

- [17] SHEN J, CAO B, WANG Y T, et al. Hippo component YAP promotes focal adhesion and tumour aggressiveness via transcriptionally activating THBS1/FAK signalling in breast cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37 (1): 175.
- [18] GUO H, DAI Y F, WANG A, et al. Association between expression of MMP-7 and MMP-9 and pelvic lymph node and para-aortic lymph node metastasis in early cervical cancer[J]. J Obste Gynaecol Res, 2018, 44 (7): 1274-1283.
- [19] 李世拥, 于波, 安萍, 等. 胸苷酸合成酶基因表达与结肠直
- 短篇论著 •
- 肠癌复发的关系及其临床意义[J]. 中华外科杂志, 2000, 38(10):781-783.
- [20] BAI W, WU Y, ZHANG P, et al. Correlations between expression levels of thymidylate synthase, thymidine phosphorylase and dihydropyrimidine dehydrogenase, and efficacy of 5-fluorouracil-based chemotherapy for advanced colorectal cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(10):12333-12345.
- (收稿日期:2020-09-19 修回日期:2020-12-30)

2 型糖尿病合并 OSAHS 患者 miR-34a、SIRT1 水平的检测及意义^{*}

何金花, 刘丹枫, 高丽娟, 马红敏

石家庄市第二医院内分泌科, 河北石家庄 050000

摘 要:**目的** 探讨 2 型糖尿病合并阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)患者微小 RNA-34a(miR-34a)、沉默信息调节因子 1(SIRT1)的水平及意义。**方法** 选取 2018 年 4 月至 2020 年 3 月石家庄市第二医院收治的单纯 2 型糖尿病患者 70 例(单纯 2 型糖尿病组), 2 型糖尿病合并 OSAHS 患者 60 例(2 型糖尿病合并 OSAHS 组)为研究对象。采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)法检测所有研究对象血清 miR-34a 表达水平;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测血清中 SIRT1 水平;采用 Pearson 相关分析 miR-34a 与 SIRT1 的相关性;采用 ROC 曲线分析血清 miR-34a、SIRT1 单独及二者联合检测对 2 型糖尿病合并 OSAHS 的预测价值。**结果** 与单纯 2 型糖尿病组相比, 2 型糖尿病合并 OSAHS 组患者糖尿病病程较长($P<0.05$), 血清 miR-34a 表达水平、空腹血糖(FBG)水平及睡眠呼吸暂停低通气指数(AHI)较高($P<0.05$), SIRT1 水平较低($P<0.05$)。miRtarBase 网站预测, miR-34a 与 SIRT1 存在结合位点;相关性分析显示, 血清 miR-34a 水平与 SIRT1 水平呈负相关($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示, miR-34a、SIRT1 水平单独检测诊断 2 型糖尿病合并 OSAHS 的曲线下面积(AUC)分别为 0.846、0.835, 二者联合检测对 2 型糖尿病合并 OSAHS 诊断的 AUC 为 0.935, 灵敏度为 87.10%, 特异度为 85.00%。**结论** 2 型糖尿病合并 OSAHS 患者血清 miR-34a 呈高表达, SIRT1 呈低表达, miR-34a 与 SIRT1 水平在临床上诊断 2 型糖尿病合并 OSAHS 具有一定的参考价值。

关键词: 2 型糖尿病; 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征; miR-34a; 沉默信息调节因子 1

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.08.027 **中图法分类号:**R766.7;R587.1

文章编号:1673-4130(2021)08-1006-04 **文献标志码:**A

阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征(OSAHS)是常见的呼吸系统疾病,也是糖尿病常见的并发症^[1-2]。2 型糖尿病患者长期处于高糖状态,可能会发生高糖毒性和脑细胞缺氧状态,从而损伤呼吸中枢神经系统,导致 OSAHS 发生^[3]。有研究显示,敲除微小 RNA-34a(miR-34a)基因可激活 Notch1/低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)信号通路,减轻脑缺血再灌注对大鼠脑组织损伤和神经元凋亡的影响^[4]。miR-34a 可通过靶向调节沉默信息调节因子 1(SIRT1)加重高糖状态

