

# 精神分裂症患者中miR-197-3p调控瘦蛋白水平的研究

郭天虹<sup>1</sup> 罗彬瑞<sup>1</sup> 王雨涵<sup>1</sup> 彭 瑛<sup>2</sup> 白克镇<sup>3</sup> 黄远帅<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>西南医科大学附属医院输血科, 泸州 646000; <sup>2</sup>西南医科大学附属医院检验科, 泸州 646000;

<sup>3</sup>西南医科大学附属医院精神科, 泸州 646000)

**摘要** 该文主要分析了精神分裂症(schizophrenia, SCZ)患者血清中候选微RNA(microRNA, miRNA)水平的变化, 研究其作用靶点及机制。针对前期芯片结果分析发现的差异表达miRNA, 该研究使用荧光定量PCR对一批患者和对照血清进行验证分析。利用生物信息学工具分析经验证的差异表达miRNA, 寻找潜在的作用靶点。进一步对miRNA及其潜在靶点进行调控功能的验证。芯片筛选结果发现, microRNA-197-3p(miR-197-3p)在初诊患者中呈低表达, 较临床痊愈者和健康人有显著性差异, 并在45例初诊患者和50例健康人对照血清中得到验证。生物信息学分析发现, 瘦蛋白(leptin)mRNA可能是miR-197-3p的一个作用靶点, 并经ELISA验证患者相对于健康人血清中瘦蛋白浓度显著升高。细胞水平的研究发现, miR-197-3p模拟物可以下调瘦蛋白水平, 相反miR-197-3p抑制剂可以上调其水平。荧光素酶活性实验证实, miR-197-3p可能通过结合于瘦蛋白mRNA 3'UTR(3' untranslated region)的特异性位点, 调控其水平。该研究表明, miR-197-3p水平下降, 进一步上调瘦蛋白的水平可能在精神分裂症发病过程中发挥一定作用。

**关键词** miR-197-3p; 瘦蛋白; 精神分裂症

## The miR-197-3p Regulating Leptin Level in Schizophrenia Patients

Guo Tianhong<sup>1</sup>, Luo Binrui<sup>1</sup>, Wang Yuhan<sup>1</sup>, Peng Ying<sup>2</sup>, Bai Kezhen<sup>3</sup>, Huang Yuanshuai<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Transfusion, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China;

<sup>2</sup>Department of Etiologies, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China;

<sup>3</sup>Department of Psychiatry, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou 646000, China)

**Abstract** We analyzed the candidate microRNA (miRNA) levels in the serum of schizophrenia (SCZ) patients and controls, and explored the target mRNA of candidate miRNAs. Candidate miRNAs found by miRNA array were analyzed by Real-time PCR in a cohort including patients and healthy controls. The potential target mRNAs of miRNAs were analyzed by bio-informatics tools and studied by *in vitro* experiments. microRNA-197-3p (miR-197-3p) was found down-regulated in patients compared to controls by Real-time PCR. Leptin was found to be one of the targets of miR-197-3p by online bio-informatics tools. Leptin concentration was found up-regulated significantly in patients' serum by ELISA. *In vitro* study illustrated that miR-197-3p targeted 3' untranslated region (3'UTR) of leptin mRNA and reduced its expression. The pathway miR-197-3p regulating leptin may play an important role in schizophrenia pathogenesis.

**Keywords** miR-197-3p; leptin; schizophrenia

收稿日期: 2016-11-14 接受日期: 2017-04-12

四川省卫生计生2012年科研课题(批准号: 120336)和泸州市科技局计划项目[批准号: 2012-S-37(11/29)]资助的课题

\*通讯作者。Tel: 0830-3165740, E-mail: hys@live.cn

Received: November 14, 2016 Accepted: April 12, 2017

This work was supported by the Fund from 2012 Research Projects of Health Department of Sichuan Province (Grant No.120336) and Science and Technology Plan Project of Fund from Science and Technology Bureau of Luzhou [Grant No.2012-S-37(11/29)]

\*Corresponding author. Tel: +86-830-3165740, E-mail: hys@live.cn

网络出版时间: 2017-05-18 17:13:21 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20170518.1713.014.html>

