·临床研究·

2 型糖尿病和糖尿病肾病患者血清微小 RNA-148b-3p 的水平变化及意义

李鑫　范秋灵　汪旭　常圆圆　马天魁　陈桐　杨莹　李露露　徐莉　王海龙

【摘要】 **目的**　分析 2 型糖尿病和糖尿病肾病患者血清微小 RNA-148b-3p（miR-148b-3p）的水平变化及其与临床和病理指标的相关性。 **方法**　入组人群分为 3 组，（1）糖尿病肾病组：肾活检病理诊断明确为糖尿病肾病的患者（n=25，男 14 例，女 11 例）；（2）2 型糖尿病组：尿微量白蛋白/尿肌酐正常的 2 型糖尿病患者（n=10，男 4 例，女 6 例）；（3）正常对照组：健康体检者（n=9，男 3 例，女 6 例）。临床指标包括性别、年龄、24 h 尿蛋白量、收缩压（SBP）、舒张压（DBP）、血肌酐（Scr）、尿素氮（Urea）、胱抑素 C（Cys-C）、血白蛋白（ALB）、尿微量白蛋白（UMA）、三酰甘油（TG）、胆固醇（TC）、高密度脂蛋白胆固醇（HDL-C）、低密度脂蛋白胆固醇（LDL-C）、血尿酸（UA）、空腹血糖（FBG）、糖化血红蛋白（HbA1c）、尿微量白蛋白/尿肌酐（UACR）和利用 CKD-EPI 公式计算的估算肾小球滤过率（eGFR）。实时定量 PCR 法测定入组人群的血清 miR-148b-3p 水平，分析血清 miR-148b-3p 水平与入组人群临床参数的关系。 **结果**　糖尿病肾病组、2 型糖尿病组血清 miR-148b-3p 水平分别是正常对照组的 1.82 倍和 1.73 倍（均 $P<0.05$）。血清 miR-148b-3p 水平与 HDL-C（r=−0.374，P=0.013）、UMA（r=0.426，P=0.004）、FBG（r=0.330，P=0.046）及 TG（r=0.423，P=0.005）有明显相关性。多元线性回归分析显示 UMA 与血清 miR-148b-3p 独立相关（β=0.338，P=0.044）。血清 miR-148b-3p 在诊断 2 型糖尿病及糖尿病肾病的受试者工作特征曲线（ROC）下面积分别为 0.835 和 0.665。 **结论**　2 型糖尿病和糖尿病肾病患者血清中 miR-148b-3p 水平显著升高。UMA 与血清 miR-148b-3p 水平独立相关。血清 miR-148b-3p 有望作为糖尿病肾病诊断的潜在生物标志物。

【关键词】 糖尿病肾病；　糖尿病，2 型；　微小 RNA；　生物标志物

基金项目：国家自然科学基金（81270808、81770724）；辽宁省自然科学基金（201602821）；辽宁省高等学校重大科技平台免疫皮肤病学重点实验室自主创新课题基金（201303）；沈阳市科技计划项目（F16-205-1-40）

Change and clinical significance of microRNA-148b-3p level in the serum of patients with type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy

Li Xin, Fan Qiuling, Wang Xu, Chang Yuanyuan, Ma Tiankui, Chen Tong, Yang Ying, Li Lulu, Xu Li, Wang Hailong. Department of Nephrology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China

Corresponding author: Fan Qiuling, Email: cmufql@163.com

【**Abstract**】 **Objective**　To detect the serum microRNA-148b-3p level in patients with diabetes mellitus and diabetic nephropathy, and to analyze its correlation with clinical and pathological indexes. **Methods**　The research crowd was divided into three groups (1) diabetic nephropathy group: biopsy with diabetic nephropathy (n=25, 14 males, 11 females); (2) type 2 diabetes mellitus group: type 2 diabetes mellitus patients with normal urinary microalbumin /urinary creatinine value (n=10, 4 males, 6 females); (3) normal control group: healthy subjects (n=9, 3 males and 6 females). Clinical indicators included gender, age, 24-hour urine protein, systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), serum creatinine (Scr), urea (Urea), cystatin-C (Cys-C), blood albumin (ALB),

