

基于质谱与生物信息学的冠状动脉严重钙化患者 血浆蛋白质组学研究*

张步春¹ 孔祥勇¹ 邱广泉¹ 周俊岭¹ 李龙伟¹ 马礼坤¹

[摘要] **目的:**基于非标记蛋白质组学方法筛选冠状动脉(冠脉)严重钙化病变患者外周血浆中的特异性蛋白质标志物。**方法:**采用数据非依赖采集质谱技术检测 30 例冠脉严重钙化病变患者与 30 例非钙化对照人群血浆,生物信息学软件进一步分析差异表达蛋白质数据。**结果:**冠脉严重钙化病变患者与非钙化人群血浆相比较,共筛选出表达量差异 2 倍以上的差异蛋白共 28 种(其中表达上调的蛋白 20 种,表达下调的蛋白 8 种),基因本体论(GO)分析差异表达蛋白主要分布于细胞外区域、细胞外泌体和胞外细胞器部分;生物学过程主要涉及细胞过程、肌动蛋白细胞骨架和应激反应、白细胞介导的免疫和细胞活化;而其分子功能与蛋白质结合、信号受体结合和肌动蛋白结合相关。京都基因与基因组百科全书(KEGG)分析显示差异表达蛋白与补体和凝血级联、糖酵解/糖异生作用、细胞凋亡、HIF-1 和 Rap1 信号通路相关。**结论:**冠脉严重钙化病变患者和非钙化人群的血浆蛋白质组学存在显著差异,这些差异表达蛋白质有望成为冠脉严重钙化病变鉴别诊断的新型生物标志物。

[关键词] 冠状动脉钙化;血浆;蛋白质组学

DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2022.01.007

[中图分类号] R 541.4 **[文献标志码]** A

Research on plasma proteome of patients with severe coronary artery calcifications based on mass spectrometry and bioinformatics

ZHANG Buchun KONG Xiangyong QIU Guangquan ZHOU Junling
LI Longwei MA Likun

(Department of Cardiology, The First Affiliated Hospital, Division of Life Sciences and Medicine, University of Science and Technology of China, Hefei, 230001, China)

Corresponding author: MA Likun, E-mail: lkma@ustc.edu.cn

Abstract Objective: Screening of specific plasma protein markers from patients with severe coronary artery calcifications using label free quantitative proteomics. **Methods:** Plasmas were obtained from 30 patients with severe coronary artery calcifications and 30 non-calcification patients and DIA mass spectrometry-based proteomics were used to detect the proteins in plasma. Bioinformatics analysis tools were used to analysis the dysregulated proteomics data. **Results:** A total of 28 plasma proteins were differentially expressed between the coronary calcification patients and controls, with 20 upregulated and 8 downregulated. Gene ontology(GO) analysis indicated that differentially expressed proteins were mainly distributed in extracellular region, extracellular region part, and extracellular organelle. Biological process was mainly involved in cellular process, response to stimulus, actin cytoskeleton organization, leukocyte mediated immunity and cell activation. Molecular function was primarily associated with protein binding, signaling receptor binding, and cytokine receptor binding. Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes(KEGG) analysis revealed that these differentially expressed proteins were mainly involved in complement and coagulation cascade pathway, glycolysis/ gluconeogenesis, Rap1 signaling pathway, HIF-1 signaling pathway, and apoptosis. **Conclusion:** This study demonstrated that significant differences in plasma proteomics were detected between patients with severe coronary artery calcifications and non-calcification controls. These dysregulated proteins would be novel biomarkers for differential diagnosis of severe coronary artery calcification.

