

• 论 著 •

基于外泌体中基因序列构建 miRNA-mRNA 预测复治
肺结核特异的关键基因*

徐振华¹, 李奇凤¹, 王 泉^{2△}

1. 北京儿童医院新疆医院/新疆维吾尔自治区儿童医院/新疆儿科研究所, 新疆乌鲁木齐 830054;
2. 新疆医科大学第八附属医院检验科, 新疆乌鲁木齐 830049

摘要:目的 基于外泌体所建数据库构建复治肺结核(RTB)特异 miRNA-mRNA 的调控网络,为 RTB 在发病机制研究上提供理论支撑。**方法** 利用初治肺结核(ATB)和 RTB 患者和健康对照者外周血进行外泌体数据库的建立,并筛选 RTB 特异的差异表达 miRNA 和差异表达 mRNA,通过 miRNet 数据库预测差异表达 miRNA 在 RTB 特异性下游靶基因并进行富集分析。使用可视化软件 Cytoscape 绘制 miRNA-mRNA 调控网络图。**结果** ATB 中有 92 个独立差异表达 miRNA,RTB 中有 11 个独立差异表达 miRNA。ATB 中有 201 个独立差异表达 mRNA,RTB 中有 308 个独立差异表达 mRNA。对 RTB 特异性差异表达 mRNA 与 RTB 特异性差异表达 miRNA 预测的靶基因进行综合分析后取交集,共有 8 个靶向目标基因。PPI 网络拓扑分析得出前 20 个关键基因,包括高表达 RTB 特异性差异表达基因 miRNA 的靶基因:PABPC1、EEF1A1、VCP、HNRNPA1;低表达 RTB 特异性差异表达基因 miRNA 的靶基因:DDX17、MAPK14、FLNA、TPT1、POLR2E。**结论** PABPC1、EEF1A1、VCP、HNRNPA1、DDX17、MAPK14、FLNA、TPT1、POLR2 可能是 RTB 特异的关键基因,在疾病发展中扮演调控作用。

关键词:外泌体; 复治肺结核; 特异度; 生物信息学分析
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.17.007 **中图法分类号:**R521
文章编号:1673-4130(2022)17-2080-06 **文献标志码:**A

Construction of key genes of miRNA-mRNA specific for predicting retreatment
of tuberculosis based on gene sequences in exosomes*

XU Zhenhua¹, LI Qifeng¹, WANG Quan^{2△}

1. Xinjiang Hospital of Beijing Children's Hospital/Children's Hospital of Xinjiang Uygur
Autonomous Region/Xinjiang Institute of Pediatrics, Urumqi, Xinjiang 830054, China;
2. Department of Clinical Laboratory, the Eighth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical
University, Urumqi, Xinjiang 830049, China

Abstract: Objective To construct a regulatory network of specific miRNA-mRNA for the retreatment of tuberculosis (RTB) based on exosome database, and to provide theoretical support for the study of the pathogenesis of RTB. **Methods** Exosome database was established by using the peripheral blood of patients with initial differentially expressed miRNAs and differentially expressed mRNA were screened, and the differentially expressed miRNAs in RTB-specific downstream target genes were predicted and enriched by the miRNet database. The visualization software Cytoscape was used to draw the miRNA-mRNA regulation network diagram. **Results** There were 92 independent differentially expressed miRNA in ATB and 11 independent differentially expressed miRNA in RTB. There were 201 independent differentially expressed mRNA in ATB and 308 independent differentially expressed mRNA in RTB. The intersection of RTB-specific differentially expressed mRNA and RTB-specific differentially expressed miRNA prediction was comprehensively analyzed, and a total of 8 target genes were targeted. The top 20 key genes were analyzed by PPI network topology, including target genes of miRNA with high expression of RTB-specific differential expression genes miRNA:

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81960387)。
作者简介:徐振华,男,硕士研究生在读,主要从事微生物感染与免疫方面的研究。△ 通信作者, E-mail:3197606@qq.com。

PABPC1,EEF1A1,VCP,and HNRNPA1,and target genes with low expression of RTB-specific differential expression genes miRNA;DDX17,MAPK14,FLNA,TPT1 and POLR2E. **Conclusion** PABPC1,EEF1A1,VCP,HNRNPA1,DDX17,MAPK14,FLNA,TPT1 and POLR2 might be key genes specific to RTB and play a regulatory role in disease development.

