

飞行时间质谱技术在糖尿病肾病患者尿蛋白成分分析中的研究进展*

张 宁¹, 陆学东², 吴正林²

(1. 陕西中医药大学, 陕西咸阳 712046; 2. 深圳市第四人民医院, 广东深圳 518033)

摘要:飞行时间质谱技术(time of flight mass spectrometry, TOF-MS)由于其快速易操作等优点,已经越来越广泛的应用于临床和科研。糖尿病肾病是糖尿病最常见的并发症,但临床现有的检测方法在一定程度上具有一定的滞后性,飞行时间质谱等蛋白组学相关技术的应用和发展,为糖尿病肾病的早期诊断及预后等方面提供了新的方法和思路。该文就近几年国内外应用 TOF-MS 在糖尿病肾病方面取得的最新研究成果进行综述。

关键词:质谱;糖尿病肾病;生物标记物

中图分类号:R587.2;Q503 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2016)05-160-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.05.048

Research Advancement of TOF-MS for Analysing Protein Components in Patients with Diabetic Nephropathy Urine

ZHANG Ning¹, LU Xue-dong², WU Zheng-lin²

(1. Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi Xianyang 712046, China;

2. the Fourth People's Hospital of Shenzhen, Guangdong Shenzhen 518033, China)

Abstract: TOF-MS has been more and more widely used in clinical and scientific research due to its advantages such as fast and easily operated. Diabetic nephropathy is the most common complications of diabetes. But clinical existing detection methods to some extent have some hysteresis. The applications and developments of TOF-MS coupled with other proteomics technologies provided new ideas and methods for early diagnosis and prognosis of diabetic nephropathy. In this paper, the latest research results in nearest years about the application of TOF-MS to diabetic nephropathy will be reviewed.

Keywords: mass spectrometry; diabetic nephropathy; biomarker

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病常见的微血管并发症,约占糖尿病并发症总数的33.6%,它以血管损害为主要临床表现,属于肾小球硬化症,若不及时治疗,则会演变为终末期肾功能衰竭等严重症状,威胁患者生命^[1]。

临床上,对糖尿病肾病早期诊断的标准为持续性尿微量清蛋白。若糖尿病肾病患者出现持续性尿蛋白情况,则患者的肾脏损伤就难以逆转,从而导致患者出现终末期肾衰竭^[2]。因此,预防糖尿病肾病发生和发展需要在未出现蛋白尿之前予以诊断及干预。近年来,在尿液中寻找糖尿病早期肾损伤的特异性生物标记物,一直是研究者们关注的焦点。

飞行时间质谱技术(time of flight mass spectrometry, TOF-MS)具有对样品要求低,操作简单、灵敏度高、分辨率好、测定质量范围宽等优点,并且可以与各种蛋白质分离技术比如毛细管电泳(capillary electrophoresis, CE),双向凝胶电泳(two-dimensional polyacrylamide gel electropho-

resis, 2D-GE),多维液相色谱(liquid chromatography, LC)以及磁珠分离技术等联用,再结合生物信息学软件以及现有的数据库进行蛋白质的鉴定,同时也是发现新的潜在生物标记物的有效途径之一。蛋白组学常用的质谱技术有基质辅助激光解吸飞行时间质谱(matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, MALDI-TOF MS)、电喷雾串联质谱(electrospray ionization tandem mass spectrometry, ESI-MS/MS)和表面增强激光解吸飞行时间质谱(surface-enhanced laser desorption/ionization, SELDI-TOF MS)等。近年来,随着蛋白质组学技术的飞速发展以及各种质谱技术的广泛应用,已经有越来越多的生物标记物被国内外研究者发现。本文重点对糖尿病肾病相关的生物标记物以及 TOF-MS 技术在糖尿病肾病的应用进行综述。

1 阐明糖尿病肾病的发病机制 糖尿病肾病的发病机制十分复杂,近几年,飞行时间质谱技术的广泛应用,已经为糖尿病肾病发病机制的研究提供了

* 作者简介:张 宁(1990—),女,在读硕士研究生,初级检验技师,研究方向:尿蛋白组学, Tel:13189735292, E-mail:348068953@qq.com。
通讯作者:陆学东。

