

引文格式:马慧蕾,赵珺彦. MicroRNA-15b 与糖尿病视网膜病变患者外周血 VEGF 及相关炎症因子的关系[J]. 眼科新进展, 2023, 43(2):137-141. doi:10.13389/j.cnki.rao.2023.0027

【应用研究】

# MicroRNA-15b 与糖尿病视网膜病变患者外周血 VEGF 及相关炎症因子的关系<sup>△</sup>

马慧蕾 赵珺彦

作者简介:马慧蕾(ORCID:0000-0001-6584-7788),女,1986年9月出生,山东菏泽人,硕士。研究方向:眼底病学。E-mail:mahuilei6@163.com

收稿日期:2022-03-24

修回日期:2022-07-17

本文编辑:梁栋,王燕

△基金项目:2017年杭州市萧山区

重大科技攻关项目(编号:2017204)

作者单位:311200 浙江省杭州市,

杭州市萧山区第一人民医院眼科

PDR组、SDR组、NDR组、NC组;血清 miR-15b 表达与 VEGF、ICAM-1、IL-1 $\beta$ 、IL-8、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、CEC 均呈负相关(均为  $P < 0.05$ ),与 EPC、CPC 均呈正相关(均为  $P < 0.05$ )。miR-15b 预测 DR 发生的 AUC 为 0.869(95% CI 为 0.796~0.924),诊断临界值为 0.68,灵敏度、特异度分别为 82.15%、79.50%,约登指数为 0.617。结论 DR 患者血清 miR-15b 表达降低,与外周血 VEGF 及炎症因子水平密切相关,且在微血管损伤及炎症反应中均有重要参与作用。

【关键词】糖尿病视网膜病变;microRNA-15b;VEGF;炎症因子;微血管损伤

【中图分类号】R774.1

糖尿病视网膜病变(DR)为糖尿病微血管并发症,早期无自觉症状,随着病情不断加重可伴有视力降低、复视、阅读困难等症状,若未及时治疗,可进展至增殖型糖尿病视网膜病变(PDR),导致不可逆的视力丧失<sup>[1-2]</sup>。视网膜血管是糖尿病患者早期病理损伤的靶器官,高血糖可改变视网膜局部血管血流动力学,导致视网膜缺氧缺血,释放诸多促血管内皮生长因子及炎症细胞因子,进而诱导视网膜新生血管及纤维增生膜形成<sup>[3-4]</sup>。血管内皮生长因子(VEGF)是一种内皮细胞有丝分裂原,具有抑制内皮细胞凋亡及促进新生血管形成的作用,可增加视网膜毛细血管通透性,损伤血-视网膜屏障<sup>[5]</sup>。近年来,诸多研究证实,microRNA与血管病变密切相关,参与细胞增殖、凋亡、分化等生物学行为,并影响VEGF信号通路转导过程<sup>[6]</sup>。已有研究发现,miR-15b异常表达是糖尿病进展的危险因素之一,但关于miR-15b表达与DR是否相关的报道较少<sup>[7]</sup>。鉴于此,本研究就miR-15b与DR患者外周血VEGF及相关炎症因子的关系进行分析,旨在为DR患者的早期诊断寻求新的方向。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 前瞻性研究。选取2019年6月至

