

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.016

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.016>

糖尿病前期和 2 型糖尿病患者血清中 miR-29b 的表达水平及临床意义

李进, 王俊宏, 刘艳晓, 张志宇

(平顶山市第一人民医院内分泌代谢科, 河南 平顶山 467000)

[摘要] 目的: 研究血清中 miR-29b 的表达与糖尿病前期和 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM) 的相关性以及作为辅助诊断的生物标志物潜能。方法: 采用生化分析仪检测相关临床生化指标; qRT-PCR 检测对照组, 糖尿病前期组和 T2DM 组血清中 miR-29b 的表达水平; 分析糖尿病前期组和 T2DM 组血清中 miR-29b 与纤维蛋白原(fibrinogen, FG), HbA1c 和口服葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT) 的相关性; logistic 回归分析血清中 miR-29b 与糖尿病前期和 T2DM 的相关性; ROC 曲线分析评估血清中 miR-29b 诊断糖尿病前期和 T2DM 的价值。结果: miR-29b 在 T2DM 组和糖尿病前期组血清中的表达水平明显高于对照组($P < 0.05$), 相比糖尿病前期组, miR-29b 在 T2DM 组血清中表达水平明显升高($P < 0.05$); 糖尿病前期组和 T2DM 组血清中 miR-29b 与 FG, HbA1c 和 OGTT 均呈正相关; 血清中 miR-29b 是糖尿病前期和 T2DM 的独立危险因素; 血清中 miR-29b 诊断糖尿病前期和 T2DM 的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为(AUC=0.681; 95%CI 0.587~0.776)和(AUC=0.757, 95%CI 0.673~0.841)。结论: 血清中 miR-29b 的表达水平是潜在的诊断糖尿病前期及 T2DM 的生物标志物。

[关键词] 糖尿病前期; 2 型糖尿病; 血清; miR-29b

Expression level and clinical significance of miR-29b in serum of pre-diabetes and T2DM patients

LI Jin, WANG Junhong, LIU Yanxiao, ZHANG Zhiyu

(Department of Endocrine and Metabolism, First People's Hospital of Pingdingshan, Pingdingshan Henan 467000, China)

Abstract **Objective:** To investigate the correlation between the expression of miR-29b in serum with the prediabetes and type 2 diabetes mellitus (T2DM), and its potential as a biomarker for auxiliary diagnosis. **Methods:** Relevant clinical biochemical indexes were detected by biochemical analyzer. The expression level of miR-29b in the serum of 3 groups was detected by qRT-PCR. The correlation of miR-29b and fibrinogen (FG) were analyzed in prediabetes and T2DM groups, as the same as HbA1c and oral glucose tolerance test (OGTT); Logistic regression was used to the correlation of serum miR-29b and pre-diabetes and T2DM; ROC curve analysis was used to assess value of serum miR-29b as the diagnosis of pre-diabetes and T2DM. **Results:** The expression of miR-29b in serum

收稿日期 (Date of reception): 2018-07-09

通信作者 (Corresponding author): 李进, Email: lijin00505@163.com

of T2DM group and pre-diabetic group was significantly higher than that of control group ($P<0.05$). Compared with pre-diabetic group, the expression of miR-29b was significantly increased in T2DM group ($P<0.05$). There was a positive correlation between miR-29b, FG, HbA1c and OGTT in the prediabetes and T2DM groups; serum miR-29b was an independent risk factor for prediabetes and T2DM. The area under the curve (AUC) of serum miR-29b as diagnose of prediabetes and T2DM were (AUC=0.681; 95% CI 0.587–0.776) and (AUC=0.757; 95% CI 0.673–0.841), respectively. **Conclusion:** The expression level of miR-29b in serum is a potential biomarker for the diagnosis of prediabetes and T2DM.

