

肥胖患者内脏脂肪细胞来源的外泌体 miRNAs 表达谱分析*

郭磊¹, 吕静², 刘继军¹, 黄云飞¹, 王阳阳³, 王冀邯^{2△}, 赵和平^{2▲}

(1. 西安交通大学附属红会医院脊柱外科, 陕西西安 710054; 2. 西安交通大学附属红会医院检验科, 陕西西安 710054; 3. 电信科学技术第十研究所多媒体技术部, 陕西西安 710000)

摘要:目的 探讨肥胖人群内脏脂肪细胞分泌的外泌体中 miRNAs 表达谱的改变, 寻找与肥胖相关的差异表达 miRNAs, 为肥胖及其相关疾病发病机制的探讨和有效预防提供理论基础。方法 运用 R/Bioconductor 软件平台对美国国立生物技术信息中心(NCBI)公共数据平台中的 GEO 芯片数据集 GSE50574 进行差异 miRNAs 表达谱分析, 使用 3 个主要的生物信息学网站(TargetScan, miRDB 和 miRWalk)对差异表达 miRNAs 进行靶基因预测, 基于 Cytoscape 软件构建差异表达 miRNAs-target genes 调控网络, 通过 DAVID 注释工具对网络中的基因进行功能注释。结果 与健康对照相比, 肥胖患者内脏脂肪细胞分泌的外泌体 miRNAs 表达谱显示 19 个 miRNAs 表达水平发生显著变化(倍数改变 >2 , $P<0.05$), 其中 1 个 miRNA 表达水平上调, 18 个 miRNAs 表达水平下调。借助于 miRNA 靶基因预测网站对 19 个差异表达 miRNAs 靶基因进行预测, 共得到潜在靶基因 919 个。分别对表达上调和下调的两组差异表达 miRNAs 及其靶基因进行调控网络图的绘制和 DAVID 功能注释, 结果提示上调组 miRNA 分别参与了 3 个 KEGG 通路和 17 个基因本体论(GO)_生物学过程(BP)、5 个 GO_细胞组分(CC)、9 个 GO_分子功能(MF)注释条目($P<0.05$), 下调组 miRNAs 分别参与了 13 个 KEGG 通路和 73 个 GO_BP、18 个 GO_CC、30 个 GO_MF 注释条目($P<0.05$)。结论 肥胖患者内脏脂肪细胞分泌的外泌体 miRNAs 表达谱系与健康对照具有显著差异。借助高通量组学和相关数据库的联合运用, 对内脏脂肪细胞及其功能作用有了更深入的了解, 并为肥胖及肥胖相关疾病的发病机制研究提供了新的视角。

关键词: 肥胖; 内脏脂肪; 外泌体; miRNAs; 功能注释

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.21.004 中图法分类号: R394

文章编号: 1673-4130(2018)21-2604-06 文献标识码: A

Expression profiling of exosomal miRNAs derived from visceral fat tissue of obese patients*

GUO Lei¹, LYU Jing², LIU Jijun¹, HUANG Yunfei¹, WANG Yangyang³,
WANG Jihan^{2△}, ZHAO Heping^{2▲}

(1. Department of Spinal Surgery, Honghui Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710054, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Honghui Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710054, China; 3. Department of Multimedia, the Tenth Research Institute of Telecommunications Technology, Xi'an, Shaanxi 710000, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of the expression profiles of miRNAs in the secretion of visceral adipocytes in obese people, and to find the differentially expressed miRNAs associated with obesity, so as to provide a basis for the study of the pathogenesis and effective prevention of obesity and related diseases. **Methods** R/Bioconductor language was performed to analyze the miRNAs expression profiling of GSE50574 retrieved from NCBI, three bioinformatics websites (TargetScan, miRDB and miRWalk) were used for miRNAs target prediction, cytoscape was applied for construction of miRNAs-target genes network, and DAVID online-tools was utilized for gene functional annotation. **Results** Compared with healthy controls, the expression of 19 miRNAs were changed significantly (fold change >2 , $P<0.05$), of which 1 miRNA were up-regulated and 18 miRNAs were down-regulated. Nineteen differentially expressed miRNAs target genes were predicted by using the microRNA target gene prediction website, and 919 genes were obtained. The network of up-

* 基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(81702067); 中国博士后科学基金面上资助项目(2017M613176); 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2017JQ8041)。