Key words:exosomes; retreatment of tuberculosis; specificity; bioinformatics analysis

外泌体是从体内细胞释放的直径为 40~160 nm 源于内吞体的囊泡,包括蛋白质、脂质、mRNA 及非编码 RNA 和 DNA 等。外泌体可以将其内含物(尤其是 miRNA)释放到邻近和远端细胞中,参与体内很多生物反应,如细胞与细胞之间信号通信,基因转录和翻译的调控,免疫反应平衡和中枢、外周免疫调节,受体配体信号,细胞分化和肿瘤,宿主-微生物群的相互作用和病毒免疫等。然而,本文通过对初治肺结核(ATB)和复治肺结核(RTB)外泌体进行富集提取、建库测序和生物信息分析来预测相关靶向调控,借助生物信息学构建 miRNA-mRNA 的关系,在分子水平上把控复治肺结核特异表达的关键基因,为新的药物研发提供思路和理论支撑。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 ATB 和 RTB 患者和健康对照者(HC)的新鲜外周血,离心后取血浆,行血浆外泌体检测、建库、测序,每份标本形成相应的数据库。根据所建外周血外泌体数据库获取相应的差异表达 miRNA 和 mRNA。使用 R 语言“edgeR”包对所建肺结核外泌体数据进行差异表达分析,以 $|\log_2FC| \geq 2$, $FDR < 0.05$ 为条件筛选差异 miRNA,调用 enhanced-volcano R 包绘图,使用 DESeq2 进行差异表达分析。

1.2 外泌体 RTB 特异性差异表达 miRNA 和 mRNA 筛选 miRNA 差异表达的数据输入为 miRNA 表达水平分析中得到的 readcount 数据。对于有生物学重复的样品,采用基于负二项分布的 DESeq2 进行分析;对于无生物学重复的样品,DEGseq 会采用 TMM 算法对 readcount 数据进行标准化处理,然后进行差异分析,筛选 RTB 特异性差异表达 miRNA 和 mRNA,用韦恩图来表示。

1.3 差异表达 miRNA 下游靶基因的预测 通过 miRNet 数据库预测差异表达 miRNA 在 RTB 特异性下游靶基因。

1.4 功能富集分析和蛋白-蛋白相互作用(PPI)网络 使用可视化软件 Cytoscape 绘制 miRNA-mRNA 调控网络图。利用在线网站 STRING 11.0(<https://string-db.org/>)构建靶基因之间相互作用,并使用 Cytoscape 核心插件 cytohubba 筛选 Degree 数最高的

前 20 个靶基因进行后续分析。

2 结果

2.1 从外泌体所建数据库中筛选出 ATB 和 RTB 差异表达 miRNA 共 1 408 个基因(如图 1A)。

2.2 ATB 和 RTB 差异表达 miRNA 的韦恩图 ATB 和 RTB 差异表达 miRNA 的以 $\log_{10}$ 值进行聚类,ATB 的差异表达 miRNA 和 RTB 的差异表达 miRNA 取交集得到 19 个共表达差异表达 miRNA,ATB 中有 92 个独立差异表达 miRNA,RTB 中有 11 个独立差异表达 miRNA(图 1B)。

2.3 RTB 特异的差异表达 miRNA 下游靶基因预测 通过 miTarbare 和 miRanda 数据库共筛选出 RTB 特异的差异表达 miRNA 下游靶基因预测为 375 个(图 1C)。

2.4 RTB 特异的差异表达 miRNA 下游靶基因进行功能富集分析(GO)和信号通路富集分析(KEGG) 为了明确筛选出 RTB 特异的差异表达 miRNA 下游靶基因的生物学作用,使用 GOSec、topGO、hmmScan 软件对 375 个 RTB 特异的差异表达 miRNA 下游靶基因进行 GO 和 KEGG 途径富集分析。在 GO 功能注释中,由于基因较多对 GO 中前 10 位基因进行功能注释,生物过程分析揭示目标基因在三酰甘油生物合成和代谢过程中的正调控、肠道胆固醇吸收、膜组织等较多富集;分子功能分析目标基因在 RNA 聚合酶 III 复合物、U2 型催化步骤 1 剪接体、PRC1 复合物、在线粒体外层的整体膜蛋白等富集;细胞成分分析表明目标基因明显富集于双链端粒 DNA 结合蛋白、蛋白酶结合、小 GTP 酶结合蛋白、端粒 DNA 结合蛋白等富集(图 1D)。KEGG 途径富集分析结果显示:目标基因在 mRNA 监测通路、单纯疱疹病毒 1 型感染、非同源端连接、色氨酸代谢、脂肪消化和吸收等富集(图 1E)。

