

2 型糖尿病患者血清 LncRNA MEG3 水平与糖尿病肾病的关系分析

徐丽玲, 黄剑良

广西省河池市人民医院全科医疗科, 广西 河池 547000

【摘要】 目的 探讨 2 型糖尿病患者血清 LncRNA MEG3 水平与糖尿病肾病的相关性。方法 选取 140 例 2 型糖尿病患者, 依据尿微量白蛋白/肌酐比值(UACR)分为正常蛋白尿组(UACR<30 mg/g)45 例、微量蛋白尿组(UACR 30~300 mg/g)47 例、大量蛋白尿组(UACR>300 mg/g)48 例。选取同期于本院进行健康体检的 50 例健康人群为对照组。收集 2 型糖尿病患者临床资料, 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测患者血清 LncRNA MEG3 水平, 分析血清 LncRNA MEG3 水平与临床指标的相关性及其对糖尿病肾病的诊断价值。结果 相较于对照组, 正常蛋白尿组、微量蛋白尿组及大量蛋白尿组患者血清 LncRNA MEG3 表达均显著上调($P<0.05$)。微量蛋白尿组和大量蛋白尿组空腹血糖(FPG)、空腹胰岛素(FIns)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、糖化血红蛋白(HbA1c)、收缩压(SBP)、血肌酐(SCr)、尿微量白蛋白/肌酐比值(UACR)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及血清 LncRNA MEG3 高于正常蛋白尿组, 且大量蛋白尿组高于微量蛋白尿组($P<0.05$)。大量蛋白尿组舒张压(DBP)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)高于正常蛋白尿组($P<0.05$)。血清 LncRNA MEG3 水平与 T2DM 病程、FPG、FIns、HOMA-IR、HbA1c、SBP、DBP、TC、LDL-C、SCr、UACR、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 呈正相关($P<0.05$)。血清 LncRNA MEG3 水平诊断糖尿病肾病的 AUC 为 0.960, 以 1.5 为阈值, 其诊断的灵敏度为 94.74%、特异度为 84.44%。结论 糖尿病肾病患者血清 LncRNA MEG3 水平明显升高, 且与糖脂代谢、胰岛素抵抗及炎症因子相关, 对糖尿病肾病具有较好的诊断价值。

【关键词】 糖尿病肾病; LncRNA MEG3; 2 型糖尿病; 炎症因子

【中图分类号】 R587.1

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-6170(2024)03-0155-05

Analysis of correlation between serum LncRNA MEG3 level and diabetic nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus XU Li-ling, HUANG Jian-liang Department of General Medicine, Hechi People's Hospital, Hechi 547000, China

【Abstract】 **Objective** To explore the correlation between serum LncRNA MEG3 level and diabetic nephropathy (DN) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** One hundred and forty T2DM patients were selected. They were divided into a normal albuminuria group ($n=45$; UACR<30 mg/g), a microalbuminuria group ($n=47$; UACR 30~300 mg/g) and a large albuminuria group ($n=48$; UACR>300 mg/g) according to urinary microalbuminuria/creatinine ratio (UACR). Fifty healthy people who underwent physical examination in our hospital during the same period were selected as a control group. Clinical data of T2DM patients were collected. Serum LncRNA MEG3 levels were detected by real-time quantitative fluorescent PCR (qRT-PCR). The correlation between serum LncRNA MEG3 levels and clinical indicators as well as the diagnostic value of serum LncRNA MEG3 in DN were analyzed. **Results** Compared with the control group, the expression of serum LncRNA MEG3 in the normal albuminuria group, the microalbuminuria group and the macroalbuminuria group was significantly up-regulated ($P<0.05$). Fasting blood glucose (FPG), fasting insulin (FIns), insulin resistance index (HOMA-IR), glycosylated hemoglobin (HbA1c), systolic blood pressure (SBP), blood creatinine (SCr), urinary UACR, transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), Interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and serum LncRNA MEG3 in the microalbuminuria group and the macroalbuminuria group were higher than those in the normal albuminuria group, and those in the macroalbuminuria group were higher than those in the microalbuminuria group ($P<$

