

• 论 著 •

环状 RNA circMICRA 在冠心病患者外周血中的差异性表达*

张 帅¹, 刘志坚¹, 冯倚帆¹, 宋子威¹, 李世宝^{1,2△}

1. 徐州医科大学附属医院检验科, 江苏徐州 221002; 2. 徐州医科大学医学技术学院, 江苏徐州 221002

摘 要:目的 探究环状 RNA 在冠心病(CAD)患者外周血中的表达差异及可能的临床意义。方法 选取在徐州医科大学附属医院就诊的 58 例 CAD 患者作为 CAD 组,另选同期进行健康体检的 47 例体检健康者作为对照组。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)检测 CAD 组和对照组外周血心肌梗死相关环状 RNA (circMICRA、circCDRIAS、circINF292)表达水平。采用 Gensini 得分评估冠脉硬化严重程度;利用 *t* 检验、Mann-Whitney *U* 检验分析环状 RNA 的表达差异;利用 Logistics 回归、Spearman 相关检验分析环状 RNA 表达水平与 CAD 发病风险和 Gensini 得分的关联。**结果** 与对照组相比,circMICRA 表达水平在 CAD 组中显著降低,差异有统计学意义($P<0.001$)。Logistic 回归校正风险因素后,circMICRA 表达水平能降低 CAD 发病风险($OR=0.031, P=0.001$)。Spearman 相关分析显示,circMICRA 表达水平与吸烟($r=-0.335, P<0.001$)、高血压($r=-0.371, P<0.001$)、Gensini 得分($r=-0.391, P=0.002$)和炎症指数中性粒细胞与淋巴细胞比值($r=-0.367, P=0.005$)、血小板与淋巴细胞比值($r=-0.403, P=0.002$)呈负相关。**结论** 环状 RNA circMICRA 表达水平在 CAD 患者外周血中显著降低,而且与冠状动脉硬化严重程度呈负相关,可能作为一种保护性因素通过炎症途径参与 CAD 的病理过程。

关键词:环状 RNA; 冠心病; 实时荧光定量聚合酶链反应
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.20.002 **中图法分类号:**R541.4
文章编号:1673-4130(2021)20-2438-06 **文献标志码:**A

Differential expression of circular RNA circMICRA in peripheral blood of coronary artery disease*

ZHANG Shuai¹, LIU Zhijian¹, FENG Yifan¹, SONG Ziwei¹, LI Shibao^{1,2△}
1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, China; 2. School of Medical Technology, Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221002, China

Abstract:**Objective** To explore the differential difference expression of circular RNA in peripheral blood of patients with coronary artery disease (CAD) and its possible clinical significance. **Methods** Totally 58 patients with CAD in the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University were collected as the CAD group, and 47 healthy people who underwent physical examination in the same period were selected as the control group. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect myocardial infarction circular RNA (circMICRA, circCDRIAS, circINF292) expression level in peripheral blood of CAD group and control group. Gensini scores were used to assess the severity of coronary atherosclerosis, *t* test and Mann-Whitney *U* test were used to compare the expression differences of circular RNA. The associations between circular RNA expression level and CAD risk factors and Gensini scores were analyzed by using Logistic regression and Spearman correlation test. **Results** Compared with the control group, circMICRA expression was significantly reduced in CAD patients, and the difference was statistically significant ($P<0.001$). After adjusting for CAD risk factors, Logistic regression revealed that circMICRA expression could reduce the risk of CAD ($OR=0.031, P=0.001$). Spearman correlation analysis showed that circMICRA expression level was negatively correlated with smoking ($r=-0.335, P<0.001$), hypertension ($r=-0.371, P<0.001$), the Gensini scores ($r=-0.391, P=0.002$), inflammatory index neutrophil to lymphocyte ratio ($r=-0.367,$

* 基金项目:江苏省十三五“科教强卫”青年医学重点人才(QNRC2016781)。
作者简介:张帅,男,技师,主要从事冠心病分子诊断方面的研究。△ 通信作者, E-mail:sdjnsblb@163.com。

本文引用格式:张帅,刘志坚,冯倚帆,等. 环状 RNA circMICRA 在冠心病患者外周血中的差异性表达[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42 (20): 2438-2442.