2.5 从外泌体所建数据库中筛选出 ATB 和 RTB 差异表达 mRNA 共 4 432 个基因(图 2A)。

2.6 ATB 和 RTB 差异表达 mRNA 的韦恩图 ATB 和 RTB 差异表达 mRNA 的以 $\log_{10}$ 值进行聚类;ATB 的差异表达 miRNA 和 RTB 的差异表达 mRNA 取交集得到 94 个共表达差异表达 mRNA,

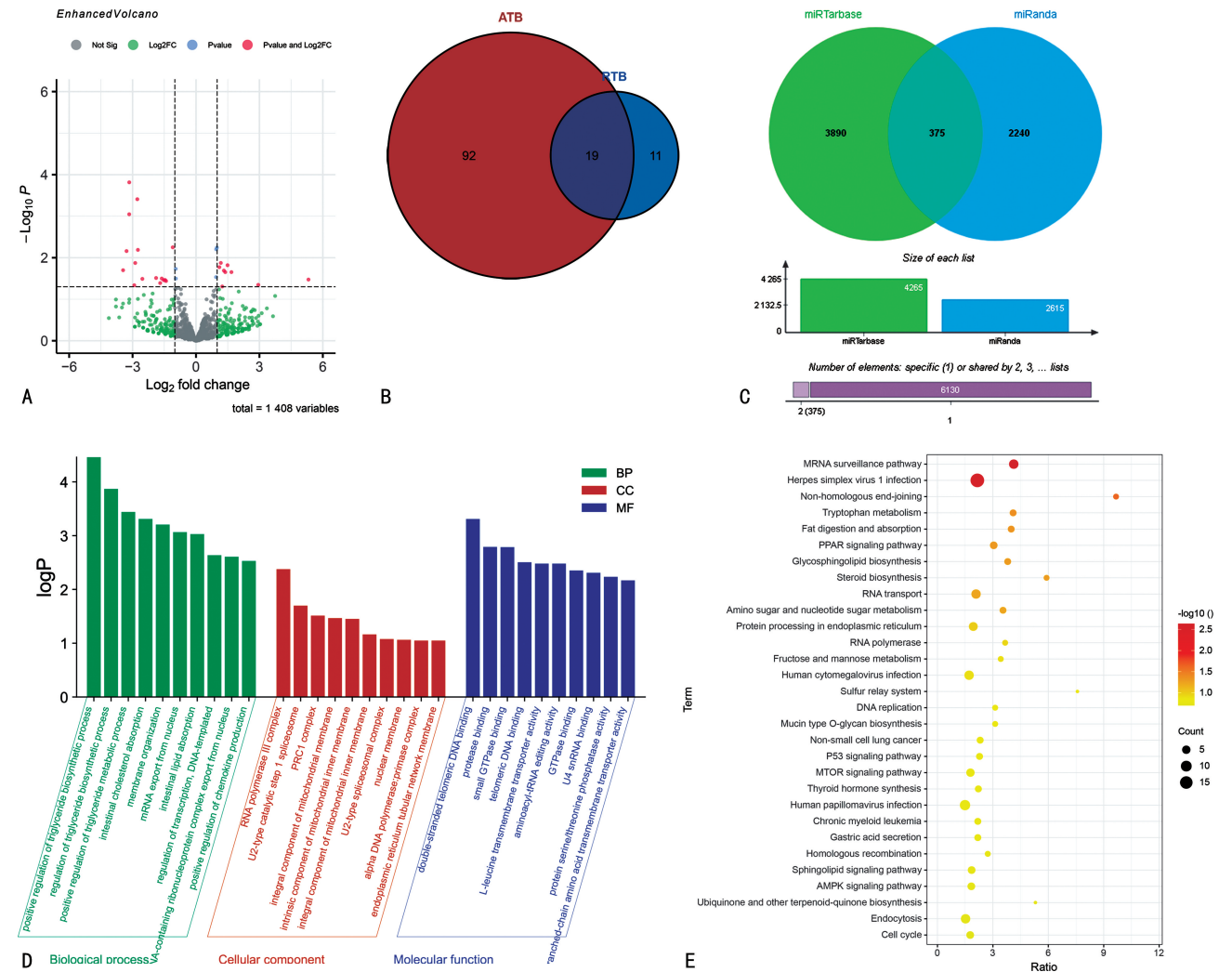
ATB 中有 201 个独立差异表达 mRNA,RTB 中有 308 个独立差异表达 mRNA(图 2B)。

