

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.05.010

MiR-146a 通过炎症参与小鼠糖尿病心肌病的机制研究*

李静¹ 常盼¹ 张静¹ 王西辉¹
王建榜¹ 陈伟国¹ 铁茹¹ 于军^{2Δ} 吴娟^{1Δ}

(1 西安医学院第二附属医院内科暨陕西省心血管内科疾病临床研究分中心 陕西 西安 710038;

2 西安医学国际中心临床中心实验室 陕西 西安 710119)

摘要 目的:探讨 microRNA-146a (miR-146a)对小鼠糖尿病心肌病炎症的影响。**方法:**20 只雄性 C57BL/6 小鼠随机分为对照组和糖尿病心肌模型组,模型组利用链脲佐菌素(STZ, 50 mg/kg)腹腔注射建立糖尿病心肌病模型,对照组给予等体积枸橼酸钠缓冲液,建模成功后提取心脏组织 RNA,利用 qRT-PCR 检测心肌组织中 miR-146a 和炎症因子白介素 1 β (IL-1 β),白介素 6(IL-6),单核趋化因子 1(MCP-1)以及 NF- κ B/p65 的 mRNA 表达;依次分离原代心肌细胞,成纤维细胞和内皮细胞,给予高糖处理后,检测细胞中 miR-146a,IL-1 β ,IL-6,MCP-1 以及 NF- κ B/p65 的 mRNA 表达;内皮细胞转染 miR-146a mimic 或 miR-146a inhibitor,观察炎症因子的表达情况。**结果:**糖尿病心肌病心肌组织中 miR-146a 水平较对照组降低($P<0.05$),炎症因子 IL-1 β ,IL-6,MCP-1 以及 NF- κ B/p65 的 mRNA 表达高于对照组($P<0.05$);与对照组相比,高糖分别处理原代心肌细胞和成纤维细胞后 miR-146a 表达未改变($P>0.05$),而高糖降低内皮细胞中 miR-146a 的表达($P<0.05$);高糖增加内皮细胞炎症因子 IL-1 β ,IL-6,MCP-1 及 NF- κ B/p65 的 mRNA 水平 ($P<0.05$);内皮细胞转染 miR-146a mimic 后可阻止由于高糖所导致的内皮细胞中 IL-1 β ,IL-6,MCP-1 及 NF- κ B/p65 的增加 ($P<0.05$),而转染 miR-146a inhibitor 后,可引起正常对照组细胞中炎症因子 IL-1 β ,IL-6,MCP-1 以及 NF- κ B/p65 表达的增加($P<0.05$)。**结论:**糖尿病心肌病中 miR-146a 的降低以及炎症的增加,与内皮细胞受损相关,且可能通过 miR-146a 影响炎症因子的表达。

关键词:miR-146a;炎症因子;糖尿病心肌病

中图分类号:R-33;R587.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2020)05-848-05

Mechanism of miR-146a Involved in Diabetic Cardiomyopathy in Mice Through Inflammation*

LI Jing¹, CHANG Pan¹, ZHANG Jing¹, WANG Xi-hui¹, WANG Jian-bang¹, CHEN Wei-guo¹, TIE Ru¹, YU Jun^{2Δ}, WU Juan^{1Δ}

(1 Department of Cardiology, The Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College and Clinical Research Center of Cardiovascular Diseases, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

2 Laboratory of Clinical Center, Xi'an Medical International Center, Xi'an, Shaanxi, 710119, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of microRNA-146a (miR-146a) on inflammation of diabetic cardiomyopathy in mice. **Methods:** Twenty male C57BL/6 mice were randomly divided into control group and diabetic myocardial model group, with 10 rats in each group. The model group was established by intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ, 50 mg/kg) to establish a diabetic cardiomyopathy model. The control group was intraperitoneally injected with an equal volume of sodium citrate buffer. Cardiac tissue RNA was extracted. qRT-PCR was used to detect the mRNA expression of miR-146a and inflammatory factor interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), monocyte chemotactic factor 1 (MCP-1) and NF- κ B/p65; then cardiomyocytes, fibroblasts and endothelial cells were sequentially isolated from mice, and treated with high glucose. The mRNA expressions of miR-146a, IL-1 β , IL-6, MCP-1 and NF- κ B/p65 were detected in the cells. The expression of inflammatory factors was observed by transfecting miR-146a mimic or miR-146a inhibitor into endothelial cells. **Results:** The level of miR-146a in myocardial tissue of diabetic cardiomyopathy was lower than that of the control group ($P<0.05$), and the mRNA expression of inflammatory factors IL-1 β , IL-6, MCP-1 and NF- κ B/p65 was higher than that of the control group ($P<0.05$). After treatment of cardiomyocytes and fibroblasts with high glucose, the expression of miR-146a was unchanged compared with the control group ($P>0.05$), while high glucose decreased the expression of miR-146a in endothelial cells

