

神经系统疾病多学科研究专题

微小 RNA-126 和血管内皮生长因子在
增殖性糖尿病视网膜病变患者视网膜前膜中
的表达及意义

李 瑞¹, 李万明¹, 陈小丽²

(1. 北京航天总医院 眼科, 北京, 100076; 2. 首都医科大学附属北京地坛医院 眼科, 北京, 100076)

摘 要: **目的** 探讨微小 RNA-126(miR-126)和血管内皮生长因子(VEGF)在增殖性糖尿病视网膜病变(PDR)患者视网膜前膜组织中的表达及临床意义。**方法** 选取眼科择期行玻璃体切割手术的 PDR 患者 65 例纳入研究组,另选取同期行玻璃体切割手术的特发性黄斑裂孔患者 62 例纳入对照组。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)法检测 2 组患者视网膜前膜组织中 miR-126、VEGF mRNA 表达水平,采用 Western blotting 法检测 VEGF 蛋白表达水平,检测患者空腹血糖(FBG)、甘油三酯(TG)、糖化血红蛋白(HbA1c)水平,采用 Pearson 相关分析法分析 miR-126 与 VEGF mRNA 的相关性及两者与 FGB、HbA1c、TG 的相关性,并对 PDR 发生的影响因素进行 Logistic 多元回归分析。**结果** 研究组患者视网膜前膜组织中 miR-126 表达水平低于对照组,VEGF mRNA 及其蛋白表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);研究组患者 FBG、TG 和 HbA1c 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);miR-126 与 VEGF mRNA 呈显著负相关($P<0.05$);miR-126 与 FGB、HbA1c、TG 呈显著负相关($P<0.05$),而 VEGF mRNA 与 FGB、HbA1c、TG 呈显著正相关($P<0.05$);Logistic 多元回归分析显示,miR-126 与 VEGF mRNA 表达水平均是患者发生 PDR 的独立影响因素。**结论** PDR 患者视网膜前膜组织中 miR-126 表达显著降低,VEGF 表达显著升高,miR-126 可能通过负性调控 VEGF 表达而参与 PDR 的发生发展。

关键词: 增殖性糖尿病视网膜病变; 视网膜前膜; 微小 RNA-126; 血管内皮生长因子; 空腹血糖; 糖化血红蛋白
中图分类号: R 587.2; R 774 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2353(2022)02-001-05 **DOI:** 10.7619/jcmp.20212929

Expressions and significance of microRNA-126
and vascular endothelial growth factor in epiretinal
membrane of patients with proliferative
diabetic retinopathy

LI Rui¹, LI Wanming¹, CHEN Xiaoli²

(1. Department of Ophthalmology, Beijing Aerospace General Hospital, Beijing, 100076; 2. Department of Ophthalmology, Beijing Ditan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing, 100076)

Abstract: **Objective** To investigate expressions of microRNA-126(miR-126) and vascular endothelial growth factor(VEGF) in the epiretinal membrane tissues of patients with proliferative diabetic retinopathy(PDR) and their clinical significance. **Methods** A total of 65 patients with PDR who underwent elective vitrectomy were selected as study group, and 62 patients with idiopathic macular hole who underwent vitrectomy at the same time were selected as control group. Quantitative Real-time Polymerase Chain Reaction(qRT-PCR) was used to detect the expression levels of miR-126 and VEGF mRNA in the epiretinal membrane tissues of the two groups; western blotting assay was used to detect the expression level of VEGF protein; fasting blood glucose(FBG), triglyceride(TG) and glycosylated hemoglobin(HbA1c) levels were detected; Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation between miR-126 and VEGF mRNA and their correlations with FGB, HbA1c and TG were analyzed; Logistic multiple regression analysis was used to analyze the influencing factors for

the occurrence of PDR. **Results** The expression level of miR-126 in the epiretinal membrane of patients in the study group was significantly lower than that in the control group, *VEGF* mRNA and protein expression levels in the study group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The levels of FGB, TG and HbA1c in the study group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). There were negative correlations of miR-126 with *VEGF* mRNA, FGB, HbA1c and TG ($P < 0.05$), and *VEGF* mRNA was positively correlated with FGB, HbA1c and TG ($P < 0.05$). Logistic multiple regression analysis showed that both miR-126 and *VEGF* mRNA were independent influencing factors for PDR in patients. **Conclusion** The expression of miR-126 is decreased in the epiretinal membrane tissues of PDR patients, while the expression of VEGF is significantly increased. Therefore, miR-126 may be involved in the development and progression of PDR through negative regulation of VEGF expression.