$P=0.005$), and platelet to lymphocyte ratio ($r=-0.403, P=0.002$). **Conclusion** Circular RNA circMICRA was significantly decreased in peripheral blood of patients with CAD and was negatively correlated with the severity of coronary atherosclerosis, which might be involved in the pathological process of CAD through inflammatory pathways as a protective factor.

Key words: circular RNA; coronary artery disease; real-time quantitative polymerase chain reaction

冠心病(CAD)是最常见的心血管疾病,其发病率逐年增高并有年轻化的趋势。心血管疾病死亡率位居世界疾病谱首位,约占全球总死亡人数的 31%^[1]。随着人口老龄化和 CAD 风险因素负担的日益增加,预计到 2030 年世界范围内每年将有超过 2 000 万人死于急性心肌梗死、卒中及其他心血管疾病^[2]。依据《中国心血管健康与疾病报告 2019》,现患心血管疾病人数约有 3.3 亿人,其中 CAD 患者就有 1 100 万,而且自 2005 年开始,急性心肌梗死病死率呈快速上升趋势。环状 RNA 呈闭合环状结构,具有高度稳定性、组织器官表达特异度、广泛分布性,可在基因转录和表达等多层面发挥调节作用,已成为疾病的新型生物学标志及潜在的调控靶点^[3]。本研究检测并比较了心肌梗死相关环状 RNA(circMICRA、circCDR1AS、circZNF292)在 CAD 患者和健康人群中的表达改变,探究其在冠心病病理过程中可能发挥的作用,以期对 CAD 的防治提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 10 月至 2019 年 11 月期间在徐州医科大学附属医院(下称本院)就诊的男性 CAD 患者 58 例作为 CAD 组,平均年龄(57.1 ± 3.7)岁。选择同期在本院进行健康体检的 47 例男性体检健康者作为对照组,平均年龄(57.3 ± 3.1)岁。CAD 组的纳入标准:冠状动脉主要血管及其分支狭窄超过 50%。排除标准:(1)心源性疾病,如先天性心脏病、心脏瓣膜病、急性心力衰竭等;(2)系统性疾病,如恶性肿瘤、自身免疫性疾病、严重肝肾疾病等。对照组为同期进行健康体检的无 CAD 疾病者,排除标准与 CAD 组相同。本研究经本院医学伦理委员会批准,所有研究对象对本研究内容知情并签署知情同意书。

1.2 标本及临床资料收集 收集所有研究对象的 2 mL 乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝血,按 1:3 的比例加入红细胞裂解液,充分裂解后,4℃、12 000 r/min 离心 10 min;弃上清液,加入 1 mL Trizol 试剂,-80℃条件下保存备用。收集以下临床资料:年龄、性别、身高、体质量、体质量指数(BMI)、血压、空腹血糖水平(FPG)、血脂水平、吸烟史(有/无)、饮酒史(有/无)、原发性高血压史(有/无)、糖尿病史(有/无)、高脂血症病史(有/无)、冠状动脉造影报告以及血常规结果(中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、血小板)计数等。

1.3 冠状动脉粥样硬化严重程度评估 采用 Gensini 得分评估冠状动脉粥样硬化严重程度。Gensini 评分主要包括两方面:(1)对冠状动脉狭窄的程度进行

评分,狭窄小于 25%为 1 分;25%~<50%为 2 分;50%~<75%为 4 分;75%~<90%为 8 分;90%~<100%为 16 分;100%为 32 分;(2)Gensini 评分系统把冠状动脉分为 15 节段,根据冠状动脉不同节段的供血区域及生理意义,赋予冠状动脉各节段不同的权重系数。各节段评分与对应系数乘积累积求和即为最终的 Gensini 得分。

1.4 系统性炎症标志物计算 收集外周血常规结果,根据中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞和血小板计数,计算系统性炎症指标:中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)、血小板与淋巴细胞比值(PLR)以及单核细胞与淋巴细胞比值(MLR)。

1.5 总 RNA 提取及逆转录 采用 Trizol 试剂进行外周血总 RNA 提取。Thermo Nanodrop 2000C 分光光度计检测 RNA 纯度,理想纯度为 A_{260}/A_{280} 比值为 1.8~2.0, A_{260}/A_{230} 比值为 2.0~2.2。本实验采用 TOYOBO 公司 ReverTra Ace qPCR RT Master Mix with gDNA Remover 试剂盒进行 RNA 逆转录反应。逆转录合成的 cDNA 置于一 80℃条件下保存备用。

