

[文章编号] 1007-3949(2021)29-05-0405-07

· 临床研究 ·

## 冠心病合并 2 型糖尿病患者血浆 miR-765 水平、临床意义及靶基因功能研究

付 霞<sup>1</sup>, 罗 茂<sup>2</sup>

(1. 四川省简阳市人民医院检验科, 四川省简阳市 641400; 2. 西南医科大学药物研究中心, 四川省泸州市 646000)

[关键词] 冠心病合并 2 型糖尿病; 血浆 miR-765; 临床意义; 生物信息学分析

[摘要] 目的 调查冠心病(CHD)合并 2 型糖尿病(T2DM)患者血浆 miR-765 水平变化及其靶基因功能, 探讨血浆 miR-765 作为 CHD 合并 T2DM 潜在生物标志物的临床意义。方法 收集本院行冠状动脉造影术确诊为 CHD 的患者 56 例, 根据是否合并 T2DM 分为两组: 单纯 CHD 组(CHD 组, 33 例)、CHD 合并 T2DM 组(CHD+T2DM 组, 23 例), 另设冠状动脉造影结果阴性者为对照组(30 例)。采用 Gensini 评分系统评价冠状动脉狭窄程度。实时荧光定量 PCR 检测血浆 miR-765 水平。生物信息学分析方法预测 miR-765 靶基因, 并且进行靶基因 Gene Ontology (GO) 功能注释及编码蛋白质间相互作用(PPI)网络构建。结果 与 CHD 组比较, CHD+T2DM 组 Gensini 评分显著增高。与对照组比较, CHD 组血浆 miR-765 水平显著升高( $P < 0.05$ ); 与 CHD 组比较, CHD+T2DM 组血浆 miR-765 水平显著升高( $P < 0.05$ )。靶基因生物信息学分析共获得 30 个潜在靶标基因, 生物学功能、分子功能和细胞组成分类分析结果表明, miR-765 参与调节细胞形态建成与趋化、炎症、免疫、稳态与转运和蛋白质氨基酸磷酸化等进程, 提示 miR-765 可能调控趋化因子信号通路、钙信号途径和磷脂酰肌醇信号通路。进一步的 PPI 网络分析发现 miR-765 靶基因编码蛋白质间具有复杂的相互作用。结论 CHD 合并 T2DM 患者血浆 miR-765 水平显著升高, 血浆 miR-765 是 CHD 合并 T2DM 患者潜在的临床诊断标志物, 对 CHD 合并 T2DM 具有较高的诊断价值。

[中图分类号] R541.4; R587.1

[文献标识码] A

### Study on plasma miR-765 level, clinical significance and target gene function in patients with coronary heart disease and type 2 diabetes mellitus

FU Xia<sup>1</sup>, LUO Mao<sup>2</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Jianyang People's Hospital of Sichuan Province, Jianyang, Sichuan 641400, China;

2. Pharmaceutical Research Center, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[KEY WORDS] coronary heart disease combined with type 2 diabetes mellitus; plasma miR-765; clinical significance; bioinformatics analysis

[ABSTRACT] Aim To investigate the changes of plasma miR-765 level and its target gene function in patients with coronary heart disease (CHD) and type 2 diabetes mellitus (T2DM), and to explore the clinical significance of plasma miR-765 as a potential biomarker of CHD combined with T2DM. Methods 56 patients with CHD diagnosed by coronary angiography were collected. According to whether T2DM was combined or not, the patients were divided into two groups: simple CHD group (CHD group, 33 cases), CHD combined with T2DM group (CHD+T2DM group, 23 cases). Another 30 cases with negative results of coronary angiography were selected as control group. Gensini scoring system was used to evaluate the degree of coronary artery stenosis. Plasma miR-765 levels were detected by quantitative real-time PCR. Bioinformatics analysis was used to predict the target genes of miR-765, and target genes Gene Ontology (GO) function annotation and coding protein-protein interaction (PPI) network construction were carried out. Results Compared with the CHD group, Gensini score was significantly higher in the CHD+T2DM group. Compared with the con-

[收稿日期] 2020-03-27

[修回日期] 2020-05-30

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81800434); 四川省科技计划项目(2019YJ0487); 泸州市-西南医科大学联合项目(2017LZXNYD-T05)

[作者简介] 付霞, 主管检验师, 研究方向为临床生物化学检验, E-mail 为 fuxia01986@126.com。通信作者罗茂, 博士, 副研究员, 硕士研究生导师, 研究方向为糖尿病血管病变, E-mail 为 wujlab@163.com。

trol group, the plasma miR-765 level of CHD group was significantly higher ( $P<0.05$ ) ; compared with the CHD group, the plasma miR-765 level of CHD+T2DM group was significantly higher ( $P<0.05$ ) . A total of 30 potential target genes were obtained by bioinformatics analysis of target genes. The results of classification analysis of biological function, molecular function and cell composition showed that miR-765 was involved in the regulation of cell morphogenesis and chemotaxis, inflammation, immunity, homeostasis and transport, and protein amino acid phosphorylation, suggesting that miR-765 might regulate chemokine signaling pathway, calcium signaling pathway and phosphatidylinositol signaling pathway. Further PPI network analysis showed that there were complex interactions among the proteins encoded by miR-765 target gene.

