

• 论 著 •

颈动脉粥样硬化差异表达基因 HMGB1、CCL3、  
CCL3L1、CCL4 和 DUSP1 的验证\*

陈举海<sup>1,2</sup>, 许逢燕<sup>3</sup>, 张书萍<sup>1</sup>, 王明栋<sup>1</sup>, 金欣<sup>1</sup>, 莫显刚<sup>3△</sup>

1. 贵州医科大学临床医学院, 贵州贵阳 550004; 2. 贵阳市公共卫生救治中心内三科, 贵州贵阳 550004;  
3. 贵州医科大学附属医院综合病房, 贵州贵阳 550004

**摘要:**目的 验证颈动脉粥样硬化(CAS)的差异表达基因高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)、趋化因子(C-C-基元)配体 3(CCL3)、趋化因子(C-C-基元)配体 3 样蛋白 1(CCL3L1)、趋化因子(C-C-基元)配体 4(CCL4)和双特异性磷酸酶 1(DUSP1)。方法 收集 CAS 患者和健康者的外周全血,提取单核细胞样本,通过采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 CAS 特征基因表达谱。最后,利用 NetworkAnalyst、miRWalk 和 StarBase 数据库构建特征基因的转录因子(TFs)调控网络和竞争性内源 RNA(ceRNA)网络。结果 与健康者相比, HMGB1 mRNA 相对表达量在 CAS 患者中高表达, CCL3、CCL3L1、CCL4、DUSP1 mRNA 相对表达量在 CAS 患者中低表达。随后,构建了 4 个特征基因(CCL4、CCL3、DUSP1 和 HMGB1)相关的 142 个 TFs 组成的 TFs 调控网络和 85 个 ceRNA 为中心的 ceRNA 网络。结论 HMGB1、CCL3、CCL3L1、CCL4 和 DUSP1 可作为 CAS 的特征基因。

**关键词:**颈动脉粥样硬化; 特征基因; 转录因子; 竞争性内源 RNA  
**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2023.17.007 **中图法分类号:**R543.4  
**文章编号:**1673-4130(2023)17-2080-06 **文献标志码:**A

Validation of the carotid atherosclerosis differentially expressed genes HMGB1,  
CCL3, CCL3L1, CCL4, and DUSP1\*

CHEN Juhai<sup>1,2</sup>, XU Fengyan<sup>3</sup>, ZHANG Shuping<sup>1</sup>, WANG Mingdong<sup>1</sup>, JIN Xin<sup>1</sup>, MO Xiangang<sup>3△</sup>  
1. School of Clinical Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China;  
2. Third Department of Internal Medicine, Guiyang Public Health Clinical Center, Guiyang,  
Guizhou 550004, China; 3. Comprehensive Ward, Affiliated Hospital of Guizhou  
Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China

**Abstract: Objective** To validate the differential expression genes high-mobility group box-1 protein (HMGB1), chemokine C-Cmotif ligand 3(CCL3), chemokine C-C-motif ligand 3-like protein 1(CCL3L1), chemokine C-Cmotif ligand 4(CCL4) and dual specificity phosphatase 1(DUSP1) of carotid atherosclerosis (CAS). **Methods** Peripheral whole blood from CAS patients and healthy persons was collected, monocyte samples were extracted, and the carotid atherosclerotic feature genes expression profiles were detected by real-time-PCR (qRT-PCR). Finally, the NetworkAnalyst, miRWalk and StarBase databases were used to construct transcription factors (TFs) regulatory networks and competitive endogenous RNA (ceRNA) networks of feature genes. **Results** HMGB1 was highly expressed in CAS patients and CCL3, CCL3L1, CCL4 and DUSP1 were poorly expressed in CAS patients compared to healthy persons. Subsequently, TFs regulatory networks consisting of 142 TFs associated with 4 characteristic genes (CCL4, CCL3, CCL3, DUSP1 and HMGB1) and 85 ceRNA networks centered on ceRNA were constructed. **Conclusion** HMGB1, CCL3, CCL3L1, CCL4, and DUSP1 could be used as characteristic genes for CAS.