作者简介: 郭磊, 男, 主治医师, 主要从事疾病分子诊断标志物的研究。△ 通信作者, E-mail: 513837742@qq.com; ▲ 共同通信作者, E-mail: redcrossjyk@163.com。

本文引用格式: 郭磊, 吕静, 刘继军, 等. 肥胖患者内脏脂肪细胞来源的外泌体 miRNAs 表达谱分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(21): 2604-2608.

regulated and down-regulated miRNAs were constructed, and DAVID annotation was performed. The target genes of up-regulated miRNAs involved in 3 KEGG pathway and 17 GO_BP, 5 GO_CC, 9 GO_MF ($P < 0.05$). And the target genes of down-regulated miRNAs were involved in 13 KEGG pathway and 73 GO_BP, 18 GO_CC, 30 GO_MF ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression profiling of exosomal miRNAs derived from visceral fat tissue of obese patients were significantly different from healthy controls. With the help of high-throughput datasets and bioinformatics analyses, more information about visceral fat and its function were revealed, and a new perspective for the pathogenesis of obesity and obesity-related disorders was provided.

Key words: obesity; visceral fat; exosome; miRNAs; functional annotation

随着经济的飞速发展,我国人民生活质量显著提高,生活方式也发生了巨大的变化,在西方国家较为突出的肥胖问题也逐渐出现在我国国民当中。肥胖是指脂肪组织在机体内的过度沉积达到损害健康的状态,已经被世界卫生组织界定为全球流行性最广的慢性非传染性疾病^[1],已成为 21 世纪最严重的全球性公共卫生问题之一。肥胖不仅是指体质量超过一定的标准,通常还伴有脂肪过度累积和胰岛素抵抗这两大基本特征,并且低度全身系统性慢性炎症反应也是肥胖等代谢性疾病普遍具有的特征^[2]。肥胖对于机体的生理过程有重要的影响,与胰岛素抵抗、2 型糖尿病、高血压、血脂代谢异常等有着不可忽视的联系^[3],严重影响国民健康,给个人、家庭和社会带来了一定的负担。因此,深入探讨肥胖及其相关疾病的发病机制迫在眉睫。本研究基于高通量组学和相关数据库的联合运用,对肥胖患者内脏脂肪细胞分泌的外泌体 miRNAs 表达谱系变化进行研究,探讨肥胖与其相关疾病发病机制之间的内在联系。

1 材料与方法

1.1 材料 研究所用数据来源于美国国立生物技术信息中心(NCBI)公共数据平台中 GEO 芯片数据集 GSE50574 的原始芯片数据 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/query/acc.cgi?acc=GSE50574>),该数据集包括 12 例志愿者内脏脂肪细胞分泌的外泌体 miRNAs 芯片数据,即 7 例肥胖和 5 例健康对照志愿者。研究对象均为女性,年龄 11~19 岁,肥胖组年龄(15.0 ± 2.1)岁,健康对照组年龄为(15.6 ± 3.4)岁,差异无统计学意义($P > 0.05$),体质量指数(BMI)均值分别为(41.29 ± 6.50)、(23.2 ± 1.30) kg/m^2 ,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在此研究中,将 $\text{BMI} > 30 \text{ kg}/\text{m}^2$ 定义为肥胖, $\text{BMI} < 25 \text{ kg}/\text{m}^2$ 定义为健康对照。所有志愿者在术前均签署知情同意书并经历 8 h 禁饮食状态后,通过外科手术获取网膜脂肪组织后立即进行分离培养。在培养 60 min 后收集上清液,使用 ExoQuick-TC Precipitation Solution 试剂盒(System Biosciences, Mountain View, CA)进行外泌体的分离和纯化。提取外泌体中 miRNAs 并进行后续表达谱芯片实验,所用芯片购自昂飞公司(Affymetrix, Santa Clara, CA),类型为 Affymetrix Multispecies miRNA-3 Array。

1.2 方法

1.2.1 差异表达 miRNAs 的筛选 使用 R/Bioconductor 软件平台对芯片数据进行分析;运用 limma 包筛选差异表达 miRNAs,当倍数改变(FC) > 2 , $P < 0.05$ 时判定差异有统计学意义;运用 pheatmap 包对差异表达 miRNAs 进行双聚类分析;运用 ggplot 包进行火山图的绘制。

