

# miR-152-3p 靶向 IGF1 基因对高糖诱导的 ARPE-19 细胞活性和凋亡的影响

李 博<sup>1</sup>, 陈金鹏<sup>1</sup>, 胡 璇<sup>2</sup>, 吴淑君<sup>1</sup>, 瞿文博<sup>1</sup>

引用:李博,陈金鹏,胡璇,等. miR-152-3p 靶向 IGF1 基因对高糖诱导的 ARPE-19 细胞活性和凋亡的影响. 国际眼科杂志 2019;19(5):729-733

Received:2018-10-16 Accepted:2019-04-10

作者单位:(436000)中国湖北省鄂州市中心医院<sup>1</sup>眼科;<sup>2</sup>超声科  
作者简介:李博,男,毕业于武汉大学,硕士研究生,主治医师,研究方向:眼底病。

通讯作者:陈金鹏,男,毕业于温州医科大学,硕士研究生,副主任医师,研究方向:白内障、眼底病。jyj179391@163.com

收稿日期:2018-10-16 修回日期:2019-04-10

## 摘要

**目的:**探究 microRNA-152-3p(miR-152-3p)靶向胰岛素样生长因子 1(IGF1)基因对高糖诱导的视网膜色素上皮 ARPE-19 细胞活性和凋亡的影响,并探讨其作用机制。

**方法:**高糖诱导 ARPE-19 细胞并转染 miR-152-3p mimics,噻唑蓝(MTT)法检测细胞增殖活性,流式细胞术检测细胞凋亡情况,荧光定量 PCR(RT-PCR)检测细胞中 miR-152-3p 水平,蛋白印迹(Western blot)法检测细胞中 IGF1 和 VEGF 表达水平,双荧光素酶报告基因检测 IGF1 和 miR-152-3p 靶向结合关系。

**结果:**高糖能够降低 ARPE-19 细胞活性,提高细胞凋亡率,抑制细胞中 miR-152-3p 的表达,提高 IGF1 和 VEGF 的表达;而过表达 miR-152-3p 能够回调高糖诱导的细胞活性抑制及凋亡增加,抑制 IGF1 和 VEGF 的表达。双荧光素酶报告基因实验验证了 IGF1 是 miR-152-3p 的靶基因。

**结论:**miR-152-3p 可通过靶向 IGF1 基因调节 VEGF 的表达抑制高糖诱导的 ARPE-19 细胞活性抑制和凋亡增加。

**关键词:**miR-152-3p;IGF1 基因;血管内皮生长因子;糖尿病视网膜病变

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2019.5.05

## Effect of miR-152-3p-targeted IGF1 gene on high glucose-induced activity and apoptosis of ARPE-19 cells

Bo Li<sup>1</sup>, Jin-Peng Chen<sup>1</sup>, Xuan Hu<sup>2</sup>, Shu-Jun Wu<sup>1</sup>, Wen-Bo Qu<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology; <sup>2</sup>Department of Ultrasound, Ezhou Central Hospital, Ezhou 436000, Hubei Province, China

**Correspondence to:** Jin - Peng Chen. Department of Ophthalmology, Ezhou Central Hospital, Ezhou 436000, Hubei Province, China. jyj179391@163.com

## Abstract

• **AIM:** To investigate the effect of microRNA-152-3p(miR-152-3p) targeting insulin-like growth factor 1(IGF1) gene on high glucose-induced retinal pigment epithelial ARPE-19 cell activity and apoptosis, and to explore its role mechanism.

• **METHODS:** High glucose was induced into ARPE-19 cells and transfected with miR-152-3p mimics. MTT assay was used to detect cell proliferation activity. Flow cytometry was used to detect apoptosis. Fluorescence quantitative PCR(RT-PCR) was used to detect cells. The expression levels of IGF1 and VEGF in the cells were detected by Western blot and the binding relationship between IGF1 and miR-152-3p was detected by the dual luciferase reporter gene.

• **RESULTS:** High glucose can decrease the activity of ARPE-19 cells, increase the apoptosis rate, inhibit the expression of miR-152-3p and increase the expression of IGF1 and VEGF. Over expression of miR-152-3p can up-regulate high glucose-induced cells. Increased activity and increased apoptosis inhibited the expression of IGF1 and VEGF. The dual luciferase reporter gene assay verified that IGF1 is the target gene of miR-152-3p.