**Key words:** carotid atherosclerosis; feature gene; transcription factor; competitive endogenous RNA

动脉粥样硬化(AS)是心血管事件发生的主要因素<sup>[1]</sup>,其发病机制尚未完全阐明。AS 作为一种慢性血管炎症性疾病<sup>[1]</sup>,单核细胞在其发生发展中起着关键作用,单核细胞相关基因可能是识别 AS 的关键<sup>[2]</sup>。利用生物信息学方法识别差异表达基因可用于诊断疾病<sup>[3]</sup>。本研究前期从 GEO 数据库的 GSE23746 数

\* 基金项目:国家自然科学基金项目(82160097,31660288)。

作者简介:陈举海,男,主治医师,主要从事脉粥样硬化方向的研究。△ 通信作者, E-mail: moxiangang123@126.com。

据集下载颈 AS(CAS)转录组数据,于 MsigDB 数据库下载单核细胞相关基因,利用生物信息学方法筛选出 5 个单核细胞相关差异表达基因[高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)、趋化因子(C-C-基元)配体 3(CCL3)、趋化因子(C-C-基元)配体 3 样蛋白 1(CCL3L1)、趋化因子(C-C-基元)配体 4(CCL4)和双特异性磷酸酶 1(DUSP1)]作为 CAS 的特征基因。为进一步探索 CAS 的诊断生物标志物,本研究通过实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)验证上述特征基因的表达谱,并进行了蛋白互作分析(PPI)调控网络、转录因子(TFs)调控网络及竞争性内源 RNA(ceRNA)网络的探索,为 CAS 的机制研究提供新的思路。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 特征基因表达验证试验采用病例对照研究方法,选取 2021 年 1—12 月在贵阳市公共卫生救治中心经颈动脉彩超确诊 CAS 患者 20 例作为 CAS 组,其中男 10 例,女 10 例;年龄( $52.10 \pm 3.82$ )岁;体质指数( $22.26 \pm 1.37$ ) kg/m<sup>2</sup>;舒张压( $77.40 \pm 7.71$ ) mmHg;收缩压( $129.10 \pm 7.63$ ) mmHg。同期招募了 20 例无 CAS 的健康志愿者作为对照组,其中男 10 例,女 10 例;年龄( $49.80 \pm 4.86$ )岁;体质指数( $21.36 \pm 1.21$ ) kg/m<sup>2</sup>;舒张压( $70.40 \pm 9.25$ ) mmHg;收缩压( $121.80 \pm 9.46$ ) mmHg。两组基线资料比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。参加试验受试者均需签署知情同意书,本研究获得贵阳市公共卫生救治中心伦理委员会审查通过[批件号:2021 伦审第(202151)号]。CAS 组纳入标准:(1)年龄 40~60 周岁;(2)体质指数为 18.5~24.9 kg/m<sup>2</sup>;(3)颈动脉彩超提示 CAS 斑块形成;(4)血常规、肝肾功能、血脂、血糖及血压无显著异常。排除标准:有急慢性感染、血液系统疾病、免疫系统疾病、严重心肺功能不全、近期手术或创伤、肿瘤等相关疾病者。

对照组纳入标准:(1)年龄 40~60 周岁;(2)体质指数为 18.5~24.9 kg/m<sup>2</sup>;(3)颈动脉彩超无异常;(4)血常规、肝肾功能、血脂、血糖及血压正常。排除标准:(1)有 AS 家族史、吸烟、饮酒者;(2)有急慢性感染、血液系统疾病、免疫系统疾病、严重心肺功能不全、近期手术或创伤、肿瘤等相关疾病者。

**1.2 仪器与试剂** 紫外分光光度计(752)(上海菁华科技仪器有限公司)、核酸电泳装置(北京市六一仪器厂)、2720 Thermal Cycler 普通 PCR 仪(美国 Applied Biosystems 公司)、CFX96 实时定量荧光 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)、SureScript-First-strand-cDNA-synthesis-kit(美国 GeneCopoeia 公司)、BlazeTaq™ SYBR® Green qPCR Mix 2.0(美国 GeneCopoeia 公司)、Nuclezol LS RNA Isolation Reagent(美国 ABP Biosciences 公司)、引物(北京擎科生物科技股份有限公司)、无 RNase 水(北诺博莱科技公司)、TAE 缓冲

液(北京索莱宝生物科技有限公司)、DL2000 DNA Marker(日本 Takara 公司)、核酸染料(北京百泰克生物技术有限公司)、DEPC(美国 AMRESCO 公司)、Easy Sep™ Human Monocyte Isolation Kit/Easy Sep™ 人单核细胞分选试剂盒(加拿大 STEMCELL Technologies 公司)等。