- 后左心房变化及复发的危险因素分析[J]. 解放军医药杂志, 2021, 33(9):62-68.
- [4] 乔胜利, 王莉, 袁梦琳, 等. 格林模式在健康干预中的应用与研究进展[J]. 职业与健康, 2021, 37(12):1716-1719.
- [5] Singh BN, Singh SN, Reda DJ, et al. Sotalol Amiodarone Atrial Fibrillation Efficacy Trial (SAFE-T) Investigators. Amiodarone versus sotalol for atrial fibrillation [J]. N Engl J Med, 2005, 352(18):1861-1872.
- [6] Tsioufis C, Konstantinidis D, Nikolakopoulos I, et al. Biomarkers of Atrial Fibrillation in Hypertension [J]. Curr Med Chem, 2019, 26(5):888-897.
- [7] 林振乾, 黄琼, 黄海伦, 等. 左心耳形态结构与房颤射频消融术后复发的关系[J]. 中国心血管病研究, 2022, 20(4):298-302.
- [8] 杜婧, 王斌全, 宁艳, 等. 基于格林模式突发性聋患者生活质量影响因素问卷的编制[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2020, 34(5):411-416.
- [9] 陈倩, 张雪莹, 丁丽. 格林模式健康教育对育龄妇女宫颈瘤筛查知信行水平的影响[J]. 癌症进展, 2021, 19(18):1941-1944.
- [10] 韩晓妹, 顾芬, 唐瑞强. 基于格林模式的血糖云端监测平台在 2 型糖尿病患者管理中的应用效果[J]. 广西医学, 2022, 44(12):1432-1436.
- [11] 钟亮, 曾玉春, 汤学宇, 等. 格林模式干预用于维持性血液透析对患者遵医行为、健康认知及并发症的影响[J]. 中华保健医学杂志, 2022, 24(2):128-131.

(收稿日期:2023-08-28;修回日期:2023-09-25)

(本文编辑:彭羽)

0.05)。The diastolic blood pressure (DBP), total cholesterol (TC) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in the macroalbuminuria group were higher than those in the normal albuminuria group ($P < 0.05$)。Serum LncRNA MEG3 levels were positively correlated with the course of T2DM, FPG, FIns, HOMA-IR, HbA1c, SBP, DBP, TC, LDL-C, SCr, UACR, IL-6, TNF- α and TGF- β 1 ($P < 0.05$)。The AUC of serum LncRNA MEG3 level for the diagnosis of DN was 0.960 (95% CI = 0.913 ~ 0.986), and the diagnostic sensitivity and specificity were 94.74% and 84.44%, respectively with a threshold of 1.5。Conclusions Serum LncRNA MEG3 levels are significantly increased in patients with DN. It is correlated with glucose and lipid metabolism, insulin resistance and inflammatory indicators. It has a good diagnostic value for DN.

【Key words】 Diabetic nephropathy; LncRNA MEG3; Type 2 diabetes; Inflammatory factor