精神分裂症(schizophrenia, SCZ)是最常见的精神性疾病。据2008年有关资料统计,全世界的流行率约0.5%~1.0%,并有上升趋势<sup>[1]</sup>。近年来,SCZ发病机制和早期诊断成为了研究热点,特别是微RNA(microRNA, miRNA)与精神分裂症关系的研究已全面展开<sup>[2]</sup>。miRNA通过表观遗传学(epigenetics)机制调控细胞信号通路,影响患者脑细胞功能的探索,是具有重要临床价值的研究方向<sup>[3]</sup>。

最近的研究发现,精神分裂症患者外周血中有多种miRNA水平发生变化,如miR-34a<sup>[4]</sup>、miR-130b<sup>[5]</sup>、miR-107<sup>[6]</sup>和miR-98<sup>[7]</sup>等。本课题组前期使用miRNA芯片筛查SCZ初发患者、临床痊愈者及健康人血清,也发现了异常表达的miRNA<sup>[8]</sup>。另有研究发现,与健康人相比,SCZ患者血清瘦蛋白浓度显著升高<sup>[9]</sup>。SCZ患者及抗精神类药物治疗引起的瘦蛋白增加可能与此类疾病及药物引起的脂肪组织比重增加后的机体负反馈调节有关,但具体的调控机制仍不清楚<sup>[9]</sup>。本研究根据miRNA芯片筛查的数据,验证了芯片结果,并使用生物信息学工具发现,瘦蛋白可能是异常表达miR-197-3p的作用靶点,进而探讨了其作用机制。本研究结果初步提示,miRNA可能与精神分裂症发病存在相关性。

## 1 材料与方法

### 1.1 病人样本与材料

取自西南医科大学附属第一医院精神科2012年1月至2015年2月59例初诊为精神分裂症患者(SCZ)、3例已治愈病人(SCZ-H)和体检科60例正常体检者(H)的外周血3~5 mL,及时离心分离血清,200  $\mu$ L/管分装,-70  $^{\circ}$ C保存,用于芯片分析和后期验证实验。本研究经本院伦理委员会批准,伦理批件号:LYFY12017LL,与病人或家属及体检者签订知情同意书。初诊为精神分裂患者的纳入标准:诊断标准符合国际精神疾病分类与诊断标准第10版(ICD-10),首次发病,未接受抗精神病药物治疗;排除标准:脑器质性和躯体疾病所致的精神障碍患者。治愈病人是经过标准化治疗方案的临床治愈病人(药物治疗,方案依据《精神分裂症防治指南》2007版)。健康体检者为经体检未发现任何疾病,近3个月内未服用任何药物的成年人。

miRNeasy Serum/Plasma试剂盒、miScript II RT试剂盒、miScript SYBR Green PCR试剂盒、miScript

引物、miRNA模拟物(货号219600)、miRNA抑制剂(货号219300)均购自德国Qiagen公司。Trizol购自美国Invitrogen公司。TaKaRa PrimeScript RT试剂盒及SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>™</sup> II购自宝生物工程(大连)有限公司。双荧光素酶报告基因检测系统购自普洛麦格(北京)生物技术有限公司。瘦蛋白ELISA试剂盒购自上海拜力生物科技有限公司。人脂肪细胞购自上海歌凡生物科技有限公司。HEK293细胞由本实验室保存。

### 1.2 miRNA芯片分析

血清样本常温融化后经miRNeasy Serum/Plasma试剂盒提取miRNA,送博奥生物有限公司(北京)使用Affymetrix GeneChip miRNA 2.0芯片(完全覆盖Sanger miRBase 15.0版本131个物种的所有miRNA成熟体)检测样品中miRNA表达谱。SAM(significance analysis of microarrays)软件统计分析3组间差异表达的miRNA。

### 1.3 Real-time PCR检测

miRNA的定量PCR分析,血清样本常温融化后经miRNeasy Serum/Plasma试剂盒提取miRNA,简述如下。200  $\mu$ L血清加入1 mL QIAzol混匀孵育后,加入1 mL氯仿进行萃取,离心后,上清经离心柱过柱,洗脱后,经初步定量。使用miScript II RT Kit(Qiagen公司,德国)进行逆转录,简述如下。4  $\mu$ L 5 $\times$ miScript HiSpec缓冲液、2  $\mu$ L 10 $\times$ miScript Nucleics Mix、2  $\mu$ L 逆转录酶混合物,约10  $\mu$ L miRNA,无RNA酶水补足至20  $\mu$ L,逆转录成熟miRNA。反应条件:37  $^{\circ}$ C 60 min; 95  $^{\circ}$ C 5 min。然后使用miScript SYBR Green PCR Kit(Qiagen公司,德国)联合miRNA特异性miScript Primer(Qiagen公司,德国)进行定量PCR分析,snRNA RNU6B(U6)为内参miRNA,12.5  $\mu$ L 2 $\times$ QuantiTect SYBR Green PCR混合液、2.5  $\mu$ L 10 $\times$ miScript通用引物、2.5  $\mu$ L 10 $\times$ miScript特异性引物(miR-197-3p、miR-877及U6)、2.5  $\mu$ L 5倍稀释的cDNA模板、5  $\mu$ L去离子水。反应条件:95  $^{\circ}$ C 15 min; 94  $^{\circ}$ C 15 s, 55  $^{\circ}$ C 30 s, 70  $^{\circ}$ C 35 s(收集荧光),40个循环。