Keywords pre-diabetes; type 2 diabetes mellitus; serum; miR-29b

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种常见内分泌疾病, 主要临床表现为高血糖^[1]。糖尿病的发病机制主要是由于年龄增长、肥胖、不良生活方式、遗传及免疫功能紊乱等多种致病因素引发胰岛功能减退, 胰岛素分泌不足, 胰岛素抵抗等^[2-4]。目前糖尿病的治疗方法仍不完全有效, 进一步研究其分子机制, 寻找新的防治靶点具有重要意义。当前大量研究^[5-6]表明: miRNA参与多种复杂的生理活动, 调控肿瘤、心血管疾病等多种疾病的发生及发展过程。研究^[7]发现: 在胰岛素靶器官如肝、脂肪组织和肌肉中, miR-195, miR-103, miR-222, miR-27a, miR-10b均与葡萄糖代谢有关。miR-192可能与糖尿病的发生存在联系^[8], 其在1型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)和2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)小鼠模型的肾小球中呈高表达状态。这表明miRNA与T2DM的进展过程有关, 具有成为T2DM诊断及预防的新靶点的潜力。本研究旨在检测糖尿病前期患者和T2DM患者血清中miR-29b的表达情况, 分析其与糖尿病前期和T2DM的相关性及诊断效能, 研究miR-29b作为诊断糖尿病的生物标志物的价值。

1 对象与方法

1.1 对象

收集2017年6月至2017年12月在平顶山市第一人民医院就诊的T2DM患者60例, 男28例, 女32例, 年龄(52.0±9.3)岁。糖尿病前期患者60例, 男26例, 女34例, 年龄(49±8.1)岁。健康受试者60例, 男29例, 女31例, 年龄(50.0±9.7)岁。T2DM组入选标准^[9]: 空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L和/或口服葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test, OGTT) 2 h血糖 ≥ 11.1 mmol/L。糖尿病前期组入选标准: 1)空腹血糖受损(impaired fasting

glucose, IFG), 空腹血糖6.1~6.9 mmol/L, OGTT 2 h血糖 < 7.8 mmol/L。2)糖耐量受损(impaired glucose tolerance, IGT), 空腹血糖 < 6.1 mmol/L, OGTT 2 h血糖7.8~11.1 mmol/L。3)IFG合并IGT, 空腹血糖6.1~6.9 mmol/L, OGTT 2 h血糖7.8~11.1 mmol/L。对照组入选标准: 空腹血糖 < 6.1 mmol/L和/或OGTT 2 h血糖 < 7.8 mmol/L。患者排除标准: 有慢性肾功能不全, 严重肝病及其他内分泌疾病者, 1个月内使用降糖药物者。

各组一般临床资料见表1。各组间年龄、性别差异无统计学意义($P>0.05$)。3组间BMI, 纤维蛋白原(fibrinogen, FG), 2 h血糖, HbA1c, TG, LDL-C, TC, HDL-C差异均有统计学意义($P<0.01$)。

1.2 方法

1.2.1 外周血采集

纳入研究的患者及健康受试者于清晨空腹状况下抽取外周静脉血约5 mL; 待血清析出后以1 000 r/min离心10 min, 取上层血清保存至-80 °C冰箱待检测。

1.2.2 临床指标检测

采用生化分析仪及miR-29b检测试剂盒检测相关临床指标, 结果依照临床参考值进行判定。

1.2.3 qRT-PCR 检测

血清总RNA的提取: 按照TRIzol试剂盒说明书中步骤采用TRIzol法提取血清总RNA。根据miR29b的特定序列: 5'-CUUCAGGAAGCUGGUU-UCAUAUGGUGGUUUAGAUUUAAAUAGUGAUU-GUCUAGCACCAUUUGAAAUCAGUGUUCUUGG-GGG-3'合成miR-29b的双链模拟物和RAN单链。

将提取到的总RNA按照反转录试剂盒的说明书进行RNA反转录, 合成cDNA。将反转录体系加入离心管中, 震荡混匀, 放入PCR仪中, 按照反转录反应条件进行设置, 待反应结束后, 将体系置于-20 °C条件下短暂储存备用。

表1 3组临床指标检测结果($n=60$)Table 1 Comparison of results of clinical index test among the 3 groups ($n=60$)

