

基于生物信息学分析胰岛素分泌细胞诱导过程中 miRNA-mRNA 调控网络

王 涛¹, 侯润博², 潘 鑫¹

(锦州医科大学医疗学院医学系¹, 医学技术系², 辽宁 锦州 121013)

摘要:目的 探讨人胚胎干细胞(hESCs)向胰岛素分泌细胞(IPCs)诱导分化过程中基因表达的差异,并构建 miRNA-mRNA 调控网络。**方法** 从 GEO 数据库的 GSE42094 数据集筛选差异表达基因,对其进行 GO 功能和 KEGG 路径显著性分析。选用 miRTarBase 数据库预测其靶 miRNA,应用 cytoscape 9.1.0 软件构建 miRNA-mRNA 调控网络并可视化,采用文献数据验证预测的 miRNA。**结果** 本研究共筛选得到差异表达的基因 188 个,分别选取诱导后上调和下调的各前 10 个进行分析,发现上调基因蛋白互作网络通过 VTN 与下调基因网络的 POU5F1 直接作用,将两个网络相关联。miRNA-mRNA 调控网络发现 miR-335-5p 能够调控 VTN、NANOG、POU5F1 和 DNMT3B 4 个基因的表达,进一步验证发现 miR-335-5p 表达量随着诱导分化进程逐渐升高,与 NANOG、POU5F1 和 DNMT3B 表达量逐渐降低形成对照,提示二者之间存在靶向关系且为负性调控。**结论** miRNA-mRNA 调控网络显示 miR-335-5p 靶向多个基因参与 hESCs 向 IPCs 诱导分化过程。

关键词:微小 RNA;胚胎干细胞;胰岛素分泌细胞;生物信息学

中图分类号:R342.2

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.06.002

文章编号:1006-1959(2023)06-0008-06

Bioinformatics-based Analysis of miRNA-mRNA Regulatory Network During Induction of Insulin-secreting Cells

WANG Tao¹, HOU Run-bo², PAN Xin¹

(Department of Medicine of Medical Treatment College¹, Medical Radiologic Technology of Medical Treatment College²,
Jinzhou Medical University, Jinzhou 121013, Liaoning, China)

Abstract: Objective To investigate the difference of gene expression during the differentiation of human embryonic stem cells (hESCs) into insulin producing cells (IPCs), and to construct a miRNA-mRNA regulatory network. **Methods** Differentially expressed genes were screened from the GSE42094 dataset of the GEO database, and GO function and KEGG pathway significance analysis were performed. The miRTarBase database was used to predict its target miRNA, and the miRNA-mRNA regulatory network was constructed and visualized by cytoscape 9.1.0 software. The predicted miRNA was verified by literature data. **Results** In this study, 188 differentially expressed genes were screened, and the top 10 up-regulated and down-regulated genes after induction were selected for analysis. It was found that the up-regulated gene protein interaction network directly interacted with the POU5F1 of the down-regulated gene network through VTN, and the two networks were associated. The miRNA-mRNA regulatory network found that miR-335-5p could regulate the expression of VTN, NANOG, POU5F1 and DNMT3B. Further verification found that the expression of miR-335-5p gradually increased with the induction of differentiation, and the expression of NANOG, POU5F1 and DNMT3B gradually decreased to form a control, suggesting that there was a targeted relationship between the two and negative regulation. **Conclusion** The miRNA-mRNA regulatory network shows that miR-335-5p targets multiple genes to participate in the differentiation of hESCs into IPCs.