靶mRNA的定量PCR分析,人脂肪细胞系使用高糖DMEM(0.35 g/L L-Glutamin、15 mmol/L Hepes、15 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>、100 U/mL青霉素、100  $\mu$ g/mL链霉素)进行培养,经过转染等处理后,使用Trizol提取总RNA,紫外可见分光光度计定量,经TaKaRa PrimeScript RT试剂盒[宝生物工程(大连)有限公

司]逆转录, 简述如下: 2  $\mu\text{L}$  5 $\times$ PrimeScript<sup>TM</sup> RT混合液、2  $\mu\text{L}$  RNA(500 ng)、无RNA酶水补足至10  $\mu\text{L}$ 。反应条件: 37  $^{\circ}\text{C}$  15 min, 85  $^{\circ}\text{C}$  5 s, 4  $^{\circ}\text{C}$ 保存。用SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq<sup>TM</sup> II进行定量PCR检测, 引物如下, Leptin-P1: 5'-ACC CTG TGC GGA TTC TTG TGG-3', Leptin-P2: 5'-AAG GCA TAC TGG TGA GGA TCT GTT G-3'。内参基因引物如下,  $\beta$ -actin-P1: 5'-CGG GAA ATC GTG CGT GAC ATT-3',  $\beta$ -actin-P2: 5'-CGT CAG GCA GCT CGT AGC TCT T-3'。反应体系: 10  $\mu\text{L}$  2 $\times$ SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq II、上下游引物(10  $\mu\text{mol/L}$ )各1  $\mu\text{L}$ 、1:5稀释的cDNA 4  $\mu\text{L}$ 、5  $\mu\text{L}$ 去离子水。PCR循环参数: 95  $^{\circ}\text{C}$  5 min; 95  $^{\circ}\text{C}$  25 s, 58  $^{\circ}\text{C}$  30 s(收集荧光), 40个循环。反应结束后加做一个熔解曲线, 检测扩增产物的特异性。PCR相关实验在ABI-Veriti普通PCR仪以及ABI-7500荧光定量PCR仪上完成, 实验结果使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行标准化计算。

#### 1.4 生物信息学分析

通过在线工具(<http://targetscan.org>)等进行差异表达miRNA靶点预测, 并根据Pubmed文献搜索, 寻找属于精神分裂症信号通路、受体和细胞因子的潜在靶点, 进行下一步研究。

#### 1.5 ELISA检测

按ELISA标准化操作流程检测血清和细胞培养上清液中瘦蛋白浓度, 简述如下。每孔加入100  $\mu\text{L}$ 待检血清或细胞培养上清液, 设置空白对照、阴阳性对照以及不同浓度瘦蛋白标准品对照, 37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h, 清洗3次。然后, 加入100  $\mu\text{L}$ 酶标抗体, 37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育1 h, 清洗3次。再加入100  $\mu\text{L}$ 显色液, 37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育0.5 h, 加入100  $\mu\text{L}$ 终止液。在酶标仪上, 于450 nm波长处, 以空白对照孔调零后测各孔 $D$ 值。根据各标准品孔的读数进行计算样本内瘦蛋白的浓度。每个样本进行3孔重复检测。

#### 1.6 细胞内转染miRNA模拟物或抑制剂的效应分析

使用miR-197-3p和miR-877模拟物及抑制剂以及HiPerFect Transfection Reagent(Qiagen公司, 德国)进行转染细胞, 具体操作如下: 于12孔板内, 每孔接种 $3\times 10^4$ 个人脂肪细胞, 过夜培养后, 每孔转染由200  $\mu\text{L}$  Opti-MEM稀释的0.6  $\mu\text{L}$  20  $\mu\text{mol/L}$ 的模拟物或6  $\mu\text{L}$  20  $\mu\text{mol/L}$ 的抑制剂以及6  $\mu\text{L}$  HiPerFect转染试剂, 72 h后收集培养上清液进行瘦蛋白ELISA检测, 培养细胞进行Trizol总RNA提取。

