

血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 检测 对老年糖尿病肾病的诊断价值*

杨翠伶 (北京市第一中西医结合医院检验科, 北京 100026)

摘要:目的 探讨血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 对老年糖尿病肾病(DN)的诊断价值。方法 采用实时定量 PCR(RT-PCR)法检测 126 例老年 DN 患者(DN 组), 140 例 2 型糖尿病患者(2 型糖尿病组)和 65 例健康体检者(对照组)的血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 水平, 分析其对老年 DN 患者的诊断价值。结果 DN 组血清 miR-150-5p(3.35 ± 1.26 vs 1.04 ± 0.63 和 0.79 ± 0.25)和 miR-155-5p(5.47 ± 1.80 vs 1.60 ± 0.95 和 1.28 ± 0.86)表达水平均明显高于 2 型糖尿病组和对照组($F/\chi^2=8.214, 10.327$, 均 $P<0.01$)。2 型糖尿病组与对照组血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 表达水平比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。ROC 曲线分析显示, 血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 诊断老年 DN 的最佳截值分别为 2.65, 4.16, 二者联合诊断老年 DN 的 AUC(95%CI)为 0.892(0.834~0.953), 明显优于 miR-150-5p[0.805(0.749~0.865)]和 miR-155-5p[0.837(0.779~0.894)], $Z=7.215, 4.692, P<0.05$ 。其敏感度(90.4%)和特异度(85.7%)最好。结论 血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 水平在老年 DN 患者中明显升高, 有望作为老年 DN 诊断的生物学标志物。

关键词:糖尿病肾病; 老年人; 微小核糖核酸-150-5p; miR-155-5p; 诊断价值

中图分类号: R587.2; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2018)05-074-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.05.020

Diagnostic Value of Serum miR-150-5p and miR-155-5p Detection in Elderly Diabetic Nephropathy

YANG Cui-ling (Department of Clinical Laboratory, the First Hospital
of Traditional Chinese and Wasten Medicine of Beijing, Beijing 100026, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of serum miR-150-5p and miR-155-5p in elderly diabetic nephropathy (DN). **Methods** The serum miR-150-5p and miR-155-5p levels of 126 elderly DN patients (group DN), 140 patients with type 2 diabetes mellitus (type 2 diabetes group) and 65 healthy persons (control group) were detected by real-time quantitative PCR (RT-PCR), and analyzed its diagnostic value for the elderly patients with DN. **Results** The expression levels of serum miR-150-5p(3.35 ± 1.26 vs 1.04 ± 0.63 and 0.79 ± 0.25) and miR-155-5p (5.47 ± 1.80 vs 1.60 ± 0.95 and 1.28 ± 0.86) in group DN were significantly higher than those in type 2 diabetes group and control group ($F/\chi^2=8.214, 10.327$, all $P<0.01$). There was no significant difference in serum miR-150-5p and miR-155-5p levels between type 2 diabetes group and control group ($P>0.05$). The ROC curve analysis showed that the best cut-off values of serum miR-150-5p and miR-155-5p diagnosis of elderly DN were 2.65 and 4.16, respectively. The two combined diagnosis of elderly DN of AUC (95%CI)[0.892(0.834~0.953)] were significantly better than miR-150-5p[0.805(0.749~0.865)] and miR-155-5p [0.837(0.779~0.894)] ($Z=7.215, 4.692, P<0.05$), and its sensitivity (90.4%) and specificity (85.7%) were best. **Conclusion** Serum miR-150-5p and miR-155-5p levels in elderly DN patients increased significantly, and it is expected to be a biomarker for the diagnosis of DN in elderly patients.

Keywords: diabetic nephropathy; elderly; miR-150-5p; miR-155-5p; diagnostic value

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是发生于糖尿病微血管病变的常见并发症,也是终末期肾病的主要病因,在老年人中的发病率及病死率均较高,严重威胁患者的生命健康^[1,2]。微小核糖核酸(microRNA, miRNA)是一类长约 21~25 个核苷酸的单链小分子 RNA,具有高度保守性,通过抑制或降解靶基因信使 RNA 在细胞增殖、分化、凋亡及个体发育等多种生物学过程中发挥着重要的作用^[3]。近期的研究表明,miR-150-5p 和 miR-155-5p 在 DN 患者中异常表达,其表达水平与患者

