

【 临床评价 】

miR-206 调节的血清 IGF-1 水平与 2 型糖尿病伴发帕金森病的相关性研究

王 敏¹, 聂思佩², 朱玲玲¹, 王敬銓¹, 李宇涵¹, 周宇飞², 张 丽^{1*}

1. 南京医科大学附属脑科医院老年医学科, 南京 江苏 210029

2. 南京医科大学第一临床医学院, 南京 江苏 210029

摘要: **目的** 研究血清胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 水平在 2 型糖尿病 (T2D)、帕金森病 (PD) 及 T2D 伴发 PD (T2D-PD) 患者之间的差异并探讨其转录后调控机制。 **方法** 收集 T2D 患者 21 例、PD 患者 20 例、T2D-PD 患者 17 例以及正常对照 25 例, 应用 ELISA 法检测血清 IGF-1 蛋白含量; 实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 技术检测血清相关 microRNAs 的表达水平; miRanda 分析软件预测 miR-206 可能靶向 IGF-1 mRNA 表达的作用位点。 **结果** T2D-PD 患者血清 IGF-1 水平较 PD 组下降, 但差异不显著, 与正常对照组比较差异不显著, 而较 T2D 组显著升高 ($P < 0.001$); T2D-PD 组血清 miR-206 相对含量显著低于 T2D 组 ($P < 0.01$), 与正常对照组和 PD 组比较无显著性差异; miRanda 软件预测 miR-206 可以靶向性结合 IGF-1 mRNA 的 3'-非编码区 (3'-UTR), mirSVR 评分为 -1.285, PhastCons 评分为 0.6561。 **结论** miR-206 介导的 IGF-1 表达增加可能是糖尿病伴发 PD 重要的病理生理机制, 提示血清 IGF-1 水平可能成为糖尿病伴发 PD 早期临床诊断的关键指标之一。

关键词: 2 型糖尿病; 帕金森病; 糖尿病伴发帕金森病; 胰岛素样生长因子-1; 微小 RNA (microRNAs); 转录后调节

中图分类号: R969 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2017)12-1735-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.12.012

Correlation study between serum IGF-1 levels regulated by miR-206 and diabetes mellitus accompanied with Parkinson's disease

WANG Min¹, NIE Si-pei², ZHU Ling-ling¹, WANG Jing-xian¹, LI Yu-han¹, ZHOU Yu-fei², ZHANG Li¹

1. Department of Geriatrics, Nanjing Brain Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

2. The First Clinical Medical College of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

Abstract: **Objective** To investigate the difference of serum insulin-like growth factor -1 (IGF-1) levels among patients with type 2 diabetes mellitus (T2D), Parkinson's disease (PD) and type 2 diabetes mellitus with Parkinson's disease (T2D-PD), and to explore the potential mechanism. **Methods** Totally 21 patients with T2D, 20 patients with PD, T2D-PD in 17 cases and 25 cases of normal control were collected. Serum IGF-1 contents were detected by ELISA and microRNAs expression was measured by qRT-PCR. Moreover, miRanda software was used to predict possible microRNAs in post-transcriptional regulation of IGF-1 mRNA. **Results** The concentration of IGF-1 in T2D-PD group was significantly higher than that in T2D group ($P < 0.001$), and there was no significant difference compared with that in normal control or PD patients; The relative content of serum miR-206 in T2D-PD was significantly lower than that in group T2D ($P < 0.01$), and there was no significant difference compared with that in normal control or PD patients; miRanda software predicted that miR-206 could target the 3'-UTR of IGF-1 mRNA, mirSVR score was -1.285, and PhastCons evaluation was 0.6561. **Conclusion** miR-206-mediated increase of IGF-1 expression may play an important role in the pathophysiology of diabetes associated with PD, suggesting that serum IGF-1 levels may be one of the key indicators for clinical diagnosis of diabetes mellitus with PD in early stage.

