

# db/db 小鼠糖尿病视网膜病变相关基因表达及通路的生物信息学分析

李倩<sup>1</sup>, 何飞<sup>2</sup>, 张然<sup>1</sup>

引用:李倩,何飞,张然. db/db 小鼠糖尿病视网膜病变相关基因表达及通路的生物信息学分析. 国际眼科杂志 2021; 21(5):770-775

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81371061)

作者单位:<sup>1</sup>(621000)中国四川省绵阳市中心医院眼科;  
<sup>2</sup>(671000)中国云南省大理市,大理大学基础医学院

作者简介:李倩,毕业于西南医科大学,硕士研究生,主治医师,研究方向:眼底病、白内障。

通讯作者:何飞,毕业于四川大学,细胞生物学博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向:眼科和自身免疫性疾病的致病基因研究. hefei@dali.edu.cn

收稿日期:2020-07-08 修回日期:2021-03-30

## 摘要

**目的:**通过分析 C57BL/KsJ-db/db 小鼠的基因表达数据库确定与糖尿病视网膜病变(DR)相关的生物标志物、蛋白质编码基因、转录因子和生物通路。

**方法:**从基因表达综合数据库中选择并获得 db/db 小鼠 GSE55389 芯片数据集,鉴定视网膜中差异表达基因(DEGs),采用基因本体(GO)分析、KEGG 通路富集分析、基因集富集分析(GSEA)、蛋白质相互作用(PPI)网络的构建和转录因子(TFs)预测等综合生物信息学分析方法阐明所鉴定基因的生物学功能。

**结果:**db/db 小鼠模型病变视网膜中发现 38 个上调、28 个下调 DEGs。GO 分析表明,下调基因在眼发育功能中较丰富,差异基因没有发现明显的 KEGG 通路。蛋白质相互作用网络显示 DR 中有 7 个 hub 基因,GSEA 分析在  $P < 0.1$  下发现 12 条上调和 6 条下调通路。预测了 5 种上调和 8 种下调的转录因子及其结合位点。

**结论:**鉴定 DR 相关基因及通路有助于了解 DR 的发展机制,预测部分转录因子如 Runx2、Ppara、MafA、Gata2、Hoxa13 可能是治疗 DR 的有效靶标。

**关键词:**糖尿病视网膜病变;通路;转录因子;基因

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2021.5.05

## Bioinformatics analysis of differential gene expressions and pathways associated with diabetic retinopathy in db/db mouse model

Qian Li<sup>1</sup>, Fei He<sup>2</sup>, Ran Zhang<sup>1</sup>

**Foundation item:** National Natural Science Foundation of China (No.81371061)

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Mianyang Central Hospital, Mianyang 621000, Sichuan Province, China; <sup>2</sup>School of Basic Medicine, Dali University, Dali 671000, Yunnan Province, China

**Correspondence to:** Fei He. School of Basic Medicine, Dali University, Dali 671000, Yunnan Province, China. hefei@dali.edu.cn

Received:2020-07-08 Accepted:2021-03-30

## Abstract

• **AIM:** To identify the related biomarkers, coding genes, transcription factors and biological pathways in diabetic retinopathy (DR) via analysis of the gene expression database of C57BL/KsJ-db/db mice.

• **METHODS:** We selected and obtained microarray datasets from the Gene Expression Omnibus database to identify different expressed genes in retinas with db/db mouse model. Integrated bioinformatic analysis was used to clarify biological functions of the identified genes, including Gene Ontology (GO), the construction of a protein-protein interaction network, transcription factor, and gene set enrichment analysis.

• **RESULTS:** Totally 38 genes were found upregulated accompanied by down-regulation of 28 genes in the retina of db/db mouse. GO analysis showed that the down-regulated genes were enriched in eye development whereas there was no significant KEGG pathway identified by the differentially expressed genes. The protein-protein interaction network revealed seven hub genes involved in DR. Moreover, GSEA showed 12 up-regulated pathways with 6 down-regulated pathways ( $P < 0.1$ ), predicting up-regulation of 5 transcription factors (TFs) and down-regulation of 8 TFs along with their binding sites.

