

- 28(1):47-49.
- [52] 祁云霞,刘永斌,荣威恒. 转录组研究新技术:RNA-Seq 及其应用[J]. 遗传,2011,33(11):1191-1202.
- [53] 代谊,黄羽棠,黄家凤,等. 吉非替尼获得性耐药非小细胞肺癌细胞中差异表达环状 RNA 分析[J]. 肿瘤,2017,37
- (11):1128-1135.
- [54] 祝申蓉,吴旭日,陈依军. microRNA 定量检测方法的研究进展[J]. 中国药科大学学报,2015,46(1):40-49.
- (收稿日期:2018-06-24 修回日期:2018-10-11)
- 综 述 •

微小 RNA 在糖尿病并发症诊断治疗中的研究进展*

李丹丹,刘佳佳,王 晶[△]

(甘肃中医药大学临床医学院,甘肃兰州 730000)

摘 要:糖尿病可引发多种并发症,大量研究表明微小 RNA 在糖尿病并发症中发挥着重要的作用,其表达调控与糖尿病并发症的发生、发展及治疗密切相关。该文针对几种主要的糖尿病并发症及其相关的微小 RNA 进行综述,以期对这些疾病的诊断与治疗提供更多理论依据。

关键词:微小 RNA; 糖尿病; 表达调控; 糖尿病并发症

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.02.029

中图法分类号:R587.2

文章编号:1673-4130(2019)02-0239-04

文献标识码:A

Advances in research on microRNA in diagnosis and treatment of diabetic complications

LI Dandan, LIU Jiajia, WANG Jing[△]

(Clinical Medicine College, Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou, Gansu 730000, China)

Abstract: Diabetes mellitus can cause a wide variety of complications. A large number of studies have shown that microRNA plays an important role in diabetic complications, and its expression regulation is closely related to the occurrence, development and treatment of diabetic complications. In this article, several major complications of diabetes mellitus and their related microRNAs were reviewed, and we hoped to provide some theoretical basis for the diagnosis and treatment of these diseases.

Key words: microRNA; diabetes mellitus; expression regulation; diabetic complications

糖尿病是一种由多种病因引起的以慢性高血糖为特征的终身代谢性疾病^[1]。长期高血糖会导致眼、肾、心、血管、神经的慢性损害和功能障碍,这是糖尿病并发症的发病基础。微小 RNA(miRNA)是生物体内一类长度为 21~23 个核苷酸的非编码 RNA,通过特异性结合 mRNA 的 3'非编码区(3'UTR),调控其靶基因的表达,其在疾病的发生、发展,细胞的增殖、分化方面具有重要的作用^[2]。近年研究发现,在糖尿病及其并发症中均有 miRNA 表达谱的改变,其可参与氧化应激、炎症反应、细胞损伤、组织修复等多个过程。本文就与糖尿病并发症相关的 miRNA 表达调控进行综述,从而探讨其在糖尿病并发症诊断和治疗中的作用。

1 miRNA 与糖尿病视网膜病变(DR)

DR 是糖尿病常见并发症之一,也是导致人群失明的一个原因,糖尿病持续时间越长,DR 的患病率越

高。在我国住院患者 DR 发病率已经超过 30%,其发病主要与视网膜新生血管生成、慢性炎症反应、细胞凋亡等有关。miR-410、miR-152、miR-155 等可以通过抑制血管内皮生长因子(VEGF)、肾上腺素受体、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF $\beta 1$)等的表达减少视网膜新生血管的形成^[3-5]。而 miR-146、miR-132、miR-21 等被发现在视网膜炎性反应中表达上调,同时有研究表明 miR-34 家族可以导致视网膜神经细胞凋亡从而导致 DR^[6]。此外,临床研究还发现 miR-122、miR-125b 在 DR 中均有明显的表达改变^[7],且多种信号通路在糖尿病肾病(DN)中发生了改变,包括 Wnt、MAPK、磷脂酰肌醇代谢、转化生长因子、细胞周期等。但 miRNA 调控的靶基因及其上下游信号分子、调控机制等仍需进一步的研究。

2 miRNA 与 DN

DN 是发病率最高的糖尿病并发症之一,占糖尿

* 基金项目:甘肃省自然科学基金资助项目(1606RJ2A192);甘肃省中药药理与毒理学重点实验室开放基金项目(ZDSYS-KJ-2016-002);甘肃省卫生行业科研计划项目(GSWSKY2017-27)。

[△] 通信作者, E-mail: jwang_lanzhou_2017@163.com。

本文引用格式:李丹丹,刘佳佳,王晶. 微小 RNA 在糖尿病并发症诊断治疗中的研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2019,40(2):239-242.

