

本文引文格式: 华强, 孔祥, 孟祥健, 等. MicroRNA-139-5p 靶向 Bcl-2 调控棕榈酸诱导的胰岛  $\beta$  细胞凋亡[J]. 右江民族医学院学报, 2021, 43(6): 705-709.

【论著与临床报道】

## MicroRNA-139-5p 靶向 Bcl-2 调控棕榈酸诱导的胰岛 $\beta$ 细胞凋亡

华强<sup>1</sup>, 孔祥<sup>1,2</sup>, 孟祥健<sup>1</sup>, 程锦瀚<sup>1</sup>, 吴涵<sup>1</sup>, 张妍<sup>2</sup>, 姚新明<sup>1</sup>

(1. 皖南医学院第一附属医院, 弋矶山医院内分泌科, 安徽 芜湖 241001;

2. 安徽省教育厅重大疾病非编码 RNA 转化研究重点实验室, 皖南医学院, 安徽 芜湖 241002)

**摘要:**目的 探索 miR-139-5p 在棕榈酸 (palmitate, PA) 诱导胰岛  $\beta$  细胞凋亡中的作用及机制。方法 PA 孵育 Min6 细胞, RT-PCR 检测 miR-139-5p 表达, Western blot 检测 cleaved caspase 3 和 Bcl-2 蛋白表达, 双荧光素酶报告实验验证 miR-139-5p 与 Bcl-2 之间的相互作用, GreenNuc<sup>TM</sup> 检测凋亡细胞。高脂饲料喂养联合 STZ 注射建立 T2DM 小鼠模型, TUNEL 检测胰腺组织 miR-139-5p 表达。结果 过表达 miR-139-5p 增加 cleaved caspase 3 表达和 Min6 细胞凋亡 ( $P < 0.05$ )。在 PA 孵育的 Min6 细胞中 miR-139-5p 表达上调, 而抑制 miR-139-5p 表达降低了 cleaved caspase 3 蛋白水平和 Min6 细胞凋亡 ( $P < 0.05$ )。荧光素酶报告分析表明 miR-139-5p 与 Bcl-2 相互作用, miR-139-5p 过表达降低了 Bcl-2 表达 ( $P < 0.05$ ), 而 PA 诱导的 Bcl-2 表达下调可通过抑制 miR-139-5p 来恢复 ( $P < 0.05$ )。此外, 过表达 Bcl-2 可拮抗 miR-139-5p 诱导的 cleaved caspase 3 蛋白上调 ( $P < 0.05$ ), 并减少凋亡的 Min6 细胞数量。T2DM 小鼠胰腺中 miR-139-5p 表达增加 ( $P < 0.05$ ), 胰岛细胞凋亡增多 ( $P < 0.05$ )。结论 miR-139-5p 抑制 Bcl-2 表达促进 PA 诱导的胰岛  $\beta$  细胞凋亡。

**关键词:** 糖尿病, 2 型; miR-139-5p; 脂毒性

中图分类号: R587.1

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2021)06-0705-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2021.06.001

## MicroRNA-139-5p regulating palmitate-induced apoptosis of pancreatic $\beta$ cells by targeting Bcl-2

Hua Qiang<sup>1</sup>, Kong Xiang<sup>1,2</sup>, Meng Xiangjian<sup>1</sup>, Cheng Jinhan<sup>1</sup>,  
Wu Han<sup>1</sup>, Zhang Yan<sup>2</sup>, Yao Xinming<sup>1</sup>

(1. Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Yijishan Hospital, Wuhu 241001, Anhui, China; 2. Anhui Education Department Key Laboratory of Research on Non-coding RNA Transformation for Major Diseases, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the role and mechanism of miR-139-5p in the apoptosis of pancreatic  $\beta$  cells induced by palmitate (PA). **Methods** Min6 cells were incubated with PA. The expression of miR-139-5p was detected by RT-PCR. The expressions of cleaved caspase 3 and Bcl-2 were detected by Western blot. The dual-luciferase reporter assay was used to verify the interaction between miR-139-5p and Bcl-2. GreenNuc<sup>TM</sup> was adopted to detect the apoptosis of Min6 cells. The T2DM mouse model was established by high-fat

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81600645); 皖南医学院自然科学基金重点项目(WK2019ZF04); 安徽高校自然科学研究重点项目(KJ2020A0594); 安徽省重点研究与开发计划项目(202004j07020050)