**Conclusion** Plasma miR-765 level is significantly increased in CHD patients with T2DM. Plasma miR-765 is a potential clinical diagnostic biomarker in CHD patients with T2DM, which has high diagnostic value for CHD combined with T2DM.

冠心病 (coronary heart disease, CHD) 是由多种危险因素引发的严重威胁人类生命健康的重大疾病<sup>[1]</sup>。2型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是心血管疾病的独立危险因素之一,而 CHD 是 T2DM 患者的主要死亡原因<sup>[2-4]</sup>。CHD 合并 T2DM 是糖尿病极为重要的远期并发症之一,其临床症状多不典型,临床合并症多且复杂,诊治极难,发病率和病死率均明显高于单纯糖尿病患者,预后差。与单纯 CHD 比较,CHD 合并 T2DM 患者冠状动脉弥漫病变更加严重且广泛<sup>[2-4]</sup>。

微小 RNA (microRNA, miRNA, miR) 是一类 9 ~ 25 个碱基长度的内源性小分子非编码 RNA, 在糖尿病及心血管系统疾病的发生发展中具有广泛的调控作用<sup>[5-7]</sup>。近年来,部分研究揭示不同的病理生理状态下循环系统(如血浆、血小板等)中 miRNA 表达谱及调节作用各不相同<sup>[8-11]</sup>。其中,部分循环 miRNA 的特异性异常表达与心血管疾病的发生、发展密切相关,提示循环 miRNA 可作为心血管疾病临床早期诊断、治疗及预后监测的生物标志物<sup>[12-14]</sup>。

研究表明,循环 miR-765 在冠状动脉粥样硬化的形成过程中发挥着重要调控作用,其中血浆 miR-765 可能是 CHD 早期的风险预测因子<sup>[15-16]</sup>。深入研究血浆 miR-765 在 CHD 尤其是 CHD 合并 T2DM 患者中的水平变化及其临床意义,将有助于筛查 CHD 合并 T2DM 患者临床早期特异性诊治生物标志物。本研究旨在通过检测 CHD、CHD 合并 T2DM 患者血浆中循环 miR-765 水平变化及差异,评估血浆 miR-765 水平与 CHD 及 CHD 合并 T2DM 的关系,进一步进行 miR-765 靶基因预测及功能分析,从而为临床 CHD 及 CHD 合并 T2DM 患者的病情评估与诊断治疗提供新的途径及理论依据。

## 1 资料和方法

### 1.1 试剂与仪器

Trizol (Invitrogen 公司); Mir-X™ miRNA First-

Strand Synthesis 试剂盒 (Clontech 公司); SYBR PrimeScript™ RT (Perfect Real Time) 试剂盒及 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O (TaKaRa 公司); 无水乙醇、氯仿、异丙醇 (上海虹光化工公司); 其他试剂均为进口产品或国产分析纯产品。CFX96 Touch 实时荧光定量 PCR 仪 (Bio-Rad 公司); 冷冻离心机 (Eppendorf Centrifuge 5804R); 凝胶成像系统 (Bio-Rad Gel DocXR); ND-1000 微量紫外可见分光光度计 (Nano-Drop 公司); -80 ℃超低温冰箱 (Thermo Scientific 公司)。所用吸头、EP 管 (Axygen 公司) 等经 0.1% 焦碳酸二乙酯浸泡 24 h 后, 121 ℃高压高温灭菌, 45 ℃烘干备用。miR-765 的茎环 RT 引物和上、下游引物由 Invitrogen 公司合成 (表 1)。

表 1. 引物序列

Table 1. Primer sequence

项目	引物序列
miR-765 茎环 RT 引物	5'-CTCAACTGGTGTGAGTCGG CAATTCACTTGATCACCTT-3'
miR-765 上游引物	5'-ACACTCCAGCTGGGTGGAGGAGA AGG-3'
miR-765 下游引物	5'-CTCAACTGGTGTGCGTGGGA-3'
U6 茎环 RT 引物	5'-GTCGTATCCACTGCAGGGTCCGA GGTATTTCGCACTGGATACGACAAAA TATGGAAC-3'
U6 上游引物	5'-TGGGGTGCTCGCTTCGGCAGC-3'
U6 下游引物	5'-CCAGTGCAGGGTCCGAGGT-3'

