

## 儿童原发性肾病综合征患者 血清 miR-150 水平变化及其临床意义\*

朱媛媛<sup>1a,b</sup>, 罗 阳<sup>2</sup>, 顾万建<sup>1c</sup>, 王 成<sup>2</sup>, 孙 伟<sup>1b</sup>, 张春妮<sup>2</sup> (1. 江苏省中医院  
a. 科技处; b. 肾内科; c. 检验科, 南京 210049; 2. 南京总医院检验科, 南京 210002)

**摘要:**目的 分析儿童原发性肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)患者血清 miR-150 水平变化, 评估其作为 NS 新型辅助诊断标志物临床价值。方法 收集 2010 年 3 月 ~ 2014 年 5 月在南京军区总医院和江苏省中医院住院并确诊的 78 例原发性 NS 患儿及南京市儿童医院 79 例年龄、性别匹配的健康对照儿童血清样本, 记录患者及对照临床资料。实时荧光定量 PCR 技术(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)检测和比较 NS 患儿及对照儿童血清 miR-150 水平变化, 同时测定其血清总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)、球蛋白(GLO)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)和肾功能指标[尿素(Urea)、肌酐(Cr)、尿酸(Uric acid)和尿蛋白]水平, 统计学分析血清 miR-150 临床价值及与上述指标相关性。结果 NS 患儿血清 miR-150 的水平为 101.4(21.29~336.6) fmol/L, 明显高于对照组 34.11(5.53~134.2) fmol/L ( $F=3.658, P<0.001$ )。ROC 曲线分析显示, miR-150 作为 NS 诊断的曲线下面积(ROCAUC)为 0.892 (95% CI=0.843~0.940)。Spearman 相关性分析显示, NS 患儿血清 miR-150 水平与 GLO( $r=-0.231, P=0.042$ )和 TG( $r=-0.233, P=0.040$ )水平均呈显著负相关。逐步多元线性回归分析显示, 在校正其他相关因素的影响下 NS 患儿血清 miR-150 水平与 ALB 水平呈显著独立相关( $\beta=0.241, P=0.034$ ; 校正  $r^2=0.046$ )。多因素逻辑回归分析显示, 在校正了年龄、性别等因素后, 血清 miR-150 水平是 NS 的独立危险因素[OR=16.07(95% CI=5.35~48.28),  $P<0.001$ ]。结论 儿童 NS 患者血清 miR-150 水平显著升高, 且与肾功能损伤和血脂指标密切相关, 有望作为其临床辅助诊断新指标。

**关键词:**肾病综合征; 血清; miRNA; miR-150; 生物标志物

中图分类号: R692; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2017)06-006-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.06.002

## Study on the Levels and Clinical Significance of Serum miR-150 in Children with Nephrotic Syndrome

ZHU Yuan-yuan<sup>1a,b</sup>, LUO Yang<sup>2</sup>, GU Wan-jian<sup>1c</sup>, WANG Cheng<sup>2</sup>, SUN Wei<sup>1b</sup>, ZHANG Chun-ni<sup>2</sup>

(1a. Department of Science and Technology; 1b. Department of Nephrology;

1c. Department of Clinical Laboratory, Jiangsu Province Hospital of TCM,

Nanjing 210029, China; 2. Department of Clinical Laboratory Medicine,

Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing 210002, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the levels and clinical significance of serum miR-150 in children with primary nephrotic syndrome (NS). **Methods** Serum samples were collected from 78 NS children and 79 age- and sex-matched control children in Nanjing General Hospital, Jiangsu Province Hospital of TCM and Nanjing Children Hospital from March 2010 to May 2014. Quantitative Real-time PCR (qRT-PCR) assays were used to determine the concentrations of serum miR-150 in NS and control children. The other lipid and renal function parameters including serum TP, ALB, GLO, TC, TG, Urea, Cr, Uric acid and Uric protein were also assessed. Statistical analyzes were used to evaluate the clinical value of serum miR-150 for NS as well as to assess the clinical association between the levels of serum miR-150 and other clinical parameters. **Results** The serum levels of miR-150 were significantly elevated in NS children [101.4(21.29~336.6) fmol/L ( $F=3.658, P<0.001$ )] as compared with controls [34.11(5.53~134.2) fmol/L]. ROC curve analysis showed that the area under the receiver operating characteristic curve (AUCROC) was 0.892 (95% CI=0.843~0.940). Spearman rank correlations analyzes showed that the levels of serum miR-150 were significantly negatively associated with GLO ( $r=-0.231, P=0.042$ ) and TG ( $r=-0.233, P=0.040$ ) in NS children. Multiple linear regression analyses showed that serum miR-150 was independently associated with serum ALB levels ( $\beta=0.241, P=0.034$ ; adjusted  $r^2=0.046$ ) after adjustment of other related factors. Furthermore, multivariate logistic regression analysis showed that serum miR-150 an independent risk factor for NS after adjusting