**第一作者简介:** 华强(1978-), 男, 本科, 副主任医师, 研究方向: 糖尿病防治, E-mail: 13966031110@163.com

**通讯作者简介:** 姚新明(1981-), 男, 博士, 副教授, 副主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 糖尿病发病机制, E-mail: yxm6965@sina.com

diet combined with STZ injection. TUNEL was employed to detect the expression of miR-139-5p in pancreas tissue. **Results** Over-expression of miR-139-5p increased the expression of cleaved caspase 3 and the apoptosis of Min6 cells ( $P < 0.05$ ). The expression of miR-139-5p was up-regulated in PA-incubated Min6 cells, while the inhibition of miR-139-5p expression reduced the level of cleaved caspase 3 and the apoptosis of Min6 cells. Luciferase reporter assay indicated that miR-139-5p interacted with Bcl-2. Over-expression of miR-139-5p decreased the expression of Bcl-2 ( $P < 0.05$ ), while down-regulated expression of Bcl-2 induced by PA could be recovered by inhibiting miR-139-5p ( $P < 0.05$ ). In addition, over-expression of Bcl-2 antagonized the up-regulation of cleaved caspase 3 protein induced by miR-139-5p ( $P < 0.05$ ) and reduced the number of apoptotic Min6 cells ( $P < 0.05$ ). There was an increase in the expression of miR-139-5p in pancreas of T2DM mice ( $P < 0.05$ ), and the apoptosis of pancreatic cells also increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** miR-139-5p inhibits the expression of Bcl-2 to promote the apoptosis of pancreatic  $\beta$  cells induced by PA.

**Key words:** diabetes mellitus, type 2; miR-139-5p; lipotoxicity

随着经济发展和生活方式改变,2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的患病率不断攀升,已构成严重的公共卫生问题<sup>[1]</sup>。T2DM患者由于存在胰岛素抵抗,对脂肪分解的抑制作用减弱,游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)生成增多。因此,T2DM患者往往存在脂代谢紊乱。升高的 FFA 能够损伤胰岛  $\beta$  细胞分泌功能以及促进  $\beta$  细胞凋亡,是 T2DM 病程进展的关键因素<sup>[2-3]</sup>,但具体机制尚未完全阐明。微小 RNA(microRNAs, miRs)是一类主要的非编码 RNA,主要通过与其相应 mRNAs 3'非编码区结合进而负调控靶基因表达<sup>[4]</sup>。研究表明 miRs 在长期暴露于代谢应激(如葡萄糖、棕榈酸等)的胰岛  $\beta$  细胞表达异常,调控胰岛素分泌及细胞凋亡<sup>[5-6]</sup>。Li J 等<sup>[7]</sup>报道 miR-139-5p 在糖尿病大鼠胰腺组织以及棕榈酸(palmitate, PA)孵育大鼠胰岛  $\beta$  细胞 INS-1 中表达上调,但 miR-139-5p 的具体功能尚需进一步探讨。本研究发现 miR-139-5p 在 PA 孵育的小鼠  $\beta$  细胞株 Min6 中表达升高,并且抑制 B 细胞淋巴瘤-2(protein B cell lymphoma-2, Bcl-2)表达进而调控 Min6 细胞凋亡。

## 1 材料与方法

1.1 实验试剂 DMEM 培养基和胎牛血清购自美国 Gibco 公司;Trizol 试剂盒购自 Thermo Fisher 公司;cDNA 合成试剂盒购自 Takara 公司;cleaved caspase 3 抗体、GreenNuc™ 活细胞 Caspase-3 活性检测试剂盒和 TUNEL 凋亡检测试剂盒购自碧云天公司;Bcl-2 抗体和小鼠胰岛素 ELISA 试剂盒购自 Abcam 公司;链脲佐霉素(Streptozocin, STZ)购自 Sigma 公司;血糖、总胆固醇和甘油三酯试剂盒购自南京建成公司。

1.2 细胞培养及处理 Min6 细胞(小鼠胰岛  $\beta$  细胞株)培养在 DMEM 培养基(Gibco)中,包含 25 mM 葡萄糖、10%胎牛血清、50  $\mu$ M 2-巯基乙醇、100 U/ml 青霉素和 100  $\mu$ g/ml 链霉素。Min6 细胞生长汇合到 70%~80%,进行转染处理。其中 pcDNA Bcl-2、pcD-