Key words: type 2 diabetes mellitus; Parkinson's disease; and type 2 diabetes mellitus with Parkinson's disease; IGF-1; microRNAs; post-transcriptional regulation

收稿日期: 2017-06-04

基金项目: 南京医科大学科技发展基金面上项目 (2013NJMU088); 南京医科大学教育研究课题 (YB2017032); 大学生创新创业计划项目 (201510312025Z)

作者简介: 王 敏, 女, 主治医师。研究方向为内分泌学、老年医学。Tel: 025-82296545 E-mail: wangminnjmu@163.com

*通信作者 张 丽, 女, 主任医师。研究方向为神经病学。Tel: 025-82296381 E-mail: neuro_zhangli@163.com

随着我国人口老龄化的逐步到来、人民生活水平不断提高,2型糖尿病(T2D)的患病人数逐年增加,发病年龄趋于年轻化,造成严重的家庭社会负担。随之而来的各种糖尿病并发症也大大增加,这些并发症已成为糖尿病病人致死和早亡的主要原因^[1]。长期血糖未得到良好控制可引起神经病变和微血管病变,诱发血管性帕金森病(PD);糖尿病急性并发症,如酮症酸中毒、高渗昏迷等神经系统损害也可引起帕金森综合征。2011年美国一项队列研究发现,T2D患者中PD发病风险较非T2D患者高约40%^[2]。同年丹麦一项病例对照研究也显示,T2D患者PD的发病风险较非T2D患者高约36%^[3]。Meta分析结果也表明,前瞻性研究中先于PD出现的糖尿病是PD的危险因素^[4]。因此,现有研究结果倾向T2D与PD发病风险相关。尽管二者共同发病机制尚未明确,但有研究提示,胰岛素和胰岛素样生长因子-1(IGF-1)可能在二者共同的病理生理进程中发挥重要作用。

IGF-1作用于相应受体,激活下游信号通路,具有抗细胞死亡、非选择性神经营养作用,能促进外周神经再生,对各种中枢神经细胞均有营养保护作用^[5]。近年来又有充分证据表明,IGF-1在阿尔茨海默症(Alzheimer's disease, AD)、T2D伴发AD等神经变性疾病诊断和治疗方面具有巨大潜能^[6]。然而,有关IGF-1与帕金森发病的关系还不明确,尤其是IGF-1变化与T2D伴发PD的关联尚未见报道。因此,我们测定了T2D、PD以及T2D伴发PD(T2D-PD)患者血清的IGF-1水平,研究IGF-1与T2D-PD的相关性及可能机制,并探讨其临床意义。

1 材料与方法

1.1 一般资料

本研究流程获南京医科大学附属脑科医院伦理委员会批准,病例来自南京脑科医院门诊体检及就诊、未经药物正规治疗的患者,所有患者(或其家属)均已签署知情同意书。

T2D组21例,男11例,女10例;平均年龄(62.8 ± 6.9)岁;患病时间1~10年,平均(4.7 ± 2.5)年。PD组20例,男13例,女7例;年龄(63.1 ± 7.8)岁;患病时间1~10年,平均(5.3 ± 2.6)年;统一帕金森病评定量表(UPDRS)评分:重度2例,中度11例,轻度7例;临床诊断分型:震颤型8例,僵直型6例,震颤+僵直型6例。T2D-PD组

17例,男10例,女7例;年龄(62.3 ± 7.4)岁;患病时间1~8年,平均(4.1 ± 2.7)年;UPDRS评分重度1例、中度9例、轻度7例;临床诊断分型:震颤型8例、僵直型5例、震颤+僵直型4例。正常对照组系健康查体者,共25例,男14例,女11例;年龄(64.2 ± 8.0)岁。

符合以下三条之一者即可诊断为2型糖尿病,但必须在随后的另一天里重复任何一条以确诊:1)有糖尿病症状(如多尿、多食、不明原因的消瘦)且随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L;2)空腹血糖 ≥ 7 mmol/L;3)75 g糖耐量试验(OGTT)2 h血糖 ≥ 11.1 mmol/L。

原发性PD的诊断标准:1)无明显诱因及病因而的病史;2)具有震颤、肌强直、少动和姿势平衡障碍中的2项;3)应用多巴胺制剂治疗有效。符合上述3项者即可确诊,同时要要进行脑CT或MRI检查,以排除其他原因引起的帕金森综合征。