2021 年国际糖尿病联盟 (IDF) 报告显示,全世界约有 5.37 亿糖尿病患者,中国是全球糖尿病患者最多的国家,现有病例约 1.41 亿,发病率约为 12.8%,其中 90% 以上为 2 型糖尿病 (T2DM)^[1]。糖尿病肾病 (DN) 是糖尿病常见的慢性并发症,也是造成终末期肾衰竭的首要因素,开展早期筛查和干预是改善 DN 患者预后的关键环节^[2]。目前,临床多以估算肾小球滤过率 (eGFR) 和蛋白尿作为 DN 早期诊断和预后评估的依据,但其灵敏度和特异度存在局限性^[3]。长链非编码 RNA (LncRNA) 是一类长度超过 200 bp 且无蛋白质编码功能的 RNA,参与染色体修饰、转录激活、细胞核内转运、基因组修饰等多种生物学过程^[4]。母系表达基因 3 (MEG3) 是人体内高度保守的一类 LncRNA,定位于人染色体 14q32.2 的 DLK1-MEG3 基因簇^[5]。研究表明,在 DN 动物模型或细胞模型中均可见 LncRNA MEG3 表达上调,其可通过靶向调控 miR-181a/Egr-1/TLR4 信号轴介导炎症级联反应,导致肾脏系膜细胞凋亡,加剧肾脏纤维化进程,提示 LncRNA MEG3 可能与 DN 发生发展有关^[5,6]。但 LncRNA MEG3 在 DN 临床诊疗中的价值尚不清楚。本研究旨在探讨 DN 患者血清 LncRNA MEG3 表达变化及特征,分析其在 DN 诊疗中的价值,为临床提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2022 年 1 月至 2023 年 6 月河池市人民医院收治的 140 例 T2DM 患者。纳入标准:①符合 T2DM 及 DN 的诊断标准,T2DM 诊断标准依据中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 年版)^[7]; DN 诊断标准依据中国糖尿病肾脏病防治指南 (2021 年版)^[8];②临床资料完整;③患者知情同意。排除标准:①其他病因导致的继发性肾脏疾病;②原发性肾脏疾病;③血液透析患者;④1 型糖尿病患者;⑤合并恶性肿瘤、血液系统疾病、自身免疫性疾病、其他内分泌疾病等;⑥严重精神疾病患者;⑦妊娠或哺乳期女性。依据尿微量白蛋白/肌酐比值

(UACR) 将患者分为 3 组,UACR < 30 mg/g 为正常蛋白尿组,UACR 30 ~ 300 mg/g 为微量蛋白尿组、> 300 mg/g 为大量蛋白尿组。选取同期于本院进行健康体检的 50 例健康人群为对照组。本研究经河池市人民医院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 一般资料采集 收集患者年龄、性别、T2DM 病程、收缩压 (SBP)、舒张压 (DBP)、体重指数 (BMI) 等资料。采集患者清晨空腹静脉血 5 ml,氧化酶法检测空腹血糖 (FPG),化学发光法测定空腹胰岛素 (FIns),换算稳态模型评估的胰岛素抵抗指数 (HOMA-IR)。全自动生化仪测定总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、肌酐 (SCr)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)。比浊法检测 UACR,于 3 ~ 6 个月内重复测定 3 次,取均值。ELISA 法测定血清转化生长因子- β 1 (TGF- β 1)、白细胞介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 表达。

1.2.2 血清 LncRNA MEG3 测定 入组时分离患者血清样本,采用 Trizol LS 法提取血清总 RNA,分光光度计检测 RNA 纯度及浓度,A260 nm/280 nm 为 1.8 ~ 2.2 则属于合格样本。逆转录 RNA 获得 cDNA,采用实时荧光定量 PCR 对 LncRNA MEG3 进行扩增反应,热循环条件:95 °C 初变性 5 min,95 °C 变性 10 s,58 °C 退火 45s,72 °C 延伸 1 min,40 个循环。以 GAPDH 为内参, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 LncRNA MEG3 相对表达量。LncRNA MEG3 正向引物:5'-GGGCTTCTGGAATGAGCATGCTACTG-3', LncRNA MEG3 反向引物:5'-ACATTCGAGGTCCCCTTCCACGTAGGCATC-3'。GAPDH 正向引物:5'-CATGAGCAGTAAACAGCCATGAT-3', GAPDH 反向引物:5'-AGTACACCCATCGAATTCAGT-3'。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 28.0 分析数据。计量资料符合正态分布并以均数 \pm 标准差表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较用 LSDt 检验。计数资料以例数 (%) 表示,组间比较用 χ^2 检验;相关性分析用 Spearman 相关性分析法。受试者工作特征曲线 (ROC) 分析血清 LncRNA MEG3 对 DN 的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组一般资料比较 微量蛋白尿组和大量蛋白尿组的 FPG、FIns、HOMA-IR、HbA1c、SBP、SCr、UACR、IL-6、TNF- α 及 TGF- β 1 高于正常蛋白尿组，