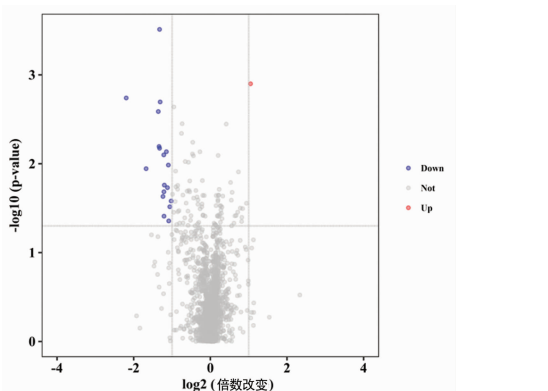
1.2.2 差异表达 miRNAs-靶基因的调控网络 为增加预测靶基因的准确性,运用 3 个主要的在线生物信息学网站 TargetScan (http://www.targetscan.org/vert_71/)、miRDB (<http://www.mirdb.org/>) 和 miRWalk (<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/>)对差异表达 miRNAs 的靶基因进行预测,并将 3 个网站中均存在的靶基因定义为相应 miRNA 的潜在靶基因。借助于 Cytoscape 软件对差异表达 miRNAs 及其潜在靶基因调控网络进行可视化^[4],即绘制 miRNAs-靶基因的调控网络图。

1.2.3 潜在靶基因的功能注释 使用 DAVID 注释工具对差异表达 miRNAs 的表达上调组和下调组 miRNAs 潜在靶基因分别进行功能注释,物种选择为人类。选择 KEGG 通路和基因本体论(GO)_生物学过程(BP)、细胞组分(CC)、分子功能(MF)模块进行主要研究,当 $P < 0.05$ 时为基因富集具有统计学意义。

2 结果

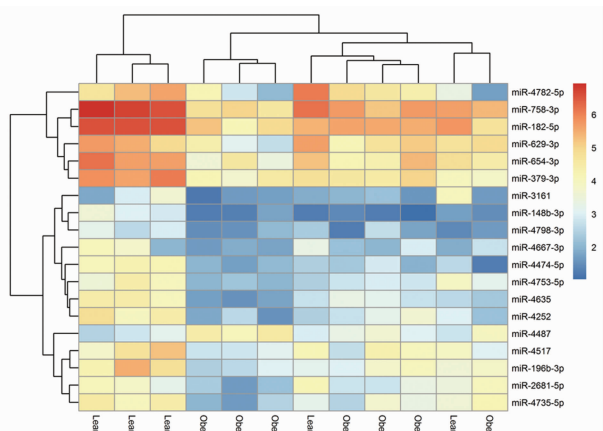
2.1 差异表达 miRNAs 的筛选 本研究对 NCBI 公共数据平台中 GEO 芯片数据集 GSE50574 芯片进行质量控制,结果提示所选用的芯片数据质量可靠,能够进行下一步的差异表达 miRNAs 的表达谱分析。运用 R/Bioconductor 软件平台对数据集进行分析,结果显示肥胖患者内脏脂肪细胞分泌的外泌体中 miRNAs 表达谱相对于健康对照发生了显著改变,即 19 个 miRNAs 表达水平发生变化($\text{FC} > 2$, $P < 0.05$)。其中,表达水平上调的仅有 1 个 miRNA,即 miR-4487,其余 18 个表达水平显著下调的 miRNAs 分别为 miR-654-3p、miR-182-5p、miR-758-3p、miR-148-3p、miR-4753-5p、miR-4474-5p、miR-4517、miR-3161、miR-2681-5p、miR-4635、miR-629-3p、miR-379-3p、miR-4735-5p、miR-4252、miR-196b-3p、miR-4798-3p、miR-4782-5p 和 miR-4667-3p;在所有发生差异表达的 miRNAs 当中,miR-4474-5p 的表达改变最为显著,即健康对照志愿者内脏脂肪细胞分泌的外泌体中 miR-4474-5p 表达水平为肥胖患者的 4.58 倍。绘制

火山图更加直观地展示肥胖患者和健康对照志愿者的内脏脂肪细胞分泌的外泌体 miRNAs 总体表达情况,见图 1,并进一步对这些差异表达的 miRNAs 进行双聚类分析,结果提示筛选出的 miRNAs 在两组研究对象内脏脂肪细胞分泌的外泌体中具有较好的重复性,分类明显,见图 2。



注:火山图中横坐标为相对应 miRNAs 表达值的 log2(倍数改变)转化值,纵坐标为显著性检验 P 值的负对数 -log10(P) 值。红色点为表达上调 miRNA,蓝色点为表达下调 miRNAs,灰色点为表达无显著性差异的 miRNAs