Key words coronary calcification; plasma; proteome

冠状动脉(冠脉)钙化是一种慢性、非炎症性和退行性病变,与钙盐异常沉积在冠脉血管壁相关^[1]。冠脉钙化发病机制复杂,对其发病分子机制

和特异性信号通路尚缺乏系统深入研究。病理状态下,由于疾病导致蛋白的表达水平发生变化,从蛋白质组学(proteomics)角度来研究疾病的分子机制具有重要意义。蛋白质组学通过比较正常和异常个体间的蛋白质组之间的差异,在整体分子水平寻找特异性的蛋白质分子,有助于设计药物的新分子靶点或者为疾病的早期诊断提供特异标志物^[2]。数据非依赖型采集(data independent acqui-

*基金项目:安徽省卫生健康委科研资助项目(No: AHWJ2021b082);合肥市委项目(No:J2019Y02)

¹中国科学技术大学附属第一医院(安徽省立医院)心血管内科(合肥,230001)

通信作者:马礼坤,E-mail:lkma@ustc.edu.cn

sion, DIA)是一种新型的质谱技术,属于非标记蛋白质组学方法。其技术优势在于高效测定样品中低丰度蛋白分子,具有高覆盖率、高准确度和高重复性特点^[3]。

目前尚无利用蛋白质组学技术筛选冠脉严重钙化患者血浆标记物文献发表,本研究旨在通过DIA技术比较分析冠脉严重钙化病变患者与非钙化病变患者人群血浆蛋白质谱,结合生物信息学分析。寻找影响冠脉严重钙化的血浆特异性蛋白质分子,为临床上早期诊断和治疗冠脉钙化病变提供线索。

1 对象与方法

1.1 对象

前期收集30例于我院经冠脉造影判定为冠脉血管严重钙化患者作为病例组,同期另外再收集30例年龄、性别与病例组匹配的冠脉造影排除血管钙化人群作为对照组。基于冠脉造影术明确冠脉严重钙化血管病变的诊断参照美国造影协会诊断标准^[4]。

经患者知情同意后收集血液标本,本项目通过研究者所在的机构伦理委员会批准(批准文号:2021KY-068)。

1.2 血清样本的采集

所有入选人群静脉血液标本均清晨空腹采集,全血采集后放置于肝素抗凝剂试管中,室温静置30 min,2000 × g 4℃离心10 min,取血浆后,-80℃液氮保存。

1.3 蛋白质提取和肽段酶解

每组提取适量样品,建立谱图库,所有样品按照APT内部SOP用胰蛋白酶(trypsin)进行溶液内酶解。将蛋白溶液用二硫苏糖醇(DTT)和碘代乙酰胺(IAA)进行还原烷基化之后,脱色酶切,肽段脱盐冻干后用0.1%甲醛水溶液(FA)复溶。反相高效液相色谱方法对低丰度蛋白肽段进行分级分离,加入iRT标准肽段,进行数据依赖性采集(data-dependent acquisition, DDA)质谱检测。

1.4 质谱技术检测血清蛋白质

DDA测试运用美国赛默飞HPLC液相系统Easy nLC 1000进行分离,每组样品自动上样到MonoCap C18 Trap柱(美国赛默飞世尔公司)后液相色谱柱进行梯度分离,流速为300 nL/min。液相分离梯度如下:0~40 min;B液线性梯度首先从8%~30%,40~50 min;其次30%~100%,50~65 min;最后线性梯度上升至100%并维持。DDA质谱测试采用正离子,一级扫描范围为350~1500 m/z;质谱分辨率120 000(200 m/z),最大增益控制(AGC target)为3e6,最大进样时间(Maximum IT)为50 ms。

DIA质谱检测模式同DDA方法。样品由Q

Exactive质谱仪(Thermo)分析,分析时长:50 min。MS2采用DIA数据采集模式,设置30个DIA采集窗口,上机窗口采集参数如下:质谱分辨率:30 000(200 m/z),最大增益控制(AGC target)为3e6,最大进样时间(Maximum IT)为auto;高能碰撞解离(HCD);碰撞能量归一化(Normalized Collision Energy):30;光谱数据类型(spectral data type):剖面曲线(profile)。

1.5 质谱数据分析

DDA数据直接导入Spectronaut软件(SpectronautTM 14.4.200727.47784)构建谱图库(spectral library),数据库检索鉴定到的蛋白必须符合过滤参数False discovery rate(FDR)<1%。DIA原始数据分析也采用Spectronaut软件(SpectronautTM 14.4.200727.47784)完成蛋白质的定性定量分析。数据结果符合设定的过滤参数q截值为0.01(相当于FDR<1%)。