• **CONCLUSION:** The pathways and genes discovered herewith are beneficial to clarify the mechanism of DR and the part of transcription factors identified during the study, such as Runx2, Ppara, MafA, Gata2 and Hoxa13, may provide promising targets for future novel treatment of DR.

• **KEYWORDS:** diabetic retinopathy; pathway; transcription factors; gene

**Citation:** Li Q, He F, Zhang R. Bioinformatics analysis of differential gene expressions and pathways associated with diabetic retinopathy in db/db mouse model. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2021;21(5):770-775

## 0 引言

糖尿病视网膜病变 (diabetic retinopathy, DR) 是糖尿病的一种严重的微血管并发症,也是导致失明的主要原因,通常主要影响年龄在 30~70 岁的人群<sup>[1]</sup>。糖尿病影响视网膜的整个神经血管单位,逐渐病变并最终纤维化,且发病率越来越高<sup>[2]</sup>。然而,DR 目前的治疗选择仍然有限且有副作用,因此糖尿病患者最终失明的风险仍然存在<sup>[3]</sup>。虽然 DR 是糖尿病的常见并发症,但我们对其潜在的分子机制知之甚少。近年来,C57BL/KsJ-db/db 小鼠作为 2 型糖尿病的发源性糖尿病模型用于研究 DR 的发病机制<sup>[4]</sup>。本研究选取基因表达综合数据库 (GEO) 中的 db/db 小鼠芯片 GSE55389,采用生物信息学方法进行全面分析,以期从分子水平上得到新的生物标记物,靶点蛋白和通路,从而为 DR 的早期诊断和治疗靶点研究提供新的突破。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 基因芯片 GSE55389 数据集下载自 GEO 网站 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>),该芯片数据集共有 8 个从视网膜提取的 RNA 样本(其中 DR 组选用 4 例 8 周龄糖尿病 db/db 小鼠;对照组选取 4 例正常仔鼠),然后与 Affymetrix 小鼠基因 1.0ST 阵列杂交。原始数据标准化后,在 R 语言(3.4.1 版) (<http://www.bioconductor.org>) 使用 RMA (the robust multichip averaging) 算法将其转换为表达式值。

### 1.2 方法

**1.2.1 差异表达基因分析** 采用 RankProd 软件包进行差异表达基因 (differentially expressed genes, DEGs) 分析。RankProd 是一种非参数 Meta 分析工具,其利用每个基因的折叠变化 (FC) 对每个区域内的基因进行排序和比较。通过对源数据集进行 1000 次置换计算显著性值和错误发现率 (FDR) 值。仅假阳性率 (PFP) 值  $\leq 0.05$  的基因被认为是 DR 组和对照组之间的 DEGs。

**1.2.2 DEGs 的基因本体分析和通路富集分析** 使用 ClusterProfiler 软件包进一步对所识别的 DEGs 进行功能解释,即基因本体 (GO) 分析和通路分析。GO 分析使用 0.05 的阈值识别显著丰富的 GO 术语。通路分析利用 KEGG 数据库的超几何检验进行富集分析,阈值为 0.05。

**1.2.3 基因集富集分析** 使用基因集富集分析 (GSEA) 统计方法将基因组中基因的非平均强度值与其在生物通路中的发生联系起来。对于富集研究,本研究允许最小基因集大小为 10,以避免随机注释。加权富集统计用于计算 1000 个置换数的富集分数。FDR < 0.05 的富集基因集被认为是重要的通路。

**1.2.4 蛋白质相互作用分析** 使用在线数据库 STRING (10.5 版) (<https://string-db.org/>) 对筛选的 DEGs 进行蛋白质相互作用 (PPI) 分析。将综合得分 > 0.4 的配对用于构建 PPI 网络,然后使用 Cytoscape 软件构建网络并分析 DR 中候选 DEGs 编码蛋白之间的相互作用关系。为了探索更具体的蛋白质调控关系,本研究在 Cytoscape 软件中使用了 ClusterONE 插件在  $P < 0.1$  的条件下挖掘聚类模。