Key words: miRNA; Embryonic stem cells; Insulin producing cells; Bioinformatics

I 型糖尿病作为一种慢性疾病主要是由胰岛 β 细胞受损引起,胰腺或胰岛移植可以彻底根治,但是由于供体缺乏以及免疫排斥大大限制该治疗方案的临床应用^[1,2],干细胞分化为胰岛素分泌细胞(insulin-producing cells, IPCs)再行移植,有望成为 I 型糖尿病治疗的新策略^[3,4]。miRNA 作为一类小的非编码

RNA,其长度大约在 22 个核苷酸左右,能够与靶 mRNA 3' 端非翻译区互补,进而降解或阻止该 mRNA 翻译出蛋白质,实现转录后水平的基因表达调控^[5,6]。生物信息学通过整合多个学科领域信息和知识,能够整体层面揭示疾病或生物过程的复杂分子机制^[7],而且其通过对已有实验数据的分析,能够减少重复实验所带来的资源浪费。GEO 数据库是生物信息学研究重要的中心资源之一,其存储大量高通量数据,但是大部分数据并未被充分利用^[8]。目前,运用生物信息学分析干细胞向 IPCs 诱导分化过程中 miRNA-mRNA 的调控网络报道较少见。因此,本研究运用生物信息学方法分析干细胞向 IPCs 诱

基金项目:1. 辽宁省教育厅科学研究经费面上项目(编号:LJKZ1374);2. 辽宁省大学生创新训练项目(编号:S202113213014)

作者简介:王涛(1984.10-),男,山东潍坊人,硕士,讲师,主要从事干细胞的基础研究

导分化过程中的 mRNA 表达谱，并构建 miRNA-mRNA 调控网络。

1 资料与方法

1.1 一般资料 通过 NCBI 的 GEO 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>) 检索人胚胎干细胞(human embryonic stem cells, hESCs) 向 IPCs 诱导分化过程中 mRNA 表达谱的相关数据，最终只有 GSE42094 数据集符合要求，该数据集基于 GPL10558 平台, 包含 23 个样本数据(GSM1032319-41), 涉及未分化 hESCs(WA09)、IPCs 分化的 5 个时期、胰腺内胰岛和胎胰。

1.2 数据处理与差异表达分析 选择 GSE42094 数据集内的未分化 hESCs 和 IPCs 分化的 5 个时期进行研究, 进入“Analyze with GEO2R”项目, 点击“Define groups”设定分组，其中, hESCs 组包含 3 个样本, Diff1 组 3 个, Diff2 组 3 个, Diff3 组 2 个, Diff4 组 2 个, IPCs 组 3 个, 对 6 组数据进行差异表达分析, 筛选标准设定为 $\text{adj.}P<0.05$ 。

1.3 GO 功能和 KEGG 路径显著性分析 为分析差异表达基因的潜在生物学功能, 选用 DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>) 数据库进行功能富集分析, 主要分析 GO 功能以及 KEGG 路径 2 个方面, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

1.4 蛋白互作网络分析 为分析差异表达基因的相互作用及其调控网络, 选用 STRING(<https://string-db.org/>) 数据库进行蛋白互作网络 PPI 分析，选择

Homo sapiens 作为“Organism”的条件, 其余参数均为系统默认设置。

1.5 miRNA 预测 针对差异表达基因预测其靶 miRNA, 选用 miRTarBase (<https://mirtarbase.cuhk.edu.cn/>) 数据库，选择 reporter assay、western blot、qPCR 和 microarray 四种实验验证的 miRNA-mRNA 靶向匹配作为预测 miRNA 的入选标准, 并应用 Cytoscape 9.1.0 软件对 miRNA-mRNA 的调控网络进行可视化。

1.6 预测 miRNA 的验证 将预测的 miRNA 与 PMID: 20 735 361^[9]的 Table S4 数据取交集进行验证, 该研究主要分析 miRNA 在人胚胎 T3 干细胞向胰腺胰岛样细胞团分化过程中的表达, 其 Table S4 结果显示出胚胎 T3 干细胞(hES-T3 cells grown on mouse embryonic fibroblast feeder, T3ES)、胚胎内胚层(embryoid bodies differentiated from T3 cells, T3EB)和胰腺胰岛样细胞团 (pancreatic islet-like cell clusters derived from T3 cells, T3pi)三组标准化的 miRNA 表达量。

