

本文引用: 葛海静, 吕欣桐, 何涛, 等. 循环 miR-135a 水平与 HDL 抗氧化功能的关联性[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(3): 198-204.

• HDL 专栏 •

[文章编号] 1007-3949(2022)30-03-0198-07

循环 miR-135a 水平与 HDL 抗氧化功能的关联性

葛海静¹, 吕欣桐², 何涛¹, 喻红², 鲁志兵¹, 杜芬²

(1. 武汉大学中南医院心血管内科 武汉大学心肌损伤与修复研究所, 2. 武汉大学基础医学院
湖北省发育源性疾病重点实验室, 湖北省武汉市 430071)

[关键词] miR-135a; 冠状动脉粥样硬化性心脏病; 失功能 HDL; 对氧磷酶 1

[摘要] **目的** 研究血浆高密度脂蛋白(HDL)功能与循环微小 RNA(miRNA)水平的相关性。**方法** 利用失功能 HDL 模型小鼠清道夫受体 B 族 I 型缺陷(SR-B I^{-/-})小鼠发掘特异性 miRNA 谱的变化;收集 30 例 2020 年 9 月—2021 年 5 月就诊于武汉大学中南医院心血管内科的冠状动脉粥样硬化性心脏病(CAD)患者血浆并检测 miRNA 的变化,对照组为同时期住院的非 CAD 患者,两组血浆高密度脂蛋白胆固醇(HDLC)水平均高于 1.04 mmol/L。**结果** 与野生型小鼠相比,SR-B I^{-/-}小鼠血浆 miR-135a 水平显著减少。与对照组相比,CAD 组血浆对氧磷酶 1(PON-1)活性降低;对照组 PON-1 活性与 HDLC 水平正相关,但 CAD 组 PON-1 活性与 HDLC 水平无相关性。CAD 组血浆 miR-135a 水平降低,且与 PON-1 活性正相关。CAD 组血浆 miR-17 显著降低,miR-223 和 miR-760 水平显著升高,但与 HDLC 水平或血浆 PON-1 活性均无相关性。**结论** 高 HDLC 的 CAD 患者血浆 miR-135a 水平明显降低,且与 PON-1 活性正相关,可能与 HDL 抗氧化能力有关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Correlation between circulating miR-135a level and antioxidant function of HDL

GE Haijing¹, LÜ Xintong², HE Tao¹, YU Hong², LU Zhibing¹, DU Fen²

(1. Department of Cardiology, Zhongnan Hospital of Wuhan University & Institute of Myocardial Injury and Repair of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430071, China; 2. School of Basic Medical Sciences, Wuhan University & Hubei Provincial Key Laboratory of Developmentally Originated Disease, Wuhan, Hubei 430071, China)

[KEY WORDS] miR-135a; coronary artery disease; dysfunctional HDL; paraoxonase 1

[ABSTRACT] **Aim** To study the correlation between the antioxidation of plasma high density lipoprotein (HDL) and circulating microRNA (miRNA). **Methods** Scavenger receptor group B type I deficient (SR-B I^{-/-}) mice as dysfunctional HDL model mice were used to explore the changes of specific miRNA spectrum. From September 2020 to May 2021, 30 patients with coronary artery disease (CAD) were enrolled in the Department of Cardiology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, non-CAD patients in the same period as control group, both groups with HDL cholesterol (HDLC) higher than 1.04 mmol/L. **Results** Compared with wild-type mice, the plasma miR-135a in SR-B I^{-/-} mice decreased significantly. Plasma paraoxonase 1 (PON-1) activity decreased in CAD patients, PON-1 activity in control group was positively correlated with HDLC level, but not in CAD group. The plasma miR-135a level in CAD patients also decreased, and was positively correlated with PON-1 activity. In CAD group, the level of plasma miR-17 decreased significantly, and the levels of miR-223 and miR-760 increased significantly, but there was no correlation with HDLC level or plasma PON-1 activity. **Conclusion** The level of plasma miR-135a decreased significantly in CAD patients with high HDLC, and was positively correlated with PON-1 activity, which may be related to the antioxidant function of HDL.

[收稿日期] 2021-07-29

[修回日期] 2021-10-21

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81670412、81670423);武汉大学中南医院转化医学及交叉研究联合基金项目(ZNLH201907)

[作者简介] 葛海静,硕士研究生,研究方向为动脉粥样硬化分子机制与防治,E-mail 为 2014302180308@whu.edu.cn。通信作者杜芬,博士,副教授,硕士研究生导师,研究方向为动脉粥样硬化分子机制与防治,E-mail 为 fen.du@whu.edu.cn。通信作者鲁志兵,博士,教授,博士研究生导师,研究方向为心律失常,E-mail 为 luzhibing222@163.com。