【摘要】目的 分析microRNA-15b(miR-15b)与糖尿病视网膜病变(DR)患者外周血血管内皮生长因子(VEGF)及相关炎症因子的关系。方法 前瞻性研究。选取2019年6月至2021年3月就诊于本院的140例糖尿病患者,按DR临床分期标准分组,即无DR(NDR)组、单纯型DR(SDR)组、增生型DR(PDR)组,另选30名同期本院健康体检者作为健康对照(NC)组。采用RT-PCR法测定血清miR-15b表达,通过ELISA法测定血清VEGF及炎症因子[细胞间黏附分子-1(ICAM-1)、白细胞介素(IL)-1 $\beta$ 、IL-8、高敏C反应蛋白(hs-CRP)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )]水平,采用流式细胞仪测定DR患者外周血微血管内皮功能指标[内皮祖细胞(EPC)、循环祖细胞(CPC)、内皮细胞(CEC)]比例。采用Pearson相关分析DR患者血清miR-15b与VEGF、炎症反应指标、微血管内皮功能指标的相关性;绘制受试者工作特征曲线(ROC),分析miR-15b对DR的预测价值。结果 4组受检者miR-15b、VEGF、炎症因子及微血管内皮功能指标水平相比,差异均有统计学意义(均为 $P < 0.05$ ),其中血清miR-15b表达、EPC、CPC水平由低至高分别为PDR组、SDR组、NDR组、NC组。血清VEGF、ICAM-1、IL-1 $\beta$ 、IL-8、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 及CEC水平由高至低分别为PDR组、SDR组、NDR组、NC组;血清miR-15b表达与VEGF、ICAM-1、IL-1 $\beta$ 、IL-8、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、CEC均呈负相关(均为 $P < 0.05$ ),与EPC、CPC均呈正相关(均为 $P < 0.05$ )。miR-15b预测DR发生的AUC为0.869(95% CI为0.796~0.924),诊断临界值为0.68,灵敏度、特异度分别为82.15%、79.50%,约登指数为0.617。结论 DR患者血清miR-15b表达降低,与外周血VEGF及炎症因子水平密切相关,且在微血管损伤及炎症反应中均有重要参与作用。

2021年3月就诊于本院的140例糖尿病患者,其中男56例,女84例;年龄34~71(54.56 $\pm$ 5.11)岁。纳入标准:符合2017年版《中国2型糖尿病防治指南》<sup>[8]</sup>中2型糖尿病诊断标准;年龄 $\geq 18$ 岁;自愿签署知情同意书。排除标准:入组前1个月接受降脂类、降压类、抗感染类药物治疗;非糖尿病引起的眼部疾病;伴有风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、甲状腺功能障碍等全身性疾病;合并视网膜静脉阻塞、葡萄膜炎、白内障、青光眼等其他眼部疾病;伴有糖尿病急性并发症、脑血管疾病、感染性疾病及其他内分泌代谢性疾病;急慢性感染、恶性肿瘤;长期接受新生血管药物或精神类药物;凝血功能障碍;妊娠期或哺乳期。另选30名同期本院健康体检者作为健康对照(NC)组,无眼部疾病及糖尿病家族史。本研究经我院医学伦理委员会审批,遵循《赫尔辛基宣言》原则,患者均签署知情同意书。

## 1.2 方法

1.2.1 分组方法 参考《我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南》<sup>[9]</sup>中视网膜病变程度分类标准,并结合荧光素眼底血管造影及裂隙灯显微镜眼底检查结果,将140例糖尿病患者分成3组。无DR(NDR)组:眼底无异常;单纯型DR(SDR)组:眼底无增殖性

表现,仅见动脉瘤、静脉串珠样改变或视网膜出血;PDR组:存在玻璃体积血、新生血管生成或视网膜前出血中的一种或多种改变。

**1.2.2 样本采集** 采集所有受检者5 mL空腹外周血(NC组于体检当日采集,糖尿病患者于治疗前采集),注意避免乳糜血及溶血,于室温下静置35 min,在离心机上离心10 min,离心半径为6 cm,转速为3500 r·min<sup>-1</sup>,分离血清,并将其置于-80℃超低温冰箱中冷冻待测。

**1.2.3 血清 miR-15b 表达** 将冷冻血清样本置于无菌环境下冰上解冻,加适量 Trizol 裂解液[爱必信(上海)生物科技有限公司],参考 Trizol 试剂盒、总 RNA 提取试剂盒说明书提取血清总 RNA,通过紫外分光光度计(美国 NanoDrop 公司)对 RNA 质量及浓度进行测定,通过逆转录试剂盒(上海研卉生物科技有限公司)将血清总 RNA 逆转录合成 cDNA。采用全自动 RT-PCR 仪(美国 ABI 公司)对内参 U6 及 miR-15b 进行扩增反应。反应体系总体积为 20 μL,反应条件:95℃ 30 s,95℃ 15 s,60℃ 15 s,72℃ 15 s,依次重复 40 个循环,基于全自动 RT-PCR 仪采集 PCR 扩增后的荧光信号,用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算 miR-15b 相对表达量。U6 上游引物序列:5'-CTCGCTTCGGCAG-CACA-3',下游引物序列:5'-AACGCTTCACGAATTT-