组别	年龄/岁	性别(男/女)	BMI/($\text{kg}\cdot\text{m}^{-2}$)	高血压/[例(%)]	FG/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	2 h OGTT/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
对照组	50.0 ± 9.7	29/31	23.7 ± 1.1	3 (5.0)	5.1 ± 3.7	6.1 ± 1.2
糖尿病前期组	49.0 ± 8.1	26/34	22.4 ± 2.1	19 (31.6)	7.4 ± 5.1	8.7 ± 1.9
T2DM组	52.0 ± 9.3	28/32	22.1 ± 2.1	32 (53.3)	10.9 ± 6.2	13.7 ± 2.6
F/χ^2	2.306	0.313	12.014	33.492	20.145	17.657
P	0.154	0.855	0.001	<0.001	<0.001	<0.001

组别	HbA1c/%	TG/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	LDL-C/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	HDL-C/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	TC/($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
对照组	4.7 ± 0.8	1.27 ± 0.70	2.96 ± 0.45	1.37 ± 0.29	4.71 ± 0.65
糖尿病前期组	6.1 ± 1.0	2.01 ± 1.10	3.24 ± 0.74	1.31 ± 0.32	5.01 ± 0.63
T2DM组	7.2 ± 1.2	2.21 ± 1.15	3.53 ± 0.77	1.07 ± 0.33	5.40 ± 0.87
F/χ^2	16.082	15.647	12.451	15.324	10.017
P	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.001

按照qRT-PCR试剂盒说明书进行进行PCR反应。将反转录体系加入离心管中, 震荡混匀, 放入qRT-PCR仪中, 按照反应条件进行设置, 待反应结束。

1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0软件进行分析, 正态计量数据用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 计数资料采用例数或百分比表示; 两组独立、正态、方差齐资料组间比较采用 t 检验, 多个样本均数间比较采用单因素方差分析。采用卡方检验或Fisher确切概率法比较样本率。Logistic回归分析miR-29b是否为糖尿病前期及T2DM的独立危险因素, ROC分析miR-29b对糖尿病前期和T2DM的诊断效能。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清中miR-29b的表达水平

qRT-PCR检测结果显示: 经单因素方差分析, 各组间血清中miR-29b表达量存在明显统计学差异($F=20.336$, $P=0.001$)。进一步分析结果显示: T2DM组和糖尿病前期组血清中miR-29b的表达水平(0.57 ± 0.32)明显高于对照组(0.79 ± 0.34 ; $P<0.05$), 并且与糖尿病前期组相比, T2DM组血清中miR-29b表达水平(0.97 ± 0.45)明显升高($P<0.05$; 图1)。提示miR-29b与T2DM的发展可能存在相关性。

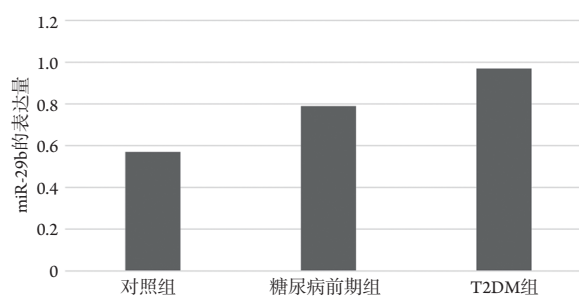


图1 血清中miR-29b表达量

Figure 1 Expression level of serum miR-29b

2.2 miR-29b与FG, HbA1c和OGTT的相关性

分别将T2DM组和糖尿病前期组血清中miR-29b的表达水平与FG, HbA1c和OGTT进行相关性分析, 结果显示, 两组血清中miR-29b的表达水平均与FG, HbA1c和OGTT呈正相关(图2, 图3)。

2.3 Logistic 回归分析

采用logistic回归分析血清中miR-29b的表达水平与糖尿病前期及T2DM的相关性, 单因素分析结果显示: miR-29b均与糖尿病前期和T2DM密切相关。进一步多因素分析校正年龄, 性别, 高血压, BMI, TG, LDL-C, HDL-C和TC等因素后显示: miR-29b是糖尿病前期和T2DM的独立危险因素(表2)。上述结果表明miR-29b可能参与了糖尿病前期及T2DM的发生及发展。