NA 空载质粒、miR-139-5p mimic(miR-139-5p)、miR-NA 阴性对照(miR-NC)、miR-139-5p 抑制剂(anti-miR-139-5p)和 miRNA 抑制剂阴性对照(anti-NC)购自广州锐博公司。Min6 细胞转染 48 h 后,予以 0.5 mM 棕榈酸(PA)孵育后进行相关实验。

1.3 小鼠实验 5 周龄雄性 C57BL/6J 小鼠购自中国上海斯莱克实验动物有限责任公司[生产许可证:SCXK(沪)2017-0005]。小鼠适应 7 d 后,随机分配为正常或高脂饮食组(高脂饲料购自美国 Research Diets 公司, D12492)。喂养 4 周后,高脂饮食组小鼠腹腔注射 STZ(60 mg/kg),1 周后测空腹血糖,高于 11.1 mmol/L 的小鼠造模成功。T2DM 模型组(DM)及对照组(Con)小鼠继续高脂或正常饲料喂饲 4 周,每组 6 只小鼠。8 周后小鼠禁食过夜并采集血浆,比色法测定血糖、甘油三酯和总胆固醇浓度,ELISA 试剂盒测定空腹胰岛素水平。

1.4 实时荧光定量 PCR(RT-PCR)检测 TRNzol 提取 Min6 细胞或小鼠胰腺组织 RNA,逆转录后检测 miR-139-5p 表达。引物序列如下,miR-139-5p 为 F: 5'-GCTGTACCTCGAATGAATCC-3'; R: 5'-TGGT-GTCGTGGAGTCG-3'; U6 为 F: 5'-CTCGCTTCG-GCAGCACA-3', R: 5'-AACGCTTCACGAATTT-GCGT-3'。

1.5 Western blot 检测蛋白表达 RIPA 裂解液提取 Min6 细胞及小鼠胰腺组织总蛋白后,BCA 法测蛋白浓度。通过 SDS-PAGE 凝胶电泳后,转移到 NC 膜上。用 5%BSA 封闭 2 h 后在 NC 膜中加入 cleaved caspase 3(1 : 500), Bcl-2(1 : 1000)和 tubulin(1 : 2000)抗体 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。室温下二抗孵育 2 h。ECL 显影并拍照。

1.6 GreenNuc™ 检测细胞 Caspase-3 活性 加入 5  $\mu$ M GreenNuc™ Caspase-3 底物孵育 Min6 细胞 30 min,可观察到凋亡细胞细胞核处的绿色荧光。DAPI

染核后倒置荧光显微镜检测并计算凋亡阳性细胞百分比。

1.7 荧光素酶报告实验 Min6 细胞种板后,将含有 miR-139-5p 结合序列的野生型 Bcl-2-WT 或含有 miR-139-5p 结合位点中的突变序列 Bcl-2-MUT 和 miR-139-5p mimic 及 miR-NC 共转染 48 h 后测量荧光素酶活性。

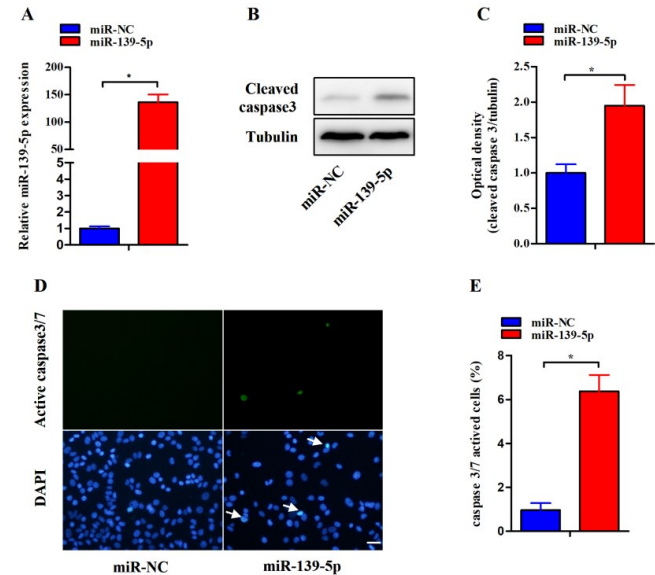
1.8 小鼠胰腺组织 TUNEL 及 Bcl-2 免疫组化染色

取部分小鼠胰腺组织用 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋,5 μm 切片。按 TUNEL 试剂盒说明书加 50 μl 生物素标记液,37 °C 避光孵育 60 min 后显色。切片用 Bcl-2(1 : 300)抗体孵育后孵育 2 抗,DAB 显色。

