学校代码：10610

学 号：2012224020033



博士/硕士学位论文

（专业/学术学位）



**中文题目： miR-577通过调控FGF-21在糖尿病骨质疏松中的作用机制研究**

**英文题目： Modulatory effect of miR-577 on FGF-21 in diabetes-related osteoporosis**

作　　者 张某某

专　　业 临床检验诊断学

研究方向 糖尿病的基础研究

指导教师 应某某 教授

完成时间：2020年12月

|  |  |
| --- | --- |
| 中图分类号：R446.1 | 学校代码：10610 |
| UDC:616.4 | 密级：公开 |

[http://www.udcsummary.info/php/index.php](%20http://www.udcsummary.info/php/index.php) 查询

<http://www.ztflh.com/> 查询

**miR-577通过调控FGF-21在糖尿病骨质疏松中的作用机制研究**

**Modulatory effect of miR-577 on FGF-21 in diabetes-related osteoporosis**

根据自己的情况选择，专业学位选临床医学博士，学术学位选医学博士

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ﹒论文作者 | 张玫 | ﹒指导教师 | 应斌武 |
| ﹒申请学位 | 医学/临床医学博士 | ﹒培养单位 | 华西临床医学院 |
| ﹒学科专业 | 临床检验诊断学 | ﹒研究方向 | 糖尿病的基础研究  答辩前评阅的论文版本可暂不填写答辩成员 |

答辩委员会主席： 张三 教授 四川大学华西医院

委员1： 张四 教授 四川大学华西医院

委员2： 张五 教授 北京协和医院

委员3： 张六 主任医师 成都市第三人民医院

委员4： 张七 研究员 重庆医科大学

委员5：

学位授予单位：四川大学

论文提交日期：2020年12月

学位论文原创性声明

本人声明所呈交的学位论文是本人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得四川大学或其他教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示谢意。

本学位论文成果是本人在四川大学读书期间在导师指导下取得的，论文成果归四川大学所有，特此声明。

作者签名： 导师签名：

年 月 日

**学位论文使用授权书**

本学位论文作者完全了解四川大学有关保留、使用学位论文的规定，同意学校保留并向国家有关部门或相关机构送交论文的原件、复印件和电子版，允许论文被查阅和借阅。本人授权四川大学将本学位论文的全部或部分内容编入有关数据库进行信息技术服务，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文，并用于学术活动。

（涉密学位论文在解密后适用于本授权书）

作者签名： 导师签名：

年 月 日

目　次

[中文摘要 I](#_Toc103971389)

[Abstract III](#_Toc103971390)

[缩略词表 V](#_Toc103971391)

[前　言 1](#_Toc103971392)

[技术路线 2](#_Toc103971393)

[1. 材料 1](#_Toc103971394)

[1.1 实验主要试剂 1](#_Toc103971395)

[1.2 实验主要试剂 1](#_Toc103971396)

[2. 2](#_Toc103971397)

[2.1 2](#_Toc103971398)

[3. 3](#_Toc103971399)

[3.1 3](#_Toc103971400)

[参考文献 4](#_Toc103971401)

[附录 A 5](#_Toc103971402)

miR-577通过调控FGF-21在糖尿病骨质疏松中的

作用机制研究

中文摘要

目的：

棘皮动物微管相关蛋白样-4-间变淋巴瘤激酶（EML4-ALK）是非小细胞肺癌（NSCLC）的驱动基因之一，但其对NSCLC恶性生物学行为的影响及作用机制尚未完全清楚。……

材料和方法：

利用慢病毒系统构建EML4-ALK稳定表达细胞株。western blot检测下游信号通路改变；western blot和RT-PCR检测上皮间质转化（EMT）相关基因表达；transwell和划痕试验测定细胞侵袭迁移能力；流式细胞术检测干细胞标志物CD133，微球形成试验验证干细胞特性，RT-PCR检测干细胞相关转录因子变化；MTT法测定细胞药物敏感性。……

结果：

BEAS-2B、NIH3T3和H1299细胞表达EML4-ALK后，ERK1/2、AKT及STAT3通路激活，H1299细胞形态呈细长成纤维样变。E-cadherin mRNA及蛋白表达降低，fibronectin、Slug和Snail mRNA表达升高。CD133阳性细胞增多，微球形成能力增强，干细胞相关因子Sox2、Oct3/4和Nanog mRNA含量增加。H1299-EML4-ALK细胞对顺铂化疗抵抗，但对紫杉醇和吉西他滨敏感。抑制ERK1/2可逆转EMT。EML4-ALK可诱导NIH-3T3及H1299细胞胸苷酸合成酶（TYMS）表达下调，过表达c-myc对TYMS蛋白表达无影响。EML4-ALK抑制SRC激活，过表达活化的SRC可逆转TYMS表达。表达EML4-ALK不增加H1299细胞对5-fluorouracil及pemetrexed治疗的敏感性……