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)导致的冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary artery disease, CAD)是全世界死亡率和发病率最高的疾病^[1]。高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)具有介导胆固醇逆向转运、抗氧化、抗炎等多种保护血管壁细胞的功能,是 As 负相关因素。炎症、氧化应激、血脂紊乱等环境可引起 HDL 病理性修饰, HDL 转变为具有致 As 性质的“失功能”HDL^[2],其抗炎抗氧化能力均降低。

miRNA 是约 22 nt 的小分子单链 RNA,在种属间高度保守,参与调控炎症反应等细胞机制,影响 As 的发生发展^[3]。循环 miRNA 作为内分泌和旁分泌信使,促进细胞和组织之间的通信,并且与冠心病的发生发展密切相关^[4],可作为疾病的生物标志物。近年研究发现,循环 miRNA 可以结合在 HDL 上,并被运输到靶细胞发挥作用^[5], HDL 中携带的这些 miRNA 具有与 As 形成相关的重要生物学效应^[6],例如 HDL 携运 miR-223 进入内皮细胞并抑制细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)表达,从而表现抗炎特性^[7]。但 HDL 的抗炎抗氧化水平与循环 miRNA 水平的相关性还有待进一步研究。

高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLc)通过清道夫受体 B 族 I 型(scavenger receptor class B type I, SR-B I)摄取, SR-B I 突变基因的携带者具有“失功能”HDL 的表型^[8]。本研究组前期利用 SR-B I 基因缺陷(SR-B I^{-/-})小鼠鉴定了“失功能”HDL 的蛋白组分及酶学变化,发现其 HDL 的抗氧化水平较低^[9],其重要指标对氧磷酶 1(paraoxonase 1, PON-1)活性显著降低。因此,本研究拟利用 SR-B I^{-/-}小鼠和高 HDLc 水平的 CAD 患者探索血浆 miRNA 水平与 HDL 抗氧化水平的相关性。本研究将促进 HDL-miRNA 作为新的疾病生物标志物的开发,以应用于预防和治疗心血管代谢性疾病。

1 资料和方法

1.1 实验动物

C57BL/6 野生型小鼠, SPF 级,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,动物许可证号为 SCXK(鄂)2015-0018。C57BL/6×S129 遗传背景的杂合子 SR-B I^{+/-}小鼠由美国麻省理工学院 Monty Krieger 教授提供。SR-B I 纯合子(SR-B I^{-/-})小鼠通过杂

合子配对或雌性杂合子(SR-B I^{+/-})和雄性纯合子(SR-B I^{-/-})杂交产生。采用聚合酶链反应技术对从鼠尾标本中提取的 DNA 进行分析,确定 SR-B I 基因型。所有小鼠均按照医学动物护理和福利委员会(2014 年 1 月 26 日)的动物护理和实验程序被安置在 SPF 级的微型隔离器笼中,以普通啮齿动物饲料喂养。

1.2 实验试剂和仪器

TRIzol™ LS 试剂购自美国 Ambion 公司, Ezol 试剂盒、Hairpin-it™ miRNA 定量试剂盒购自上海吉玛制药技术有限公司, Glycogen 购自大连美仑生物技术有限公司, tRNA 购自美国 Sigma-Aldrich 公司, SYBR Green Real-time PCR Master Mix 购自日本 TOYOBO 公司, miRNA 引物均购自北京擎科生物科技有限公司, qPCR 分析仪购自德国 Eppendorf 公司。

1.3 血浆 miRNA 的提取及 qPCR 检测

小鼠麻醉后经眶后静脉丛穿刺取血,于 4 000×g、4℃离心 10 min。取上层血浆与 TRIzol™ LS 试剂充分混合^[10],并加入 5 g/L 糖原和 20 μg/L tRNA 增强 miRNA 沉淀。Ezol 试剂盒提取细胞总 RNA,用反转录酶 M-MLV 试剂盒生成 cDNA。利用 Hairpin-it™ miRNA qPCR 定量试剂盒检测 miRNA 水平。以 U6 作为内源性对照,定量 miRNA 的相对表达用 2^{-ΔΔCt}法计算。

1.4 临床研究

1.4.1 研究对象 选取 2020 年 9 月—2021 年 5 月就诊于武汉大学中南医院心血管内科的 CAD 患者,纳入标准:①50 岁<年龄≤80 岁;②均首次行冠状动脉造影(coronary angiography, CAG)检查;③临床资料齐全。排除标准:合并感染、恶性肿瘤或血液系统疾病患者;合并严重肝肾功能不全者;妊娠或哺乳期妇女;既往行冠状动脉支架植入或冠状动脉搭桥术患者;近 3 个月内服用影响血脂药物者。最终入选 30 例患者。对照组为同时期非 CAD 就诊患者,纳入标准:①50 岁<年龄≤80 岁;②临床资料齐全。排除标准:既往有心脑血管疾病史患者,既往行冠状动脉支架植入或冠状动脉搭桥术患者;既往高血脂患者;近 3 个月内服用影响血脂药物者;合并感染、恶性肿瘤或血液系统疾病患者;合并严重肝肾功能不全者;妊娠或哺乳期妇女。最终入选 30 例患者。本研究获得武汉大学中南医院医学伦理委员会的批准同意,所有参与研究的患者均签署知情同意书。