## 1.3 方法

**1.3.1 采集外周血样本及外周血单核细胞分离** 采集所有受试者外周血标本 10 mL,分离外周血单核细胞,取外周血单核细胞到 15 mL 离心管中,再向每 1 mL 细胞悬液中加入 50  $\mu$ L Isolation Cocktail 试剂和 50  $\mu$ L RapidSpheres™ 磁珠,常温孵育 5 min,加入 3 倍于原始样品体积的 PBS(无 Mg<sup>2+</sup>、Ca<sup>2+</sup>),轻轻混匀。将流式管置于 EasySep™ 磁极中,常温孵育 3 min,将得到的单核细胞液倒入崭新的离心管中,10 mL PBS 清洗两遍,250 $\times$ g 离心 10 min。弃上清即可得到外周血单核细胞。

**1.3.2 总 RNA 的提取** 收集单核细胞,加 1 mL TRIzol 试剂充分裂解后,提取 RNA 沉淀并自然干燥,向干燥完成的 RNA 沉淀中加入 30~50  $\mu$ L 的无 RNase 水,静置 15 min,使 RNA 彻底溶解,取 3  $\mu$ L RNA 用 TAE 缓冲液稀释到 3 mL 后上分光光度仪检测 A<sub>260</sub> 和 A<sub>280</sub>,计算 RNA 纯度/浓度和下述步骤的上样量,剩余 RNA 立即进行逆转录或冻存于-80℃冰箱中。

**1.3.3 逆转录** mRNA 的逆转录使用美国 GeneCopoeia 公司的 SureScript-First-strand-cDNA-synthesis-kit 试剂盒,按上样要求加入 RNA 及各个试剂和溶液至 20  $\mu$ L,按照下述条件在普通 PCR 仪上进行逆转录:25℃,5 min;42℃,45 min;85℃,5 min;4℃,终止。

**1.3.4 上机检测** 先将上述逆转录产物 cDNA 稀释 10 倍(所有样品按照同一倍数进行稀释)再进行下述 qRT-PCR。mRNA 的 qRT-PCR 反应检测使用广州 Genecopoeia 公司的 BlazeTaq™ SYBR® Green qPCR Mix 2.0 试剂盒,按顺序及上样要求加入试剂至 10  $\mu$ L。短暂离心后,按下列条件在 CFX96 实时定量荧光 PCR 仪进行 20~40 个循环的反应:预变性 95℃,30 s;变性 95℃,10 s;退火 60℃,20 s;延伸 72℃,30 s。采集记录荧光,制作扩增曲线和溶解曲线,读取 Ct 值。相关引物由擎科生物公司合成,引物序列见表 1。

**1.3.5 结果分析** 读取 Ct 值后,用 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 法计算基因的相对表达量,具体为:第一步计算  $\Delta$ Ct=Ct(目的基因)-Ct(内参基因); $\Delta\Delta$ Ct= $\Delta$ Ct(CAS 组)- $\Delta$ Ct(对照组);最后计算 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 值,用 Graphpad Prism 6 计算 P 值。

**1.3.6 特征基因的 PPI 调控网络探索、TFs 调控网络和 ceRNA 机制探索** 本研究使用 STRING(ht-

tps://www.string-db.org/)对 CAS 组与对照组的特征基因进行 PPI。使用 NetworkAnalyst (<http://www.networkanalyst.ca>)中的 ChIP-seq 数据,ENCODE 数据库预测了特征基因的潜在 TFs。使用 miRWalk (<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/>)和 StarBase(<http://starbase.sysu.edu.cn/>)数据库完成基于特征基因的 ceRNA 机制预测。具体来说,从 miRWalk 数据库中预测靶向特征基因的微小 RNA(miRNA),从 StarBase 数据库中预测靶向特征基因的 miRNA 和长链非编码 RNA(lncRNA)关系对。

表 1 特征基因引物序列

| 特征基因   | 正向引物(5'-3')            | 反向引物(5'-3')              |
|--------|------------------------|--------------------------|
| CCL3   | CCGGCAGATTCCACAGAATTTC | ACTCCTCACTGGGGTCAGCACA   |
| CCL3L1 | CCCGACAGATTCCACAGAATTT | CTCCTCACTGGGGTCAGCACAG   |
| CCL4   | GCTCTGCGTGACTGTCCTGT   | CTTGCTTGCTTCTTTTGTT      |
| DUSP1  | AATTGTCCCAACCATTTTGA   | GGAGAGATGATGCTTCGCCT     |
| HMGB1  | GATGCTTCAGTCAACTTCTCAG | TTCTTCTTTTCTTGCTTTTT     |
| GAPDH  | CGCTGAGTACGTCGTGGAGTC  | GCTGATGATCTTGAGGCTGTTGTC |