Key words: proliferative diabetic retinopathy; epiretinal membrane; microRNA-126; vascular endothelial growth factor; fasting blood glucose; glycosylated hemoglobin

增殖性糖尿病视网膜病变(PDR)是2型糖尿病患者常见的一种微血管病变,主要是由于长期慢性高血糖引发视网膜缺血,诱发新生血管异常生长及继发性纤维组织增殖,进而促使视网膜前膜的异常增殖及纤维化,最终导致血管源性病变^[1]。PDR的发病机制目前尚未完全清楚,且患者发病初期症状不明显,故寻求PDR发生过程中的关键靶标基因具有重要意义。微小RNA(miRNAs)是一类长度为20~25个核苷酸的高度保守的内源性非编码单链小RNA分子,可参与细胞增殖分化、免疫反应等多种生理及病理过程并发挥重要作用^[2-4]。血管内皮生长因子(VEGF)具有诱导血管生成的作用,其高表达与PDR形成有关^[5]。相关研究^[6]表明,微小RNA-126(miR-126)可通过调控靶基因VEGF的表达而发挥调节血管生成的功能,且可促进新生血管的形成。本研究主要探讨miR-126、VEGF在PDR患者视网膜前膜组织中的表达变化并分析其临床意义,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2018年3月—2020年2月于北京航天总医院眼科择期行玻璃体切割手术的PDR患者65例纳入研究组,另选取同期行玻璃体切割手术的特发性黄斑裂孔患者62例纳入对照组。研究组中,男41例,女24例,年龄41~71岁,平均 (56.12 ± 9.33) 岁,糖尿病病程为5~15年,平均 (10.12 ± 1.65) 年。对照组男34例,女28例,年龄42~70岁,平均 (57.03 ± 9.52) 岁。研究组纳入标准:①符合PDR相关诊断标准^[7]者;②反

复出现玻璃体积血者;③检查出眼底出现增生膜或牵拉性视网膜脱离者;④既往无眼部手术史者。对照组纳入标准:符合特发性黄斑裂孔的诊断标准且未合并其他眼部疾病者。排除标准:①患有其他眼部疾病者;②患有血液系统疾病或代谢性疾病者;③合并严重高血压者;④近期接受抗新生血管药物治疗者;⑤合并恶性肿瘤及免疫系统疾病者。2组患者一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 标本采集^[8]:2组患者均接受常规玻璃体切割术治疗。灌注前使用玻璃体切割头抽取玻璃体液0.6 mL置于微量离心管中,手术中留取视网膜前膜组织,并转移至 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用,术中使用0.06%台盼蓝溶液帮助视网膜前膜组织的完整剥除。

1.2.2 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)法检测视网膜前膜组织中miR-126、*VEGF* mRNA表达水平:取出冻存的视网膜前膜组织,加入细胞裂解液进行裂解,按照Trizol试剂盒(北京天根生化科技有限公司)操作步骤提取总RNA。采用miRNAs反转录试剂盒(北京天根生化科技有限公司)说明书将RNA反转录为cDNA。采用聚合酶链反应(PCR)试剂盒(美国Invitrogen公司)进行qRT-PCR反应并检测miR-126、*VEGF* mRNA的相对表达量,反应体系为20 μL (2 $\times$ SYBR Mix 10 μL , 10 $\times$ cDNA模板1 μL , 上下游引物各1 μL , H_2O 8 μL),反应程序设定为94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性1 min, 92 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 75 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 共40个循环,每个样本设置3个平行反应复孔。在

PCR 仪上 (Bio-Red 公司) 进行反应, 其中引物均由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 见表 1。反应结束后对数据进行分析, 其中 miR-126 以