DOI：10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2018.05.005

作者单位：110001 沈阳，中国医科大学附属第一医院肾内科

通信作者：范秋灵，Email：cmufql@163.com

urine microalbumin (UMA), triacylglycerol (TG), total cholesterol (TC), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), serum uric acid (UA), fasting blood glucose (FBG), glycated hemoglobin (HbA1c), urine microalbuminuria / urinary creatinine (UACR), and estimated glomerular filtration rate (eGFR) calculated by CKD-EPI formula. Real-time quantitative PCR was applied to verify the expression of microRNA-148b-3p in serum samples of the research crowds. The relationships between microRNA-148b-3p level and clinical features was also analyzed. **Results** The levels of serum microRNA-148b-3p in diabetic nephropathy group and in type 2 diabetes mellitus group were 1.82 times and 1.73 times of that in normal control group ($P<0.05$, respectively). The level of serum microRNA-148b-3p was significantly correlated with HDL-C (r=−0.374, P=0.013), UMA (r=0.426, P=0.004), FBG (r=0.330, P=0.046) and TG (r=0.423, P=0.005). Multiple linear regression analysis showed that UMA level was independently associated with serum microRNA-148b-3p level (β=0.338, P=0.044). The area under the receiver operating characteristic curve (ROC) of serum microRNA-148b-3p in diagnosing type 2 diabetes mellitus and diabetic nephropathy was 0.835 and 0.665, respectively. **Conclusions** The level of serum microRNA-148b-3p of patients with type 2 diabetes mellitus or diabetic nephropathy significantly increases. The level of UMA is independently associated with serum microRNA-148b-3p level. Serum microRNA-148b-3p is expected to be a potential biomarker for the diagnosis of diabetic nephropathy.

【**Key words**】 Diabetic nephropathies; Diabetes mellitus, type 2; MicroRNAs; Biomarker

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81270808, 81770724); Natural Science Foundation of Liaoning Province of China (201602821); Innovation Research Fund of Major Scientific and Technological Platform"Immune Dermatology Laboratory" in Higher Education Institutions of Liaoning Province (201303); Science and Technology Planning Project of Shenyang City (F16-205-1-40)

糖尿病肾病（DN）是糖尿病（DM）重要的微血管病变之一，影响了30%～35%的DM患者，是导致终末期肾病（ESRD）的主要原因之一[1]，并且ESRD的5年存活率仅为20%[2]。由于其呈渐进式缓慢发展，起病隐匿，加之当今诊断手段的局限性，不易早期诊断及治疗。这就需要我们能发现早期对其进行诊断的标志物。在DN患者的肾脏组织可见特异性微小RNA（miRNA，miR）的表达，其表达丰度在一定程度上可以反映患者病情的变化[3]。miRNA能游离于细胞，稳定存在于血清中，且血清miRNA检测具有创伤小、灵敏度和特异性高的特点[4-5]，这就为DN的早期诊断与预测提供了可能。本研究检测2型DM和DN患者血清miR-148b-3p的水平变化，并分析其与临床和病理指标的相关性，进一步探讨其在DN发病中的作用及能否作为病情检测和诊断的生物标志物。

对象与方法

1. 研究对象：2012年11月至2017年1月于中国医科大学附属第一医院收治的门诊、住院患者以及健康体检者44例，其中符合世界卫生组织（WHO）2型糖尿病诊断标准且尿微量白蛋白/尿肌酐（UACR）<30 mg/g的患者为2型DM组，平均年龄（52.40±10.46）岁，男4例，女6例；按2010年肾脏病理协会研究委员会发布的DN病理分型标准确诊为DN的患者为DN组，平均年龄（44.08±10.28）岁，男14例，女11例，其中Ⅱb型2例，Ⅲ型19例，Ⅳ型4例；空腹血糖（FBG）、餐后2 h血糖浓度（2hPG）、糖化血红蛋白（HbA1c）、血肌酐（Scr）、尿微量白蛋白（UMA）、尿肌酐（Ucr）、尿蛋白均在正常范围内的健康体检者为正常对照（N）组，平均年龄（36.89±12.97）岁，男3例，女6例，其肾脏检验学和影像学检测指标均未见异常且无任何糖尿病病史。排除患有恶性肿瘤、心血管疾病、肝损伤、其他肾脏病等疾病者。病例组和对照组年龄、性别、吸烟史、血压等相匹配。本研究经本院伦理委员会批准（AF-SOP-07-1.0-01）。所有入选者均签署书面知情同意书。

2. 标本采集：标本源自体检中心（N）或行肾活检住院期间（DN）或2型糖尿病确诊期间（DM），受试者于清晨空腹采取静脉非抗凝血5

ml，尿液标本均为晨尿。外周非抗凝血在室温下放置 1 h 凝固，4℃下离心（1700 ×g 10 min），收集血清后再次离心（2000 ×g 10 min），保存于−70℃冰箱中。