1.4 统计学处理 数据应用 Graphpad Prism 6 进行统计分析作图。符合正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用 *t* 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 特征基因 mRNA 的相对表达量 与对照组比较, HMGB1 mRNA 相对表达量在 CAS 组中高表达 ( $P < 0.05$ ), CCL3, CCL3L1, CCL4 和 DUSP1 mRNA 相对表达量在 CAS 组中均低表达 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

2.2 特征基因的 TFs 调控网络及 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络探索 本研究使用 NetworkAnalys- is 来预测 5 个特征基因的 TFs, 结果 CCL4、CCL3、

DUSP1 和 HMGB1 均预测到 TFs, 但 CCL3L1 没有预测到 TFs。通过 NetworkAnalyst 在线平台和 R 包 Cytoscape 构建一个包含 142 个 TFs 和 4 个特征基因的网络(CCL4、CCL3、DUSP1 和 HMGB1)。具体来说, 9 个 TFs 与 CCL3 相关; 5 个 TFs 与 CCL4 相关; 129 个 TFs 与 DUSP1 相关; 12 个 TFs 与 HMGB1 相关。在这些 TFs 中, EBF1 是 CCL3、CCL4 和 DUSP1 共享的 TF; CEBPB 是 CCL3 和 DUSP1 共享的 TF; NFIC 和 SUPT5H 是 CCL3 和 CCL4 共享的 TF; MAZ、GTF2F1、WRNIP1、RAD21、ZFX、SMAD5、MYNN 和 ZNF501 是 DUSP1 和 HMGB1 共享的 TFs。见图 1。

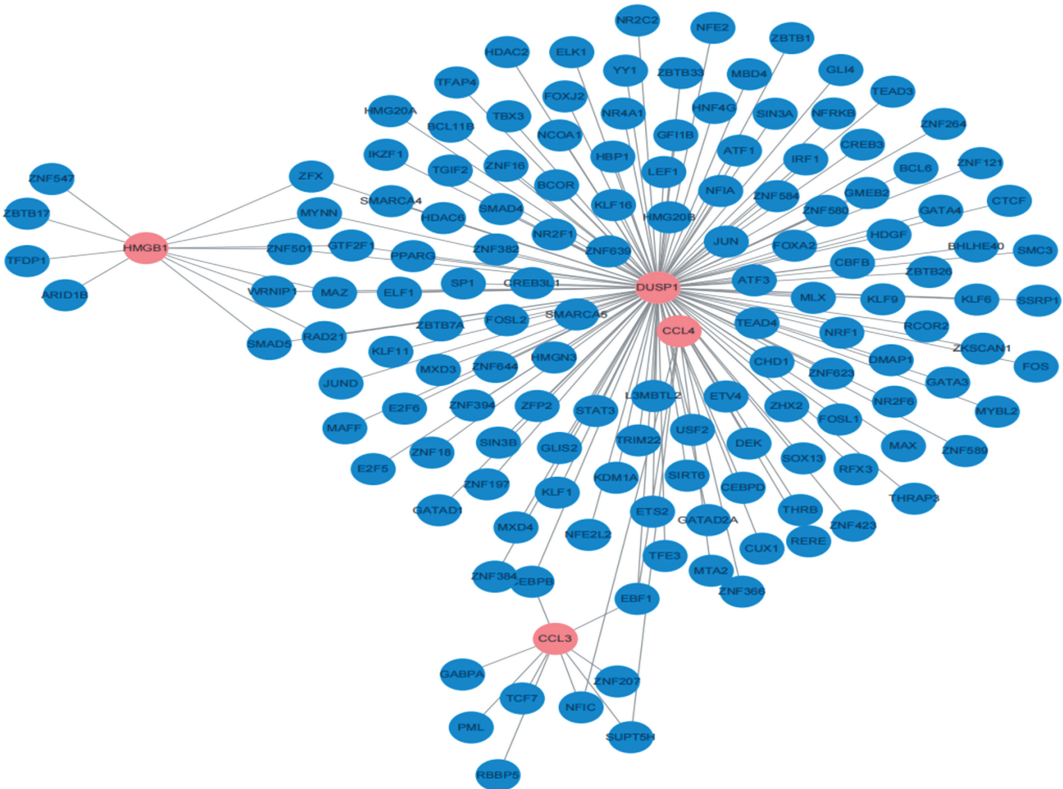


图 1 特征基因的 TFs 调控网络



本研究基于 miRWalk 和 StarBase 数据库完成了基于特征基因的 ceRNA 机制预测,本网络包含 66 个 miRNA、39 个 lncRNA,其中 85 个 mRNA 和 lncRNA 以 4 个特征基因 (CCL3、CCL4、DUSP1 和 HMGB1) 为中心。CCL3 共存在 23 种 ceRNA 机制 (16 个 lncRNA 通过竞争性结合 23 个 miRNA 调控 CCL3 表达);CCL4 共存在 17 种 ceRNA 机制 (12 种 lncRNA 与 17 种 miRNA 结合);DUSP1 共存在 20 种 ceRNA 机制 (18 个 lncRNA 与 20 个 miRNA 竞争