1.9 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析。计量数据采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组间比较采用 *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用 LSD 法。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

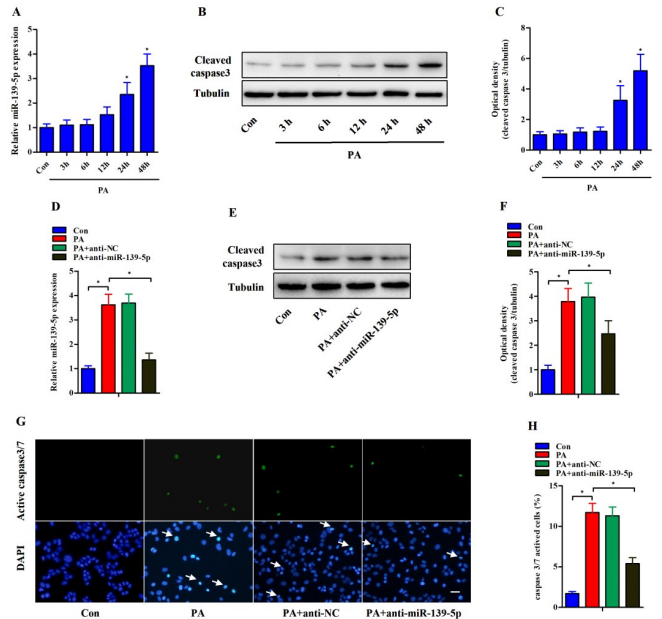
2.1 上调 miR-139-5p 诱导 Min6 细胞凋亡 如图 1 所示,miR-139-5p mimic 转染后可以显著升高 Min6 细胞 miR-139-5p 表达 (*P* < 0.05),且凋亡标志蛋白 cleaved caspase3 表达增高 (*P* < 0.05),凋亡 Min6 细胞数较 miR-NC 组显著增多 (*P* < 0.05)。



A: miR-139-5p mimic 转染后 RT-PCR 检测 miR-139-5p 在 Min6 细胞中的表达。B 和 C: miR-139-5p mimic 转染后,western blot 检测 cleaved caspase3 蛋白表达。D 和 E: miR-139-5p mimic 转染后,GreenNuc™ 检测 Min6 细胞 Caspase-3 活性。绿色荧光为细胞凋亡阳性信号,蓝色荧光为 DAPI 染色细胞核,标尺 = 50 μm。凋亡细胞百分比以直方图显示。结果以 *n* = 3~4 个独立实验的( $\bar{x} \pm s$ )表示,\* *P* < 0.05。

图 1 过表达上调 miR-139-5p 对 Min6 细胞凋亡的影响

2.2 抑制 miR-139-5p 改善脂毒性导致的 Min6 细胞凋亡 同文献报道相似<sup>[6]</sup>,0.5 mM PA 孵育 Min6 细胞 24 h 和 48 h 后,miR-139-5p 的表达均较 Con 组增高 (*P* < 0.05),cleaved caspase3 蛋白表达亦逐渐增高 (*P* < 0.05)。抑制 miR-139-5p 表达可显著降低 PA 孵育 48 h 的 Min6 细胞中 cleaved caspase3 蛋白表达并降低凋亡细胞数 (*P* < 0.05),见图 2。