新的方法和思路,在阐明糖尿病肾病发病机制方面已经取得一些成就。Tilton 等^[3]人运用 2D-GE 联合质谱技术,对一种 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)db/db 小鼠模型的肾皮质蛋白组进行研究,发现有 147 种皮质蛋白质的水平发生了变化。这些发生改变的蛋白质在一些生理进程中发挥着重要作用,尤其在代谢途径方面。他们还创建了所有改变的蛋白质相互作用的图谱,并表明过氧化物酶体增殖激活受体 α (PPAR α)为这些相互作用的共同节点。Ramachandra Rao 等^[4]发现在高糖条件下人肾小球系膜细胞的细胞膜和细胞质的次级蛋白质会发生变化。这些蛋白质中,鉴定出钙调蛋白(calmodulin)是一种在细胞质中增加的蛋白质。蛋白质印迹技术(Western blot)可以确定出钙调蛋白的增加不仅发生在人肾小球系膜细胞中,也发生在老鼠和小鼠的糖尿病肾脏中。为了阐明钙调蛋白在糖尿病肾病的功能意义,他们还发现了钙调蛋白的作用是抑制系膜细胞对葡萄糖的摄取。功能分析表明抑制钙调素活性的两种化合物,W7 和三氟拉嗪,彻底摧毁了 TGF- β 诱导的肾小球系膜细胞对葡萄糖的摄取。这些数据表明,钙调蛋白对肾小球系膜细胞的葡萄糖转运发挥着重要的作用。Barati 等^[5]利用 MALDI-TOF MS 技术研究了 db/db 糖尿病鼠的肾小球蛋白表达谱的变化,发现 40 种肾小球蛋白水平发生改变,这些蛋白中,主要是参与氧化还原路径的蛋白水平增加,尤其是超氧化物歧化酶同种型。

1.1 过氧化物还原酶-3 和谷胱甘肽过氧化物酶-1 表达上调,提示氧化应激的适应性反应与糖尿病肾病有关。Schordan 等^[6]利用 MALDI-TOF MS 研究了长期高糖环境下人足细胞蛋白表达谱变化,鉴定出 39 个差异表达蛋白,包括细胞骨架蛋白、特异性膜联蛋白(Ⅲ和Ⅳ)等,并且利用印迹法和免疫组化法(Immunostaining)证实了膜联蛋白(Ⅲ和Ⅳ)在糖尿病肾病患者的肾小球中表达下调。这表明高血糖本身就能够大幅度改变足细胞蛋白表达谱。目前,对足细胞特异性蛋白产物的研究主要集中在足细胞裂孔隔膜蛋白(nephrin, podocin)和细胞骨架蛋白(synaptopodin)上。上述三种蛋白质在糖尿病肾病患者肾组织中的表达均下调,近来其作为尿液标记物的研究也有了新的进展^[7]。最新的研究发现,足细胞损伤在糖尿病肾病的发展中起关键作用,有证据表明,在糖尿病肾病发展早期即出现足细胞结构和功能的改变^[7,8]。足细胞在反应活动性肾小球损伤的敏感性方面优于蛋白尿。因此,尿中足细胞及其特异性蛋白产物有可能作为糖尿病肾病肾小球损伤的生物标记物^[7]。

Cummins 等^[9]利用 2D-LC-MS/MS 技术研究了 1 型糖尿病 OVE26 鼠肾小管蛋白表达谱变化。鉴定出 476 个差异表达蛋白,这些差异表达蛋白广泛参与 TGF- β 信号传导、氧化应激和葡萄糖代谢。其中 GRB2 相关接头蛋白(GRAP)在糖尿病小鼠和糖尿病患者纤维化肾脏中表达上调,并且证实 GRAP 是 TGF- β 信号传导通路的新成分,表明 GRAP 在 TGF- β 介导的糖尿病肾小管损伤中具有重要的潜在作用。这一研究,表明质谱技术可以作为一种灵敏度较高的新方法用于发现潜在的生物标记物。