**1.2.5 转录因子结合分析** 基于调控基序和染色质免疫沉淀测序寻找候选转录因子 (TFs),使用 cytoscapev3.5.1 中

的 iRegulon 应用程序搜索 DR 基因的调节因子。iRegulon 通过扫描已知的 TFs 结合启动子基序以及从 DNA 元素百科全书计划 (ENCODE) 染色质免疫沉淀测序数据中发现的预测基序检测 TFs 及其靶点。在“假定监管区域”“Motif 排名数据库”和“跟踪排名数据库”选项的上游设置 20kb,其他选项被视为默认选项。DEGs 被加载到 Cytoscape<sup>[5]</sup>,并用于查询 iRegulon 插件<sup>[6]</sup>。假定的调控区域选择以转录起始位点 (TSS) 为中心的 20kb 为范围,归一化富集分数 (NES) 阈值设为 4.0,模体相似性的最大 FDR 设定为 0.001。运行 iRegulon 并以每个下调和上调的基因寻找 TFs。

## 2 结果

**2.1 DR 的 DEGs** 在稳态条件下对肥胖 db/db 小鼠视网膜组织与正常小鼠视网膜组织进行全转录组分析,通过使用 RankProd 软件包共得到 66 个 DEGs,其中 38 个基因上调,28 个基因下调,PFP  $\leq 0.05$ 。

**2.2 DEGs 的 GO 分析** 如图 1、2,表 1、2 所示,在生物学过程组中,上调基因 GO 项无显著性差异,下调基因主要集中在眼睛发育、相机型眼发育、视知觉、光刺激感觉知觉和相机型眼晶状体发育。在细胞组分中,上调基因主要富集于细胞浆核糖体、细胞浆部分、呼吸链、核糖体亚单位、核糖体、细胞浆小核糖体亚单位、小核糖体亚单位、血液微粒、中间丝,下调基因主要富集于细胞体纤维。在分子功能中,上调基因主要富集于氧结合、过氧化物酶活性、氧化还原酶活性、过氧化物受体、抗氧化活性、NADH 脱氢酶 (泛醌) 活性、NADH 脱氢酶 (醌) 活性、血红素结合、NADH 脱氢酶活性、四吡咯结合,下调基因主要富集于晶状体结构成分。上述结果表明,多数 DEGs 在细胞浆核糖体、眼睛发育和氧结合方面均显著富集。

**2.3 通路分析** 上调基因主要在氧化磷酸化、帕金森病、心肌收缩、非洲锥虫病、疟疾和核糖体中富集,而在下调基因中没有明显的富集通路 (表 3)。

**2.4 基因富集分析** GSEA 用于识别 DR 中的重要通路。FDR < 0.05 时,发现了 12 条上调通路和 6 条下调通路 (表 4、5)。上调通路主要包括脂肪消化吸收、脂肪细胞因子信号转导、组氨酸代谢、谷胱甘肽代谢、氧化磷酸化。

**2.5 PPI 网络构建** 利用 STRING 构建一个由 40 个基因和 61 个相互作用组成的 PPI 网络 (图 3)。Top2a、Cryaa、mt-Cytb、Mip、Rps3、Rpl27a、Rpl13a、Rpl23、Cryba1 和 Crygd 是最显著的 10 个节点基因,其可能在 DR 的病理进程中起重要作用 (表 6)。应用 Cytoscape 软件中的 ClusterONE 插件对 DEGs 的 PPI 网络进行聚类模块分析,以预测蛋白质复合物,结果确定了 5 个 DEGs 模块 (图 3,表 7)。模块簇 1 富含参与氧化磷酸化的基因;模块簇 2 富集于中间丝细胞骨架组织;模块簇 5 在眼睛发育方面丰富。

**2.6 iRegulon 预测调控基因集的 TFs** 利用 Cytoscape 软件中的 iRegulon 应用程序搜索 DR 相关基因集的 TFs,对于每个上调和下调的基因集,基于上游 20kb 的 motif 预测了上调基因集的 5 个 TFs 和下调基因集的 8 个 TFs。对上调基因的分析表明,Runx 家族、Ifap2a 和 Ppara 等靶基序的富集,表明这些 TFs 可能驱动差异基因表达 (表 8)。与下调基因相关的 TFs 包括 Gata2、Hoxa13、Tbp 和 Runx3 等 (表 9)。