• **CONCLUSION:** miR-152-3p can inhibit the inhibition of high glucose-induced ARPE-19 cell activity and increase apoptosis by targeting IGF1 gene.

• **KEYWORDS:** miR-152-3p; IGF1 gene; VEGF; diabetic retinopathy

**Citation:** Li B, Chen JP, Hu X, et al. Effect of miR-152-3p-targeted IGF1 gene on high glucose-induced activity and apoptosis of ARPE-19 cells. *Guoji Yanke Zazhi(Int Eye Sci)* 2019;19(5):729-733

## 0 引言

糖尿病视网膜病变是糖尿病严重并发症之一,其发病率随着糖尿病发病率的升高而逐年上升。糖尿病视网膜病变是糖尿病常见的微血管病变之一,具有特异性改变的眼底,引起患者视力严重受损,影响着患者的身心健康<sup>[1]</sup>。糖尿病视网膜病变的特征是毛细血管周细胞早期丢失和基底膜增厚,这可能导致内皮细胞过度增殖,并随后导致血管生成<sup>[2]</sup>。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)能够促进血管生成,增强毛细血管细胞通透性,参与糖尿病视网膜病变<sup>[3]</sup>。据报道,高葡萄糖可增加视网膜色素上皮细胞和血管内皮细胞中 VEGF 蛋

白水平,且糖尿病视网膜病变和其他与新生血管形成相关的眼部疾病中 VEGF 水平亦增加<sup>[4]</sup>。因此,通过了解其发展和进展的分子机制,开发针对糖尿病视网膜病变的新型治疗策略具有重要的意义。微小 RNA(miRNA)是一类新的小型、高度保守的非编码 RNA,可作为转录后调节因子。它们与靶 mRNA 的 3'-UTR 结合,并通过诱导 mRNA 降解或抑制蛋白质翻译来调节转录后水平的基因表达<sup>[5]</sup>。最近研究发现 miRNA 在糖尿病及其并发症中发挥重要调控作用<sup>[6-7]</sup>。miR-152-3p 属于高度保守的 miRNA 家族,它调节血管生成因子的释放,可能参与控制血管完整性和血管生成,这对糖尿病视网膜病变的发展至关重要<sup>[8-9]</sup>。胰岛素样生长因子 1(insulin-like growth factor 1,IGF1)是与多种生物学特性相关的重要生长因子,如细胞增殖、分化、存活和成熟等<sup>[10]</sup>。据报道 IGF1 参与视网膜增殖膜的发展,这是一层病理组织,是糖尿病视网膜病变非常重要的病理条件<sup>[11]</sup>。前期研究<sup>[12-13]</sup>发现 miR-206 通过靶向 IGF1 增强鼻咽癌的放射敏感性,miR-422a 通过靶向 IGF1 抑制胶质瘤的增殖和侵袭。本研究前期通过生物信息学软件预测得到 miR-152-3p 与 IGF1 存在靶向结合位点。本实验确定了 miR-152-3p 与 IGF1 mRNA 直接相互作用,以调节高糖条件下 ARPE-19 细胞中 VEGF 的表达。结果表明 miR-152-3p 及其靶向 IGF1 可能为糖尿病视网膜病变的治疗提供新的见解。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ARPE-19 细胞株购自中国科学院武汉细胞库;DMEM 高糖和正常糖培养基、脂质体转染试剂 Lipofectamine 2000 购自美国 Invitrogen 公司;胎牛血清、Trizol 试剂购自美国 Gibco 公司;胰蛋白酶购自杭州四季青工程材料有限公司;miR-152-3p mimics 及 mimics control 购自上海吉玛制药技术有限公司;二甲基亚砜购自上海生工生物工程有限公司;DAB 显色试剂盒购自北京中杉生物技术有限公司;逆转录试剂盒购自大连宝生物工程有限公司;SYBR premix Ex Taq 试剂盒、Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒购自日本 TaKaRa 公司;MTT 购自美国 Sigma 公司;VEGF 抗体、IGF1 抗体、GAPDH 抗体及二抗购自美国 Abcam 公司。pGLO 载体购自美国 Pronema 公司;双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自北京原平皓生物技术有限公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** ARPE-19 细胞接种于含 10% 胎牛血清、100U/mL 青霉素和 100μg/mL 链霉素的 DMEM 培养基中,在 37℃,5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。每天观察培养瓶中贴壁细胞生长和增殖情况,每 2d 换液 1 次,待细胞生长汇合达 90% 时,弃原细胞培养液,以 0.25% 胰蛋白酶消化传代。取生长状态良好且属同一代的细胞用于后续实验。