且大量蛋白尿组高于微量蛋白尿组 ($P < 0.05$)。大量蛋白尿组 DBP、TC、LDL-C 高于正常蛋白尿组 ($P < 0.05$)。三组性别、年龄、BMI、TG、HDL-C 比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 三组患者基线资料比较

指标	正常蛋白尿组 ($n=45$)	微量蛋白尿组 ($n=47$)	大量蛋白尿组 ($n=48$)	统计量	P
男/女(例)	22/23	27/20	29/19	$\chi^2=1.337$	0.512
年龄(岁)	60.64 \pm 6.34	58.19 \pm 8.26	58.13 \pm 7.77	$F=1.670$	0.192
病程(年)	7.64 \pm 1.85	9.81 \pm 2.01 ^a	12.81 \pm 2.58 ^{ab}	$F=66.319$	0.000
BMI(kg/m ²)	25.35 \pm 2.20	25.73 \pm 2.88	25.70 \pm 2.93	$F=0.289$	0.749
FPG(mmol/L)	6.77 \pm 1.07	7.79 \pm 1.29 ^a	8.63 \pm 1.49 ^{ab}	$F=23.782$	0.000
FIns(mU/L)	9.03 \pm 1.31	11.90 \pm 1.69 ^a	14.30 \pm 1.71 ^{ab}	$F=128.473$	0.000
HOMA-IR	2.72 \pm 0.62	4.13 \pm 0.95 ^a	5.50 \pm 1.19 ^{ab}	$F=98.002$	0.000
HbA1c(%)	7.89 \pm 1.00	9.37 \pm 1.26 ^a	10.52 \pm 1.75 ^{ab}	$F=42.356$	0.000
SBP(mmHg)	133.96 \pm 10.99	142.43 \pm 12.65 ^a	151.60 \pm 14.67 ^{ab}	$F=21.789$	0.000
DBP(mmHg)	79.58 \pm 11.58	81.57 \pm 9.42	87.48 \pm 8.36 ^{ab}	$F=8.183$	0.000
TC(mmol/L)	4.30 \pm 0.75	4.20 \pm 0.74	5.40 \pm 1.15 ^{ab}	$F=25.269$	0.000
TG(mmol/L)	2.26 \pm 0.46	2.25 \pm 0.64	2.33 \pm 0.53	$F=0.255$	0.775
HDL-C(mmol/L)	1.01 \pm 0.26	1.03 \pm 0.24	1.01 \pm 0.24	$F=0.136$	0.873
LDL-C(mmol/L)	2.34 \pm 0.46	2.40 \pm 0.38	3.19 \pm 0.67 ^{ab}	$F=39.947$	0.000
SCr(μ mol/L)	58.33 \pm 7.75	75.81 \pm 9.55 ^a	123.36 \pm 19.34 ^{ab}	$F=296.605$	0.000
UACR(mg/g)	11.17 \pm 2.44	133.68 \pm 21.04 ^a	509.73 \pm 66.29 ^{ab}	$F=1911.829$	0.000
IL-6(pg/ml)	3.66 \pm 1.10	34.79 \pm 11.04 ^a	52.08 \pm 12.50 ^{ab}	$F=292.857$	0.000
TNF- α (pg/ml)	3.78 \pm 1.38	49.76 \pm 16.94 ^a	62.23 \pm 16.21 ^{ab}	$F=232.808$	0.000
TGF- β 1(ng/ml)	0.18 \pm 0.08	4.15 \pm 1.30 ^a	5.46 \pm 1.53 ^{ab}	$F=252.117$	0.000

a与正常蛋白尿组比较, $P < 0.05$;b与微量蛋白尿组比较, $P < 0.05$

2.2 各组血清 LncRNA MEG3 比较 相较于对照组,正常蛋白尿组、微量蛋白尿组及大量蛋白尿组患者血清 LncRNA MEG3 表达均显著上调;微量蛋白尿组和大量蛋白尿组血清 LncRNA MEG3 表达高于正常蛋白尿组,且大量蛋白尿组高于微量蛋白尿组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 三组血清 LncRNA MEG3 水平比较