性结合可调控 DUSP1 的表达;HMGB1 共有 25 个 ceRNA 机制 (25 个 miRNA 可以被 6 个 lncRNA 竞争性结合 DUSP1 的表达)。lncRNA AL109811.1 与 hsa-miR-134 竞争性结合,以及 lncRNA AL358472.3 与 hsa-miR-887-3p 竞争性结合均可调控 CCL4 和 DUSP1;lncRNA AL391244.1 与 hsa-miR-151b 和 hsa-miR-151a-5p 竞争性结合可调控 CCL3 和 DUSP1 的表达;hsa-miR-1914-3p 与 lncRNA MIR34AHG 竞争性结合可调控 CCL3 和 CCL4 的表达。见图 2。

表 2 特征基因 mRNA 相对表达量对比 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别    | n  | HMGB1       | DUSP1       | CCL3L1      | CCL3        | CCL4        |
|-------|----|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 对照组   | 20 | 1.078±0.251 | 1.068±0.056 | 1.092±0.124 | 1.047±0.092 | 1.025±0.034 |
| CAS 组 | 20 | 3.863±1.096 | 0.592±0.075 | 0.416±0.063 | 0.352±0.047 | 0.476±0.048 |
| t     |    | 2.82        | 5.35        | 4.78        | 8.86        | 7.08        |
| P     |    | 0.023 5     | <0.000 1    | 0.007 6     | <0.000 1    | <0.000 1    |