1.6 差异蛋白生物学功能分析

通过基因本体(Gene Ontology, GO)和京都基因与基因组百科全书(the kyotoencyclopedia of genes and genomes, KEGG)分析差异表达蛋白质的功能及参与的生物学过程。

1.7 统计学处理

实验数据采用GraphPad Prism8统计学软件(美国GraphPad公司)处理,两组间比较采用独立样本t检验。当两组之间蛋白表达差异倍数(Fold change, FC)≥2.0倍或≤0.5倍,且P<0.05时,视为差异表达蛋白。

2 结果

2.1 两组人群基本特征

冠脉严重钙化病变患者组平均年龄(68.37±1.27)岁,合并高血压患者21例,血液平均低密度脂蛋白(LDL)(2.09±0.17) mmol/L。非钙化对照组人群平均年龄(68.90±1.15)岁,合并高血压患者20例,血液平均LDL(2.08±0.15) mmol/L。两组患者基线资料无统计学差异(P>0.05),见表1。

2.2 两组人群血清蛋白质谱差异表达分析结果

通过DIA质谱技术,本研究在30例冠脉严重钙化病变患者和30例非钙化对照组患者人群共检测到1018个血浆蛋白,依照蛋白表达FC≥2.0倍或者≤0.5倍和P<0.05为筛选标准选择上调或者下调的蛋白。最终共筛选出20个上调和8个下调的血浆差异蛋白。为了直观显示不同差异蛋白在两组之间的差异,差异表达蛋白火山图和热图见图1和图2。28个差异蛋白的表达倍数及相关信息见表2。

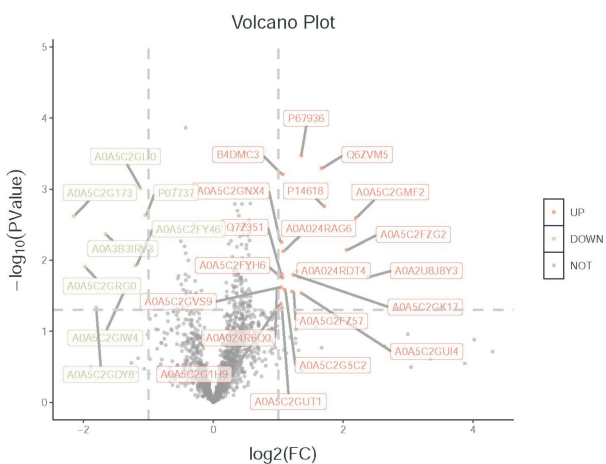
2.3 差异蛋白的生物信息学分析

针对上述28个显著性差异的蛋白GO富集分

析结果显示:差异蛋白在生物学过程方面主要涉及细胞过程、肌动蛋白细胞骨架和应激反应;分子功能主要与蛋白质结合、信号受体结合和肌动蛋白结合相关;细胞组成主要分布于细胞外区域、细胞外泌体和胞外细胞器,见图3。KEGG 通路分析结果显示:补体与凝血级联通路、糖酵解/糖原异生通路、缺氧诱导因子1(HIF-1)信号通路、Rap1 信号通路、丙酮酸代谢以及凋亡等通路与冠脉严重钙化病变的发生密切相关,见图4。