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81870172);陕西省科技厅重点项目(2018ZDXMSF-068);

陕西省科技厅一般项目(2018SF-129,2018SF-114)

作者简介:李静(1978-),女,硕士研究生,主要研究方向:心血管生理学,E-mail: 8683268@qq.com

Δ 通讯作者:吴娟(1978-),女,硕士研究生,副主任医师,主要研究方向:心血管基础与临床研究,

E-mail: 1474823287@qq.com,电话:15829244977;

于军(1974-),男,博士研究生,教授,主要研究方向:心血管基础研究,E-mail: pclamper@163.com,电话:15991630963

(收稿日期:2019-08-07 接受日期:2019-08-31)

($P < 0.05$). High glucose increased mRNA levels of endothelial cytokines IL-1 β , IL-6, MCP-1 and NF- κ B/p65 ($P < 0.05$). Then transfected with miR-146a mimic prevented high glucose induced the increase of IL-1 β , IL-6, MCP-1 and NF- κ B/p65 in endothelial cells ($P < 0.05$), and transfection of miR-146a inhibitor can cause inflammatory factor IL-1 β , IL-6, MCP-1 and NF- κ B/p65 expression increased in normal control cells ($P < 0.05$). **Conclusion:** The decrease of miR-146a and the increase of inflammation in diabetic cardiomyopathy are associated with endothelial cell damage, and these effects may be affect the expression of inflammatory factors through miR-146a.

Key words: MiR-146a; Inflammatory factor; Diabetic cardiomyopathy

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)05-848-05

前言

糖尿病是目前影响全球健康的主要问题之一。最近的研究表明,目前全球有 4.51 亿人患有糖尿病,预计到 2045 年将增加至 693 百万^[1]。糖尿病是引起心血管疾病的重要危险因素,糖尿病心肌病是糖尿病重要的心脏并发症,是独立于高血压,冠状动脉疾病或其他心脏系统疾病。糖尿病心肌病的发病机制较为复杂,研究发现多种因素,包括氧化应激,凋亡,自噬,心肌能量代谢等都参与到糖尿病心肌病发生发展的机制之中。有报道在高血糖诱导的氧化应激中会发生显著的转录变化,进而导致多种生长因子和细胞因子的增加,包括炎症介质的增加^[2]。然而,除了转录因子之外,其他表观遗传因子也已经证明发生了改变,例如,转录共激活因子 p300,其是通过组蛋白乙酰化在转录水平上调节基因表达^[3]。转录后 microRNAs(miRNA)在这一过程中也发挥着重要作用,miRNA 是一种主要的(22 个核苷酸)小 RNA 分子,是转录后水平的基因表达调控因子。它们大部分结合 mRNA 特异性的 3 非翻译区,并且在大多数情况下通过 mRNA 降解或翻译抑制负调节基因表达^[4]。已证实在几种慢性糖尿病并发症中多种 miRNA 的改变,其中有研究结果显示 miRNA-146a(miR-146)的下调与 1 型和 2 型糖尿病的心脏,肾脏和视网膜中细胞外基质蛋白转录物的上调相关^[5]。有研究表明,miR-146 通过白细胞介素 -1 受体相关激酶 1 参与小鼠糖尿病心肌病的心肌损伤^[6]。miR-146 家族目前分为 miR-146a 和 miR-146b,分别位于不同的染色体。目前关于 miR-146 参与疾病的机制仍然不清楚,本研究拟在小鼠糖尿病心肌病损伤模型上,探究 miR-146a 是否作为调节心肌炎症表达的关键分子,以及探究内皮细胞是否是其主要的作用细胞类型。

1 材料和方法

1.1 动物及分组

8 周龄 C57 雄性小鼠 20 只,体重 20-23 g,随机分为对照组和糖尿病模型组,动物均购自空军军医大学实验动物中心,动物生产许可证为 SCXK(陕)2019-001。

1.2 仪器和试剂

Trizol 和 Mir-X™ miRNA First-Strand Synthesis and SYBR qRT-PCR 均购自日本 TaKaRa 公司,mirVana™ miRNA Isolation Kit 购自美国 Ambion 公司,Lipofectamine RNAiMAX Reagent, TaqMan microRNA Assay Reverse Transcription Primer, TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit 以及 TaqMan microRNA Assay 均购自美国 Thermo Fisher 公司,荧光定量 PCR

购自加拿大 Roche 公司。

1.3 小鼠糖尿病模型的建立与鉴定

参照文献的方法^[7]建立小鼠糖尿病模型,糖尿病模型组通过连续 5 天腹腔注射 STZ(50 mg/kg)来建立,随机血糖 16.7 mmol/L 认为模型成功,对照组给予相同体积的柠檬酸盐缓冲液。