\* 基金项目: 江苏省自然科学基金资助项目(BK20140730); 国家自然科学基金资助项目(81401257)。

作者简介: 朱媛媛(1989—), 女, 本科, 研究实习员, 从事临床医学检验研究工作, E-mail: zyta1010@126.com。

通讯作者: 张春妮(1963—), 女, 博士, 主任技师, 博士生导师, 主要研究方向: 临床检验诊断学, E-mail: zchunni27@hotmail.com。

孙 伟(1959—), 男, 博士, 主任医师, 博士生导师, 主要研究方向: 肾脏病学, E-mail: jssunwei@163.com。

other factors including age and gender [OR=16.07(95% CI=5.35~48.28),  $P<0.001$ ]. **Conclusion** The serum levels of miR-150 were markedly elevated in NS children and closely associated with impaired kidney function as well as lipid parameters, and may have the potential as a novel auxiliary diagnosis marker for assessing the development of NS.

**Keywords:** nephrotic syndrome; serum; miRNA; miR-150; biomarker

儿童肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)是一种临床常见的儿童肾脏疾病,患儿表现为肾小球基膜通透性病理性增高,血浆中大量蛋白从尿中丢失并伴随蛋白尿、低清蛋白血症、明显水肿和高胆固醇血症等临床症状。NS最主要的病理改变为肾小球基膜微小病变,其发病机制目前尚不完全清楚,可通过肾活检明确其病理分型、病变严重程度以指导治疗,但若治疗不及时,则可并发感染、高凝、肾小管损伤等并发症,严重时可发展为肾衰竭,导致患者死亡。近年来大量研究显示,人外周血中存在大量稳定表达的微小核糖核酸(microRNA, miRNA),不同疾病患者循环 miRNA 表达谱差异显著,可作为一类新型的疾病诊断生物标志物。肾脏疾病患者包括慢性肾衰竭患者、狼疮肾病患者等循环 miRNA 谱与对照相比也呈现出明显不同,提示特定变化循环 miRNA 可作为上述肾脏疾病潜在辅助诊断标志物<sup>[1]</sup>。miR-150 是一种与炎症和免疫反应密切相关的 miRNA,参与免疫细胞功能调节和系列炎症反应过程,与肾脏疾病的发生、发展密切相关<sup>[2]</sup>。近期有报道显示,糖尿病肾病患者血清中显著降低的 miR-150 可用来预测患者肾脏滤过功能及尿蛋白排泄率,有望成为糖尿病肾病患者早期诊断及判断预后的潜在分子标志物<sup>[3]</sup>。但目前 NS 患儿血清 miR-150 水平检测价值并不清楚,因此,本研究旨在通过测定原发性儿童 NS 患儿的血清 miR-150 水平,探讨 NS 患儿血清 miR-150 的变化特征及与疾病的相关性,以期为临床 NS 患儿的分子诊断及病情评估提供新的辅助指标。

## 1 材料和方法

1.1 研究对象 收集 2010 年 3 月~2014 年 5 月在南京军区总医院和江苏省中医院儿科住院确诊的原发性 NS 患儿治疗前血清样本 78 例,其中男性 63 例,女性 15 例,均排除先天性 NS、糖尿病、慢性肝病及家族性血脂异常。所有患儿均符合全国儿科肾病学会制订的小儿 NS 的诊断标准<sup>[4]</sup>(尿蛋白排泄量 $>50$  mg/kg/day),年龄 1~15 岁,平均年龄 $5.24\pm 3.01$  岁。选取同期在南京市儿童医院常规体检的健康对照儿童 79 例(男性 61 例,女性 18 例),年龄 1~13 岁,平均年龄 $5.04\pm 2.87$  岁,血脂、肝、肾功能检查正常。两组之间性别、年龄匹配,差异无统计学意义,具有可比性。