表1 两组人群基线资料比较

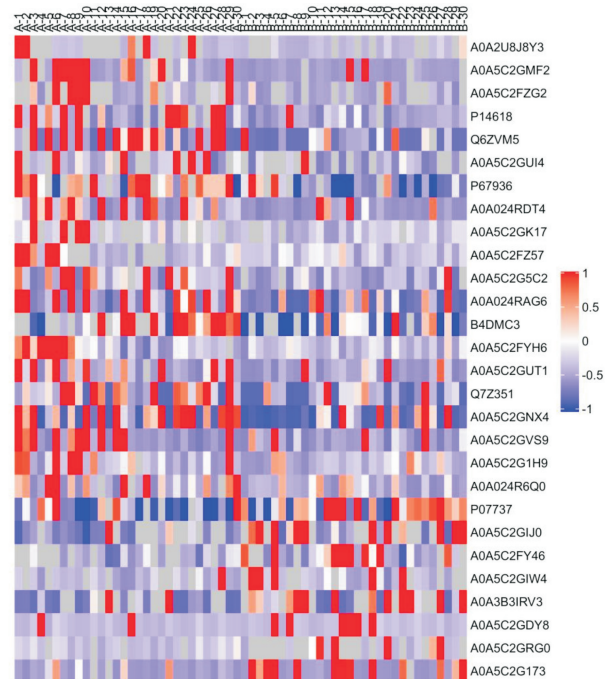
参数	非钙化组(30例)	钙化组(30例)	P 值
年龄/岁	68.90±1.15	68.37±1.27	0.76
男性/例(%)	25(83.33)	25(83.33)	1.00
BMI/(kg·m ⁻²)	23.88±0.49	23.87±0.67	0.99
高血压病史/例(%)	20(66.67)	21(70.00)	1.00
糖尿病史/例(%)	1(3.33)	3(10.00)	0.61
吸烟史/例(%)	13(43.33)	9(30.00)	0.42
饮酒史/例(%)	11(36.67)	8(26.67)	0.58
收缩压/mmHg	132.60±3.67	137.70±3.68	0.33
舒张压/mmHg	77.60±2.33	79.43±2.06	0.56
空腹血糖/(mmol·L ⁻¹)	5.60±0.26	5.51±0.27	0.81
胆固醇/(mmol·L ⁻¹)	3.85±0.18	3.92±0.23	0.83
低密度脂蛋白/(mmol·L ⁻¹)	2.08±0.15	2.09±0.17	0.96
高密度脂蛋白/(mmol·L ⁻¹)	1.08±0.04	1.06±0.05	0.73
甘油三酯/(mmol·L ⁻¹)	1.24±0.11	1.35±0.10	0.51
肌酐/(μmol·L ⁻¹)	80.29±3.83	74.46±3.87	0.29



横坐标表示差异蛋白的差异倍数,纵坐标表示 P 值,黑色表示差异不显著的蛋白,红色表示上调蛋白,绿色表示下调蛋白。

图1 冠脉严重钙化病变患者与非钙化组人群血浆差异蛋白火山图

Figure 1 Plasma differential protein volcano map



白色表示差异不显著的蛋白,红色表示上调蛋白,蓝色表示下调蛋白。

图2 冠脉严重钙化病变患者与非钙化组人群血浆差异蛋白聚类热图

Figure 2 Clustering heat map of plasma differential proteins

3 讨论

借助蛋白质组学技术筛选冠脉钙化患者血浆中差异表达的蛋白质,有助于捕捉到一些直接与冠脉钙化相关的生物分子,协助揭示疾病的发病机制^[5-6]。参照前期发表的文献^[7-8],本研究蛋白质组学检测人群的样本量各选30例,依据是小样本病例中难以检测发现血浆低丰度蛋白质;而大样本量检测费用也增加。本项目所选择的30×30例患者血液基本能反映被检样本中蛋白质的全貌,进而发现蛋白质的差异变化,为血管钙化疾病早期诊断和预后估计提供了可能。

本研究采用DIA定量蛋白质组学质谱技术检测冠脉严重钙化病变患者和非钙化对照人群血液中蛋白质组的差异,共筛选出28个差异表达蛋白,其中20个蛋白上调和8个蛋白下调。生物信息学分析显示差异表达的蛋白分子功能主要与蛋白质结合、信号受体结合和肌动蛋白结合相关;信号通路主要与补体与凝血级联通路、糖酵解/糖原异生通路等相关。

血管钙化既往被认为是一个不受调控的矿物质代谢异常结果,近期研究发现,钙化病变是一种多因素影响和主动调节过程,涉及多种生物学功能及信号通路。血管钙化影响血管平滑肌细胞表型改变,导致血管腔狭窄和硬化重塑^[9-10]。因此血管钙化相关的信号通路调控机制成为研究关注的重点。