1.4 原代小鼠内皮细胞的分离和培养

分离原代小鼠心脏内皮细胞参照^[8]的方法,在实验前一天,通过在 0.1% BSA-PBS 中洗涤制备每孔 100 μ L 羊抗大鼠免疫磁珠(5-7 只小鼠),并重新悬浮于 0.1% BSA-PBS 中。将 100 μ L 制备好的磁珠与 10 μ L 抗小鼠血小板内皮粘附分子单克隆抗体(Invitrogen, 加拿大)混合,并在 4 $^{\circ}$ C 温育过夜。将小鼠乳鼠心脏取出,PBS 清洗 3 遍后切成小块,在 HBSS 缓冲液漂洗,用胶原酶 I 消化,洗涤珠子并重悬于含有 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,重复 5 次。使用尼龙网(70 μ m 孔)过滤混合物,通过离心沉淀,洗涤并重悬。将它们与如上制备的免疫磁珠一起温育,洗涤后,将结合的细胞含有 2%明胶包被的 3.5 cm 培养皿(Sigma, 美国)中培养。

1.5 原代小鼠心肌细胞和成纤维细胞的分离和培养

将小鼠乳鼠心脏迅速取出,PBS 清洗 3 遍,剪成小块组织,加入胶原酶 I 溶液消化,轻轻吹打,37 $^{\circ}$ C 水浴锅中消化 5 min,重复消化 5 次。收取的上清液中加入等量含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基,轻轻吹打后离心(1000 r/min)10 min,,弃上清,加入含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,经 200 目筛网以除去未充分消化的组织块,将细胞悬液在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的培养箱中培养 90 min 后,此贴壁的细胞为原代成纤维细胞,加入新鲜的培养基继续培养,吸取细胞上清液到新的培养瓶中继续培养,此细胞即为原代心肌细胞。

1.6 细胞的处理

三种细胞类型随机分为对照(Control)组和高糖(High glucose, HG)处理组,对照组为常规细胞培养,高糖处理组加入 33 mmol/L 葡萄糖刺激以模拟糖尿病细胞模型。应用转染脂质体试剂 Lipofectamine RNAiMAX Reagent, 参照其说明书转染 miR-146a 的类似物(Mimic)、miR-146a 的反义序列(Inhibitor)以及随机对照序列(miR-146a ctrl, miR-146a inhib-ctrl)。

1.7 RNA 的提取以及 RT-qPCR 检测

心肌组织或细胞总 RNA 的提取按照 Trizol 的说明书进行操作; 反转录以及 real-time PCR 依照 TaKaRa 公司 Mir-X™ miRNA First-Strand Synthesis and SYBR qRT-PCR 的说明书进行操作。引物合成均由上海生工完成, β -actin, F: TGTGGATC

AGCAAGCAGGAG, R: TGCGCAAGTTAGGTTTGTG TC; IL-6, F: ACAACCACGGCCTTCCTACTT, R: TCATTCCAC GAT TTCCAGAG; IL-1 β , F: ACCTGGGCTGCTCTGATGA GAG, R: CCACGGGAAAGACACAGGTAGC; MCP-1, F: TTGTCAC-CAAGCTCAAGAGAGA, R: GAGGTGGTTGTGAAAAAGGTA G; NF- κ B/p65, F: CCGGGATGGCTACTATGAGG, R: AAGGG GTTATTGTTGGTCTGGA。

1.8 miRNA 的分析

按照说明书的操作,使用 mirVana TM miRNA Isolation Kit 从心脏组织或细胞中提取 miRNA。使用 TaqMan microRNA Assay Reverse Transcription Primer 和 TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit 合成 cDNA, 采用 TaqMan microRNA Assay 进行 miR-146a 的实时定量 RT-PCR。miR-146a 的含量以 U6 snRNA 作为参照。

1.9 统计学分析

所有数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计学处理,以均数 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 在小鼠心肌中 miR-146a 和炎症因子的表达

通过 RT-qPCR 检测发现糖尿病心肌病小鼠心肌较正常对照组小鼠心肌组织中 miR-146a 的水平显著减少 ($P < 0.05$), 如图 1A; 检测小鼠心肌中炎症因子白介素 1 β (IL-1 β), 白介素 6 (IL-6), 单核趋化因子 1 (MCP-1) 以及 NF- κ B/p65 的 mRNA 表达水平, 结果发现在糖尿病小鼠心肌组织中 IL-1 β , IL-6, MCP-1 和 NF- κ B/p65 的水平显著高于正常对照组 ($P < 0.05$), 如图 1B-E。