由于糖尿病肾病的进展受到多种因素影响,单一的生物标记物仅仅反映了一系列生物过程的协同作用,其有效性与稳定性都有待更多的临床实践进一步证实^[10]。

2 糖尿病肾病相关生物标记物的发现及意义 蛋白质组学相关的技术大多数都用于生物标记物的发现,并且由于尿液无创易收集等优点,使得越来越多的尿生物标记物被发现,这些生物标记物在糖尿病肾病的早期诊断、病情监测及预后等方面发挥了重要作用。

Mischak 等^[11]利用 CE-MS 技术区分了健康人、2 型糖尿病和糖尿病肾病患者的尿液多肽表达谱,鉴别出了 2 型糖尿病病人和年龄匹配的健康对照组的尿液多肽图谱,并测序得到 3 个分别属于胰岛素样多肽 3、尿调素和清蛋白的多肽片段。他们还观察了每个亚组特异性的尿多肽图,这些亚组与蛋白尿的程度有关。

Rao 等^[12]用二维电泳方法比较了正常清蛋白尿、微量蛋白尿和大量清蛋白尿的 2 型糖尿病肾病患者的尿蛋白质组,发现随着病程的进展,有 7 个蛋白的表达水平逐渐升高,另有 4 个蛋白的表达水平逐渐下降。Dihazi 等^[13]采用 SELDI-MS 技术对 2 型糖尿病肾病患者、非糖尿病肾病患者、健康对照者的尿蛋白组图相比较,鉴定出质量/电荷(m/z)分别为 6188, 11744 和 14766 的三种差异蛋白。他们分别被确定为泛素、 β_2 微球蛋白和 UbA52 泛素核糖体融合蛋白。发现质荷比(m/z)为 6188 的泛素片段在糖尿病肾病组中缺乏,因此,可能用作诊断糖尿病肾病的特异标记物。Lapolla 等^[14]也采用 MALDI-TOF MS 技术进行了类似的研究,发现了 m/z 为 1912 的尿调节素和 m/z 为 1219 的胶原蛋白 α -5 链前体在两个肾脏病组中的丰度分别减少和增加,而 m/z 为 2049 的胶原蛋白 α -1 链前体的丰度则特异地在糖尿病肾病组中有小幅增加。

迄今为止,通过蛋白质组学的方法,已发现 34 种不同的蛋白质在糖尿病肾病患者的尿液中表达

上调,另有34种蛋白质表达下降^[15]。已知的443种尿液蛋白肽段中,约50%含有Ⅰ型胶原 $\alpha 1$ 和Ⅲ型胶原 $\alpha 1$ 片段,后续的临床试验证实,尿液Ⅰ型胶原和Ⅲ型胶原片段可能是比蛋白尿更早期、特异性更高的生物标志物^[16]。横断面研究表明,糖尿病肾病患者尿液Ⅳ型胶原浓度在微量清蛋白尿出现前已升高,并随着蛋白尿和血肌酐(SCr)的增加逐步升高^[17]。近来通过对1型糖尿病和2型糖尿病患者的长期随访观察发现,尿液Ⅳ型胶原浓度与estimated GFR(eGFR)的下降显著相关^[18~19],提示尿液Ⅳ型胶原可能作为糖尿病肾病早期诊断和判断预后的生物标记物。然而,受到样本量的限制,其作用有待更进一步研究证实。

肾小管间质在糖尿病肾病的发展中起着重要作用,其病变严重程度与糖尿病肾病远期预后密切相关。敏感的肾小管标记物在损伤早期、肾脏形态学改变轻微时即出现异常,在评价糖尿病肾病的预后与监控治疗效果方面具有巨大的潜能^[20]。Nauta等^[21]在横断面研究中发现,与非糖尿病患者相比,1型糖尿病患者心脏脂肪酸结合蛋白(HFABP)水平在正常清蛋白尿时即明显升高,并随着蛋白尿的增多进一步升高,与eGFR呈显著相关性,提示HFABP有望成为评价糖尿病肾病远期预后的新型生物标记物。