3. 实时定量 PCR：（1）总 RNA 提取：RNA 提取过程按照 Invitrogen Life Technologies 公司的 TRIzol® LS 试剂盒操作说明进行。（2）cDNA 合成：制备反转录（RT）混合反应液 20 μl。在 Applied Biosystems 公司的 Gene Amp PCR System 9700 上进行 RT 反应。（3）PCR：在 Applied Biosystems 公司的 ViiA 7 实时定量 PCR 系统上进行 PCR 反应。内参和所有的指标均按以下程序进行：95℃ 10 min；40 个 PCR 循环（95℃ 10 s；60℃ 60 s 收集荧光）。为了建立 PCR 产物的熔解曲线，扩增反应结束后，按 95℃ 10 s，60℃ 60 s，95℃ 15 s；并从 60℃缓慢加热到 99℃（仪器自动进行，升温速度为 0.05℃/s）。

4. 待测基因以内参校正：实时定量 PCR 时各样品加样量均为 2 μl，然而由于受 RNA 浓度定量误差和 RNA 反转录效率误差等的影响，每个样品的 2 μl 体积的 cDNA 含量并不完全相同，为校正此差异，我们使用人（hsa）-miR-191-5p（不同样品间表达量基本恒定）作为内参。

5. 引物设计与合成：反转录使用引物由英骏生物技术有限公司合成，目的基因及内参基因的反转录引物序列：hsa-miR-148b-3p 引物 5′-GTCGTATCCAGTGCGTGTCGTGGAGTCGGCAATTGCACTGGATACGACACAAAG-3′；hsa-miR-191-5p 引物 5′-GTCGTATCCAGTGCGTGTCGTGGAGTCGGCAATTGCACTGGATACGACCAGCTG-3′。实时定量 PCR 使用引物由引物设计软件 Primer 5.0 设计合成，见表 1。

6. 血清 miR-148b-3p 水平定量：相对水平用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示，$\Delta\Delta CT = (CT_{miR-148b-3p} - CT_{miR-191-5p})_{实验组} - (CT_{miR-148b-3p} - CT_{miR-191-5p})_{对照组}$，$2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示的是实验组目的基因的水平相对于对照组的变化倍数（实验组为所有样品，对照组为第一个样品，即基准）。

7. 估算肾小球滤过率（eGFR）：根据 CKD-EPI 公式计算 eGFR：$eGFR = a \times (Scr/b)^{c} \times (0.993)^{年龄}$。a 值根据性别和人种采用：黑人女性=166，男性=163；白人及其他人种女性=144，男性=141。b 值根据性别不同采用：女性=0.7，男性=0.9。c 值根据 Scr 不同采用：女性 Scr≤0.7 mg/dl=−0.329，Scr > 0.7 mg/dl=−1.209；男性 Scr≤0.7 mg/dl=−0.411，Scr > 0.7 mg/dl=−1.209。

8. 统计学分析：计量资料中正态分布数据以 $\bar{x} \pm s$ 形式表示，非正态分布数据以 M（1/4，3/4）形式表示。计量资料多个样本比较，先进行方差齐性检验，方差齐则采用单因素方差分析，样本间比较采用多重比较 LSD 法，方差不齐则采用非参数检验，多组比较采用 Kruskal-Wallis 法，两两比较采用 Mann-Whitney U 检验。交叉四格表中两组间数据比较采用卡方检验。采用 Pearson 相关分析（正态）和 Spearman 相关分析（非正态）及多元线性回归分析 DN 组、2 型 DM 组和 N 组间的血清 miR-148b-3p 的表达变化与临床指标的相关性，用受试者工作特征曲线（ROC）下面积分析 miR-148b-3p 在 2 型糖尿病及糖尿病肾病中的诊断效能。采用 SPSS 22.0、GraphPad 软件处理，所有检验均为双尾检测，$P < 0.05$ 视为差异有统计学意义。

结　果

1. 血清 miR-148b-3p 的表达变化：实时定量 PCR 结果显示，DN 组（0.60±0.24，n=25）和 2 型 DM 组（0.57±0.14，n=10）血清 miR-148b-3p 水平分别是 N 组（0.33±0.28，n=9）的 1.82 倍（P=0.004）、1.73 倍（P=0.032），3 组间比较差异亦有统计学意义（P=0.015）。

