

**Differential miRNA expression in type 2 diabetes:  
meta-analysis and network analysis**

**Hongmei Zhu**

**Master of Science**

**2013**



**Institute of Chinese Medical Science**

**University of Macau**

**Differential miRNA expression in type 2 diabetes:  
meta-analysis and network analysis**

Hongmei Zhu

A thesis submitted in partial fulfillment of the  
requirement for the degree of

Master of Science

Institute of Chinese Medical Science  
University of Macau

2013

Approved by \_\_\_\_\_

**Supervisor**

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Date \_\_\_\_\_

**meta 分析和网络分析 miRNA 在  
2 型糖尿病中的差异性表达**

朱红梅

理学硕士

2013



澳门大学中华医药研究院



## 原创性声明

本人声明：所呈交的学位论文，是本人在导师的研究计划及指导下，独立进行研究  
所取得的成果。除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含任何其他个人或团体已经  
发表或撰写过的科研成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在致谢及文  
中以明确方式标明。本人完全意识到本声明的法律责任由本人承担。

论文作者签名： 日期：

## 关于学位论文用户许可证的声明

本人完全了解澳门大学有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留或向政府有  
关部门或机构送交论文的复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅；本人授权澳门大学  
可以将本学位论文的全部或部分内 容编入有关数据库进行检索，可以采用影印、缩印或  
其他复制手段保存论文和汇编本学位论文。

（保密论文在解密后应遵守此规定）

论文作者签名： 导师签名： 日期：

## 致谢

硕士研究生的学习即将结束，两年的学习生活使我受益匪浅。经历一年时间的磨砺，硕士毕业论文终于完稿，回首一年来收集、整理、思索、停滞、修改直至最终完成的过程，我得到了许多的关怀和帮助。

首先我要感谢，非常感谢我的导师梁少伟博士。在论文的写作和措辞等方面他总会以“专业标准”严格要求我，从选题、定题开始，一直到最后论文的反复修改，定稿，梁少伟博士始终认真负责地给予我深刻而细致地指导，严格把关，循循善诱，帮助我开拓研究思路，解除疑惑。正是梁少伟博士的无私帮助，倾囊相授与热忱鼓励，我的毕业论文才能够得以顺利完成，在此我要对梁少伟博士表示由衷的感谢，谢谢您。谢谢您，让我学到了最重要的治学精神，做事原则和为人处世。

“不积跬步无以至千里”，这次毕业论文能够最终顺利完成，归功于王一涛教授的远见卓识，卞鹰教授的认真负责，胡豪博士的热忱鼓励，郑力仁博士的精心点拨，胡元佳博士的乐于助人，使我能够很好的掌握专业知识，并在毕业论文中得以体现。也正是你们长期的支持和帮助才使得我的毕业论文最终顺利完成。我向澳门大学中华医药研究院的全体老师们再次表示衷心感谢，感谢你们默默地无私奉献，老师们辛苦了！

同时我也要感谢这两年来与我互勉互励的朱双、张修茜、符永钰、劳耀光同学，还有学妹学弟。在大家的共同努力之下，我们始终拥有一个积极向上的学习氛围，能在这样一个团队中学习和生活，是我极大的荣幸。感谢你们为我提出的有益的建议和意见，有了你们的支持、鼓励和帮助，我才能充实的度过了两年的学习生活，谢谢你们。

最后，我要特别感谢的是千里之外的父母家人对我极大的鼓励、坚定支持和无言奉献。感谢你们陪伴我成长，感谢你们对我一直在外求学的宽容与理解，感谢你们对我学习上一如既往的默默支持。千言万语也难以表达我对你们的感激之情与深深的敬意，我只能奉上我最真挚的祝福。

朱红梅

二零一三年

## Differential miRNA expression in type 2 diabetes: meta-analysis and network analysis

### Abstract

**Objective:** To identify specific miRNAs and their molecular networks that are associated with type 2 diabetes (T2D) by meta-analysis of differential miRNA expression studies.

**Methods:** A systematic review was conducted on the miRNA expression profiling studies indexed by PubMed. The eligible studies compared the miRNA expression profiles between type 2 diabetic tissues and normal tissues with specific miRNA microarray methods and cut-off criteria of differentially expressed miRNA. Meta-analysis of the eligible studies was conducted with odds ratios (OR) under random effects model. Subgroup analysis examined tissue specificity and species specificity. Sensitivity analyses tested the heterogeneity of the results. The OR, 95% confidence intervals (CI) and P-values of specific miRNAs were reported. Further gene set enrichment analysis by the database for annotation, visualization and integrated discovery (DAVID) on the statistically significant results of meta-analysis was performed to identify molecular networks of target genes.