2型糖尿病伴发PD的诊断标准:1)达到上述2型糖尿病的诊断标准;2)在诊断为T2D的基础上兼有震颤、肌强直、少动和姿势平衡障碍中的2项;3)脑CT或MRI检查符合PD影像学特征,排除其他原因引起的帕金森综合征。

1.2 IGF-1酶联免疫吸附试验(ELISA)检测

血清样本中IGF-1的表达水平使用双抗体夹心法ELISA检测(人源性IGF-1检测试剂盒,购自abcam公司,批号ab100545)。门诊体检或就诊时抽取患者清晨空腹血样,新鲜收集的血液样本室温静置4 h后,于4℃、3 000×g离心10 min,上清即可用于检测分析。将100 μL血清样品与标准品分别加入已包被抗体的96孔板中,加入生物素化抗体后置于37℃摇床孵育1 h后,洗板5次。加入酶结合物工作液,37℃避光孵育30 min,洗板5次。加入显色底物,37℃避光孵育15 min。加入终止液终止反应。10 min内用全波长酶标仪(Thermo)于450 nm波长处测量吸光度(A)值,根据标准曲线换算检测样品浓度。

1.3 血清RNA提取

取100 μL血清加入300 μL DEPC水中,混匀后加入200 μL酸性酚(pH 4.7~5.5),剧烈震荡,加入200 μL氯仿,震荡,12 000×g室温离心10 min。小心吸取上清300~400 μL,加入800 μL异丙醇中,再加入pH 5.2的醋酸钠溶液40 μL,充分混匀后室温静置10 min,4℃、16 000×g离心20 min。弃

上清,加入 1 mL DEPC 水配制的 75%乙醇,颠倒数次,4 ℃、16 000×*g* 离心 5 min。弃上清,干燥后加入 20 μL DEPC 水中,−80 ℃保存。

1.4 定量 Real-time PCR

逆转录反应应用 Takara Prime Script 试剂盒(大连宝生物工程有限公司) SYBR Green Assay, 反应体系为: 5×Prime Script Buffer 2 μL, Prime Script RT Enzyme 0.5 μL, Random 6mers 0.5 μL, Total RNA 定量至 500 ng, RNase Free ddH₂O, 终体系为 10 μL。反转录反应条件如下: 42 ℃ 15 min(反转录反应)、85 ℃ 5 s(反转录酶的失活反应)。其中逆转录引

物序列如表 1 所示。

Realtime-PCR 应用 7300 Realtime-PCR 系统(Applied Biosystems, Warrington, UK)。cDNA 样品采用三步法 PCR 扩增标准程序。反应体系为: cDNA 模板 4 μL, 上游引物 1 μL, 下游引物 1 μL, ddH₂O 4 μL, ROX 10 μL, 终反应体系为 20 μL。PCR 反应条件如下: 95 ℃ 10 min, 40 个循环: 60 ℃ 60s, 95 ℃ 15s, 溶解曲线 60~90 ℃保证扩增为单一产物。以 C_t 值进行结果分析, 采用相对量法与内参(U6)比较。计算公式为: $2^{-\Delta C_t}$, $\Delta C_t = C_{t \text{ 基因}} - C_{t \text{ 内参}}$ 。引物序列如表 2 所示。

表 1 miRs 逆转录引物序列表
Table 1 miRs reverse transcription primer sequence list

引物	序列
miRNA-16	5'-CCTTTGAGGTTGGTACGGCGCAATAT-3'
miRNA-124	5'-GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGATACGACCGGCATT-3'
miRNA-7	5'-AGCATTCGTCTCGACACAGCAACAAAATC-3'
miRNA-155	5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGACCCCTATC-3'
miRNA-206	5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGCCACACAC-3'
U6	5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'