病并发症发病率的 40% 左右,也是导致患者肾衰竭、需要肾脏替代治疗的主要原因。研究发现,多种 miRNA 与 DN 的发病(包括足细胞足突的融合与凋亡、肾小球硬化、肾小管间质纤维化)有关^[8],其影响因素包括晚期糖基化代谢产物(AGEs)、生长因子、氧化应激、炎症反应及代谢障碍等。DN 患者肾组织表达的 miR-21、miR-216a、miR-217 等可以通过靶向抑制人第 10 号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因(PTEN)/PI3K/Akt 和 TGF- β 1 信号通路影响肾脏的形态与功能^[9]。糖尿病小鼠体内高表达的 miR-199b-5p,可靶向调控 klotho 基因的表达,从而抑制其抗氧化作用,导致肾小管损伤^[10]。下调 miR-25 和 miR-146a 可以增加肾小管细胞超氧化物歧化酶(SOD)活性,激活氧化应激。同时,PEZZOLESI 等^[11]发现,在糖化血红蛋白水平与其他变量一定的情况下, DN 患者体内低表达的 miR-7c-5p 和 miR-29a-3p 可以延缓终末期肾病的进程,而高表达的 let-7b-5p 和 miR-21-5p 则与终末期肾病的发病密切相关,这在一定程度上与 DN 的转归有很大关系。值得注意的是,尿微量清蛋白检测作为 DN 早期诊断的方法有一定的局限性,有研究发现 DN 患者尿液中 miRNA 的表达也发生了改变, DN 早期 miR-320c 表达水平升高,其表达量与 DN 的进展紧密相关,而在 1 型糖尿病患者尿液中高表达的 miR-145 则可诱导蛋白尿的产生。因此,尿液中 miRNA 的检测可作为 DN 早期诊断的一个新技术^[12]。

3 miRNA 与糖尿病心肌病

长期高血糖与心室肥大、心肌纤维化及心脏功能紊乱有很大关系。糖尿病患者中 miRNA 的表达变化可能与心肌细胞凋亡、心肌纤维化及代谢异常有关。糖尿病小鼠体内低表达的 miR-195 可抑制 caspase-3、sirtuin-1 活性,抑制心肌细胞凋亡、减轻氧化应激与糖尿病造成的心脏肥大^[13]。糖尿病小鼠心脏组织中过表达的 miR-29 可以降低白细胞介素 6 对心肌成纤维细胞增殖和胶原生成的促进作用,并可调节 TGF- β 1 表达水平^[14]。而 miR-141 在糖尿病小鼠心脏中的高表达可减少线粒体内膜磷酸盐转运蛋白、Slc25a3 的表达,从而导致线粒体功能障碍及 ATP 生成减少^[15]。同时,人类心脏成纤维细胞高糖环境中 miR-495 表达减少,过表达 miR-495 可以通过抑制其下游分子 NOD1 的表达减缓 NF- κ B 和 TGF- β 1/Smad 信号通路的激活,从而改善细胞分化及外基质的积累。有研究表明 miR-133 在不同糖尿病小鼠模型中的表达水平有显著差异、作用机制也明显不同,但其后续研究及结果分析仍需进一步进行。这些发现为糖尿病心脏疾病的研究提供了新的思路。

4 miRNA 与糖尿病神经系统病变

糖尿病神经系统病变是指糖尿病患者外周神经轴突进行性减少而导致的对感觉、疼痛敏感性降低的

病变。有多种信号通路参与糖尿病神经系统病变的进展,其中最重要的通路是炎症信号通路。在由过氧化物酶增殖激活的受体(PPAR)、AMP 激活的蛋白质激酶(AMPK)等信号分子所介导的信号通路中也发现有多种 miRNA 发挥作用^[16]。例如,miR-216a 可靶向调控 PPAR 信号通路引起炎症;miR-17 和 miR-322 可调节 AMPK 信号通路引起神经细胞凋亡,从而导致新生儿神经管缺陷^[17-18]。此外,在高糖环境中,神经干细胞表达的 miR-200b 增多,可通过抑制内质网应激而引起神经细胞凋亡^[19]。同时,GONG 等^[20]发现在糖尿病病理性疼痛小鼠中 miR-184-5p 和 miR-190a-5p 存在差异性表达,它们可能参与糖尿病有关的炎症反应。在基于 miRNA 基因芯片数据集的情况下进行 GO、KEGG 的基因富集分析,发现有 3 种 miRNA(has-miR-377、has-miR-216a 和 has-miR-217)与糖尿病密切相关,同时发现 SCD、CD36、PCK1 等信号通路也有重要作用^[21],但其调控分子还不清楚,仍需进一步研究。