#### 1.7 荧光素酶报告基因实验

将瘦蛋白3'UTR(3' untranslated region)的miR-197-3p两个识别位点的区域片段一起或分别克隆入pmiR-RB-Report载体。经测序确认, 命名为: Leptin-BS1+2-Report(片段区域: No.1210-2711 bp)或Leptin-BS1-Report(片段区域: No.1210-1455 bp)、Leptin-BS2-Report(片段区域: No.2589-2711 bp)。再经定点突变试剂盒, 对BS1和BS2分别进行定点突变, 命名为: Leptin-BS1+2-mu-Report(GTGGTG>CACCAC, GTG>CAC)、Leptin-BS1-mu-Report(GTGGTG>CACCAC)、Leptin-BS2-mu-Report(GTG>CAC)。

于12孔板内, 每孔接种 $5\times 10^4$ 个HEK293细胞。过夜培养后, 每孔使用1  $\mu\text{L}$  Lipfectamine 2000, 转染200 ng以上Report载体和50 ng Renilla内控载体, 培养24 h。细胞经PBS清洗, 加入200  $\mu\text{L}$  PLB液裂解15 min, 每一检测样本取20  $\mu\text{L}$ 裂解产物于96孔白色发光板的检测孔, 并设置加20  $\mu\text{L}$ 去离子水的空白对照, 然后每孔加入100  $\mu\text{L}$  LAR II液, 荧光分光光度计上检测Luciferase活性, 然后每孔加入100  $\mu\text{L}$  Stop&Glo液, 再次读取Renilla活性。Renilla提示转染效率, 可通过标准化计算消除实验误差。使用Luciferase/Renilla比较不同处理细胞的荧光素酶活性。每一样本进行3孔重复检测, 整个实验进行3次重复。

#### 1.8 统计学分析

数据使用GraphPad Prism 4.0进行统计分析和作图, 分析方法为方差分析, Student's  $t$ 检验及相关性分析,  $P<0.05$ 为有统计学意义。