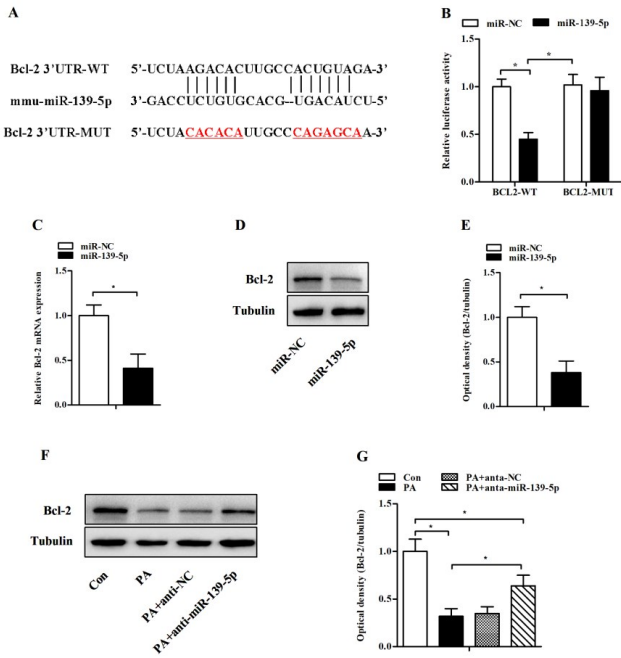


A: RT-PCR 检测 0.5 mM PA 孵育不同时间的 Min6 细胞中 miR-139-5p 的表达。B 和 C: Western blot 检测 0.5 mM PA 孵育不同时间的 Min6 细胞中 cleaved caspase3 蛋白表达。D: anti-miR-139-5p 处理后,RT-PCR 检测 miR-139-5p 表达。E 和 F: anti-miR-139-5p 处理后,Western blot 检测 0.5 mM PA 孵育 48 h 的 Min6 细胞中 cleaved caspase3 蛋白表达。G 和 H: anti-miR-139-5p 处理后,GreenNuc™ 检测 0.5 mM PA 孵育 48 h 的 Min6 细胞 Caspase-3 活性。绿色荧光为细胞凋亡阳性信号,蓝色荧光为 DAPI 染色细胞核,标尺 = 50 μm。凋亡细胞百分比以直方图显示。结果以 *n* = 3~4 个独立实验的( $\bar{x} \pm s$ )表示,\* *P* < 0.05。

图 2 抑制 miR-139-5p 对 PA 导致的 Min6 细胞凋亡的影响

2.3 miR-139-5p 靶向 Bcl-2 为探讨 miR-139-5p 调控 Min6 细胞凋亡的可能机制,本研究利用生物信息学软件 miRDB 筛选出 miR-139-5p 可能的靶基因为抗凋亡基因 Bcl-2,即 miR-139-5p 能竞争性调控 Bcl-2 表达而影响细胞凋亡。共转染 miR-139-5p mimic 和 Bcl-2-WT 导致 Min6 细胞中荧光素酶活性明显降低 (*P* < 0.05),而与共转染 miR-139-5p mimic 和 Bcl-2-MUT 的细胞中荧光素酶活性差异无统计学意义(图 3A 和图 3B, *P* > 0.05)。敲减 miR-139-5p 可升高 Min6 细胞中 Bcl-2 的 mRNA 和蛋白表达(图 3C~图

3E,  $P < 0.05$ )。PA 孵育的 Min6 细胞中 Bcl-2 表达降低,而敲减 miR-139-5p 可部分恢复 Bcl-2 表达(图 3F 和图 3G,  $P < 0.05$ )。上述结果提示 miR-139-5p 竞争性结合 Bcl-2 并调控其表达。

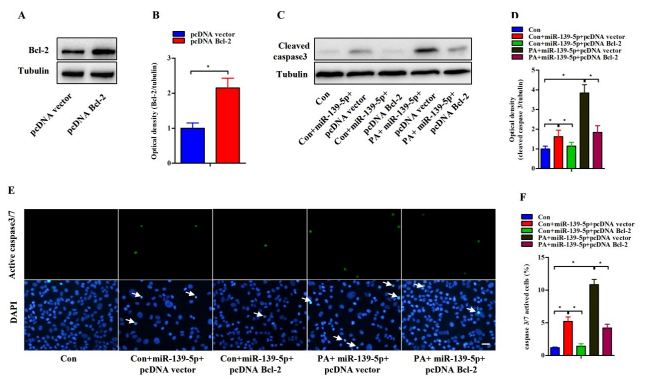


A: miR-139-5p 和 Bcl-2 的预测结合序列。B: Min6 细胞转染 miR-NC, miR-139a-3p mimic, Bcl-2-WT 和 Bcl-2-MUT 48 h 后测定荧光素酶活性。C~E: miR-139-5p mimic 转染后, RT-PCR 和 Western blot 检测 Bcl-2 的 mRNA 和蛋白表达。F 和 G: anti-miR-139-5p 处理后, Western blot 检测 PA 孵育 Min6 中细胞 Bcl-2 蛋白表达。结果以  $n = 3 \sim 4$  个独立实验的 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, \*  $P < 0.05$ 。

