

引文格式:代宝珠,代艳. 糖尿病视网膜病变患者血清 miRNA 的临床价值[J]. 眼科新进展,2019,39(8):780-784.  
doi:10.13398/j.cnki.rao.2019.0178

【应用研究】

## 糖尿病视网膜病变患者血清 miRNA 的临床价值<sup>△</sup>

代宝珠 代艳

作者简介:代宝珠,女,1993年2月出生,四川人,在读硕士研究生。研究方向:眼底疾病。联系电话:15883769932;E-mail:daibaozhu93@qq.com;ORCID:0000-0001-8736-0751

About DAI Bao-Zhu:Female, born in February, 1993. Post graduate student. Tel:15883769932;E-mail:daibaozhu93@126.com;ORCID:0000-0001-8736-0751

收稿日期:2019-01-08

修回日期:2019-03-10

本文编辑:付中静

<sup>△</sup>基金项目:四川省绵阳市科技局项目(编号:15S-ZC-03)

作者单位:646000 四川省泸州市,西南医科大学临床医学院(代宝珠);621000 四川省绵阳市,绵阳市中心医院眼科(代艳)

通讯作者:代艳,E-mail:489480819@qq.com;ORCID:0000-0003-2427-0841

Received date:Jan 8, 2019

Accepted date:Mar 10, 2019

Foundation item: Funds of Science and Technology Bureau of Mianyang City of Sichuan Province (No: 15S-ZC-03)

From the Clinical Medical College of Southwest Medical University (DAI Bao-Zhu), Luzhou 646000, Sichuan Province, China; Department of Ophthalmology, the Mianyang Central Hospital (DAI Yan), Mianyang 621000, Sichuan Province, China

Responsible author: DAI Yan, E-mail:489480819@qq.com;ORCID:0000-0003-2427-0841

### Clinical value of serum miRNA in patients with diabetic retinopathy

DAI Bao-Zhu, DAI Yan

**[Abstract] Objective** To investigate the clinical value of serum miRNA in patients with diabetic retinopathy (DR). **Methods** Totally 60 diabetes mellitus (DM) patients (DM group) hospitalized in the Endocrinology Department of our hospital and 60 DR patients (DR group) hospitalized in ophthalmology department at the same time from January to December 2017 were selected. The fasting serum biochemical indexes of the two groups were compared. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expression levels of miRNA-451, miRNA-221 and miRNA-200b in serum of two groups. Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between the three miRNA and biochemical indicators in serum of DR patients. Multivariate logistic regression was used to analyze the risk factors of DR. ROC curve was used to analyze the guiding value of single miRNA and their combination in DR risk prediction. **Results** DM patients serum biochemical index in fasting plasma glucose (FPG), urinary albumin/creatinine (UACR), glycosylated hemoglobin (HbA1c) was lower than that in group DR, differences were statistically significant (all  $P < 0.05$ ). The levels of miRNA-451, miRNA-221 and miRNA-200b in the DM group were significantly lower than those in the DR group, with statistically significant differences (all  $P < 0.05$ ). Three miRNA in the serum of patients in the DR group were positively correlated with UACR, HbA1c and FPG, respectively (all  $P < 0.05$ ), and the three miRNA were positively correlated with each other (all  $P < 0.05$ ). Multivariate Logistic regression analysis showed that UACR, HbA1c, FPG, miRNA-451, miRNA-221 and miRNA-200b were independent risk factors for the occurrence of DR. The area under the ROC curve analysis of miRNA-451, miRNA-221 and miRNA-200b was 0.722, 0.823 and 0.761, respectively, suggesting high diagnostic value. The area under the combined curve of the three was 0.938, which was better than the detection results of single miRNA and had the highest diagnostic value. **Conclusion** Abnormal high expression of miRNA-451, miRNA-221 and miRNA-200b in serum of DR patients may be involved in the occurrence and development of DR, which can be used as a serum biological indicator of the risk for DM to develop to DR.