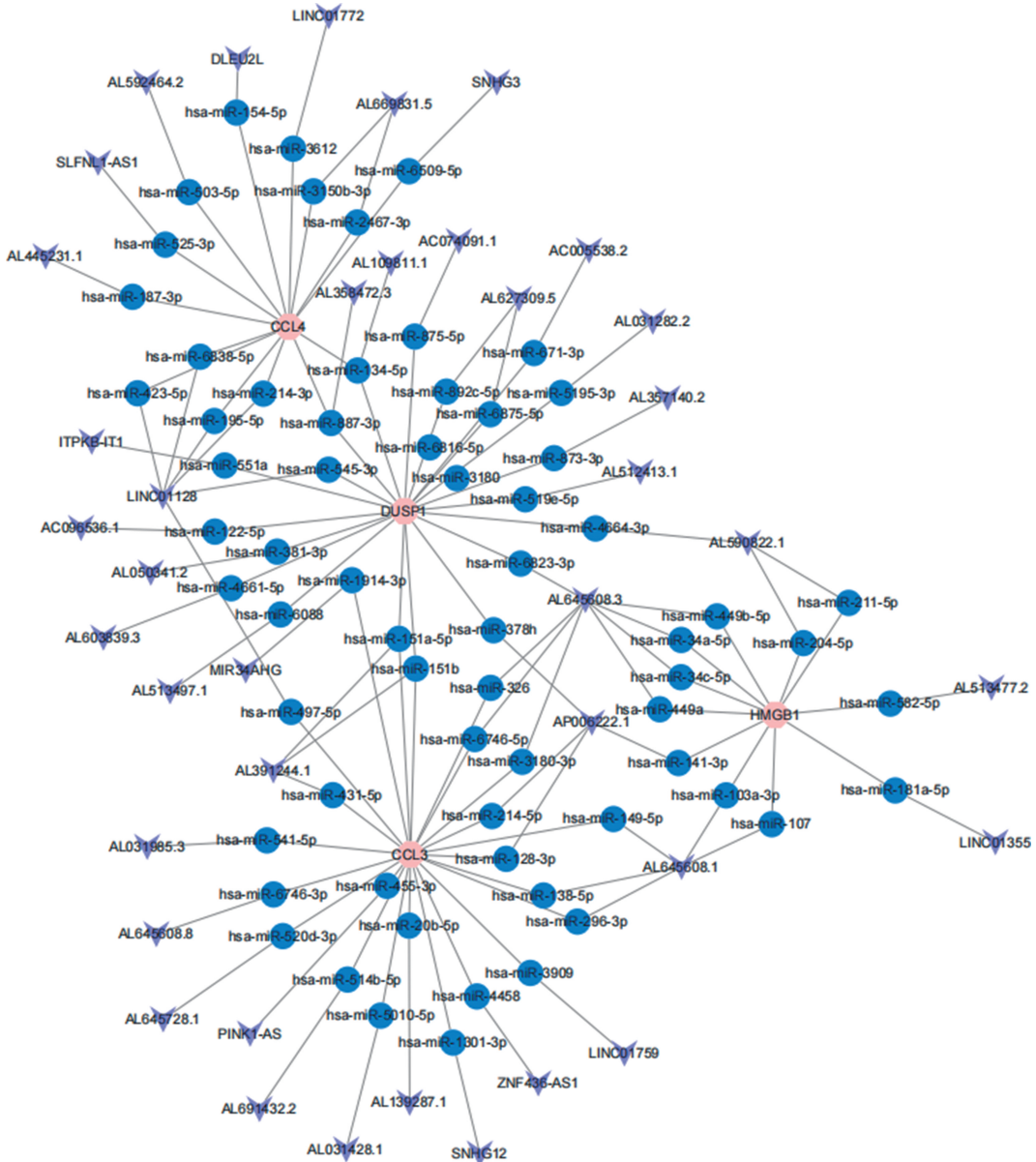


图 2 特征基因 lncRNA-miRNA-mRNA 调控网络

### 3 讨 论

CAS 是一种临床常见病,对其机制研究一直备受关注。近年来,有研究发现,单核细胞相关基因可作为识别有心力衰竭风险的急性心肌梗死的诊断标志物<sup>[3]</sup>。由于单核细胞与 CAS 的发生发展密切相关,故单核细胞相关基因也有作为 CAS 特征基因的潜力,但相关研究较少,故本研究分析单核细胞相关基因探索 CAS 发病的分子机制,以期对 CAS 的诊治研究提供重要线索。

本课题组前期通过对 GSE23746 数据集的转录组数据进行生物信息学分析,筛选出 5 个单核细胞相关差异表达基因(CCL4、CCL3、CCL3L1、DUSP1 和 HMGB1)作为 CAS 的特征基因。其中,CCL3 作为 CCR5 的趋化因子配体,有研究发现,将 CCL3 缺失的骨髓移植到 LDLR 缺失的小鼠体内,可抑制 AS 进展<sup>[4]</sup>。CCL4 在 AS 患者中水平升高,而抑制 CCL4 可稳定 AS 并减少内皮细胞和巨噬细胞的激活<sup>[5]</sup>。趋化因子及其受体是 AS 病变炎症环境中的重要效应因子,CCL3 和 CCL4 作为 CCR5 的趋化因子配体,在 AS 斑块中表达上调<sup>[6]</sup>。CCL3L1 是 CCL3 的亚型,其在许多炎症反应中发挥重要作用,包括巨噬细胞和 T 细胞依赖的免疫反应<sup>[7]</sup>,而 CCL3 已知与 AS 的发生发展有着密切关系<sup>[4]</sup>,但目前 CCL3L1 与 AS 之间相关性的研究较少。DUSP1/丝裂原激活蛋白激酶磷酸酶(MKP-1)是一种核酶,MKP-1 是控制单核细胞黏附和趋化 MAPK 通路的反调控因子,单核细胞和巨噬细胞中的 DUSP1 缺失通过影响巨噬细胞自噬、增强凋亡、调节巨噬细胞极化失调来加速 AS 的发生<sup>[8]</sup>。HMGB1 是一种 DNA 结合蛋白,可促进 AS 的发展,血清 HMGB1 水平是 2 型糖尿病患者颈动脉斑块易感性的独立危险因素<sup>[9]</sup>。研究表明,氧化低密度脂蛋白可上调 HMGB1 在人脐静脉内皮细胞中的表达,而下调 HMGB1 表达可预防氧化低密度脂蛋白诱导的内皮细胞损伤,HMGB1 通过介导内皮细胞损伤参与 AS 的发生及病变的进展<sup>[10]</sup>。目前越来越多的研究采用生物信息学分析筛选差异表达基因作为某些疾病的诊断标志物,而本研究发现的这组差异表达的单核细胞相关基因未来或许可作为 CAS 的生物标志物,但仍需未来的基础及临床研究进行证实。