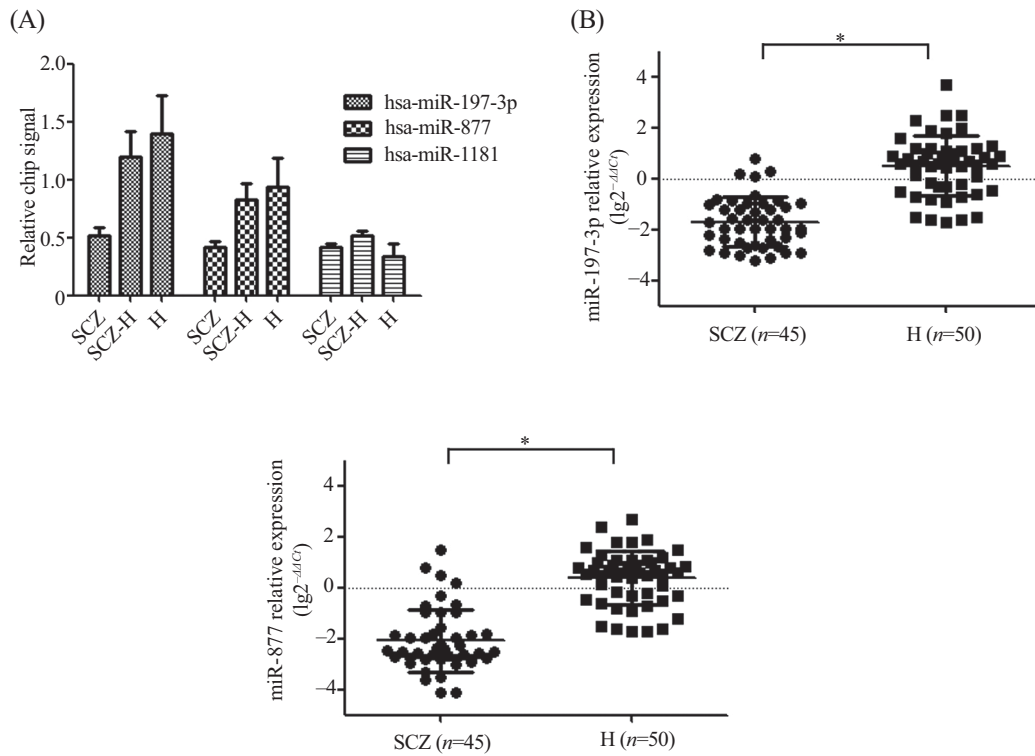
## 2 结果

### 2.1 miR-197-3p在患者外周血中的低表达验证

对芯片数据<sup>[8]</sup>进行深入分析, 并对部分我们感兴趣的miRNA(miR-197-3p、miR-877及miR-1181)的芯片信号值进行标准化处理(图1A)。对45个SCZ血清与50个H血清进行了miR-197-3p和miR-877的定量PCR验证, 发现这两个miRNA在初诊患者血清中呈显著低表达, 健康成年人中表达较高(图1B和图1C)。

### 2.2 生物信息学分析结果及ELISA检测血清中浓度

Targetscan在线工具分析结果提示, 瘦蛋白3'UTR有两个miR-197-3p的潜在作用靶点, 所在位置见图2A, 本研究中将它们分别命名为BS1和BS2。根

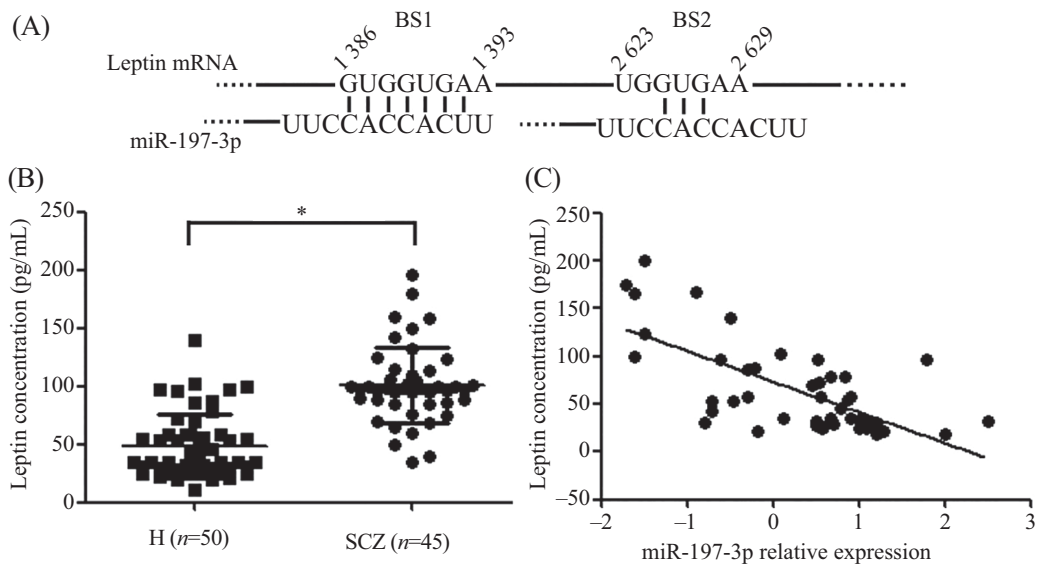


A: miRNA芯片相对信号柱状图; B: 各血清样本的miR-197-3p定量PCR结果分析, \* $P < 0.05$ ; C: 各血清样本的miR-877定量PCR检测结果分析, \* $P < 0.05$ 。SCZ: 未治疗的初诊患者; SCZ-H: 临床痊愈者; H: 健康成年人。

A: the bar chart of relative Chip signals; B: Real-time PCR analysis of miR-197-3p in serum samples, \* $P < 0.05$ ; C: Real-time PCR analysis of miR-877 in serum samples, \* $P < 0.05$ . SCZ: untreated patients; SCZ-H: clinically cured patients; H: healthy adults.