2 结果

2.1 差异表达基因 通过对 GSE42094 的 6 组样本数据分析, 差异表达基因的前 250 个被显示, 除去没有名称和重复的基因, 共得到 188 个。进一步对 hESCs 和 IPCs 两组数据分析得到差异表达基因, 并与上述 188 个基因取交集后，选取诱导后上调和下调的各前 10 个差异表达基因进行后续研究, 见表 1。该 20 个基因代表整个 hESCs 向 IPCs 诱导过程中表达量差异最具有统计学意义的基因。

表 1 诱导后上调和下调的前 10 个差异表达基因

ID	Gene	F	P	ID	Gene	F	P
Up-regulated gene				Down-regulated gene			
ILMN_1690884	APOA1	1144.3	6.01E-18	ILMN_1705546	POU5F1	325.3	4.24E-14
ILMN_1814015	CDH17	704.6	1.84E-16	ILMN_1851610	LOC729860	243.9	3.19E-13
ILMN_1688543	APOA2	538.1	1.23E-15	ILMN_1768793	UTF1	204.2	1.10E-12
ILMN_1787266	SPINK1	522.3	1.52E-15	ILMN_3239254	UCA1	184.9	2.20E-12
ILMN_1691127	VTN	510.2	1.79E-15	ILMN_2328972	DNMT3B	149.9	9.46E-12
ILMN_2198912	TTR	472.5	3.08E-15	ILMN_1727098	PPP1R16B	134.9	1.96E-11
ILMN_2315044	FGG	373	1.62E-14	ILMN_2112811	RPL36A	129.8	2.55E-11
ILMN_2113470	GSTA1	357.2	2.20E-14	ILMN_1659013	NANOG	124.2	3.48E-11
ILMN_1751326	FAM162B	290	9.48E-14	ILMN_1800468	KLKB1	123.7	3.58E-11
ILMN_1655613	GSTA2	287.2	1.01E-13	ILMN_1687090	GABRB3	115.3	5.79E-11

2.2 GO 功能和 KEGG 路径显著性分析 通过对诱导后上调和下调的各前 10 个差异表达基因进行 GO 功能和 KEGG 路径显著性分析，发现上调基因在“外泌体”和“胞外”比较集中, 主要涉及“谷胱甘肽

代谢”和“PPAR 信号通路”, 而下调基因在“基因表达调控”“内胚层的决定”以及“成体干细胞种群维持”比较集中。

2.3 蛋白互作网络分析 通过 PPI 分析发现 10 个上

调基因中有 6 个基因所表达的蛋白质具有相互作用,有 2 个基因显示二者间直接作用(GSTA1 和 GSTA2),剩余两个没有关联(图 1A)。而下调的 10 个基因中 LOC729860 和 UCA1 在 STRING 数据库中沒有收录,其余 8 个基因中有 5 个表达的蛋白质具有相互作用,剩余 3 个没有关联(图 1B)。将上调和下调的基因进行融合分析,发现下调基因 KLKB1 能够与上调基因 FGG 直接进行蛋白相互作用,且上调基因蛋白互作网络通过 VTN 与下调基因网络的 POU5F1 直接作用,将两个网络相关联(图 1C)。

2.4 miRNA-mRNA 调控网络 通过 miRTarBase 数据库查找靶向作用于差异表达基因的 miRNA,选择 reporter assay、western blot、qPCR 和 microarray 4 种实验验证的 miRNA-mRNA 靶向匹配作为预测 miRNA 的入选标准,发现 CDH17、APOA2、