研究表明,TFs 的改变可影响血管病理生理变化<sup>[11]</sup>。故本研究使用 NetworkAnalysy 预测了 5 个特征基因的 TFs,结果显示,CCL4、CCL3、DUSP1 和 HMGB1 均预测到 TFs,其中 EBF1 是 CCL3、CCL4 和 DUSP1 共享的 TF;CEBPB 是 CCL3 和 DUSP1 共享的 TF;NFIC 和 SUPT5H 是 CCL3 和 CCL4 共享的 TF;MAZ、GTF2F1、WRNIP1、RAD21、ZFX、SMAD5、MYNN 和 ZNF501 是 DUSP1 和 HMGB1

共享的 TFs。YAMADA 等<sup>[12]</sup>的研究发现,EBF1 在 AS 斑块中存在明显低甲基化,这些低甲基化基因的过表达可能导致各种 AS 相关基因的表达发生明显变化。CEBPD 可促进血管病变处 M1 巨噬细胞内脂质积累<sup>[13]</sup>。对 TF 及其相互作用因子的功能研究对了解它们在信号级联反应中的作用至关重要,可为 CAS 的基础研究及生产应用提供理论依据。除此之外,有证据表明,miRNA 和 lncRNA 参与了人类许多病理生理过程,包括 AS<sup>[14-15]</sup>。故本研究在 miRWalk 和 StarBase 数据库的基础上,构建了一个 ceRNA 网络,结果发现,lncRNA AL109811.1-hsa-miR-134 和 lncRNA AL358472.3-hsa-miR-887-3p 竞争性结合均可调控 CCL4 和 DUSP1 的表达;lncRNA AL391244.1 通过竞争性结合 hsa-miR-151b 和 hsa-miR-151a-5p 可调控 CCL3 和 DUSP1 的表达;hsa-miR-1914-3p 与 lncRNA MIR34AHG 竞争性结合,可调控 CCL3 和 CCL4 的表达。关于上述 ceRNA 调控网络的研究较少,但这为未来进行 CAS 的相关机制研究提供了一定思路。

上述研究表明,通过生物信息学分析筛选出的 5 个基因参与了 AS 的病理生理过程<sup>[4-10]</sup>。笔者前期研究采用套索算法和支持向量机递归特征消除算法等生物信息学分析方法对 GSE23746 数据集下载 CAS 转录组数据和 MsigDB 数据库下载单核细胞相关基因数据进行分析,最终筛选出的 5 个差异表达的单核细胞相关基因中有 4 个(CCL4、CCL3、CCL3L1、DUSP1)在 CAS 组中呈现出 mRNA 相对表达量下调,仅 HMGB1 mRNA 相对表达量上调<sup>[16]</sup>。为了证实生物信息学分析的结果,本研究收集了 CAS 组和对照组外周血单核细胞进行 qRT-PCR 验证,结果保持一致。李戈锐等<sup>[17]</sup>的研究也发现,在 CAS 和冠状动脉粥样硬化患者与健康者的外周血单核细胞中分别筛选出 16 个和 153 个差异表达基因,且其表达均显著下调,其中包括 CCL3L1、CCL4,可能提示外周血单核细胞的炎症信号受到抑制。然而这与既往研究显示的促炎因子(如 CCL3、CCL4)在 AS 斑块中呈高表达的结论不一致<sup>[6]</sup>。针对外周单核细胞中 CCL3、CCL4 等基因与动脉粥样硬化斑块中表达不一致的这一现象,有研究提出,在 AS 患者的动脉中,巨噬细胞的炎症反应呈过度激活,而机体可能存在负反馈机制来抑制外周血单核细胞的炎症反应<sup>[18]</sup>。除此之外,有学者研究了人外周血和自体动脉粥样硬化斑块的趋化因子基因表达谱,结果显示 CCL2、CCL3 和 CCL4 在外周血中低表达,在自体动脉粥样硬化斑块中高表达<sup>[19]</sup>。虽然有上述的解释和推测,但仍缺乏直接的令人信服的证据。本研究所有数据均基于基因 mRNA 的相对表达量,未进行蛋白水平的检测及分子机制的

探索。鉴于此,未来可能需要更多的体内外实验对其机制进行研究。

综上所述, CCL4、CCL3、CCL3L1、DUSP1 和 HMGB1 组成的 5 个单核细胞差异表达基因可作为 CAS 的特征基因,但仍需未来进一步的机制探索和分子验证加以证实。