U6 作为内参, 按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法进行基因相对定量表达分析, *VEGF* mRNA 以 β -actin 为内参, 按照 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法计算基因相对表达量。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	正向引物	反向引物
miR-126	5'-GTCTCGTACCGTGACTAAT-3'	5'-GTGCAGGGTCCGAGCT-3'
U6	5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3'	5'-GGAACGCTTCACGAATTG-3'
<i>VEGF</i> mRNA	5'-GAGCCTTGCCCTTGCTGCTGCTCTA-3'	5'-CACCAGGCTCTGGATTGGATG-3'
β -actin	5'-TGCTGTCCTGTATGCCTCT-3'	5'-TGATGTCACGCACGATT-3'

1.2.3 Western blotting 法检测 VEGF 蛋白表达水平: 取 2 组视网膜前膜组织在冰上剪成碎片并用磷酸盐缓冲液 (PBS) 洗涤, 简单离心后弃去 PBS 并加入蛋白裂解液, 采用玻璃匀浆器匀浆至组织破碎, 并在冰上裂解 30 min, 简单离心 5 min 后将上清转移至另一 EP 管中即组织总蛋白产物, 采用二辛可宁酸法检测蛋白纯度并取 20 μ g 蛋白样品于沸水中煮 5 min, 之后进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳并电转移至聚偏二氟乙烯膜。封闭液封闭并加入一抗兔抗鼠 VEGF 多克隆抗体 (1:2 000), 室温下静置 120 min, 清洗后加入二抗室温孵育 60 min, 再次清洗。采用电化学发光法试剂盒发光显影并运用 Quantity One (美国 BIO-RAD 公司) 分析软件对条带灰度值进行分析, 以 β -actin 为内参对显影条带进行 VEGF 蛋白相对表达量的计算。

1.3 观察指标

检测并比较 2 组患者的空腹血糖 (FBG)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、甘油三酯 (TG) 水平。2 组患者检查前 1 d 晚 8 时后禁食且不可剧烈运动, 次日抽取空腹静脉血检测。首先检测 FBG 水平,

之后进行抗凝实验, 采用高压液相法以 Sysmex 全自动生化分析仪 (日本希森美康公司) 及其配套试剂检测 HbA1c 水平, 将采集的血样离心 20 min 取上清, 检测 TG 水平。

1.4 统计学分析

采用统计学软件 SPSS 22.0 分析数据, 符合正态分布的计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 2 组间比较采用独立样本 *t* 检验, 计数资料的组间比较采用检验。采用 Pearson 相关分析法分析 miR-126 与 *VEGF* mRNA 的相关性及两者与 FGB、HbA1c、TG 的相关性, 采用 Logistic 多元回归分析法分析 PDR 发生的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 视网膜前膜组织中 miR-126、VEGF mRNA 及蛋白表达水平比较

研究组患者视网膜前膜组织中 miR-126 表达水平低于对照组, *VEGF* mRNA 及其蛋白表达水平高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2、图 1。

表 2 2 组视网膜前膜组织中 miR-126、VEGF mRNA 和 VEGF 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-126	<i>VEGF</i> mRNA	VEGF 蛋白
对照组	62	0.98 $\pm$ 0.16	1.02 $\pm$ 0.17	0.62 $\pm$ 0.10
研究组	65	0.42 $\pm$ 0.07*	4.35 $\pm$ 0.41*	0.92 $\pm$ 0.11*

miR-126: 微小 RNA-126; VEGF: 血管内皮生长因子。与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

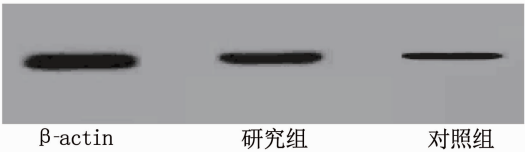


图 1 VEGF 蛋白条带图

2.2 FGB、TG 及 HbA1c 水平比较

研究组患者 FGB、TG、HbA1c 水平均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.3 研究组患者 miR-126 与 VEGF mRNA 的相关性及两者与 FGB、HbA1c、TG 的相关性分析

Pearson 相关分析法结果显示, 研究组患者视网膜前膜组织中 miR-126 表达水平与 *VEGF* mRNA 表达水平呈显著负相关 ($P < 0.05$), 见图 2; miR-126 与 FGB、HbA1c、TG 呈显著负相关 ($P < 0.05$), 而 *VEGF* mRNA 与 FGB、HbA1c、TG 呈显著正相关 ($P < 0.05$), 见表 4。