图 3 miR-139-5p 靶向 Bcl-2

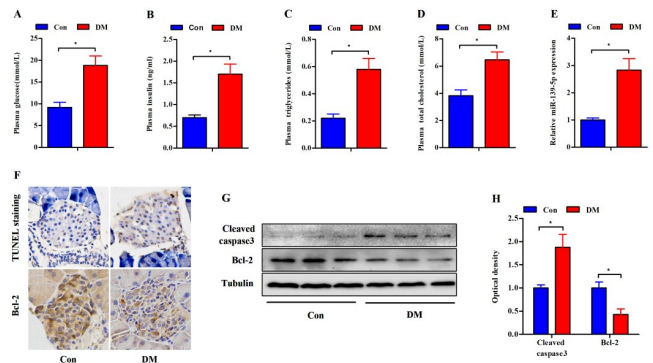
2.4 过表达 Bcl-2 拮抗 miR-139-5p 的促凋亡作用  
为进一步阐明 miR-139-5p 通过调控 Bcl-2 影响胰岛  $\beta$  细胞凋亡,本研究构建 Bcl-2 过表达质粒并验证其效能(图 4A 和图 4B)。在 Con 或 HPA 孵育的 Min6 细胞,过表达 Bcl-2 均能降低 miR-139-5p mimic 诱导的 cleaved caspase3 蛋白表达增高(图 4C 和图 4D,  $P < 0.05$ )及凋亡细胞增多(图 4E 和图 4F,  $P < 0.05$ )。

2.5 miR-139-5p 在 T2DM 小鼠胰腺组织表达上调  
采用高脂饲料喂养联合 STZ 注射建立 T2DM 小鼠模型。如图 5 所示,DM 组小鼠的血糖、胰岛素、甘油三酯和总胆固醇水平显著高于 Con 组小鼠 ( $P < 0.05$ )。与 Con 组相比,DM 小鼠胰腺 miR-139-5p 表达明显上调 ( $P < 0.05$ )。此外,DM 组小鼠胰岛 TUNEL 阳性凋亡细胞数显著增加,这与 cleaved caspase3 蛋白表达增加和 Bcl-2 蛋白表达减少有关 ( $P < 0.05$ )。



A 和 B: pcDNA Bcl-2 转染后, Western blot 检测 Bcl-2 的蛋白表达。C 和 D: miR-139-5p mimic + pcDNA vector 和 miR-139-5p mimic + pcDNA Bcl-2A 分别转染 Min6 细胞, Con 或 HPA 孵育后, Western blot 检测 cleaved caspase3 蛋白表达。E 和 F: miR-139-5p mimic + pcDNA vector 和 miR-139-5p mimic + pcDNA Bcl-2A 分别转染 Min6 细胞, Con 或 HPA 孵育后, GreenNuc™ 检测 0.5 mM PA 孵育 48 h 的 Min6 细胞 Caspase-3 活性。绿色荧光为细胞凋亡阳性信号,蓝色荧光为 DAPI 染色细胞核,标尺 = 50  $\mu\text{m}$ 。凋亡细胞百分比以直方图显示。结果以  $n = 3 \sim 4$  个独立实验的 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, \*  $P < 0.05$ 。

图 4 过表达 Bcl-2 对 miR-139-5p 促凋亡作用的影响



T2DM 小鼠血浆空腹血糖(A)、胰岛素(B)、甘油三酯(C)和总胆固醇(D)水平较 Con 小鼠升高。E: RT-PCR 小鼠胰腺组织中 miR-139-5p 的表达。F: TUNEL 检测胰岛凋亡,免疫组化检测胰岛 Bcl-2 表达。G 和 H: Western blot 检测小鼠胰腺组织 cleaved caspase3 和 Bcl-2 蛋白表达。  $n = 6$ , \*  $P < 0.05$ 。

图 5 T2DM 小鼠胰腺组织 miR-139-5p 的表达

### 3 讨论

持续暴露于 FFA 会促进胰岛  $\beta$  细胞凋亡,减少胰岛素分泌<sup>[8-9]</sup>。成熟的 miR-139-5p 在哺乳动物中高度保守,已被证明可抑制多种癌症的进展<sup>[10-11]</sup>,并抑制 3T3-L1 前脂肪细胞分化<sup>[12]</sup>。在先前研究的基础上<sup>[7]</sup>,我们进一步发现在高脂饲料喂养联合 STZ 注射建立 T2DM 小鼠胰腺组织中 miR-139-5p 表达上调。