1.6 实时定量 PCR(qPCR)检测 qPCR 所采用的引物由 Primer premier 5.0 软件设计,选用 GAPDH 基因为内参基因。引物序列信息见表 1。qPCR 选用 20 μL 反应体系,包括 SYBR Green Mix 10.0 μL、10 μmol/L 上游引物 1.0 μL、10 μmol/L 下游引物 1.0 μL、cDNA 模板 1.0 μL、ddH₂O 7.0 μL。反应条件为 95℃预变性 5 min,95℃30 s,60℃30 s,72℃45 s,循环 40 次。每个 cDNA 样本均设置两个副孔。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达水平。

1.7 统计学处理 选择 SPSS22.0 统计学软件进行分析。符合正态分布的连续变量用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。不符合正态分布的连续变量用 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示, Mann-Whitney U 检验比较两组之间的差异。计数资料用频数或百分比表示,用 χ^2 检验比较两组之间的差异。环状 RNA 表达水平与 Gensini 得分、炎症指数的关联用 Spearman 相关检验分析。Logistic 回归分析环状 RNA 表达水平与 CAD 发病风险的关联。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究人群的基本特征 如表 2 所示,CAD 组和对照组均为男性,两组年龄差异无统计学意义[(57.1 ± 3.7)岁 vs. (57.3 ± 3.1)岁, $P=0.803$]。与对照组相比,CAD 组具有较高的 BMI 水平、饮酒率、高血压患病率、糖尿病患病率和高脂血症患病率,但

差异均无统计学意义($P>0.05$),吸烟率在两组间差异有统计学意义($P<0.001$)。

表 1 引物序列及产物长度

基因名称	引物序列(5'-3')	退火温度(℃)	产物长度(bp)
circMICRA	正向:GCT AAA GAA AGT CAA GTC	60	162
	反向:TCA AGG ACA TCT TAG AGT		
circCDR1AS	正向:ACG TCT CCA GTG TGC TGA	60	83
	反向:CTT GAC ACA GGT GCC ATC		
circZNF292	正向:GCT CAA GAG ACT GGG GTG TG	60	97
	反向:AGT GTG TGT TCT GGG GC		
GAPDH	正向:TGT TGC CAT CAA TGA CCC CTT	60	202
	反向:CTC CAC GAC GTA CTC AGC G		

表 2 研究人群临床特征比较

临床参数	CAD组 (n=58)	对照组 (n=47)	P
男性[n(%)]	58(100.0)	47(100.0)	1.000
年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	57.1 $\pm$ 3.7	57.3 $\pm$ 3.1	0.803
BMI($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)	24.7 $\pm$ 3.3	24.1 $\pm$ 2.0	0.231
吸烟史[n(%)]	39(67.2)	12(25.5)	<0.001
饮酒史[n(%)]	19(32.8)	11(23.4)	0.291
高血压史[n(%)]	30(51.7)	17(36.2)	0.111
糖尿病史[n(%)]	11(19.0)	8(17.0)	0.797
高脂血症史[n(%)]	18(31.0)	10(21.3)	0.261
Gensini 得分[M($P_{25}\sim P_{75}$),分]	71.5(41.9~105.4)	—	—
GLU($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	7.5 $\pm$ 1.8	5.3 $\pm$ 0.4	<0.001
TC($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	4.3 $\pm$ 1.2	4.4 $\pm$ 0.5	0.572
TG($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	1.9 $\pm$ 1.5	1.1 $\pm$ 0.4	<0.001
LDL($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	2.6 $\pm$ 0.9	2.7 $\pm$ 0.5	0.247
HDL($\bar{x}\pm s$,mmol/L)	1.0 $\pm$ 0.3	1.6 $\pm$ 0.3	<0.001
SBP($\bar{x}\pm s$,mm Hg)	136.6 $\pm$ 21.1	126.5 $\pm$ 14.9	0.005
DBP($\bar{x}\pm s$,mm Hg)	79.7 $\pm$ 11.8	82.7 $\pm$ 19.1	0.350