表 3 2 组 FGB、TG 及 HbA1c 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	FGB/(mmol/L)	HbA1c/%	TG/(mmol/L)
对照组	62	5.02 ± 0.83	6.11 ± 1.02	1.42 ± 0.24
研究组	65	8.34 ± 1.32*	13.19 ± 1.12*	1.72 ± 0.18*

FBG: 空腹血糖; HbA1c: 糖化血红蛋白; TG: 甘油三脂。与对照组比较, **P* < 0.05。

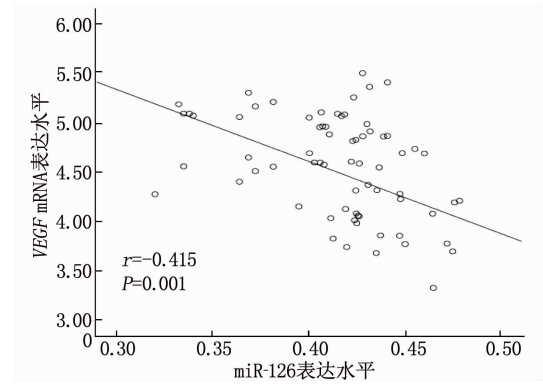


图 2 miR-126 与 VEGF mRNA 表达水平的相关性分析

miR-126、VEGF mRNA 表达水平为 PDR 发生的影响因素; 多因素 Logistic 分析显示, miR-126、VEGF mRNA 表达水平为 PDR 发生的独立影响因素。见表 5、表 6。

表 4 miR-126、VEGF mRNA 与患者临床指标的相关性分析

指标	miR-126		VEGF mRNA	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
FGB	-0.512	<0.01	0.612	<0.01
HbA1c	-0.458	<0.01	0.522	<0.01
TG	-0.352	<0.01	0.473	<0.01

2.4 PDR 的单因素与多因素 Logistic 回归分析

单因素 Logistic 分析显示, FGB、HbA1c、TG、

miR-126; 微小 RNA-126; VEGF: 血管内皮生长因子;
FBG: 空腹血糖; HbA1c: 糖化血红蛋白; TG: 甘油三脂。

表 5 PDR 影响因素的 Logistic 单因素分析

因素	β	<i>SE</i>	<i>Wald</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
年龄	0.357	0.223	2.563	0.087	1.429	1.012 ~ 2.018
性别	0.368	0.215	2.935	0.068	1.445	1.023 ~ 2.042
病程	0.387	0.231	2.812	0.072	1.473	1.027 ~ 2.113
FGB	0.467	0.211	4.899	0.023	1.595	1.127 ~ 2.258
HbA1c	0.547	0.212	6.669	0.012	1.729	1.347 ~ 2.219
TG	0.494	0.201	6.037	0.035	1.639	1.324 ~ 2.028
miR-126	1.123	0.396	8.048	0.001	3.075	2.245 ~ 4.213
VEGF mRNA	1.012	0.412	6.031	0.015	2.750	2.109 ~ 3.587

表 6 PDR 影响因素的 Logistic 多因素分析

因素	β	<i>SE</i>	<i>Wald</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
FGB	0.526	0.314	2.806	0.075	1.692	1.221 ~ 2.345
HbA1c	0.523	0.311	2.829	0.073	1.687	1.213 ~ 2.347
TG	0.573	0.302	3.603	0.065	1.774	1.302 ~ 2.417
miR-126	0.755	0.317	5.667	0.025	2.127	1.679 ~ 2.694
VEGF mRNA	0.786	0.334	5.541	0.027	2.195	1.702 ~ 2.831

3 讨论

PDR 发生机制较为复杂,可能与体内炎症反应、慢性缺血缺氧、自由基生成、蛋白质的非酶糖基化、氧化应激反应等多种病理过程有关^[9]。持续高血糖会引起血管障碍并促使视网膜血管阻塞,造成基底膜增厚而导致视网膜无灌注区缺血缺氧状态,这一病理过程会破坏血管生成抑制因子与刺激因子的平衡并刺激新生血管生成^[10]。研究^[11]表明,糖尿病视网膜病变患者血清 VEGF