组别	例数	LncRNA MEG3
正常蛋白尿组	45	1.18 \pm 0.46
微量蛋白尿组	47	2.37 \pm 0.67 ^a
大量蛋白尿组	48	3.77 \pm 1.13 ^{ab}
对照组	50	0.79 \pm 0.031 ^{abc}
F		169.933
P		0.000

a与正常蛋白尿组比较, $P < 0.05$;b与微量蛋白尿组比较, $P < 0.05$;c与大量蛋白尿组比较, $P < 0.05$

2.3 各组血清 LncRNA MEG3 水平与临床指标的相关性分析 Spearman 相关分析结果显示,血清 LncRNA MEG3 水平与 T2DM 病程、FPG、FIns、HOMA-IR、HbA1c、SBP、DBP、TC、LDL-C、SCr、

UACR、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 呈正相关 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 血清 LncRNA MEG3 水平对 DN 的诊断效能 血清 LncRNA MEG3 水平诊断 DN 的 AUC 为 0.960(95%CI 为 0.913~0.986),以 1.5 为阈值,其诊断的灵敏度为 94.74%、特异度为 84.44%,见图 1。

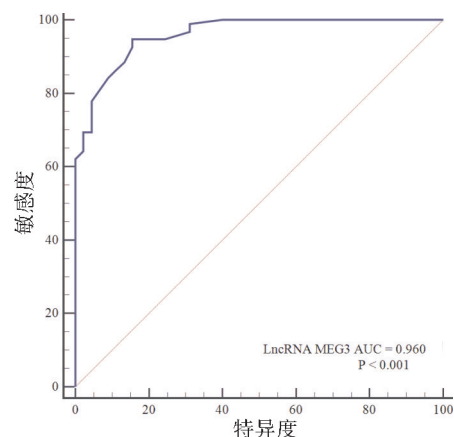


图 1 血清 LncRNA MEG3 诊断 DN 的 ROC 曲线

表 3 血清 LncRNA MEG3 水平与临床指标的相关性分析

指标	<i>r</i>	<i>P</i>
病程	0.575	0.000
FPG	0.419	0.000
FIns	0.664	0.000
HOMA-IR	0.638	0.000
HbA1c	0.512	0.000
SBP	0.377	0.000
DBP	0.247	0.003
TC	0.305	0.000
LDL-C	0.401	0.000
SCr	0.737	0.000
UACR	0.775	0.000
IL-6	0.715	0.000
TNF- α	0.672	0.000
TGF- β 1	0.648	0.000

3 讨论

高血糖是造成肾脏损害的独立相关因素,有 20%~40% 的 T2DM 患者罹患 DN,10%~20% 的 T2DM 患者死于 DN^[9]。当前, DN 已成为威胁我国居民生命健康的重大公共卫生问题。国内外指南均提出以 UACR>30 mg/g 和(或) eGFR<60 ml/(min·1.73m²) 为 DN 临床诊断的主要标准,但由于 DN 的病理变化和病程存在较大异质性,临床确诊时肾脏损害大多已无法逆转,延误了最佳干预时机^[10]。因此,临床亟待探寻更具敏感性和特异性的 DN 风险分层诊断工具。

本研究结果显示,微量蛋白尿组和大量蛋白尿组的 FPG、FIns、HOMA-IR、HbA1c、SBP、SCr、UACR、IL-6、TNF- α 及 TGF- β 1 高于正常蛋白尿组,且大量蛋白尿组高于微量蛋白尿组($P<0.05$);大量蛋白尿组 DBP、TC、LDL-C 高于正常蛋白尿组($P<0.05$),与曹欢等^[11]报道一致。上述结果表明, DN 发病机制较为复杂,糖脂代谢紊乱、胰岛素抵抗(IR)及炎症级联反应可共同促进 DN 病情进展。