5 miRNA 与糖尿病肌肉骨骼系统病变

糖尿病是引发骨质疏松与骨折的原因之一,糖尿病状态可以干扰新骨的形成及骨微结构的完整性。多种 miRNA 在成骨细胞的分化、骨盐沉积、骨骼肌细胞凋亡过程中表达发生改变。研究发现,过表达的 miR-378 可通过 caspase-3 和 PI3K/Akt 信号通路逆转高血糖对成骨细胞分化的抑制作用^[22]。糖尿病患者外周血 B 细胞中肿瘤坏死因子 α (TNF- α)可抑制 miR-550a 的表达,而 miR-550a 的表达量与骨密度呈负相关^[23],同时发现 miR-188 过表达可以靶向作用于 HDAC9 和 RICTOR 基因,显著加速骨髓脂肪积累与骨质流失^[24]。另有研究发现,miR-23a 可以通过调节钙调神经磷酸酶(Calcineurin)/活化 T 细胞核因子(NFAT)信号通路,抑制萎缩素第一型基因(Atrogin-1)和肌肉环指蛋白 1(MuRF1)的表达,从而促进骨骼肌细胞萎缩^[25]。此外,在骨骼肌细胞中表达的 miR-194 可以通过 Akt、糖原合成酶激酶 3(GSK3)和氧化磷酸化等机制参与骨骼肌代谢等,而在糖尿病早期过程中就有 miR-194 表达量的减少^[26],提示 miRNA 在骨骼肌代谢中也发挥着重要作用。此外,关于破骨细胞相关的 miRNA 研究也正在进行。

6 miRNA 与糖尿病肝脏疾病

糖尿病患者体内胰岛素分泌不足或者胰岛素抵抗还会引发肝脏的糖脂代谢紊乱,成为脂肪肝的诱发原因之一,有多种 miRNA 在糖尿病肝脏疾病中表达发生变化,其参与胰岛素敏感性、葡萄糖稳态、脂质与碳水化合物代谢、信号传导、细胞凋亡等信号通路的调节^[27]。miR-103/107 可以靶向结合 caveolin-1,通过调节葡萄糖摄取来调节胰岛素信号传导。miR-21 低表达可以通过 PPAR- α 和 PPAR- γ 信号通路参与非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的发病^[28]。脂肪组织

中过表达的 miR-100 还可通过调节胰岛素样生长因子受体(IGFR)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)的表达来影响脂肪的生成^[29]。同时,肝脏中 AMPK 是 miR-291b-3p 的直接靶点,miR-291b-3p 通过抑制 AMPK 的表达,促进肝脏的脂肪合成,因此 miR-291b-3p 具有脂肪肝病靶向治疗的潜力^[30]。LATORRE 等^[31]指出,miR-146b-5p 可以与脂肪酸结合蛋白 4(FABP4)结合,增加其表达并减少葡萄糖的氧化和脂肪酸的动员。因此,改变 miRNA 表达水平被认为是治疗疾病的靶点。

7 小结与展望

糖尿病还可引发其他一些并发症,包括糖尿病足部溃疡、糖尿病脑缺血、糖尿病海绵体病变等。大量实验研究发现 miRNA 参与了这些并发症的发生、发展及治疗,而其各种并发症的发病机制与炎性反应、组织损伤修复有关,其信号通路涉及血管生成、炎性反应、细胞凋亡、内质网应激、线粒体途径、糖脂代谢等多个方面。鉴于 miRNA 的稳定性强、检测较敏感及非侵袭性等优势,其将在今后糖尿病并发症的诊断及治疗研究中发挥很大优势。但有关 miRNA 表达改变的机制及其下游靶基因表达调控的分析探索还有待深入。此外,尽管在糖尿病并发症中有许多 miRNA 的表达发生了改变,但差异表达的 miRNA 在多种疾病中存在交叉,特异性不强;目前的检测技术方法也有待进一步改进。因此,miRNA 在糖尿病并发症临床诊疗中的应用还需不断探索。

近年来,随着对环状 RNA(circRNA)认识的逐步深入,其作为“miRNA 海绵”干预 miRNA 靶基因调控的作用已被许多实验证实。未来可以针对 circRNA 对靶 miRNA 的调控进行研究,以期帮助研究者了解糖尿病及其并发症的发病机制,从而寻找更好的诊疗方法。