1.4.2 一般资料收集及实验室检查 收集各组

患者的临床基线资料,包括冠心病相关危险因素以及相关生物化学指标等。入选患者均接受以 ESC 指南为依据的规范化诊疗^[11]。入选患者均于冠状动脉造影术前禁食 8 h 后采集血样,采用贝克曼 5821 全自动生化分析仪检测血清总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、HDL 水平及相关生物化学指标。

1.4.3 PON-1 活性检测 以对氧磷为底物, PON-1 将其水解为对硝基酚黄色产物,使用酶标仪在波长 405 nm 处,采用连续监测法,读取 4 min 内对硝基酚生成量的 15 次变化,根据 14 次差值,计算评价血浆样品中 PON-1 活性。以每升血浆每分钟生成对硝基酚的微摩尔数 [$\mu\text{mol}/(\text{min} \cdot \text{L})$] 表示 1 个酶活性单位值 (KU/L)^[9]。

1.5 生物信息学分析

利用在线 miRNA 靶基因预测工具 Starbase (<http://starbase.sysu.edu.cn/>) 获取 hsa-miR-135a 预测的靶基因,将 3 个数据库的预测结合信息集合进行结合关联分析。利用 STRING (<http://www.string-db.org>) 数据库构建蛋白质相互作用网络 (Protein-Protein Interaction Networks, PPI), 利用 Cytoscape 3.8.0 软件分析获取关键调控基因。家族性高胆固醇血症 HDL-miRNA 表达谱 (GSE25108) 和人 As 斑块基因表达谱 mRNA (GSE24702) 表达芯片矩阵文件和芯片探针注释文件来源于美国国立生物技术

信息中心 (National Center of Biotechnology Information, NCBI) 平台下的基因表达综合数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO)。

1.6 统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计处理。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组均数间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以率或百分数表示,采用 χ^2 检验。非正态分布以中位数及四分位数表示,采用 Mann-Whitney U 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠血浆 miRNA 表达水平

本研究分析了家族性高胆固醇血症患者血浆中差异表达 HDL-miRNA (GSE25108), 利用普通饲料喂养的 6 月龄 SR-B I^{-/-} 小鼠和野生型小鼠的血浆探索差异 miRNA 水平与低 HDL 抗氧化功能的关系。结果发现, SR-B I^{-/-} 小鼠血浆 miR-135a 水平显著降低, miR-223 水平显著升高, 与家族性高胆固醇血症患者表现一致; miR-17 和 miR-760 在 SR-B I^{-/-} 小鼠血浆中显著升高, 与家族性高胆固醇血症患者表现相反 (图 1)。雌性小鼠和雄性小鼠 miRNA 的变化一致, 表明性别对血浆 miRNA 水平无影响。

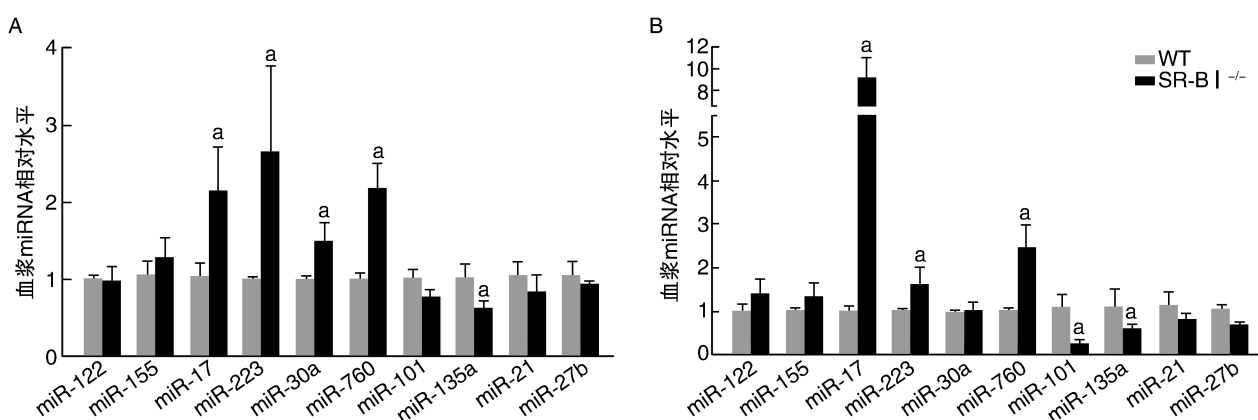


图 1. 6 月龄野生型小鼠和 SR-B I^{-/-} 小鼠血浆 miRNA 水平比较

A 为雄性小鼠血浆 miRNA 水平 ($n=6$), B 为雌性小鼠血浆 miRNA 水平 ($n=4$)。a 为 $P < 0.05$, 与野生型小鼠比较。

Figure 1. Comparison of plasma miRNA levels between 6-month-old WT mice and SR-B I^{-/-} mice