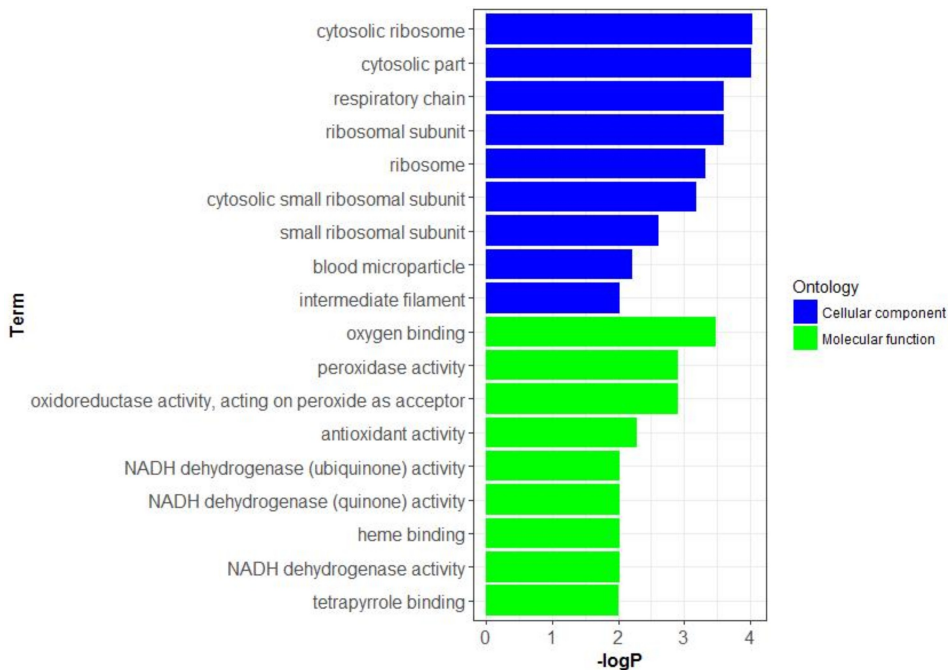


图1 基因本体分析及DR中上调基因GO术语的显著富集。

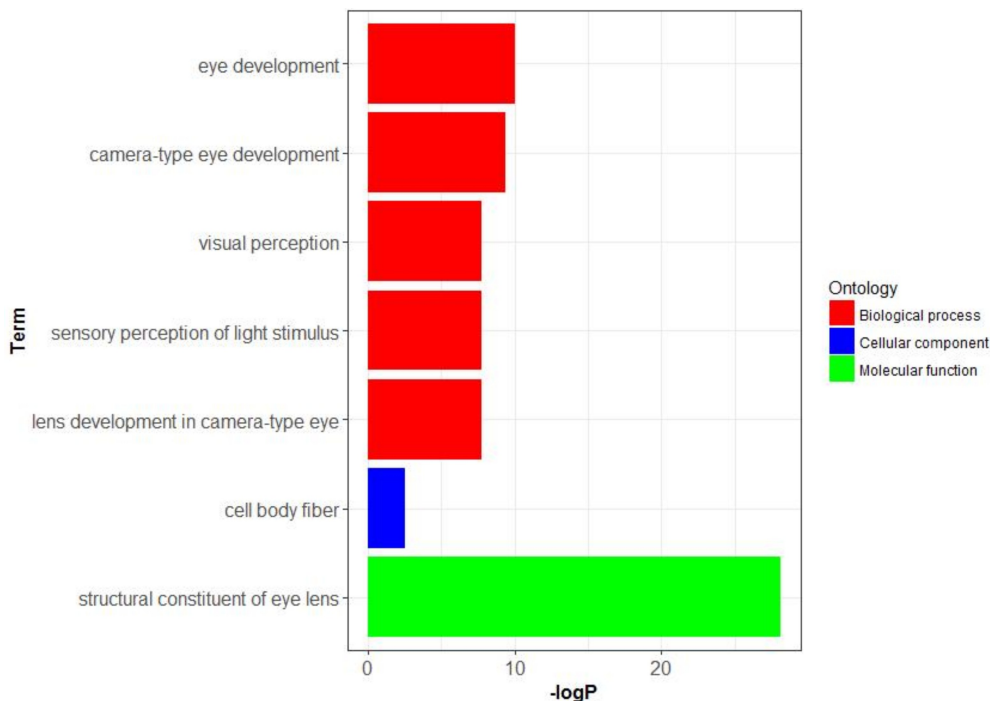


图2 基因本体分析及DR中下调基因的GO术语显著富集。

### 3 讨论

DR是糖尿病最常见的微血管并发症,也是眼科常见致盲性眼病之一,其发病的分子机制仍有待探究。db/db小鼠视网膜基因表达谱的应用,为本研究提供了从生物信息学方面研究DR发病机制的可能性,对基因芯片数据进行进一步的挖掘有助于从中发现新的生物学标记和诊断/治疗靶点基因。