2.7 RTB 特异的差异基因 mRNA 的功能富集分析和信号通路富集分析 为了明确筛选出目标基因的生物学作用,使用 GOSeq、topGO、hmmScan 软件对 308 个 RTB 特异的差异表达 mRNA 靶基因进行 GO 功能注释和 KEGG 途径富集分析。在 GO 功能注释中,由于基因较多对 GO 中前 10 位基因进行功能注释,生物过程分析揭示目标基因在蛋白质去磷酸化的负调控、对线粒体上蛋白质定位建立的正调控、中性粒细胞脱颗粒、中性粒细胞的激活涉及免疫应答等富集;分子功能分析目标基因在细胞核、细胞内膜结合细胞器、细胞-底物连接、肌动蛋白细胞骨架等富集;细胞成分分析表明目标基因明显富集于 RNA 结合蛋白、单链端粒 DNA 结合蛋白、核苷—三磷酸酶活性、激酶结合等(图 2C)。KEGG 途径富集分析结果显

示:目标基因在人类 T 细胞白血病病毒 1 型感染、细胞衰老、血小板活化、神经变性通路肌萎缩性侧索硬化症等富集(图 2D)。

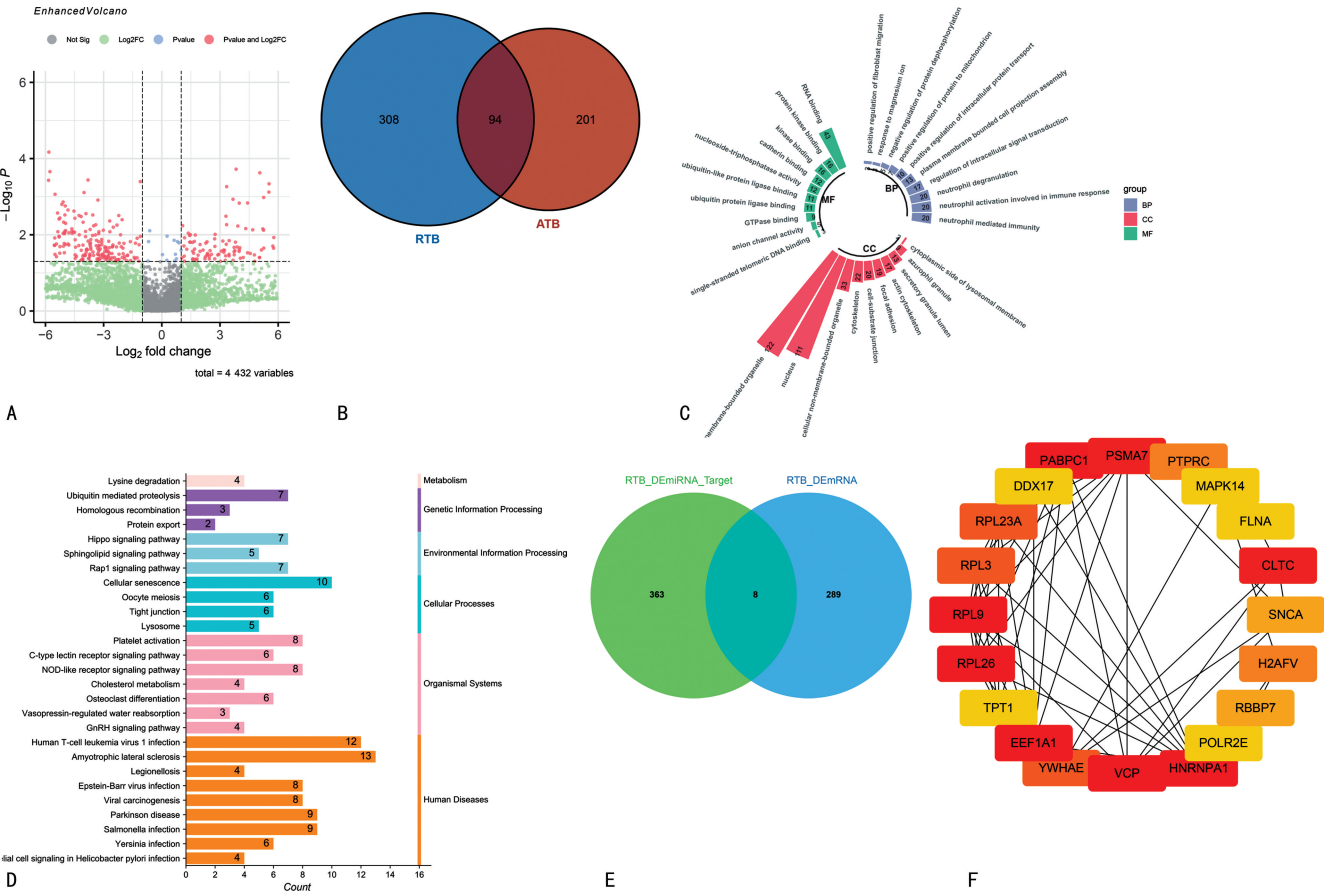
2.8 RTB 特异的差异表达 miRNA 的靶基因韦恩图 对 RTB 特异的差异表达 mRNA 与 RTB 特异的差异表达 miRNA 预测的靶基因进行综合分析后取交集,共有 8 个靶向目标基因(图 2E)。