表 2 miRs realtime-PCR 引物序列表
Table 2 miRs realtime-PCR primer sequence list

引物	引物序列
U6	正向 5'-TAAAATCTATATACACGACGGCTTCG-3'
	反向 5'-TACTGTGCGTTTAAGCACTTCGC-3'
miRNA-16	正向 5'-GTGCAGTAGCAGCACGTAAAT-3'
	反向 5'-ACCTTTGAGGTTGGTACTACGG-3'
miRNA-124	正向 5'-GGAGGTAAGGCACGCGGTG-3'
	反向 5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGT-3'
miRNA-155	正向 5'-ACACTCCAGCTGGGTAAATGCTAATCGTGAT-3'
	反向 5'-TGGTGTCTGTGGAGTCG-3'
miRNA-206	正向 5'-AGCTCGATTAAGGTGGAATGTAAGGAAGT-3'
	反向 5'-CTCAACTGGTGTCTGTGGAGTCGG-3'
miRNA-7	正向 5'-TGA CTCTGCTGGAAGACTAGTGAT-3'
	反向 5'-TAGAGCATTCTGTCTCGACACAG-3'

1.5 microRNA 靶基因预测

应用国际公认的 miRanda 分析软件预测可能靶向转录后调节 Igf-1 mRNA 表达的 microRNA^[7]。

1.6 数据处理与分析

采用 SPSS 17.0 统计分析软件, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 Two-way ANOVA 或 One-way ANOVA 结

合 Turkey 多重比较分析组间差异。

2 结果

2.1 一般资料分析

糖尿病、PD、糖尿病伴发 PD 患者与正常对照组一般情况、血糖、UPDRS 评分的统计比较见表 3。各组别一般资料比较差异无统计学意义。

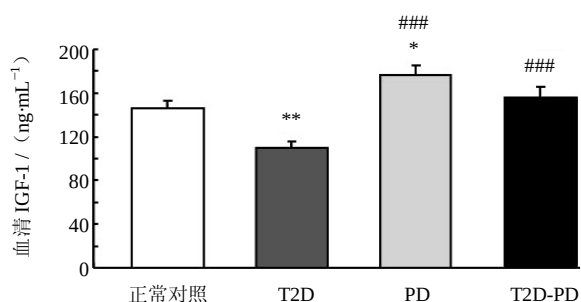
表3 患者一般资料比较

Table 3 General information of patients

组别	n/例	年龄/岁	病程/年	空腹血糖/(mmol·L ⁻¹)	餐后2h血糖/(mmol·L ⁻¹)	UPDRS 评分/分
正常对照	25	64.2±8.0	—	4.5±0.8	5.8±0.7	12±6
T2D	21	62.8±6.9	4.7±2.5	6.8±1.2	8.9±1.8	15±8
PD	20	63.1±7.8	5.3±2.6	4.7±0.6	5.9±0.9	90±19
T2D-PD	17	62.3±7.4	4.1±2.7	7.0±1.5	9.1±2.1	93±17

2.2 血清 IGF-1 水平比较

正常对照组血清 IGF-1 浓度为 (146.1±7.0) ng/mL, T2D 组 IGF-1 浓度为 (109.9±5.6) ng/mL, 较正常对照组显著降低 ($P<0.01$); PD 组 IGF-1 浓度为 (176.7±8.7) ng/mL, 较正常对照组显著升高 ($P<0.05$); T2D-PD 组 IGF-1 浓度为 (156.2±9.5) ng/mL, 较 T2D 组显著升高 ($P<0.001$); 较 PD 组下降, 但差异不显著; 与正常对照组比较差异不显著; 结果见图 1。



与正常对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与 T2D 组比较: ### $P<0.001$
* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs normal control group; ### $P<0.001$ vs T2D group

图1 各组血清 IGF-1 表达水平

Fig. 1 Serum IGF-1 protein levels in different groups

2.3 血清 microRNAs 表达水平比较

T2D、PD、T2D-PD 组患者与正常对照组血清 microRNAs 筛查结果见表 4。

T2D 组血清 miR-206 表达水平是正常对照组的 1.7 倍, 显著升高 ($P<0.01$); PD 组血清 miR-206 表达水平约为正常对照组的 80%, 显著降低 ($P<0.05$); T2D-PD 组血清 miR-206 含量显著低于 T2D 组 ($P<0.01$), 与正常对照组和 PD 组比较显著不差异。