图 1 肥胖患者和健康对照志愿者的内脏脂肪细胞分泌的外泌体 miRNAs 总体表达情况



注:每一行代表一个差异表达 miRNA,每一列代表一个样本。Lean 列代表健康对照组样本,Obese 列代表肥胖患者样本。热图中的红色提示 miRNAs 表达上调,蓝色提示 miRNAs 表达下调

图 2 肥胖患者和健康对照志愿者的内脏脂肪细胞分泌的外泌体中差异表达 miRNAs 的双聚类分析

2.2 差异表达 miRNAs-target genes 的调控网络

通过 3 个主要的生物信息学网站 (TargetScan、miRDB 和 miRWalk) 对差异表达 miRNAs 的靶基因进行预测,得到 19 个差异表达 miRNAs 的潜在靶基因共 919 个。将得到的潜在靶基因分为上调差异表达 miRNAs 和下调差异表达 miRNAs 的潜在靶基因,从而得到 1 个上调 miRNA 的潜在靶基因 177 个,其余 18 个下调 miRNAs 的潜在靶基因共有 764 个。

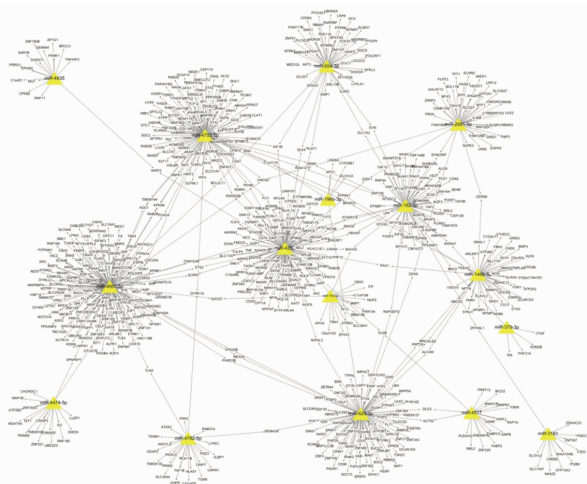
通过可视化 miRNAs-靶基因的调控网络,见图 3、4,共得到 819 个调控关系,其中 miR-4667-3p、miR-4252、miR-4753-5p、miR-629-3p 和 miR-182-5p 这 5 个 miRNAs 共有 568 个调控关系,在网络中靶基因所

占的比例近 70%,且 4 个靶基因 (BACH2、KIF1B、TET3 和 UNC5D) 分别受到 3 个 miRNAs 的调控。



注:调控网络中的黄色三角代表差异表达 miRNAs,椭圆为差异表达 miRNAs 的潜在靶基因,每一箭头代表一个调控关系

图 3 肥胖患者和健康对照志愿者的内脏脂肪细胞分泌的外泌体中表达上调的 miRNA-靶基因调控网络



注:调控网络中的黄色三角代表差异表达 miRNAs,椭圆为差异表达 miRNAs 的潜在靶基因,每一箭头代表一个调控关系

图 4 肥胖患者和健康对照志愿者的内脏脂肪细胞分泌的外泌体中表达下调的 miRNAs-靶基因调控网络

2.3 潜在靶基因的功能注释

运用 DAVID 网站对潜在靶基因进行功能注释,结果显示,肥胖患者脂肪组织细胞分泌的外泌体中上调的 miR-4487 潜在靶基因共参与了 7 个 KEGG 通路和 38 个 GO_BP、9 个 GO_CC、14 个 GO_MF,其中具有统计学意义的富集条目分别为 3 个 KEGG 通路和 17 个 GO_BP、5 个 GO_CC、9 个 GO_MF (P<0.05);表达水平下调的 18 个 miRNAs 潜在靶基因共参与了 18 个 KEGG 通路和 119 个 GO_BP、33 个 GO_CC、51 个 GO_MF,其中具有统计学意义的富集条目分别为 13 个 KEGG 通路和 73 个 GO_BP、18 个 GO_CC、30 个 GO_MF (P<0.05)。本研究总结了位于前列具有显著性差异的 KEGG 通路和 GO_BP、GO_CC、GO_MF 注释条目 (P<0.05),见表 1。