图1 miRNA芯片及荧光定量PCR分析

Fig.1 Chip and Real-time PCR analysis of miRNA



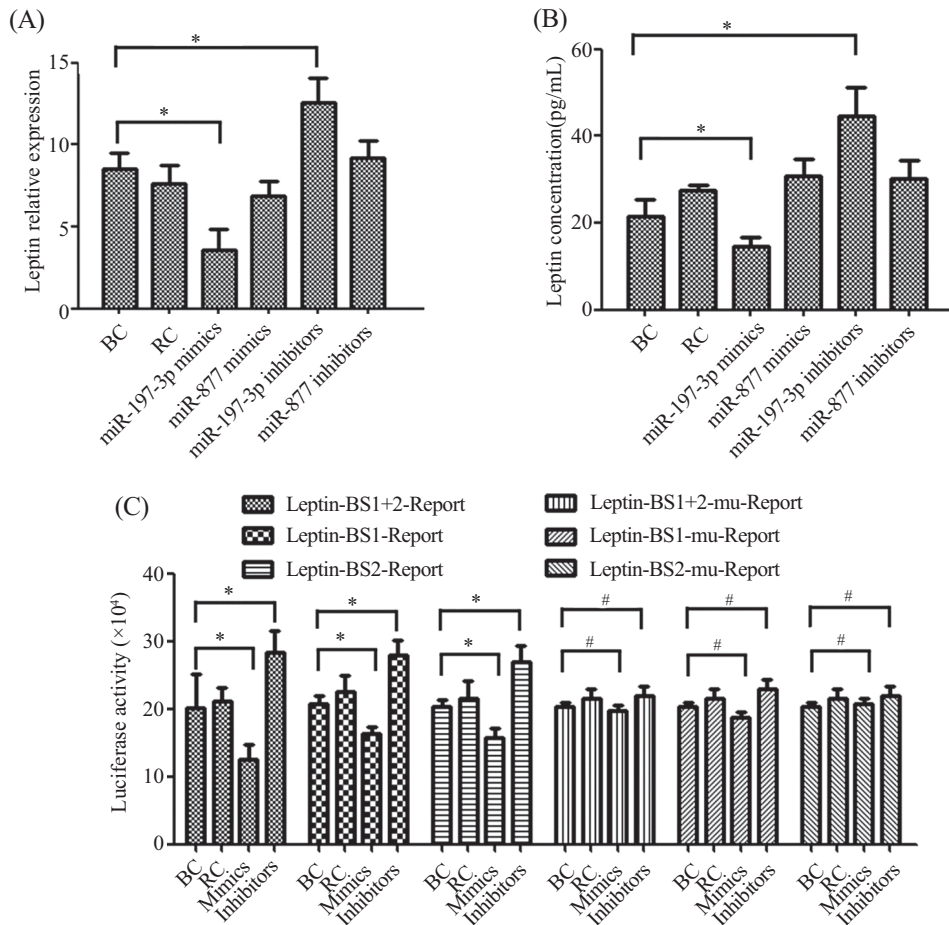
A: 瘦蛋白3'UTR miR-197-3p结合位点图; B: SCZ与H血清样本的瘦蛋白浓度检测, \* $P < 0.05$ ; C: SCZ患者miR-197-3p相对表达与瘦蛋白浓度相关性分析。SCZ: 未治疗的初诊患者; H: 健康成年人。

A: miR-197-3p binding sites in 3'UTR of leptin; B: concentration analysis of leptin in serums, \* $P < 0.05$ ; C: correlation analysis of miR-197-3p relative expression and leptin concentration. SCZ: untreated patients; H: healthy adults.

图2 不同处理下的瘦蛋白浓度分析

Fig.2 Concentration analysis of leptin under different conditions





A: 细胞经相应处理后的瘦蛋白mRNA表达检测; B: 细胞经相应处理后的培养液瘦蛋白蛋白表达检测; C: 细胞经相应miR-197-3p模拟物或抑制剂处理后, 报告载体的荧光素酶活性检测。BC: 空白对照; RC: 转染试剂对照; Mimics: 模拟物; Inhibitors: 抑制剂; \* $P < 0.05$ , # $P < 0.05$ 。

A: leptin mRNA expression analysis in cells after different treatments; B: leptin protein analysis in the cell culture medium after different treatments; C: reporter luciferase activity analysis in cells after miR-197-3p mimics or inhibitors treatment. BC: blank control; RC: transfect reagent control; \* $P < 0.05$ , # $P < 0.05$ 。

图3 瘦蛋白表达及荧光素酶活性分析

Fig.3 Leptin expression and luciferase activity analysis

据文献提示, SCZ患者的血清中瘦蛋白浓度出现升高<sup>[9]</sup>。我们进行样本血清中瘦蛋白ELISA检测, 发现SCZ患者瘦蛋白浓度高于健康成年人, 统计学具有显著性差异( $P < 0.05$ , 图2B)。同时, 将SCZ患者miR-197-3p定量结果与瘦蛋白浓度进行相关性分析发现, 相关系数为 $-0.46$ ( $P < 0.05$ , 图2C)。该结果提示, miR-197-3p对瘦蛋白的负调控作用。因此, 我们推测瘦蛋白可能受miR-197-3p调控, 在SCZ的发病中发挥着一定作用。