下骨髓间充质干细胞的衰老,从而促进糖尿病患者并发症发生^[5]。由此推测 miR-34a 及 SIRT1 可能与 OSAHS 发生相关。本研究拟探讨 miR-34a、SIRT1 在 2 型糖尿病合并 OSAHS 患者血清中水平,以及二者单独及联合检测对 2 型糖尿病合并 OSAHS 的诊断价值,旨在为 2 型糖尿病合并 OSAHS 的治疗提供新靶点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2018 年 4 月至 2020 年 3 月石

^{*} 基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20200141);河北省石家庄市科学技术研究与发展指导计划项目(191461053)。

本文引用格式:何金花,刘丹枫,高丽娟,等. 2 型糖尿病合并 OSAHS 患者 miR-34a、SIRT1 水平的检测及意义[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(8):1006-1009.

石家庄市第二医院收治的单纯 2 型糖尿病患者 70 例(单纯 2 型糖尿病组),2 型糖尿病合并 OSAHS 患者 60 例(2 型糖尿病合并 OSAHS 组)为研究对象。单纯 2 型糖尿病组男 37 例,女 33 例;年龄 45~80 岁,平均(61.82±9.31)岁。2 型糖尿病合并 OSAHS 组男 31 例,女 29 例;年龄 45~80 岁,平均(61.98±9.45)岁。纳入标准:(1)患者符合《中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)》中关于 2 型糖尿病的诊断标准^[6];(2)2 型糖尿病患者均行 Epworth 嗜睡量表(ESS)初筛,ESS≥7 分者行多导睡眠图(PSG)监测,OSAHS 符合 2011 年中华医学会制定的《阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南(2011 年修订版)》诊断标准^[7];(3)临床资料完整者。排除标准:(1)合并慢性阻塞性肺疾病及急慢性感染患者;(2)合并有内分泌疾病如甲状腺功能减退症、痛风等患者;(3)中枢性、混合性 OSAHS 患者;(4)酮症酸中毒、乳酸酸中毒患者;(5)合并严重心脑血管疾病及严重功能障碍患者;(6)合并肿瘤患者。单纯 2 型糖尿病组与 2 型糖尿病合并 OSAHS 组在性别、年龄上差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。患者及家属同意签署知情同意书,本研究通过本院伦理委员会批准。

1.2 试剂与仪器 RNA 提取试剂盒(货号:R1200-100,购自北京索莱宝科技有限公司);cDNA 第一链合成试剂盒(货号:60906-10,购自上海信裕生物科技有限公司);SYBR Green PCR Kit 荧光定量 PCR 试剂盒(货号:KL101-969,购自上海康朗生物科技有限公司);SIRT1 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(货号:K4923-100,购自艾美捷科技有限公司);CFX96 型实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)仪(购自德国 Bio-Rad 公司);邦德安百多导睡眠监测系统[注册号:国食药监械(进)字 2005 第 2212944 号,购自北京杰富瑞科技有限公司]。

1.3 方法

1.3.1 样品采集 所有患者入院当天清晨空腹时采集静脉血 4~6 mL 装于采血管中,在 4℃、3 500 r/min 转速下离心 20 min,留取上清液,冻存于-80℃冰箱中,待测。

1.3.2 血清中 miR-34a 表达水平的检测 RNA 试

剂盒提取血清中总 RNA,以逆转录得到的 cDNA 为模板。采用 qRT-PCR 仪对 miR-34a 及内参 U6 进行扩增反应。反应条件:95℃ 3 min;95℃ 30 s,58℃ 30 s,72℃ 40 s,38 个循环;72℃ 3 min。总反应体系(10 μL):cDNA 2 μL、正向引物 0.5 μL、反向引物 0.5 μL、SYBR Green PCR Kit 2 μL、ddH₂O 5 μL。miR-34a 正向引物 5'-GGC AGT GTC TTA GCT GGT TG-3',反向引物 5'-AAG AGC TTC CGA AGT CCT GG-3';内参 U6 正向引物 5'-ATT GGA ACG ATA CAG AGA AGA TT-3',反向引物 5'-GGA ACG CTT CAC GAA TTT G-3'。引物由上海生工合成。miR-34a 相对表达量用 2^{-ΔΔCt} 法计算。