2.9 PPI 网络的建立与分析 将所有目标基因导入 String 数据库中,构建目标基因的 PPI 网络,再将数据输入到 BLAST 软件建立一个更直观的 PPI 网络,并根据网络拓扑分析得出前 20 个关键基因,包括高表达 RTB 特异的差异表达基因 miRNA 的靶基因: PABPC1、EEF1A1、VCP、HNRNPA1;低表达 RTB 特异的差异表达基因 miRNA 的靶基因:DDX17、MAPK14、FLNA、TPT1、POLR2E(图 2F)。



注:A为 ATB 和 RTB 所筛选差异表达 miRNA 的火山图;B 为 ATB 和 RTB 差异表达 miRNA 的韦恩图;C 为 RTB 特异的差异表达 miRNA 下游靶基因预测;D 为 RTB 特异的差异表达 miRNA 下游靶基因 GO 富集柱状图;E 为 RTB 特异的差异表达 miRNA 下游靶基因 KEGG 富集散点图。

图 1 RTB 特异的差异表达 miRNA 获得及下游靶基因的富集过程



注:A为ATB和RTB差异表达mRNA加强火山图;B为ATB和RTB差异表达mRNA的韦恩图;C为RTB特异的差异蛋白基因mRNA的GO富集图;D为RTB特异的差异基因mRNA的KEGG富集图;E为RTB特异的差异表达imRNA的靶基因韦恩图;F为RTB特异的PPI调控网络。

图2 RTB特异差异表达mRNA获得及富集和目标基因PPI网络

3 讨论

RTB指既往不规律抗结核治疗≥1个月以及初治失败和复发的肺结核患者^[1],是耐药肺结核传播的重要来源。寻找RTB的病因、发病机制对解决耐药肺结核显得尤为重要,同时也为治疗RTB提供新型的方案。本研究中通过构建外泌体基因序列中miRNA-mRNA的关系揭示RTB在分子水平上调控机制。

在耐药情况、影像学改变和免疫功能检查等方面,RTB和ATB患者有不同程度的区别。有研究报道,与ATB相比,RTB患者对利福平耐药率更高^[2]。曹盼等^[3]报道,利福平耐药RTB比ATB患者空洞数量多、最大内径大。同时,空洞壁钙化、肺实变、毁损肺等CT表现也比初治患者严重。ATB和RTB患者体内存在不同程度的淋巴细胞亚群改变^[4],其中T淋巴细胞亚群、NK细胞比例与肺结核患者所处不同感染阶段有一定的关联性。RTB和ATB不仅在以上情况有不同,而且在基因表达数量上不一样。本研究通过ATB和RTB差异表达miRNA的聚类分析显示RTB中有11个独立差异表达miRNA,ATB中有