### 2.3 miR-197-3p靶向抑制瘦蛋白基因mRNA 3'UTR

人脂肪细胞系转染miR-197-3p的模拟物或抑制剂后, 瘦蛋白mRNA水平出现了显著的下调或上调, 而转染miR-877的模拟物和抑制剂对瘦蛋白mRNA

水平的影响不明显(图3A)。细胞培养液中的瘦蛋白ELISA检测得到类似的结果(图3B)。结果提示, miR-197-3p与瘦蛋白的表达相关。

将瘦蛋白3'UTR的两个识别位点(BS1、BS2)区域的基因序列分别或一起克隆入pmiR-RB-Report载体, 进一步构建识别位点突变的报告载体。miR-197-3p模拟物或抑制剂与各报告载体共转染HEK293细胞。结果显示, miR-197-3p模拟物对Leptin-BS1+2-Report荧光素酶活性抑制效果最明显, 对Leptin-BS1-Report、Leptin-BS2-Report均有一定程度抑制。当细胞转染抑制剂后, 荧光素酶活性则出现了上调。同时, 对识别位点突变载体的作用效果不明显(图3C)。

### 3 讨论

有研究表明,代谢性疾病如2型糖尿病和心血管疾病是SCZ的高发因素<sup>[10]</sup>。不少SCZ患者有过多的脂肪组织堆积,成为SCZ发病的重要危险因素之一<sup>[11]</sup>。脂肪组织可分泌炎症因子,提示免疫系统可能和SCZ相关,同时脂肪组织也可分泌瘦蛋白<sup>[12]</sup>。

瘦蛋白是由白色脂肪组织合成的16 kDa类细胞因子小肽、高度亲水,可通过瘦蛋白受体穿过血脑屏障,聚集在下丘脑,控制食欲<sup>[13]</sup>。瘦蛋白缺乏或者突变,可引起重度肥胖、成骨障碍及心血管疾病<sup>[14]</sup>。Stubbs等<sup>[9]</sup>发现,与健康人相比,SCZ患者血清瘦蛋白浓度显著升高,可能与治疗药物引起体重增加有关,但具体的调控机制仍不清楚。本研究主要比较初诊未经治疗的患者与健康人,以避免药物对实验结果的干扰。另一方面,除药物和体重等因素的影响外,SCZ患者可能还存在其他重要因素与瘦蛋白水平相关,如生活方式、糖尿病等<sup>[9]</sup>。国内较多的研究同样认为,药物、体重等因素与SCZ患者的瘦蛋白水平变化相关,但针对瘦蛋白调控机制的研究较少<sup>[15]</sup>。

目前,针对miRNA在精神性疾病中的研究较多,但能进行深入的调控机制研究不多见,多数研究停留在miRNA浓度的变化与疾病的诊断、进展的阶段<sup>[16-17]</sup>。本文首次对miR-197-3p、瘦蛋白和SCZ进行了研究,发现SCZ患者血清中miR-197-3p水平发生显著变化,其可能通过识别瘦蛋白mRNA 3'UTR而调控瘦蛋白水平,在一定程度上证实了它们之间的关系。通过借助生物信息学工具和大量文献资料分析发现,在脂肪细胞模型中,miR-197-3p可调控瘦蛋白。值得关注的是,SCZ患者血清中,miR-197-3p水平发生变化的原因未见报道,可能因为精神性相关疾病的细胞学和动物模型构建较困难,导致了机制研究进展缓慢。我们计划进一步收集更多的病人样本,特别是病人治疗过程中的不同阶段的血清样本,进行相关指标的检测。此外,近年国内某些知名大学已经建立人脑库,期望能获得一些精神相关性疾病的人脑组织,进一步探索miRNA在精神性疾病中变化机制和潜在功能。