## 1.2 仪器和试剂

1.2.1 主要仪器:5418 型高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司);7300 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)、2720 型普通 PCR 仪(美国 ABI 公司);SAS67120 型超纯水机(Millipore 公司);7600 型全自动生化分析仪(日本 Hitachi 公司)。

1.2.2 主要试剂:用于 miR-150 检测的商品化 PCR 引物、TaqMan 探针试剂盒(美国 ABI 公司);酸性水饱和酚(美国 Sigma-Aldrich 公司);分析纯级别氯仿、异丙醇、无水乙醇(上海国药化学试剂公司);去 RNA 酶水(美国 Sigma-Aldrich 公司);逆转录试剂盒、qRT-PCR 试剂盒(大连 TaKaRa 公司);人工合成用于标准曲线制作的 miR-150 成熟体(上海吉玛公司);血清总胆固醇(total cholesterol, TC)和三酰甘油(triacylglycerols, TG)测定采用英国 Randox 公司产品;血清总蛋白(TP)、清蛋白(ALB)和球蛋白(GLO)测定试剂盒采用北京利德曼公司产品;尿酸(Uric acid)、尿素(Urea)和肌酐(Cr)测定试剂盒采用四川迈克生物科技有限公司产品;尿蛋白测定用干化学法。

## 1.3 实验方法

1.3.1 血清 RNA 提取方法:血清 RNA 提取采用课题组前期建立和优化的酸性酚-氯仿一步法进行抽提<sup>[5]</sup>,RNA 提取后溶于 20  $\mu$ l 不含 RNA 酶的水保存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 待用。

1.3.2 miR-150 逆转录及实时荧光定量 PCR:血清 miR-150 逆转录 PCR 反应总体积为 10  $\mu$ l,包括去 RNA 酶  $\text{H}_2\text{O}$  3.5  $\mu$ l,  $5\times$  AMV 酶缓冲液 2.0  $\mu$ l, 10 mmol/L dNTP 1.0  $\mu$ l, miR-150 逆转录引物 1.0  $\mu$ l, AMV 逆转录酶 0.5  $\mu$ l, RNA 样品 2.0  $\mu$ l。逆转录 PCR 反应参数:16 $^{\circ}\text{C}$  30 min, 42 $^{\circ}\text{C}$  30 min, 85 $^{\circ}\text{C}$  5 min, 4 $^{\circ}\text{C}$  保存,每个反应均为 1 个循环。实时荧光定量 PCR(Quantitative Real-time PCR, qRT-PCR)总反应体系为 20.0  $\mu$ l,包括 dd $\text{H}_2\text{O}$  14.77  $\mu$ l, 10 $\times$  PCR 缓冲液 2.0  $\mu$ l, 25 mmol/L  $\text{MgCl}_2$  1.2  $\mu$ l, 10 mmol/L dNTPs 0.4  $\mu$ l, rTaq DNA 聚合酶 0.3  $\mu$ l, miR-150 检测上下游引物及探针 0.33  $\mu$ l, cDNA 1.0  $\mu$ l。qRT-PCR 反应参数为:95 $^{\circ}\text{C}$  5 min, 1 个循环;95 $^{\circ}\text{C}$  15 s;60 $^{\circ}\text{C}$  1 min(荧光收集),共 40 个循环。每个样本 miR-150 检测设置三复孔,结果取均值。同时,以不含 cDNA 模板去 RNA 酶  $\text{H}_2\text{O}$  作为阴性对照。将已知浓度的 1  $\mu$ mol/L 人工合成的 miR-150 成熟体逆转录为 cDNA,进一步稀释成  $10^{-3}\sim 10^{-6}$  浓度梯度作为标准