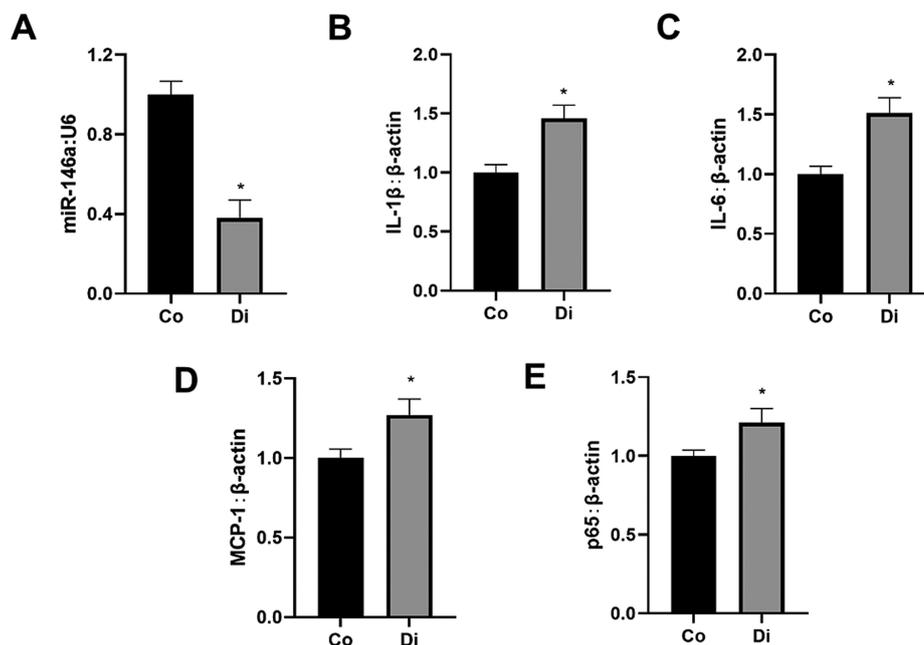


图 1 糖尿病小鼠心肌组织中 miR-146a 和炎症因子的表达 (n=6, * 与 Co 组比较, $P < 0.05$)

Fig.1 Expression of miR-146a and inflammatory factors in myocardial tissue of diabetic mice (n=6, * compared with Co group, $P < 0.05$)

Note: control: Co; diabetes: Di

2.2 在不同细胞类型中 miR-146a 的表达情况

为了探究糖尿病心肌组织中影响 miR-146a 表达情况的主要细胞类型,依次分离小鼠原代内皮细胞,心肌细胞和成纤维细胞,且给予高糖处理以模拟糖尿病细胞模型,结果发现在内皮细胞中高糖处理后可以显著降低 miR-146a 的表达 ($P < 0.05$, 图 2A), 而在心肌细胞和成纤维细胞中高糖并未改变 miR-146a 的表达 ($P > 0.05$, 图 2B-C)。

2.3 内皮细胞中炎症因子的影响

为了进一步研究 miR-146a 影响炎症因子的信号通路,发现高糖处理可诱导原代内皮细胞炎症因子 IL-1 β , IL-6, MCP-1 和 NF- κ B/p65 的增加 ($P < 0.05$, 图 3A-D)。

2.4 miR-146a 影响炎症因子的表达

内皮细胞转染 miR-146a mimic 后可阻止由于高糖所导致的内皮细胞中 IL-1 β , IL-6, MCP-1 以及 NF- κ B/p65 的增加 ($P < 0.05$, 图 4A)。而转染 miR-146a inhibitor 后,可引起正常对

照组细胞中炎症因子 IL-1 β , IL-6, MCP-1 以及 NF- κ B/p65 表达的增加 ($P < 0.05$, 图 4B-D)。

3 讨论

糖尿病心肌病的发病机制较为复杂,目前尚无特异而明确的临床或病理诊断标准,也无有效的特异性靶向药^[9],因此探究糖尿病心肌病发病机制的相关靶点,对于早期治疗或防治糖尿病心肌病具有重要的意义。近年来越来越多的研究表明,低度慢性炎症反应与糖尿病心肌病有关^[9]。在本次研究中,我们发现心肌组织中炎症因子如 IL-1 β , IL-6, MCP-1 和 NF- κ B/p65 的表达高于正常对照组。有报道称 IL-1 β 和 IL-6 在心肌肥大和功能障碍中发挥重要的作用^[10]。MCP-1 和 NF- κ B/p65 参与糖尿病心肌病的发病机制中^[11,12]。结合我们的结果进一步证实,炎症是糖尿病心肌病发病机制的重要机制之一。