注:GLU 为空腹血糖;TC 为总胆固醇;TG 为三酰甘油;LDL 为低密度脂蛋白;HDL 为高密度脂蛋白,SBP 为收缩压;DBP 为舒张压;—表示无数据。

2.2 circMICRA 与 CAD 风险因素的相关性 将 CAD 组和对照组合并后进行 Spearman 相关分析,结果显示 circMICRA 表达水平与吸烟($r=-0.335$, $P<0.001$)和高血压($r=-0.371$, $P<0.001$)呈负相关。线性回归模型在校正年龄、BMI 水平、吸烟、饮酒、糖尿病和高脂血症等因素后,circMICRA 表达水平仍与高血压呈负相关($\beta=-0.337$, $P=0.001$)。以纳入对象的年龄和 BMI 的平均值为界值以及是否具有吸烟、饮酒、高血压、糖尿病和高脂血症相关病史,将所有研究对象按上述临床参数的不同各分为两组,经 t 检验分析,circMICRA 表达水平在组间的差异,分析结果进一步证实了 circMICRA 表达水平与吸

烟、高血压因素相关($P<0.05$),见表 3。
2.3 circMICRA 在 CAD 组中表达降低 circMICRA 表达水平经对数转化后符合正态分布。与对照组相比,circMICRA 表达水平在 CAD 组中显著降低(-0.346 ± 0.327 vs. -0.125 ± 0.197 , $P<0.001$),见图 1A。使用 Logistic 回归进一步分析 circMICRA 在冠心病中的作用,结果显示在校正年龄、BMI、吸烟率、饮酒率、高血压患病率、糖尿病患病率和高脂血症患病率后,circMICRA 表达能降低 CAD 发病风险($OR=0.031$,95%CI:0.004~0.251, $P=0.001$)。环状 RNA circCDR1AS 表达水平(-0.505 ± 0.421 vs. -0.374 ± 0.278 , $P=0.061$)和 circZNF292 表达水平(-0.093 ± 0.399 vs. -0.114 ± 0.205 , $P=0.731$)在 CAD 组和对照组间差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 1A。

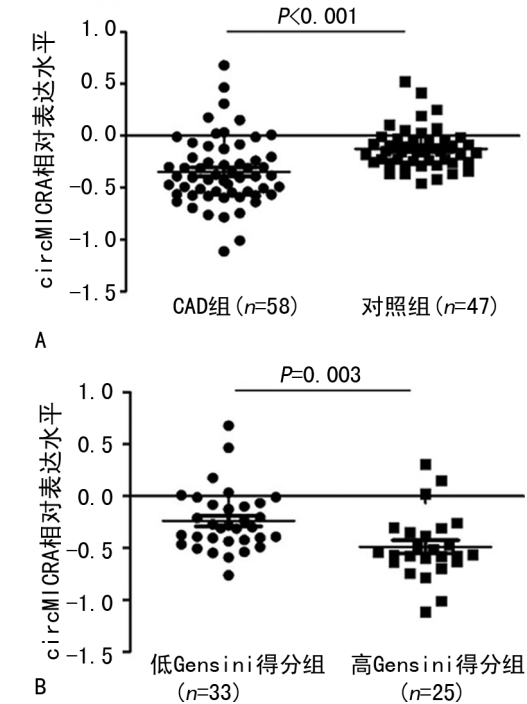


图 1 circMICRA 在 CAD 组、对照组、低 Gensini 组和高 Gensini 组的表达水平

表 3 circMICRA 在亚组中的表达差异($\bar{x}\pm s$)			
临床参数	分组	circMICRA 表达水平	P
年龄(岁)	≤ 57	-0.236 ± 0.264	0.677
	> 57	-0.261 ± 0.334	
BMI(kg/m ²)	≤ 24.46	-0.282 ± 0.280	0.231
	> 24.46	-0.213 ± 0.312	
吸烟史	否	-0.180 ± 0.266	0.015
	是	-0.319 ± 0.313	
饮酒史	否	-0.263 ± 0.294	0.354
	是	-0.205 ± 0.304	
高血压史	否	-0.154 ± 0.305	< 0.001
	是	-0.362 ± 0.244	
糖尿病史	否	-0.253 ± 0.308	0.660
	是	-0.220 ± 0.248	
高脂血症史	否	-0.249 ± 0.294	0.940
	是	-0.244 ± 0.100	