92个独立差异表达miRNA。进一步预测RTB特异性差异表达miRNA下游靶基因有375个,并对此基因进行GO和KEGG,富集分析揭示目标基因在三酰甘油生物合成、代谢过程中的正调控、肠道胆固醇吸收等脂质代谢改变;RNA聚合酶Ⅲ复合物、U2型催化步骤1剪接体、小GTP酶结合蛋白、端粒DNA结合蛋白、在线粒体外层的整体膜蛋白等参与基因转录和翻译方面调节。有研究结果显示,在Mtb休眠和重新激活期间,参与不同阶段能量代谢的蛋白质相对数量是不同的,例如不同的酸度、渗透压和营养缺乏等微环境^[5]。结核分枝杆菌为能够在复治和初治状态之间切换,通过改变其代谢网络的路线,以响应不同的感染阶段。结核分枝杆菌为了其生存和在限制条件下的宿主体内保持持久性必然要表现出代谢功能的多面性。作为异养生物,Mtb能够代谢多种碳源,这些碳源可由细菌合成或从宿主细胞获得^[6-8]。

本研究对RTB特异性差异表达miRNA下游靶基因预测并进行富集分析,结果显示在脂质代谢和基因转录和翻译等方面进行调控,说明RTB患者通过在能量代谢和基因表达等方面做出改变迎合所处环

境。对目标基因 mRNA 的富集分析提示目标基因 mRNA 和差异表达 miRNA 预测的下游基因的富集分析互相适用、相互补充功能调控 RTB 发生和发展, 这为以后研发治疗 RTB 新型的抗结核药物提供了靶点。

在本研究构建的 miRNA-mRNA 调控网络模型中, 得到 9 个显著高低表达靶基因, 可能在 RTB 中发挥重要的生物学作用。PABPC1 参与 mRNA 翻译^[9-10], 高腺苷酸化^[11], 无义介导的衰变^[12]和替代多腺苷酸化^[13]等多种体内调节。有研究报道 PABPC1 将 hnRNPLL 招募到 RNA 的 3' 末端, 并通过 mRNA 替代多腺苷酸化调节并调节浆细胞中从 mIg 到 sIg 的转变, 证实浆细胞特异性 RBP 和普遍表达的 RBP (PABPC1) 之间的相互作用共同调节 B 细胞中免疫球蛋白分泌, 其高表达可增强 RTB 中免疫球蛋白对结核分枝杆菌杀伤^[14]。真核翻译伸长因子-1 α 1 (eEF1A1) 负责核糖体蛋白合成^[15], 与伴侣介导的自噬^[16]和细胞凋亡^[17]有关, eEF1A1 与 PARP1 和 TXK 形成复合物可作为 Th1 细胞特异性转录因子, 结合 IFN- γ 的启动子以直接调节 IFN- γ 转录, 因此其与 Th1 细胞因子的产生密切相关^[18]。有研究提出 eEF1A1 与 FadD13 结合对于巨噬细胞中的 Mtb 增殖和在 Mtb 感染期间促炎细胞因子的产生起着关键作用^[19], 敲低 eEF1A1 可消除由 FadD13 诱导的促炎细胞因子。DDX17 是一种 RNA 依赖性 ATP 酶, 与病毒感染和免疫应答密切相关^[20-22]。而本研究显示 DDX17 在 RTB 低表达, 其参与 RTB 发生、发展的调控。众所周知, MAPK 包括 MAPK1-MAPK3、JNK 和 p38 MAPK, 均与自噬调节有关。MAPK14 直接磷酸化苏氨酸 75 的 ATG5 激活导致自噬体-溶酶体融合损伤, 从而损害了自噬^[23]。这和本研究相符, 通过 PPI 网络分析 MAPK14 在 RTB 中低表达, 从而有利于自噬参与细胞稳态, 发育和免疫等代谢机制, 促进 RTB 的发生、发展。更有研究进一步证实, 氧化应激在自噬抑制后介导 MAPK14 信号传导和 DNA 损伤标志物方面可能起作用^[24]。

综上所述, 通过外泌体构建 miRNA-mRNA 预测 RTB 特异性关键基因, 这为今后探寻 RTB 分子机制、研发新型基因药物提供靶点和思路, 但本研究不足之处在于没有验证关键基因在 RTB 组织中的表达, 进一步证实该基因是否存在组织中, 下一步研究完善相关验证。

参考文献

[1] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS196-

2017 结核病分类[S]. 北京: 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会, 2017.