miRNAs 是生物体内长度为 18-25 个核苷酸大小的内源性

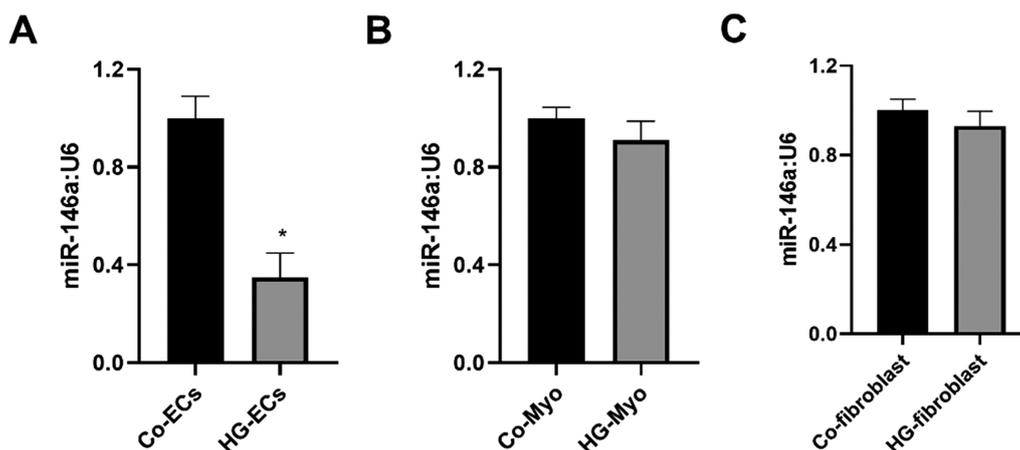


图2 不同细胞类型的 miR-146a 的表达(n=6, * 与 Co 组比较, P<0.05)

Fig.2 Expression of miR-146a in different cell types (n=6, * compared with Co group, P<0.05)

Note: control: Co; endothelial cells:ECs; cardiomyocytes: Myo

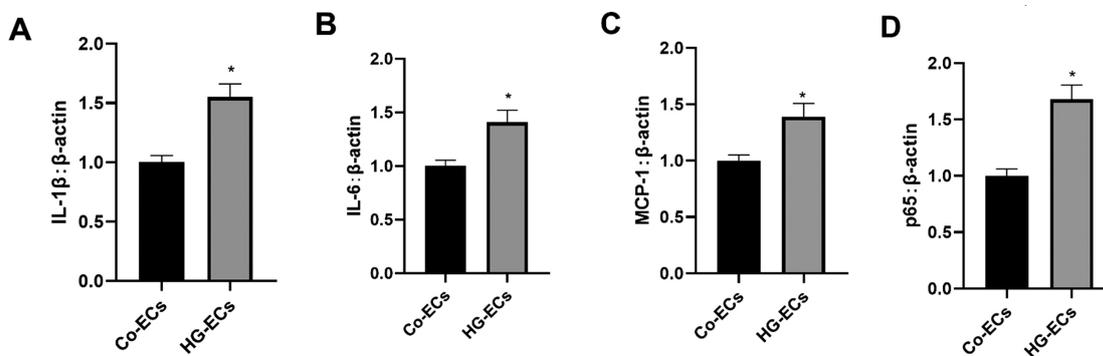


图3 内皮细胞中 IL-1β, IL-6, MCP-1 和 NF-κB/p65 的表达(n=6, * 与 Co 组比较, P<0.05)

Fig.3 Expression of IL-1β, IL-6, MCP-1 and NF-κB/p65 in endothelial cells (n=6, * compared with Co group, P<0.05)