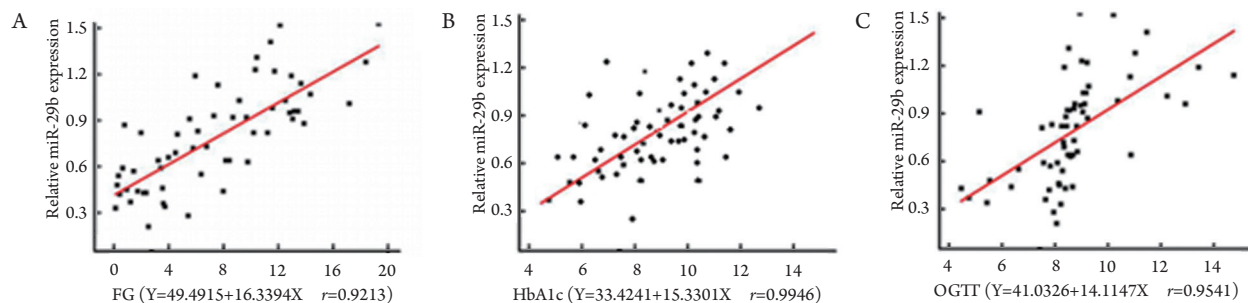


图2 糖尿病前期组血清中miR-29b与FG, HbA1c和OGTT的相关性

Figure 2 Correlation of serum miR-29b with FG, HbA1c and OGTT in the pre-diabetes group

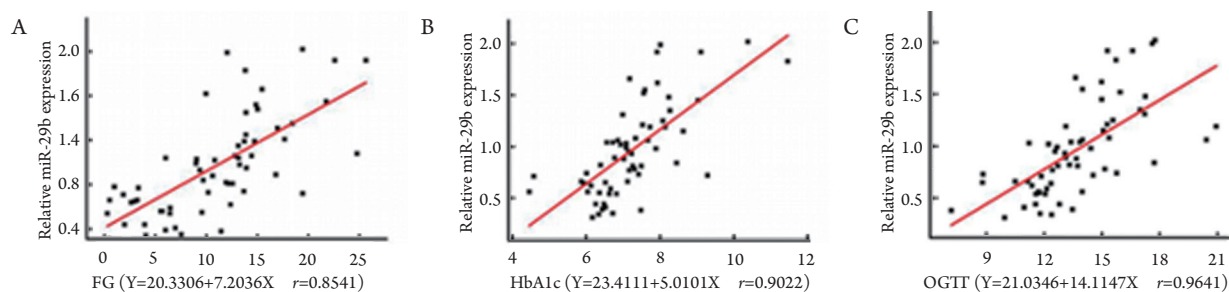


图3 T2DM组血清中miR-29b与FG, HbA1c和OGTT的相关性

Figure 3 Correlation of serum miR-29b with FG, HbA1c and OGTT in the T2DM group

表2 血清中miR-29b Logistic回归分析

Table 2 Logistic regression analysis on serum miR-29b

分析方法	糖尿病前期		2型糖尿病	
	OR(95% CI)	P	OR(95% CI)	P
单因素分析	9.3(2.4~33.6)	<0.01	14.6(3.4~60.5)	<0.01
多因素分析1	13.7(3.2~51.2)	<0.01	11.4(2.6~45.9)	<0.01
多因素分析2	11.9(2.7~47.6)	<0.01	15.1(3.5~65.7)	<0.01
多因素分析3	15.3(3.6~69.4)	<0.01	17.2(4.4~73.1)	<0.01

多因素分析1校正年龄和性别;多因素分析2校正年龄,性别,高血压和BMI;多因素分析3校正年龄,性别,高血压, BMI, TG, LDL-C, HDL-C和TC。

Multivariate analysis 1 adjusted for age and sex; multivariate analysis 2 adjusted for age, sex, hypertension and BMI; multivariate analysis 3 adjusted for age, sex, hypertension, BMI, TG, LDLC, HDLC, and TC.