表 1 差异表达 miRNAs 潜在靶基因的功能注释结果

表达	注释条目	功能	P 值	基因
表达上调 miRNA	KEGG	p53 signaling pathway	0.02	CDKN1A, CCND1, APAF1, TP73
		chronic myeloid leukemia	0.03	CDKN1A, CCND1, BCL2L1, ABL1
		small cell lung cancer	0.04	TRAF1, CCND1, APAF1, BCL2L1
	GO_BP	response to organonitrogen compound	0.01	CDKN1A, CCND1, TP73
		intrinsic apoptotic signaling pathway in response to DNA damage	0.01	BCL2L1, ABL1, CASP2, TP73
		adipose tissue development	0.02	PPARD, AMER1, RORC
		activation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process	0.04	SLC11A2, NOD1, APAF1, CASP2
	GO_CC	substrate adhesion-dependent cell spreading	0.04	ANTXR1, ABL1, SRGAP2
		perinuclear region of cytoplasm	0.00	KCNH1, MOBP, GSDMA, TOLLIP, SLC39A13, SLC11A2, CDKN1A, KCNS1, HIF1AN... (14 基因)
		voltage-gated sodium channel complex	0.01	SCN8A, SCN5A, SCN4A
		cytosol	0.01	TRAF1, CPLX1, GSDMA, PPP2R5B, AP1G1, TOLLIP, PPP6R1, PPM1A, BCL2L1... (43 基因)
	GO_MF	dendrite	0.03	KCNH1, CPLX1, OPRK1, SORT1, SNAP47, RPL28, RUFY3, KCNIP3
		voltage-gated potassium channel complex	0.04	KCNH1, KCNS1, CNTNAP1, KCNIP3
		protein binding	0.00	KCNH1, SPG7, PPARD, PPP2R5B, NDST1, TOLLIP, AP1G1, CRCP, RORC, WDR82... (97 基因)
		protein homodimerization activity	0.03	CCDC88A, SLC39A13, OLFML2A, BCL2L1, GREM2, NOD1, PRLR, HIF1AN, DGKD... (13 基因)
表达下调 miRNAs	KEGG	hydrogen ion transmembrane transporter activity	0.03	SLC11A2, SLC36A1, ATP6V0E2
		sequence-specific DNA binding	0.04	PPARD, HIF1A, TFPC2L1, TEX5, ZBTB4, RORC, WHSC1, ZBTB18, TP73, KCNIP3
		DNA-directed RNA polymerase activity	0.04	CRCP, POLR2J2, POLR2J3
		cGMP-PKG signaling pathway	0.00	GNA13, ADCY3, SLC25A5, MYLK4, CREB5, PRKG1, SRF, VASP, ATP2B1, ATP2B2... (16 基因)
	GO_BP	platelet activation	0.01	ADCY3, GNA13, TLN2, MYLK4, PPP1R12A, RAP1A, PRKG1, AKT3, PIK3R1, SRC, VASP, SYK
		TGF-beta signaling pathway	0.02	NOG, TNF, SP1, TGFBR1, BMPR2, SMAD2, ID4, SKP1, BMP7
		mTOR signaling pathway	0.03	TNF, ULK2, ULK3, CAB39, PTEN, AKT3, PIK3R1
		ras signaling pathway	0.03	PLD1, FLT1, RAB5B, KIT, FOXO4, PAK2, ETS2, RAPGEF5, RAP1A, SHC1, NGFR... (16 基因)
	GO_BP	transcription, DNA-templated	0.00	ZNF583, RBM15B, ZNF451, INO80, CBX2, RORA, NR2E1, ZNF829, CITED2... (104 基因)
		intracellular signal transduction	0.00	ADCY3, NRG3, NUAK1, AKAP13, KIT, SRC, CTGF, RAPGEF5, SH2B3, SHC1... (29 基因)
		positive regulation of gene expression	0.01	E2F1, NOG, TNF, LDLR, TGFBR1, CDK6, KIT, PTGFR, DTNBP1, CITED2, PPM1F... (21 基因)
		regulation of insulin secretion	0.01	SLC16A1, TNF, HNF1A, SLC25A5, RAP1A, SYT9, RFX3, ENSA, CPT1A
	GO_CC	lipid metabolic process	0.03	SC5D, PLCXD8, LDLR, FADS1, ABHD4, GPPD5, LPIN2, PITPNM1, SLC16A1, NAA40... (13 基因)
		cytoplasm	0.00	CTTNBP2NL, ADCY3, PPP2R5B, PRKG1, ZNRF2, CITED2, ATP2B2, BDNF, ILK... (267 基因)
		cell junction	0.00	LZTS3, NAMPT, GABRB3, CRIPT, CPEB3, DUOX2, SYT9, DTNBP1, ZNRF2, ILK... (33 基因)
nucleoplasm		0.00	XPO1, SLC44A1, XPO4, RBM15B, SYNCRIP, CBX2, SAE1, RORA, FOXO4, MIER1... (139 基因)	
GO_MF	cell surface	0.04	DCBLD2, MBL2, IL1R1, TNF, LDLR, ADAMTS15, BMPR2, SDC2, SLC1A2, KCNQ8... (31 基因)	
	intracellular	0.04	ADCY3, XPO1, NRG3, ZNF583, RAB5B, RHOV, LATS1, ZNF343, ZNF778, ARL11... (66 基因)	
	transcription factor activity, sequence-specific DNA binding	0.00	E2F1, TAF1B, BACH2, HNF1A, ZNF583, ZNF451, RORA, ZEB1, CBFA2T3, FOXO4... (73 基因)	
	DNA binding	0.00	E2F1, HNF1A, INO80, CBX2, RORA, ZEB1, FOXO4, ZNF829, ZNF343, ZNF778, FLI1... (92 基因)	
GO_MF	protein binding	0.00	ALS2, PPP2R5B, SYNCRIP, RORA, CITED2, ZNF778, CUL5, FLI1, CTGF, ILK... (394 基因)	
	mRNA 3'-UTR binding	0.00	ZFP36L1, CPEB2, CPEB3, FMR1, RBMS3, CIRBP, ELAVL2, FXR1	
	core promoter sequence-specific DNA binding	0.03	SP1, KMT2A, NR1D2, RORA, NFYA, ZFH3	