水平升高,且 VEGF 水平与病变严重程度有关。miR-126 与肿瘤组织中微血管生成相关,且可通过抑制血管内皮生长因子 A 表达而抑制乳腺癌细胞的增殖及迁移^[12]。miR-126、VEGF 表达与 PDR 发生、发展的关系目前尚未完全明确,本研究检测患者视网膜前膜组织中 miR-126、VEGF 表达水平,旨在分析其与视网膜病变的关系及临床意义。

miR-126 位于表皮生长因子结构域 7 的内含子 6 与 7 区域内,定位于人 9 号染色体,可通过诱

导靶基因表达而调控信号转导通路并在内皮细胞中发挥其生物学功能^[13]。施凤涟等^[14]报道,妊娠期糖尿病患者血清 miR-126 表达水平较血糖正常的妊娠者低,且其低表达与胰岛素抵抗有关。相关研究^[15]发现,缺氧性视网膜病变模型动物的视网膜血管内皮细胞中 miR-126 过表达可抑制新生血管形成,且 miR-126 可维持血管完整性并参与视网膜病变过程。由此推测,miR-126 可能参与 PDR 过程。本研究结果显示,研究组患者视网膜前膜组织中 miR-126 表达水平显著低于对照组,说明 PDR 患者视网膜前膜组织中 miR-126 呈低表达,且参与 PDR 的发生发展过程。相关研究^[16]发现,FBG、HbA1c 等指标与糖尿病视网膜病变的病理过程紧密相关,且与疾病严重程度有关,即病情越严重其水平越高。本研究结果显示,研究组患者 HbA1c、TG 水平显著高于对照组,与相关研究^[17]结论一致。本研究还分析了 PDR 患者 FBG、HbA1c、TG 水平与 miR-126 表达水平的相关性,结果显示 miR-126 分别与 FBG、HbA1c、TG 呈显著负相关,说明 miR-126 不仅参与 PDR 病理过程,还与疾病严重程度紧密相关。

VEGF 位于人染色体 6p21.3,可通过其特异性受体活化磷脂酶 C 并增加钙离子内流而提高磷酸肌醇水平,进而促使内皮细胞增殖,有利于血管生成^[18]。研究^[19]表明,VEGF 在多种恶性肿瘤中发挥重要功能,不仅可产生促血管生长细胞因子,还能诱导肿瘤血管生长或加快病变血管内皮细胞的增殖及迁移。相关研究^[20]发现,血清 VEGF 水平升高参与老年糖尿病视网膜病变的发生,且 VEGF 水平升高可作为评价患者微血管损伤的依据。本研究结果显示,研究组患者视网膜前膜组织中 VEGF mRNA 及其蛋白表达水平均显著高于对照组,说明 VEGF 与 PDR 发展及新生血管形成关系密切。由此推测,VEGF 可通过增加血管的通透性与视网膜局部新生血管的形成而参与糖尿病患者发生 PDR 的过程。本研究相关性分析结果显示,VEGF mRNA 与 FBG、HbA1c、TG 均呈显著正相关,说明 VEGF 除可引起糖尿病患者发生 PDR 外,还与病变严重程度紧密相关。本研究结果还显示,miR-126 与 VEGF mRNA 呈显著负相关,推测 PDR 患者持续高血糖不仅可直接损害视网膜血管,还可引起视网膜组织慢性缺血缺氧导致 miR-126 表达下调并上调 VEGF,进而参与病变过程。本研究多因素 Logistic 回归分析

结果显示,miR-126、VEGF mRNA 表达水平均是糖尿病患者发生 PDR 的影响因素。由此提示,miR-126 低表达可诱导 VEGF 高表达而改变 PDR 患者眼部正常组织结构及功能,并进一步促进病情恶化,miR-126、VEGF 均可参与 PDR 的发生发展。

综上所述,PDR 患者视网膜前膜组织中 miR-126 表达下调,VEGF mRNA 表达上调,两者呈显著负相关且共同参与疾病的发生发展。检测患者 miR-126、VEGF mRNA 和其蛋白表达水平,有助于及时诊治,进而防止病情恶化。本研究存在不足之处,如未检测血清和玻璃体中 miR-126、VEGF 表达水平,也未探讨 miR-126 与 VEGF 在 PDR 发生过程中的具体调控机制,有待未来进一步深入研究加以探讨。