本研究对基因芯片GSE55389进行生物信息学软件分析,共发现66个DEGs,并对这些DEGs进行GO富集分析、KEGG信号通路分析和PPI网络分析。为避免只选择差异明显的基因而导致某些可能的信号通路被遗漏,本研究同时进行GSEA分析。利用iRegulon分析预测DR相关基因的TFs,其中,上调表达的有Runx2、Ifap2a、Ppara、

MafA;下调表达的有Gata2、Hoxa13、Tbp和Runx3等,表明这些TFs可能驱动差异基因表达。Runx2是转录因子RUNX家族的一员,编码1个带有Runt-DNA结合域的核蛋白。研究发现,血管钙化在终末期肾脏疾病中非常普遍,PARP1通过上调Runx2促进血管钙化<sup>[7]</sup>;血管内皮生长因子(VEGF)直接作用于内皮细胞参与血管发生,是血管发生过程中最重要的血管生长因子,而Runx2是VEGF启动子的调控转录因子<sup>[8]</sup>。过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptor, PPARs)是调节特定基因的配体依赖的核受体超家族中的成员,包括 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 三个亚型。它们参与脂质和糖代谢的调节。研究证明PPARs在调节过氧化物酶体增殖、细胞分化、能量代谢、炎症反应及血管保护作用等过程中扮演着重要角色<sup>[9-10]</sup>。

表 1 DR 中上调基因的显著富集 GO 分析

ID	说明	校正 P 值	基因符号
细胞组分			
GO:0022626	胞浆核糖体	<0.001	Hba-a1, Hba-a2, Rpl13a, Rpl27a, Rps3
GO:0044445	胞浆部分	<0.001	Hba-a1, Hba-a2, Rpl13a, Rpl27a, Rps3, Tcpl1
GO:0070469	呼吸链	<0.001	mt-Cytb, mt-Nd4, mt-Nd5, Uqcr11
GO:0044391	核糖体亚单位	<0.001	Hba-a1, Hba-a2, Rpl13a, Rpl27a, Rps3
GO:0005840	核糖体	<0.001	Hba-a1, Hba-a2, Rpl13a, Rpl27a, Rps3
GO:0022627	胞浆小核糖体亚单位	<0.001	Hba-a1, Hba-a2, Rps3
GO:0015935	核糖体小亚基	0.002	Hba-a1, Hba-a2, Rps3
GO:0072562	血液微粒	0.006	Actc1, Hba-a1, Hba-a2, Serpina3n
GO:0005882	中间丝	0.009	Krt12, Krt18, Krt5
分子功能			
GO:0019825	氧结合	<0.001	Hba-a1, Hba-a2, Mb
GO:0004601	过氧化物酶活性	0.001	Gpx3, Hba-a1, Hba-a2
GO:0016684	氧化还原酶活性, 作为受体作用于过氧化物	0.001	Gpx3, Hba-a1, Hba-a2
GO:0016209	抗氧化活性	0.005	Gpx3, Hba-a1, Hba-a2
GO:0008137	NADH 脱氢酶(泛醌)活性	0.009	mt-Nd4, mt-Nd5
GO:0050136	NADH 脱氢酶(醌)活性	0.009	mt-Nd4, mt-Nd5
GO:0020037	NADH 脱氢酶(醌)活性	0.009	Hba-a1, Hba-a2, Mb
GO:0003954	NADH 脱氢酶活性	0.009	mt-Nd4, mt-Nd5
GO:0046906	四吡咯结合	0.009	Hba-a1, Hba-a2, Mb