**[Key words]** diabetic retinopathy; miRNA-451; miRNA-221; miRNA-200b

**【摘要】 目的** 探讨糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)患者血清 miRNA 的临床价值。**方法** 选取2017年1月至12月在本院内分泌科住院治疗的单纯2型糖尿病(diabetes mellitus, DM)患者及同期眼科住院治疗的DR患者各60例,比较两组患者空腹血清生化指标,实时荧光定量PCR检测两组患者血清中 miRNA-451、miRNA-221、miRNA-200b 的表达水平, Pearson 相关分析法分析 DR 患者血清中3种 miRNA 与各生化指标的相关性,多因素 Logistic 回归分析 DR 发生的危险因素, ROC 曲线分析单个 miRNA 及三者联合对 DR 风险预测的指导价值。**结果** DM 组患者血清中空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、尿白蛋白/肌酐(urinary albumin/creatinine, UACR)、糖化血红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c)均明显低于 DR 组,差异均有统计学意义(均为  $P < 0.05$ ); DM 组中 miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 水平均明显低于 DR 组,差异均有统计学意义(均为  $P < 0.05$ ); DR 组患者血清中3种 miRNA 分别与 UACR、HbA1c 及 FPG 呈正相关关系(均为  $P < 0.05$ ),且三者之间相互呈正相关关系(均为  $P < 0.05$ )。多因素 Logistic 回归分析显示, UACR、HbA1c、FPG、miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 是 DR 发生的独立危险因素; miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 的 ROC 曲线下面积分别为 0.722、0.823 及 0.761, 具有较高的诊断价值,三者联合曲线下面积为 0.938, 优于单项 miRNA 检测结果,诊断价值最高。**结论** DR 患者存在着血清 miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 异常高表达,并可能参与了 DR 的发生发展过程,可作为 DM 向 DR 发展风险的血清生物学指标。

**【关键词】** 糖尿病视网膜病变; miRNA-451; miRNA-221; miRNA-200b

**【中图分类号】** R770.4

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是目前成年人(20~65岁)视力下降和失明的主要原因<sup>[1]</sup>。由视网膜毛细血管和视网膜色素上皮组成的血-视网膜屏障(blood-retinal barrier, BRB)能够阻止视网膜神经因子和循环炎症细胞分泌的细胞毒性产物的进入,从而保护和允许视网膜调节细胞外化学物质成分<sup>[2]</sup>。长期的高血糖对视网膜微血管系统造成的损害是导致BRB失衡的关键。BRB失衡进而使血管内液体和脂质等物质渗漏到视网膜,并加重DR的进展<sup>[3]</sup>。DR的发病机制是一个多因素作用过程,已有研究证实,许多与高血糖发病相关途径的蛋白编码基因参与其中<sup>[4]</sup>。近年有研究发现<sup>[5]</sup>,大量的非编码RNA在DR的发病机制中起着重要的作用,其中微小RNA(miRNA,即miRNA)尤其受到关注。miRNA是一组短的(21~23个核苷酸)、高度保守的内源RNA,不编码蛋白质<sup>[6]</sup>,但可通过与靶基因的3'-非翻译区(3'-UTR)的配对结合,诱导mRNA降解或抑制蛋白翻译来调节基因的表达<sup>[6]</sup>。已有研究表明<sup>[7]</sup>,miRNA参与视网膜细胞的增生、迁移和凋亡以及和DR相关的新生血管形成过程。同时,DR患者血清中也存在着miRNA-451、miRNA-221、miRNA-200b的异常表达<sup>[8]</sup>。然而,其在DR患者中的临床意义尚未完全清楚,基于此进行了以下研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2017年1月至12月在本院内分泌科住院治疗的单纯2型糖尿病(diabetes mellitus, DM)患者60例及眼科住院治疗的DR患者60例(非增生型DR 54例,增生型DR 6例)纳入本研究。DM组患者均符合世界卫生组织制定的DM诊断标准<sup>[9]</sup>。纳入标准:DR组患者经裂隙灯显微镜、间接检眼镜及荧光素眼底血管造影检查,符合DR临床诊断标准<sup>[10]</sup>。排除标准:合并肿瘤及内分泌疾病者、急慢性感染者、严重肝肾功能不全者,合并白内障、青光眼等其他眼部疾病者,孕妇及哺乳期女性。DM组患者中,男29例,女31例;年龄35~81(63.5±10.1)岁;DM病程10~25(10.9±11.5)a。