### 1.2 研究对象及分组

本研究经本院伦理委员会批准,所有入选人群均遵循自愿参加原则,签署知情同意书。选取在本院行冠状动脉造影术的患者 65 例,其中 56 例 CHD 确诊患者进一步根据冠状动脉造影结果、患者病史及糖尿病诊断标准分为:(1)单纯 CHD 组 (CHD 组),33 例,冠状动脉造影结果显示至少 1 支冠状动脉管腔直径狭窄 >50%;(2)CHD 合并 T2DM 组

(CHD+T2DM 组),23 例,冠状动脉造影结果显示至少 1 支冠状动脉管腔直径狭窄 >50%,且依据 2010 年《中国 2 型糖尿病防治指南》诊断为 T2DM。另设对照组 30 例,有不明原因胸闷,经常规检查无异常,冠状动脉造影结果阴性。排除标准:血液疾病、感染性疾病、甲状腺疾病、肝肾功能不全、自身免疫性疾病、恶性肿瘤及心功能不全等。

### 1.3 临床资料收集和生物化学指标检测

收集研究对象的临床资料。各组受试者空腹采集静脉血 2 mL,4 ℃ 3 000 r/min 离心 15 min,分离上层血浆后再次 4℃ 12 000 r/min 离心 10 min 后,所获血浆标本分装于无 RNAase/DNAase 的 EP 管内,-80 ℃ 冰箱保存待用。测定受试对象生物化学指标,并且进行口服葡萄糖耐量测试。

### 1.4 冠状动脉病变程度评价

冠状动脉病变狭窄程度采用 Gensini 评分标准:内径狭窄 ≤25% 为 1 分,26% ~50% 为 2 分,51% ~75% 为 4 分,76% ~90% 为 8 分,91% ~99% 为 16 分,100% 为 32 分,最终积分为各主要分支的积分之和。

### 1.5 血浆 miR-765 水平检测

各组取 300 μL 血浆,按 Trizol LS 试剂盒说明书提供的方法提取总 RNA,并且使用 NanoDrop 1000 检测总 RNA 的浓度,采用  $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$  判断所提取 RNA 的质量。应用 Mir-X™ miRNA First-Strand Synthesis and SYBR® qRT-PCR 试剂盒和茎环 (Stem-loop) RT 引物制备 cDNA,以 U6 为内参,Stem-loop qRT-PCR 检测血浆 miR-765 水平。扩增条件为 95 ℃ 预变性 10 min,95 ℃ 变性 5 s,60 ℃ 复性 30 s,72 ℃ 延伸 10 s,共进行 39 个循环,72 ℃ 延伸 2 min 后,60 ℃ 到 95 ℃ 绘制融解曲线。应用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算 miR-765 水平,每个样品重复 3 次。

### 1.6 靶基因的预测及 Gene Ontology (GO) 分析

应用在线软件 miRBase (<http://www.mirbase.org/>) 获得 miR-765 基本信息,TargetScan 7.1 (<http://www.targetscan.org/>) 在线进行靶基因预测,结果提交 miRTarBase (<http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/>) 与已证实的靶基因进行比对,筛选候选靶基因。通过 DAVID 基因数据库 (<http://david.ncifcrf.gov/>) 对靶基因生物学过程 (biological process, BP) 和分子功能 (molecular function, MF) 进行 GO 注释层次分类及富集分析和显著性分析,以  $P<0.01$  为显著性阈值,分别得到相对于背景具有统计学意义的高频率注释。

### 1.7 靶基因的 KEGG 通路分析

利用 KEGG 数据库中的 Pathway 子数据库 (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>) 对表型转化相关 miRNA 的部分靶基因进行信号转导通路富集分析。通过 Fisher Exact Test 计算  $P$  值,以  $P<0.05$  为显著性阈值,获得相对于背景具有统计学意义的基因集合信号转导通路。

### 1.8 PPI 网络构建

将所预测的靶基因导入 String 数据库 (<http://www.string-db.org/>) 进行蛋白互作预测,导出互作关系的文件从而获得靶基因集合编码蛋白质间相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 网络图。

### 1.9 统计学分析

所有数据采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析。年龄、生物化学指标等数据采用  $\bar{x}\pm s$  表示,各组间比较用单因素方差分析,两两比较采用 SNK-q 检验,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 研究对象临床资料比较

