.00)	21(60.00)		
性别	男	28	16(57.14)	12(42.86)	1.071	0.301	17(60.71)	11(39.29)	2.411	0.121
	女	32	14(43.75)	18(56.25)			13(40.63)	19(59.38)		
糖尿病病程	<2年	27	18(66.67)	9(33.33)	5.455	0.020	19(70.37)	8(29.63)	8.148	0.004
	≥2年	33	12(36.36)	21(63.64)			11(33.33)	22(66.67)		
吸烟史	有	20	8(40.00)	12(60.00)	1.200	0.273	11(55.00)	9(45.00)	0.300	0.584
	无	40	22(55.00)	18(45.00)			19(47.50)	21(52.50)		
饮酒史	有	34	18(52.94)	16(47.06)	0.271	0.602	14(41.18)	20(58.82)	2.443	0.118
	无	26	12(46.15)	14(53.85)			16(61.54)	10(38.46)		
BMI	<21 kg/m^2	22	13(59.09)	9(40.91)	1.148	0.284	10(45.45)	12(54.55)	0.287	0.592
	≥21 kg/m^2	38	17(44.74)	21(55.26)			20(52.63)	18(47.37)		
血糖	<7 mmol/L	36	12(33.33)	24(66.67)	10.000	0.002	14(38.89)	22(61.11)	4.444	0.035
	≥7 mmol/L	24	18(75.00)	6(25.00)			16(66.67)	8(33.33)		

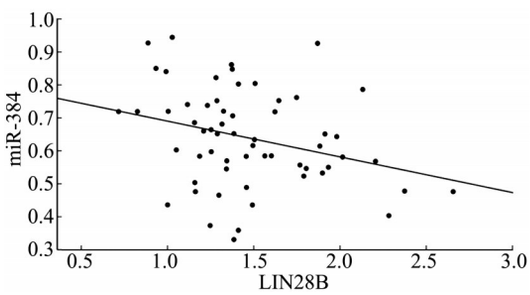


图1 DR患者血清miR-384与LIN28B的相关性分析

表3 *Logistic*回归分析影响DR发生的危险因素

影响因素	*B*	*SE*	*Wald*	*P*	*OR*	*95%CI*
miR-384	−3.017	1.428	4.464	0.035	0.049	0.003~0.804
LIN28B	1.770	0.664	7.096	0.008	5.869	1.596~21.583

表4 血清miR-384、LIN28B水平对DR患者的诊断效能

变量	*AUC*	截断值	*95%CI*	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数
miR-384	0.625	0.65	0.523~0.720	56.67	67.50	0.241 7
LIN28B	0.646	1.48	0.545~0.739	40.00	85.00	0.250 0
二者联合	0.682		0.581~0.771	35.00	97.50	0.325 0

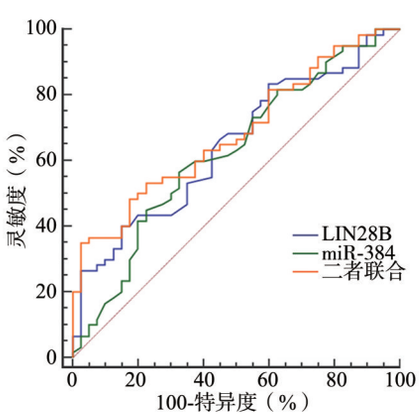


图2 血清miR-384、LIN28B水平对DR患者的诊断效能

3 讨论

DR是由高血糖诱导的代谢应激引起神经胶质和血管损伤之间复杂的相互作用而导致的[10]。临床上DR可分为非增殖性DR和增殖性DR,非增殖性DR代表DR的早期阶段,其中血管通透性增加和毛细血管闭塞是视网膜脉管系统中的2个主要观察结果;增殖性DR是DR的晚期阶段,其特征是新生血管形成[11]。目前,DR的发病率不断增加,对其进行早期诊治,可提高患者及家属的生活质量。因此,寻求潜在的DR血清学生物标志物以尽早诊断DR,对该病的治疗尤为重要。