FAM162B、GSTA2、LOC729860、UTF1、KLKB1 等 7 个基因没有对应 miRNA 调控,而 APOA1、TTR、PPP1R16B、RPL36A 4 个基因虽有相应 miRNA 调控,但不满足设定的人选标准,因此,该 11 个基因在应用 Cytoscape 9.1.0 软件进行 miRNA-mRNA 调控网络可视化过程中,未有 miRNA 呈现,其余 9 个基因共对应 23 个预测的 miRNA。其中, DNMT3B 基因显示有 10 个 miRNA 调控其表达, NANOG 基因有 9 个,而 SPINK1 和 UCA1 基因仅各有 1 个 miRNA 调控其表达,且该 2 个基因与 miRNA-mRNA 调控网络没有直接关联。进一步分析发现 miR-335-5p 能够调控 VTN、NANOG、POU5F1 和 DNMT3B 4 个基因的表达(图 2),其中 VTN 为上调基因(图 3A), NANOG、POU5F1 和 DNMT3B 为下调基因(图 3B~图 3D)。

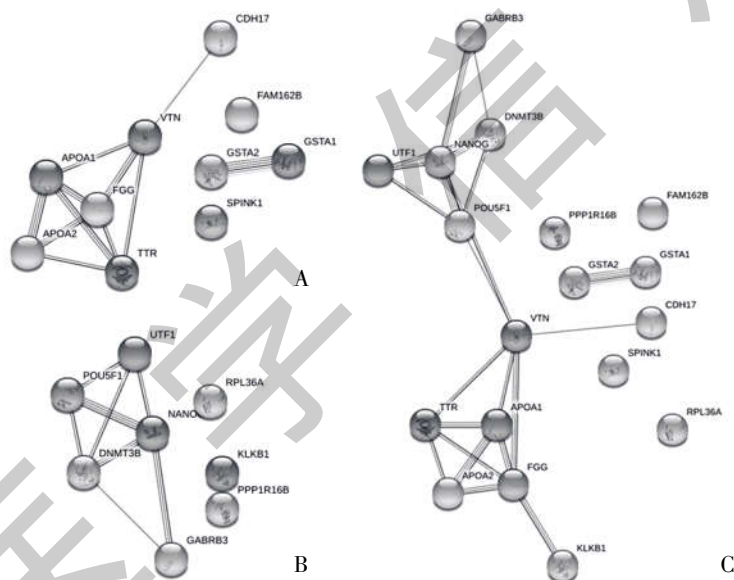


图 1 蛋白互作网络分析

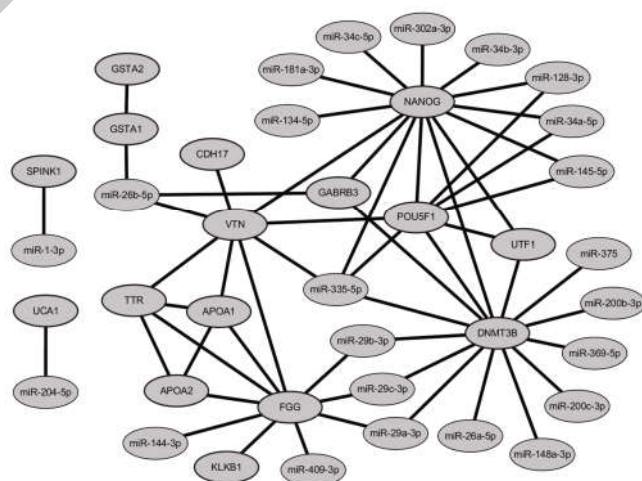


图 2 miRNA-mRNA 调控网络

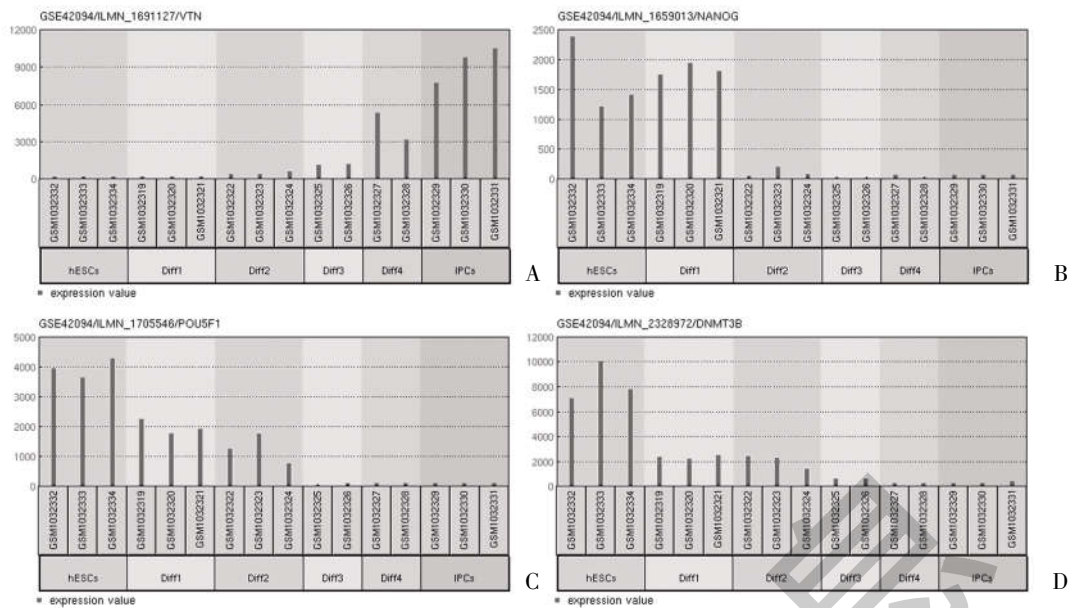


图 3 GEO2R 所示基因的表达量

2.5 预测 miRNA 的验证 将预测的 miRNA 与 PMID: 20 735 361 的 Table S4 数据取交集,得到 21 个验证的 miRNA,剩余 2 个预测的 miRNA(miR-200b-3p 和 miR-144-3p)未被验证,可见绝大部分预测的 miRNA 得到验证,亦即存在于干细胞及其诱导分化的过程中(表 2),同时表明基于 4 种实验预测 miRNA 的方法具备一定的可信度。