各组间年龄、性别、体质质量指数 (body mass index, BMI)、收缩压 (systolic blood pressure, SBP)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC) 和高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC) 等差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。与对照组和 CHD 组比较,CHD+T2DM 组患者的吸烟史、舒张压 (diastolic blood pressure, DBP)、空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG)、餐后 2 h 血糖 (2 hour post-prandial plasma glucose, 2hPPG)、甘油三酯 (triglyceride, TG) 和糖化血红蛋白 (glycosylated hemoglobin A1, HbA1c) 水平均显著升高 ( $P<0.05$ );与对照组比较,CHD 组的吸烟比例和 DBP 水平显著升高, FPG、2hPPG 水平无明显变化;与 CHD 组比较,CHD+T2DM 组 Gensini 评分显著增高,提示 CHD+T2DM 组冠状动脉病变程度比 CHD 组更严重(表 2)。

### 2.2 血浆 miR-765 水平的变化

应用 Stem-loop qRT-PCR 检测各组血浆 miR-765 水平,结果表明,与对照组和 CHD 组比较,CHD+T2DM 组血浆 miR-765 水平显著升高 ( $P<0.05$ );与对照组比较,CHD 组血浆 miR-765 水平显著升高 ( $P<0.05$ )。提示血浆 miR-765 水平与冠状动脉病变密切相关,尤其以 CHD+T2DM 组血浆 miR-765 水平最高(图 1)。

表 2. 各组临床资料比较

Table 2. Comparison of clinical data in each group

项目	对照组 (n=30)	CHD 组 (n=33)	CHD+T2DM 组 (n=23)
男/女/例	16/14	17/16	11/12
年龄/岁	58.3±7.5	59.8±6.7	61.8±8.2
吸烟史/[例(%)]	6(20.0)	11(33.3) <sup>a</sup>	13(56.5) <sup>ab</sup>
BMI/(kg/m <sup>2</sup> )	25.2±2.7	25.6±3.0	25.8±2.9
TG/(mmol/L)	1.4±0.6	1.6±1.2	2.0±1.5 <sup>ab</sup>
TC/(mmol/L)	4.2±0.7	4.1±0.8	4.3±0.9
LDLC/(mmol/L)	2.4±0.8	2.5±1.0	2.6±1.1
HDLC/(mmol/L)	1.0±0.2	1.1±0.3	1.1±0.3
FPG/(mmol/L)	5.5±0.8	5.6±1.1	8.5±3.2 <sup>ab</sup>
2hPPG/(mmol/L)	7.7±1.2	8.3±2.2	12.9±5.4 <sup>ab</sup>
SBP/mmHg	129.8±12.6	130.5±13.4	133.6±14.3
DBP/mmHg	76.8±8.5	80.8±7.5 <sup>a</sup>	82.4±9.8 <sup>ab</sup>
HbA1c/%	5.9±0.6	6.0±0.7	8.9±1.1 <sup>ab</sup>
Gensini 评分/分	0	48.5±9.2 <sup>a</sup>	65.7±9.8 <sup>ab</sup>

注:a 为 P<0.05,与对照组比较;b 为 P<0.05,与 CHD 组比较。

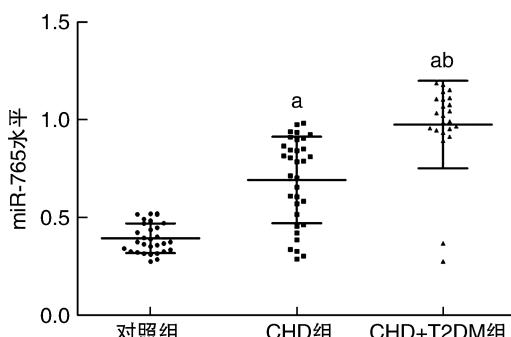


图 1. 各组血浆 miR-765 水平

a 为 P<0.05,与对照组比较;b 为 P<0.05,与 CHD 组比较。

Figure 1. Plasma miR-765 levels in each group

### 2.3 miR-765 靶基因预测、GO 生物学功能注释和信号通路分析

应用 TargetScan 7.1 在线预测 miR-765 靶基因,并且结果提交 miRTarBase 数据库(该数据库提供已被证实的 miRNA 确切靶基因)比对,共获得 miR-765 的候选靶基因 30 个(表 3),说明靶基因预测是比较准确的。进一步,应用 DAVID 和 Gene Ontology (GO) 数据库对所获 miR-765 候选靶基因进行 GO 生物学功能注释及富集分析结果发现,从生物学功能看(图 2A),miR-765 靶基因主要参与细胞形态建成、趋化、黏附、周期、增殖和神经元细胞发育及分化,细胞金属离子稳态及囊泡介导转运,炎症反应、免疫反应及蛋白质氨基酸磷酸化的调节;从分子功