Note: control: Co; endothelial cells: ECs

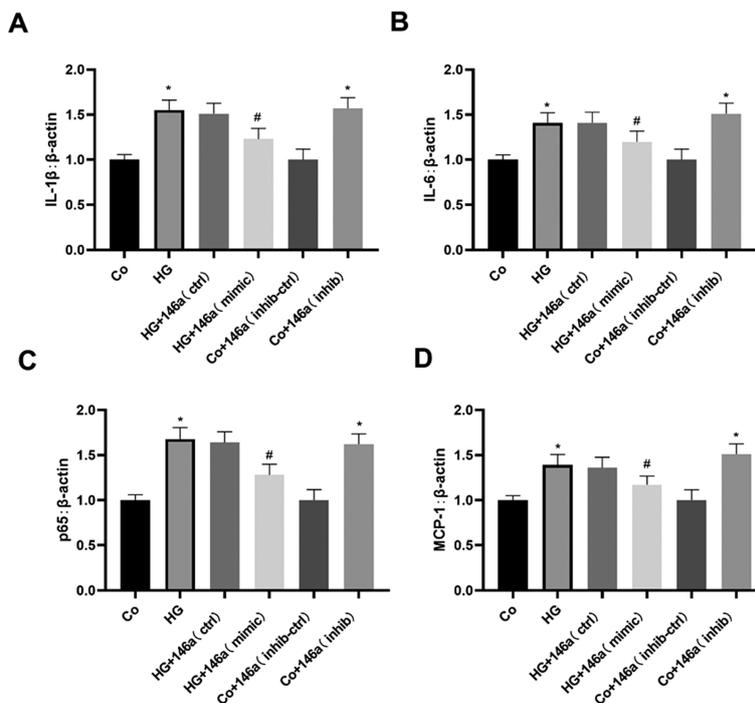


图4 内皮细胞 miR-146a 对 IL-1β, IL-6, MCP-1 和 NF-κB/p65 的影响(n=6, * 与 Co 组比较, P<0.05)

Fig.4 Effect of miR-146a on IL-1β, IL-6, MCP-1 and NF-κB/p65 in endothelial cells (n=6, * compared with Co group, P<0.05)

Note: control: Co

非编码 RNA, 往往通过抑制翻译或裂解靶 mRNA 从而调节转录后的基因表达^[13]。miRNAs 参与细胞增殖, 分化, 凋亡和免疫等生物过程, 现有的研究表明多种 miRNA 均与糖尿病心肌病相关^[13]。miR-146 已经表明与多种慢性疾病相关, 如冠状动脉疾病、缺血性卒中、胃肠疾病等^[14,15]。有研究报道 miR-146 与糖尿病心肌损伤的发生发展密切相关, 且可能与白细胞介素-1 受体相关激酶 1 的表达有关^[6,16], 在糖尿病肾病大鼠血清中发现 miR-146a 与炎症因子相关^[17], 但其具体的作用机制仍不清楚。本次研究中, 我们发现糖尿病心肌病小鼠心肌组织中 miR-146a 显著低于正常对照组, 为了进一步探究 miR-146a 参与糖尿病心肌病的机制, 我们分别提取了乳鼠内皮细胞, 心肌细胞和成纤维细胞, 依次给予高糖处理, 以模拟糖尿病心肌病在体模型, 结果发现只有在内皮细胞中高糖可导致 miR-146a 的表达降低, 且炎症相关因子 IL-1 β , IL-6, MCP-1 和 NF- κ B/p65 的表达增加, 这一结果说明糖尿病心肌病中 miR-146a 的表达变化, 可能主要是由于内皮细胞中 miR-146a 的改变。高糖引起的内皮细胞损伤是造成糖尿病心肌病的主要原因, 同时这也可能是造成只有内皮细胞 miR-146a 表达变化的主要原因。有研究表明高糖可以导致内皮细胞中炎症因子 NF- κ B 的表达^[18], 在本次研究中, 使用高糖处理内皮细胞以模拟在体糖尿病心肌病中内皮细胞的损伤, 结果发现经高糖处理后的内皮细胞, 炎症因子 IL-1 β , IL-6, MCP-1 和 NF- κ B/p65 的表达增加, 这一结果与在体糖尿病心肌病的结果一致。说明糖尿病心肌病中炎症因子 IL-1 β , IL-6, MCP-1 和 NF- κ B/p65 的水平增加也可能主要是由于内皮细胞的损伤造成的。内皮细胞损伤是造成糖尿病心肌病损伤的重要原因之一, 内皮细胞中 miR-146a 以及炎症因子的改变是引起糖尿病心肌病中 miR-146a 和炎症因子水平改变的主要原因之一。内皮细胞的衍生因素可能影响其他细胞, 最终导致整个器官受损并损害器官功能。因此, 对于预防和治疗慢性糖尿病心肌病, 内皮细胞可以作为细胞的靶细胞。

为了进一步探究 miR-146a 和炎症因子的关系, 本研究分别在内皮细胞中转染 miR-146a mimic 和 miR-146a inhibitor 后结果发现, miR-146a mimic 可降低由于高糖所导致的内皮细胞中 IL-1 β , IL-6, MCP-1 及 NF- κ B/p65 的增加, 而转染 miR-146a inhibitor 后, 可引起正常对照组细胞中炎症因子 IL-1 β , IL-6, MCP-1 及 NF- κ B/p65 表达的增加。表明在内皮细胞中, 可能是由于 miR-146a 的改变引起炎症因子的增加, 即就是 miR-146a 对炎症反应具有重要的影响, miR-146a 是炎症反应的上游靶点。在糖尿病心肌病的内皮细胞中, 转录因子的改变可能主要通过代谢损伤和氧化应激等进而引起表观遗传机制的改变。从这项研究表明, miR-146a 减少可能是造成早期表观遗传改变的主要原因。