参考文献

- [1] SABANAYAGAM C, BANU R, CHEE M L, *et al.* Incidence and progression of diabetic retinopathy: a systematic review[J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7(2): 140-149.
- [2] 谭建成,刘鑫国,邢金燕. miR-429 在鼻咽癌细胞中的表达及其对细胞增殖、迁移的影响[J]. *现代肿瘤医学*, 2021, 29(9): 1501-1506.
- [3] MARTINEZ B, PELOW P V. microRNAs as biomarkers of diabetic retinopathy and disease progression[J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(11): 1858-1869.
- [4] 常占国,张晓冬,袁博,等. miR-155 和 TGF β R2 在结肠癌中的表达及临床意义[J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 28(12): 2107-2112.
- [5] 闫配,张晓红,张莉,等. HMW-ADP、TNF- α 、VEGF 与糖尿病视网膜病变的关系研究[J]. *中国医药导报*, 2019, 16(9): 106-109.
- [6] 彭程,黄健华,孙建忠,等. miR-126 对急性脊髓损伤大鼠血管的作用及机制研究[J]. *国际骨科学杂志*, 2020, 41(6): 382-388.
- [7] 邵毅,周琼. 糖尿病视网膜病变诊治规范: 2018 年美国眼科学会临床指南解读[J]. *眼科新进展*, 2019, 39(6): 501-506.
- [8] 隋文婕,张晶晶,汤庆丽,等. lncRNA PVT1 及 miR-26b 在增生型糖尿病视网膜病变患眼玻璃体、增生膜中的表达研究[J]. *临床眼科杂志*, 2020, 28(4): 289-293.
- [9] AOUISS A, ANKA IDRIS D, KABINE M, *et al.* Update of inflammatory proliferative retinopathy: ischemia, hypoxia and angiogenesis[J]. *Curr Res Transl Med*, 2019, 67(2): 62-71.
- [10] 董天慧,孙建梅,姚舜,等. 波动性高糖对糖尿病视网膜病变的作用研究进展[J]. *安徽医药*, 2019, 23(8): 1485-1488.