品。将待测 miRNA 与标准品同时进行检测,扩增结束后根据扩增曲线设定统一的阈值,并用仪器自带 SDS 2.0 分析软件对扩增曲线进行分析,获得 miRNA 检测的  $C_t$  值。然后,以标准品不同梯度浓度的对数为 X 轴,每个浓度对应的  $C_t$  值为 Y 轴绘制标准曲线,根据标准曲线及待测样本的  $C_t$  值计算出血清样本中 miR-150 的含量。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS 17.0 统计软件,对数据进行正态性和方差齐性分析,符合正态分布的数据以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,如不符合正态分布,则采用非参数 Mann-Whitney U 检验比较分析。绘制 ROC 曲线分析 miR-150 对 NS 的辅助诊断价值,并计算其敏感度和特异度。血清 miR-150 水平与其他变量间相关性采用 Spearman 秩相关性分析。多因素分析以 NS 患儿的 miR-150 水平为因变量,年龄、性别、血、尿蛋白、肾功能和血脂等其他指标为自变量进行多元线性逐步回归处理变量纳入概率标准为  $P < 0.05$ ,剔除标准为  $P > 0.05$ 。以  $P < 0.05$  为差异有统计学显著性意义。

## 2 结果

**2.1 临床资料及血生化指标测定结果** 见表 1。与健康对照组相比,NS 患儿血清 TP, ALB 和 GLO 均降低,血清 Uric acid, TC 和 TG 则升高,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )。NS 患儿血清 Urea 和 Cr 水平与健康对照组相比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

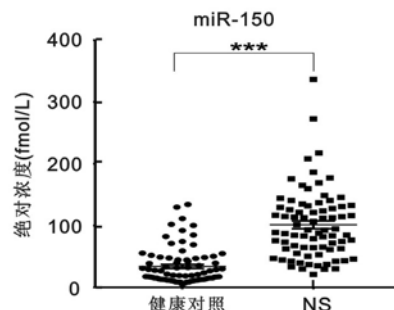
表 1 NS 患儿与健康对照组血清生化指标分析结果( $\bar{x} \pm s$ )

项 目	健康对照 ( $n=79$ )	NS 患儿 ( $n=78$ )	P 值	t 值
TP(g/L)	68.02±4.88	48.06±9.01	<0.001	17.29
ALB(g/L)	47.07±2.20	29.19±8.94	<0.001	17.26
GLO(g/L)	20.95±4.01	18.87±2.92	<0.001	3.71
Urea(mmol/L)	4.27±1.09	4.25±1.68	0.934	0.08
Uric acid( $\mu$ mol/L)	261.9±64.16	303.6±100.0	0.002	3.11
Cr( $\mu$ mol/L)	31.41±7.44	29.28±12.46	0.196	1.30
TC(mmol/L)	4.03±0.71	8.33±3.96	<0.001	9.48
TG(mmol/L)	0.98±0.44	2.37±1.92	<0.001	6.24
尿蛋白(g/L)	-	1.85±1.73	-	-

**2.2 血清 miR-150 水平检测** 见图 1。qRT-PCR 检测结果显示,NS 患儿血清 miR-150 水平为 101.4(21.29~336.6)fmol/L,明显高于健康对照组 34.11(5.53~134.2)fmol/L,差异具有统计学意义,Mann-Whitney 非参数检验 U 值为 668,  $P < 0.001$ 。

**2.3 ROC 曲线分析** ROC 曲线分析结果显示,血清 miR-150 对 NS 诊断的 ROC 曲线下面积

(AUCROC)为 0.892(95% CI 0.843 ~ 0.940)。当 miR-150 的 cut off 值为 60.31 fmol/L 时,其作为 NS 辅助诊断生物标志物的特异度和敏感度分别为 77.0 % 和 86.1 %。



\*\*\* 代表 Mann-Whitney 非参数检验,  $P < 0.001$ 。

图 1 NS 患儿及健康对照组血清 miR-150 水平

## 2.4 NS 患儿 miR-150 与其他生化指标的相关性

Spearman 秩相关性分析结果显示,NS 患儿血清 miR-150 水平与 GLO( $r = -0.231$ )和 TG( $r = -0.233$ )呈显著负相关(均  $P < 0.05$ ),而与 TP( $r = 0.094$ ), ALB( $r = 0.148$ ), Urea( $r = -0.122$ ), Cr( $r = -0.137$ ), Uric acid( $r = -0.122$ )及 TC( $r = -0.184$ )均无相关性( $P > 0.05$ )。进一步的逐步多元线性回归分析显示,在校正其他相关因素的影响下,NS 患儿血清 miR-150 水平则与清蛋白水平呈显著独立相关( $\beta = 0.241$ ,  $P = 0.034$ , 校正  $r^2 = 0.046$ )。