2.4 ROC 分析

采用ROC分析进一步评估血清中miR-29b作为诊断T2DM的生物标志物潜力, AUC显示miR-29b的表达水平可以有效区分T2DM组和健康对照组(AUC=0.757, 95%CI 0.673~0.841), 当临界阈值为1.367时, 其约登指数最高, 诊断T2DM的灵

敏度为73.3%, 特异度为63.3%(图4)。此外血清中miR-29b表达水平也能够区分糖尿病前期患者和对照组(AUC=0.681, 95%CI 0.587~0.776), 当临界阈值为1.283时, 其约登指数最高, 诊断糖尿病前期的灵敏度为70.0%, 特异度为58.3%(图5)。

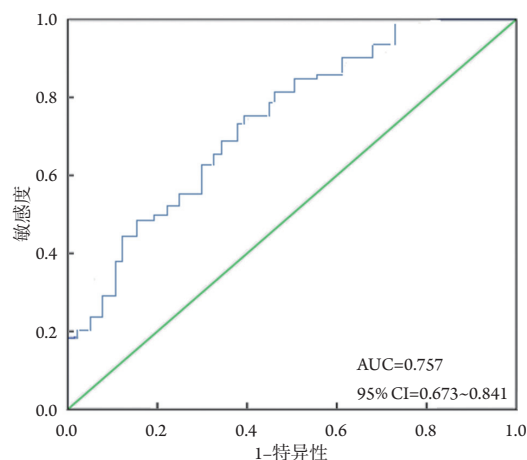


图4 ROC曲线分析血清中miR-29b诊断T2DM效能($P=0.001$)

Figure 4 Effect of serum miR-29b on the diagnosis of T2DM analysed by ROC curve ($P=0.001$)

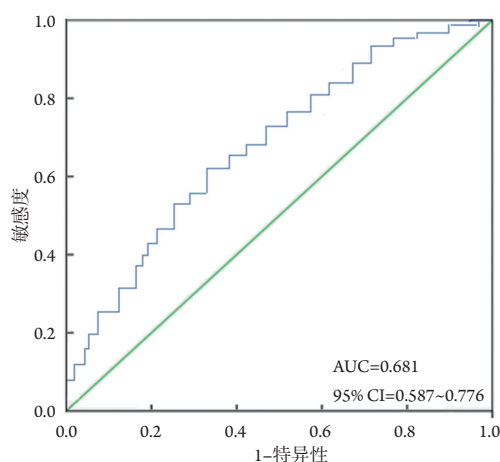


图5 ROC分析血清中miR-29b诊断糖尿病前期效能($P=0.002$)

Figure 5 Effect of serum miR-29b on the diagnosis of pre-diabetes analysed by ROC ($P=0.002$)

3 讨论

糖尿病前期即葡萄糖调节受损, 表现为IGT与IFG, 属于T2DM患者的必经阶段。糖尿病前期患者是发展成T2DM的高风险人群, 而IFG合并IGT患者的风险程度远高于IFG患者或IGT患者。因此及时对糖尿病前期患者加强干预措施, 对控制T2DM的发病率具有重要意义。胰岛 β 细胞分泌的胰岛素对于葡萄糖的摄取、维持血糖稳态具有重要作用, 而T2DM则是由于胰岛素绝对或相对不足所导致的慢性内分泌疾病, 其主要发病因素是葡萄糖诱导的胰岛 β 细胞胰岛素分泌功能缺陷及胰岛素抵抗。