结论：

EML4-ALK可诱导H1299发生EMT并具有干细胞特性，增加其部分化疗药物抵抗。EML4-ALK通过抑制SRC下调TYMS表达，但不增加细胞对5-fluorouracil及pemetrexed敏感性。……

关键词：

棘皮动物微管相关蛋白样-4-间变淋巴瘤激酶；上皮间质转化；肿瘤干细胞；胸苷酸合成酶；肉瘤病毒基因

Modulatory effect of miR-577 on FGF-21 in diabetes-related osteoporosis

Abstract

Objective:

The echinoderm microtubule-associated protein-like 4(EML4) e anaplastic lymphoma kinase (ALK) fusion gene has been identified as a driver mutation in non-small-cell lung cancer (NSCLC). However, the role of EML4-ALK in malignant transformation is not entirely clear.…

Materials and Methods:

Stably EML4-ALK expression in BEAS-2B, NIH3T3 and H1299 cells were established with a lenti-viral system. EML4-ALK activated signaling pathway were detected by western blot; Epithelial to mesenchymal transition (EMT) and related gene expression were detected by western blot and RT-PCR; transwell and scratch test to determine cell invasion and migration; flow cytometry for stem cell marker CD133 expression, Mammosphere formation assay verification stem cell properties, stem cell related transcription factor detected by RT-PCR; flow cytometry and MTT assay for cell drug sensitivity.…

Results:

BEAS-2B, NIH3T3 and H1299 cells expressing EML4-ALK showed activated ERK1/2, AKT and STAT3 pathway. Expression of EML4-ALK induced spindle-like, elongated fibroblastic appearance in H1299 cells, with decreased E-cadherin but increased fibronectin, Slug and Snail expression. H1299-EML4-ALK cells showed an increased CD133-positive cells, enhanced ability of mammosphere formation, with increased stem cell-related factor Sox2, Oct3/4, and Nanog expression. H1299-EML4-ALK cells were resistant to cisplatin, but sensitive to paclitaxel and gemcitabine. Inhibition of ERK1/2 could reverse EML4-ALK induce EMT. EML4-ALK expression in NIH-3T3 cells and H1299 induces thymidylate synthase (TYMS) downregulation. Overexpression of c-myc had no effect on the regulation of TYMS. EML4-ALK inhibited SRC activation, over-expression of activated SRC increased TYMS expression.…

Conclusion:

EML4-ALK induces epithelial-mesenchymal transition consistent with cancer stem cell properties in H1299 non-small cell lung cancer cells, which makes it resistance to cisplatin chemotherapy. EML4-ALK downregulated expression of TYMS by inhibiting SRC activation, however, it does not increase the sensitivity of 5-fluorouracil and pemetrexed therapy. Combination of crizotinib and SRC inhibition may be benefit for ALK positive NSCLC.……

Key words：

EML4-ALK; EMT; Cancer stem cell; TYMS; SRC

缩略词表

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 缩略词 | 英文全称 | 中文全称 |
| TAD | [Theses Assist Drawer](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html) | [论文抽屉](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html) |
|  |  |  |

前　言

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)，糖尿病相关骨质疏松（diabetes-related osteoporosis，DO）是糖尿病患者在骨骼方面的常见并发症，其骨强度的下降可导致骨折危险性的增加，被认为是“寂静的杀手”，主要以骨痛、体型改变、骨折为主要表现，严重影响了糖尿病患者的生活质量。随着老龄化和生活方式的改变，世界糖尿病和骨质疏松的发病率都逐年增加[1-2]。一项对爱荷华州32 089名绝经后妇女进行的前瞻性调查显示，1型糖尿病（type 1 diabetes，T1DM）的妇女髋部骨折的可能性是未患T1DM的妇女的12倍，2型糖尿病（type 2 diabetes，T2DM）妇女髋部骨折的风险也比无T2DM的妇女高1.7倍[3]。而长病程的T2DM患者虽然平均骨密度较高，但其跌倒发生率和骨折率都增高[4]。已患有原发性骨质疏松的患者，合并糖尿病后将会使病情加重。目前糖尿病相关骨质疏松的确切发病机制尚不明确，诊断手段也十分有限，因此进一步研究糖尿病骨质疏松的发病机制，积极寻找新型诊断标志物对糖尿病骨质疏松的早期诊断及治疗有重大意义。