T2D 组血清 miR-7 表达水平是正常对照组的 2.1 倍, 显著升高 ($P<0.01$); PD 组血清 miR-7 相对含量约为正常对照组的 1.1 倍, 无显著性差异; T2D-PD 组血清 miR-7 含量是正常对照组的 2.2 倍, 显著升高 ($P<0.01$); T2D 和 T2D-PD 组血清 miR-7 含量均显著高于 PD 组 ($P<0.05$), 但 T2D 和 T2D-PD 组之间无显著性差异。

2.4 miR-206 靶基因预测分析

应用国际公认的 miRanda 分析软件预测可能靶向转录后调节 IGF-1 mRNA 表达的 microRNAs, miR-206 可以靶向性结合 IGF-1 mRNA 的 3'-非编码区 (3'-UTR), 结合位点见图 2。mirSVR 评分为

表4 血清 microRNAs 相对含量

Table 4 Serum microRNAs relative contents

组别	miR-7/U6	miR-16/U6	miR-124/U6	miR-155/U6	miR-206/U6
正常对照	1.0±0.1	1.0±0.2	1.0±0.1	1.0±0.3	1.0±0.1
T2D	2.1±0.3**	0.8±0.3	0.9±0.3	0.8±0.2	1.7±0.2**
PD	1.1±0.2 [#]	0.9±0.2	0.8±0.2	1.4±0.5	0.8±0.18 ^{###}
T2D-PD	2.2±0.2**	1.0±0.1	0.8±0.3	1.3±0.4	1.0±0.2 ^{###}

与正常对照组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$; 与 T2D 组比较: [#] $P<0.05$ ^{###} $P<0.01$ ^{###} $P<0.001$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs normal control group; [#] $P<0.05$ ^{###} $P<0.01$ ^{###} $P<0.001$ vs T2D group

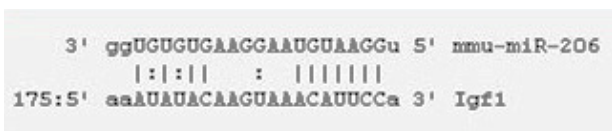


图2 miR-206 在 IGF-1 mRNA 3'-UTR 的靶向性结合位点

Fig. 2 MiR-206 target sites in 3'-UTRs of IGF-1

-1.285, PhastCons 评分为 0.6561, 提示 IGF-1 可能是 miR-206 的靶基因。

3 讨论

IGF-1 是由 70 个氨基酸残基组成的单链多肽, 相对分子质量为 7.65×10^3 , 主要由人肝细胞合成释放, 具有内分泌、自分泌及旁分泌的特性。IGF-1

的结构 50%与胰岛素相似,具有降低血糖、促进物质代谢、促生长发育等胰岛素样调节代谢的效应^[7]。此外,IGF-1 还可以促进细胞增殖和分化、抑制细胞凋亡。IGF-1 受营养状态、激素、遗传等多因素的调节,在心血管疾病、内分泌代谢病、神经退行性疾病及肿瘤等的病理生理过程中发挥重要作用^[8]。

研究发现,T2D 患者血清 IGF-1 水平显著降低,在接受 IGF-1 治疗第二天血中葡萄糖浓度即下降,到第 4~5 天即为正常水平,表明 T2D 与 IGF-1 关系密切^[9]。近年来研究认为,T2D 是 AD 和 PD 等神经变性疾病的重要危险因素,甚至有学者将 AD 归为“3 型糖尿病”^[10]。已有研究表明,AD 患者的血浆 IGF-1 水平降低,其与 AD 患者的认知损害程度呈负相关,提示低 IGF-1 水平与认知功能障碍的发生发展相关^[11]。PD 和 AD 同属于常见的老年神经退行性疾病,均具有特定脑区神经元不可逆性变性、死亡、丢失以及病理性蛋白异常积聚沉积的特征。而且 AD 晚期亦多伴有锥体外系症状,PD 患者也有记忆减退、认知功能障碍等非运动症状^[12]。PD 和 AD 在临床症状、病理机制以及脑内递质水平变化等方面均具有许多相似之处,因此进一步研究 IGF-1 与 T2D-PD 的相关性及可能机制,阐明 IGF-1 在 T2D-PD 早期诊断中扮演的角色,具有重要的科学意义和临床价值。