GCGT-3';miR-15b 上游引物序列:5'-ATCCAGTGCCT-GTCGTG-3',下游引物序列:5'-TGCTTAAGTGCTTC-CAT-3'。

**1.2.4 血清 VEGF 及炎症因子** ELISA 检测试剂盒(购自武汉普锐泰生物科技有限公司)测定 DR 患者血清 VEGF、ICAM-1、IL-1β、IL-8、hs-CRP、TNF-α 水平。

**1.2.5 微血管内皮功能指标** 通过 NovoCyte 流式细胞仪(上海然哲仪器设备有限公司)测定外周血内皮祖细胞(EPC)、循环祖细胞(CPC)、内皮细胞(CEC)比例。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 23.0 统计分析软件,符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较使用 LSD-t 检验;采用 Pearson 进行相关性分析;绘制受试者 ROC 曲线,分析 miR-15b 预测 DR 的价值。

## 2 结果

**2.1 各组资料对比** 4组受检者性别、年龄、体重指数、收缩压、舒张压相比,差异均无统计学意义(均为  $P > 0.05$ );NDR组、SDR组、PDR组患者病程相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) (表1)。

表1 各组受检者一般资料对比

组别	男/女	年龄/岁	体重指数/(kg·m <sup>-2</sup> )	病程/年	收缩压/mmHg	舒张压/mmHg
NC组(n=30)	12/18	55.62±4.15	24.86±3.02	-	123.65±10.02	78.02±5.12
NDR组(n=48)	18/30	53.92±4.02	25.12±2.97	3.12±0.85	125.71±9.96	80.03±4.92
SDR组(n=53)	23/30	55.07±5.18	24.99±2.64	8.15±2.18	126.84±11.15	79.96±5.11
PDR组(n=39)	15/24	54.73±4.86	25.86±3.18	10.76±3.17	125.28±10.97	80.43±5.08
χ <sup>2</sup> /F	0.418	0.953	0.896	138.543	0.595	1.488
P	0.936	0.416	0.445	<0.001	0.619	0.220

注:1 kPa=7.5 mmHg。

**2.2 血清 miR-15b、VEGF、炎症因子水平** 4组受检者 miR-15b、VEGF、炎症因子水平相比,差异均有统计学意义(均为  $P < 0.05$ ),其中血清 miR-15b 表达由低至高分别为 PDR组、SDR组、NDR组、NC组,

血清 VEGF、ICAM-1、IL-1β、IL-8、hs-CRP、TNF-α 水平由高至低分别为 PDR组、SDR组、NDR组、NC组(表2)。

表2 各组血清 miR-15b、VEGF、炎症因子水平对比

组别	miR-15b (2 <sup>-ΔΔCt</sup> )	VEGF/ (ng·L <sup>-1</sup> )	炎症因子				
			ICAM-1/(μg·L <sup>-1</sup> )	IL-1β/(ng·L <sup>-1</sup> )	IL-8/(ng·L <sup>-1</sup> )	hs-CRP/(mg·L <sup>-1</sup> )	TNF-α/(ng·L <sup>-1</sup> )
NC组(n=30)	1.02±0.11	92.42±13.95	84.02±6.92	8.02±3.15	15.82±6.46	2.56±0.95	40.65±5.72
NDR组(n=48)	0.75±0.23 <sup>a</sup>	213.26±26.75 <sup>a</sup>	93.46±8.02 <sup>a</sup>	15.43±2.85 <sup>a</sup>	30.59±8.48 <sup>a</sup>	4.52±1.02 <sup>a</sup>	83.67±8.15 <sup>a</sup>
SDR组(n=53)	0.62±0.12 <sup>ab</sup>	288.54±29.85 <sup>ab</sup>	125.94±11.18 <sup>ab</sup>	23.05±3.11 <sup>ab</sup>	92.56±12.27 <sup>ab</sup>	5.99±0.85 <sup>ab</sup>	133.65±12.85 <sup>ab</sup>
PDR组(n=39)	0.49±0.09 <sup>abc</sup>	339.16±25.64 <sup>abc</sup>	159.83±15.72 <sup>abc</sup>	32.74±3.57 <sup>abc</sup>	128.94±20.85 <sup>abc</sup>	7.05±1.52 <sup>abc</sup>	160.59±25.72 <sup>abc</sup>
F	74.61	596.89	412.52	335.82	412.02	100.25	196.45
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 NC 组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 NDR 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 SDR 组相比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