技术路线

毕业论文格式编排技巧公开课介绍见表1‑1，按住Ctrl并单击下方任一链接即可观看学习。

<https://www.zhihu.com/zvideo/1565446934470606848>

<https://www.bilibili.com/video/BV1ne4y1m75N/>

<https://mbd.baidu.com/newspage/data/videolanding?nid=sv_14593718012440107573>

表1‑1 毕业论文格式编排技巧公开课介绍

|  |  |
| --- | --- |
| 讲师介绍 | 图老师，专注插件开发，且对论文格式有深入研究；有20年Office应用经验和Office插件开发经验。 |
| 课程大纲 | 1、毕业论文写作流程  2、论文格式的重要性  3、论文格式的复杂度  4、论文格式的国家标准  5、论文格式的组成元素  5.1 目录  5.2 标题  5.3 正文  5.4 题注  5.5 交叉引用  5.6 参考文献  6、论文格式编排插件介绍  7、论文格式编排技巧演示  8、互动答疑 |
| 课后收获 | 1、了解论文格式的重要性及论文格式的组成元素  2、了解论文格式编排插件《论文抽屉》  3、 掌握高效编排论文格式的方法和技巧 |
| 适听人群 | 1、即将攒写毕业论文的大学生  2、经常编制分析报告的科研人员 |

插件《论文抽屉》下载链接（一站式毕业论文插件，兼容Word和WPS）：

<https://pan.baidu.com/s/1Z6XZM8NjyFH-4niNk93yAA?pwd=bfq2>

# 材料

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

## 实验主要试剂

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

## 实验主要仪器

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

# 方法

## 间充质干细胞的获取及分离鉴定

### 人骨髓的提取

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

## hBMSCs的分离、培养和鉴定

### 用无菌PBS稀释骨髓液

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

### 用PBS洗涤培养瓶

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

# 结果

## 生物信息学预测与FGF-21靶向结合miRNAs

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

## hBMSCs的培养与鉴定

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

### hBMSCs的形态及成骨、成脂分化鉴定

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 项目 | *r*值 | *P*值 |
| 腰椎BMD | 0.009 | 0.922 |
| 股骨颈BMD | 0.287 | 0.002 |
| Ward-三角BMD | 0.271 | 0.004 |
| CTX | －0.169 | 0.364 |
| OST | －1.150 | 0.422 |
| FGF-21 | 0.176 | 0.066 |

# 讨论

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

# 结论

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

参考文献

1. >>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

文献综述

microRNA与骨质疏松

某某某 综述 某某 审校

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)，骨质疏松是世界范围内最常见的骨骼疾病，已成为全世界医学和社会经济学面临的重大挑战[1]。在过去的十年中，人类表观基因组的动态变化显示，表观遗传对于成骨细胞和破骨细胞的功能、骨形成和骨吸收以及包括骨质疏松症在内的代谢性骨疾病的发病机制至关重要[2]。在具有表观遗传功能的非编码RNA中，有长链非编码RNA和各种类型的小RNA，包括小干扰RNA和微小RNA（miRNAs）。

参考文献

1. >>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

在读间科研成果简介

一、发表论文情况

1. >>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)
2. >>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

二、参与科研课题情况

1. >>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)

在读期间的成果可以是学术论文，也可以是研究成果。学术论文研究成果按发表的时间顺序列出（已发表的列在前面，已接收待发表的放在后面）；研究成果可以是在学期间参加的研究项目、申请的专利或获奖等。

致　谢

>>>>>>>>>[图加软件《论文抽屉》，一站式毕业论文插件！](http://www.tujiastudio.com/prod_tad/ch/intro.html)，值此论文完成和即将毕业之际，我谨向学习和生活中曾经关心和帮助过我的老师、同学和朋友表示由衷的感谢！

首先感谢我的导师某某教授，从课题设计、实施、结果分析到论文撰写无不浸透着导师辛勤的汗水和心血。老师高尚的医德、渊博的知识、严谨的治学态度、缜密的临床及科研思维、对工作认真负责的态度等都给我留下了深刻的印象，是我终身学习的楷模。在此，向他表示我深深的敬意和由衷的感谢！……

本论文得到了国家自然科学基金青年项目（项目编号81501800）《miR-577通过调控FGF-21在糖尿病相关骨质疏松中的作用机制研究》的支撑，在此表示感谢！

如学位论文有科研项目的支撑，需在致谢中表明。



厚德精业 求实创新