2.4 circMICRA 表达水平与冠状动脉粥样硬化严重

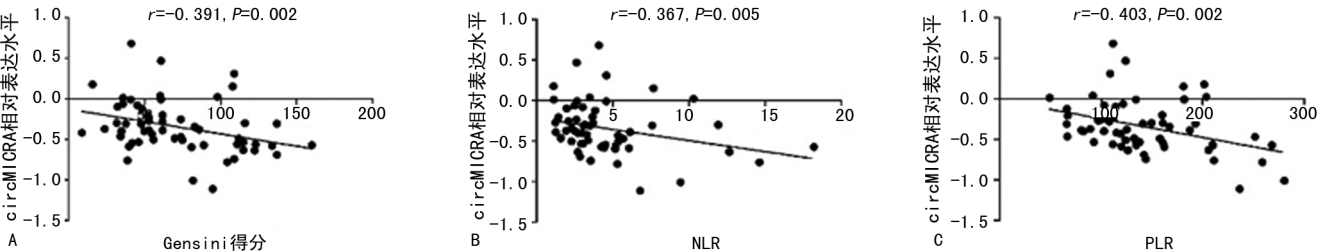


图 2 circMICRA 表达水平与 Gensini 得分、NLR 和 PLR 的相关性

3 讨 论

随着居民生活水平的提高,不健康生活方式的流行和社会老龄化,我国居民动脉粥样硬化性心血管病(ASCVD)呈现低龄化、快速增长趋势。目前,ASCVD 位居我国死亡原因的首位,占居民疾病死亡构成比的 40% 以上^[4]。《中国卫生和计划生育统计年鉴》统计结果显示,2012 年以来,中国居民 CAD 死亡率有持续上升趋势。CAD 是遗传因素与环境因素共同作用下的复杂性疾病,其中遗传因素是引发 CAD 的主要因素之一。鉴定 CAD 的遗传因素并研究其在疾病发生发展中的作用,对 CAD 的防治具有重大意义。

越来越多的研究显示,环状 RNA 与心血管疾病的发生密切相关,第一个被发现与心血管疾病相关的环状 RNA 是心脏相关环状 RNA circHRCR,其通过抑制 miRNA-223 活性可减缓心肌肥厚和心力衰竭的发展^[5]。小鼠心肌梗死模型研究发现,环状 RNA circCDR1AS 的过表达能够加重心肌细胞凋亡程度,加大心肌梗死面积^[6]。SONG 等^[7]还发现,circANRIL 表达下调显著降低 TC、TG、LDL 等血脂水平以及 C-反应蛋白(CRP)、白细胞介素-1(IL-1)、IL-6 等炎症因

程度的关系 Spearman 相关分析显示,circMICRA 表达水平与 Gensini 得分呈负相关($r = -0.391, P = 0.002$),见图 2A。以 Gensini 得分的中位数为界值,把 CAD 患者分为两组:高 Gensini 得分组(> 71.5)和低 Gensini 得分组(≤ 71.5)。t 检验分析显示,高 Gensini 得分组的 circMICRA 表达水平显著低于低 Gensini 得分组,差异有统计学意义(-0.488 ± 0.317 vs. $-0.239\pm 0.296, P = 0.003$),进一步揭示了 circMICRA 表达水平与冠状动脉粥样硬化严重程度有关,见图 1B。

2.5 circMICRA 表达水平与炎症指数的关系 依据外周血血常规检查结果计算 CAD 患者的炎症指数:NLR、PLR 及 MLR。Spearman 相关分析显示,circMICRA 表达水平与 NLR($r = -0.367, P = 0.005$)和 PLR($r = -0.403, P = 0.002$)呈负相关,提示 circMICRA 可能作为炎症相关因子参与 CAD 过程。circMICRA 表达水平与 MLR 不相关($r = -0.165, P = 0.215$),见图 2B 和 2C。