Out等^[22]对皮马印第安2型糖尿病患者进行10年前后的对照研究证实,可以利用尿蛋白质谱预测2型糖尿病患者是否发展为糖尿病肾病。笔者选取10年后发展为糖尿病肾病及未发展为糖尿病肾病的皮马印第安2型糖尿病患者各31例,两组患者初始肾功能正常,不合并微量蛋白尿。利用SELDI-TOF MS技术对两组患者基线水平及10年后尿蛋白质组进行了分析,发现了714种蛋白质,其中12种蛋白质对糖尿病肾病的发生有预测作用,准确性89%(敏感度93%,特异度86%),并且可以从那些尿清蛋白保持正常的糖尿病患者中区分出糖尿病肾病患者。该结果提示尿蛋白质谱技术可用于预测2型糖尿病患者是否发展为糖尿病肾病。然而,由于缺乏后续将基于质谱的数据转换成更容易完成的测试,因此限制了它在常规临床实践的应用。

2012年实施的15例1型糖尿病(diabetes mellitus type 1, T1DM)病人的一项研究(这些病人有或没有并发症,比如视网膜病和肾病),报道了凝溶胶蛋白和抗凝血酶Ⅲ是1型糖尿病早期诊断的有前途的生物标记物。而肝配蛋白B型受体4和维生素K依赖性Z蛋白可以用来预测1型糖尿病进展(视网膜病和肾病)。这些蛋白质与微血管

并发症有关,这些并发症在1型糖尿病比较常见^[23]。然而这项研究可使用的数据集较小,因此,想要推断出更好的结论就需要更多的数据来验证这些结果。

另一项研究是确定尿蛋白与1型糖尿病的发展以及并发症的相关性研究,发现尿调节素、载脂蛋白A-1、载脂蛋白E、 α_2 -巯基蛋白酶抑制剂、人补体调节蛋白CD59,以及微小蛋白在糖尿病病人体内水平较低,而 α_1 微球蛋白、锌- α_2 糖蛋白、 α_1 B糖蛋白、视黄醇结合蛋白4在同一研究组体内过表达。这些蛋白质与微量清蛋白尿相关,因此可能对监测1型糖尿病的发展非常有用。上述生物标记物的变化最有可能与肾脏并发症有关,而不是糖尿病本身^[24]。一项研究也支持了此结果,这项研究表明,尿胶原蛋白、纤维蛋白原片段、A1AT、尿调节素和膜相关孕激素受体成分1在肾脏疾病中都会观察到^[25]。

已经有研究表明,一些疾病标记物组能够区分糖尿病肾病和其他肾病。Rossing等^[26]首先利用65个CE-MS的信号峰(包括尿调素和胶原蛋白的一些多肽片段)建立了两个数学模型,用来鉴别糖尿病和糖尿病肾病,并报道这组疾病标记物在预测具有微量清蛋白尿的糖尿病患者是否会发展为糖尿病肾病时具有一定的效果。随后,又发现了17个CE-MS峰作为区分糖尿病肾病和其他慢性肾病的标记物,获得了81%的灵敏度和91%的特异度。

3 存在的问题 飞行时间质谱技术快速、简便等优点使得它已经越来越多的被用于临床和科学研究,然而,应用蛋白质组学技术在尿液中寻找生物标记物的研究仍存在很多局限性。主要表现在以下几个方面:①到目前为止还没有统一的标本收集和储存的标准流程。因为即使是同一个人,在一天的不同时间,由于饮食、运动、昼夜变化等原因,人的尿蛋白质组学发生变化,这些生理原因可能会造成实验的不可重复性。同时,样本留取的过程也会影响检测结果,比如初段尿和中段尿的尿液蛋白质组学也会出现明显的变异。目前,各个实验室采用的标准并不统一,这样可能导致检测结果的差异性,也限制了各实验室检测结果的可比性。因此,尿液蛋白质组学研究首先面临的难题就是建立临床样本收集和储存的标准化流程。②尿液样本的前期处理。尿液中的盐浓度高,代谢废物多,还有很多低浓度的复合物,复杂的组成成分大大增加了尿液蛋白质组学的研究难度^[27]。因此,尿液样品的前期处理是尿液蛋白质组学研究过程中一个相当重要的环节。尿液蛋白,尤其是低丰度尿液蛋白