2. 血清 miR-148b-3p 水平与临床及病理指标的相关性分析：DN 组（n=25）、2 型 DM 组（n=10）、N 组（n=9）间的年龄、FBG、HbA1c、收缩压（SBP）、Scr、尿素氮（Urea）、胱抑素 C（Cys-C）、eGFR、血白蛋白（ALB）、UMA、UACR、三酰甘油（TG）、总胆固醇

表 1　实时定量 PCR 使用引物列表

基因名称	双向引物序列	退火温度	产物长度
人 miR-191-5p	GSP：5′-GGCAACGGAATCCCAAAAG-3′；R：5′-GTGCGTGTCGTGGAGTCG-3′	60℃	63 bp
人 miR-148b-3p	GSP：5′-GGGTCAGTGCATCACAGAA-3′；R：5′-CAGTGCGTGTCGTGGAG-3′	60℃	65 bp

注：GSP 是对应 miRNA 的特异引物，R 是与反转录引物相匹配的引物

表2 各组研究对象临床参数的比较

项目	糖尿病肾病组(n=25)	2型糖尿病组(n=10)	正常对照组(n=9)	P^a	P^b	P^c	P^d
男性[例(%)]	14(56.0)	4(40.0)	3(33.3)	0.433	–	–	–
年龄(岁)	44.08±10.28	52.40±10.46	36.89±12.97	0.017	0.005	0.110	0.056
空腹血糖(mmol/L)	7.33±2.54	9.11±2.49	4.86±0.23	0.001	<0.001	0.009	0.045
糖化血红蛋白(mmol/L)	7.3(6.0,8.2)	8.9(7.9,11.0)	5.0(4.9,5.7)	0.004	0.009	0.010	0.027
尿酸(μmol/L)	337(307,387)	306(246,353)	292(239,362)	0.214	0.968	0.163	0.174
收缩压(mmHg)	142.64±10.80	129.50±16.30	127.56±18.136	0.010	0.994	0.144	0.128
舒张压(mmHg)	84(80,86)	83(78,88)	72(70,84)	0.086	0.065	0.0.37	0.986
血肌酐(μmol/L)	91(71,145)	49(42,65)	56(48,69)	<0.001	0.400	<0.001	<0.001
尿素氮(mmol/L)	8.77(5.31,10.67)	5.16(4.75,5.60)	4.18(3.88,4.44)	<0.001	0.022	<0.001	0.003
胱抑素C(mg/L)	1.79±0.68	0.84±0.28	0.67±0.10	<0.001	0.284	<0.001	<0.001
eGFR[ml·min^{-1}·(1.73 m^2)$^{-1}$]	71.2±30.0	108.8±11.5	116.8±9.6	<0.001	0.336	<0.001	<0.001
白蛋白(g/L)	28.26±6.29	41.76±3.52	44.00±2.18	<0.001	0.344	<0.001	<0.001
尿微量白蛋白(mg/L)	2390.0(1650.0,3600.0)	10.7(10.6,10.8)	10.7(10.6,10.7)	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
尿肌酐(μmol/L)	5976.9±2413.1	10974.4±4530.7	–	–	–	–	0.006
尿白蛋白肌酐比(mg/g)	5296.8±2862.0	22.7±25.5	–	–	–	–	<0.001
24 h尿蛋白量(g)	5.40±2.48	–	–	–	–	–	–
三酰甘油(mmol/L)	1.76(1.33,2.55)	1.77(1.26,2.00)	1.08(0.89,1.40)	0.048	0.133	0.011	0.696
总胆固醇(mmol/L)	5.86±1.59	5.22±0.86	4.35±0.54	0.020	0.165	0.006	0.203
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	1.08(0.93,1.68)	1.14(1.04,1.59)	1.35(1.03,1.54)	0.835	0.842	0.706	0.589
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	3.91±1.52	3.22±1.25	2.66±0.49	0.058	0.375	0.023	0.182

注:eGFR:估算的肾小球滤过率;a:3组间比较所得P值;b:2型糖尿病组与正常对照组比较所得P值;c:糖尿病肾病组与正常对照组比较所得P值;d:糖尿病肾病组与2型糖尿病组比较所得P值;数据形式除已注明外,余以$\bar{x}\pm s$形式或M(1/4,3/4)形式表示;–:未检测或未获得数据