近年来,随着对 LncRNA MEG3 研究的不断深入,学者们发现 LncRNA MEG3 在 DN 病程进展中发挥重要作用。Alrefai 等^[12]研究发现, T2DM 患者血清 LncRNA MEG3 表达水平明显高于糖尿病前期和健康人群($P<0.05$), LncRNA MEG3 高表达与 SCr、UACR 增高呈正相关($P<0.05$),且 LncRNA MEG3 在鉴别 T2DM 与糖尿病前期及健康人群方面具有良好的敏感性。Luo 等^[13]证实, LncRNA MEG3 在 db/db 小鼠、DN 患者及高糖处理的肾系膜细胞中均表达上调,敲低 LncRNA MEG3 可明显减轻 db/db 小鼠尿白蛋白,改善肾脏炎症和纤维化程度。本研究

结果显示,相较于对照组,正常蛋白尿组、微量蛋白尿组及大量蛋白尿组患者血清 LncRNA MEG3 表达均显著上调;微量蛋白尿组和大量蛋白尿组血清 LncRNA MEG3 表达高于正常蛋白尿组,且大量蛋白尿组高于微量蛋白尿组($P<0.05$);血清 LncRNA MEG3 水平与 T2DM 病程、SCr、UACR 呈正相关($P<0.05$)。提示 LncRNA MEG3 与 T2DM 所致的肾脏损伤密切相关,可作为判断 DN 严重程度的生物学标志物。此外,血清 LncRNA MEG3 水平诊断 DN 的 AUC 为 0.960(95% CI 为 0.913~0.986),以 1.5 为阈值,其诊断的灵敏度为 94.74%、特异度为 84.44%。提示 LncRNA MEG3 在 DN 早期鉴别诊断方面具有良好的效能。

目前认为, LncRNA MEG3 对糖脂代谢、炎症反应及 IR 均有较为明确的调控作用^[14,15]。Lu 等^[16]证实,在 TNF- α 诱导的 3T3-L1 成熟脂肪细胞中 LncRNA MEG3 表达明显上调, IL-6 等炎症因子大量释放,并发生 IR,沉默 LncRNA MEG3 可逆转上述现象;机制上, LncRNA MEG3 通过靶向 IGF2BP2 激活 TLR4/NF- κ B 信号通路,进而加剧脂肪细胞的慢性炎症和 IR。Heydari 等^[17]研究显示, T2DM 患者外周血单个核细胞中 LncRNA MEG3 表达较健康人群增高($P<0.05$),且 LncRNA MEG3 表达与 HbA1c、HOMA-IR、AGEs 等血糖控制指标呈正相关($P<0.05$)。本研究结果显示, LncRNA MEG3 水平与 FPG、FIns、HOMA-IR、HbA1c、TC、LDL-C、IL-6、TNF- α 、TGF- β 1 呈正相关($P<0.05$)。提示 LncRNA MEG3 与 DN 患者的糖脂代谢、IR 及炎症反应程度密切相关,其可能是通过促炎机制加剧 DN 患者 IR 及糖脂代谢异常。

综上所述, DN 患者血清 LncRNA MEG3 水平明显升高,且与糖脂代谢、胰岛素抵抗及炎症因子相关,对 DN 具有较好的诊断价值。但本研究也存在不足之处,例如未对患者应用降糖药物情况进行分析,可能会对相关临床结果产生影响,未来将扩大样本量并调整纳排标准,开展更为深入的研究。

【参考文献】

- [1] Sun H, Saeedi P, Karuranga S, et al. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045 [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2022, 183:109119.
- [2] Gui H, Chen X, Ye L, et al. Seven basement membrane-specific expressed genes are considered potential biomarkers for the diagnosis and treatment of diabetic nephropathy [J]. Acta Diabetol, 2023, 60(4):493-505.
- [3] 冯松涛,王彬,刘必成. 糖尿病肾病新型生物标志物的研究现状