**2.3 微血管内皮功能指标** 4组受检者微血管内皮功能指标水平相比,差异均有统计学意义(均为  $P < 0.05$ ),其中 EPC、CPC 水平由低至高分别为 PDR

组、SDR组、NDR组、NC组,CEC 水平由高至低分别为 PDR组、SDR组、NDR组、NC组(表3)。

**2.4 相关性分析** Pearson 相关分析结果显示,DR

患者血清 miR-15b 表达与 VEGF、ICAM-1、IL-1 $\beta$ 、IL-8、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、CEC 均呈负相关(均为  $P < 0.05$ ),与 EPC、CPC 均呈正相关(均为  $P < 0.05$ )(表 4)。

表 3 各组微血管内皮功能指标比较

组别	EPC	CPC	CEC
NC 组( $n=30$ )	0.099 $\pm$ 0.009	0.286 $\pm$ 0.021	0.031 $\pm$ 0.013
NDR 组( $n=48$ )	0.068 $\pm$ 0.011 <sup>a</sup>	0.189 $\pm$ 0.011 <sup>a</sup>	0.072 $\pm$ 0.009 <sup>a</sup>
SDR 组( $n=53$ )	0.049 $\pm$ 0.005 <sup>ab</sup>	0.135 $\pm$ 0.015 <sup>ab</sup>	0.091 $\pm$ 0.012 <sup>ab</sup>
PDR 组( $n=39$ )	0.037 $\pm$ 0.005 <sup>abc</sup>	0.094 $\pm$ 0.008 <sup>abc</sup>	0.135 $\pm$ 0.019 <sup>abc</sup>
<i>F</i>	532.62	415.72	216.21
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

注:与 NC 组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 NDR 组相比,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 SDR 组相比,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

表 4 DR 患者血清 miR-15b 表达与外周血 VEGF、炎症因子、微血管内皮功能指标水平相关性

指标	VEGF	ICAM-1	IL-1 $\beta$	IL-8	hs-CRP	TNF- $\alpha$	EPC	CPC	CEC
<i>r</i>	-0.593	-0.438	-0.538	-0.402	-0.631	-0.462	0.386	0.421	-0.453
<i>P</i>	<0.001	0.005	<0.001	0.009	<0.001	0.001	0.012	0.008	0.003

2.5 血清 miR-15b 表达对 DR 的诊断价值 将 miR-15b 作为检验变量,将 DR 是否发生作为状态变量(0 = 无,1 = 有),绘制 ROC 曲线,结果显示,miR-15b 预测 DR 发生的 AUC 为 0.869(95% CI 为 0.796 ~ 0.924),诊断临界值为 0.68,灵敏度、特异度分别为 82.15%、79.50%,约登指数为 0.617(图 1)。

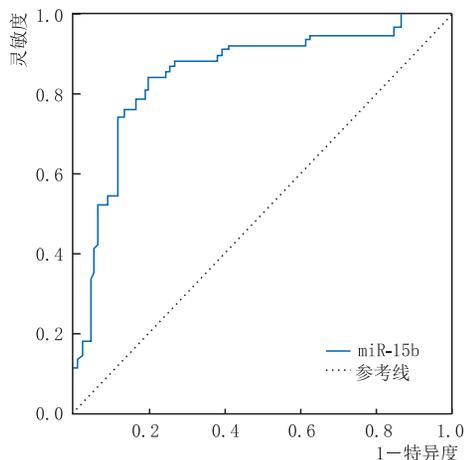


图 1 血清 miR-15b 表达对 DR 的诊断 ROC 曲线图

### 3 讨论

DR 发病机制复杂,多与炎症浸润、血糖代谢紊乱、氧化应激、视网膜血流动力学改变等因素相关<sup>[10]</sup>。视网膜毛细血管基膜增厚、视网膜屏障破坏、视网膜缺血缺氧所致新生血管生成是 DR 的主要病理改变,已证实 miR-200b、miR-29c、miR-126 等多种 miRNA 在 DR 新生血管生成中发挥促进或抑制作用,在防治 DR 中具有重要意义<sup>[11-12]</sup>。