在小鼠胰岛  $\beta$  细胞株,即 Min6 细胞中,miR-139-5p 在 PA 孵育后显著升高。在正常培养的 Min6 细胞过表达 miR-139-5p 后,细胞凋亡增加,抑制 miR-139-5p 表达可显著降低 PA 诱导的 Min6 细胞凋亡。上述结果表明 miR-139-5p 上调参与脂毒性导致的胰岛  $\beta$  细胞凋亡。

Bcl-2 是重要的抗凋亡蛋白,但脂毒性导致 Bcl2 表达下调的潜在机制尚不清楚。在本研究中,我们通过报告基因分析阐明了 miR-139-5p 与 Bcl-23' 非编码区的直接相互作用,并证明 miR-139-5p 调控 Bcl-2 表达,即上调 miR-139-5p 可显著抑制 Bcl-2 的表达。抑制 miR-139-5p 可明显恢复 PA 诱导的 Min6 细胞 Bcl-2 表达下调。Bcl2 过表达可拮抗 miR-139-5p 诱导的 cleaved caspase3 上调及细胞凋亡。这些结果提示 PA 诱导的 Min6 细胞凋亡可能与 miR-139-5p 靶向调控 Bcl-2 表达相关。

本研究阐明了 miR-139-5p 在 FFA 诱导胰岛  $\beta$  细胞增殖损伤中的作用,揭示了糖脂毒性导致  $\beta$  细胞受损的新机制,为胰岛  $\beta$  细胞保护开辟新的思路。

#### 参考文献:

- [1] Wild S, Roglic G, Green A, et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030 [J]. *Diabetes care*, 2004, 27(5): 1047-1053.
- [2] Doliba NM, Liu Q, Li CH, et al. Inhibition of cholinergic potentiation of insulin secretion from pancreatic islets by chronic elevation of glucose and fatty acids: Protection by casein kinase 2 inhibitor [J]. *Mol Metab*, 2017, 6(10): 1240-1253.
- [3] Kristinsson H, Bergsten P, Sargsyan E. Free fatty acid receptor 1 (FFAR1/GPR40) signaling affects insulin secretion by enhancing mitochondrial respiration during palmitate exposure [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(12): 3248-3257.
- [4] Nesca V, Guay C, Jacovetti C, et al. Identification of particular groups of microRNAs that positively or negatively impact on beta cell function in obese models of type 2 diabetes [J]. *Diabetologia*, 2013, 56(10): 2203-2212.
- [5] Yaribeygi H, Katsiki N, Behnam B, et al. MicroRNAs and type 2 diabetes mellitus: Molecular mechanisms and the effect of antidiabetic drug treatment [J]. *Metabolism*, 2018, 87: 48-55.
- [6] Vestergaard AL, Bang-Berthelsen CH, Fløyel T, et al. MicroRNAs and histone deacetylase inhibition-mediated protection against inflammatory  $\beta$ -cell damage [J]. *PLoS One*, 2018, 13(9): e203713.
- [7] Li J, Su L, Gong YY, et al. Downregulation of miR-139-5p contributes to the antiapoptotic effect of liraglutide on the diabetic rat pancreas and INS-1 cells by targeting IRS1 [J]. *PLoS One*, 2017, 12(3): e173576.
- [8] Shao SY, Yang Y, Yuan G, et al. Signaling molecules involved in lipid-induced pancreatic beta-cell dysfunction [J]. *DNA Cell Biol*, 2013, 32(2): 41-49.
- [9] Zhou Y, Chung ACK, Fan RR, et al. Sirt3 deficiency increased the vulnerability of pancreatic beta cells to oxidative stress-Induced dysfunction [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2017, 27(13): 962-976.
- [10] Li JL, Li QB, Lin L, et al. Targeting the Notch1 oncogene by miR-139-5p inhibits glioma metastasis and epithelial-mesenchymal transition (EMT) [J]. *BMC Neurol*, 2018, 18(1): 133.
- [11] Chen JN, Yu Y, Chen XL, et al. MiR-139-5p is associated with poor prognosis and regulates glycolysis by repressing PKM2 in gallbladder carcinoma [J]. *Cell Prolif*, 2018, 51(6): e12510.
- [12] Mi L, Chen YS, Zheng XL, et al. MicroRNA-139-5p suppresses 3T3-L1 preadipocyte differentiation through notch and IRS1/PI3K/Akt Insulin signaling pathways [J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116(7): 1195-1204.

收稿日期: 2021-09-10; 修回日期: 2021-10-20