参考文献

- [1] 凌宏艳,胡弼,奉水东,等.表观遗传调控在糖尿病及其并发症中的作用[J].生物化学与生物物理进展,2012,39(1):14-21.
- [2] SONG J L, NIGAM P, TEKTAS S S, et al. MicroRNA regulation of Wnt signaling pathways in development and disease[J]. Cell Signal, 2015, 27(7): 1380-1391.
- [3] MA J, WANG J, LIU Y, et al. Comparisons of serum miRNA expression profiles in patients with diabetic retinopathy and type 2 diabetes mellitus[J]. Acta Physiol (Oxf), 2017, 72(2): 111-115.
- [4] HAQUE R, HUR E H, FARRELL A N, et al. MicroRNA-152 represses VEGF and TGFβ1 expressions through post-transcriptional inhibition of (Pro)renin receptor in human retinal endothelial cells [J]. Molecular Vision, 2015, 21(15): 224-235.
- [5] ZHUANG Z, QIN X, HU H, et al. Down-regulation of

- microRNA-155 attenuates retinal neovascularization via the PI3K/Akt pathway[J]. Molecular Vision, 2015, 21: 1173-1184.
- [6] ANDER A, MAITANE E, OLATZ B, et al. Expression profiling analysis reveals key microRNA-mRNA interactions in early retinal degeneration in retinitis pigmentosa [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018, 59(6): 2381-2392.
- [7] JOGLEKAR M V, JANUSZEWSKI A S, JENKINS A J, et al. Circulating microRNA biomarkers of diabetic retinopathy[J]. Diabetes, 2016, 65(1): 22-24.
- [8] DESHPANDE S, ABDOLLAHI M, WANG M, et al. Reduced autophagy by a microRNA-mediated signaling cascade in diabetes-induced renal glomerular hypertrophy [J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 6954.
- [9] CHIEN H Y, CHEN C Y, CHIU Y H, et al. Differential microRNA profiles predict diabetic nephropathy progression in Taiwan[J]. Int J Med Sci, 2016, 13(6): 457-465.
- [10] KANG W L, XU G S. Atrasentan increased the expression of klotho by mediating miR-199b-5p and prevented renal tubular injury in diabetic nephropathy[J]. Sci Rep, 2016, 6: 19979.
- [11] PEZZOLESI M G, SATAKE E, MCDONNELL K P, et al. Circulating TGF-β1-Regulated miRNAs and the risk of rapid progression to ESRD in type 1 diabetes[J]. Diabetes, 2015, 64 (9): 3285-3293.
- [12] DELIC D, EISELE C, SCHMID R, et al. Urinary exosomal miRNA signature in type II diabetic nephropathy patients[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150154.
- [13] ZHENG D, MA J, YU Y, et al. Silencing of miR-195 reduces diabetic cardiomyopathy in C57BL/6 mice[J]. Diabetologia, 2015, 58(8): 1949-1958.
- [14] ZHANG Y, WANG J H, ZHANG Y Y, et al. Deletion of interleukin-6 alleviated interstitial fibrosis in streptozotocin-induced diabetic cardiomyopathy of mice through affecting TGFβ1 and miR-29 pathways [J]. Sci Rep, 2016, 6: 23010.
- [15] WESTERMEIER F, RIQUELME J A, PAVEZ M, et al. New molecular insights of insulin in diabetic cardiomyopathy[J]. Front Physiol, 2016, 7: 125.
- [16] LI Y, MA W, XIE C, et al. Identification of genes and signaling pathways associated with diabetic neuropathy using a weighted correlation network analysis: A consort study[J]. Medicine, 2016, 95(47): e5443.
- [17] DONG D, FU N, YANG P. MiR-17 downregulation by high glucose stabilizes thioredoxin-interacting protein and removes thioredoxin inhibition on ASK1 leading to apoptosis[J]. Toxicol Sci, 2016, 150(1): 84-96.
- [18] GU H, YU J, DONG D, et al. The miR-322-TRAF3 circuit mediates the pro-apoptotic effect of high glucose on neural stem cells[J]. Toxicol Sci, 2015, 144(1): 186-196.
- [19] GU H, YU J, DONG D, et al. High glucose-repressed CITED2 expression through miR-200b triggers the unfolded protein response and endoplasmic reticulum stress [J]. Diabetes, 2016, 65(1): 149-163.