**Results:** A total of 310 differentially expressed miRNAs were found in 27 miRNA expression profiling studies from 1993 to 20 April 2013, with 134 miRNAs were covered by at least two reports. Among all studies, 92 out of the 134 miRNAs were contradictory in reports of dysregulation directions. Meta-analysis found 49 dysregulated miRNAs statistically significant (32 up-regulated and 17 down-regulated). The most significant up-regulated miRNAs were such as miR-29a, miR-192 and miR-34a. MiR-29a was reported in 10 sub-studies with (177.60, [48.84, 645.74],  $P < 0.00001$ ); miR-192 was reported in 9 sub-studies with (71.00, [3.42, 1474.66],  $P = 0.002$ ); and miR-34a was reported in 8 sub-studies with (229.01, [54.31, 965.58],  $P < 0.00001$ ). The most significant down-regulated miRNAs were such as miR-146a, miR-182 and miR-487b. MiR-146a was reported in 9 sub-studies with (62.28, [1.91, 2034.70],  $P = 0.02$ ); miR-182 was reported in 7 sub-studies with (36.95, [1.03, 1329.36],  $P = 0.04$ ); and miR-487b was reported in 4 sub-studies with (148.18, [19.28, 1139.05],  $P < 0.00001$ ). In tissue types analysis, seven miRNAs (miR-103, miR-107, miR-192, miR-29a, miR-29b, miR-34a, miR-375) were up-regulated in at least two different tissues, and two miRNAs (miR-152 and miR-223) were highly tissue-specific. In species analysis, miR-30e, miR-21 and miR-652 were significantly down-regulated in human profiling studies while miR-708 and miR-92a were significantly down-regulated in animal profiling studies, indicating a species difference in miRNA expression. In sensitivity analysis, the results of

ten miRNAs (miR-107, miR-103, miR-16, miR-192, miR-29a, miR-93, miR-34a, miR-375, miR-18a and miR-486) were robust and consistent with the dysregulation directions of overall effects. In enrichment analysis, target genes were most notably associated with the regulation of phosphoprotein, apoptosis and cell cycle.

**Conclusion:** This study found some statistically significant miRNAs associated with T2D. Among them, the miRNAs (miR-103, miR-107, miR-144, miR-192, miR-29a, miR-34a and miR-375) could be candidates of blood biomarkers. miR-152 and miR-223 were highly tissue-specific with potentials of tissue biomarkers. These miRNAs with effects on cell cycle, apoptosis and p53 signaling pathway would provide useful epigenomic information about T2D.

**Keywords:** miRNA, type 2 diabetes, meta-analysis, network analysis





# meta 分析和网络分析 miRNA 在 2 型糖尿病中的差异性表达

## 摘要

**目的:** 通过 meta 分析差异性 miRNA 表达谱研究, 确定与 2 型糖尿病有关的具体的 miRNA 以及它们的分子网络。

**方法:** 在 PubMed 中进行全面系统的文献检索, 检索比较 2 型糖尿病组织与正常组织的 miRNA 表达谱研究, 并要求这些研究明确报告了 miRNA 检测分析方法以及差异化表达 miRNA 的选取标准。采用随机效应模型 meta 分析 2 型糖尿病中差异性表达的 miRNA, 并报告对应的优势比, 95% 置信区间和 P 值。以不同组织类型和物种为基础的亚组分析检验 miRNA 的组织特异性和物种特异性。敏感性分析检验结果中的异质性。以 meta 分析结果中显著性 miRNA 为基础的基因富集分析确定靶基因的分子网络。