DR组患者中,男32例,女28例;年龄40~85(65.2±10.3)岁;DM病程10~25(15.4±10.2)a。DM组和DR组间男女构成比、年龄比较差异均无统计学意义(均为 $P>0.05$ )。本研究经本院伦理委员会审批并获取所有受检者签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 所有受检者禁食8h后抽取受检者静脉血5 mL,乙二胺四乙酸抗凝,4℃、3000 r·min<sup>-1</sup>离心15 min,血清通过全自动生化分析仪(美思康 MC6600)检测患者空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、肌酐(creatinine, Cr)及血尿素氮(blood urine nitrogen, BUN),比浊法检测尿白蛋白/肌酐(urinary albumin/creatinine, UACR)、糖化血红蛋白(hemoglobin A1c, HbA1c),所用试剂盒均购自北京原子高科股份有限公司,并严格按照试剂盒说明书进行检测。

1.2.2 miRNA提取 本研究选用miRNA Purification Kit试剂盒(康为世纪)进行提取。室温下解冻血清样品,取200 μL血清样品,加入5倍体积TRIzol Reagent反复吹打,使蛋白核酸复合物完全分离,离心5 min,取上层无水相于离心管中,加入1/3无水乙醇,过柱,洗柱2次。向吸附柱RS中加入700 μL Buffer RWT离心后倒掉废液,重新将吸附柱RS(Spin Columns)中加入500 μL Buffer RWT离心后倒掉废液,重复2次,向得到的吸附柱中间部位加入30~50 μL RNase-Free Water,离心后将收集到的RNA液保存至-80℃冰箱。

1.2.3 实时荧光定量PCR检测 根据miRNA cDNA Synthesis Kit逆转录试剂盒说明书进行实时荧光定量PCR(RT-PCR)检测。RT-PCR仪(Bio-Rad伯乐T100)扩增目的基因片段,反应条件:95℃预变性10 min,95℃变性10 s,56℃1 min,共40个循环。设计miRNA的反转录引物和RT-PCR扩增序列(5'-3')(PCR检测时上下游引物成对)引物见表1,miRNA相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。每个样本独立重复实验3次。

表1 引物信息

引物名称	引物序列
内参 U6	
反转录引物	5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3'
RT-PCR 引物	5'-CGCTTCACGAATTTCGCTGTCAT-3'
miRNA-451	
反转录引物	5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCCGACTGGATACGACACTCAC-3'
RT-PCR 引物	5'-AACATTCAACCTGTCCGTGAGT-3'
miRNA-221	
反转录引物	5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCCGACTGGATACGACCGCGTA-3'
RT-PCR 引物	5'-GCCATTACTTTTGGTACGCG-3'
miRNA-200b	
反转录引物	5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCCGACTGGATACGACAAATCT-3'
RT-PCR 引物	5'-GCACCTGGCATAACAATGTAGAT-3'
通用下游 PCR 引物	5'-AGCAGGGTCCGAGGTATTTC-3'

**1.3 统计学分析** 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。如果数据符合正态分布则采用均数 ± 标准差表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,采用 Pearson 法分析 miRNA 与血清生化指标之间的相关性,多因素 Logistic 回归分析 DR 发生的危险因素,ROC 曲线分析 miRNA 对 DR 的诊断价值。检验水准:α = 0.05。