表 2 DR 中下调基因的显著富集 GO 分析

ID	说明	校正 P 值	基因符号
生物过程			
GO:0001654	眼睛发育	<0.001	Apc, Cryaa, Cryba1, Cryba2, Cryba4, Crybb2, Crygd, Cryge, Crygf, Crygs, Mip
GO:0043010	照相机式眼睛发育	<0.001	Apc, Cryaa, Cryba1, Cryba2, Cryba4, Crybb2, Crygd, Cryge, Crygs, Mip
GO:0007601	视觉感知	<0.001	Cryba1, Cryba4, Crybb1, Crybb2, Crybb3, Crygd, Mip
GO:0050953	光刺激的感觉知觉	<0.001	Cryba1, Cryba4, Crybb1, Crybb2, Crybb3, Crygd, Mip
GO:0002088	照相机型眼的晶状体发育	<0.001	Cryaa, Cryba2, Crygd, Cryge, Crygs, Mip
细胞组分			
GO:0070852	胞体纤维	0.002	Apc, Srd5a2
分子功能			
GO:0005212	晶状体的结构组成	<0.001	Cryaa, Cryba1, Cryba2, Cryba4, Crybb1, Crybb2, Crybb3, Crygd, Cryge, Crygf, Crygs, Mip

表 3 db/db 小鼠视网膜上调基因的显著富集通路

ID	说明	校正 P 值	基因符号
mmu00190	氧化磷酸化	0.005	mt-Cytb, mt-Nd4, mt-Nd5, Uqcr11
mmu05012	帕金森病	0.005	mt-Cytb, mt-Nd4, mt-Nd5, Uqcr11
mmu04260	心肌收缩	0.008	Actc1, mt-Cytb, Uqcr11
mmu05143	非洲锥虫病	0.024	Hba-a1, Hba-a2
mmu05144	疟疾	0.035	Hba-a1, Hba-a2
mmu03010	核糖体	0.039	Rpl13a, Rpl27a, Rps3

Maf 家族蛋白是一类重要的转录因子,在调节细胞内各种蛋白的表达和细胞分化、细胞凋亡等发挥作用。目前已知有 4 种类型的 Maf—MafA、MafB、c-Maf 和 NRL。其中, MafA 在胰腺 β 细胞中特异表达,对胰岛素的转录和分泌至关重要。作为一种葡萄糖调节的胰岛 β 细胞特异性胰

岛素基因转录激活因子<sup>[11]</sup>,MafA 能特异性结合胰岛素增强元件 RIPE3b 并激活胰岛素基因表达<sup>[12]</sup>,并且是体内葡萄糖刺激胰岛素分泌的一种关键调节因子<sup>[13]</sup>。在 db/db 模型小鼠的研究表明,在 2 型糖尿病进展的早期阶段, MafA 蛋白在胰岛 β 细胞中丢失<sup>[14]</sup>。Gata2 是调节内皮细