**2.5 逻辑回归分析** 运用单因素逻辑回归分析血清 miR-150 与 NS 的关系及其临床价值结果显示,当以健康对照为二分类参考变量时,miR-150 是 NS 独立危险因素。进一步多因素回归分析校正年龄、性别等因素后发现,当以健康对照为参考变量时,miR-150 仍是 NS 患儿潜在的独立危险因素[OR=16.07(95%CI 5.35~48.28),  $P < 0.001$ ]。

**3 讨论** 研究显示,miRNA 可通过对靶基因信使 RNA 转录后水平的调控,参与多种疾病如糖尿病、炎症、癌症等的发生发展,不同病变组织和细胞中特定变化 miRNA 可作为多种疾病包括肾脏疾病的新生物标志物并参与其生理病理过程。NS 是一种由免疫功能紊乱导致肾小球疾病<sup>[6]</sup>,其发病分子机制目前尚不清楚,临床上亦无理想的血清学标志物直接反映 NS 患儿肾脏部位病变情况及用于疾病预测、疗效监控及预后判断。最近,随着相关研究不断深入,miRNA 被广泛报道参与炎症和免疫反应、血脂紊乱、纤维化等 NS 重要病理过程,而人循环中 miRNA 表达谱发现及其临床价值报道也进一步为 NS 新型血清学生物标志物的研究

提供了新的方向<sup>[7]</sup>。本研究即针对炎症、免疫反应相关的 miR-150,发现 NS 患儿血清中循环 miR-150 的水平升高,统计学显示血清 miR-150 水平与 NS 密切相关,是 NS 的潜在独立危险因素和辅助诊断指标,相关性分析及线性回归分析提示 miR-150 可能与 NS 的发生发展密切相关。

目前,NS 患儿循环 miRNA 的研究才刚刚起步,血清 miR-150 水平检测对于 NS 的临床价值及其可能分子机制仍不完全清楚。Sui 等<sup>[8]</sup>研究发现,NS 患儿血清 miR-181a 的水平与对照相比显著升高,具备作为 NS 潜在的新型生物学标志物潜能。Teng 等<sup>[9]</sup>通过 miRNA 芯片技术结合 qRT-PCR 验证发现包括 miR-181a,miR-30a 在内的 6 个 miRNA 在 NS 患者血清中水平显著增高,其中血清 miR-30a 的水平还与患者病理类型及药物敏感性相关。Wang 等<sup>[10]</sup>也发现 NS 患者血清 miR-30a 水平显著升高,且 miR-30a 水平与血清 TG,TC,低密度脂蛋白、高速泳动蛋白和趋化因子配体 16,尿液转化生长因子  $\beta 1$ ,24 h 尿蛋白水平呈显著正相关,与血清 ALB 呈显著负相关,提示 miR-30a 可能在 NS 的发生、发展中发挥重要作用。与上述研究不同,Wang 等<sup>[11]</sup>发现 NS 患者血清中显著降低的 miR-503 是 NS 潜在的诊断及预后标志物,进一步功能研究显示 miR-503 可通过调节周期蛋白 E(Cyclin E)表达参与肾系膜细胞的增殖。循环 miR-150 水平变化对于 NS 的临床价值目前尚不完全清楚,但有报道显示其与其他肾脏疾病密切相关。Vahed 等<sup>[12]</sup>报道显示血浆 miR-150 的水平变化与肾移植患者预后密切相关,Van Craenenbroeck 等<sup>[13]</sup>则发现循环 miR-150 水平与慢性肾脏病患者运动耐受程度、肾小球滤过率和峰值氧耗量相关。同时,体外功能研究显示,miR-150 在多种肾脏疾病的发生、发展中发挥重要生理病理功能。如在狼疮性肾炎患者中,转化生长因子  $\beta 1$  可促进 miR-150 表达,后者通过抑制抗纤维化蛋白抑制因子信号转导蛋白 1(suppressor of cytokine signaling 1,SOCS1)促进肾纤维化<sup>[14]</sup>。此外,肾小球系膜细胞中高表达的 miR-150 可通过抑制 Rab1a 和 Rab31 蛋白表达促进细胞自噬发生,并参与肾脏衰老的生理病理过程<sup>[15]</sup>。这些证据均提示 miR-150 可能与 NS 发生密切相关。本研究发现,NS 患者血清 miR-150 的表达水平显著升高,且与多种血生化指标具有较高的相关性,进一步提示 miR-150 可能参与了 NS 的发生发展,是 NS 潜在的独立危险因素,可作为 NS 新的、潜在的辅助诊断生物标志物。