子的表达,减缓血管内皮细胞凋亡,发挥抗动脉粥样硬化的作用。心肌细胞系研究显示,环状 RNA circZNF292 靶向作用于 BNIP3 基因,可减缓缺氧性心肌损伤,环状 RNA circZNF292 调节内皮细胞和心肌细胞增殖和凋亡,影响血管内皮细胞生理功能,进而参与心血管疾病的发展^[8-9]。

circMICRA(hsa_circ_0000615)为心肌梗死相关环状 RNA 由位于人类基因组 chr15: 64791491-64792365 的锌指蛋白 609(ZNF609)基因的外显子反向剪接而成。本研究发现,与对照组相比,circMICRA 表达水平在 CAD 组中显著降低,差异有统计学意义(-0.346 ± 0.327 vs. $-0.125\pm 0.197, P < 0.001$)。Logistic 回归的进一步分析显示,在校正年龄、BMI、吸烟率、饮酒率、高血压患病率、糖尿病患病率和高脂血症患病率后,circMICRA 表达能降低 CAD 发病风险($OR = 0.031, 95\% CI: 0.004\sim 0.251, P = 0.001$)。本研究也揭示了 circMICRA 表达水平与冠状动脉粥样硬化严重程度呈负相关,即高 Gensini 得分组的 circMICRA 表达水平显著低于低 Gensini 得分组。ANTONIO 等^[10]研究发现,环状 RNA circMICRA 表达水平在严重心肌梗死患者外周血中

显著降低,与本研究结果一致。LIU 等^[11]研究发现, circMICRA 在 CAD 患者外周血中表达下调,进而通过糖尿病血管内皮细胞实验证实, circMICRA 与 miR-615-5p 相互作用影响血管内皮细胞迁移和凋亡,导致血管内皮功能紊乱,进而参与动脉粥样硬化的发展。有研究发现, circMICRA 能够竞争性结合 miR-145-5p,可通过调控 miR-145-5p 下游靶基因 ABCA1 和 SMAD3 的表达而促进血管平滑肌细胞的增殖、迁移和凋亡^[12-13]。经 starBase 数据库预测, circMICRA 与 miR-150-5p 有结合位点,细胞系实验进一步证实 miR-150-5p 是 circMICRA 的直接靶标^[14]。而 miR-150 能促进内皮细胞增殖和迁移,抑制心肌梗死后血管重构,进而参与 CAD 的发展^[15]。此外, circMICRA 还具有转录翻译成蛋白质的功能,并在肌细胞增殖过程中发挥重要作用^[16]。综上所述,环状 RNA circMICRA 可通过调节多种 miRNAs 及其下游靶基因的表达参与 CAD 的发生发展。

Spearman 相关分析显示, circMICRA 表达水平与高血压呈负相关。线性回归模型校正年龄、BMI、吸烟率、饮酒率、糖尿病患病率和高脂血症患病率后, circMICRA 表达水平仍与高血压患病率呈负相关。LIU 等^[11]研究也发现,与健康对照者相比,高血压患者外周血中 circMICRA 表达水平显著降低,而 miR-615-5p 表达水平上调。高血压会导致内皮细胞损伤和凋亡,是 CAD 的传统危险因素。环状 RNA circMICRA 表达下调可能是高血压的一种代偿性反应,能保护内皮细胞免受压力,有助于缺血性疾病的血管再生。本研究发现, circMICRA 表达水平与系统性炎症指数 NLR 和 PLR 也呈负相关,提示 circMICRA 可能作为炎症相关因子参与动脉粥样硬化的发生、发展过程。LIANG 等^[17]研究也发现, circMICRA 表达水平与 MLR、NLR 和 PLR 呈负相关,与本研究结果一致。MLR 和 NLR 是心血管疾病的独立预测因素,而且与冠状动脉损伤的程度和严重程度呈正相关^[18]。PLR 增高是慢性炎症的标志,也是 CAD 发生的危险因素^[19]。据报道, NLR 和 PLR 与炎症指标 IL-6、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 和 C 反应蛋白 (CRP) 呈正相关,而 circMICRA 表达水平与这些炎症指标呈负相关,即 circMICRA 表达能降低促炎因子 (IL-6、TNF- α) 表达,增加抗炎因子 (IL-10) 表达,表明 circMICRA 在 CAD 炎性反应中起保护作用^[17]。circMICRA 还可通过抑制 miR-22-3p 活性,调节 IL-1、IL-6、TNF- α 等炎症因子蛋白水平,进而影响 CAD 的病理过程^[20]。Spearman 相关分析显示, circMICRA 表达水平与吸烟呈负相关。在校正年龄、BMI 水平、饮酒率、高血压患病率、糖尿病患病率和高脂血症患病率后, circMICRA 表达水平与吸烟则无相关性。这可能是由于纳入的样本量过少导致的基本资料偏倚。但是在校正吸烟率前后, circMICRA 表达均能降低 CAD