3 讨 论

肥胖是指脂肪组织在机体内的过度沉积达到损害健康的状态,已被世界卫生组织界定为全球流行性最广的慢性非传染性疾病^[1,4-5],是 21 世纪最严重的全球性公共卫生问题之一。2000 年世界卫生组织提出的 BMI 关于肥胖诊断指标仍在沿用,其作为界定超重和肥胖的标准,已得到广泛共识^[6]。值得注意的是,体内脂肪组织的分布也影响着机体代谢状况,若脂肪主要沉积在腹部、肝脏及内脏周围等,则其对于一些疾病的发病机制具有更重要的病理生理意义^[7-14]。

脂肪组织作为一个重要的内分泌器官,具有旁分泌和自分泌功能,能够分泌多种多肽类激素和细胞因子,并且许多分泌蛋白相应受体呈阳性,而不同部位的脂肪细胞的分泌和蛋白受体表达存在一定的差异,其中内脏脂肪组织能够分泌更多的游离脂肪酸、炎症因子等,从而对脂质代谢、慢性全身性炎症反应具有重要影响,而皮下脂肪分泌作用更多于局部的功能物质^[15-18]。脂肪细胞还具有分泌外泌体的重要功能^[19]。外泌体是一种直径为 40~100 nm 的小囊泡,内含有大量的遗传信息,通过旁分泌或自分泌作用对邻近细胞或远处的靶细胞进行调控而发挥活化或转化细胞等作用^[20],是一种新发现的细胞间交流信息的方式^[21]。在肥胖病理状态下,内脏脂肪细胞分泌外泌体的数量及其功能均发生显著改变^[22]。外泌体中不仅含有蛋白、mRNA、长链非编码 RNA 及少量基因组 DNA,同时携带和传递 miRNAs^[23]。作为内源性小片段非编码 RNAs 的 miRNAs,通过与 mRNA 的 3'-UTR 或开放阅读框架(ORF)不完全互补结合而抑制靶基因表达翻译,从而调控机体多种生理、病理过程。外泌体携带和传递的 miRNAs 可以直接进入靶细胞而发挥作用,在细胞增殖、分化、迁移、凋亡等方面发挥一定的调节作用。因此,miRNAs 在肥胖相关疾病的发生过程中可能发挥着不可忽视的调控作用。