miR-15b 是 miR-15/16 家族成员之一,位于染色体 3q25.33,广泛表达于机体各组织中,主要影响细胞的侵袭、凋亡、增殖等多种病理生理过程中。Li 等<sup>[13]</sup>研究报道,miR-15b 通过靶向大型肿瘤抑制激酶 1(LATS1)抑制 Hippo 通路激活,参与肝细胞癌细胞的增殖、迁移、侵袭。Kim 等<sup>[14]</sup>研究证实,miR-15b 水平降低可通过介导血小板衍生生长因子(PDGF)信号通路表达而促进血管平滑肌细胞增生。刘有娅等<sup>[15]</sup>等研究发现,PDR 患者的玻璃体内及视网膜增生膜组织中 miR-15b 水平较低,且其与成纤维细胞生长因子 2(FGF2)表达呈负相关,二者共同作用可能通过激活各种通路而促进新生血管形成。毛莉等<sup>[17]</sup>研究发现,miR-15b 通过对靶基因 LPAR3 在 PI3K/AKT 信号通路中的负向调控,激活 VEGF 信号通路,诱导新生血管形成。由此可以推测,miR-15b 与新生血管形成指标有关。但目前临床关于 miR-15b 与 DR 新生血管生成的关系尚未完全阐明。

有研究发现,DR 患者糖代谢受阻可造成血脂水平升高,而高脂可影响血流速度与血液黏度,加重视网膜缺血缺氧程度,同时调控血管细胞黏附分子-1 表达,从而诱发内皮炎症反应与血管病变,进一步加重 DR 患者病变程度<sup>[16]</sup>。VEGF 是诱发 DR 血管病最强促血管生长因子,可通过调控低密度脂蛋白受体相关蛋白 6(LRP-6)及血脂代谢过程、降低血管内皮细胞间紧密连接蛋白表达而参与疾病发展过程中。本研究结果发现,患者血清 miR-15b 表达: PDR 组 < SDR 组 < NDR 组 < NC 组,与 VEGF、CEC 均呈负相关,与 EPC、CPC 均呈正相关,可见 DR 患者血清 miR-15b 呈低表达,与新生血管形成及微血管损伤指标密切相关;且 miR-15b、VEGF 可能通过调节血脂代谢过程,从而加重视网膜病变程度。Yang 等<sup>[18]</sup>研究显示,PDR 患者的 miR-15b 与 VEGF 呈负相关,与本研究结论基本一致,推测 miR-15b 可通过靶向 3'-非翻译区抑制其转录来调节 VEGF 水平,而 miR-15b 高表达可抑制血管内皮形成及 VEGF 水平;miR-15b 可能通过对 VEGF 进行负向调控,进一步调控视网膜新生血管形成,参与到 DR 的发病过程中。

慢性炎症反应在 DR 发生、发展中尤为关键,白细胞与视网膜毛细血管黏附及促炎性细胞因子释放均是 DR 发展中的初始事件。ICAM-1 可介导炎症因子分泌,促使白细胞黏附于毛细血管内皮上,从而加重血管内皮受损程度;此外,ICAM-1 可激活粒细胞跨内皮迁移,急剧释放大量炎症细胞因子及细胞毒性物质,进一步加重内皮炎症反应<sup>[19-20]</sup>。TNF- $\alpha$  通过破坏视网膜色素上皮细胞、视网膜内皮细胞之间的紧密连接,造成血-视网膜屏障受损,诱发其他细胞因子释放,进而调节血管舒缩反应及新生血管形成。在 TNF- $\alpha$  刺激下,中性粒细胞、单核/巨噬细胞等诸多炎性细胞可分泌 IL-8,加剧炎症反应<sup>[21-22]</sup>。本研究在对多组受检者间血清 ICAM-1、IL-1 $\beta$ 、IL-8、

hs-CRP、TNF- $\alpha$  水平的比较中发现:PDR 组 > SDR 组 > NDR 组 > NC 组,表明炎症因子与 DR 发生相关,且炎症反应程度与病情有关。本研究进一步分析 miR-15b 与炎症因子的相关性,结果发现,血清 miR-15b 表达与 ICAM-1、IL-1 $\beta$ 、IL-8、hs-CRP、TNF- $\alpha$  水平均呈负相关,由此可以推测,血清 miR-15b 可通过负反馈调节炎症反应而参与 DR 发生。绘制 ROC 曲线,miR-15b 预测 DR 发生的 AUC 为 0.869,诊断临界值为 0.68,灵敏度、特异度分别为 82.15%、79.50%,约登指数为 0.617,提示血清 miR-15b 水平有效预测 DR 的发生。