**结果:** 从 1993 年至 2013 年 4 月 20 日, 在 PubMed 中检索到符合纳入标准的 27 篇文献, 共涉及 310 个差异化表达的 miRNA, 其中 134 个 miRNA 至少在 2 个亚组研究中得到报告。在这 134 个 miRNA 中, 92 个 miRNA 被报告的方向相互矛盾。meta 分析发现 49 个异常表达的 miRNA 具有统计显著性 (32 个上调, 17 个下调)。最显著的上调 miRNA 有 miR-29a, miR-192 和 miR-34a 等。10 个亚组研究报告了 miR-29a (177.60, [48.84, 645.74],  $P < 0.00001$ ), 9 个亚组研究报告了 miR-192 (71.00, [3.42, 1474.66],  $P = 0.002$ ) 以及 8 个亚组研究报告了 miR-34a (229.01, [54.31, 965.58],  $P < 0.00001$ )。最显著的下调 miRNA 有 miR-146a, miR-182 和 miR-487b 等。9 个亚组研究报告了 miR-146a (62.28, [1.91, 2034.70],  $P = 0.02$ ), 7 个亚组研究报告了 miR-182 (36.95, [1.03, 1329.36],  $P = 0.04$ ), 4 个亚组研究报告了 miR-487b (148.18, [19.28, 1139.05],  $P < 0.00001$ )。在以组织类型为基础的亚组分析中, 7 个显著性上调的 miRNA (miR-103, miR-107, miR-192, miR-29a, miR-29b, miR-34a, miR-375) 至少在 2 种不同组织中出现而 miR-152 和 miR-223 可能具有高度的组织特异性。在以物种为基础的亚组分析中, miR-30e, miR-21 和 miR-652 是人表达谱研究中显著性下调的 miRNA, 而 miR-708 和 miR-92a 是动物表达谱研究中显著性下调的 miRNA, 这表明 miRNA 在不同物种中表达具有差异化。敏感性分析中有 10 个 miRNA (miR-107, miR-103, miR-16, miR-192, miR-29a, miR-93, miR-34a, miR-375, miR-18a 和 miR-486) 与总效应异常调节的方向一致。基因富集分析显示, miRNA 对应的靶基因主要富集在磷酸化, 细胞凋亡, 细胞循环控制等功能上。

**结论：**这篇研究发现了 2 型糖尿病中一些具有显著性的异常表达的 miRNA。在这些 miRNA 中，miR-103, miR-107, miR-144, miR-192, miR-29a, miR-34a 和 miR-375 可能成为血液生物标记。miR-152 和 miR-223 具有高度的组织特异性，有成为组织生物标记的潜能。作用于细胞循环，细胞凋亡和 p53 信号路径的 miRNA 可能提供关于 2 型糖尿病表观基因组的有用信息。

**关键词：**miRNA，2 型糖尿病，meta 分析，网络分析



## 目录

原创性声明 .....	I
致谢 .....	II
Abstract.....	III
摘要 .....	V
图 .....	X
表 .....	XI
术语中英文对照 .....	XII
缩写与术语对照 .....	XIII
<b>第一章 研究背景</b> .....	<b>1</b>
1.1 miRNA 检测 .....	2
1.2 表达谱差异分析 .....	4
1.3 系统评价与 meta 分析 .....	5
1.4 miRNA 系统评价回顾 .....	5
1.5 miRNA 网络路径分析回顾 .....	6
1.6 研究目的 .....	7
1.7 研究内容 .....	8
1.8 本章小结 .....	9
<b>第二章 研究方法、系统评价方案和网络分析方案</b> .....	<b>10</b>
2.1 研究方法 .....	10
2.1.1 文献检索 .....	10
2.1.2 纳入和排除标准 .....	10
2.1.3 资料提取 .....	10
2.1.4 meta 分析 .....	11
2.1.5 亚组分析 .....	11
2.1.6 敏感性分析 .....	11
2.1.7 miRNA 网络分析 .....	11
2.1.8 路径分析 .....	11
2.1.9 工具应用 .....	11
2.2 系统评价方案 .....	12

2.2.1	研究背景 .....	12
2.2.2	系统评价目的.....	12
2.2.3	研究设计和程序.....	12
2.3	网络路径分析方案.....	15
2.3.1	研究背景 .....	15
2.3.2	网络路径分析目的.....	15
2.3.3	研究设计和程序.....	15
2.4	本章小结 .....	16
<b>第三章</b>	<b>miRNA 差异化表达的 meta 分析 .....</b>	<b>17</b>
3.1	文献筛选 .....	17
3.2	纳入文献特征 .....	18
3.3	meta 分析.....	22
3.4	亚组分析 .....	23
3.4.1	以不同组织进行的亚组分析.....	23
3.4.2	以不同种族进行的亚族分析.....	27
3.5	敏感性分析.....	29
3.6	本章小结 .....	30
<b>第四章</b>	<b>miRNA 网络分析.....</b>	<b>32</b>
4.1	miRNA 靶基因筛选 .....	32
4.2	构建 miRNA 调节基因网络.....	33
4.3	miRNA 网络标记重现性.....	38
4.4	靶基因集合富集分析和功能富集分析.....	39
4.5	miRNA 在 2 型糖尿病中作用 .....	40
4.6	本章小结 .....	42
<b>第五章</b>	<b>讨论 .....</b>	<b>43</b>
5.1	系统评价 .....	43
5.2	miRNA 的组织特异性与循环 miRNA .....	43
5.3	miRNA 在 2 型糖尿病中作用 .....	44
5.4	miRNA 作为生物标记应考虑的因素 .....	45
5.5	研究限制 .....	45
5.6	研究创新和贡献 .....	46
5.7	研究前景.....	47