1.3.3 血清中 SIRT1 水平的检测 采用 ELISA 法检测血清中 SIRT1 水平,操作步骤严格依据 SIRT1 ELISA 试剂盒进行。

1.3.4 临床资料的收集 记录患者糖尿病病程、体质质量指数(BMI)、空腹血糖(FBG)、糖化血红蛋白(HbA1c)、三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)等资料。采用邦德安百多导睡眠监测系统对 2 型糖尿病患者每晚监测 PSG,时间大于 7 h,记录患者每小时低通气次数或呼吸暂停次数,获得睡眠呼吸暂停低通气指数(AHI)。

1.4 统计学处理 采用软件 SPSS25.0 对数据进行分析。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 t 检验;采用 Pearson 相关分析 miR-34a 与 SIRT1 的相关性;采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析血清 miR-34a、SIRT1 单独及二者联合检测对 2 型糖尿病合并 OSAHS 的预测价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组临床指标的比较 单纯 2 型糖尿病组、2 型糖尿病合并 OSAHS 组的 TG、TC、LDL-C、HDL-C、BMI、HbA1c 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);与单纯 2 型糖尿病组相比,2 型糖尿病合并 OSAHS 组患者糖尿病病程较长($P<0.05$),FBG 水平及 AHI 较高($P<0.05$),见表 1。

表 1 两组患者临床指标的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	糖尿病病程(年)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
2 型糖尿病合并 OSAHS 组	60	6.48±1.32	2.61±0.62	5.02±0.92	3.54±0.62
单纯 2 型糖尿病组	70	6.01±1.18	2.53±0.55	4.96±0.84	3.32±0.77
<i>t</i>		2.143	0.772	0.386	1.804
<i>P</i>		0.034	0.441	0.700	0.074

续表 1 两组患者临床指标的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	HDL-C (mmol/L)	BMI (kg/m ²)	FBG (mmol/L)	HbA1c (%)	AHI (次/小时)
2 型糖尿病合并 OSAHS 组	60	1.03±0.22	25.97±1.76	9.25±1.78	9.06±0.95	28.76±3.24
单纯 2 型糖尿病组	70	1.01±0.20	26.12±1.81	8.62±1.44	8.85±0.84	2.40±1.03
<i>t</i>		0.539	0.478	2.230	1.326	60.428
<i>P</i>		0.591	0.633	0.027	0.188	<0.001

2.2 两组患者血清 miR-34a、SIRT1 水平比较 与单纯 2 型糖尿病组相比,2 型糖尿病合并 OSAHS 组患者血清 miR-34a 表达水平较高($P<0.05$),SIRT1 水平较低($P<0.05$),见表 2。

表 2 两组血清 miR-34a、SIRT1 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-34a	SIRT1 (ng/mL)
单纯 2 型糖尿病组	70	2.04±0.63	1.06±0.26
2 型糖尿病合并 OSAHS 组	60	4.12±1.34	0.41±0.11
<i>t</i>		11.584	18.024
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.3 2 型糖尿病合并 OSAHS 患者血清 miR-34a 与 SIRT1 相关性分析 miRtarBase 网站预测,miR-34a 与 SIRT1 存在结合位点;Pearson 相关分析显示,血清 miR-34a 表达水平与 SIRT1 水平呈负相关($r=-0.823,P<0.05$)。

2.4 血清 miR-34a、SIRT1 单独及联合检测对 2 型糖尿病合并 OSAHS 的预测价值 ROC 曲线分析结果显示,miR-34a、SIRT1 水平单独检测诊断 2 型糖尿病合并 OSAHS 的曲线下面积(AUC)分别为 0.846、0.835,灵敏度分别为 65.00%、70.00%,特异度分别为 88.60%、88.30%,截断值分别为 3.06、0.67 ng/mL;二者联合检测诊断 2 型糖尿病合并 OSAHS 的 AUC 为 0.935,灵敏度为 87.10%,特异度为 85.00%。

3 讨 论

2 型糖尿病与 OSAHS 在临床上相互影响,2 型糖尿病患者血糖控制不佳会加重 OSAHS,OSAHS 也可以加重胰岛素抵抗,促进糖尿病发生。本研究发现,与单纯 2 型糖尿病组相比,2 型糖尿病合并 OSAHS 组患者糖尿病病程较长,FBG 水平较高,提示 2 型糖尿病患者并发 OSAHS 可能是由于长时间血糖控制不佳导致的。此外糖尿病患者机体在应激状态下,可发生支气管舒缩张力异常,加重 OSAHS 病情^[8-9]。OSAHS 患者在睡眠过程中,机体可反复出现低氧与二氧化碳滞留现象,间歇性的缺氧再复氧过程,可作用于中枢交感神经调控部位,使神经发生兴奋。miRNA 可参与细胞的分化和凋亡,从而调控基