综上所述,DR 患者血清 miR-15b 的表达降低,与外周血 VEGF 及炎症因子水平密切相关,且在微血管损伤及炎症反应中均有重要参与作用,故临床应密切监测 DR 患者血清 miR-15b 的表达变化,应警惕血清 miR-15b 表达下调的患者,以预防 DR 的发生。然而本研究仍存在样本量少、样本范围单一等不足,针对 miR-15b 参与 DR 发病的确切机制及信号途径尚未完全阐明,故后期需展开进一步的体内、体外研究或动物实验,从基因、蛋白等不同的水平进行观察,探索 miR-15b 调控外周血 VEGF 及其他炎症因子的通路及可能机制,从而进一步探索 miR-15b 与 DR 的相关性。

### 参考文献

[1] WANG W, LO A C Y. Diabetic retinopathy: pathophysiology and treatments[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(6):1816.

[2] LE Y Z. VEGF production and signaling in Müller glia are critical to modulating vascular function and neuronal integrity in diabetic retinopathy and hypoxic retinal vascular diseases[J]. *Vision Res*, 2017, 139:108-114.

[3] 顾顺,詹鹏飞,王文娟,王晓露,魏婷婷,朱凌鹏,等. miR-146a 对糖尿病视网膜病变炎症反应的抑制作用[J]. *中华实验眼科杂志*, 2020, 38(9):733-739.

GU S, ZHAN P F, WANG W J, WANG X L, WEI T T, ZHU L P, et al. Inhibition of miR-146a on inflammatory response of diabetic retinopathy [J]. *Chin J Exp Ophthalmol*, 2020, 38(9):733-739.

[4] RODRÍGUEZ M L, PÉREZ S, MENA-MOLLÁ S, DESCO M C, ORTEGA Á L. Oxidative stress and microvascular alterations in diabetic retinopathy: future therapies [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019:4940825.

[5] 李静静,古丽娜·米吉提,姜璐璐,穆塔里甫. VEGF, ET, NO 和 AT-III 在糖尿病视网膜病变中的表达及相关性研究[J]. *新疆医科大学学报*, 2019, 42(3):346-350.

LI J J, LINA G M J, JIANG L L, MUTALIFU. Expression and correlation of VEGF, ET, NO and AT-III in diabetic retinopathy [J]. *J Xinjiang Med Univ*, 2019, 42(3):346-350.

[6] 隋文婕,张晶晶,汤庆雨,陈鑫,唐于荣. lncRNA PVT1 及 miR-26b 在增生型糖尿病视网膜病变患者玻璃体,增生膜中的表达研究[J]. *临床眼科杂志*, 2020, 28(4):6-10.

SUI W J, ZHANG J J, TANG Q L, CHEN X, TANG Y R. Expression of lncRNA PVT1 and miR-26b in vitreous and hyperplastic membrane of eyes with proliferative diabetic retinopathy [J]. *J Clin Ophthalmol*, 2020, 28(4):6-10.

[7] 刘茹,陆晓和. miR-132 在糖尿病视网膜病变患者血浆中的表达及其临床意义[J]. *国际眼科杂志*, 2019, 19(8):1415-1418.

LIU R, LU X H. Expression of miR-132 in plasma of patients with diabetic retinopathy and its clinical significance [J]. *Int J Ophthalmol*, 2019, 19(8):1415-1418.

[8] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. *中国实用内科杂志*, 2018, 38(4):292-344.

Diabetes Branch Of Chinese Medical Association. Chinese

guidelines for the prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus (2017 edition) [J]. *Chin J Pract Intern Med*, 2018, 38(4):292-344.