- [20] GONG Q, LU Z, HUANG Q, et al. Altered microRNAs expression profiling in mice with diabetic neuropathic pain[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 456(2): 615-620.
- [21] LI Y, MA W, XIE C, et al. Identification of genes and signaling pathways associated with diabetic neuropathy using a weighted correlation network analysis: a consort study[J]. Medicine, 2016, 95(47): e5443.
- [22] YOU L, GU W, CHEN L, et al. MiR-378 overexpression attenuates high glucose-suppressed osteogenic differentiation through targeting CASP3 and activating PI3K/Akt signaling pathway[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(10): 7249-7261.
- [23] HE J G, GUO X Y, LIU Z Q, et al. MicroRNA-550a interferes with vitamin D metabolism in peripheral B cells of patients with diabetes[J]. Cell Biochemistry And Function, 2016, 34(8): 640-646.
- [24] MCALINDEN A, IM G I. MicroRNAs in orthopaedic research: disease associations, potential therapeutic applications, and perspective[J]. J Orthop Res, 2018, 36(1): 33-51.
- [25] HUDSON M B, WOODWORTH-HOBBS M E, ZHENG B, et al. miR-23a is decreased during muscle atrophy by a mechanism that includes calcineurin signaling and exosome-mediated export[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2014, 306(6): C551-558.
- [26] LATOUCHE C, NATOLI A, REDDY-LUTHMOODOO M, et al. MicroRNA-194 modulates glucose metabolism and its skeletal muscle expression is reduced in diabetes[J]. PLoS One, 2016, 11(5): e0155108.
- [27] YANG W, WANG J, CHEN Z, et al. NFE2 induces miR-423-5p to promote gluconeogenesis and hyperglycemia by repressing the hepatic FAM3A-ATP-Akt pathway[J]. Diabetes, 2017, 66(7): 1819-1832.
- [28] ZHAO X Y, SHAO K. Roles of MicroRNA-21 in the pathogenesis of insulin resistance and diabetic mellitus-induced non-alcoholic fatty liver disease[J]. Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yuan Xue Bao, 2016, 38(2): 144-149.
- [29] PEK S L, SUM C F, LIN M X, et al. Circulating and visceral adipose miR-100 is down-regulated in patients with obesity and Type 2 diabetes[J]. Mol Cell Endocrinol, 2016, 427: 112-123.
- [30] MENG X, GUO J, FANG W, et al. Liver microRNA-291b-3p promotes hepatic lipogenesis through negative regulation of adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase alpha1[J]. J Biol Chem, 2016, 291(20): 10625-10634.
- [31] LATORRE J, MORENO-NAVARRETE J M, MERCADER J M, et al. Decreased lipid metabolism but increased FA biosynthesis are coupled with changes in liver microRNAs in obese subjects with NAFLD[J]. Int J Obes (Lond), 2017, 41(4): 620-630.

(收稿日期: 2018-07-10 修回日期: 2018-10-21)

• 综 述 •

胍丁胺的柱前衍生方法及评价

周 娟¹, 张惠静², 胡岚岚¹综述, 汤建林^{1△}审校

(1. 陆军军医大学第二附属医院临床药理基地, 重庆 400037; 2. 陆军军医大学药学院药物分析与分析化学教研室, 重庆 400038)

摘 要: 胍丁胺是精氨酸脱羧基生成的内源性代谢产物, 生物学作用丰富, 广泛存在于植物、细菌及哺乳类动物的各种组织中。胍丁胺极性较强, 相对分子质量小, 其结构中无紫外和荧光吸收基团, 难以气化, 加之内源性胍丁胺含量低, 生物样品中干扰成分较多, 一般方法难以检测。胍丁胺与荧光试剂进行柱前衍生化, 不仅可以增加胍丁胺的相对分子质量, 还可以使其带上荧光, 大大提高检测灵敏度, 使内源性胍丁胺得到很好的分离, 是目前测定胍丁胺含量的重要方法。该文对胍丁胺近年来常用的柱前衍生化试剂进行了总结, 并对各种衍生试剂的优缺点、最佳衍生条件及检测方法做了比较全面的分析, 旨在为后期测定胍丁胺的含量及生物学研究提供方法与思路。

关键词: 胍丁胺; 柱前衍生化; 相对分子质量; 定量分析**DOI:** 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.02.030**中图法分类号:** O657.7; O657.63**文章编号:** 1673-4130(2019)02-0242-05**文献标识码:** A

Pre-column derivation method and evaluation of agmatine

ZHOU Juan¹, ZHANG Huijing², HU Lanlan¹, TANG Jianlin^{1△}

(1. Base for Drug Clinical Trial, Second Affiliated Hospital of Army Military Medical

[△] 通信作者, E-mail: jltang6317@163.com.

本文引用格式: 周娟, 张惠静, 胡岚岚, 等. 胍丁胺的柱前衍生方法及评价[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(2): 242-246.