综上所述,SCZ患者血清中miR-197-3p水平发生显著变化,其可能通过识别瘦蛋白mRNA 3'UTR而调控瘦蛋白水平。本文为深入研究miRNA在SCZ发病机制中的作用研究提供新思路,同时,血清中

miRNA的变化可能具有辅助临床诊断的潜在应用价值。

### 参考文献 (References)

- 1 Kotlar AV, Mercer KB, Zwick ME, Mulle JG. New discoveries in schizophrenia genetics reveal neurobiological pathways: A review of recent findings. *Eur J Med Genet* 2015; 58(12): 704-14.
- 2 Oertel-Knochel V, Bittner RA, Knochel C, Prvulovic D, Hampel H. Discovery and development of integrative biological markers for schizophrenia. *Prog Neurobiol* 2011; 95(4): 686-702.
- 3 Hommers LG, Domschke K, Deckert J. Heterogeneity and individuality: MicroRNAs in mental disorders. *J Neural Transm (Vienna)* 2015; 122(1): 79-97.
- 4 Lai CY, Yu SL, Hsieh MH, Chen CH, Chen HY, Wen CC, *et al.* MicroRNA expression aberration as potential peripheral blood biomarkers for schizophrenia. *PLoS One* 2011; 6(6): e21635.
- 5 Wei H, Yuan Y, Liu S, Wang C, Yang F, Lu Z, *et al.* Detection of circulating miRNA levels in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2015; 172(11): 1141-7.
- 6 Gardiner E, Beveridge NJ, Wu JQ, Carr V, Scott RJ, Tooney PA, *et al.* Imprinted DLK1-DIO3 region of 14q32 defines a schizophrenia-associated miRNA signature in peripheral blood mononuclear cells. *Mol Psychiatry* 2012; 17(8): 827-40.
- 7 Rizos E, Siafakas N, Katsantoni E, Skourti E, Salpeas V, Rizos I, *et al.* Let-7, mir-98 and mir-183 as biomarkers for cancer and schizophrenia. *PLoS One* 2015; 10(4): e0123522.
- 8 黄远帅,王洁,彭瑛,程松,王开正,白克镇,等.精神分裂症相关miRNA筛查及miR-320a调控ITGB1机制研究. *中国细胞生物学学报*(Huang Yuanshuai, Wang Jie, Peng Ying, Cheng Song, Wang Kaizheng, Bai Kezhen, *et al.* Screening of schizophrenia associated miRNA and the mechanism of miR-320a regulating integrin  $\beta$ 1. *Chinese Journal of Cell Biology*) 2016; 38(3): 285-91.
- 9 Stubbs B, Wang AK, Vancampfort D, Miller BJ. Are leptin levels increased among people with schizophrenia versus controls? A systematic review and comparative meta-analysis. *Psychoneuroendocrinology* 2016; 63: 144-54.
- 10 Mitchell AJ, Vancampfort D, de Herdt A, Yu W, de Hert M. Is the prevalence of metabolic syndrome and metabolic abnormalities increased in early schizophrenia? A comparative meta-analysis of first episode, untreated and treated patients. *Schizophr Bull* 2013; 39(2): 295-305.
- 11 Nurjono M, Neelamekam S, Lee J. Serum leptin and its relationship with psychopathology in schizophrenia. *Psychoneuroendocrinology* 2014; 50: 149-54.
- 12 Beumer W, Drexhage RC, de Wit H, Versnel MA, Drexhage HA, Cohen D. Increased level of serum cytokines, chemokines and adipokines in patients with schizophrenia is associated with disease and metabolic syndrome. *Psychoneuroendocrinology* 2012; 37(12): 1901-11.
- 13 Zhang F, Chen Y, Heiman M, Dimarchi R. Leptin: Structure, function and biology. *Vitam Horm* 2005; 71: 345-72.
- 14 Wittert GA, Turnbull H, Hope P. Exogenously administered leptin leads to weight loss and increased physical activity in

- the marsupial *Sminthopsis crassicaudata*. *Physiol Behav* 2005; 85(5): 613-20.
- 15 于冬梅, 何宇纳, 房红芸, 许晓丽, 王 寻, 于文涛, 等. 2010-2012年中国成年居民食盐摄入状况. *中华预防医学杂志*(Yu Dongmei, He Yuna, Fang Hongyun, Xu Xiaoli, Wang Xun, Yu Wentao, *et al.* Salt intake among Chinese adults in 2010-2012. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*) 2016; 50(3): 217-20.
- 16 Hollins SL, Cairns MJ. MicroRNA: Small RNA mediators of the brains genomic response to environmental stress. *Prog Neurobiol* 2016; 143: 61-81.
- 17 Caputo V, Cioffi A, Macri S, Pizzuti A. The emerging role of MicroRNA in schizophrenia. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2015; 14(2): 208-21.