本研究开辟了基于 RNA 的新型治疗方法的可能性, 主要针对 miRs。然而, 这样的研究也具有挑战性, 因为单个 miR 可以调节多个 mRNA, 并且一个 mRNA 可以被多个 miR 调节。因此, 如果从治疗的角度来看, miR 的“脱靶”效应是一个关键问题。另一方面基于 RNA 的研究由于其特异性而更具有说服力。在糖尿病心肌病中, 目前发现改变的 miRs, 如 miR-451、

miR-1、miR-499、miR-133a、miR-221 和 miR-34a^[13,19], 以及我们本次主要研究的 miR-146a 等, 这些分子对于疾病的发病机制具有重要作用。同样地其他未经调查的 miR 也可能存在, 也包括其他非编码 RNA 的表观遗传机制可以调节特定的 miR, 此外, miR 可能调节特定表观遗传功能的其他关键分子^[20], 因此, 这里存在一个复杂的复杂监管机制网络, 需要进一步调查来破译这些机制和识别, 为糖尿病心肌病以及其他疾病的治疗提供新的目标。

总之, 本研究已经在多个层面上证明了 miR-146a 在糖尿病心肌病发病机制中的重要性。同样我们也认识到在这些慢性疾病中, 包括其他的 miRNA 也可能具有重要的致病作用。未来基于 RNA 的治疗方法还需要更深入地分析其功能性。

参考文献 (References)

- [1] Cho NH, Shaw JE, Karuranga S, et al. IDF diabetes atlas: global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2018, 138: 271-281
- [2] Khan ZA, Farhangkhoe H, Chakrabarti S. Towards newer molecular targets for chronic diabetic complications [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2006, 4(1): 45-57
- [3] Kaur H, Chen S, Xin X, et al. Diabetes-induced extracellular matrix protein expression is mediated by transcription coactivator p300[J]. *Diabetes*, 2006, 55(11): 3104-3111
- [4] Cao Y, Feng B, Chen S, et al. Mechanisms of endothelial to mesenchymal transition in the retina in diabetes[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014, 55(11): 7321-7331
- [5] Mortuza R, Feng B, Chakrabarti S. miR-195 regulates SIRT1-mediated changes in diabetic retinopathy [J]. *Diabetologia*, 2014, 57(5): 1037-1046
- [6] 杨开雯, 强郑, 靳贝芳, 等. MicroRNA-146 在糖尿病心肌病中的调控作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(11): 1947-1952
- [7] Feng B, Cao Y, Chen S, et al. miR-200b Mediates endothelial-to-mesenchymal transition in diabetic cardiomyopathy [J]. *Diabetes*, 2016, 65(3): 768-79
- [8] 徐娜, 白淑芝. 糖尿病心肌病发病机制的研究进展 [J]. *医学综述*, 2019, 25(03): 520-524
- [9] 韩博, 施玉娟, 罗武, 等. 糖尿病心肌病发病机制研究进展 [J]. *生物产业技术*, 2018, (05): 75-82
- [10] Prabhu SD, Frangogiannis NG. The biological basis for cardiac repair after myocardial infarction: from inflammation to fibrosis [J]. *Circ Res*, 2016, 119(1): 91-112
- [11] Zou C, Liu X, Xie R, et al. Deferiprone attenuates inflammation and myocardial fibrosis in diabetic cardiomyopathy rats [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 486(4): 930-936
- [12] 金智生, 王东旭, 和彩玲, 等. 红芪多糖对 db/db 小鼠糖尿病心肌病心肌 NF- κ B p65 与 MMP-9 表达的影响[J]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2017, 38(05): 380-386
- [13] 林勇凯, 谢丹, 李可欣, 等. MicroRNAs 与糖尿病心肌病[J]. *广东医学*, 2018, 39(18): 2837-2840
- [14] Bao MH, Xiao Y, Zhang QS, et al. Meta-analysis of miR-146a polymorphisms association with coronary artery diseases and ischemic stroke[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 6(7): 14305-14317