[9] 中华医学会眼科学会眼底病学组. 我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014 年)[J]. *中华眼科杂志*, 2014, 50(11):851-865.

Fundus Disease Group Of Chinese Medical Association. Clinical diagnosis and treatment guidelines of diabetic retinopathy in China(2014) [J]. *Chin J Ophthalmol*, 2014, 50(11):851-865.

[10] AMOAKU W M, GHANCHI F, BAILEY C, BANERJEE S, BANERJEE S, DOWNEY L, et al. Diabetic retinopathy and diabetic macular oedema pathways and management: UK consensus working group [J]. *Eye (Lond)*, 2020, 34(Suppl 1):1-51.

[11] SUN J K, JAMPOL L M. The diabetic retinopathy clinical research network (DRCR.net) and its contributions to the treatment of diabetic retinopathy [J]. *Ophthalmic Res*, 2019, 62(4):225-230.

[12] 林莹,黎绮雯,林小媚. miR-15 和 miR-29a 在糖尿病视网膜病变患者血清中的表达及临床意义[J]. *中国医师杂志*, 2020, 22(3):398-402.

LIN Y, LI Q W, LIN X M. Expression and clinical significance of miR-15 and miR-29a in serum of patients with diabetic retinopathy [J]. *Chin Med J*, 2020, 22(3):398-402.

[13] LI J, XUE J, LING M, SUN J, XIAO T, DAI X Y, et al. MicroRNA-15b in extracellular vesicles from arsenite-treated macrophages promotes the progression of hepatocellular carcinomas by blocking the LATS1-mediated Hippo pathway [J]. *Cancer Lett*, 2021, 497:137-153.

[14] KIM S, KANG H. miR-15b induced by platelet-derived growth factor signaling is required for vascular smooth muscle cell proliferation [J]. *BMB Rep*, 2013, 46(11):550-554.

[15] 刘有娅,李红军. miRNA-15b 和成纤维细胞生长因子 2 (FGF2) 在增生型糖尿病视网膜病变患者玻璃体及视网膜增生膜组织中的表达 [J]. *眼科新进展*, 2020, 40(11):60-64.

LIU Y Y, LI H J. Expression of miRNA-15b and fibroblast growth factor 2 (FGF2) in vitreous and retinal hyperplastic membrane of patients with proliferative diabetic retinopathy [J]. *Rec Adv Ophthalmol*, 2020, 40(11):60-64.

[16] 田沫,岳岩坤,邓禹,王海伟,刘珊,刘璐. 血糖控制不佳 2 型糖尿病视网膜病变患者外周血 VEGF, HIF-1 $\alpha$  和 ET-1 水平及其临床意义 [J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(5):54-59.

TIAN M, YUE Y K, DENG Y, WANG H W, LIU S, LIU L. Levels of VEGF, HIF-1 $\alpha$  and ET-1 in peripheral blood of patients with type 2 diabetic retinopathy with poor glycemic control and its clinical significance [J]. *Chin J Modern Med*, 2020, 30(5):54-59.

[17] 毛莉,肖新益,段娟雅. miR-15b 通过靶向 LPAR3 抑制子宫内腺癌细胞 PI3K/AKT 信号通路活化 [J]. *西部医学*, 2020, 32(9):1279-1285.

MAO L, XIAO X Y, DUAN J Y. miR-15b inhibits the activation of PI3K/AKT signaling pathway of endometrial cancer cells by targeting LPAR3 [J]. *Western Med*, 2020, 32(9):1279-1285.

[18] YANG Y, LIU Y, LI Y, CHEN Z, XIONG Y X, ZHOU T C, et al. microRNA-15b targets VEGF and inhibits angiogenesis in proliferative diabetic retinopathy [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(11):11.

[19] 李开元,艾明. 血清 ICAM-1、VEGF 水平与老年糖尿病视网膜病变患者微血管损伤的相关性研究 [J]. *中华保健医学杂志*, 2019, 21(1):39-41.

LI K Y, AI M. Study on the correlation between serum ICAM-1 and VEGF levels and microvascular injury in elderly patients with diabetic retinopathy [J]. *Chin J Health Care Med*, 2019, 21(1):39-41.