miRNA是一种具有18~25个核苷酸的单链非编码RNA,其可以参与胚胎分化、增殖、血管生成的过程。研究发现,miRNA可影响DR分期及病程,对DR的病情发展具有较强的诊断价值[12]。miR-384作为一种小分子RNA,近年来被广泛研究。据报道,miR-384在癌细胞中呈低表达,其在多种肿瘤中发挥抑制细胞增殖、迁移和促进凋亡的作用[13-14]。也有研究指出,与正常细胞相比,大鼠缺血心肌细胞和缺氧H9c2细胞中miR-384-5p的表达水平降低[15],提示miR-384-5p可能是机体内一种重要的保护因子。因此,本研究通过检测DR患者中miR-384的表达探讨其在DR中的作用,结果显示,DR组患者血清中miR-384水平明显低于非DR组和对照组,且非DR组低于对照组。表明miR-384异常与DR的进展密切相关。通过分析miR-384表达水平与DR患者临床资料的关系发现,血清miR-384表达水平与患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、BMI无关,与糖尿病病程、血糖有关,这提示miR-384可能是DR发生的临床诊断指标。

LIN28B是一种高度保守的结构蛋白,可在调节干细胞活性方面发挥作用,也是调节发育分化的关键因子[16-17]。研究发现,在结肠癌组织中检测到LIN28B过表达[18]。也有研究表明,LIN28B可促进神经母细胞瘤迁移,沉默LIN28B可抑制肿瘤的生长,并明显延长患

者的生存期[19]。LIN28属于Blet-7 miRNA家族的一员,Blet-7 miRNA通过抑制LIN28B的表达来减弱糖尿病相关动脉粥样硬化中的炎症作用[20],提示LIN28B可能参与了糖尿病并发症的进程。Fu等[21]研究发现,miR-152/LIN28B轴可以通过调节VEGF信号来影响高糖诱导的人视网膜内皮细胞的血管生成,并可影响DR的进程。然而血清LIN28B在DR中的作用目前尚不清楚。本研究结果显示,DR组患者血清中LIN28B水平明显高于非DR组和对照组,且非DR组高于对照组;LIN28B表达水平与糖尿病病程、血糖有关。以上结果均提示LIN28B可能参与了DR的病理过程,值得进一步的探究。

本研究采用*Pearson*法分析DR患者血清中miR-384与LIN28B表达的相关性,结果发现,DR患者血清中miR-384与LIN28B表达呈负相关,且miR-384、LIN28B均是DR发生的独立影响因素。这表明miR-384与LIN28B的表达密切相关,miR-384、LIN28B可能是DR潜在的生物标志物,从基因水平增加miR-384的表达或干扰LIN28B的表达,可能是治疗DR的一个新思路。*ROC*曲线结果显示,miR-384、LIN28B二者联合检测诊断DR患者的*AUC*及特异度均高于单项检测。可见,二者联合能够弥补单项血清LIN28B或miR-384检测的不足,对DR的临床诊断具有较高的应用价值。

综上所述,DR患者血清中miR-384呈低表达,LIN28B呈高表达,miR-384、LIN28B表达水平与DR患者糖尿病病程、血糖有关;且DR患者血清中miR-384与LIN28B表达呈负相关,miR-384、LIN28B均是DR发生的影响因素,二者有望成为DR临床诊断的指标。

[参考文献]

[1] Simó-Servat O, Hernández C, Simó R. Diabetic retinopathy in the context of patients with diabetes[J]. Ophthalmic Res, 2019, 62(4): 211-217. doi: 10.1159/000499541.

[2] 仇秀娟,刘彦铄,刘凤桐. 全视网膜激光光凝对糖尿病视网膜病变患者黄斑区脉络膜厚度的影响及与预后的相关性[J]. 局解手术学杂志,2022,31(3):216-220. doi:10.11659/jjssx.08E021065.

[3] Lin KY, Hsih WH, Lin YB, et al. Update in the epidemiology, risk factors, screening, and treatment of diabetic retinopathy[J]. J Diabetes Investig,2021,12(8):1322-1325. doi: 10.1111/jdi.13480.

[4] 何 琏,李 珊,季学磊. 老年2型糖尿病病人血红蛋白和糖化血红蛋白水平与视网膜病变风险的相关研究[J]. 实用老年医学, 2020, 34(12): 1243-1245. doi: 10.3969/j.issn.1003-9198.2020.12.008.