(TC)差异均有统计学意义(均$P<0.05$),而性别、尿酸(UA)、舒张压(DBP)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)差异均无统计学意义(均$P>0.05$),见表2。进一步分析3组间血清miR-148b-3p水平与临床参数的相关性,结果发现,血清miR-148b-3p水平与HDL-C(r=–0.374,P=0.013)呈负相关,与TG(r=0.423,P=0.005)、UMA(r=0.426,P=0.004)和FBG(r=0.330,P=0.046)均呈正相关,见图1。多元线性回归分析(逐步法)显示UMA水平与血清miR-148b-3p水平独立相关(β=0.338,P=0.044),见表3。

表3 多元线性回归分析结果(逐步法)

项目	B	标准误	β	T	P
常数	0.479	0.048		9.947	<0.001
尿微量白蛋白	4.367×10^{-5}	0.000	0.338	2.097	0.044

3. 血清miR-148b-3p的诊断价值:建立基于miR-148b-3p的预测模型,通过ROC曲线下面积AUC来评估其用于诊断疾病的准确性。在诊断2型DM的ROC曲线中,血清miR-148b-3p曲线下面积AUC=0.835(95%CI 0.637~1.000),P=0.002,灵敏度为100.0%,特异度为66.7%,对应的截取值(cut off)=0.26;在诊断DN的ROC曲线中,血清miR-148b-3p曲线下面积AUC=0.665(95%CI 0.498~0.832),P=0.063,灵敏度为68.0%,特异度为68.4%,对应的截取值=0.51,见图2,表4,表5,表6。

讨 论

统计数据显示,全球2型DM患病率逐步上升,而全球肥胖症流行被公认为主要的危险因素[6]。据估计到2030年,20~79岁世界人口的7.7%将患有DM,DM微血管并发症如DN会占很大比例[7]。DN是DM患者最重要的并发症之一,由于其存在复杂的代谢紊乱,一旦发展到ESRD,往往比其他肾脏疾病的治疗更困难。DN的发病机制复杂,具体原因尚不十分清楚。目前DN的

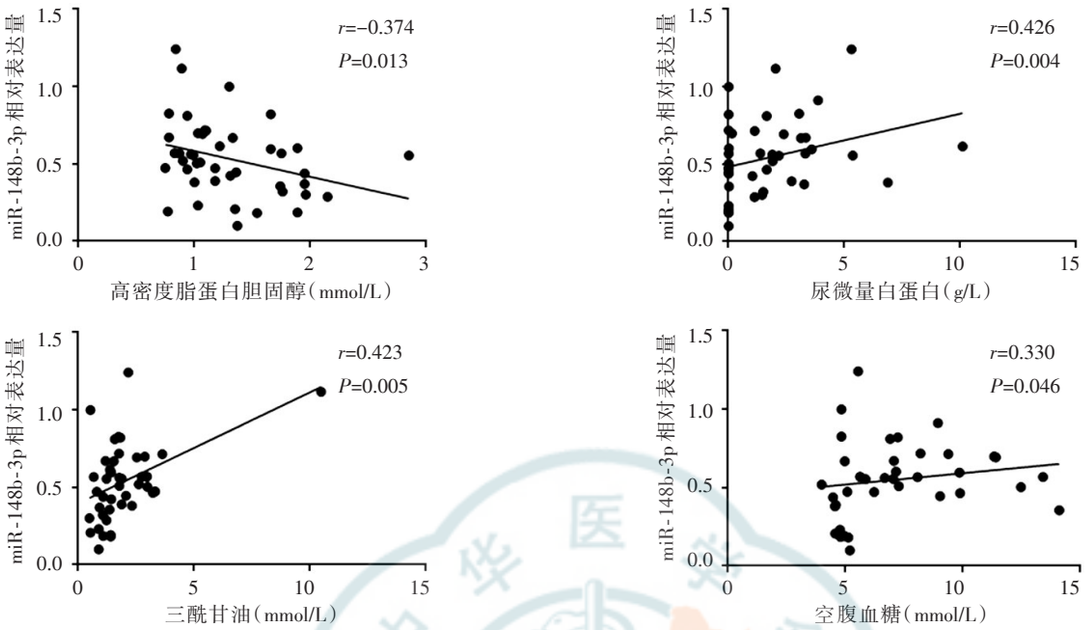
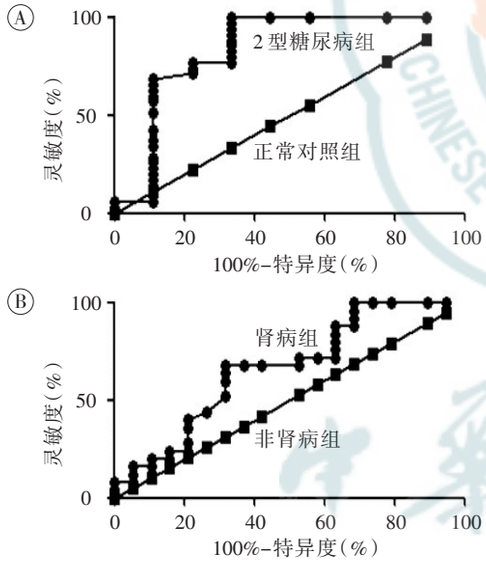