表 2 冠脉严重钙化病变患者与非钙化组人群血浆中 28 种蛋白质的表达差异

Table 2 Differences in the expression of 28 proteins in plasma

编号	蛋白质序列号	蛋白信息描述	基因名称	表达倍数	P 值
1	A0A2U8J8Y3	Ig heavy chain variable region	IgH	5.201	0.017
2	A0A5C2GMF2	IG c998_light_IGKV4-1_IGKJ2	N/A	4.567	0.003
3	A0A5C2FZG2	IGL c1546_light_IGLV3-21_IGLJ3	N/A	4.147	0.007
4	P14618	Pyruvate kinase PKM	PKM	3.273	0.002
5	Q6ZVM5	cDNA FLJ42083 fis,clone TCERX2000613	N/A	3.175	0.001
6	A0A5C2GUI4	IG c1185_light_IGKV1-6_IGKJ1	N/A	2.567	0.029
7	P67936	Tropomyosin alpha-4 chain	TPM4	2.560	0.001
8	A0A024RDT4	Lymphocyte cytosolic protein 1(L-plastin), isoform CRA_a	LCP1	2.457	0.014
9	A0A5C2GK17	IGH + IGL c357_light_IGKV1D-39_IGKJ1	N/A	2.350	0.016
10	A0A5C2FZ57	IGL c2179_light_IGKV4-1_IGKJ1	N/A	2.321	0.027
11	A0A5C2G5C2	IGH c189_heavy_IGHV3-33_IGHD6-19_IGHJ5	N/A	2.137	0.025
12	A0A024RAG6	Complement C1q subcomponent subunit A	ADIC	2.114	0.007
13	B4DMC3	cDNA FLJ60302, highly similar to Neurocan core protein	N/A	2.098	0.001
14	A0A5C2FYH6	IGL c2011_light_IGKV1D-33_IGKJ4	N/A	2.081	0.018
15	A0A5C2GUT1	IG c1271_heavy_IGHV3-33_IGHD1-1_IGHJ4	N/A	2.076	0.047
16	Q7Z351	Uncharacterized protein DKFZp686N02209	DKFZp686N02209	2.079	0.016
17	A0A5C2GNX4	IG c870_heavy_IGHV3-66_IGHD3-16_IGHJ1	N/A	2.073	0.005
18	A0A5C2GVS9	IG c657_heavy_IGHV3-7_IGHD5-12_IGHJ4	N/A	2.059	0.024
19	A0A5C2G1H9	IGL c2982_light_IGKV4-1_IGKJ1	N/A	2.047	0.041
20	A0A024R6Q0	HCG2029544, isoform CRA_a	hCG_2029544	2.000	0.025
21	P07737	Profilin-1	PFN1	0.483	0.002
22	A0A5C2GIJ0	IG c818_light_IGKV1D-33_IGKJ4	N/A	0.460	0.001
23	A0A5C2FY46	IGL c1564_light_IGKV4-1_IGKJ4	N/A	0.436	0.012
24	A0A5C2GIW4	IGH + IGL c645_heavy_IGHV3-23_IGHD2-21_IGHJ4	N/A	0.384	0.029
25	A0A3B3IRV3	Malignant T-cell-amplified sequence	MCTS2P	0.316	0.004
26	A0A5C2GDY8	IGH + IGL c247_heavy_IGHV3-48_IGHD3-9_IGHJ6	N/A	0.287	0.041
27	A0A5C2GRG0	IG c1788_heavy_IGHV1-46_IGHD5-18_IGHJ3	N/A	0.254	0.012
28	A0A5C2G173	IGL c2300_light_IGKV1D-13_IGKJ4	N/A	0.226	0.002