能看(图 2B),miR-765 靶基因能够调控细胞周期蛋白依赖性蛋白激酶、丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶、磷脂酰肌醇活性和细胞骨架蛋白以及趋化因子及其受体;从细胞组成看(图 2C),miR-765 靶基因还涉及细胞质膜、突触小体、核周胞质、被膜小泡、高尔基体等成分;KEGG 信号通路分析结果显示(图 2D),miR-765 靶基因信号转导通路主要富集于趋化因子信号通路、钙信号途径、磷脂酰肌醇信号系统等。综合上述结果提示,miR-765 可能参与糖尿病血管病变的发生发展过程,在炎症反应、免疫反应及细胞活性中发挥重要的调控作用。

表 3. TargetScan 7.1 和 miRTarBase 预测 miR-765 的靶基因

Table 3. Target genes of miR-765 predicted by TargetScan7.1 and miRTarBase

数据库登录号	靶基因	靶基因功能描述
ENSG00000115353	TACR1	速激肽受体 1
ENSG00000220205	VAMP2	小泡相关膜蛋白 2
ENSG00000275302	CCl4	趋化因子(C-C 基序)配体 4
ENSG00000109743	BST1	骨髓基质细胞抗原 1
ENSG00000169403	PTAFR	血小板活化因子受体
ENSG00000197879	MYO1C	肌浆球蛋白 1C
ENSG00000106328	FSCN3	肌动蛋白集束蛋白 3
ENSG00000124507	PACSIN1	神经元蛋白激酶 C 酶蛋白激酶底物 1
ENSG00000123374	CDK2	细胞周期蛋白依赖性激酶 2
ENSG00000033327	GAB2	生长因子受体结合蛋白 2
ENSG00000107562	CXCL12	趋化因子(C-X-C 基序)配体 12
ENSG00000179934	CCR8	趋化因子(C-C 基序)受体 8
ENSG00000105810	CDK6	细胞周期蛋白依赖性激酶 6
ENSG00000132639	SNAP25	突触小体相关蛋白 25
ENSG00000185133	INPP5J	肌醇多磷酸-5-磷酸酶 J
ENSG00000162188	GNG3	G 蛋白偶联受体 3
ENSG00000127928	GNNT1	G 蛋白亚单位 γ 转导蛋白 1
ENSG00000135823	STX6	突触融合蛋白 6
ENSG00000026508	CD44	CD44 分子
ENSG00000167258	CDK12	细胞周期蛋白依赖性激酶 12
ENSG00000175567	UCP2	解偶联蛋白 2
ENSG00000126583	PRKCG	蛋白激酶 C
ENSG00000139190	VAMP1	小泡相关膜蛋白 1
ENSG00000129422	MTUS1	微管相关支架蛋白 1
ENSG00000100823	APEX1	APEX1 蛋白
ENSG00000109452	INPP4B	肌醇多聚磷酸-4-磷酸 II B
ENSG00000058085	LAMC2	层黏连蛋白亚基 γ2
ENSG00000142227	EMP3	上皮细胞膜蛋白 3
ENSG00000114315	HES1	Hes 家族 bHLH 转录因子 1
ENSG00000110693	SOX6	SRY-Box 转录因子 6