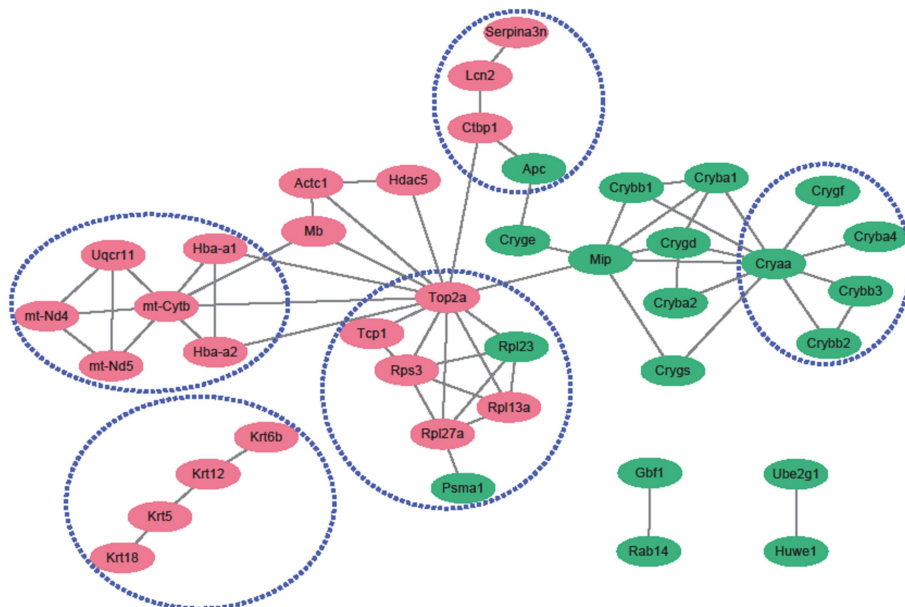


图3 利用 db/db 小鼠视网膜 DEGs 构建 PPI 网络 从 PPI 网络中识别模块簇,节点表示 DEGs,线表示 DEGs 之间的度。

表4 GSEA 分析判定的上调通路

Entry No.	通路名	FDR
04975	脂肪消化吸收	<0.001
04920	脂肪细胞因子信号通路	<0.001
00340	组氨酸代谢	<0.001
00980	细胞色素 P450 对外源物质的代谢	<0.001
00982	药物代谢细胞色素 P450	<0.001
00260	甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢	<0.001
00480	谷胱甘肽代谢	<0.001
05150	金黄色葡萄球菌感染	0.021
00590	花生四烯酸代谢	0.025
05016	亨廷顿病	0.027
00565	乙醚脂质代谢	0.036
00190	氧化磷酸化	0.044

表5 GSEA 分析判定的下调通路

Entry No.	通路名	FDR
04914	孕酮介导的卵母细胞成熟	<0.001
04141	内质网中的蛋白质加工	0.010
04621	内质网中的蛋白质加工	0.017
04940	1 型糖尿病	0.022
04110	细胞周期	0.025
04114	卵母细胞减数分裂	0.041

表6 PPI 网络前 10 节点的度

Name	度
Top2a	13
Cryaa	10
mt-Cytb	7
Mip	7
Rps3	5
Rpl27a	5
Rpl13a	4
Rpl23	4
Cryba1	4
Crygd	4

表7 PPI 网络中标识的模块簇

簇	P	组成成员
1	0.0034	Hba-a2, mt-Cytb, Hba-a1, Uqcr11, mt-Nd5, mt-Nd4
2	0.0097	Krt18, Krt5, Krt12, Krt6b
3	0.0115	Top2a, Rps, Tcp1, Rpl27a, Psma1, Rpl23, Rpl13a
4	0.0432	Lcn2, Serpina3n, Apc, Ctbp1
5	0.0644	Crygf, Cryaa, Cryba4, Crybb2, Crybb3

表8 与上调基因相关的 TFs 预测

ClusterCode	TFs	NES	#Targets	#Motifs/Tracks
M1	Runx2	6.587	10	4
M2	Ifap2a	5.691	21	7
M3	Ppara	5.657	18	3
M4	MafA	4.512	10	5
M6	Ovol2	4.226	5	1

表9 与下调基因相关的 TFs 预测

ClusterCode	TFs	NES	#Targets	#Motifs/Tracks
M1	Gata2	6.828	13	6
M2	Hoxa13	6.791	6	2
M3	Tbp	4.973	13	2
M6	Creb1	4.508	4	1
M7	Foxo4	4.496	8	1
M8	Runx3	4.262	7	2
M9	Yy2	4.110	3	1
M10	Dbp	4.093	14	1

胞内皮素-1 基因表达的转录激活剂,可结合共识序列 5'-AGATAG-3'。该基因编码的蛋白质在调节参与造血和内分泌细胞系发育和增殖的基因转录中起着至关重要的作用<sup>[15]</sup>。HOXA13 在脊椎动物中编码一类被称为同源盒基因的转录因子的基因,被发现在 4 条不同的染色体上的 A、B、C、D 簇中。这些蛋白质的表达在胚胎发育过程中受

到时空调控。有研究发现,HOXA13 在发育过程中与胎盘血管形成模式和迷路内皮规范有关<sup>[16]</sup>。研究表明,Runx3 的低表达与各类肿瘤异常血管增生、转移<sup>[17]</sup>和肝脏异常分化<sup>[18]</sup>有关。糖尿病患者内皮祖细胞功能也与 Runx3 表达异常相关<sup>[19]</sup>。