图 1　血清 miR-148b-3p 与高密度脂蛋白胆固醇、尿微量白蛋白、三酰甘油、空腹血糖的相关性（Spearman 相关分析）



注：A：血清 miR-148b-3p 诊断 2 型糖尿病的 ROC 曲线；将入组人群分为正常对照组（N）和患有 2 型糖尿病组（DM+DN）；B：血清 miR-148b-3p 诊断糖尿病肾病的 ROC 曲线；将入组人群分为肾病组（DN）和非肾病组（DM+N）

图 2　血清 miR-148b-3p 诊断 2 型糖尿病、糖尿病肾病的 ROC 曲线

表 4　血清 miR-148b-3p 在 2 型糖尿病及糖尿病肾病中的诊断效能

疾病名	灵敏度	特异度	准确性	阳性预测值	阴性预测值	约登指数
2 型糖尿病	100.0%	66.7%	93.2%	92.1%	100.0%	66.7%
糖尿病肾病	68.0%	68.4%	68.2%	73.9%	61.9%	36.4%

表 5　miR-148b 截取值为 0.26 时诊断 2 型糖尿病的阳性率

组别	阳性	阴性
糖尿病组(DM+DN)(n=35)	35 (100.0%)	0 (0%)
非糖尿病组(N)(n=9)	3 (33.3%)	6 (66.7%)

注：两组之间卡方检验，$P < 0.001$

表 6　miR-148b 截取值为 0.51 时诊断糖尿病肾病的阳性率

组别	阳性	阴性
糖尿病肾病组(DN)(n=25)	17(68.0%)	8(32.0%)
非糖尿病肾病组(DM+N)(n=19)	6(31.6%)	13(68.4%)

注：两组之间卡方检验，$P < 0.05$

主要治疗手段为控制血糖、血压及纠正血脂异常，而这些治疗方法只能减慢 DN 进展至肾衰竭的进程，并不能逆转或阻止病情发展[8]。因此 DN 的早期诊断及治疗成为目前迫切需要解决的问题。

miRNA 是长度为 18～24 个核苷酸的单链非编码 RNA，广泛存在于动植物体内，通过直接与靶基因 3′非编码区碱基互补结合，降解靶 mRNA 或抑制其翻译来参与生物体内的各种病理生理过程[9]。单个 miRNA 经常与许多靶基因结合，从

而影响单个或多个细胞通路的组成部分[10]。研究表明，miRNA参与DN肾小球基底膜增厚、足细胞凋亡、细胞外基质沉积而导致系膜扩张、肾小球和肾小管上皮细胞纤维化等，并最终导致DN发生发展[11]。多项研究发现，miRNA不仅有助于我们理解DN复杂的病理机制，还可以作为一种诊断DN发生、发展的生物标志物。

本研究通过对2型DM患者、DN患者及健康对照者3组血清样本的miRNA验证发现，DN组血清miR-148b-3p的表达水平比2型DM和N组的高，且2型DM组的血清miR-148b-3p的表达水平比N组的高，但DN组与2型DM组间差异无统计学意义。血清miR-148b-3p的表达水平与入组人群HDL-C、UMA、FBG及TG有明显相关性。多元线性回归分析显示UMA水平与入组人群血清miR-148b-3p水平独立相关，提示血清miR-148b-3p可能成为DN诊断的生物学标志物，对于DN的治疗及预后评估有重要意义。