本研究通过对 NCBI 公共数据平台中的 GEO 数据集(GSE50574)进行生物信息学分析后发现,肥胖患者内脏脂肪细胞分泌的外泌体 miRNAs 表达谱相对于健康对照发生了显著改变。通过对差异表达 miRNAs 进行靶基因预测和功能注释分析,提示脂肪细胞分泌的外泌体 miRNAs 表达谱分析在两组群体的鉴别中具有一定的应用价值,并且可通过传递差异表达的 miRNAs 进一步调控靶细胞的相关功能变化。与健康对照相比较,肥胖患者脂肪细胞分泌的外泌体中大部分 miRNAs 表达水平下降,仅有 1 种 miRNA 表达呈升高状态,其余 18 种 miRNAs 在外泌体中的表达水平显著下调。差异表达 miRNAs 与潜在靶基因的调控网络图显示,miR-4667-3p、miR-4252、miR-4753-5p、miR-629-3p 和 miR-182-5p 对多个靶基因具有调控作用,具有较强的调控力。在这些差异表达 miRNAs 中,有些与肿瘤的发生发展有一定的关联,

如 miR-182-5p 在调节性 T 细胞致肝癌中具有一定的影响^[24],同时对食管鳞状上皮细胞癌的发生发展也有一定的作用^[25]。在本研究中,miR-4474-5p 表达变化最为显著,但目前为止关于 miR-4474-5p 的研究甚少,仅 HASAN 等^[26]在 2014 年指出其可能在抗病毒治疗引起输入性中东呼吸综合征的冠状病毒中具有一定的作用。在 miR-4474-5p 的 18 个预测靶基因当中,ZNF521 与大鼠宫内生长受限后代的脂肪细胞表型密切相关^[27],MGAT4A 糖基转移酶转录水平增加在 2 型糖尿病患者外周循环白细胞中显著增加^[28],MAP1B 与乳腺癌相关^[29]。

将这些差异表达 miRNAs 潜在靶基因进行功能注释,可对其在肥胖及肥胖相关疾病分子机制中所起的作用有进一步的认识。KEGG 分析显示,表达上调 miRNA 的潜在靶基因主要涉及的通路有 p53 信号通路;GO 功能注释的显著性富集分析指出潜在靶基因参与的生物学过程主要涉及对 DNA 损伤引起的细胞内凋亡信号通路和脂肪组织的发育等,其表达产物主要分布于细胞核周区和细胞质等部位,从分子功能来看靶基因主要涉及蛋白结合和序列特异性 DNA 结合等。表达下调 miRNAs 可能主要通过调控其潜在靶基因进而参与调控 cGMP-PKG 信号通路、血小板活化通路、TGF- β 信号通路、mTOR 信号通路和 Ras 信号通路等;所参与的生物学过程主要涉及基因转录和表达调控、细胞内信号转导、胰岛素分泌调节、脂质代谢过程和对葡萄糖的反应等调控,主要参与了细胞质、细胞连接、核质、细胞表面和细胞内组分的组成,分子功能主要包括转录因子活性、DNA 结合、蛋白结合、mRNA 3'-UTR 结合和核心启动子序列特异性 DNA 结合等。

4 结 论

本研究借助于生物信息学技术进行芯片数据挖掘,对与肥胖及肥胖相关疾病具有重要影响的内脏脂肪细胞分泌的外泌体中 miRNAs 表达谱及其变化进行分析,进一步预测其靶基因和涉及的信号通路等重要生理病理过程,对内脏脂肪细胞分泌的外泌体有了更加深入的了解,为制订分子靶向治疗、探讨相关疾病发病机制提供分子理论基础。

参考文献

- [1] OGDEN C L, YANOVSKI S Z, CARROLL M D, et al. The epidemiology of obesity[J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(6):2087-2102.
- [2] WELLEN K E, HOTAMISLIGIL G S. Inflammation, stress, and diabetes[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(5):1111-1119.
- [3] HOTAMISLIGIL G S. Inflammation and metabolic disorders[J]. *Nature*, 2006, 444(7121):860-867.
- [4] SHANNON P, MARKIEL A, OZIER O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. *Genome Res*, 2003, 13(11):