是生物标记物的理想来源,在疾病的诊断、监测、预后等方面很有价值,有广阔的应用前景^[28]。然而,受来自血液中高丰度蛋白的干扰,使得低丰度蛋白很难被检测到,因此,选择合适的方法去除尿液中高丰度蛋白质也显得尤为重要。③到目前为止,大多数生物标记物的研究都是在小样本患者群体中进行,几乎没有能够被独立的研究团队验证的。因此,未来的研究应该着眼于评估大患者群体生物标记物组敏感度和特异性。单一的生物标记物往往缺乏特异度和敏感度,因此需要多种生物标记物联合检测才能确保较高的特异度和疾病诊断的精确度。由此提出了生物标记物组的概念,也激发了研究人员寻找特定疾病特异性生物标记物图谱的动力。飞行时间质谱技术的应用和发展,为这一探索提供了可能性。在后续的研究中,应该将 TOF MS 技术同系统生物学相结合,并利用生物信息学软件,构建特定疾病的诊断模型,从而建立特异性疾病图谱。

4 展望 迄今为止,飞行时间质谱技术的应用越来越广泛,许多疾病的潜在尿蛋白生物标记物已经被探索出来,比如各种类型的肾脏疾病、糖尿病等。其中一些生物标记物在疾病的无症状阶段就能够被早期检测出来,有益于对疾病进行风险分层或早期诊断,如尿液 I 型胶原和 III 型胶原片段可能比蛋白尿更早的提示肾损伤。有的用于疾病的预后,如肝配蛋白 B 型受体 4 和维生素 K 依赖性 Z 蛋白可以用来预测 1 型糖尿病进展(视网膜病和肾病)。

从肾脏和尿液蛋白质组学的视角观察,之前的大多数研究致力于蛋白质组学的表达,却很少有人进行功能学分析。这一领域的未来将走向功能蛋白质组学和蛋白质的生物信息学,在数据分析和功能学研究之间起到桥梁作用。并且,蛋白质组学只是完成肾脏学科的整体动态图的一块拼图,还要与基因组学、代谢组学、转录组学等其他“组学”相结合,从而使获得更多的信息成为可能。蛋白质组学与系统生物学的结合将会对未来肾脏疾病的研究有很大帮助,未来蛋白质组学的研究,有必要转向系统生物学,以获得疾病更全面的信息和对病理生理过程的理解,最终达到更好的治疗效果。

参考文献:

- [1] 李东千. 尿微量白蛋白检测在早期糖尿病肾病诊断中的应用价值[J]. 四川医学, 2013, 34(7): 1083-1084.
Li DQ. The application value of urinary microalbumin detection in the early diagnosis of diabetic nephropathy[J]. Sichuan Medical Journal, 2013, 34(7): 1083-1084.
- [2] 喻萍, 朱敏. 老年 2 型糖尿病患者尿微量清蛋白/尿肌酐与脂蛋白(a)的相关性研究[J]. 中国全科医学, 2014, 17(6): 619-622.
Yu P, Zhu M. Association between the urinary microalbumin/creatinine ratio and lipoprotein(a) among elderly type 2 diabetes patients[J]. Chinese General Practice, 2014, 17(6): 619-622.
- [3] Tilton RG, Haidacher SJ, Lejeune WS, et al. Diabetes-induced changes in the renal cortical proteome assessed with two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry[J]. Proteomics, 2007, 7(10): 1729-1742.
- [4] Ramachandra Rao SP, Wassell R, Shaw MA, et al. Profiling of human mesangial cell subproteomes reveals a role for calmodulin in glucose uptake[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2007, 292(4): F1182-F1189.
- [5] Barati MT, Merchant ML, Kain AB, et al. Proteomic analysis defines altered cellular redox pathways and advanced glycation end-product metabolism in glomeruli of db/db diabetic mice[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2007, 293(4): F1157-F1165.
- [6] Schordan S, Schordan E, Endlich N, et al. Alterations of the podocyte proteome in response to high glucose concentrations[J]. Proteomics, 2009, 9(19): 4519-4528.
- [7] Skoberne A, Konieczny A, Schiffer M. Glomerular epithelial cells in the urine; what has to be done to make them worthwhile? [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2009, 296(2): F230-F241.
- [8] Shankland SJ. The podocyte's response to injury: role in proteinuria and glomerulosclerosis[J]. Kidney Int, 2006, 69(12): 2131-2147.
- [9] Cummins TD, Barati MT, Coventry SC, et al. Quantitative mass spectrometry of diabetic kidney tubules identifies GRAP as a novel regulator of TGF-beta signaling[J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1804(4): 653-661.
- [10] Brosius FC, Saran R. Do we now have a prognostic biomarker for progressive diabetic nephropathy? [J]. J Am Soc Nephrol, 2012, 23(3): 376-377.
- [11] Mischak H, Kaiser T, Walden M, et al. Proteomic analysis for the assessment of diabetic renal damage in humans [J]. Clin Sci (Lond, England; 1979), 2004, 107(5): 485-495.
- [12] Rao PV, Lu X, Standley M, et al. Proteomic identification of urinary biomarkers of diabetic nephropathy [J]. Diabetes Care, 2007, 30(3): 629-637.
- [13] Dihazi H, Muller GA, Lindner S, et al. Characterization of diabetic nephropathy by urinary proteomic analysis; identification of a processed ubiquitin form as a differentially excreted protein in diabetic nephropathy patients [J]. Clin Chem, 2007, 53(9): 1636-1645.
- [14] Lapolla A, Seraglia R, Molin L, et al. Low molecular weight proteins in urines from healthy subjects as well as diabetic, nephropathic and diabetic-nephropathic patients; a MALDI study[J]. J Mass Spectrom, 2009, 44(3): 419-425.
- [15] Ben Ameer R, Molina L, Bolvin C, et al. Proteomic approaches for discovering biomarkers of diabetic

- nephropathy[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2010, 25(9):2866-2875.
- [16] Alkhalaf A, Zurbig P, Bakker SJ, et al. Multicentric validation of proteomic biomarkers in urine specific for diabetic nephropathy[J]. *PLoS One*, 2010, 5(10):e13421.
- [17] Tomino Y, Suzuki S, Azushima C, et al. Asian multi-center trials on urinary type IV collagen in patients with diabetic nephropathy[J]. *J Clin Lab Anal*, 2001, 15(4):188-192.
- [18] Morita M, Uchigata Y, Hanai K, et al. Association of urinary type IV collagen with GFR decline in young patients with type 1 diabetes[J]. *Am J Kidney Dis*, 2011, 58(6):915-920.
- [19] Araki S, Haneda M, Koya D, et al. Association between urinary type IV collagen level and deterioration of renal function in type 2 diabetic patients without overt proteinuria[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(8):1805-1810.
- [20] Tramonti G, Kanwar YS. Tubular biomarkers to assess progression of diabetic nephropathy[J]. *Kidney Int*, 2011, 79(10):1042-1044.
- [21] Nauta FL, Boertien WE, Bakker SJ, et al. Glomerular and tubular damage markers are elevated in patients with diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2011, 34(4):975-981.
- [22] Otu HH, Can HD, Spentzos D, et al. Prediction of diabetic nephropathy using urine proteomic profiling 10 years prior to development of nephropathy[J]. *Diabetes Care*, 2007, 30(3):638-643.
- [23] Caseiro A, Barros A, Ferreira R, et al. Pursuing type 1 diabetes mellitus and related complications through urinary proteomics[J]. *Transl Res*, 2014, 163(3):188-199.
- [24] Soggiu A, Piras C, Bonizzi L, et al. A discovery-phase urine proteomics investigation in type1 diabetes[J]. *Acta Diabetol*, 2012, 49(6):453-464.
- [25] Good DM, Zurbig P, Argiles A, et al. Naturally occurring human urinary peptides for use in diagnosis of chronic kidney disease[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2010, 9(11):2424-2437.
- [26] Rossing K, Mischak H, Dakna M, et al. Urinary proteomics in diabetes and CKD[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2008, 19(7):1283-1290.
- [27] Marimuthu A, O'Meally RN, Chaerkady R, et al. A comprehensive map of the human urinary proteome[J]. *J Proteome Res*, 2011, 10(6):2734-2743.
- [28] Sturm T, Leinders-Zufall T, Macek B, et al. Mouse urinary peptides provide a molecular basis for genotype discrimination by nasal sensory neurons[J]. *Nat Commun*, 2013, 4(3):1616.