表 2 显示 miR-302a-3p、miR-34a-5p、miR-34c-5p、miR-29b-3p、miR-375 和 miR-29a-3p 表达量诱导分化后显著降低,而 miR-134-5p、miR-335-5p 和 miR-26a-5p 表达量随着诱导分化进程逐渐升高,其中 miR-335-5p 表达量的逐渐升高与 NANOG、POU5F1 和 DNMT3B 表达量的逐渐降低(图 3B~图 3D)形成对照,提示二者之间存在靶向关系且为负性调控。结合图 2 进一步分析发现上调基因与下调基因网络通过多个 miRNA 相关联,其中上调基因 VTN 通过 miR-26b-5p

和 miR-335-5p 与下调基因网络多个基因关联,并且 VTN 通过 miR-26b-5p 与 GSTA1 和 GSTA2 的二者间直接作用相关联。上调基因 FGG 通过 miR-29 家族(miR-29a-3p、29b-3p、29c-3p)与下调基因 DNMT3B 相关联,提示 miRNA 通过靶向不同表达类型的基因进而调控干细胞的诱导分化进程。

2.6 miR-335-5p 的结构和功能信息 运用 miRBase 数据库(<https://www.mirbase.org/>)检索 miR-335-5p 的结构信息,其前体 hsa-mir-335 的序列及其茎环结构如图 4A 所示,标红部分为成熟 miR-335-5p 的序列(16-UCAAGAGCAAUAACGAAAAAUGU-38)。进一步检索发现前体 hsa-mir-335 在 169 篇文献中被提及,共涉及 864 个词句,其词汇云如图 4B 所示,可见其在癌症和肿瘤方向研究最广泛,其次就是诱导和分化等方向,与本研究的方向相符。