2.2 临床病例基本情况

CAD 患者为首次发病, 之前无高血脂或冠心病史, 未服用降脂药物, 入院后首次冠状动脉造影确

诊中度以上狭窄, 执行排除标准后, 共选取 HDLC $> 1.04 \text{ mmol/L}$ 的患者 30 例。对照组为非 CAD 患者, 共 30 例。两组的基本情况, 如年龄、性别、血压、

心率、尿酸等无明显差异,CAD 组 TC、TG、LDLC 水平明显高于对照组,且 HDLC 水平均超过 1.04 mmol/L,但两组无统计学差异,即 CAD 组患者血浆 HDLC 水平高,但未发挥抗 As 作用(表 1)。

2.3 血浆 HDLC 水平与 PON-1 活性的关系

本研究选取 HDLC 水平高于 1.04 mmol/L 的 CAD 患者血浆进行检测分析,PON-1 活性作为 HDL 抗氧化功能的重要指标^[9],测得的 CAD 组血浆 PON-1 活性显著低于对照组(图 2A),证实 CAD 组血浆 HDL 抗氧化能力降低。另外,对照组血浆 PON-1 活性与 HDLC 水平呈正相关(图 2B),而 CAD 组无相关性(图 2C),也证实 CAD 组 HDLC 水平虽然与对照组无差异,但是 HDL 的抗氧化能力降低。

2.4 血浆 miR-135a 水平与 HDL 抗氧化能力的关系

CAD 组血浆 miR-135a 水平明显降低(图 3A)。相关性分析结果显示,miR-135a 水平与 HDLC 水平无相关性(图 3B),但 miR-135a 水平与 PON-1 活性呈正相关(图 3C)。

表 1. 两组临床资料比较

Table 1. Comparison of clinical data between the two groups

项目	对照组 (n=30)	CAD 组 (n=30)	P 值
年龄/岁	56.90±6.41	60.03±6.42	0.064
男性/[例(%)]	11(36.7)	18(60.0)	0.071
收缩压/mmHg	129.93±15.49	134.23±15.99	0.294
舒张压/mmHg	79.93±12.55	81.00±11.61	0.734
心率/(次/分)	70.20±11.82	71.53±10.93	0.652
高血压病/[例(%)]	8(26.7)	16(53.3)	0.035
糖尿病/[例(%)]	2(6.7)	6(20.0)	0.127
TC/(mmol/L)	4.26±0.54	5.04±0.93	<0.001
TG/(mmol/L)	1.11±0.33	1.37±0.51	0.037
HDLC/(mmol/L)	1.31±0.23	1.28±0.18	0.610
LDLC/(mmol/L)	2.57±0.49	3.27±0.79	<0.001
TC/HDLC	3.34±0.67	4.02±0.94	0.002
TG/HDLC	0.89±0.36	1.10±0.51	0.089
LDLC/HDLC	2.04±0.59	2.63±0.81	0.002
尿酸/(μmol/L)	315.89±78.42	329.93±83.79	0.505

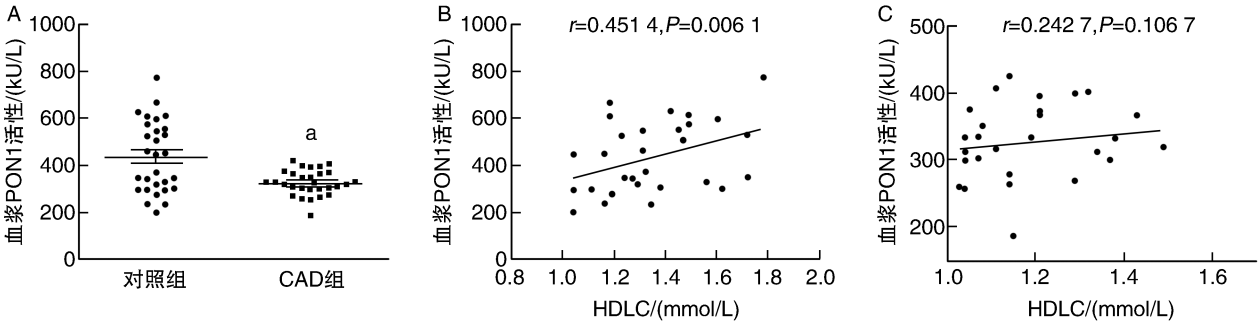


图 2. 血浆 HDLC 水平与 PON-1 活性的关系

A 为 CAD 组和对照组血浆 PON-1 活性比较($n=30$),B 为对照组血浆 HDLC 水平与 PON-1 活性的相关性分析($n=29$),C 为 CAD 组血浆 HDLC 水平与 PON-1 活性的相关性分析($n=29$)。a 为 $P<0.01$,与对照组比较。