病情的变化相关,可能参与 DN 发生及发展的病理过程^[4]。本研究通过观察老年 DN 患者血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 表达水平变化,分析其对老年 DN 的诊断价值,旨在为老年 DN 的早期诊断提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2015 年 1 月~2017 年 12 月北京市第一中西医结合医院收治的老年 2 型糖尿病患者 268 例,其中男性 145 例,女性 123 例,年龄 60~83(68.26 ± 6.90)岁。参考美国糖尿病协

* 作者简介:杨翠伶(1978—),女,主管检验技师,研究方向:临床老年病检验诊断学, E-mail: YangCL637@163.com。

会(ADA)2型糖尿病诊断标准对所有患者进行诊断^[5]。按照中国2型糖尿病防治指南(2013年版)中DN的判断标准^[6],分为DN组(128例)和2型糖尿病组(140例)。排除标准:①肾小球肾炎、尿路相关性感染及其他慢性肾脏疾病者;②并发酮症酸中毒、甲状腺疾病或其他代谢性疾病者;③近期应用免疫抑制剂或服用肾毒性药物者。另选择同期来我院体检正常健康者65例作为对照组,其中男性34例,女性31例,年龄61~76(67.15±7.14)岁。

1.2 主要试剂和仪器 RNA提取试剂盒购自美国Ambio公司,实时荧光定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain react, RT-PCR)采用ABI 7500型荧光定量PCR仪(美国ABI公司)。

1.3 RT-PCR检测 空腹抽取静脉血3 ml置于未加抗凝剂的离心管中,于室温2 500 r/min离心15 min,分2层,吸取上层血清400 μ l转移至1个EP管中,−80℃保存。PCR总反应体系为15 μ l,反应条件:16℃30 min,42℃30 min,85℃5 min。

扩增条件为:10 min 95℃ 1个循环,15 s 95℃,60 s 60℃进行45个循环,重复进行3次。Ct值为每个反应体系中荧光信号达到所设定的阈值经历的循环数,以U6为内参照,miRNA的相对表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算,其中 $\Delta C_t = C_{t_{\text{目标基因}}} - C_{t_{U6}}$ 。

1.4 统计学分析 采用SPSS 20.0统计软件分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用SNK-q检验。计数资料用率表示,率的比较采用 χ^2 检验。绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC)分析血清miR-150-5p和miR-155-5p水平对老年DN患者的诊断价值,曲线下面积(area under curve, AUC)的比较采用Z检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组临床一般资料比较 见表1。两组的性别、年龄、体质指数、高血压史、冠心病史、总胆固醇、三酰甘油、低密度脂蛋白及高密度脂蛋白水平比较,差异均无统计学意义($F/\chi^2 = 0.228 \sim 1.204$,均 $P > 0.05$)。

表1 各组临床一般资料比较

项 目	对照组(n=65)	2型糖尿病组(n=140)	DN组(n=128)	χ^2/F 值	P值
性别(男/女)	34/31	73/67	72/56	0.228	0.681
年龄($\bar{x} \pm s$,岁)	67.15±7.14	68.18±7.12	68.40±7.25	0.652	0.473
体质指数($\bar{x} \pm s$),kg/m ²	24.58±2.40	24.30±2.25	24.42±2.38	0.437	0.639
高血压史[n(%)]	18(27.7)	42(30.0)	41(32.0)	0.814	0.380
冠心病史[n(%)]	12(18.5)	31(22.1)	32(25.0)	0.713	0.426
总胆固醇($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	3.36±1.48	3.12±1.53	2.80±1.23	0.609	0.502
三酰甘油($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	1.60±0.53	2.38±0.92	2.64±1.14	1.204	0.183
低密度脂蛋白($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	2.43±0.95	3.04±1.27	2.68±1.05	0.958	0.225
高密度脂蛋白($\bar{x} \pm s$,mmol/L)	1.38±0.41	1.25±0.56	1.14±0.47	1.106	0.207

2.2 DN组和对照组血清miR-150-5p和miR-155-5p表达水平比较 见表2。DN组血清miR-150-5p和miR-155-5p表达水平均明显高于2型糖尿病组和对照组,差异均有统计学意义(均 $P <$

0.01);而2型糖尿病组与对照组血清miR-150-5p和miR-155-5p表达水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表2 DN组和对照组血清miR-150-5p和miR-155-5p表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