本研究发现,T2D 患者血清 IGF-1 水平较正常对照组显著降低,与已有报道一致^[13]。PD 患者血清 IGF-1 变化尚存在争议,可能与种族、病程长短以及临床分型等因素有关。本实验发现 PD 患者血清 IGF-1 水平较正常对照组显著升高,可能是机体自身对抗神经细胞凋亡、促进细胞存活、延缓神经退行性病变的内源性保护机制。值得注意的是,T2D-PD 患者血清 IGF-1 水平较 PD 组下降,但差异不显著;与正常对照组比较差异不显著,而较 T2D 组显著升高,说明 IGF-1 变化在糖尿病患者发生 PD 的过程中发挥重要作用,IGF-1 逐渐升高可能是糖尿病伴发 PD 重要的病理生理机制,提示血清 IGF-1 水平可能成为糖尿病伴发 PD 早期临床诊断的关键指标之一。

本研究进而初步探索了 IGF-1 变化的转录后调控机制。MicroRNA (miR) 是一类长度约为 18~22 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子,在动植物中参与转录后基因表达调控^[14]。新近研究发现,其可以显著调节信号蛋白表达,为维持有丝分裂后期的

神经元理想健康环境以及存活提供必需条件,在神经元形成、可塑性以及神经再生等过程中扮演重要角色^[15]。现已知 miR 在糖尿病等代谢性疾病以及糖尿病并发的多种神经病变中发挥至关重要的作用^[16-18]。因此,本研究筛选了 miR-7、16、124、155、206 等可能与代谢性炎症及神经细胞功能相关的 microRNAs,发现血清中 miR-206 和 miR-7 表达在各组发生了显著改变,而其余 microRNAs 未检测到显著变化。

结果显示,T2D 组和 PD 组血清 miR-206 表达分别显著高于和低于正常对照组,T2D-PD 患者 miR-206 水平显著低于 T2D 组。miR-206 表达量与血清 IGF-1 水平在各组的变化趋势吻合,二者呈负相关。而 miR-7 在 T2D 组和 T2D-PD 组均较正常对照组显著升高,且 T2D 组和 T2D-PD 组之间无显著性差异,与各组血清 IGF-1 变化不一致。上述结果提示 miR-206,而非 miR-7 可能在 IGF-1 基因的转录后调节中发挥重要作用。进一步应用国际公认的 miRanda 分析软件预测可能靶向转录后调节 IGF-1 mRNA 表达的 microRNAs,发现 miR-206 可以靶向性结合 IGF-1 mRNA 的 3' -UTR,抑制 IGF-1 基因转录后翻译,负性调控 IGF-1 蛋白表达。目前最新的研究,通过荧光素酶报告基因实验证实 IGF-1 是 miR-206 的靶基因^[19-20],与本研究结果一致,为本文提出的 miR-206 在转录后水平负性调控血清 IGF-1 表达提供了直接的实验依据。

T2D-PD 患者 miR-206 水平显著低于 T2D 组,导致 T2D-PD 患者血清 IGF-1 水平较 T2D 患者显著升高,表明 IGF-1 变化在糖尿病患者发生 PD 的过程中发挥重要作用,IGF-1 逐渐升高可能是糖尿病伴发 PD 重要的病理生理机制,提示血清 IGF-1 水平可能成为糖尿病伴发 PD 早期临床诊断的关键指标之一。

参考文献

- [1] Hackett R A, Steptoe A. Type 2 diabetes mellitus and psychological stress - a modifiable risk factor [J]. Nat Rev Endocrinol, 2017, 13(9): 547-560.
- [2] Xu Q, Park Y, Huang X, et al. Diabetes and risk of Parkinson's disease [J]. Diabetes Care, 2011, 34(4): 910-915.
- [3] Schernhammer E, Hansen J, Rugbjerg K, et al. Diabetes and the risk of developing Parkinson's disease in Denmark [J]. Diabetes Care, 2011, 34(5): 1102-1108.