miRNA是长度约为22~28个核苷酸的内源性非编码单链小分子RNA, 通过互补原则与靶基因3'-UTR完全或不完全的互补配对结合, 导致靶miRNA降解或翻译抑制, 从而调控靶基因的表达, 参与调控个体发育以及细胞增殖、凋亡及分化等生命活动^[10]。高糖、高脂等环境因素可导致特异性miRNA表达异常^[11], 这些特异性miRNA与T2DM及糖尿病并发症的发生发展密切相关, 具有作为T2DM的生物标志物的潜力^[12]。Plaisance等^[13]发现足量的miR-9能够抑制Granuphilin的表达水平从而维持胰岛素的正常分泌。Kong等^[14]研究发现: miR-9, miR-29a, miRNA-30d, miR-34a等miRNA在糖尿病患者血浆中的浓度发生了改变。Zampetaki等^[15]根据基因芯片差异性表达结果发现, miR-15a, miR-126, miR-223的表达水平在T2DM早期降低, 而miR-283p表达升高。Poy等^[16]发现, miR-375过表达可抑制胰岛 β 细胞分化并促进其凋亡, 导致胰岛素分泌下降; 而抑制内源性miR-375的表达可促进胰岛素分泌。

miRNA在血清和血浆中的表达持续且稳定, 具有可重复性, 是多种疾病的潜在的非创伤性生物学标志物^[17]。miR-29b属于miR-29家族, 参与调节细胞增殖、分化, 免疫反应, 组织纤维化以及肿瘤的形成和转移等生理过程^[18]。糖尿病患者中高血糖与炎症因子均可促进miR-29b的表达升高。Kurtz等^[19]研究发现miR-29b在脂质代谢中可发挥重要作用, 糖尿病大鼠和小鼠在高脂饮食喂养16周后, 肝中miR-29b的表达明显升高。He等^[20]研究发现: miR-29a, miR-29b和miR-29c的表达水平在糖尿病大鼠的肝、脂肪组织和骨骼肌中均上调。而利用腺病毒介导miR-29a, miR-29b和miR-29c在3T3-L1脂肪细胞中的过表达, 可明显抑制胰岛素诱导的葡萄糖摄取。虽然目前已有研究^[21]显示miR-29b与糖尿病有关, 但miR-29b在血清中的表达情况与糖尿病前期和T2DM的相关性尚鲜有报道。在本研究通过检测血清中miR-29b的表达水平发现: 相比健康受试者, miR-29b在糖尿病前期患者及T2DM患者血清中的表达水平明显升高, 并且T2DM患者血清中miR-29b表达水平明显高于糖尿病前期患者, 这提示血清中miR-29b表达升高可能与血糖状态发生异常并进一步发展至显性T2DM存在相关性。

本研究通过相关性分析发现: 糖尿病前期患者和T2DM患者血清中miR-29b的表达水平均与FG, HbA1c和OGTT呈正相关, 考虑miR-29b的表达可能与FG, HbA1c和OGTT具有协同效应。进一

步logistic回归分析显示:血清中miR-29b的高表达与糖尿病前期及T2DM密切相关,并且在对年龄,性别,高血压, BMI, TG, LDL-C, HDL-C和TC等风险因素及生化指标进行校正后,依然显示miR-29b是糖尿病前期和T2DM的独立危险因素。最后,本研究采用ROC分析,发现血清中miR-29b表达水平可以将糖尿病前期患者和T2DM患者与健康受试者进行有效区分,并且具有较好的检测效能,有作为诊断T2DM的生物标志物潜力。这与其他学者的研究^[22]基本一致。

综上所述,本研究数据表明血清中miR-29b是糖尿病前期及T2DM的独立危险因素,在患者中表达升高,并且其表达水平还具有较好的疾病检测效能。因此,血清中miR-29b的表达水平可能成为潜在的诊断糖尿病前期及T2DM的生物标志物。