项 目	对照组(n=65)	2型糖尿病组(n=140)	DN组(n=128)	χ^2/F 值	P值
miR-150-5p($2^{-\Delta\Delta C_t}$)	0.79±0.25	1.04±0.63	3.35±1.26	8.214	<0.001
miR-155-5p($2^{-\Delta\Delta C_t}$)	1.28±0.86	1.60±0.95	5.47±1.80	10.327	<0.001

2.3 血清miR-150-5p,miR-155-5p及二者联合诊断对老年DN的诊断价值 见图1,表3。二者联合诊断老年DN的AUC(95%CI)为0.892(0.834~0.953),明显优于miR-150-5p[0.805(0.749~0.865)]和miR-155-5p[0.837(0.779~0.894)](Z

$= 7.215, 4.692$,均 $P < 0.05$)。血清miR-150-5p和miR-155-5p诊断老年DN的最佳截值分别为2.65,4.16。二者联合诊断老年DN的敏感度和特异度最好,为90.4%和85.7%。

表3 血清 miR-150-5p, miR-155-5p 及二者联合对老年 DN 的诊断价值

项 目	最佳截值	AUC(95%CI)	敏感度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)	P 值
miR-150-5p	2.65	0.805(0.749~0.865)	82.7	74.8	77.5	80.3	<0.01
miR-155-5p	4.16	0.837(0.779~0.894)	80.3	83.6	79.6	85.2	<0.01
二者联合	-	0.892(0.834~0.953)	90.4	85.7	88.3	87.6	<0.01

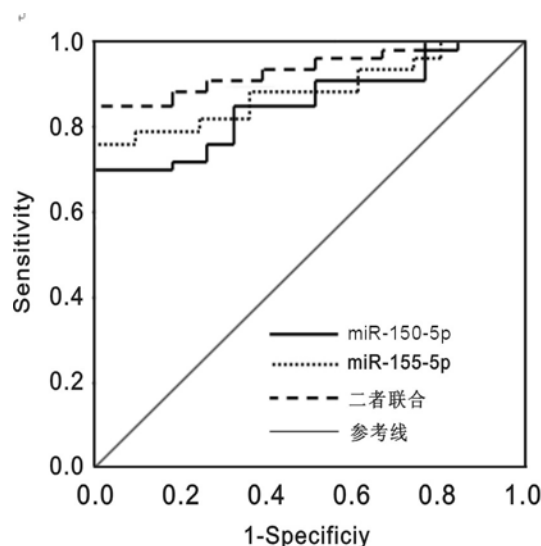


图1 血清 miR-150-5p, miR-155-5p 及二者联合诊断老年 DN 的 ROC 曲线

3 讨论 DN 是 2 型糖尿病患者的常见并发症,是多种复杂因素共同作用的结果,早期发现、早期诊断及早期干预可逆转微量蛋白尿,对改善患者预后具有重要意义。因此,寻找早期诊断 DN 敏感度和特异度强的生物学标志物显得尤为重要。miRNA 是一种非编码的小分子单链 RNA,能够通过翻译抑制或对靶基因信使 RNA 的剪切降解,参与个体发育、干细胞分化、细胞增殖及凋亡、激素分泌、肿瘤形成等生物体的多种生理及病理过程^[7]。既往研究表明,miR-150-5p 和 miR-155-5p 在肿瘤的发生及恶性转化中起着重要的调控作用,是极具潜力的肿瘤早期诊断、精准判断预后及生物治疗的分子靶点^[8,9],近年来的研究发现,miRNA 在 DN 肾脏组织或血清中表达发生改变,其与 DN 的发生发展密切相关^[10,11]。McClelland 等^[12]研究认为,miRNA 在 DN 中发挥着重要的调节作用,能通过多种机制影响 DN 的进展。随着 miRNA 的发现以及 miRNA 失调在 DN 发病机制中的重要作用,提示 miRNA 可能是 DN 诊断的新型生物学标志物以及药物作用的靶点。

本研究结果显示, DN 组血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 表达水平均明显高于 2 型糖尿病组和对照组,差异有统计学意义,2 型糖尿病组与对照组比较差异无统计学意义。这提示血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 水平与老年 DN 患者的病情严