发病风险,说明吸烟率差异并没有影响本研究的结果。

血糖、血脂、血压受生理性因素和药物因素等影响较大,不能反映机体真实的代谢水平,所以本文选用是否具有相关病史作为分析校正因素,有待进一步研究证明。本研究仍有不足之处:(1) 研究人群样本量太少,需要增加样本量来验证本研究得出的结果。(2) 由于样本的限制,本文并未检测冠状动脉粥样斑块中 circMICRA 表达水平。(3) 因最终符合纳入标准并具有完整临床资料的女性 CAD 患者较少,本文纳入的全是男性 CAD 患者,可能存在性别偏倚。

综上所述, circMICRA 表达水平在 CAD 患者外周血中显著降低,而且与冠状动脉粥样硬化严重程度呈负相关,可能作为一种保护性因素通过炎症途径参与 CAD 的病理过程。

参考文献

- [1] VIRANI S S, ALONSO A, BENJAMIN E J, et al. Heart disease and stroke statistics-2020 update: a report from the american heart association[J]. *Circulation*, 2020, 141 (9):139-596.
- [2] MCCARTHY C P, MCEVOY J W, JANUZZI J L. Biomarkers in stable coronary artery disease[J]. *Am Heart J*, 2018, 196(82):96.
- [3] HSIAO K Y, SUN H S, TSAI S J. Circular RNA-new member of noncoding RNA with novel functions[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2017, 242(11):1136-1141.
- [4] 胡盛寿, 杨跃进, 郑哲, 等《中国心血管病报告 2018》概要[J]. *中国循环杂志*, 2019, 34(3):209-210.
- [5] WANG K, LONG B, LIU F, et al. A circular RNA protects the heart from pathological hypertrophy and heart failure by targeting miR-223[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37 (33):2602-2611.
- [6] GENG H H, LI R, SU Y M, et al. The circular RNA Cdr1as promotes myocardial infarction by mediating the regulation of miR-7a on its target genes expression[J]. *PLoS One*, 2016, 11(3):e0151753.
- [7] SONG C L, WANG J P, XUE X, et al. Effect of circular ANRIL on the inflammatory response of vascular endothelial cells in a rat model of coronary atherosclerosis[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(3):1202-1212.
- [8] JA N, HEUM LLER A W, FOUANI Y, et al. Long non-coding RNAs in vascular biology and disease[J]. *Vascul Pharmacol*, 2019, 114:13-22.
- [9] REN Q, LI H, WANG X. The circular RNA ZNF292 alleviates OGD-induced injury in H9c2 cells via targeting BNIP3[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(23):3365-3377.
- [10] ANTONIO S S, ZHANG L, VAUSORT M, et al. The circular RNA MICRA for risk stratification after myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol Heart Vasc*, 2017, 17:33-36.