5.8 结论 .....	48
参考文献 .....	49
附录一：部分 miRNA meta-分析结果 (RevMan 5.2) .....	59
附录二：miRNA 及其对应的靶基因 .....	62



## 图

图 3.1	文献筛选流程图.....	17
图 3.2	meta 分析流程图.....	31
图 4.1	靶基因筛选流程图.....	33
图 4.2	网络分析流程图.....	34
图 4.3	miRNA 调节基因网络图（总效应）.....	35
图 4.4	人类 miRNA 调节基因网络图.....	36
图 4.5	miRNA 调节基因网络图（总效应与人类共有 miRNA 构建）.....	37
图 4.6	人类血液中 miRNA 调节基因网络图.....	38
图 4.7	温氏图（关于 miRNA 表达谱的 meta 分析与 miRNA 网络标记）.....	39



## 表

表 1.1	五种 miRNA 检测技术的特点比较 .....	3
表 3.1	人类 miRNA 表达谱研究基本特征 .....	19
表 3.2	动物 miRNA 表达谱研究基本特征 .....	20
表 3.3	2 型糖尿病中异常表达的 32 个上调 miRNA .....	22
表 3.4	2 型糖尿病中异常表达的 17 个下调 miRNA .....	23
表 3.5	血液样本中具有统计显著性的异常表达的 20 个 miRNA.....	24
表 3.6	肌肉组织中具有统计显著性的异常表达的 6 个 miRNA.....	25
表 3.7	胰腺组织中具有统计显著性的异常表达的 3 个 miRNA.....	25
表 3.8	肝组织中具有统计显著性的异常表达的 16 个 miRNA.....	25
表 3.9	脂肪组织中具有统计显著性的异常表达的 3 个 miRNA.....	26
表 3.10	肾组织中具有统计显著性的异常表达的 1 个 miRNA .....	26
表 3.11	不同组织样本中具有统计显著性的异常表达的 39 个 miRNA.....	26
表 3.12	人类表达谱研究中具有统计显著性的异常表达的 24 个 miRNA.....	28
表 3.13	动物表达谱研究中具有统计显著性的异常表达的 33 个 miRNA.....	28
表 3.14	敏感性分析中具有统计显著性的异常表达的 18 个 miRNA.....	30
表 4.1	KEGG 路径 .....	40
表 4.2	功能富集 .....	40
表 4.3	2 型糖尿病及其并发症中出现的 miRNA .....	41
表 5.1	研究多种组织类型的研究中具有统计显著性的异常表达的 miRNA.....	44

## 术语中英文对照

错误发现率	False discovery rate
2 型糖尿病	Type 2 diabetes
反转录聚合酶链式反应	Reverse transcription-polymerase chain reaction
改变倍数	Fold change
滚环扩增	Rolling circle amplification
聚丙烯酰胺凝胶电泳	Polyacrylamide gel electrophoresis
聚合酶链式反应	Polymerase chain reaction
鲁棒排名聚集法	Robust rank aggregation
黏着斑	Focal adhesion
锁核酸	Locked nucleic acid
投票计数	Vote counting
微阵列显著性分析	Significance analysis of microarray
微阵列晶片	Microarray
温氏图	Venn diagram
细胞凋亡	Apoptosis
细胞循环	Cell cycle
系统评价	Systematic review
优势比	Odds ratio
原位杂交	In situ hybridization
荟萃分析	Meta-analysis
随机效应模型	Random effects model



## 缩写与术语对照

ANOVA	方差分析	Analysis of variance
CAD	冠心病	Coronary artery disease
CI	置信区间	Confidence interval
FC	倍数变化	Fold change
FDR	错误发现率	False discovery rate
HF	心力衰竭	Heart failure
ISH	原位杂交	In situ hybridization
LNA	锁核酸	Locked nucleic acid
MI	心肌梗塞	Myocardial infarction
miRNA	微小 RNA	MicroRNA
n	样本量	Size of sample
N	肾病	Nephropathy
OR	优势比	Odds ratio
PAGE	聚丙烯酰胺凝胶电泳	Polyacrylamide gel electrophoresis
PCR	聚合酶链式反应	Polymerase chain reaction
R	视网膜病	Retinopathy
RCA	滚环扩增	Rolling circle amplification
RRA	鲁棒排名聚集法	Robust rank aggregation
RT-PCR	反转录聚合酶链式反应	Reverse transcription-polymerase chain reaction
S	中风	Stroke
SAM	微阵列显著性分析	Significance analysis of microarray
SG	荧光染料	SYBR Green
SR	系统评价	Systematic review
T2D	2 型糖尿病	Type 2 diabetes