[2] 王隽, 郭茹, 王庆枫, 等. 初复治肺结核 310 例耐药情况分析[J]. 中国临床医生杂志, 2020, 48(7): 809-811.

[3] 曹盼, 梁弘立, 袁吉欣, 等. 初治与复治空洞性利福平耐药肺结核患者的 CT 表现分析[J]. 中国防痨杂志, 2021, 43(7): 694-701.

[4] 沈洁, 吴妹英, 李苏梅. 初治和复治肺结核患者外周血淋巴细胞亚群的变化及其临床意义[J]. 临床肺科杂志, 2019, 24(2): 208-212.

[5] GOPINATH V, RAGHUNANDANAN S, GOMEZ RL, et al. Profiling the proteome of mycobacterium tuberculosis during dormancy and reactivation[J]. Mol Cell Proteomics, 2015, 14(8): 2160-2176.

[6] PANDEY A K, SASSETTI C M. Mycobacterial persistence requires the utilization of host cholesterol[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105: 4376-4380.

[7] DE CARVALHO L P S, FISCHER S M, MARRERO J, et al. Metabolomics of mycobacterium tuberculosis reveals compartmentalized co-catabolism of carbon substrates[J]. Chem Biol, 2010, 17: 1122-1131.

[8] ZIMMERMANN M, KOGADEEVA M, GENGENBACHER M, et al. Integration of metabolomics and transcriptomics reveals a complex diet of mycobacterium tuberculosis during early macrophage infection[J]. MSystems, 2017, 22(4): 1-18.

[9] IMATAKA H, GRADI A, SONENBERG N. A newly identified N-terminal amino acid sequence of human eIF4G binds poly(A)-binding protein and functions in poly(A)-dependent translation[J]. EMBO J, 1998, 17(24): 7480-7489.

[10] WELLS S E, HILLNER P E, VALE R D, SACHS A B. Circularization of mRNA by eukaryotic translation initiation factors[J]. Mol Cell, 1998, 2(1): 135-140.

[11] KUMAR G, RENUKA, GLAUNSINGER BRITT A. Nuclear import of cytoplasmic poly(A) binding protein restricts gene expression via hyperadenylation and nuclear retention of mRNA[J]. Mol cell Biol, 2010, 30(21): 4996-5008.

[12] BEHM-ANSMANT I, GATFIELD D, REHWINKEL J, et al. A conserved role for cytoplasmic poly(A)-binding protein 1(PABPC1) in nonsense-mediated mRNA decay[J]. EMBO J, 2007, 26(6): 1591-1601.

[13] LI W, YOU B, HOQUE M, et al. Systematic profiling of poly(A)+ transcripts modulated by core 3' end processing and splicing factors reveals regulatory rules of alternative cleavage and polyadenylation[J]. PLoS Genet, 2015, 11(4): e1005166.