2 结果

**2.1 两组患者血清临床生化指标比较** DM 与 DR 两组间的血清生化指标检测结果显示,两组间 TC、LDL-C、TG、Cr 及 BUN 水平差异均无统计学意义(均为 *P* > 0.05),而 DR 组 UACR、HbA1c 及 FPG 均明显高于 DM 组,差异均有统计学意义(均为 *P* < 0.05)。见表 2。

表 2 两组患者血清临床生化指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )				
指标	DM 组( <i>n</i> = 60)	DR 组( <i>n</i> = 60)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
TC/mmol · L <sup>-1</sup>	4.27 ± 1.12	4.36 ± 1.39	0.391	0.697
LDL-C/mmol · L <sup>-1</sup>	3.28 ± 0.62	3.36 ± 0.63	0.701	0.485
TG/mmol · L <sup>-1</sup>	1.46 ± 0.31	1.51 ± 0.39	0.777	0.438
Cr/mmol · L <sup>-1</sup>	60.86 ± 7.96	61.53 ± 8.82	0.437	0.663
BUN/mmol · L <sup>-1</sup>	5.46 ± 1.36	5.57 ± 1.39	0.438	0.662
UACR/mg · g <sup>-1</sup>	13.38 ± 4.93	32.25 ± 8.63	14.706	<0.01
FPG/mmol · L <sup>-1</sup>	7.49 ± 0.93	10.23 ± 1.45	12.321	<0.01
HbA1c/%	6.26 ± 0.65	7.41 ± 0.87	8.202	<0.01

**2.2 两组患者血清中 3 种 miRNA 表达水平比较** 3 种血清 miRNA 的数据符合正态分布,DM 组中 miR-NA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 水平均明显低于 DR 组,差异均有统计学意义(*P* < 0.05)。见图 1。

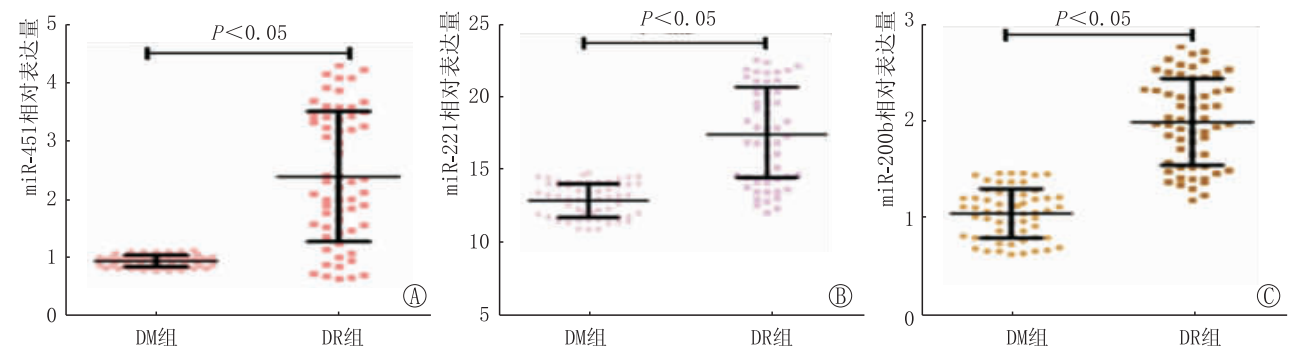


图 1 两组血清中 3 种 miRNA 表达水平比较。A:miRNA-451 相对表达量;B:miRNA-221 相对表达量;C:miRNA-200b 相对表达量

**2.3 血清中 3 种 miRNA 与生化指标的相关性** Pearson 相关性分析结果显示,DR 组患者血清各 miRNA 与 UACR、HbA1c 及 FPG 均呈正相关(均为 *P* < 0.05),miRNA-451 与 miRNA-221(*r* = 0.402, *P* = 0.022)、miRNA-200b(*r* = 0.768, *P* < 0.01),以及 miRNA-221 与 miRNA-200b 之间(*r* = 0.698, *P* < 0.01)相互呈正相关关系。见表 3。