本课题组前期研究发现，高糖可上调体外系膜细胞miR-148b-3p的表达，抑制miR-148b-3p可上调靶基因腺苷酸活化的蛋白激酶（AMPKα1）的表达，从而抑制高糖诱导的系膜细胞内质网应激亢进，减少细胞外基质蛋白的聚积[12]。雷帕霉素靶蛋白复合物1（mTORC1）是一种进化上保守的雷帕霉素敏感性蛋白激酶复合物，由多种蛋白质，包括雷帕霉素靶蛋白（mTOR）和mTOR的调节相关蛋白（raptor）组成，通过刺激蛋白质的翻译，抑制自噬，促进细胞的生长和增殖[13-14]。有报道显示mTORC1的过度激活参与DN中肾小球足细胞和肾小管细胞损伤[15-19]。因此，抑制mTORC1的致病作用是目前治疗DN的可能方法。Kuwagata等[20]通过动物实验发现，在暴露于高糖和棕榈酸的环境中，miR-148b-3p通过抑制近端肾小管细胞中的肿瘤坏死因子受体2（TNFR2），特异性地抑制缺氧性近端肾小管上皮细胞中mTORC1依赖性细胞凋亡，而miR-148b-3p不影响胰岛素依赖性mTORC1激活。目前发现miR-148b-3p的表达失衡与肿瘤、成骨分化和IgA肾病有关[21-24]。而关于DN患者体内miR-148b-3p表达变化的研究尚未见报道。本研究发现miR-148b-3p在DN患者中的相对表达量比糖尿病患者和健康体检者高且与血脂相关。因此，我们推断，miR-148b-3p可能参与DN发生、发展的整个病理过程，而其在DN中的具体病理机制，我们将在后续研究中进一步探讨。miRNA已经被应用于治疗许多疾病[25-26]，因此未来miR-148b-3p调控对于DN可能是一种有效的治疗手段。

综上，血清miR-148b-3p可能与DN患者糖脂代谢调节有关，可能成为DN诊断的无创性新标志物。研究结果为深入认识DN的发病机制提供了证据。与现有的诊断金标准肾活检相比，血清miR-148b-3p具有创伤小的优势，因此继续深入探讨其功能及调控机制具有重大意义。由于研究条件有限，本研究纳入的患者例数较少，未说明miR-148b-3p参与DN肾损伤及糖脂代谢的具体分子机制，未说清血清miR-148b-3p在DN发生发展过程中的表达变化及其调控的靶基因，因此尚需后续研究进一步探讨。

参 考 文 献

[1] Declèves AE, Sharma K. New pharmacological treatments for improving renal outcomes in diabetes[J]. Nat Rev Nephrol, 2010, 6(6): 371-380. DOI: 10.1038/nrneph.2010.57.

[2] Choudhury D, Tuncel M, Levi M. Diabetic nephropathy -- a multifaceted target of new therapies[J]. Discov Med, 2010, 10 (54): 406-415.

[3] He F, Peng F, Xia X, et al. MiR-135a promotes renal fibrosis in diabetic nephropathy by regulating TRPC1[J]. Diabetologia, 2014, 57(8): 1726-1736. DOI: 10.1007/s00125-014-3282-0.

[4] Gilad S, Meiri E, Yogev Y, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers[J]. PLoS One, 2008, 3(9): e3148. DOI: 10.1371/journal.pone.0003148.

[5] 吴瑞珊，苏运钦，余广超，等. Taqman探针实时荧光定量PCR检测肝脏疾病患者血清中miR-122的表达水平及其临床意义[J]. 中国病理生理杂志，2013，29(2)：348-353. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2013.02.028.

[6] Spiegel AM, Nabel EG. NIH research on obesity and type 2 diabetes: providing the scientific evidence base for actions to improve health[J]. Nat Med, 2006, 12(1): 67-69. DOI: 10.1038/nm0106-67.

[7] Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2010, 87(1): 4-14. DOI: 10.1016/j.diabres.2009.10.007.

[8] Zhou H, Hasni SA, Perez P, et al. miR-150 promotes renal fibrosis in lupus nephritis by downregulating SOCS1[J]. J Am Soc Nephrol, 2013, 24(7): 1073-1087. DOI: 10.1681/ASN.2012080849.

[9] Jonas S, Izaurralde E. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing[J]. Nat Rev Genet, 2015, 16 (7): 421-433. DOI: 10.1038/nrg3965.

[10] Ameres SL, Zamore PD. Diversifying microRNA sequence and function[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013, 14(8): 475-488. DOI: 10.1038/nrm3611.

[11] Simpson K, Wonnacott A, Fraser DJ, et al. MicroRNAs in Diabetic Nephropathy: From Biomarkers to Therapy[J]. Curr Diab Rep, 2016, 16(3): 35. DOI: 10.1007/s11892-016-0724-8.