[5] Han N, Xu H, Yu N, et al. MiR-203a-3p inhibits retinal angiogenesis and alleviates proliferative diabetic retinopathy in oxygen-induced retinopathy (OIR) rat model via targeting VEGFA and HIF-1α[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2020, 47(1): 85-94. doi: 10.1111/1440-1681.13163.

[6] Xia F, Sun JJ, Jiang YQ, et al. MicroRNA-384-3p inhibits retinal neovascularization through targeting hexokinase 2 in mice with diabetic retinopathy[J]. J Cell Physiol, 2018, 234(1): 721-730. doi: 10.1002/jcp.26871.

[7] 马 楠,苏鹏程. Lin28B在三阴乳腺癌的表达及作用机制分析[J]. 临床医药文献电子杂志,2019,6(22):104.

[8] Zhang W, Sui Y. CircBPTF knockdown ameliorates high glucose-induced inflammatory injuries and oxidative stress by targeting the miR-384/LIN28B axis in human umbilical vein endothelial cells[J]. Mol Cell Biochem, 2020, 471(1-2):101-111. doi:10.1007/s11010-020-03770-2.

[9] 翁建平. 中国2型糖尿病防治指南(2013年版)[J]. 中华内分泌代谢杂志,2014,30(10):893-942. doi:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2014.10.020.

[10] Lechner J, O'Leary OE, Stitt AW. The pathology associated with diabetic retinopathy[J]. Vision Res, 2017, 139(1): 7-14. doi: 10.1016/j.visres.2017.04.003.

[11] Wang W, Lo ACY. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(6): 1816. doi: 10.3390/ijms19061816.

[12] 刘 琪,王绍飞,丁 琳,等. 血清miR-211对糖尿病视网膜病变的诊断价值及其影响因素分析[J]. 临床检验杂志,2021,39(6): 445-448. doi:10.13602/j.cnki.jcls.2021.06.10.

[13] 蒙 秋,黄守国. CircKIF4A靶向调控miR-384表达对卵巢癌SKOV3细胞增殖和凋亡的影响[J]. 中国妇产科临床杂志,2021, 22(6):635-638. doi:10.13390/j.issn.1672-1861.2021.06.021.

[14] 刘皎皎,杨跃青,戴 玲,等. microRNA-384靶向HDAC9调控肝癌细胞增殖迁移侵袭和凋亡的机制研究[J]. 中国中西医结合消化杂志,2020,28(8):573-579. doi:10.3969/j.issn.1671-038X.2020.08.02.

[15] Bao Y, Lin C, Ren J, et al. MicroRNA-384-5p regulates ischemia-induced cardioprotection by targeting phosphatidylinositol-4, 5-bisphosphate 3-kinase, catalytic subunit delta (PI3K p110δ)[J]. Apoptosis, 2013, 18(3): 260-270. doi: 10.1007/s10495-013-0802-1.

[16] Huang Q, Niu Y, Song L, et al. Does LIN28B gene dysregulation make women more likely to abort?[J]. Reprod Fertil, 2021, 2(3): 211-220. doi:10.1530/RAF-21-0033.

[17] West RC, McWhorter ES, Ali A, et al. HMGA2 is regulated by LIN28 and BRCA1 in human placental cells[J]. Biol Reprod, 2019, 100(1):227-238. doi:10.1093/biolre/ioy183.

[18] Ma L, Zhao Q, Chen W, et al. Oncogene Lin28B increases chemosensitivity of colon cancer cells in a let-7-independent manner[J]. Oncol Lett, 2018, 15(5):6975-6981. doi: 10.3892/ol.2018.8250.

[19] Chen D, Cox J, Annam J, et al. LIN28B promotes neuroblastoma metastasis and regulates PDZ binding kinase[J]. Neoplasia, 2020, 22(6):231-241. doi:10.1016/j.neo.2020.04.001.

[20] Brennan E, Wang B, McClelland A, et al. Protective effect of let-7 miRNA family in regulating inflammation in diabetes-associated atherosclerosis[J]. Diabetes, 2017, 66(8): 2266-2277. doi: 10.2337/db16-1405.

[21] Fu X, Ou B. miR-152/LIN28B axis modulates high-glucose-induced angiogenesis in human retinal endothelial cells via VEGF signaling[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(2): 954-962. doi: 10.1002/jcb.28978.

(编辑:杨 颖)