表 3 血清中 3 种 miRNA 与生化指标的相关性

指标	miRNA-451		miRNA-221		miRNA-200b	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
TC	0.078	0.296	0.038	0.536	0.059	0.446
LDL-C	0.081	0.269	0.112	0.104	0.163	0.087
TG	0.057	0.474	0.089	0.278	0.045	0.528
Cr	0.105	0.125	0.058	0.413	0.093	0.229
BUN	0.048	0.519	0.065	0.332	0.052	0.483
UACR	0.681	<0.01	0.386	0.032	0.865	<0.01
HbA1c	0.576	<0.01	0.635	<0.01	0.416	0.012
FPG	0.674	<0.01	0.763	<0.01	0.893	<0.01

**2.4 多因素 Logistic 回归分析 DR 发生的危险因素** 对两组患者血清生化指标和 miRNA 进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示,UACR、HbA1c、FPG、

miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 是 DR 发生的独立危险因素。见表 4。

表 4 多因素 Logistic 回归分析 DR 发生的危险因素

指标	β 值	S. E	Wald 值	OR 值	95% CI	<i>P</i> 值
UACR	0.432	0.186	6.584	1.548	1.056 ~ 4.356	0.032
HbA1c	0.325	0.128	4.862	4.155	1.025 ~ 8.862	0.015
FPG	0.871	0.368	10.265	2.436	1.364 ~ 9.545	<0.001
miRNA-451	0.657	0.254	10.574	3.542	1.632 ~ 6.752	0.012
miRNA-221	1.321	0.586	8.565	1.052	1.017 ~ 1.069	0.005
miRNA-200b	0.895	0.751	9.635	4.230	2.893 ~ 7.685	<0.001

**2.5 血清中 3 种 miRNA 及三项联合对 DR 的诊断价值** 对 miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 进行 ROC 曲线分析,曲线下面积分别为 0.722、0.823 及 0.761,具有较高的诊断价值。以各 miRNA 为自变量建立 Logistic 回归模型, $y = -12.0668 + 1.46085X_1 + 1.38797X_2 + 0.33292X_3$ , $X_1 = \text{miRNA-451}$ , $X_2 = \text{miRNA-221}$ , $X_3 = \text{miRNA-200b}$ ,曲线下面积为 0.938,大于单一检测任一 miRNA 的曲线下面积。见表 5。

表 5 3 种 miRNA 及三项联合对 DR 的诊断价值

诊断指标	ROC 曲线下面积	最佳临界值	灵敏度/%	特异度/%	正确率/%	阳性预测值/%	阴性预测值/%
miRNA-451	0.722	1.86	61.02	82.50	71.62	65.32	77.92
miRNA-221	0.823	16.32	71.19	85.00	78.10	74.50	81.69
miRNA-200b	0.761	1.65	81.36	72.30	76.83	88.46	65.20
联合	0.938	-	93.22	77.50	85.36	80.21	90.51

3 讨论

DR 最主要的特征是高血糖损害视网膜微血管系统,导致代偿性新生血管化<sup>[11]</sup>。近年的研究发现,小型非编码 RNA 分子在血管内皮细胞和周细胞等的信号通路调节中起着重要的作用<sup>[12]</sup>。在 DR 患者视网膜中已发现有超过 80 种小分子 RNA 表达异常升高,6 种表达下调,且部分被证实与 DR 发生发展存在相关性<sup>[13]</sup>。小分子 RNA 可通过调节 miRNA 和蛋白质水平上的基因表达,以增强细胞死亡和减少血管内皮增生来调控血管的生成<sup>[14]</sup>。因此,在 DR 的发生发展过程中可能存在着一种或多种特殊的血清 miRNA 表达模式,可以作为一种新的非侵入性方法来早期预测 DR。