**1.2.2 实验分组** 对数生长期的 ARPE-19 细胞接种于 96 孔板中,置 37℃ 培养箱继续培养 24h,用不含血清培养基更换原培养基,饥饿处理 12h 使细胞同步化。将细胞随机分为四组:(1)正常对照组:含 5.5mmol/L 葡萄糖的 DMEM 培养基;(2)高糖组:含 30mmol/L 葡萄糖的 DMEM 培养基;(3)高糖+miR-152-3p 组:细胞转染 miR-152-3p mimics 后以含 30mmol/L 葡萄糖的 DMEM 培养基干预;(4)

高糖+NC 组:细胞转染 mimics control 后以含 30mmol/L 葡萄糖的 DMEM 培养基干预。细胞转染采用脂质体转染法,具体操作步骤参照 Lipofectamine 2000 转染试剂说明书进行。各组细胞置 37℃ 培养箱中继续培养。

**1.2.3 MTT 法检测细胞增殖情况** 正常对照组、高糖组、高糖+miR-152-3p 组和高糖+NC 组细胞接种于 96 孔板,接种密度为  $2 \times 10^4$  个细胞,置 37℃ 培养箱分别培养 24、48、72h,各个时间点在每孔细胞中添加 MTT 溶液(浓度为 5mg/mL)10μL,37℃ 孵育 4h,吸去上清液后再在每孔细胞中添加二甲基亚砜 100μL,于震荡仪上振荡 10min,至沉淀完全溶解,用酶标仪在波长 490nm 处读取吸光度值(A 值),计算各组 ARPE-19 细胞增殖活性。

**1.2.4 流式细胞术检测** 正常对照组、高糖组、高糖+miR-152-3p 组和高糖+NC 组细胞培养 48h 后,用胰蛋白酶消化贴壁生长的细胞,离心收集细胞至 1.5mL EP 管中,用凋亡孵育缓冲液冲洗并重悬细胞,调整细胞密度为  $2 \times 10^6$  个,分别在细胞中添加 Annexin V-FITC 5μL,室温避光反应 15min,再加入 PI 染液 5μL,4℃ 避光孵育 30min,上流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况,统计细胞凋亡率。

**1.2.5 荧光定量 PCR 检测** 以上各组 ARPE-19 细胞处理 48h 后以 Trizol 法提取细胞中总 RNA,按照逆转录试剂盒说明书合成 cDNA。采用 SYBR premix Ex Taq 试剂盒进行荧光定量 PCR 扩增。反应条件为 95℃ 5min,95℃ 20s,60℃ 30s,72℃ 20s,共 40 个循环。得出的 Ct 值采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算相对表达水平,以 U6 为内参,计算 miR-152-3p 相对表达水平,所用引物如下:miR-152-3p 上游:5'-ACACTCCAGCTGGGTCAGT GCATGACAG-3';下游:5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCA-3'。U6 上游:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3';下游:5'-AACGCTTCACGAATTTGCCGT-3'。

**1.2.6 Western blot 检测** 以上四组 ARPE-19 细胞处理 48h 后,分别收集各组细胞,以 0.25% 胰蛋白酶消化后用预冷的 PBS 洗涤细胞 3 次,分别加入蛋白裂解液置冰上裂解细胞,提取细胞中总蛋白。取等量蛋白样品行 SDS-PAGE 电泳,分离蛋白后将凝胶上的蛋白质转印至硝酸纤维素膜上。以质量分数为 5% 脱脂奶粉封闭液中反应 2h,常规加入一抗 VEGF(1:500 稀释)、IGF1(1:800 稀释)、GAPDH(1:500 稀释),4℃ 过夜孵育。PBST 洗膜 3 次,加入二抗(1:3000 稀释)室温孵育 2h。PBST 洗膜 3 次,以 ECL 化学发光,显影、定影,成像系统拍照,以 Image J 图像分析系统分析各条带灰度值。GAPDH 为参照,目的蛋白相对表达水平=目的蛋白条带灰度值/GAPDH 条带灰度值。