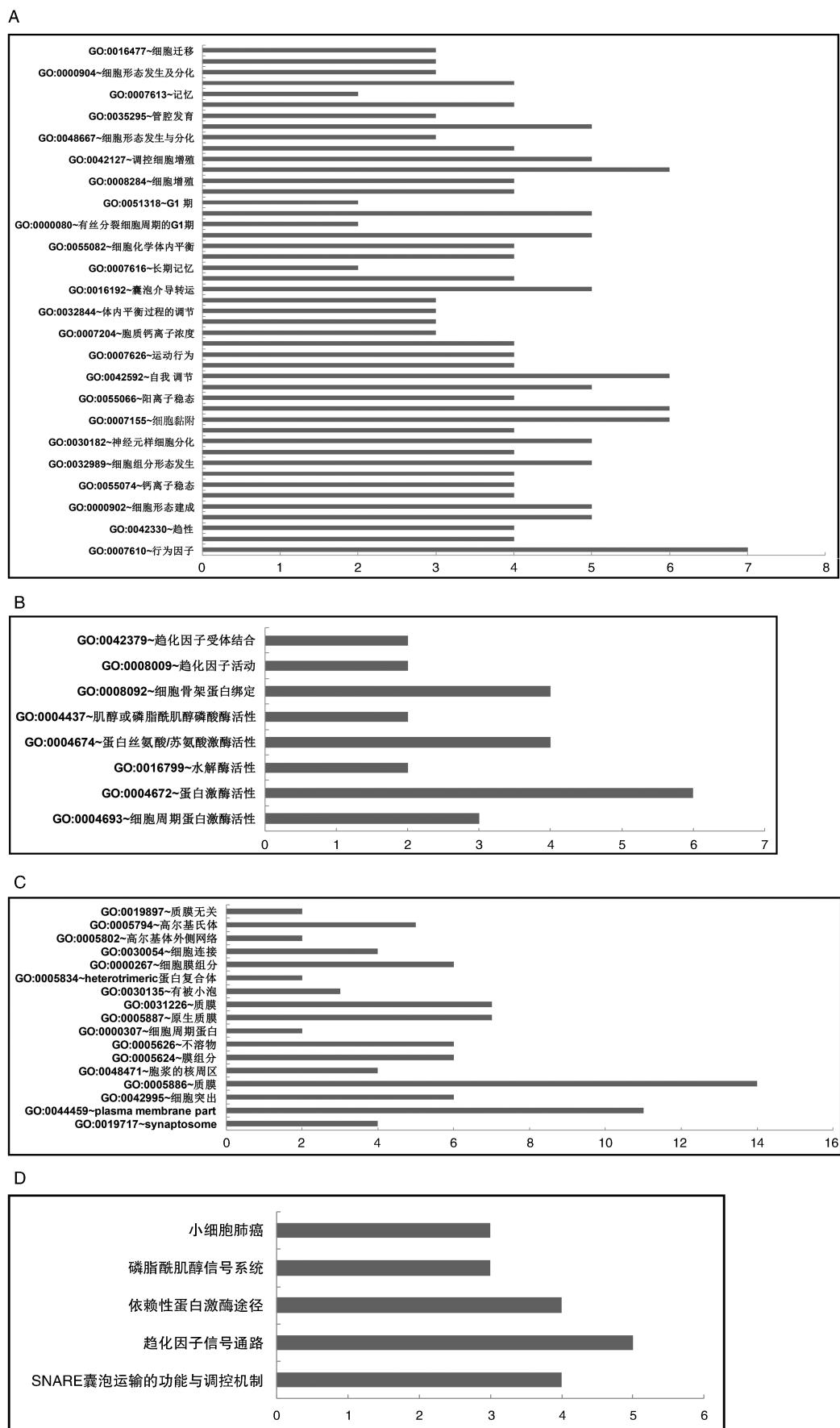


图 2. miR-765 靶基因 GO 功能注释

Figure 2. GO function annotation of miR-765 target genes

## 2.4 miR-765 靶基因编码蛋白质间的相互作用预测及信号转导通路分析

将 miR-765 候选靶基因(表 3)导入 String 数据库在线分析靶基因编码蛋白质间的相互作用,进而构建 miR-765 靶基因 PPI 网络图,结果见图 3。miR-765 靶基因编码蛋白质间具有复杂的相互作用,在网络中节点排前几位的靶基因分别是血小板

活化因子受体 (platelet activating factor receptor, PTAFR)、速激肽受体 1 (tachykinin receptor 1, TACR1)、突触小体相关蛋白 25 (synaptosome associated protein 25, SNAP25) 和细胞周期蛋白依赖性激酶 6 (cyclin dependent kinase 6, CDK6) 等,它们编码的蛋白质在相互作用网络图中发挥稳定结构的作用。