本研究结果显示,DR 组中 miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 较 DM 组明显升高,说明这 3 种 miRNA 在 DR 组患者血清中异常高表达,可能与视网膜病变存在相关性。已有研究认为<sup>[15]</sup>,在高糖微环境下,视网膜色素上皮细胞中 miRNA-451 表达异常升高。在本研究中,DR 组患者血清中 FPG 明显高于 DM 组,与此结果相符。而通过 RF/6A 细胞实验已证实<sup>[16]</sup>,下调 miRNA-451 水平后,细胞迁移明显下降,使由迁移行为介导的管腔形成能力受到抑制,从而阻碍增生膜的形成,说明下调 miRNA-451 表达对降低 DR 的发生率有利。另有研究发现<sup>[17]</sup>,miRNA-221 通过在血管内皮细胞中高度表达来发挥抗增生、抗迁移和促凋亡作用。miRNA-221 主要影响 c-kit(即干细胞因子受体),其在内皮祖细胞迁移和归巢中起着关键作用,内皮祖细胞是血管内皮细胞的前体细胞,又称为成血管细胞。在高血糖的环境下,miRNA-221 是在人脐静脉内皮细胞中诱导的,它能有效地触发对 c-kit 的抑制和对 HUVEC 迁移的损害<sup>[18]</sup>。因此,在 DR 患者的血管内皮生成方面起抑制作用。此外,miRNA-200b 过度表达下调抗氧化基因,该基因具有保护视网膜细胞抵抗凋亡和氧化应激的作用。氧化应激的增加可导致氧化还原敏感转录因子的激活,进而改变包括血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在内的许多基因的表达<sup>[19]</sup>。Li 等<sup>[20]</sup>报道,miRNA-200b 和 VEGF 之间存在明显的负相关关系,这也从另一个侧面证明 VEGF 可能是 miRNA-200b 的靶基因。因此,miRNA 可能在 DR 的发生发展过程中发挥着重要的作用,检测 miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 在血清中的表达水平,有助于对 DR 发病机制的研

究,并为靶向干预治疗提供新的策略。

本研究还发现,UACR、HbA1c、FPG、miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 是 DR 发生的独立危险因素,且各 miRNA 分别与 UACR、HbA1c、FPG 之间呈正相关关系,三者之间也呈正相关关系,提示这 3 种 miRNA 可能与 DR 发生发展及其微血管病变密切相关。因此,miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 水平显著上调可能是 DR 病情加重的早期信号,应引起临床重视,尽早采取有效的措施控制病情进展。本研究中 3 种 miRNA ROC 曲线分析结果表明,三者联合检测的评估价值优于单项 miRNA 检测。

综上所述,DR 患者存在着血清中 miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 的异常高表达,这些 miRNA 可能参与了 DR 的发生发展过程。因此,血清中 miRNA-451、miRNA-221 及 miRNA-200b 检测可以作为 DM 患者向 DR 发展的一种新的非侵入性风险评估生物学指标,有望为 DR 的早期预防和早期诊断提供新的研究方向。

参考文献

[1] ZHANG S J, CHEN X, LI C P, LI X M, LIU B H, SHAN K, *et al.* Identification and characterization of circular RNAs as a new class of putative biomarkers in diabetes retinopathy[J]. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2017, 58(14): 6500-6509.

[2] JOGLEKAR M V, JANUSZEWSKI A S, JENKINS A J, HARDIKAR A A. Circulating microRNA biomarkers of diabetic retinopathy[J]. *Diabetes*, 2016, 65(1): 22-24.

[3] NIE C, ZHANG L, ZHANG J W, WANG Y, LUO X Q. Differences in gene expression profiles of retinal microvascular endothelial cells induced by cobalt chloride in hypoxic human embryos[J]. *Chin J Appl Clin Pediatr*, 2017, 32(2): 112.

聂川, 张亮, 张嘉雯, 王越, 罗先琼. 氯化钴诱导缺氧人胚视网膜微血管内皮细胞基因表达谱差异研究[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(2): 112.