Figure 2. The relationship between plasma HDLC and PON-1 activity

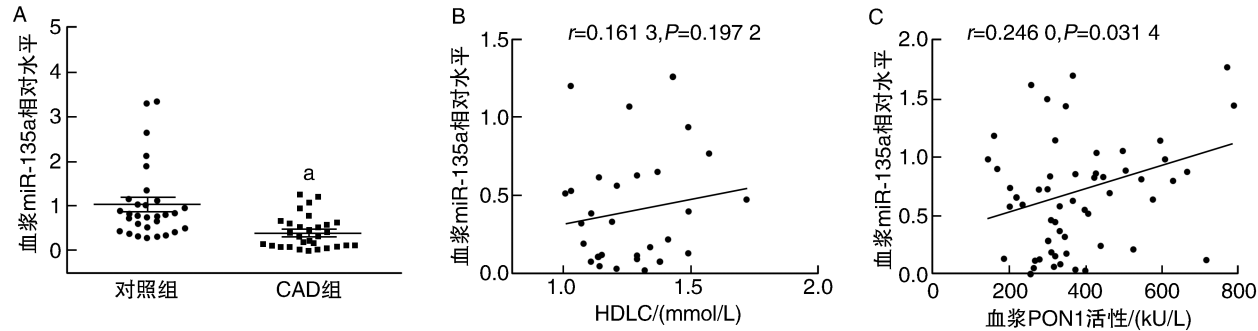


图 3. 血浆 miR-135a 水平与 HDL 功能分析

A 为 CAD 组和对照组血浆 miR-135a 水平($n=30$),B 为血浆 miR-135a 水平与 HDLC 水平的相关性分析($n=30$),C 为血浆 miR-135a 水平与 PON-1 活性的相关性分析($n=58$)。a 为 $P<0.005$,与对照组比较。

Figure 3. Plasma miR-135a level and HDL function analysis

2.5 血浆 miRNA 水平分析

在 HDL 失功能的 SR-B I^{-/-} 小鼠血浆中, miR-223 水平与野生型小鼠比较有显著差异, 且变化趋势与文献报道的家族性高胆固醇血症中 miRNA 变化一致。另外, miR-17 和 miR-760 在 SR-B I^{-/-} 小鼠血浆中显著升高, 但在家族性高胆固醇血症患者血浆中显著降低。本研究检测了 HDL 抗氧化能力降低的 CAD 患者血浆中这 3 种 miRNA 的变化趋势, 结果发现 CAD 组血浆 miR-17 水平显著低于对照组 (图 4A), 其水平与 PON-1 活性无相关性 (图 4B); 而 CAD 组血浆 miR-223 和 miR-760 水平显著高于对照组 (图 4C 和 4E), 其水平与 PON-1 活性也

无相关性 (图 4D 和 4F)。

2.6 miR-135a 影响 As 斑块形成的可能机制

为了了解循环 miR-135a 对 As 形成的影响, 本研究利用在线 miRNA 靶基因预测工具 Starbase 获得 miR-135a 的靶标基因。利用 STRING 构建 miR-135a 调控靶标蛋白质的相互作用网络图, Cytoscape 软件中的 cytoHubba 分析获得 10 个关键基因。利用 GSE24702 数据集分析这 10 个关键基因在人 As 斑块中的差异表达, 结果发现胱天蛋白酶 3 (CASP3) 和 T 细胞特异性转录基因 GATA3 在斑块中表达增加, 提示循环 miR-135a 可能主要通过影响细胞焦亡或 Th17 细胞分化发挥作用 (图 5)。