# 参考文献

- [1] HERRERO F B,GOMEZ B R,SOMOVILLA C B,et al. Immunobiology of atherosclerosis;a complex net of interactions[J]. Int J Mol Sci,2019,20(21):5293.
- [2] KANG H,LI X,XIONG K,et al. The entry and egress of monocytes in atherosclerosis: a biochemical and biomechanical driven process[J]. Cardiovasc Ther,2021,2021: 6642927.
- [3] CHEN Q,YIN Q,SONG J,et al. Identification of monocyte-associated genes as predictive biomarkers of heart failure after acute myocardial infarction[J]. BMC Med Genomics,2021,14(1):44.
- [4] CHISTIakov D A,GRECHKO A V,MYASOEDOVA V A,et al. The role of monocytois and neutrophilia in atherosclerosis[J]. J Cell Mol Med,2018,22(3): 1366-1382.
- [5] CHANG T T,YANG H Y,CHEN C,et al. CCL4 inhibition in atherosclerosis: effects on plaque stability, endothelial cell adhesiveness, and macrophages activation[J]. Int J Mol Sci,2020,21(18):65-67.
- [6] LUTGENS E,FABER B,SCHAPIRA K,et al. Gene profiling in atherosclerosis reveals a key role for small inducible cytokines: validation using a novel monocyte chemoattractant protein monoclonal antibody[J]. Circulation,2005,111(25):3443-3452.
- [7] MENTEN P,WUYTS A,VAN DAMME J,et al. Macrophage inflammatory protein-1[J]. Cytokine Growth Factor Rev,2002,13(6):455-481.
- [8] NGUYEN H N,AHN Y J,MEDINA E A,et al. Dietary 23-hydroxy ursolic acid protects against atherosclerosis and obesity by preventing dyslipidemia-induced monocyte priming and dysfunction[J]. Atherosclerosis,2018,275: 333-341.
- [9] BISCETTI F,TINELLI G,RANDO M M,et al. Association between carotid plaque vulnerability and high mobili-

- ty group box-1 serum levels in a diabetic population[J]. Cardiovasc Diabetol,2021,20(1):114.
- [10] HUO X,SU B,QIN G,et al. HMGB1 promotes Ox-LDL-induced endothelial cell damage by inhibiting PI3K/Akt signaling pathway[J]. BMC Cardiovasc Disord,2022,22(1):555.
- [11] NIU N,XU S,XU Y,et al. Targeting mechanosensitive transcription factors in atherosclerosis[J]. Trends Pharmacol Sci,2019,40(4):253-266.
- [12] YAMADA Y,NISHIDA T,HORIBE H,et al. Identification of hypo- and hypermethylated genes related to atherosclerosis by a genome-wide analysis of DNA methylation[J]. Int J Mol Med,2014,33(5):1355-1363.
- [13] LAI H Y,HSU L W, TSAI H H,et al. CCAAT/enhancer-binding protein delta promotes intracellular lipid accumulation in M1 macrophages of vascular lesion set[J]. Cardiovasc Res,2017,113(11):1376-1388.
- [14] KUMAR S,WILLIAMS D,SUR S,et al. Role of flow-sensitive microRNAs and long non coding RNAs in vascular dysfunction and atherosclerosis[J]. Vascu Pharmacol,2019,114:76-92
- [15] WANG M,LIU Y,LI C,et al. Long non coding RNA OIP5-AS1 accelerates the ox-LDL mediated vascular endothelial cells apoptosis through targeting GSK-3 $\beta$  via recruiting EZH2[J]. Am J Transl Res,2019,11(3):1827-1834.
- [16] 陈举海,许逢燕,王兰,等. 基于单核细胞相关基因筛选颈动脉粥样硬化的诊断生物标记[J]. 贵州医科大学学报,2023,48(3):320-328.
- [17] 李戈锐,陈泽,闫志杰,等. 动脉粥样硬化患者外周血单核细胞差异表达基因分析及生物标志物筛选[J]. 中华生物医学工程杂志,2020,26(6):480-488.
- [18] SCHIRMER S H,FLEDDERUS J O,VAN DER LAAN A M,et al. Suppression of inflammatory signaling in monocytes from patients with coronary artery disease[J]. J Mol Cell Cardiol,2009,46(2):177-185.
- [19] KOMISSAROV A,POTASHNIKOVA D,FREEMAN ML,et al. Driving T cells to human atherosclerotic plaques: CCL3/CCR5 and CX3CL1/CX3CR1 migration axes[J]. Eur J Immunol,2021,51(7):1857-1859.

(收稿日期:2022-12-12 修回日期:2023-03-26)