**1.2.7 双荧光素酶报告基因实验** 采用生物信息学 TargetScan 软件预测 miR-152-3p 与 IGF1 基因存在靶向结合位点,扩增与 miR-152-3p 结合的 IGF1 3'-UTR 序列并构建到 pGLO 载体上,同时将进行结合位点序列突变的 IGF1 3'-UTR 序列并构建到 pGLO 载体上,采用脂质体转染将重组载体 IGF1-WT-pGLO 或 IGF1-MUT-pGLO 与 miR-152-3p mimics 共转染于 ARPE-19 细胞,同时设置共转染 mimics control 为对照,培养 48h 后分别收集各组细胞,采用双荧光素酶报告基因检测试剂盒检测细胞中海肾荧光素酶活性和萤火虫荧光素酶活性,以二者比值表示相对荧光素酶活性。

统计学分析:采用统计学软件 SPSS21.0 进行分析,计

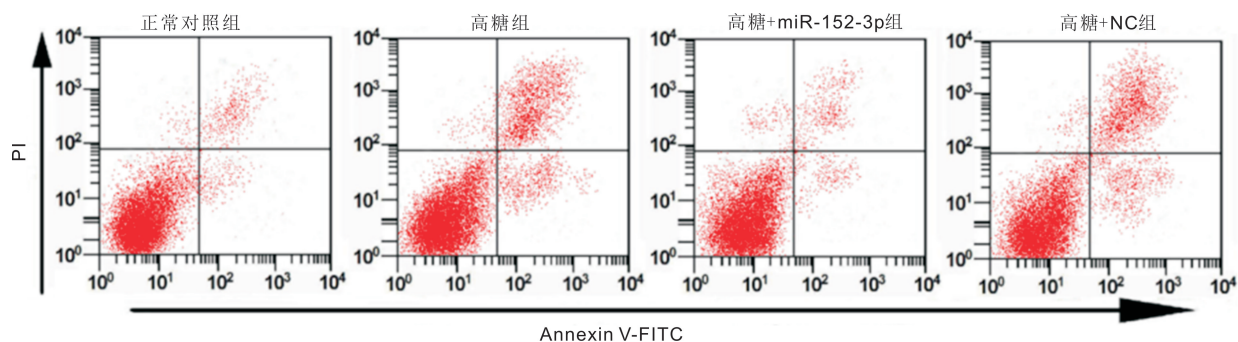


图1 流式细胞仪检测各组细胞凋亡率。

表1 各组 ARPE-19 细胞相对细胞活性比较

( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	24h	48h	72h
正常对照组	99.86±13.36	98.13±10.13	97.33±9.04
高糖组	91.47±12.14	75.47±7.62 <sup>a</sup>	72.84±6.34 <sup>a</sup>
高糖+miR-152-3p 组	96.83±10.04	94.83±6.04 <sup>c</sup>	93.16±8.01 <sup>c</sup>
高糖+NC 组	90.21±12.03	77.96±6.95	73.21±5.04
<i>F</i>	0.432	6.505	9.504
<i>P</i>	0.736	0.015	0.005

注:<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常对照组;<sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 高糖+NC 组。

表2 各组 ARPE-19 细胞 miR-152-3p、IGF1 和 VEGF 表达水平比较

 $\bar{x} \pm s$ 

组别	miR-152-3p	IGF1 蛋白	VEGF 蛋白
正常对照组	1.01±0.10	0.14±0.02	0.29±0.03
高糖组	0.31±0.03 <sup>a</sup>	0.57±0.06 <sup>a</sup>	0.62±0.05 <sup>a</sup>
高糖+miR-152-3p 组	0.96±0.08 <sup>c</sup>	0.21±0.02 <sup>c</sup>	0.30±0.03 <sup>c</sup>
高糖+NC 组	0.34±0.03	0.51±0.07	0.69±0.04
<i>F</i>	96.110	59.129	89.559
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01

注:<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常对照组;<sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 高糖+NC 组。