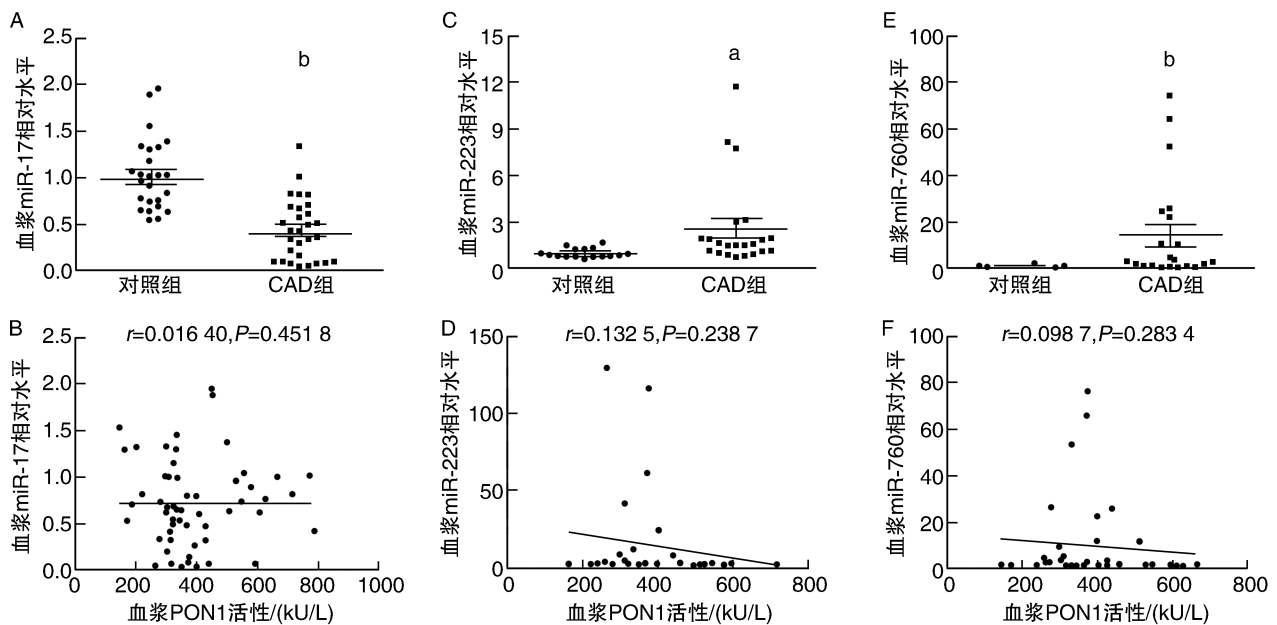


图 4. 血浆 miR-17、miR-223 和 miR-760 水平及其与 PON-1 活性的相关性分析

A 为血浆 miR-17 水平 (对照组 $n=26$, CAD 组 $n=29$), B 为血浆 miR-17 水平与 PON-1 活性的相关性分析 ($n=57$), C 为血浆 miR-223 水平 (对照组 $n=20$, CAD 组 $n=22$), D 为血浆 miR-223 水平与 PON-1 活性的相关性分析 ($n=31$), E 为血浆 miR-760 水平 (对照组 $n=14$, CAD 组 $n=22$), F 为血浆 miR-760 水平与 PON-1 活性的相关性分析 ($n=36$)。a 为 $P<0.01$, b 为 $P<0.005$, 与对照组比较。

Figure 4. Plasma levels of miR-17, miR-223 and miR-760 and their correlation with PON-1 activity

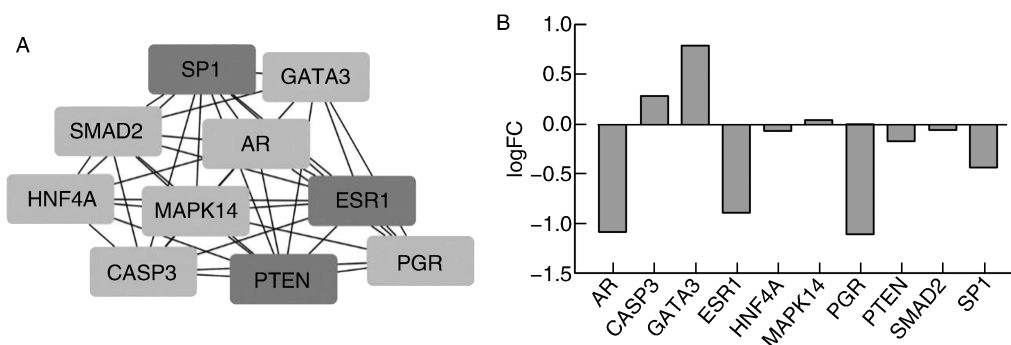


图 5. miR-135a 作用机制的生物信息学分析

A 为 miR-135a 预测靶标中的关键调控基因, B 为 10 个关键基因在 GSE24702 数据集中的表达差异倍数。

Figure 5. Bioinformatics analysis of the mechanism of miR-135a

3 讨论

HDL 是携运血浆胆固醇的一类主要脂蛋白,也是 As 的重要防御因素,具有介导胆固醇逆向转运、抗氧化、抗炎等调节血管的功能。早期临床研究认为,血浆 HDLC 水平越高,个体患心血管疾病的风险性越低^[12]。但事实上,HDLC 水平高低并不能完全反映 HDL 抗 As 的功能及其代谢特征^[13-14]。炎症、氧化应激、血脂紊乱、高糖等环境可引起 HDL 病理性修饰,HDL 特征性结构发生改变,其生物学功能降低甚至丧失,转变为致 As 性质的“失功能”HDL^[2]。从 HDL 的功能特征出发,针对提高 HDL 特异性功能的研究将有利于新的 As 检测靶标的发掘及应用。SR-B I 是 HDL 受体,介导肝脏胆固醇逆向转运,同时参与调节血管壁细胞胆固醇平衡、介导 HDL 发挥抗炎及抗氧化活性^[15]。与野生型小鼠相比,SR-B I^{-/-}小鼠血浆中富含游离胆固醇和载脂蛋白 E 的 HDL 增加,胆固醇外流能力降低,HDL 抗氧化能力降低,导致氧化应激增加,抗炎信号受损^[16]。本研究组前期的研究也证实了 SR-B I^{-/-}小鼠血浆 HDL 的抗氧化能力减弱^[9,17]。