研究表明,循环 miRNA 可以囊泡如 exosome

包裹和游离两种形式存在,其中包裹于微囊泡的 miRNAs 能被各种细胞主动分泌,可被运输至靶细胞并进入细胞内部发挥生物学功能<sup>[16]</sup>。NS 患儿血清 miR-150 存在形式及升高分子机制仍不明确。但有证据显示,单核细胞分泌的包裹于微囊泡 miR-150 可促进内皮细胞迁移和血管形成,而慢性淋巴细胞白血病患者癌细胞分泌的 miR-150 水平变化与 B 细胞受体激活相关<sup>[17,18]</sup>。基于此,我们推测 miR-150 在 NS 的发生、发展过程也可能来自特定细胞和组织的分泌或释放,并可进入 NS 发生相关的一些细胞,促进其功能改变,对于血清 miR-150 的深入研究将会为 NS 发生发展的分子机制提供新的思路和线索。

综上所述,本研究发现血清 miR-150 在 NS 患者中水平显著升高,并与肾功能损伤指标密切相关,表明 miR-150 具备作为 NS 患者辅助诊断血清学生物标志物的潜能。但我们研究目前样本量还不够大,纳入的病例相对单一,后续研究我们将进一步扩大研究的病例数,探讨血清 miR-150 的存在形式及可能来源,并通过体外细胞、体内动物实验研究其作用机制,为 NS 的诊治及发病分子机制研究提供新的理论依据。

#### 参考文献:

- [1] Trionfini P, Benigni A, Remuzzi G. MicroRNAs in kidney physiology and disease[J]. Nat Rev Nephrol, 2015, 11(1): 23-33.
- [2] Kroesen BJ, Teteloshvili N, Smigielska-Czepiel K, et al. Immuno-miRs: critical regulators of T-cell development, function and ageing[J]. Immunology, 2015, 144(1): 1-10.
- [3] 王勾琴,王俭勤,梁耀军,等. 微小 RNA 在糖尿病肾病患者血清中的表达及临床意义[J]. 中华肾脏病杂志, 2015, 31(7): 503-508.  
Wang GQ, Wang JQ, Liang YJ, et al. Expression and clinical significance of microRNA in the serum of patients with Diabetic Nephropathy[J]. Chin J Nephrol, 2015, 31(7): 503-508.
- [4] Nielsen CA, Jensen JE, Cortes D. Vitamin D status is insufficient in the majority of children at diagnosis of nephrotic syndrome[J]. Dan Med J, 2015, 62(2): A5017.
- [5] Wang C, Hu J, Lu M, et al. A panel of five serum miRNAs as a potential diagnostic tool for early-stage renal cell carcinoma[J]. Sci Rep, 2015(5): 7610.
- [6] 宋令雄,张燕,张明威,等. 儿童原发性肾病综合征患者血清补体 C1q 水平变化及其临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(4): 1-5.  
Song LX, Zhang Y, Zhang MW, et al. Study on serum levels of C1q and their clinical significance in children