- 针法深刺廉泉对脑卒中后流涎患者的影响[J]. 新中医, 2019, 51(11): 213-215.
- [14] LEE Z I, CHO D H, CHOI W D, *et al.* Effect of botulinum toxin type a on morphology of salivary glands in patients with cerebral palsy[J]. *Ann Rehabil Med*, 2011, 35(5): 636-640.
- [15] 肖卫红, 吴碧玉. 脑卒中后吞咽障碍的康复研究进展[J]. 中国康复理论与实践, 2017, 23(7): 783-787.
- [16] 巩晓梅. 帕金森病病人的口腔护理研究进展[J]. 护理研究, 2019, 33(16): 2821-2823.
- [17] SUNTRUP S, MARIAN T, SCHRÖDER J B, *et al.* Electrical pharyngeal stimulation for dysphagia treatment in tracheotomized stroke patients: a randomized controlled trial[J]. *Intensive Care Med*, 2015, 41(9): 1629-1637.
- [18] 谢朝艳, 丁雪萍, 高吉祥, 等. 帕金森病患者流涎与吞咽困难的关系研究[J]. 中华神经科杂志, 2016, 49(11): 856-863.
- [19] XUE W X, WU Q Y, TANG W D. Therapeutic observation on acupoint injection for post-stroke deglutition disorder[J]. *J Acupunct Tuina Sci*, 2012, 10(3): 162-164.
- [20] 袁军利, 杨成琴, 张娜. 针灸联合康复疗法治疗脑卒中后吞咽困难及流涎症状的疗效观察[J]. 贵州医药, 2020, 44(2): 287-289.
- [21] 高明慧, 冯晓珍, 李利红, 等. 低频脉冲穴位电刺激配合冰刺激治疗脑卒中后吞咽功能障碍临床观察[J]. 浙江中医杂志, 2013, 48(3): 196-197.
- [22] YARNITSKY D, OCHOA J L. Differential effect of compression-ischæmia block on warm sensation and heat-induced pain[J]. *Brain*, 1991, 114(2): 907-913.
- [23] 刘诗丹, 陈启波, 李荣祝, 等. 酸冰刺激法与神经肌肉电刺激疗法联合应用对脑卒中后吞咽障碍的改善效果观察[J]. 山东医药, 2017, 57(47): 63-65.
- [24] 陈欢, 胡玲利. 冷热交替疗法对脑卒中后口腔期吞咽障碍及流涎的效果观察[J]. 中国康复, 2018, 33(5): 480-481.
- [25] 王玲, 徐惠丽, 熊荣荣, 等. 风油精口腔护理在脑卒中后吞咽困难病人中的应用[J]. 护理研究, 2021, 35(10): 1854-1857.
- [26] 曹芳, 杨春林, 李妍怡, 等. 脑卒中后假性球麻痹致吞咽障碍治疗进展[J]. 中医药临床杂志, 2020, 32(9): 1614-1618.
- [27] GATTO A R, COLA P C, SILVA R G, *et al.* Sour taste and cold temperature in the oral phase of swallowing in patients after stroke[J]. *Codas*, 2013, 25(2): 164-168.
- [28] 付爱慧, 周鸿飞. 脑卒中后假性球麻痹吞咽障碍针灸康复进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2021, 23(3): 135-138.
- [29] SACONATO M, LEITE F C, LEDERMAN H M, *et al.* Temporal and sequential analysis of the pharyngeal phase of swallowing in poststroke patients[J]. *Dysphagia*, 2020, 35(4): 598-615.
- [30] 季红娟, 张兰香, 吴红琴, 等. 运用吸舌器对脑卒中患者吞咽功能恢复的疗效观察[J]. 交通医学, 2018, 32(1): 50-51.
- [31] 张月兰, 解家平, 王丽君, 等. 基于饮食偏好的食物改进摄食训练对脑卒中患者吞咽功能的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2021, 43(12): 1084-1086.

(本文编辑: 陆文娟)

(上接第 5 面)

- [11] YANG Y, LIU Y, LI Y P, *et al.* microRNA-15b targets VEGF and inhibits angiogenesis in proliferative diabetic retinopathy[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(11): 3404-3415.
- [12] ALHASAN L. miR-126 modulates angiogenesis in breast cancer by targeting VEGF-A-mRNA[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2019, 20(1): 193-197.
- [13] LI S N, LI P, LIU W H, *et al.* Danhong injection enhances angiogenesis after myocardial infarction by activating miR-126/ERK/VEGF pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 120: 109538.
- [14] 施凤涟, 司焕焕, 黄杰. 妊娠期糖尿病患者血清 miR-126 表达与胰岛素抵抗的关系[J]. 中国糖尿病杂志, 2020, 28(6): 423-427.
- [15] ZHENG Y, LIU Y, WANG L, *et al.* microRNA-126 suppresses the proliferation and migration of endothelial cells in experimental diabetic retinopathy by targeting polo-like kinase 4[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(1): 151-160.
- [16] 毛永, 吴娟, 刘向玲, 等. 外周血单个核细胞血清 γ 干扰素水平与糖尿病视网膜病变的相关性[J]. 广东医学, 2020, 41(1): 72-76.
- [17] 郭永华, 乔瑞娟, 张玲. 血清脂类物质、胱抑素 C、同型半胱氨酸在糖尿病视网膜病变中的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2020, 17(2): 256-258.
- [18] DU E M, LI X, HE S Y, *et al.* The critical role of the interplays of EphrinB2/EphB4 and VEGF in the induction of angiogenesis[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(6): 4681-4690.
- [19] ZHOU W, WU Y, PAN M, *et al.* Proliferation and migration of lung cancer could be inhibited by oxymatrine through the regulation for miR-520/VEGF[J]. *Am J Chin Med*, 2019, 47(4): 865-878.
- [20] 李开元, 艾明. 血清 ICAM-1、VEGF 水平与老年糖尿病视网膜病变患者微血管损伤的相关性研究[J]. 中华保健医学杂志, 2019, 21(1): 39-41.

(本文编辑: 陆文娟)