收稿日期:2016-06-14

修回日期:2016-09-13

(上接 159 页)

- [16] McManus DD, Freedman JE. MicroRNAs in platelet function and cardiovascular disease[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(12):711-717.
- [17] Feiersinger F, Nolte E, Wach S, et al. MiRNA-21 expression decreases from primary tumors to liver metastases in colorectal carcinoma[J]. *PLoS One*, 2016, 11(2):e0148580.
- [18] Dong H, Lei J, Ding L, et al. MicroRNA: function, detection, and bioanalysis[J]. *Chem Rev*, 2013, 113(8):6207-6233.
- [19] Gupta P, Cairns MJ, Saksena NK. Regulation of gene expression by microRNA in HCV infection and HCV-mediated hepatocellular carcinoma[J]. *Imperial College London*, 2014, 11(4):1-14.
- [20] Luna JM, Scheel TK, Danino T, et al. Hepatitis C virus RNA functionally sequesters miR-122[J]. *Cell*, 2015, 160(6):1099-1110.
- [21] Jopling CL, Yi M, Lancaster AM, et al. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific microRNA[J]. *Science (New York, N. Y.)*, 2005, 309(5740):1577-1581.
- [22] Li Y, Masaki T, Shimakami T, et al. hnRNP L and NF90 interact with hepatitis C virus 5'-terminal untranslated RNA and promote efficient replication[J]. *J Virol*, 2014, 88(13):7199-7209.
- [23] 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.
- [24] 晋云, 江行, 卿德科, 等. MiR-122 在肝细胞癌中的表达及其与肿瘤表型标志物的相关性研究[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2013, 7(24):11259-11262.
- Jin Y, Jiang X, Qing DK, et al. Study of correlation between the expression of mir-122 and phenotype marker[J]. *Chin J Clinicians (Electronic Edition)*, 2013, 24(11):11259-11262.
- [25] Tsai WC, Hsu PW, Lai TC, et al. MicroRNA-122, a tumor suppressor microRNA that regulates intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2009, 49(5):1571-1582.
- [26] Nakao K, Miyaaki H, Ichikawa T. Antitumor function of microRNA-122 against hepatocellular carcinoma[J]. *J Gastroenterol*, 2014, 49(4):589-593.
- [27] Hsu SH, Wang B, Kota J, et al. Essential metabolic, anti-inflammatory, and anti-tumorigenic functions of miR-122 in liver[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(8):2871-2883.
- [28] Li J, Ghazwani M, Zhang Y, et al. MiR-122 regulates collagen production via targeting hepatic stellate cells and suppressing P4HA1 expression[J]. *J Hepatol*, 2013, 58(3):522-528.
- [29] Spaniel C, Honda M, Selitsky SR, et al. MicroRNA-122 abundance in hepatocellular carcinoma and non-tumor liver tissue from Japanese patients with persistent HCV versus HBV infection[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10):e76867.

收稿日期:2016-03-10

修回日期:2016-05-17