- tamin D and musculoskeletal health, cardiovascular disease, autoimmunity and cancer: Recommendations for clinical practice[J]. *Autoimmun Rev*, 2010, 9(11): 709-715.
- [4] YAZDANPANAH M, BAILEY D, Walsh W, et al. Analytical measurement of serum 25-OH-vitamin D₃, 25-OH-vitamin D₂ and their C3-epimers by LC-MS/MS in infant and pediatric specimens[J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(13-14): 1264-1271.
- [5] ALOIA J F. The 2011 report on dietary reference intake for vitamin D: where do we go from here? [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96(10): 2987-2996.
- [6] OSORIO LANDA H K, PÉREZ DÍA Z I, LAGUNA BÁRCENAS S D C, et al. Association of serum vitamin D levels with chronic disease and mortality[J]. *Nutr Hosp*, 2020, 37(2): 335-342.
- [7] L'ESPÉRANCE K, DATTA G D, QURESHI S, et al. Vitamin D exposure and ovarian cancer risk and prognosis [J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2020, 17(4): 1168.
- [8] YAMAMOTO E A, JØRGENSEN T N. Relationships between vitamin D, gut microbiome, and systemic autoimmunity[J]. *Front Immunol*, 2020, 21(10): 3141.
- [9] MIETTINEN M E, NIINISTÖ S, ERLUND I, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D concentration in childhood and risk of islet autoimmunity and type 1 diabetes: the TRIGR nested case-control ancillary study[J]. *Diabetologia*, 2020, 63(4): 780-787.
- [10] VASILE M, CORINALDESI C, ANTINOZZI C, et al. Vitamin D in autoimmune rheumatic diseases: A view inside gender differences [J]. *Pharmacol Res*, 2017, 117: 228-241.
- [11] XU D M, LIANG J H, LI W, et al. 25-Hydroxy vitamin D deficiency predicts inferior prognosis in mantle cell lymphoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(4): 1003-1009.
- [12] CÂMARA A B, BRANDÃO I A. The relationship between vitamin D deficiency and oxidative stress can be Independent of age and gender[J]. *Int J Vitam Nutr Res*, 2019, 12: 1-16.
- [13] CALLEJO M, MONDEJAR-PARREÑO G, ESQUIVEL-RUIZ S, et al. Total, bioavailable, and free vitamin D levels and their prognostic value in pulmonary arterial hypertension[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(2): 448.
- [14] AL-ZOHILY B, AL-MENHALI A, GARIBALLA S, et al. Epimers of vitamin D: A review[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2): 470.
- [15] MYDTSKOV N D, LYKKEDEGN S, FRUEKILDE P B N, et al. S-25-hydroxyvitamin D and C3-epimers in pregnancy and infancy: An Odense Child Cohort study[J]. *Clin Biochem*, 2017, 50(18): 988-996.
- (收稿日期: 2021-01-12 修回日期: 2021-05-26)
- (上接第 2442 页)
- [11] LIU C, YAO M D, LI C P, et al. Silencing Of Circular RNA-ZNF609 ameliorates vascular endothelial dysfunction[J]. *Theranostics*, 2017, 7(11): 2863-2877.
- [12] HUANG W, HUANG C, DING H. Involvement of miR-145 in the development of aortic dissection via inducing proliferation, migration, and apoptosis of vascular smooth muscle cells[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(1): e23028.
- [13] YUE Y, ZHANG Z, ZHANG L, et al. miR-143 and miR-145 promote hypoxia-induced proliferation and migration of pulmonary arterial smooth muscle cells through regulating ABCA1 expression[J]. *Cardiovasc Pathol*, 2018, 37: 15-25.
- [14] PENG L, CHEN G, ZHU Z, et al. Circular RNA ZNF609 functions as a competitive endogenous RNA to regulate AKT3 expression by sponging miR-150-5p in Hirschsprung's disease[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1): 808-818.
- [15] LUO X Y, ZHU X Q, LI Y, et al. MicroRNA-150 restores endothelial cell function and attenuates vascular remodeling by targeting PTX3 through the NF-κB signaling pathway in mice with acute coronary syndrome[J]. *Cell Biol Int*, 2018, 42(9): 1170-1181.
- [16] LEGNINI I, DI TIMOTEO G, ROSSI F, et al. Circ-ZNF609 Is a circular RNA that can be translated and functions in myogenesis[J]. *Mol Cell*, 2017, 66(1): 22-37.
- [17] LIANG B, LI M, DENG Q, et al. CircRNA ZNF609 in peripheral blood leukocytes acts as a protective factor and a potential biomarker for coronary artery disease[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(12): 741.
- [18] VERDOIA M, BARBIERI L, DI GIOVINE G, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio and the extent of coronary artery disease: results from a large cohort study[J]. *Angiology*, 2016, 67(1): 75-82.
- [19] AKBOGA M K, CANPOLAT U, BALCI K G, et al. Increased platelet to lymphocyte ratio is related to slow coronary flow[J]. *Angiology*, 2016, 67(1): 21-26.
- [20] LI L, LUO Y, ZHANG Y, et al. CircZNF609 aggravates neuropathic pain via miR-22-3p/ENO1 axis in CCI rat models[J]. *Gene*, 2020, 763: 145069.
- (收稿日期: 2021-02-02 修回日期: 2021-05-22)