参考文献

- Pascale A, Marchesi N, Marelli C, et al. Microbiota and metabolic diseases[J]. *Endocrine*, 2018, 61(3): 357-371.
- Gaillard T, Miller E. Guidelines for stroke survivors with diabetes mellitus[J]. 2018, 49(6): e215-e217.
- Pogach LM, Aron DC. Defining and measuring population health quality of outpatient diabetes care in Israel: lessons from the quality indicators in community health program[J]. *Isr J Health Policy Res*, 2018, 7(1): 22.
- Giorda CB, Carnà P, Salomone M, et al. Ten-year comparative analysis of incidence, prognosis, and associated factors for dialysis and renal transplantation in type 1 and type 2 diabetes versus non-diabetes[J]. *Acta Diabetol*, 2018, 55(7): 733-740.
- Ndwiga DW, MacMillan F, McBride KA, et al. Lifestyle interventions for people with, and at risk of type 2 diabetes in Polynesian communities: A systematic review and Meta-analysis[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2018, 15(5): E882.
- Wan S, Wang J, Wang J, et al. Increased serum miR-7 is a promising biomarker for type 2 diabetes mellitus and its microvascular complications[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2017, 130: 171-179.
- Deshpande S, Abdollahi M, Wang M, et al. Reduced autophagy by a microRNA-mediated signaling cascade in diabetes-induced renal glomerular hypertrophy[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 6954.
- Nunez Lopez YO, Pittas AG, Pratley RE, et al. Circulating levels of miR-7, miR-152 and miR-192 respond to vitamin D supplementation in adults with prediabetes and correlate with improvements in glycemic control[J]. *J Nutr Biochem*, 2017, 49: 117-122.
- 葛均波,徐永健.内科学[M].8版.北京:人民卫生出版社,2013:175. GE Junbo, XU Yongjian. Internal medicine[M]. 8th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2013: 175.
- Donlic A, Hargrove AE. Targeting RNA in mammalian systems with small molecules[J]. *Wiley Interdiscip Rev RNA*, 2018, 9(4): e1477.
- Hemphill W, Rivera O, Talbert M. RNA-sequencing of drosophila melanogaster head tissue on high-sugar and high-fat diets[J]. *G3 (Bethesda)*, 2018, 8(1): 279-290.
- Ding L, Ai D, Wu R, et al. Identification of the differential expression of serum microRNA in type 2 diabetes[J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2016, 80(3): 461-465.
- Plaisance V, Abderrahmani A, Perret-Menoud V, et al. MicroRNA-9 controls the expression of Granuphilin/Slp4 and the secretory response of insulin-producing cells[J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(37): 26932-26942.
- Kong L, Zhu J, Han W, et al. Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: a clinical study[J]. *Acta Diabetol*, 2011, 48(1): 61-69.
- Zampetaki A, Kiechl S, Drozdov I, et al. Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial miR-126 and other microRNAs in type 2 diabetes[J]. *Circ Res*, 2010, 107(6): 810-817.
- Poy MN, Hausser J, Trajkovski M, et al. miR-375 maintains normal pancreatic alpha- and beta-cell mass[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(14): 5813-5818.
- Fujii T, Shimada K, Nakai T, et al. MicroRNAs in smoking-related carcinogenesis: biomarkers, functions, and therapy[J]. *J Clin Med*, 2018, 7(5): E98.
- Chen J, Li Y, Li Y, et al. Effect of miR-29b on the proliferation and apoptosis of pulmonary artery smooth muscle cells by targeting Mcl-1 and CCND2[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018: 6051407.
- Kurtz CL, Fannin EE, Toth CL, et al. Inhibition of miR-29 has a significant lipid-lowering benefit through suppression of lipogenic programs in liver[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 12911.
- He A, Zhu L, Gupta N, et al. Overexpression of micro ribonucleic acid 29, highly up-regulated in diabetic rats, leads to insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes[J]. *Mol Endocrinol*, 2007, 21(11): 2785-2794.
- Zhang X, Gong X, Han S, et al. MiR-29b protects dorsal root ganglia neurons from diabetic rat[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 70(2): 1105-1111.
- Olivieri F, Spazzafumo L, Bonafè M, et al. MiR-21-5p and miR-126a-3p levels in plasma and circulating angiogenic cells: relationship with type 2 diabetes complications[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(34): 35372-35382.

本文引用: 李进, 王俊宏, 刘艳晓, 张志宇. 糖尿病前期和2型糖尿病患者血清中miR-29b的表达水平及临床意义[J]. 临床与病理杂志, 2018, 38(11): 2389-2394. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.016
Cite this article as: LI Jin, WANG Junhong, LIU Yanxiao, ZHANG Zhiyu. Expression level and clinical significance of miR-29b in serum of pre-diabetes and T2DM patients[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(11): 2389-2394. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.11.016