[20] 闫配,张晓红,张莉,李瑾. HMW-ADP、TNF- $\alpha$ 、VEGF 与糖尿病视网膜病变的关系研究 [J]. *中国医药导报*, 2019, 16(9):112-115.

YAN P, ZHANG X H, ZHANG L, LI J. Study on the relationship between HMW-ADP, TNF- $\alpha$ , VEGF and diabetic retinopathy [J]. *Chin Med Guid*, 2019, 16(9):112-115.

[21] 叶莺,刘小华,严延生. 2 型糖尿病患者血浆 microRNA 差异表达及生物信息学分析 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2021, 38(6):536-540.

YE Y, LIU X H, YAN Y S. Differential expression of plasma

microRNA in patients with type 2 diabetes and bioinformatics analysis [J]. *Chin J Med Genet*, 2021, 38(6):536-540.

- [22] 马宇,周利晓,刘意,武卫. miR93 和 miR21 联合检测对 2 型糖尿病视网膜病变进展的预测价值[J]. *国际眼科杂志*, 2019, 19(9):1550-1553.

MA Y, ZHOU L X, LIU Y, WU W. Prediction of progression of type 2 diabetic retinopathy based on the combination of miR93 and miR21 [J]. *Int J Ophthalmol*, 2019, 19(9):1550-1553.

## Relationship between micro ribonucleic acid-15b and vascular endothelial growth factor and related inflammatory factors in peripheral blood of diabetic retinopathy patients

MA Huilei, ZHAO Junyan

Department of Ophthalmology, Xiaoshan District First People's Hospital, Hangzhou 311200, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** MA Huilei, E-mail: mahuilei6@163.com

**[Abstract] Objective** To analyze the relationship between micro ribonucleic acid-15b (miR-15b) and vascular endothelial growth factor (VEGF) and related inflammatory factors in the peripheral blood of patients with diabetic retinopathy (DR). **Methods** A prospective study was conducted. Totally 140 patients with diabetes mellitus who visited our hospital from June 2019 to March 2021 were grouped according to the clinical staging criteria of DR into the non-DR (NDR) group, simple DR (SDR) group and proliferative DR (PDR) group. In addition, 30 healthy subjects who underwent physical examination in our hospital during the same period were selected as the negative control (NC) group. The expression of miR-15b in the serum was determined by real-time fluorescent quantitative PCR, and the levels of VEGF and inflammatory factors [intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-8 (IL-8), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )] in the serum were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. The proportion of microvascular endothelial function indexes [endothelial progenitor cells (EPC), circulating progenitor cells (CPC), and circulating endothelial cells (CEC)] in the peripheral blood was determined by a flow cytometer. Pearson correlation analysis was used to determine the correlation between miR-15b and VEGF, inflammatory response indexes as well as microvascular endothelial function indexes. The receiver operating characteristic curve was drawn to analyze the predictive value of miR-15b to DR. **Results** The levels of miR-15b, VEGF, inflammatory indexes and microvascular endothelial function indexes among the four groups showed statistically significant differences (all  $P < 0.05$ ). The expression levels of miR-15b, EPC and CPC in the serum showed an increasing trend in the PDR group, SDR group, NDR group and NC group. The levels of VEGF, ICAM-1, IL-1 $\beta$ , IL-8, hs-CRP, TNF- $\alpha$  and CEC in the serum showed a decreasing trend in the PDR group, SDR group, NDR group and NC group. The expression level of miR-15b was negatively correlated with VEGF, ICAM-1, IL-1 $\beta$ , IL-8, hs-CRP, TNF- $\alpha$ , and CEC (all  $P < 0.05$ ), and positively correlated with EPC and CPC (both  $P < 0.05$ ). The area under the curve for MiR-15b in predicting the DR was 0.869 (95% CI was 0.796 - 0.924), the diagnosis threshold was 0.68, sensitivity and specificity were 82.15% and 79.50%, respectively, and the Youden index was 0.617. **Conclusion** The decrease of serum mir-15b expression in DR patients is closely related to the levels of VEGF and inflammatory factors in peripheral blood and plays an essential role in microvascular injury and inflammatory response. **[Key words]** diabetic retinopathy; micro ribonucleic acid-15b; vascular endothelial growth factor; inflammatory factor; microvascular injury