量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,每组数据 3 个生物学重复,多组间差异比较采用单因素方差分析,组间差异的两两比较采用 SNK-*q* 检验,两组间比较采用独立样本 *t* 检验。以  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 MTT 法检测各组 ARPE-19 细胞活性** MTT 法检测显示,处理 24h 时,与正常对照组比,高糖组 ARPE-19 细胞相对细胞活性降低,但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );与高糖+NC 组比,高糖+miR-152-3p 组 ARPE-19 细胞相对细胞活性升高,差异也无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。处理 48、72h 时,与正常对照组比,高糖组 ARPE-19 细胞相对细胞活性降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与高糖+NC 组比,高糖+miR-152-3p 组 ARPE-19 细胞相对细胞活性升高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与高糖组比,高糖+NC 组相对细胞活性无统计学意义 ( $P > 0.05$ ),见表 1。提示高糖处理能够抑制 ARPE-19 细胞活性,转染 miR-152-3p mimics 能够逆转高糖诱导的细胞活性抑制作用。

**2.2 流式细胞仪检测各组 ARPE-19 细胞凋亡率** 各组细胞处理 48h 后,采用流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况(图 1),正常对照组、高糖组、高糖+miR-152-3p 组和高糖+NC 组细胞凋亡率分别为 (3.15±0.36)%、(12.59±1.16)%、(5.44±0.61)%、(13.14±1.18)%。与正常对照

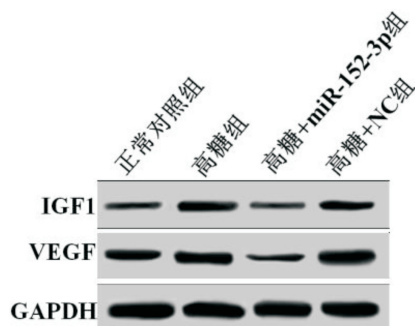


图2 Western blot 检测各组细胞中 IGF1 和 VEGF 蛋白水平。

组比,高糖组 ARPE-19 细胞凋亡率明显升高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与高糖+NC 组比,高糖+miR-152-3p 组 ARPE-19 细胞凋亡率降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与高糖组比,高糖+NC 组细胞凋亡率无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。提示高糖处理能够诱导 ARPE-19 细胞凋亡,转染 miR-152-3p mimics 能够回调高糖诱导的细胞凋亡。

**2.3 各组 ARPE-19 细胞中 miR-152-3p、IGF1 和 VEGF 表达水平** RT-PCR 和 Western blot 检测处理 48h 各组细胞中 miR-152-3p、IGF1 和 VEGF 表达水平,见图 2,表 2。与正常对照组比,高糖组 miR-152-3p 表达水平明显降



图3 miR-152-3p与IGF1 3'-UTR靶向结合位点示意图。

表3 miR-152-3p靶向IGF1 3'-UTR相对荧光素酶活性比较

组别	IGF1-WT-pGLO	IGF1-MUT-pGLO	$\bar{x} \pm s$
mimics control 组	1.02±0.10	0.96±0.09	
miR-152-3p mimics 组	0.35±0.04 <sup>a</sup>	0.99±0.11	

注:<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs mimics control 组。

低,IGF1和VEGF蛋白表达水平明显升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与高糖+NC组比,高糖+miR-152-3p组miR-152-3p表达水平明显升高,IGF1和VEGF蛋白表达水平明显降低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );与高糖组比,高糖+NC组细胞中miR-152-3p、IGF1和VEGF表达水平均无统计学意义( $P > 0.05$ )。提示高糖处理能够下调ARPE-19细胞中miR-152-3p的表达,上调IGF1和VEGF的表达;转染miR-152-3p mimics能够上调miR-152-3p的表达,且可抑制IGF1和VEGF的表达。

**2.4 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-152-3p 靶向调控 IGF1** 通过生物信息学软件TargetScan分析结果显示,IGF1是miR-152-3p的靶基因,二者靶向结合位点见图3。双荧光素酶报告基因实验结果显示,IGF1-WT-pGLO共转染中与mimics control组比,miR-152-3p mimics组相对荧光素酶活性明显降低,差异有统计学意义( $t = 10.775, P < 0.05$ );IGF1-MUT-pGLO共转染中与mimics control组比,miR-152-3p mimics组相对荧光素酶活性无明显改变,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表3。提示IGF1是miR-152-3p的靶基因。