N/A=not available(未提供)。

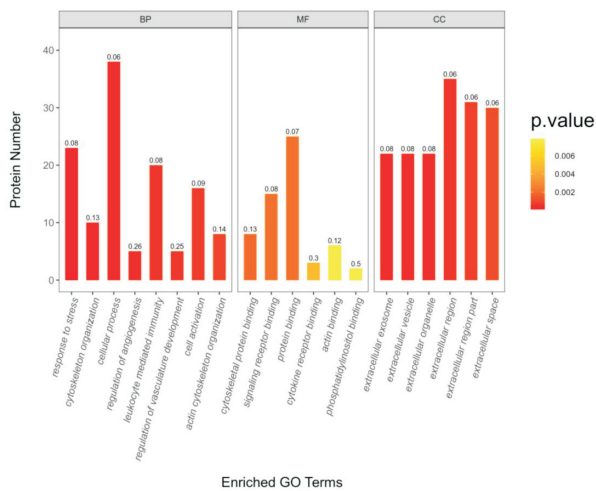


图 3 冠脉严重钙化病变患者与非钙化组人群血浆差异蛋白 GO 富集分析结果

Figure 3 Results of GO enrichment analysis of plasma differential proteins

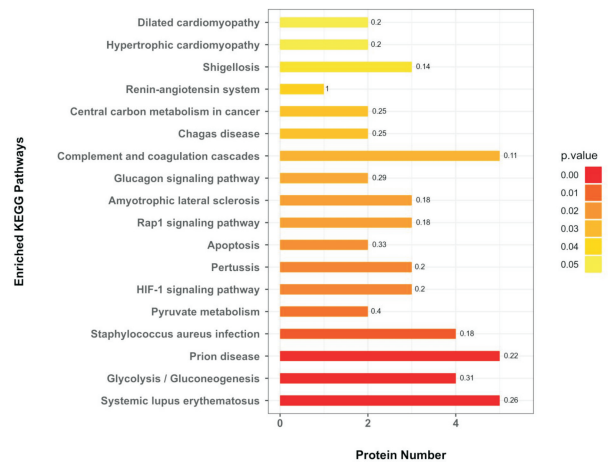


图 4 冠脉严重钙化病变患者与非钙化组人群血浆差异蛋白 KEGG 分析结果

Figure 4 Analysis of plasma differential protein KEGG

本研究显示冠脉严重钙化病变患者血浆差异表达的蛋白质主要参与补体凝血级联反应信号通路。补体系统作为固有免疫的重要组成部分,在血管钙化病理生理学过程中占有重要角色^[11]。补体活化大致可分为3种途径,即经典途径、替代途径和凝集素途径。上述3条补体活化途径在C3汇合,随后导致C5裂解为C5a和C5b两个片段,最终形成C5b-9补体复合物^[12]。早期流行病学研究显示血液中补体蛋白C3或者C3a含量增高是血管钙化独立危险因素^[13-14]。近期文献也报道作为经典途径起始成分补体C1q通过促进血管平滑肌细胞增殖和活性氧(ROS)产生影响血管狭窄和血管僵硬程度发生^[15-16]。

本蛋白质组学研究也显示糖酵解/糖原异生通路参与了冠脉钙化病变的发生。既往研究显示人的主动脉平滑肌细胞中,线粒体氧化磷酸化和糖酵解产生的ATP分别占29.89%和70.11%^[17]。有文献报道糖酵解促进血管钙化的机制与糖酵解介导血管平滑肌细胞线粒体受损和平滑肌细胞增殖有关^[18-19]。同时,本次研究KEGG信号通路分析也显示HIF-1信号通路与血管钙化相关,其机制与低氧诱导因子(HIF-1 α)促进平滑肌细胞成骨样分化、调节糖代谢及炎症反应等机制相关^[20]。

目前冠脉钙化确切的发病机制仍不清楚,相比传统的DDA定量分析,本研究采用的DIA技术可以为冠脉钙化机制研究提供一种有效平台,其数据结果具有超高定量准确度和重现性及稳定性^[21]。该研究不足之处在于尽管入院时尽量匹配患者入院基线资料如年龄、性别、血脂和血糖水平等。但并不能排除患者合并用药等潜在的混杂因素影响血清蛋白质组学标记物对冠脉钙化疾病的评估。