表 2 PMID:20 735 361 数据验证预测的 miRNA

miRNA	T3ES	T3EB	T3pi	pi/ES	pi/EB	ES/pi	EB/pi
hsa-miR-369-5p	0.01	0.01	0.01	1	1	1	1
hsa-miR-409-5p	0.01	0.01	0.01	1	1	1	1
hsa-miR-1-3p	0.03	2.29	0.02	1	0	2	133
hsa-miR-302a-3p	1.29	5.90	0.02	0	0	56	258
hsa-miR-128-3p	0.01	0.04	0.02	2	0	1	3
hsa-miR-34b-3p	0.02	0.03	0.02	1	1	1	2
hsa-miR-134-5p	0.01	0.03	0.09	9	3	0	0

表 2(续)

miRNA	T3ES	T3EB	T3pi	pi/ES	pi/EB	ES/pi	EB/pi
hsa-miR-34a-5p	0.91	0.42	0.10	0	0	9	4
hsa-miR-34c-5p	3.59	0.22	0.27	0	1	14	1
hsa-miR-204-5p	0.60	5.36	0.30	1	0	2	18
hsa-miR-29b-3p	7.00	0.90	1.12	0	1	6	1
hsa-miR-375	8.15	85.04	2.28	0	0	4	37
hsa-miR-148a-3p	3.42	38.37	3.33	1	0	1	12
hsa-miR-29c-3p	8.25	2.08	7.65	1	4	1	0
hsa-miR-181a-3p	1.87	1.68	10.24	5	6	0	0
hsa-miR-200c-3p	27.76	180.60	11.75	0	0	2	15
hsa-miR-335-5p	5.84	13.40	25.74	4	2	0	1
hsa-miR-26b-5p	24.95	80.84	26.28	1	0	1	3
hsa-miR-145-5p	28.83	10.18	51.89	2	5	1	0
hsa-miR-29a-3p	143.60	3.69	71.66	0	19	2	0
hsa-miR-26a-5p	199.23	253.13	606.89	3	2	0	0

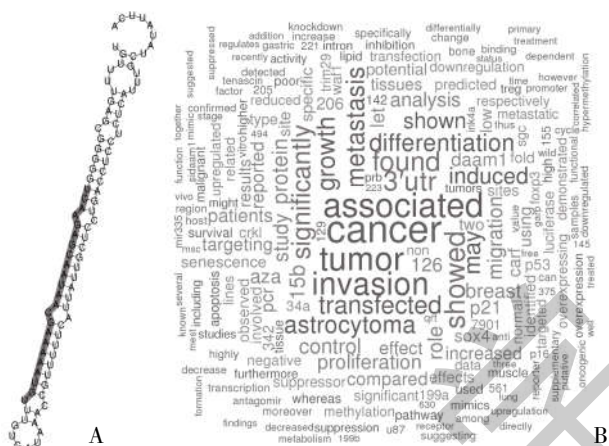


图 4 miR-335-5p 的结构和功能信息

3 讨论

本研究为分析 hESCs 向 IPCs 诱导分化过程中的 mRNA 表达谱,采用生物信息学方法筛选 GEO 数据库内的数据集得到 GSE42094,该数据集包含未分化 hESCs、IPCs 分化的 5 个时期、胰腺内胰岛和胎胰等样本数据。本研究选择与研究目的直接相关的未分化 hESCs 和 IPCs 分化的 5 个时期来研究,通过数据库自带软件 GEO2R 对数据进行分析,得出差异表达的 mRNA 共 188 个,分别选取诱导后上调和下调的各前 10 个差异表达基因作为后续研究。

通过 GO 功能和 KEGG 路径显著性分析,发现下调基因多涉及基因表达调控以及多能干细胞调控信号通路等与干细胞诱导分化机制相关的内容,而上调基因涉及内容则比较宽泛。进一步分析差异表达基因的相互作用,发现上调基因蛋白互作网络与