- [14] PENG Y, YUAN J, ZHANG Z, CHANG X. Cytoplasmic poly(A)-binding protein 1 (PABPC1) interacts with the RNA-binding protein hnRNPLL and thereby regulates immunoglobulin secretion in plasma cells [J]. J Biol Chem, 2017, 292(29):12285-12295.
- [15] BURGLOVA K, RYLOVA G, MARKOS A, et al. Identification of eukaryotic translation elongation factor 1- α 1 gamendazole-binding site for binding of 3-hydroxy-4 (1 β -ITH&IT)-quinolinones as novel ligands with anti-cancer activity[J]. J Med Chem, 2018, 61(7):3027-3036.
- [16] BANDYOPADHYAY U, SRIDHAR S, KAUSHIK S, et al. Identification of regulators of chaperone-mediated autophagy[J]. Mol Cell, 2010, 39(4):535-547.
- [17] DUTTARROY A, BOURBEAU D, WANG X L, et al. Apoptosis rate can be accelerated or decelerated by overexpression or reduction of the level of elongation factor-1 α [J]. Exper Cell Res, 1998, 238(1):168-176.
- [18] WEI S, WANG D, LI H, et al. Fatty acylCoA synthetase FadD13 regulates proinflammatory cytokine secretion dependent on the NF- κ B signalling pathway by binding to eEF1A1[J]. Cell Microbiol, 2019, 21(12):e13090.
- [19] GIRAUD G, TERRONE S, BOURGEOIS C F. Functions of DEAD box RNA helicases DDX5 and DDX17 in chromatin organization and transcriptional regulation [J]. BMB Rep, 2018, 51(12):613-622.
- [20] RENÉ-PIERRE L, QINGHUA P, YANN L D, et al. DDX17 promotes the production of infectious HIV-1 particles through modulating viral RNA packaging and translation frameshift[J]. Virology, 2013, 443(2):384-392.
- [21] RYAN H, MOY BRIAN S, COLE ARI YASUNAGA, et al. Stem-loop recognition by DDX17 facilitates miRNA processing and antiviral defense[J]. Cell, 2014, 158(4):764-777.
- [22] NYARADZAI S, CLAIRE A W, AISLING M V, et al. DDX17 specifically, and independently of DDX5, controls use of the HIV A4/5 splice acceptor cluster and is essential for efficient replication of HIV[J]. J Mol Biol, 2018, 430(18):3111-3128.
- [23] HÖCKER R, WALKER A, SCHMITZ I. Inhibition of autophagy through MAPK14-mediated phosphorylation of ATG5[J]. Autophagy, 2013, 9(3):426-428.
- [24] ELBIALY A. The role of antioxidants in restoring MAPK 14 and a DNA damage marker level following autophagy suppression[J]. Open Biol, 2020, 10(12):200253.

(收稿日期:2021-12-09 修回日期:2022-04-16)

(上接第 2079 页)

- [12] PAPANASTASIOU C A, KOKKINIDIS D G, OIKONOMOU E K, et al. Pregnancy associated plasma protein-A as a prognostic biomarker of all-cause mortality and cardiovascular events in patients presenting with chest pain: a systematic review[J]. Biomarkers, 2018, 23(1):1-9.
- [13] GOU W H, ZHANG Z, YANG C F, et al. miR-223/Pknox1 axis protects mice from CVB3-induced viral myocarditis by modulating macrophage polarization[J]. Exp Cell Res, 2018, 366(1):41-48.
- [14] 韩迎春, 李扬, 张继超, 等. 敲除 miR-223 促进血管炎症和动脉粥样硬化的发生[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(4):40-45.
- [15] 魏雅丽, 梁芳, 王芳. 未接受血运重建治疗的高龄急性非 ST 段抬高型心肌梗死患者临床预后[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(21):3596-3598.
- [16] TANG S L, ZHAO Z W, LIU S M, et al. Pregnancy-associated plasma protein-a accelerates atherosclerosis by regulating reverse cholesterol transport and inflammation [J]. Circ J, 2019, 83(3):515-523.
- [17] DEMBIC M, HEDLEY P L, PEDERSEN C T, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and the proform of the eosinophil major basic protein(ProMBP) are associated with increased risk of death in heart failure patients[J]. Scand J Clin Lab Invest, 2017, 77(5):352-357.
- [18] WU X F, YANG M, QU A J, et al. Level of pregnancy-associated plasma protein-a correlates with coronary thin-cap fibroatheroma burden in patients with coronary artery disease: novel findings from 3-Vessel virtual histology intravascular ultrasound assessment [J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(3):e2563.
- [19] M' BAYA-MOUTOULA E, MARCHAND A, SIX I, et al. Inhibition of miR-223 expression using a sponge strategy decreases restenosis in rat injured carotids[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2020, 18(5):507-516.
- [20] ZHANG Y, WANG Y F, ZHANG L, et al. Reduced platelet miR-223 induction in kawasaki disease leads to severe coronary artery pathology through a miR-223/PDGFR β vascular smooth muscle cell axis[J]. Circ Res, 2020, 127(7):855-873.

(收稿日期:2021-12-13 修回日期:2022-04-28)