[12] 赵雪, 范秋灵, 徐莉, 等. 微小 RNA-148b 通过靶向调控 AMPKα1 介导高糖诱导大鼠肾小球系膜细胞的内质网应激[J]. 中华肾脏病杂志, 2017, 33(4): 278-283. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-7097.2017.04.006.

[13] Inoki K, Corradetti MN, Guan KL. Dysregulation of the TSC-mTOR pathway in human disease[J]. Nat Genet, 2005, 37(1): 19-24. DOI: 10.1038/ng1494.

[14] Laplante M, Sabatini DM. mTOR signaling in growth control and disease[J]. Cell, 2012, 149(2): 274-293. DOI: 10.1016/j.cell.2012.03.017.

[15] Yasuda M, Tanaka Y, Kume S, et al. Fatty acids are novel nutrient factors to regulate mTORC1 lysosomal localization and apoptosis in podocytes[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1842(7): 1097-1108. DOI: 10.1016/j.bbadis.2014.04.001.

[16] Inoki K, Mori H, Wang J, et al. mTORC1 activation in podocytes is a critical step in the development of diabetic nephropathy in mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(6): 2181-2196. DOI: 10.1172/JCI44771.

[17] Gödel M, Hartleben B, Herbach N, et al. Role of mTOR in podocyte function and diabetic nephropathy in humans and mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(6): 2197-2209. DOI: 10.1172/JCI44774.

[18] Velagapudi C, Bhandari BS, Abboud-Werner S, et al. The tuberin/mTOR pathway promotes apoptosis of tubular epithelial cells in diabetes[J]. J Am Soc Nephrol, 2011, 22(2): 262-273. DOI: 10.1681/ASN.2010040352.

[19] Sakaguchi M, Isono M, Isshiki K, et al. Inhibition of mTOR signaling with rapamycin attenuates renal hypertrophy in the early diabetic mice[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 340(1): 296-301. DOI: 10.1016/j.bbrc.2005.12.012.

[20] Kuwagata S, Kume S, Chin-Kanasaki M, et al. MicroRNA148b-3p inhibits mTORC1-dependent apoptosis in diabetes by repressing TNFR2 in proximal tubular cells[J]. Kidney Int, 2016, 90(6): 1211-1225. DOI: 10.1016/j.kint.2016.06.036.

[21] Liao YH, Chang YH, Sung LY, et al. Osteogenic differentiation of adipose-derived stem cells and calvarial defect repair using baculovirus-mediated co-expression of BMP-2 and miR-148b[J]. Biomaterials, 2014, 35(18): 4901-4910. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.02.055.

[22] Orso F, Quirico L, Virga F, et al. miR-214 and miR-148b Targeting Inhibits Dissemination of Melanoma and Breast Cancer[J]. Cancer Res, 2016, 76(17): 5151-5162. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1322.

[23] Liu GL, Liu X, Lv XB, et al. miR-148b functions as a tumor suppressor in non-small cell lung cancer by targeting carcinoembryonic antigen (CEA)[J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(8): 1990-1999.

[24] Serino G, Pesce F, Sallustio F, et al. In a retrospective international study, circulating miR-148b and let-7b were found to be serum markers for detecting primary IgA nephropathy[J]. Kidney Int, 2016, 89(3): 683-692. DOI: 10.1038/ki.2015.333.

[25] Iorio MV, Croce CM. MicroRNA dysregulation in cancer: diagnostics, monitoring and therapeutics. A comprehensive review[J]. EMBO Mol Med, 2012, 4(3): 143-159. DOI: 10.1002/emmm.201100209.

[26] Janssen HL, Reesink HW, Lawitz EJ, et al. Treatment of HCV infection by targeting microRNA[J]. N Engl J Med, 2013, 368(18): 1685-1694. DOI: 10.1056/NEJMoa1209026.

（收稿日期：2017-10-24）
（本文编辑：杨克魁）

·读者·作者·编者·

本刊对医学名词使用的要求

为规范医学名词，本刊以 1989 年及其以后由全国科学技术名词审定委员会（原全国自然科学名词审定委员会）审定、公布，科学出版社出版的《医学名词》和相关学科的名词为准，暂未公布的名词仍以人民卫生出版社出版的《英汉医学词汇》为准。中文药物名称应使用最新版药典（法定药物）或卫生部药典委员会编辑的《药名词汇》（非法定药物）中的名称，英文药物名称采用国际非专利药名，不用商品名。