下调基因网络通过上调基因 VTN 和下调基因 POU5F1 的直接作用而相关联,提示 VTN 和 POU5F1 基因可能为该蛋白互作网络的核心基因。玻连蛋白(Vitronectin, VTN)是一种细胞外基质糖蛋白,属于整合素家族成员之一,其在伤口愈合和凝血过程中起着重要作用,进一步研究发现其参与多种生物学过程包括细胞粘附和迁移^[10-12],也能够通过 JNK 和 ERK 信号通路诱导 INS-1 细胞的增殖^[13]。本研究发现玻连蛋白在 Diff3 组表达量开始升高,在 IPCs 组达到峰值,表明其参与干细胞的诱导分化过程。POU5F1 又称 OCT4,是一种维持干细胞多能性的转录因子^[14,15],其与 NANOG 在胚胎早期发育中起着关键作用,并可作为胚胎干细胞的标志物以及干性维持^[16,17]。本研究发现 hESCs 组 POU5F1 表达量最高,随着诱导进程逐渐下降,在 Diff3 组表达量就已经处于较低水平。

构建 miRNA-mRNA 调控网络,发现 miR-335-5p 能够调控 VTN、NANOG、POU5F1 和 DNMT3B 基因的表达,其中 VTN 为上调基因,NANOG、POU5F1 和 DNMT3B 为下调基因。有学者研究发现在糖尿病模型 GK 大鼠的胰岛内 miR-335-5p 表达量显著增高,其能够直接靶向抑制 Stxbp1 mRNA 的表达,进一步研究发现 miR-335-5p 在 INS-1 832/13 细胞内的过表达能够抑制葡萄糖刺激的胰岛素分泌^[18]。Tang XW 等^[19]发现在妊娠期糖尿病小鼠中过表达 miR-335-5p 能够抑制 VASH1 的表达进而降低胰岛素释放的水平,并通过激活 TGF- β 信号通路诱发

胰岛素抵抗。最近, Li G 等^[20]研究发现 miR-335-5p 能够下调 SLC2A4 基因表达进而抑制胰腺细胞的生长, 与二型糖尿病的进展密切相关。但是, miR-335-5p 是否参与干细胞诱导分化为 IPCs 未见报道。

通过将预测的 miRNA 与文献 PMID:20 735 361 数据取交集, 得到 18 个验证的 miRNA, miR-335-5p 包含其中, 结果显示 miR-335-5p 在内胚层阶段 (T3EB) 其表达量升高 2 倍多, 至胰腺胰岛样细胞团阶段 (T3pi) 升高接近 5 倍, 可见其在整个干细胞及其诱导分化过程中均有表达, 且随着诱导分化进程逐渐升高, 表明 miR-335-5p 不但参与糖尿病的发生进展, 而且参与干细胞诱导分化为 IPCs 的整个过程。

综上所述, 本研究共筛选得到差异表达的基因 188 个, 分别选取诱导后上调和下调的各前 10 个进行分析, 发现上调基因蛋白互作网络通过 VTN 与下调基因网络的 POU5F1 直接作用, 将两个网络相关联。miRNA-mRNA 调控网络发现 miR-335-5p 能够调控 VTN、NANOG、POU5F1 和 DNMT3B 4 个基因的表达, 进一步验证发现 miR-335-5p 表达量随着诱导分化进程逐渐升高, 与 NANOG、POU5F1 和 DNMT3B 表达量逐渐降低形成对照, 提示二者之间存在靶向关系且为负性调控。因此, 该 miRNA-mRNA 调控网络显示 miR-335-5p 靶向多个基因参与 hESCs 向 IPCs 诱导分化过程。

参考文献:

- [1]Refaie AF, Elbassiouny BL, Kloc M, et al. From Mesenchymal Stromal/Stem Cells to Insulin-Producing Cells: Immunological Considerations[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:690623.
- [2]Ma X, Jain NM, Hitscherich P, et al. Stem Cell-Derived Insulin-Producing Cells in 3D Engineered Tissue in a Perfusion Flow Bioreactor[J]. *Tissue Eng Part A*, 2021, 27(17-18):1182-1191.
- [3]Abazari MF, Zare Karizi S, Hajati -Birgani N, et al. PHBV nanofibers promotes insulin-producing cells differentiation of human induced pluripotent stem cells[J]. *Gene*, 2021, 768:145333.
- [4]Camara BOS, Bertassoli BM, Ocarino NM, et al. Differentiation of Mesenchymal Stem Cells from Humans and Animals into Insulin-producing Cells: An Overview In Vitro Induction Forms [J]. *Curr Stem Cell Res Ther*, 2021, 16(6):695-709.
- [5]Lu Y, Li Y, Li G, et al. Identification of potential markers for type 2 diabetes mellitus via bioinformatics analysis [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2020, 22:1868-1882.
- [6]Rahman MH, Peng S, Hu X, et al. A Network-Based Bioinformatics Approach to Identify Molecular Biomarkers for Type 2 Diabetes that Are Linked to the Progression of Neurological Diseases[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17:1035.
- [7]袁长深, 容伟明, 卢智贤, 等. 基于生物信息学构建骨肉瘤 miRNA-mRNA 的调控网络 [J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(17):2740-2746.
- [8]梁学振, 谢国鑫, 李嘉程, 等. 基于 miRNA-mRNA 调控网络股骨头坏死的关键基因筛选与分析 [J]. *中国组织工程研究*, 2022, 26(11):1800-1807.
- [9]Chen BZ, Yu SL, Singh S, et al. Identification of microRNAs expressed highly in pancreatic islet-like cell clusters differentiated from human embryonic stem cells [J]. *Cell Biol Int*, 2011, 35(1):29-37.
- [10]Bera A, Subramanian M, Karaian J, et al. Functional role of vitronectin in breast cancer [J]. *PLoS One*, 2020, 15(11):e0242141.
- [11]Burgos-Panadero R, Noguera I, Cañete A, et al. Vitronectin as a molecular player of the tumor microenvironment in neuroblastoma [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1):479.
- [12]Zeng Y, Yu J, Liu M, et al. Analyzing the Effect of Vitronectin on Cell Growth and Mesenchymal - Epithelial Transition of Pulmonary Fibroblast Cells [J]. *Lung*, 2021, 199(4):389-394.
- [13]Karatug Kacar A, Bolkent S. Vitronectin, fibronectin and epidermal growth factor induce proliferation via the JNK and ERK pathways in insulinoma INS-1 cells [J]. *Cytotechnology*, 2019, 71(1):209-217.
- [14]Choi SH, Kim JK, Jeon HY, et al. OCT4B Isoform Promotes Anchorage-Independent Growth of Glioblastoma Cells [J]. *Mol Cells*, 2019, 42(2):135-142.
- [15]Fogarty NME, McCarthy A, Snijders KE, et al. Genome editing reveals a role for OCT4 in human embryogenesis [J]. *Nature*, 2017, 550(7674):67-73.
- [16]Verdelli C, Morotti A, Tavanti GS, et al. The Core Stem Genes SOX2, POU5F1/OCT4, and NANOG Are Expressed in Human Parathyroid Tumors and Modulated by MEN1, YAP1, and β -catenin Pathways Activation [J]. *Biomedicine*, 2021, 9:637.
- [17]Parshina EA, Eroshkin FM, Orlov EE, et al. Cytoskeletal Protein Zyxin Inhibits the Activity of Genes Responsible for Embryonic Stem Cell Status [J]. *Cell Rep*, 2020, 33(7):108396.
- [18]Salunkhe VA, Ofori JK, Gandasi NR, et al. MiR-335 overexpression impairs insulin secretion through defective priming of insulin vesicles [J]. *Physiol Rep*, 2017, 5(21):e13493.
- [19]Tang XW, Qin QX. miR-335-5p induces insulin resistance and pancreatic islet β -cell secretion in gestational diabetes mellitus mice through VASH1-mediated TGF- β signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5):6654-6666.
- [20]Li G, Zhang L. miR-335-5p aggravates type 2 diabetes by inhibiting SLC2A4 expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 558:71-78.

收稿日期: 2022-07-09; 修回日期: 2022-07-19

编辑/肖婷婷