- with nephrotic syndrome[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2017, 32(4):1-5.
- [7] 万淑君,王成,王静,等. 2型糖尿病微血管并发症患者血清 miR-16, miR-126 和 miR-221 水平检测及临床意义[J]. *现代检验医学杂志*, 2016, 31(05):9-13.
- Wan SJ, Wang C, Wang J, et al. Study on serum levels of miR-16, miR-126 and miR-221 and their clinical significance in type 2 diabetes patients with or without microvascular complications[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2016, 31(5):9-13.
- [8] Sui W, Lin H, Li H, et al. Circulating microRNAs as potential biomarkers for nephrotic syndrome[J]. *Iran J Kidney Dis*, 2014, 8(5):371-376.
- [9] Teng J, Sun F, Yu PF, et al. Differential microRNA expression in the serum of patients with nephrotic syndrome and clinical correlation analysis[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6):7282-7286.
- [10] Wang WJ, Qu XQ, Yu XM, et al. Analysis of the expression of HMGB-1, CXCL16, miRNA-30a, and TGF-beta1 in primary nephritic syndrome patients and its significance[J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(3):9841-9848.
- [11] Wang H, Hu Z, Chen L. Decreased serum miR-503 level in children with nephrotic syndrome[J]. *Clin Lab*, 2015, 61(12):1917-1926.
- [12] Vahed SZ, Zonouzi AP, Mahmoodpoor F, et al. Circulating miR-150, miR-192, miR-200b, and miR-423-3p as non-invasive biomarkers of chronic allograft dysfunction[J]. *Arch Med Res*, 2017, 48(1):96-104.
- [13] Van Craenenbroeck AH, Van Craenenbroeck EM, Van Ackeren K, et al. Impaired vascular function contributes to exercise intolerance in chronic kidney disease[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2016, 31(12):2064-2072.
- [14] 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.
- [15] Liu X, Fu B, Chen D, et al. miR-184 and miR-150 promote renal glomerular mesangial cell aging by targeting Rab1a and Rab31[J]. *Exp Cell Res*, 2015, 336(2):192-203.
- [16] Chen X, Liang H, Zhang J, et al. Secreted microRNAs: a new form of intercellular communication[J]. *Trends Cell Biology*, 2012, 22(3):125-132.
- [17] Yeh YY, Ozer HG, Lehman AM, et al. Characterization of CLL exosomes reveals a distinct microRNA signature and enhanced secretion by activation of BCR signaling[J]. *Blood*, 2015, 125(21):3297-3305.
- [18] Li J, Zhang Y, Liu Y, et al. Microvesicle-mediated transfer of microRNA-150 from monocytes to endothelial cells promotes angiogenesis[J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(32):23586-23596.

收稿日期:2017-07-09

修回日期:2017-09-07

(上接5页)

- [10] Zhu YB, Hong XH, Wei M, et al. Development of a novel individualized warfarin dose algorithm based on a population pharmacokinetic model with improved prediction accuracy for Chinese patients after heart valve replacement[J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2017, 38(3):434-442.
- [11] Hou G, Jiang XH, Yang YY, et al. A 21-locus autosomal SNP multiplex and its application in forensic science[J]. *Journal of Forensic Sciences*, 2014, 59(1):5-14.
- [12] Zhang HP, Zou J, Yin Y, et al. High-resolution melting PCR analysis for genotyping Lys 109 arg and Gln 223 arg in patients with renal cell carcinoma[J]. *Annals of Clinical & Laboratory Science*, 2016, 46(4):367-373.
- [13] Rose SD, Owczarzy R, Dobosy JR, et al. Oligonucleotide primers and probes: use of chemical modifications to increase or decrease the specificity of qPCR: real-time PCR: advanced technologies and applications[M]. Caister Academic Press; 2013.
- [14] Brehm K, Krumnau O, Heilmann C, et al. Genetic variations of phenprocoumon metabolism in patients with ventricular assist devices[J]. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 2016, 50(2):275-280.
- [15] Cho HJ, On YK, Bang OY, et al. Development and comparison of warfarin dosing algorithms in stroke patients[J]. *Yonsei Medical Journal*, 2016, 57(3):635-640.
- [16] Zhang JE, Klein K, Jorgensen AL, et al. Effect of genetic variability in the CYP4F2, CYP4F11, and CYP4F12 genes on liver mRNA levels and warfarin response[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2017(8):323.
- [17] Zhuang WF, Wen W, Xuan BB, et al. Effect of CYP2C9, CYP4F2 and VKORC1 genetic polymorphisms on pharmacokinetics and pharmacodynamics of mean daily maintenance dose of warfarin in Chinese patients[J]. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 2015, 26(2):167-174.
- [18] Chen JX, Shao LL, Gong L, et al. A pharmacogenetics-based warfarin maintenance dosing algorithm from Northern Chinese patients[J]. *PLoS One*, 2014, 9(8):e105250.

收稿日期:2017-09-19

修回日期:2017-10-05