因表达的生物功能^[10]。因此,探讨 miRNA 在 2 型糖尿病合并 OSAHS 发生过程中的作用可为临床早期治疗患者提供理论依据。

miR-34 家族具有进化保守性,由 miR-34a、miR-34b、miR-34c 组成,miR-34a 位于染色体 1q36.22 上,是心血管疾病的重要调控因子,也可参与调控氧化应激和短暂的缺氧、复氧导致的细胞凋亡^[11]。另外 miR-34a 的表达与高血糖诱导的血管功能障碍也有关^[12]。受高糖刺激后,人视网膜微血管内皮细胞 miR-34a 呈高表达,且 miR-34a 通过改变线粒体功能参与氧化应激,从而促进视网膜微血管内皮细胞衰老^[13]。miR-34a 是与缺氧-复氧损伤相关的细胞死亡和细胞存活的多功能调节因子,并已报道通过靶向 p53 在癌细胞中诱导凋亡和细胞周期阻滞^[14]。本研究发现,2 型糖尿病合并 OSAHS 组患者血清 miR-34a 表达水平显著高于单纯 2 型糖尿病组患者,提示 miR-34a 可能影响 2 型糖尿病合并 OSAHS 的发生,可能因为在高糖状态下,miR-34a 影响细胞功能,进而促进 OSAHS 疾病发生;也可能通过调控氧化应激和细胞凋亡从而促进 2 型糖尿病合并 OSAHS 的发生。

miR-34a 是 SIRT1 的翻译抑制因子^[15-17]。miRtarBase 网站预测,miR-34a 与 SIRT1 存在结合位点,Pearson 相关分析显示,血清 miR-34a 表达水平与 SIRT1 水平呈负相关($r=-0.823,P<0.05$),提示 miR-34a 可能调控 SIRT1 参与糖尿病合并 OSAHS 的发生。LIN 等^[18]发现,miR-34a 在 2 型糖尿病小鼠耳蜗毛细胞中呈高表达,并抑制 SIRT1 表达,高表达的 miR-34a 可促进 2 型糖尿病小鼠耳蜗毛细胞凋亡。刘金泉等^[19]研究证实 miR-34a 低表达可通过靶向上调 SIRT1 抑制帕金森病模型细胞凋亡和氧化应激损伤。BADI 等^[20]研究发现在人主动脉平滑肌细胞中,miR-34a 过度表达,且 miR-34a 通过下调 SIRT1 表达,抑制细胞增殖并诱导细胞衰老,通过血管平滑肌矿化促进血管钙化。血管钙化可诱导心脑血管疾病发生^[21]。本研究发现 2 型糖尿病合并 OSAHS 组患者血清 SIRT1 水平显著低于单纯 2 型糖尿病组患者,提示 SIRT1 可能参与 2 型糖尿病合并 OSAHS 的发生。ROC 曲线分析结果显示,miR-34a、SIRT1 水平

单独检测诊断 2 型糖尿病合并 OSAHS 的 AUC 分别为 0.846、0.835,二者联合检测诊断 2 型糖尿病合并 OSAHS 的 AUC 为 0.935,灵敏度为 87.10%,特异度为 85.00%,miR-34a 与 SIRT1 联合检测时灵敏度均高于二者单独检测时灵敏度,提示检测患者 miR-34a 与 SIRT1 水平对临床上诊断 2 型糖尿病合并 OSAHS 可能具有一定的参考价值。

综上所述,2 型糖尿病合并 OSAHS 患者血清 miR-34a 表达水平上调,SIRT1 表达水平下调,miR-34a 与 SIRT1 的检测对诊断 2 型糖尿病合并 OSAHS 发生具有一定的临床参考价值,二者联合检测效果可能更好。