- Med, 1994, 149(3 Pt 1): 818-824
- [9] 李琦, 陈萍, 陈良安, 等. 呼吸系统疾病防治新进展[J]. 解放军医学杂志, 2010, 35(09): 1074-1078
- [10] 杨卿, 颜春松. 急性呼吸窘迫综合征异质性的研究进展 [J]. 中国全科医学, 2017, 20(13): 1648-1653
- [11] Maclaren R, Stringer KA. Emerging role of anticoagulants and fibrinolytics in the treatment of acute respiratory distress syndrome[J]. *Pharmacotherapy*, 2007, 27(6): 860-873
- [12] Nathani N, Perkins GD, Tunnicliffe W, et al. Kerbs von Lungren 6 antigen is a marker of alveolar inflammation but not of infection in patients with acute respiratory distress syndrome [J]. *Crit Care*, 2008, 12(1): R12
- [13] Spadaro S, Park M, Turrini C, et al. Biomarkers for Acute Respiratory Distress syndrome and prospects for personalised medicine [J]. *J Inflamm (Lond)*, 2019, 16: 1
- [14] Allen TC, Kurdowska A. Interleukin 8 and acute lung injury[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2014, 138(2): 266-269
- [15] Butt Y, Kurdowska A, Allen TC. Acute Lung Injury: A Clinical and Molecular Review[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2016, 140(4): 345-350
- [16] 朱蕾, 袁民宇, 李燕芹, 等. 氧合指数在急性肺损伤和呼吸窘迫综合征诊断中的价值[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2004, 27(07): 62-63
- [17] 陈良玉, 张雅文, 李媛媛, 等. 日常活动指脉氧监测在慢性阻塞性肺病评估管理中的价值探讨[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2019, 39(04): 544-549
- [18] Martin-Du PR, Ricou F. Use of brain natriuretic peptide (BNP) in the diagnosis and treatment of heart failure[J]. *Rev Med Suisse Romande*, 2003, 123(2): 125-128
- [19] 钟耀区, 吕泽峰, 吴思仿, 等. ARDS 患者血乳酸水平与 APACHE II 评分相关性研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2010, 9(12): 883-884
- [20] 林建华. APACHE II 评分与血乳酸清除率对 ARDS 患者预后的预测[J]. *现代临床医学*, 2013, 39(2): 112-113, 115
- [21] Kaya S. Prognostic factors in hantavirus infections [J]. *Mikrobiyol Bul*, 2014, 48(1): 179-187
- [22] Zabell JR, Larson G, Koffel J, et al. Use of the Modification of Diet in Renal Disease Equation for Estimating Glomerular Filtration Rate in the Urologic Literature[J]. *J Endourol*, 2016, 30(8): 930-933
- [23] Filler G, Bokenkamp A, Hofmann W, et al. Cystatin C as a marker of GFR-history, indications, and future research[J]. *Clin Biochem*, 2005, 38(1): 1-8
- [24] Kazama JJ, Kutsuwada K, Ataka K, et al. Serum cystatin C reliably detects renal dysfunction in patients with various renal diseases[J]. *Nephron*, 2002, 91(1): 13-20
- [25] Westhuyzen J. Cystatin C: a promising marker and predictor of impaired renal function[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2006, 36(4): 387-394
- [26] Mendiluce A, Bustamante J, Martin D, et al. Cystatin C as a marker of renal function in kidney transplant patients [J]. *Transplant Proc*, 2005, 37(9): 3844-3847
- [27] 贾子毅, 刘晓伟, 刘志. 机械通气氧合指数对 ARDS 患者预后评估的价值: 附 228 例回顾性分析 [J]. *中华危重病急救医学*, 2017, 29(1): 45-50
- [28] 余佳, 张晨美, 林茹, 等. 体外膜肺在儿童重度急性呼吸窘迫综合征中的应用研究[J]. *中华急诊医学杂志*, 2017, 26(10): 1130-1133
- [29] 鲁秋芳, 姚贞君, 童雄伟, 等. D-二聚体动脉血乳酸氧合指数 CRP 对重症肺炎预后的影响研究 [J]. *基层医学论坛*, 2018, 22(19): 2618-2619
- [30] Maley CC, Aktipis A, Graham TA, et al. Classifying the evolutionary and ecological features of neoplasms [J]. *Nat Rev Cancer*, 2017, 17(10): 605-619
- (上接第 852 页)
- [15] Béres NJ, Szabó D, Kocsis D, et al. Role of altered expression of miR-146a, miR-155, and miR-122 in pediatric patients with inflammatory bowel disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2016, 22(2): 327-335
- [16] Chen S, Feng B, Thomas AA, et al. miR-146a regulates glucose induced upregulation of inflammatory cytokines extracellular matrixproteins in the retina and kidney in diabetes [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e0173918
- [17] 高艳飞. 糖尿病肾病大鼠血清 miR-146a 表达及其与炎症指标和氧化应激指标的相关性 [J]. *检验医学与临床*, 2018, 15(21): 3251-3253
- [18] Chen S, Mukherjee S, Chakraborty C, et al. High glucose-induced, endothelin-dependent fibronectin synthesis is mediated via NF- κ B and AP-1[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2003, 284(2): C263-272
- [19] 郑丽霞, 李天时, 李雪莲. 微小 RNA 与糖尿病心肌病的相关性研究进展[J]. *中国临床药理学杂志*, 2018, 31(19): 1977-1979
- [20] Ruiz M, Feng B, Chakrabarti S. Polycomb repressive complex 2 regulates miR-200b in retinal endothelial cells: potential relevance in diabetic retinopathy[J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123987