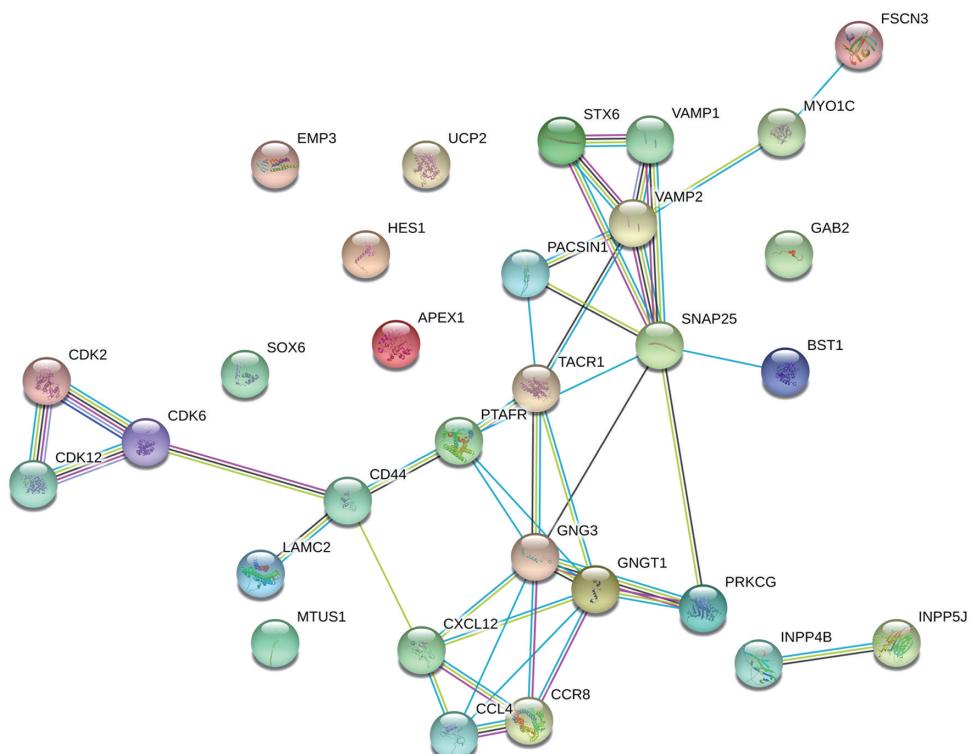


图 3. miR-765 靶基因 PPI 网络图  
Figure 3. PPI network of miR-765 target genes

## 3 讨 论

冠心病与糖尿病关系紧密,一方面,CHD 患者常发生不同程度的糖脂代谢障碍;另一方面,糖尿病患者由于糖脂代谢紊乱和血压异常易导致心血管并发症例如 CHD 合并 T2DM,最终促进了 CHD 的发生和发展<sup>[1-4]</sup>。近年研究指出,循环 miRNA 稳定性高、特异性好,可作为糖尿病及其心血管类并发症早期诊断、治疗及预后的生物标志物。目前,循环 miRNA 增强或抑制物的筛查与研发工作已成为临床研究的新方向和热点<sup>[8-14]</sup>。miR-765 在多种疾病中均有异常表达,其参与对细胞的生长、增殖、发育和凋亡等调节过程,并且与肿瘤、CHD 及颅脑创伤等疾病密切相关<sup>[15-18]</sup>。例如,Redell 等<sup>[15]</sup>研究发现血浆 miR-765 水平升高可作为颅脑创伤患者严

重程度的生物标志物;Ali Sheikh 等<sup>[16]</sup>研究发现血浆 miR-765 和 miR-149 水平变化可作为老年 CHD 诊断的非侵入性生物标志物。然而,糖尿病及其心血管并发症中血浆 miR-765 水平变化及其临床意义仍不清楚,有待进一步探究。本研究在 CHD 组和 CHD+T2DM 组血浆中均检测到 miR-765 水平明显升高,且 CHD+T2DM 组中 miR-765 水平升高更为显著,提示血浆 miR-765 水平升高可能是 CHD 合并 T2DM 发生发展的重要危险因素。

miRNA 具有调控多个基因的功能,其调控方式导致 miRNA 的功能颇具复杂性。目前,生物信息学分析方法在 miRNA 研究中迅猛发展,其可通过针对基因信息的分析和处理进而为下一步实验提供指导。已有研究揭示循环 miR-765 可作为中老年人群冠状动脉疾病早期诊断的分子标志物<sup>[16]</sup>,然而其生

生物学功能尚未阐述清楚。为更进一步查明 miR-765 的生物学特征及功能,本研究应用生物信息学分析手段共获得 30 个靶基因,应用 DAVID 和 Gene Ontology(GO)数据库对所获 miR-765 候选靶基因进行 GO 生物学功能注释及富集分析,生物学功能、分子功能和细胞组成分类分析结果表明,miR-765 参与调节细胞形态建成与趋化、炎症、免疫、稳态与转运和蛋白质氨基酸磷酸化等进程,提示 miR-765 可能通过调控趋化因子信号通路、钙信号途径和磷脂酰肌醇信号通路等,进而参与调节糖尿病及心血管疾病血管病变的发生发展,在机体炎症反应、免疫反应和细胞活性等中扮演着重要的调控角色。进一步的 PPI 网络分析发现 miR-765 靶基因编码蛋白质间具有复杂的相互作用,其网络中节点排前几位并且发挥稳定结构作用的靶基因分别是 PAFR、TACR1、SNAP25 和 CDK6。