### 3 讨论

ARPE-19细胞是视网膜色素上皮细胞中最常用于体外研究的细胞之一,本研究以ARPE-19细胞为基础,探究糖尿病视网膜病变的相关机制。糖尿病视网膜病变的特征在于毛细血管周细胞的早期脱落和由此导致的血管生成<sup>[14]</sup>。IGF1通常由肝细胞合成和分泌,并通过与特异性受体IGF1R的结合发挥作用,在结构上,IGF1与前胰岛素高度同源。有证据表明IGF1基因参与了糖尿病视网膜病变的发展<sup>[15]</sup>。与此一致,本研究表明,与正常对照组ARPE-19细胞相比,高糖能够诱导ARPE-19细胞中IGF1的高表达。最近,随着研究的深入,发现微小RNA参与糖尿病相关并发症的发生和进展<sup>[16]</sup>。目前报道<sup>[17]</sup>显示几种miRNA在高血糖条件下差异表达。在本实验中,高糖降低了视网膜色素上皮细胞ARPE-19中miR-152-3p的表达。提示IGF1与miR-152-3p的表达呈负相关性。在本研究中,预测miR-152-3p是靶向IGF1的miRNA,因此推测miR-152-3p靶向IGF1可能参与糖尿病视网膜病变的发病机制。在多种类型的癌细胞中miR-152-3p的表达降低,有研究显示miR-152-3p通过靶向TMM 97在前列腺癌中扮演抑癌因子的作用<sup>[18]</sup>,还可调节胶质瘤细胞凋亡和侵袭调控<sup>[19]</sup>。据报道,血浆hsa-miR-152-3p水平与2型糖尿病患者的糖尿病肾病有关<sup>[20]</sup>。

因此本研究前期使用生物信息学软件TargetScan预测IGF1和miR-152-3p之间存在靶向结合关系。为验证miR-152-3p和IGF1之间的靶向调节关系,本实验构建了IGF1-WT-pGLO和IGF1-MUT-pGLO荧光素酶载体。结果显示,当用IGF1-WT-pGLO荧光素酶载体转染细胞时,miR-152-3p过表达抑制相对荧光素酶活性表达,但在IGF1-MUT-pGLO组中未被抑制。这些结果证明IGF1是miR-152-3p的靶基因。

VEGF是与血管生成、癌发生和转移相关的关键调节因子。胰岛素上调VEGF表达,这种作用是由胰岛素受体介导的<sup>[21]</sup>。胰岛素对VEGF表达的上调已被认为是糖尿病视网膜病变恶化的潜在解释<sup>[22]</sup>。VEGF的过表达是糖尿病视网膜微血管病理性增生的重要原因之一。高糖诱导能够导致VEGF的分泌增加<sup>[23]</sup>,与本研究一致。本研究通过高糖诱导,可促进ARPE-19细胞中VEGF表达。此外本实验还发现高糖孵育48h后ARPE-19细胞活性显著降低,凋亡率升高。因此,高糖诱导的VEGF表达的增加,被认为是ARPE-19细胞活性降低、凋亡增加的可能原因。为了进一步证实miR-152-3p对VEGF表达的抑制作用以及ARPE-19细胞活力和凋亡是通过靶向IGF1实现的,本实验用miR-152-3p的模拟物转染细胞进行IGF1和VEGF表达的干扰。结果显示,转染miR-152-3p mimics抑制了ARPE-19细胞中IGF1和VEGF的表达,上调miR-152-3p的表达可部分逆转高糖处理的细胞活力的降低及凋亡的增加。

总之,本研究的结果表明,miR-152-3p的过表达抑制了IGF1的表达,导致VEGF途径蛋白的下调,回调了ARPE-19细胞活力,减少细胞凋亡。本研究进一步阐明了糖尿病视网膜病变的发病机制,miR-152-3p可能成为糖尿病视网膜病变的潜在治疗靶点。

### 参考文献

- 1 Ng DS, Chiang PP, Tan G, et al. Retinal ganglion cell neuronal damage in diabetes and diabetic retinopathy. *Clin Exp Ophthalmol* 2016; 44(4):243-250
- 2 Capitão M, Soares R. Angiogenesis and Inflammation Crosstalk in Diabetic Retinopathy. *J Cell Biochem* 2016;117(11):2443-2453
- 3 Thomas AA, Feng B, Chakrabarti S. ANRIL: A Regulator of VEGF in Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2017;58(1):470-480
- 4 Amato R, Biagioni M, Cammalleri M, et al. VEGF as a Survival Factor in Ex Vivo Models of Early Diabetic Retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(7):3066-3076
- 5 赵晓静, 马军, 袁翎, 等. 食管鳞癌细胞系TE7放射照射后miRNAs及DNA修复相关因子的表达. *郑州大学学报(医学版)* 2017;52(3):247-250
- 6 Ding L, Ai D, Wu R, et al. Identification of the differential expression of serum microRNA in type 2 diabetes. *Biosci Biotechnol Biochem* 2016; 80(3):461-465
- 7 崔瑞新, 吕风华, 岳莹, 等. microRNA-499靶控的PI3K/Akt通路在大鼠缺血-再灌注心肌损伤中的作用. *郑州大学学报:医学版* 2016;51(6):740-743