循环 miRNA 来自于组织细胞,在血液中免受内源性 RNA 酶的作用,且含量非常稳定,研究发现循环 miRNA 与冠心病的发生发展密切相关^[4]。循环 miRNA 主要通过脂蛋白尤其是 HDL 运输到靶细胞从而调控细胞功能。实验证实,HDL 的抗炎特性部分是通过内皮细胞中 HDL-miR-223 的传递从而抑制 ICAM-1 翻译获得的^[7]。因此 HDL 的抗 As 功能可能部分是通过循环 miRNA 的运输实现的。

家族性高胆固醇血症是由于低密度脂蛋白受体缺陷导致的血浆胆固醇增高,血脂代谢异常,通过分析家族性高胆固醇血症受试者血浆 HDL-miRNA 组学发现,miR-223、miR-105 和 miR-106a 在家族性高胆固醇血症患者的 HDL 上含量较多,但 miR-135a 在正常人群中含量较高,而在家族性高胆固醇血症患者的 HDL 上显著降低^[5]。本研究借鉴其结果,分析并鉴定与 HDL 抗氧化活性相关的 miRNA。利用 HDL 抗氧化活性降低的 SR-B I^{-/-}小鼠血浆验证了这些 miRNA 水平与野生型小鼠存在差异,其中 miR-135a 的减少、miR-223 的增加与家族性高胆固醇血症患者一致,但 miR-17 和 miR-760 的显著增加与家族性高胆固醇血症患者相反^[5]。

本研究利用临床 CAD 患者的血浆来验证循环 miRNA 变化与 HDL 功能的相关性。选取第一次因诊断 CAD 入院治疗且既往病史无高血脂的患者,这

些患者未服用过降脂药物,排除其对循环 miRNA 的影响。选取高 HDLC 的 CAD 患者为研究对象,其 PON-1 活性低。PON-1 是 HDL 主要成分之一,也是循环中抗氧化防御成员之一,PON-1 活性水平代表 HDL 的抗氧化功能^[9]。本研究结果显示 CAD 组血浆 HDL 的抗氧化能力下降;CAD 组血浆 miR-135a 水平明显减少,而且与血浆 PON-1 活性正相关,因此推测 miR-135a 的低水平与 HDL 低抗氧化能力相关。本研究也检测到 CAD 患者血浆 miR-223 和 miR-760 水平明显升高,miR-17 水平明显降低,但都与 PON-1 活性无相关性,表示这 3 个 miRNA 与 HDL 抗氧化能力无相关性,但也可能需要增加样本量进行进一步分析。

本研究进一步分析了血浆 miR-135a 对血管壁的调控机制,利用人 As 斑块的基因表达谱数据集验证了 miR-135a 调控机制的关键靶点 CASP3 和 GATA3。CASP3 可引起细胞焦亡,这是一种促炎症型调节性细胞死亡,可引起局部炎症并且导致炎症反应放大效应,与 As 密切相关^[18]。GATA3 是调节 Th 细胞分化的转录因子,GATA3 的高表达激活 Th2 细胞程序^[19],研究发现 miR-135a 通过靶向 GATA3 调节肥大细胞和变应原诱导的炎症^[20]。但 miR-135a 通过 CASP3 和 GATA3 参与调控 As 发生的机制需要进一步的实验验证。

综上,本研究结果表明,HDLC 高水平的 CAD 患者,血浆 HDL 抗氧化功能降低,为“失功能”HDL,同时血浆 miR-135a 水平较低。因此循环 miR-135a 水平可作为提示血浆 HDL 功能的潜在指标,其对 As 的调控机制主要涉及调节血管壁细胞凋亡,以及调控单核细胞免疫功能。

[参考文献]

- [1] TABAS I, GARCÍA-CARDEÑA G, OWENS G K. Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis [J]. J Cell Biol, 2015, 209(1): 13-22.
- [2] FISHER E A, FEIG J E, HEWING B, et al. High-density lipoprotein function, dysfunction, and reverse cholesterol transport [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(12): 2813-2820.
- [3] Gangwar S R, RAJAGOPALAN S, Natarajan R, et al. Noncoding RNAs in cardiovascular disease: pathological relevance and emerging role as biomarkers and therapeutics [J]. Am J Hypertens, 2018, 31(2): 150-165.
- [4] VELLE-FORBORD T, EIDLAUG M, DEBIK J, et al. Circulating microRNAs as predictive biomarkers of myocardial infarction: evidence from the HUNT study [J]. Atheroscle-