综上所述,本研究通过DIA蛋白质组学结合生物信息学方法,初步筛选出冠脉严重钙化病变患者候选血浆生物标志物。今后还需在更大的样本中对这些差异表达的蛋白质分子进行验证,以评价它们在血管钙化疾病鉴别诊断中的稳定性和准确性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Lee SJ, Lee IK, Jeon JH. vascular calcification-new insights into its mechanism[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8):2685.
- [2] Pino LK, Rose J, O'Broin A, et al. Emerging mass spectrometry-based proteomics methodologies for novel biomedical applications[J]. *Biochem Soc Trans*, 2020, 48(5):1953-1966.
- [3] Xu LL, Young A, Zhou A, et al. Machine learning in mass spectrometric analysis of DIA Data[J]. *Proteomics*, 2020, 20(21-22):e1900352.
- [4] Scanlon PJ, Faxon DP, Audet AM, et al. ACC/AHA guidelines for coronary angiography[J]. *J Am Coll Cardiol*, 1999, 33(6):1756-1824.
- [5] 王莽原,宋雷,霍强,等.蛋白质组学临床转化研究主要进展及在心脏研究领域应用的挑战和展望[J]. *中国循环杂志*, 2021, 36(4):412-416.
- [6] Duan M, Zhao WL, Zhou L, et al. Omics research in vascular calcification[J]. *Clin Chim Acta*, 2020, 511:319-328.
- [7] Brunner PM, He H, Pavel AB, et al. The blood proteomic signature of early-onset pediatric atopic dermatitis shows systemic inflammation and is distinct from adult long-standing disease[J]. *J Am Acad Dermatol*, 2019, 81(2):510-519.
- [8] Murota A, Suzuki K, Kassai Y, et al. Serum proteomic analysis identifies interleukin 16 as a biomarker for clinical response during early treatment of rheumatoid arthritis[J]. *Cytokine*, 2016, 78:87-93.
- [9] Ma WQ, Sun XJ, Zhu Y, et al. PDK4 promotes vascular calcification by interfering with autophagic activity and metabolic reprogramming[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(11):991.
- [10] 刘佳佳,曹宇,盛喆.冠状动脉钙化的病理生理机制及钙化评估进展[J]. *临床心血管病杂志*, 2020, 36(8):768-772.
- [11] Martínez-López D, Roldan-Montero R, García-Marqués F, et al. Complement C5 Protein as a Marker of Subclinical Atherosclerosis[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75(16):1926-1941.
- [12] Haskard DO, Boyle JJ, Mason JC. The role of complement in atherosclerosis[J]. *Curr Opin Lipidol*, 2008, 19(5):478-482.
- [13] Snyder ML, Shields KJ, Korytkowski MT, et al. Complement protein C3 and coronary artery calcium in middle-aged women with polycystic ovary syndrome and controls[J]. *Gynecol Endocrinol*, 2014, 30(7):511-515.
- [14] Wang Y, Miao Y, Gong K, et al. Plasma complement protein C3a level was associated with abdominal aortic calcification in patients on hemodialysis[J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2019, 12(5):496-505.
- [15] Allison SJ. Hypertension: Complement C1 and β -catenin in hypertensive arterial remodelling[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2015, 11(5):255.
- [16] 匡圆圆,马琦琳,张赛丹.血清补体C1q水平与老年患者冠状动脉狭窄程度的相关性研究[J]. *临床心血管病杂志*, 2018, 34(11):1077-1080.
- [17] Shi J, Yang Y, Cheng A, et al. Metabolism of vascular smooth muscle cells in vascular diseases[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2020, 319(3):H613-H631.
- [18] Zhu Y, Ji JJ, Wang XD, et al. Periostin promotes arterial calcification through PPAR γ -related glucose metabolism reprogramming[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2021, 320(6):H2222-H2239.