[4] CHEN Q, QIU F, ZHOU K, MATLOCK H G, TAKAHASHI Y, RAJALA R V S, *et al.* Pathogenic role of microRNA-21 in diabetic retinopathy through down-regulation of PPAR $\alpha$ [J]. *Diabetes*, 2017, 66(6): 1671-1682.

[5] ZENG K H, WANG Y, DENG B, YU X M, SONG Y, ZHOU X, *et al.* Regulation of resveratrol expression of microma-29b inhibits hyperglycemia induced retinal müller cell apoptosis in rats[J]. *J Appl Chin Med*, 2017, 14(4): 22-26.

曾凯宏, 王元, 邓波, 余雪梅, 宋怡, 周雪, 等. 白藜芦醇调节微小 RNA-29b 表达抑制高糖诱导的大鼠视网膜 müller 细胞凋亡[J]. 实用医院临床杂志, 2017, 14(4): 22-26.

[6] YE E A, STEINLE J J. Regulatory role of microRNA on inflammatory responses of diabetic retinopathy[J]. *NRR*, 2017, 12(4): 580.

[7] ESTEVEZ J, KADONIS G, HENDERSON T. Association of disease-specific causes of visual impairment and 10-year mortality amongst Indigenous Australians; the Central Australian Ocular Health Study[J]. *Clin Exp Ophthalmol*, 2018, 46(1): 18-24.

[8] ZHANG X L, GAO Y F. Expression and significance of mir-195 in vitreous and proliferative membrane tissues of eyes with proliferative diabetic retinopathy[J]. *Shandong Med J*, 2017,

57(16):74-76.  
张小露,高永峰.增生型糖尿病视网膜病变患眼玻璃体、增生膜组织 miR-195 表达及意义[J]. 山东医药,2017,57(16):74-76.

[9] LIN X, WANG J, YUN L, JIANG S, LI L, CHEN X, *et al.* Association between LEKR1-CCNL1, IGSF21-KLHDC7A gene polymorphism and diabetic retinopathy of type 2 diabetes mellitus in Chinese Han population[J]. *J Gene Med*, 2016, 18(10): 282-287.

[10] JONSSON K B, FRYDKJAER-OLSEN U, GRAUSLUND J. Vascular changes and neurodegeneration in the early stages of diabetic retinopathy: which comes first[J]. *Ophthalmic Res*, 2016, 56(1):1-9.

[11] LIU G Q, YANG T T. Research progress on the relationship between microrna-21/signal transduction and transcriptional activator 3 signaling pathway regulation and tumor[J]. *J Xinxiang Med Univ*, 2016, 33(4):332-335.  
刘国庆,杨廷桐.微小 RNA-21/信号传导及转录激活因子 3 信号通路调控与肿瘤的关系研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2016, 33(4):332-335.

[12] GOMAA A R, ELSAYED E T, MOFTAH R F. MicroRNA-200b expression in the vitreous humor of patients with proliferative diabetic retinopathy[J]. *Ophthalmic Res*, 2017, 58(3): 168-175.

[13] BARCELONA P F, SITARAS N, GALAN A, ESQUIVA G, JMAEFF S, JIAN Y, *et al.* p75NTR and its ligand ProNGF activate paracrine mechanisms etiological to the vascular, inflammatory, and neurodegenerative pathologies of diabetic retinopathy[J]. *J Neurosci*, 2016, 36(34):8826-8841.

[14] SU L, WANG L H, CHE H, LIANG M H, FU X L. Research progress on microRNA regulation of diabetes and its complications[J]. *J Clin Exp Med*, 2017, 16(23):2391-2393.  
苏琳,王丽宏,车慧,梁梅花,付雪莲. microRNA 调控糖尿病及其并发症发生发展的研究进展[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(23):2391-2393.

[15] LU Q, ZHANG J, ZHAO N, WANG H, TONG Q, WANG S. Association of IL-6 gene (-174 and-572 G/C) polymorphisms with proliferative diabetic retinopathy of type 2 diabetes in a Chinese population[J]. *Ophthalmic Res*, 2017, 58(3):162-167.