参考文献

- [1] DONG M, GUO F Q, ZHOU T, et al. Association of diabetic nephropathy with the severity of obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Endocr J*, 2020, 67(5): 515-522.
- [2] 程忠, 毛哲哲, 胡彦峰, 等. 双水平无创正压通气对阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征病人心脏节律及血管内皮功能的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17(10): 1549-1552.
- [3] 张泽鑫, 杨丽辉. 2 型糖尿病合并阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征的研究进展[J]. *西藏医药*, 2018, 39(5): 146-149.
- [4] WANG S P, WANG D, LI H X, et al. Influence of miR-34a on cerebral neuronal apoptosis in rats with cerebral ischemia reperfusion through the Notch1 signaling pathway[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(18): 8049-8057.
- [5] 刘晓虹, 张风云, 王坤, 等. miR-34a 通过 SIRT1 诱导高糖条件下骨髓间充质干细胞衰老[J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(6): 994-1003.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. *中国实用内科杂志*, 2018, 38(4): 292-344.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会睡眠呼吸障碍学组. 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊治指南(2011 年修订版)[J]. *柳州医学*, 2012, 25(3): 162-165.
- [8] ZHANG J, TIAN L, GUO L X. Changes of aldosterone levels in patients with type 2 diabetes complicated by moderate to severe obstructive sleep apnea-hypopnea syndrome before and after treatment with continuous positive airway pressure[J]. *J Int Med Res*, 2019, 47(10): 4723-4733.
- [9] KURINAMI N, SUGIYAMA S, LJIMA H, et al. Clinical usefulness of the body muscle-to-fat ratio for screening obstructive sleep apnea syndrome in patients with inadequately controlled type 2 diabetes mellitus[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2018, 143(1): 134-139.
- [10] MEDLEJ A, MOHAMMAD S B, JAVAD MOWLA S, et al. A novel miRNA located in the GATA4 gene regulates the expression of IGF-1R and AKT1/2 genes and controls cell proliferation[J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(5/6): 3438-3450.
- [11] 李晓伟, 奉淑君, 周凤华, 等. miR-34a 在心血管疾病中的作用及机制研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2019, 27(7): 624-628.
- [12] ZHAO D, WANG N S, CHEN F, et al. Intravenous injection of miR-34a inhibitor alleviates diabetes Mellitus-Induced vascular endothelial dysfunction by targeting NOTCH1[J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2019, 127(4): 255-262.
- [13] THOUNAOJAM M C, JADEJA R N, WARREN M, et al. MicroRNA-34a (miR-34a) mediates retinal endothelial cell premature senescence through mitochondrial dysfunction and loss of antioxidant activities[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(9): 328-347.
- [14] 宋云林, 谭秋婵, 马燕, 等. p53-miR-34a-SIRT1 反馈环在血管内皮祖细胞复制性衰老过程中的调控作用及机制[J]. *中国循环杂志*, 2018, 33(5): 496-500.
- [15] CHEN Z, HE M, CHEN J H, et al. Long non-coding RNA SNHG7 inhibits NLRP3-dependent pyroptosis by targeting the miR-34a/SIRT1 axis in liver cancer[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(1): 893-901.
- [16] WU W Y, DING X Q, GU T T, et al. Pterostilbene improves hepatic lipid accumulation via the MiR-34a/Sirt1/SREBP-1 pathway in Fructose-Fed rats[J]. *J Agric Food Chem*, 2020, 68(5): 1436-1446.
- [17] CHEN S, GU Y X, DAI Q X, et al. Spinal miR-34a regulates inflammatory pain by targeting SIRT1 in complete Freund's adjuvant mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 516(4): 1196-1203.
- [18] LIN Y, SHEN J J, LI D F, et al. MiR-34a contributes to diabetes-related cochlear hair cell apoptosis via SIRT1/HIF-1 α signaling[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2017, 246(1): 63-70.
- [19] 刘金泉, 孙永胜, 刘春云. miR-34a 通过靶向 SIRT1 对 MPP+诱导的帕金森病模型细胞凋亡和氧化应激损伤的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2020, 36(6): 647-652.
- [20] BADI I, MANCINELLI L, POLIZZOTTO A, et al. miR-34a promotes vascular smooth muscle cell calcification by downregulating SIRT1 (sirtuin 1) and Axl (AXL receptor tyrosine kinase)[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(9): 2079-2090.
- [21] 盛瑛, 宗刚军. 促进血管钙化的主要机制及其研究进展[J]. *心血管病学进展*, 2019, 40(2): 297-300.