重程度相关,可能参与 DN 的发生发展。本研究应用中 ROC 曲线分析显示,血清 miR-150-5p, miR-155-5p 及二者联合诊断老年 DN 的 AUC(95%CI) 分别为 0.805(0.749~0.865), 0.837(0.779~0.894), 0.892(0.834~0.953), 其中二者联合诊断老年 DN 的敏感度和特异度最好。这说明血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 对老年 DN 诊断具有一定的价值,二者联合检测有助于提高老年 DN 诊断的准确度。Zhou 等^[13]观察狼疮肾炎患者中 miRNA 表达情况,结果显示狼疮肾炎患者的肾组织中 miR-150-5p 表达水平明显升高,促纤维因子表达是由细胞因子信号传导抑制蛋白 1 上调所引起,进而促进肾脏纤维化,其可作为肾脏纤维化的分子标志物。Huang 等^[14]研究发现, DN 患者的肾组织中 miR-155-5p 表达水平明显上调,其集中在系膜细胞、肾小管区域、肾小球内皮细胞,且 miR-155-5p 表达水平与疾病的进展呈正相关,提示 miR-155-5p 可能参与 DN 的发生及发展。另有研究认为,观察 miRNA 的表达情况不仅有利于了解 DN 的发病机制,还有望作为一种诊断 DN 发生和发展的新型潜在标志物,在今后评估疾病进展中具有较大的应用前景^[15]。由此可见,血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 检测提供了一种非侵入性的 DN 辅助诊断方法,在未来有较好地应用前景。

综上所述,血清 miR-150-5p 和 miR-155-5p 上调与老年 DN 的发生、发展有关,二者联合检测有助于提高老年 DN 诊断的准确度,同时也为 DN 分子靶向治疗提供了新的思路。但 miR-150-5p 和 miR-155-5p 在 DN 的研究尚处于初级阶段,有关 miR-150-5p 和 miR-155-5p 表达异常在 DN 发生、发展中的作用机制及其调控机制仍有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Huang YQ, Gou R, Diao YS, et al. Charlson comorbidity index helps predict the risk of mortality for patients with type 2 diabetic nephropathy[J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2014, 15(1): 58-66.
- [2] Chan G, Tang SC. Current practices in the management of diabetic nephropathy[J]. J R Coll Physicians Edinb, 2013, 43(4): 330-332.

(下转 81 页)

- [3] Ullah S, John P, Bhatti A. MicroRNAs with a role in gene regulation and in human diseases[J]. *Mol Biol Rep*, 2014, 41(1): 225-232.
- [4] 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]. *Chinese Journal of Nephrol*, 2015, 31(7): 503-508.
- [5] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. *Diabetes Care*, 2012, 35(suppl 1): 64-71.
- [6] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2013 年版)[J]. *中华糖尿病杂志*, 2014, 6(7): 447-498.
Chinese Diabetes Society. Guideline for prevention and treatment of type 2 diabetes in China (2013 Edition)[J]. *Chinese Journal of Diabetes*, 2014, 6(7): 447-498.
- [7] Moreno-Moya JM, Vilella F, Simón C. MicroRNA: key gene expression regulators[J]. *Fertil Steril*, 2014, 101(6): 1516-1523.
- [8] Wu X, Xia M, Chen D, et al. Profiling of downregulated blood-circulating miR-150-5p as a novel tumor marker for cholangiocarcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(11): 15019-15029.
- [9] Qu YL, Wang HF, Sun ZQ, et al. Up-regulated miR-155-5p promotes cell proliferation, invasion and metastasis in colorectal carcinoma[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(6): 6988-6994.
- [10] Figueira MF, Monnerat-Cahli G, Medei E, et al. MicroRNAs: potential therapeutic targets in diabetic complications of the cardiovascular and renal systems[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2014, 211(3): 491-500.
- [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.
- [12] McClelland AD, Kantharidis P. microRNA in the development of diabetic complications[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2014, 126(2): 95-110.
- [13] 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.
- [14] Huang Y, Liu Y, Li L, et al. Involvement of inflammation-related miR-155 and miR-146a in diabetic nephropathy: implications for glomerular endothelial injury[J]. *BMC Nephrol*, 2014, 15(1): 142.
- [15] Schena FP, Serino G, Sallustio F. MicroRNAs in kidney diseases: new promising biomarkers for diagnosis and monitoring[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2014, 29(4): 755-763.