- rosis, 2019, 289: 1-7.
- [5] VICKERS K C, PALMISANO B T, SHOUCRI B M, et al. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins [J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13(4): 423-433.
- [6] GANJALI S, MOMTAZI A A, BANACH M, et al. HDL abnormalities in familial hypercholesterolemia: focus on biological functions[J]. *Prog Lipid Res*, 2017, 67: 16-26.
- [7] TABET F, VICKERS K C, CUESTA T L, et al. HDL-transferred microRNA-223 regulates ICAM-1 expression in endothelial cells[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 3292.
- [8] ZANONI P, KHETARPAL S A, LARACH D B, et al. Rare variant in scavenger receptor B I raises HDL cholesterol and increases risk of coronary heart disease[J]. *Science*, 2016, 351(6278): 1166-1171.
- [9] CAO J, XU Y, LI F, et al. Protein markers of dysfunctional HDL in scavenger receptor class B type I deficient mice[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 155.
- [10] BAN E, CHAE D K, YOO Y S, et al. An improvement of miRNA extraction efficiency in human plasma[J]. *Anal Bioanal Chem*, 2017, 409(27): 6397-6404.
- [11] KNUUTI J, WIJNS W, SARASTE A, et al. 2019 ESC guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes[J]. *Eur Heart J*, 2020, 41(3): 407-477.
- [12] GOTTO A M, BRINTON E A. Assessing low levels of high-density lipoprotein cholesterol as a risk factor in coronary heart disease: a working group report and update [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2004, 43(5): 717-724.
- [13] SIDDIQI H K, RADER D. HDL cholesterol and cardiovascular disease: rethinking our approach[J]. *Curr Opin Cardiol*, 2015, 30(5): 536-542.
- [14] FERRI N, CORSINI A, SIRTORI C R, et al. Present therapeutic role of cholesteryl ester transfer protein inhibitors[J]. *Pharmacol Res*, 2018, 128: 29-41.
- [15] LINTON F M, TAO H, LINTON E F, et al. SR-B I: a multifunctional receptor in cholesterol homeostasis and atherosclerosis[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2017, 28(6): 461-472.
- [16] MUTHURAMU I, AMIN R, ABOUMSALLEH J P, et al. Hepatocyte-specific SR-B I gene transfer corrects cardiac dysfunction in scarb1-deficient mice and improves pressure overload-induced cardiomyopathy[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(9): 2028-2040.
- [17] 杜芬, 喻红. 清道夫受体 B I 与动脉粥样硬化[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(11): 1177-1183.
- [18] WANG Q, WU J, ZENG Y, et al. Pyroptosis: a pro-inflammatory type of cell death in cardiovascular disease [J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 510: 62-72.
- [19] SPINNER C A, LAZAREVIC V. Transcriptional regulation of adaptive and innate lymphoid lineage specification[J]. *Immunol Rev*, 2021, 300(1): 65-81.
- [20] DENG Y Q, YANG Y Q, WANG S B, et al. Intranasal administration of lentiviral miR-135a regulates mast cell and allergen-induced inflammation by targeting GATA-3 [J]. *PLoS One*, 2015, 10(9): e0139322.
- (此文编辑 文玉珊)

(上接第 197 页)

- [18] LIAO D, TAN H, HUI R, et al. Hyperhomocysteinemia decreases circulating high-density lipoprotein by inhibiting apolipoprotein A-I protein synthesis and enhancing HDL cholesterol clearance[J]. *Circ Res*, 2006, 99(6): 598-606.
- [19] MIKAEL L G, GENEST J J R, ROZEN R. Elevated homocysteine reduces apolipoprotein A-I expression in hyperhomocysteinemic mice and in males with coronary artery disease[J]. *Circ Res*, 2006, 98(4): 564-571.
- [20] WANG Y, LIU J, JIANG Y, et al. Hyperhomocysteinemia is associated with decreased apolipoprotein A I levels in normal healthy people[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2016, 16: 10.
- [21] YAMAMOTO R, SACKS F M, HU F B, et al. High density lipoprotein with apolipoprotein C-III is associated with carotid intima-media thickness among generally healthy individuals[J]. *Atherosclerosis*, 2018, 269: 92-99.
- [22] BESLER C, HEINRICH K, ROHRER L, et al. Mechanisms underlying adverse effects of HDL on eNOS-activating pathways in patients with coronary artery disease[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(7): 2693-2708.
- [23] 刘泽龙, 欧志君, 区景松. 高密度脂蛋白的蛋白修饰与心血管疾病的关系[J]. *中华心血管病杂志*, 2020, 48(12): 1078-1082.
- [24] 司艳红, 邵波, 赵敏, 等. 高密度脂蛋白组分修饰参与动脉粥样硬化发生发展的研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(12): 1089-1094.
- [25] HUANG Y, DIDONATO J A, LEVISON B S, et al. An abundant dysfunctional apolipoprotein A1 in human atheroma[J]. *Nat Med*, 2014, 20(2): 193-203.
- [26] MIYAZAKI A, SAGAE N, USAMI Y, et al. N-homocysteinylation of apolipoprotein A-I impairs the protein's antioxidant ability but not its cholesterol efflux capacity[J]. *Biol Chem*, 2014, 395(6): 641-648.
- [27] WITKOWSKI A, CARTA S, LU R, et al. Oxidation of methionine residues in human apolipoprotein A-I generates a potent pro-inflammatory molecule [J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(10): 3634-3646.
- (此文编辑 许雪梅)