长链非编码 RNA 牛磺酸上调基因 1 与 冠状动脉支架内再狭窄的相关性*

高小燕^{1,2} 张韶辉² 魏广和²

[摘要] 目的:探讨长链非编码 RNA(LncRNA)牛磺酸上调基因 1(TUG1)在冠状动脉(冠脉)支架内再狭窄(ISR)患者外周血中的表达水平,研究 TUG1 对支架内再狭窄的诊断价值。方法:选取 2019 年 5 月—2021 年 6 月于济宁医学院附属医院心内科住院且既往置入过冠脉支架的患者,入院复查冠脉造影评估冠脉支架是否狭窄,根据冠脉造影结果分为支架内再狭窄(ISR)组(26 例)和支架内非狭窄(N-ISR)组(26 例)。首先收集患者外周血,用单核细胞分离液提取单核细胞,从上述细胞中提取 RNA,然后采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)法检测 LncRNA TUG1 表达水平;采用多因素 logistic 回归分析研究 ISR 患者的独立危险因素,采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)来评估 TUG1 对 ISR 的诊断价值。结果:ISR 组 TUG1 表达量高于 N-ISR 组[(0.1982±0.2276):(0.0704±0.0869), $P<0.05$],差异有统计学意义。多因素 logistic 回归分析表明,TUG1 为 ISR 的独立危险因素($OR=1.934,95\%CI1.017\sim3.677,P=0.044$)。TUG1 的 ROC 曲线下面积为 0.703,灵敏度为 65.4%,特异度为 73.1%。结论:ISR 组患者 TUG1 的表达水平增高。高表达的 TUG1 是 ISR 的独立危险因素,TUG1 可能是预测经皮冠脉介入治疗术后发生 ISR 的新型生物标志物。

[关键词] 冠心病;冠脉支架内再狭窄;长链非编码 RNA 牛磺酸上调基因 1;经皮冠状动脉介入治疗;生物标志物

DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2022.01.008

[中图分类号] R541.4 [文献标志码] A

Correlation between long non-coding RNA taurine up-regulated gene 1 and coronary in-stent restenosis

GAO Xiaoyan^{1,2} ZHANG Shaohui² WEI Guanghe²

(¹Clinical Medical College of Jining Medical College, Jining, Shandong, 272000, China; ² Department of Cardiology, Hospital Affiliated to Jining Medical University)

Corresponding author: WEI Guanghe, E-mail: weiguang2018@163.com

Abstract Objective: To investigate the expression level of long non-coding RNA(lncRNA) taurine up-regulated gene 1(TUG1) in peripheral blood of patients with coronary in-stent restenosis(ISR), and to study the diagnostic value of TUG1 for in-stent restenosis. **Methods:** Patients who were hospitalized in the Department of Cardiology, Affiliated Hospital of Jining Medical University from May 2019 to June 2021 and had previously received coronary stent implantation, were selected. At the same time, coronary angiography was reexamined at this admission to assess whether the coronary stent was stenosed. The patients were divided into in-stent restenosis(ISR) group($n=26$) and in-stent non-stenosis(N-ISR) group($n=26$) according to the results of coronary angiography. First, peripheral blood was collected from patients, monocytes were extracted with monocyte isolation solution, RNA was extracted from the above cells, and then lncRNATUG1 expression levels were detected by real-time polymerase chain reaction(qRT-PCR). Multivariate logistic regression analysis was used to study the independent risk factors of ISR patients, and receiver operating characteristic curve(ROC curve) was used to assess the diagnostic value of TUG1 for ISR. **Results:** The expression of TUG1 in the ISR group was higher than that in the N-

*基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(No:2019WS367)

¹济宁医学院临床医学院(山东济宁,272000)

²济宁医学院附属医院心内科

通信作者:魏广和,E-mail:weiguang2018@163.com

[19] Phadwal K, Vrahnas C, Ganley IG, et al. Mitochondrial dysfunction: cause or consequence of vascular calcification? [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 611922.

[20] Moka S, Larivière R, Lamallice L, et al. Hypoxia-inducible factor-1 plays a role in phosphate-induced vascular smooth muscle cell calcification[J]. Kidney Int, 2016, 90(3): 598-609.

2016, 90(3): 598-609.

[21] Martinez-Val A, Bekker-Jensen DB, Högberg A, et al. Data processing and analysis for DIA-based phosphoproteomics using spectronaut[J]. Methods Mol Biol, 2021, 2361: 95-107.

(收稿日期:2021-09-11)