- 2498-2504.
- [5] HOSSAIN P, KAWAR B, NAHAS M E. Obesity and diabetes in the developing world-A growing challenge[J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(3): 213-215.
- [6] WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation[J]. *World Health Organ Tech Rep Ser*, 2000, 894: 1-253.
- [7] GOODPASTER B H, KRISHNASWAMI S, HARRIS T B, et al. Obesity, regional body fat distribution, and the metabolic syndrome in older men and women[J]. *Arch Intern Med*, 2005, 165(7): 777-783.
- [8] IBRAHIM M M. Subcutaneous and visceral adipose tissue: structural and functional differences[J]. *Obes Rev*, 2010, 11(1): 11-18.
- [9] ZHANG C L, REXRODE K M, VAN DAM R M, et al. Abdominal obesity and the risk of all-cause, cardiovascular, and cancer mortality-sixteen years of follow-up in US women[J]. *Circulation*, 2008, 117(13): 1658-1667.
- [10] BLUHER M. Adipose tissue dysfunction in obesity[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2009, 117(6): 241-250.
- [11] BLÜHER M, MANTZOROS C S. From leptin to other adipokines in health and disease: facts and expectations at the beginning of the 21st century[J]. *Metabolism*, 2015, 64(1): 131-145.
- [12] PETERSEN K F, DUFOUR S, SAVAGE D B, et al. The role of skeletal muscle insulin resistance in the pathogenesis of the metabolic syndrome[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(31): 12587-12594.
- [13] DESPRES J P. Is visceral obesity the cause of the metabolic syndrome[J]. *Ann Med*, 2006, 38(1): 52-63.
- [14] WAJCHENBERG B L, GIANNELLA-NETO D, DA SILVA M E, et al. Depot-specific hormonal characteristics of subcutaneous and visceral adipose tissue and their relation to the metabolic syndrome[J]. *Horm Metab Res*, 2002, 34(11/12): 616-621.
- [15] KLEIN S. The case of visceral fat: argument for the defense[J]. *J Clin Invest*, 2004, 113(11): 1530-1532.
- [16] MATSUZAWA Y. Therapy insight: adipocytokines in metabolic syndrome and related cardiovascular disease[J]. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, 2006, 3(1): 35-42.
- [17] SAIJO Y, KIYOTA N, KAWASAKI Y, et al. Relationship between C-reactive protein and visceral adipose tissue in healthy Japanese subjects [J]. *Diabetes Obes Metab*, 2004, 6(4): 249-258.
- [18] ZIMMERMANN R, STRAUSS J G, HAEMMERLE G, et al. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase [J]. *Science*, 2004, 306(570): 1383-1386.
- [19] ZHANG Y, YU M, TIAN W D. Physiological and pathological impact of exosomes of adipose tissue[J]. *Cell Prolif*, 2016, 49(1): 3-13.
- [20] SANO S, IZUMI Y, YAMAGUCHI T, et al. Lipid synthesis is promoted by hypoxic adipocyte-derived exosomes in 3T3-L1 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 445(2): 327-333.
- [21] LACHENAL G, PERNET-GALLAY K, CHIVET M A, et al. Release of exosomes from differentiated neurons and its regulation by synaptic glutamatergic activity[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2011, 46(2): 409-418.
- [22] MUELLER G, JUNG C, STRAUB J, et al. Induced release of membrane vesicles from rat adipocytes containing glycosylphosphatidylinositol-anchored microdomain and lipid droplet signalling proteins[J]. *Cell Signal*, 2009, 21(2): 324-338.
- [23] CAMUSSI G, DEREGIBUS M C, CANTALUPPI V. Role of stem-cell-derived microvesicles in the paracrine action of stem cells[J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(1): 283-287.
- [24] CHEN L, MA H Y, HU H, et al. Special role of foxp3 for the specifically altered microRNAs in regulatory T cells of HCC patients[J]. *BMC Cancer*, 2014, 14: 489.
- [25] WANG Y, ZHANG J N, ZHAO W, et al. MicroRNA expression in esophageal squamous cell carcinoma: novel diagnostic and prognostic biomarkers[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(6): 3833-3839.
- [26] HASAN M M, AKTER R, ULLAH M S, et al. A computational approach for predicting role of human microRNAs in MERS-CoV genome [J]. *Adv Bioinformatics*, 2014, 2014: 967946.
- [27] GONG M, ANTONY S, SAKURAI R, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells of the intrauterine growth-restricted rat offspring exhibit enhanced adipogenic phenotype[J]. *Int J Obes*, 2016, 40(11): 1768-1775.
- [28] LOPEZ-ORDUNA E, CRUZ M, GARCIA-MENA J. The transcription of MGAT4A glycosyl transferase is increased in white cells of peripheral blood of Type 2 Diabetes patients[J]. *BMC Genet*, 2007, 22(8): 73.
- [29] KRISENKO M O, CARTAGENA A, RAMAN A A. Nanomechanical property maps of breast cancer cells as determined by multiharmonic atomic force microscopy reveal syk-dependent changes in microtubule stability mediated by MAP1B[J]. *Biochemistry*, 2015, 54(1): 60-68.