[16] ZHANG Y, JIANG X, BO J, YIN L, CHEN H, WANG Y, *et al.* Risk of stroke and coronary heart disease among various levels of blood pressure in diabetic and nondiabetic Chinese patients[J]. *J Hypertens*, 2018, 36(1):93-100.

[17] JINDAL V. Neurodegeneration as a primary change and role of neuroprotection in diabetic retinopathy[J]. *Mol Neurobiol*, 2015, 51(3):878-884.

[18] ALTMANN C, SCHMIDT M. The role of microglia in diabetic retinopathy: inflammation, microvasculature defects and neurodegeneration[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1):110.

[19] FU C Y. Expression of miR-93 and miR-21 in patients with diabetic retinopathy and its clinical value[J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2017, 37(12):1161-1164.  
符春艳. miR-93 及 miR-21 在糖尿病视网膜病变患者中的表达及其临床价值[J]. 眼科新进展, 2017, 37(12):1161-1164.

[20] LI E H, HUANG Q Z, LI G C, XIANG Z Y, ZHANG X. Effects of microRNA-200b on the development of diabetic retinopathy by targeting VEGFA gene[J]. *Biosci Rep*, 2017, 37(2):1-14.

关于我刊文后参考文献引用和著录标准的说明

为了正确执行国家标准 GB/T 7714-2015《信息与文献 参考文献著录规则》，自 2016 年 1 月起，我刊文后参考文献的引用和著录执行以下标准。

1 不同文献类型的引用和著录格式

1.1 阅读型参考文献 (reading reference) 著者为撰写或编辑论著而阅读过的信息资源,或供读者进一步阅读的信息资源。著录时需要标注文章的起始页。

著录格式示例如下:  
[1] SHAO Y, YU J, YU Y, GAO G P, YANG J L, PEI Z G, *et al.* Novel sutureless bone marrow mesenchymal stem cells with amniotic membrane transplantation for corneal limbus stem cells defect in rabbit model[J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2013, 33(11):1011-1015.

邵毅,余静,余瑶,高桂平,杨继玲,裴重刚,等.无缝线骨髓间充质干细胞羊膜移植预防角膜缘干细胞缺乏的实验研究[J]. 眼科新进展,2013,33(11):1011-1015.

1.2 引文参考文献 (cited reference) 著者为撰写或编辑论著而引用的信息资源。页码只需著录引用信息所在页。

著录格式示例如下:  
[1] YANG X M, WANG Y S. Contribution of MEK/ERK pathway in regulation of MMP-2 and MMP-9 expression in rat choroidal neovascularization [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2015, 25(6):504.

杨秀梅,王雨生. MEK/ERK 参与大鼠脉络膜新生血管基质金属蛋白酶-2 和基质金属蛋白酶-9 的表达调控[J]. 眼科新进展,2015,25(6):504.

2 著者的著录新规则

著者的著录时要求其姓全部著录,字母全大写,名缩写为首字母,缩写名后省略缩写点。

著录格式示例如下:  
[1] COOKE C A, LUM D J, WHEELDON C E, TEOH H, MCGHEE C N. Surgical approach, histopathology, and pathogenesis in cataract associated with true lens exfoliation[J]. *J Cataract Refract Surg*, 2007, 33(4):735-738.

3 标识符号

论文正文和文献表中的序号均要使用“[ ]”括起,正文中连续序号和文献表中连续页码间用短横线连接。

需要注意的是,国家新标准新增了 4 个文献类型及其标识:(1)档案,A:分类保存以备查考的文件和材料,如人事档案、科技档案、法律法规、政府文件等。(2)舆图,CM:世界、国家、区域的地图。(3)数据集,DS:一种由数据所组成的集合,又称为资料集、数据集合或资料集合。(4)其他,Z:凡是归不进前面 15 个类型的文献,均可放到“Z”中。