综上所述,本研究通过对 db/db 小鼠视网膜和正常小鼠视网膜组织样本的基因表达谱进行全面的生物信息学分析,确定了以 db/db 小鼠为模型的 DR 的关键基因和通路,进一步分析了 DR 中转录因子与视网膜微血管增殖的可能分子机制,这些 DEGs 可能参与 DR 发生、发展的多种通路。除了上述生物信息学的探索外,还需要后续通过确凿的实验工作来确认所识别基因的功能。

#### 参考文献

- 1 Sinclair SH, Schwartz SS. Diabetic Retinopathy – An Underdiagnosed and Undertreated Inflammatory, Neuro – Vascular Complication of Diabetes. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2019; 10: 843
- 2 Shao D, He S, Ye Z, *et al.* Identification of potential molecular targets associated with proliferative diabetic retinopathy. *BMC Ophthalmol* 2020; 20(1): 143
- 3 Coucha M, Barrett AC, Bailey J, *et al.* Increased Ephrin – B2 expression in pericytes contributes to retinal vascular death in rodents. *Vascul Pharmacol* 2020; 131: 106761
- 4 Bogdanov P, Corraliza L, Villena JA, *et al.* The db/db mouse: a useful model for the study of diabetic retinal neurodegeneration. *PLoS One* 2014; 9(5): e97302
- 5 Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al.* Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Res* 2003; 13(11): 2498–2504
- 6 Janky R, Verfaillie A, Imrichová H, *et al.* iRegulon: from a gene list to a gene regulatory network using large motif and track collections. *PLoS Comput Biol* 2014; 10(7): e1003731
- 7 Wang C, Xu WJ, An J, *et al.* Poly (ADP – ribose) polymerase 1 accelerates vascular calcification by upregulating Runx2. *Nat Commun*

2019; 10(1): 1203

- 8 Lee SH, Manandhar S, Lee YM. Roles of RUNX in hypoxia-induced responses and angiogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2017; 962: 449–469
- 9 Sun K, Huang R, Wu S, *et al.* The Pleiotropic Effects of PPARs on Vascular Cells and Angiogenesis; Implications for Tissue Engineering. *Curr Stem Cell Res Ther* 2016; 11(3): 265–273
- 10 Uddin MS, Kabir MT, Jakaria M, *et al.* Endothelial PPAR $\gamma$  Is Crucial for Averting Age – Related Vascular Dysfunction by Stalling Oxidative Stress and ROCK. *Neurotox Res* 2019; 36(3): 583–601
- 11 Kataoka K, Han SI, Shioda S, *et al.* MafA is a glucose-regulated and pancreatic beta – cell – specific transcriptional activator for the insulin gene. *J Biol Chem* 2002; 277: 49903–49910
- 12 Olbrot M, Rud J, Moss LG, *et al.* Identification of beta-cell-specific insulin gene transcription factor RIPE3b1 as mammalian MafA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 6737–6742
- 13 Zhang C, Moriguchi T, Kajihara M, *et al.* MafA is a key regulator of glucose – stimulated insulin secretion. *Mol Cell Biol* 2005; 25 ( 12 ): 4969–4976
- 14 Guo S, Dai C, Guo M, *et al.* Inactivation of specific  $\beta$  cell transcription factors in type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2013; 123 ( 8 ): 3305–3316
- 15 Hartmann D, Fiedler J, Sonnenschein K, *et al.* MicroRNA – based therapy of GATA2 – deficient vascular disease. *Circulation* 2016; 134 ( 24 ): 1973–1990
- 16 Shaut CA, Keene DR, Sorensen LK, *et al.* HOXA13 Is essential for placental vascular patterning and labyrinth endothelial specification. *PLoS Genet* 2008; 4(5): e1000073
- 17 Chen F, Liu X, Bai J, *et al.* The emerging role of RUNX3 in cancer metastasis ( Review). *Oncol Rep* 2016; 35(3): 1227–1236
- 18 Lee JM, Lee DJ, Bae SC, *et al.* Abnormal liver differentiation and excessive angiogenesis in mice lacking Runx3. *Histochem Cell Biol* 2013; 139(5): 751–758
- 19 Meng S, Cao JT, Zhang XP, *et al.* Downregulation of microRNA – 130a contributes to endothelial progenitor cell dysfunction in diabetic patients via its target Runx3. *PLoS One* 2013; 8(7): e68611