- [4] Lu L, Fu D L, Li H Q, et al. Diabetes and risk of Parkinson's disease: an updated meta-analysis of case-control studies [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): 85781.
- [5] Takahashi Y. The Role of Growth Hormone and Insulin-Like Growth Factor-I in the Liver [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7): 1447.
- [6] Ribe E M, Lovestone S. Insulin signalling in Alzheimer's disease and diabetes: from epidemiology to molecular links [J]. *J Intern Med*, 2016, 280(5): 430-442.
- [7] John B, Enright A J, Aravin A, et al. Human MicroRNA targets [J]. *PLoS Biol*, 2004, 2(11): e363.
- [8] Kasprzak A, Kwasniewski W, Adamek A, et al. Insulin-like growth factor (IGF) axis in cancerogenesis [J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*, 2017, 772: 78-104.
- [9] Bryan M R, Bowman A B. Manganese and the Insulin-IGF signaling network in Huntington's Disease and other neurodegenerative disorders [J]. *Adv Neurobiol*, 2017, 18: 113-142.
- [10] Sádaba M C, Martín-Estal I, Puche J E, et al. Insulin-like growth factor 1 (IGF-1) therapy: Mitochondrial dysfunction and diseases [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1862(7): 1267-1278.
- [11] Steen E, Terry B M, Rivera E J, et al. Impaired insulin and insulin-like growth factor expression and signaling mechanisms in Alzheimer's disease--is this type 3 diabetes [J]? *J Alzheimers Dis*, 2005, 7(1): 63-80.
- [12] Freude S, Schilbach K, Schubert M. The role of IGF-1 receptor and insulin receptor signaling for the pathogenesis of Alzheimer's disease: from model organisms to human disease [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2009, 6(3): 213-223.
- [13] Jeong S. Molecular and Cellular Basis of Neurodegeneration in Alzheimer's Disease [J]. *Mol Cells*, 2017, 40(9): 613-620.
- [14] Akturk M, Arslan M, Altinova A, et al. Association of serum levels of IGF-I and IGFBP-1 with renal function in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. *Growth Horm IGF Res*, 2007, 17(3): 186-193.
- [15] Yu Y, Jia T, Chen X. The 'how' and 'where' of plant microRNAs [J]. *New Phytol*, 2017, 216(4): 1002-1017.
- [16] Lu J, Xu Y, Quan Z, et al. Dysregulated microRNAs in neural system: Implication in pathogenesis and biomarker development in Parkinson's disease [J]. *Neuroscience*, 2017, 365: 70-82.
- [17] LaPierre M P, Stoffel M. MicroRNAs as stress regulators in pancreatic beta cells and diabetes [J]. *Mol Metab*, 2017, 6(9): 1010-1023.
- [18] Sharma S, Mathew A B, Chugh J. miRNAs: Nanomachines that micromanage the pathophysiology of diabetes mellitus [J]. *Adv Clin Chem*, 2017, 82: 199-264.
- [19] Miao C, Zhang G, Xie Z, et al. MicroRNAs in the pathogenesis of type 2 diabetes: new research progress and future direction [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2017 Sep 12. doi: 10.1139/cjpp-2017-0452.
- [20] Yan B, Zhu C D, Guo J T, et al. miR-206 regulates the growth of the teleost tilapia (*Oreochromis niloticus*) through the modulation of IGF-1 gene expression [J]. *J Exp Biol*, 2013, 216(Pt 7): 1265-1269.
- [21] Liu T J, Wang B, Li Q X, et al. Effects of microRNA-206 and its target gene IGF-1 on sevoflurane-induced activation of hippocampal astrocytes in aged rats through the PI3K/AKT/CREB signaling pathway [J]. *J Cell Physiol*, 2017 Oct 20. doi: 10.1002/jcp.26248.