8 Farr RJ, Januszewski AS, Joglekar MV, *et al.* A comparative analysis of high-throughput platforms for validation of a circulating microRNA signature in diabetic retinopathy. *Sci Rep* 2015;5(4):1-11

9 Ma J, Wang J, Liu Y, *et al.* Comparisons of serum miRNA expression profiles in patients with diabetic retinopathy and type 2 diabetes mellitus. *Clinics* 2017;72(2):111-115

10 Zhang J, Chen X, Zhang L, *et al.* IGF1 gene polymorphisms associated with diabetic retinopathy risk in Chinese Han population. *Oncotarget* 2017;8(50):88034-88042

11 Chantelau E, Meyerschwickerath R, Klabe K. Downregulation of serum IGF-1 for treatment of early worsening of diabetic retinopathy: a long-term follow-up of two cases. *Ophthalmologica* 2010;224(4):243-246

12 Wang T, Dong XM, Zhang FL, *et al.* miR-206 enhances nasopharyngeal carcinoma radiosensitivity by targeting IGF1. *Kaohsiung J Med Sci* 2017;33(9):427-432

13 Wang H, Tang C, Na M, *et al.* miR-422a Inhibits Glioma Proliferation and Invasion by Targeting IGF1 and IGF1R. *Oncol Res* 2017;25(2):187-194

14 Yu Z, Lu B, Sheng Y, *et al.* Andrographolide ameliorates diabetic retinopathy by inhibiting retinal angiogenesis and inflammation. *Biochim Biophys Acta* 2015;1850(4):824-831

15 Brynskov T, Laugesen CS, Floyd AK, *et al.* The IGF-Axis and Diabetic Retinopathy Before and After Gastric Bypass Surgery. *Obes Surg* 2015;27(2):408-415

16 Qing S, Yuan S, Yun C, *et al.* Serum MiRNA Biomarkers serve as a Fingerprint for Proliferative Diabetic Retinopathy. *Cell Physiol Biochem* 2014;34(5):1733-1740

17 黄俊. 微小RNA在糖尿病视网膜病变新生血管生成中的研究进展. *中华实验眼科杂志* 2017;35(5):478-480

18 Ramalho-Carvalho J, Gonçalves CS, Graça I, *et al.* A multiplatform approach identifies miR-152-3p as a common epigenetically regulated onco-suppressor in prostate cancer targeting TMEM97. *Clin Epigenetics* 2018;10(1):40-56

19 Sun J, Tian X, Zhang J, *et al.* Regulation of human glioma cell apoptosis and invasion by miR-152-3p through targeting DNMT1 and regulating NF2:MiR-152-3p regulate glioma cell apoptosis and invasion. *J Exp Clin Cancer Res* 2017;36(1):100-113

20 Roux M, Perret C, Feigerlova E, *et al.* Plasma levels of hsa-miR-152-3p are associated with diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes. *Nephrol Dial Transplant* 2018;175(4):2201-2207

21 张思远, 田敏, 李晶艳, 等. tBHQ对2型糖尿病大鼠视网膜HO-1、VEGF表达及胰岛功能作用的研究. *中华眼科杂志* 2016;52(5):373-381

22 Gonzalezsalinas R, Garciaagutierrez MC, Garciaaguirre G, *et al.* Evaluation of VEGF gene polymorphisms and proliferative diabetic retinopathy in Mexican population. *Int J Ophthalmol* 2017;10(1):135-139

23 鲁理, 郑志, 李静文, 等. 高糖诱导的牛视网膜血管内皮细胞中共济失调毛细血管扩张突变基因激酶活性变化及其对细胞氧化应激状态的影响. *中华眼底病杂志* 2014;30(6):604-607