血浆 miR-765 有潜力运用于 CHD 合并 T2DM 的早期筛查、诊断及治疗与预后评价等,它是 CHD 合并 T2DM 诊治的有效分子标志物。同时,本研究结果也发现血浆 miR-765 水平升高与 CHD 发生密切相关,提示血浆 miR-765 也可在一定程度作为 CHD 诊断的生物标志物;这一研究结果也与 Ali Sheikh 等<sup>[16]</sup>的研究结果相一致。

综上提示,血浆 miR-765 水平升高极可能是 CHD 合并 T2DM 发生发展过程中的一个重要的生物预警,对 CHD 合并 2DM 的早期诊断和预防具备一定的警示作用。然而,仍需扩大临床样本量,并且更加深入调查血浆 miR-765 在 CHD 合并 2DM 发生中的具体分子调控机制。本研究结果为后续 miR-765 生物学功能的研究奠定了基础。

#### [参考文献]

- [1] Myerburg RJ, Junnila MJ. Sudden cardiac death caused by coronary heart disease [J]. Circulation, 2012, 125 (8): 1043-1052.
- [2] Beckman JA, Paneni F, Cosentino F, et al. Diabetes and vascular disease: pathophysiology, clinical consequences, and medical therapy: part II [J]. Eur Heart J, 2013, 34 (31): 2444-2452.
- [3] Mann JI. Diet and risk of coronary heart disease and type 2 diabetes [J]. Lancet, 2002, 360(9335): 783-789.
- [4] Hurst RT, Lee RW. Increased incidence of coronary atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus: mechanisms and management [J]. Ann Intern Med, 2003, 139(10): 824-834.
- [5] Zhang Y, Sun X, Icli B, et al. Emerging roles for microRNAs in diabetic microvascular disease: novel targets for therapy [J]. Endocr Rev, 2017, 38(2): 145-168.
- [6] Feinberg MW, Moore KJ. MicroRNA regulation of atherosclerosis [J]. Circ Res, 2016, 118(4): 703-720.
- [7] 谭宏伟, 许春容, 王刚, 等. 微小 RNA 对血管重塑的调节作用及研究进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(12): 1094-1100.
- [8] Luo M, Xu C, Luo Y, et al. Circulating miR-103 family as potential biomarkers for type 2 diabetes through targeting CAV-1 and SFRP4 [J]. Acta Diabetol, 2020, 57 (3): 309-322.
- [9] 王成, 张春妮. 微小核糖核酸与心血管系统的生理病理关系 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2009, 17(1): 73-77.
- [10] Luo M, Wang G, Xu C, et al. Circulating miR-30c as a predictive biomarker of type 2 diabetes mellitus with coronary heart disease by regulating PAI-1/VN interactions [J]. Life Sci, 2019, 239: 117092.
- [11] Luo M, Li R, Ren M, et al. Hyperglycaemia-induced reciprocal changes in miR-30c and PAI-1 expression in platelets [J]. Sci Rep, 2016, 6: 36687.
- [12] Jiménez-Lucena R, Rangel-Zúñiga OA, Alcalá-Díaz JF, et al. Circulating miRNAs as predictive biomarkers of type 2 diabetes mellitus development in coronary heart disease patients from the CORDIOPREV study [J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2018, 12: 146-157.
- [13] 方丹, 邓鑫, 贺朝晖, 等. 糖尿病合并冠心病患者血清标记物 miR-24 的变化及其临床意义 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(5): 491-496.
- [14] Karakas M, Schulte C, Appelbaum S, et al. Circulating microRNAs strongly predict cardiovascular death in patients with coronary artery disease—results from the large AtheroGene study [J]. Eur Heart J, 2017, 38(7): 516-523.
- [15] Redell JB, Moore AN, Ward NH 3rd, et al. Human traumatic brain injury alters plasma microRNA levels [J]. J Neurotrauma, 2010, 27(12): 2147-2156.
- [16] Ali Sheikh MS, Xia K, Li F, et al. Circulating miR-765 and miR-149: potential noninvasive diagnostic biomarkers for geriatric coronary artery disease patients [J]. Biomed Res Int, 2015, 2015: 740301.
- [17] Wang T, Zhang C, Wu C, et al. miR-765 inhibits the osteogenic differentiation of human bone marrow mesenchymal stem cells by targeting BMP6 via regulating the BMP6/Smad1/5/9 signaling pathway [J]. Stem Cell Res Ther, 2020, 11(1): 62.
- [18] Cai WF, Liu GS, Lam CK, et al. Up-regulation of microRNA765 in human failing hearts is associated with post-transcriptional regulation of protein phosphatase inhibitor-1 and depressed contractility [J]. Eur J Heart Fail, 2015, 17(8): 782-793.

(此文编辑 曾学清)