



· 基础研究 ·

# 微小 RNA 在双生子单冠心病患者中的差异表达

秦聪 杨飞

710032 西安, 中国人民解放军空军军医大学第一附属医院(西京医院)心血管外科(秦聪); 710032 陕西中医药大学附属西安中医脑病医院康复医学科(杨飞)

通信作者: 杨飞, 电子信箱: 15029617062@163.com

DOI: 10.3969/j.issn.1007-5410.2019.04.011

**【摘要】** 目的 引用双生子经典研究途径, 筛选冠心病患者外周血差异表达的微小 RNA (miR), 分析 miR 在冠心病患者中的调控作用。 方法 选择两对冠心病-健康双生子为研究对象, 其中 2 例冠心病患者为研究组, 2 名健康者为对照组, 分别抽取外周血 5 ml, TRIzol 法提取细胞总 RNA, miRCURYTM LNA Array 杂交芯片筛选差异表达 miR。采用 MirBase、TargetScan 和 MIRDB 软件预测差异性 miR 的靶基因; DAVID 软件进行靶基因 GO 分析和 KEGG 分析, Cytoscape 软件绘制基因调控网络图。 结果 共筛选出 43 条差异表达 miRs, 其中 12 条表达上调, 31 条表达下调。最为显著的 hsa-miR-1066-5p、hsa-miR-3074-3p、hsa-miR-4505、hsa-miR-3658 和 hsa-miR-4459 分别下调 10 倍以上, hsa-miR-4699-3p 上调 8 倍以上, 靶基因 GO 注释和 KEGG 分析显示下调的 miRs 参与了大量免疫因子调控。 结论 冠心病患者差异表达的 miRs 对免疫因子的调控, 可能是导致冠心病发病的关键作用之一。

**【关键词】** 冠状动脉疾病; 微小 RNA; 靶基因; 调控网络

**Differential expression and regulation of microRNAs in patients with coronary heart disease** Qin Cong, Yang Fei

Cardiovascular Surgery, the First Affiliated Hospital of Air Force Medical University of PLA, Xi'an 710032, China (Qin C); Department of Rehabilitation, Xi'an Chinese Medicine Encephalopathy Hospital, Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xi'an 710032, China (Yang F)

Corresponding author: Yang Fei, Email: 15029617062@163.com

**【Abstract】 Objective** Introducing the research approach of twins classics, to screen differentially expressed microRNAs (miRs) in peripheral blood of patients with coronary heart disease and analyze the regulatory mechanism of miR in patients with coronary heart disease. **Methods** Two pairs of coronary heart disease-healthy twins were selected as the study subjects. Two patients with coronary heart disease were the study group, and two healthy subjects were the control group. 5 ml peripheral blood was taken, and total RNA was extracted by TRIzol method. miRCURYTM LNA Array Hybridization chips screen differentially express miR. MirBase, TargetScan and MIRDB software were used to predict differential miR target genes; DAVID software was used for target gene GO analysis and KEGG analysis, and Cytoscape software was used to map gene regulatory networks. **Results** A total of 43 differentially expressed miRs were screened, of which 12 were up-regulated and 31 were down-regulated. Among them, the most significant hsa-miR-1066-5p, hsa-miR-3074-3p, hsa-miR-4505, hsa-miR-3658 and hsa-miR-4459 were down-regulated by 10 times or more, hsa-miR-4699-3p up-regulated by more than 8 fold, target gene GO annotation and KEGG analysis showed that down-regulated miRs were involved in the regulation of a large number of immune factors. **Conclusions** The differential regulation of immune factors by differentially expressed miRs in patients with coronary heart disease may be one of the key mechanisms for the pathogenesis of coronary heart disease.

**【Key words】** Coronary artery disease; MicroRNA; Target gene; Regulatory network



冠心病是临床常见疾病。近年来,随着微小 RNA(microRNA, miR)组学的出现及双生子经典研究途径的发展,使冠心病调控因子的研究进入了全新阶段。为了寻找冠心病实际调控 miRs,本研究首次在 miR 的基础上,引入双生子研究疾病基因特征的经典方法,以两对冠心病-健康双生子为研究对象,筛选出了冠心病发生调控的差异 miRs,并初步分析了 miRs 在冠心病调控中的作用。

## 1 对象和方法

### 1.1 研究对象

选择在中国人民解放军空军军医大学第一附属医院(西京医院)就诊的两对男性冠心病-健康同卵双生子(经过 DNA 鉴定)作为研究对象,一般资料见表 1。其中 2 例经询问病史、体格检查、心电图、心电图平板运动试验、冠状动脉造影检查明确诊断冠心病<sup>[1]</sup>,且近 3 个月无疾病和用药史。其他 2 名健康者无冠心病临床症状、体征,经体检专家诊断、影像学检查均显示体健,且近 3 个月无疾病和用药史,为对照组。两对同卵双生子均无冠心病家族史。实验均知情,且通过医院伦理委员会批准。

### 1.2 实验方法

晨起空腹采集研究对象肘静脉血 5 ml,使用 TRIzol 法提取总 RNA,并用 RNasey Mini Kit (QIAGEN)纯化。使用 NanoDrop ND-1000 测量纯化后的 RNA 浓度,电泳检测 RNA 完整性。使用 Wash buffer kit (Exiqon)清洗芯片。通过对 miR 芯片和基因芯片质控点的计算,归一化处理原始数据,将处理后的数据按照 4 次重复取中间值做标准化,再计算研究组与对照组的比值,根据具体实验结果剔除信号过低的点,进行差异判断。使用差异倍数

比值(fold change)和 *P* 值进行差异表达的 miRs 筛选。应用 miR 生物信息学软件 MicroCosm、TargetScan 和 MIRDB 对芯片检测差异表达的 miRs 进行靶基因预测,选择至少两种软件交集的靶基因做进一步分析。采用在线分析软件 DAVID 对靶基因进行 GO 注释及富集 KEGG 通路分析。运用 Cytoscape 软件绘制冠心病 miR 和靶基因相互作用网络图像,通过分析网络寻找中心节点。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 11.0 统计学软件进行数据分析。采用 Student's *t*-test、Fisher 精确概率法计算 *P* 值,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 冠心病总 RNA 质量检测报告

在两对冠心病-健康者双生子中,对提取的总 RNA 进行紫外吸收法和琼脂糖凝胶电泳检测。结果显示,所有样本总 RNA 的 OD260/OD280 介于 1.8~2.0 之间,符合 RNA 质量标准,4 个组织样本的总 RNA 均符合基因芯片的质量需要,见表 2。

### 2.2 miR 芯片表达数据的处理结果

对各组中各样本总 RNA 进行相应处理后与 miRCURYTM LNA 芯片进行杂交,并使用 Axon 公司的 GenePix 4000B 微阵列芯片信号扫描仪扫描,使用 GenePix Pro V. 6.0 软件读取扫描图像中的原始荧光信号强度。如图 1 显示,各组内各个重复实验的芯片之间一致性较高,芯片实验质量较好,各组芯片数据之间具有可比性且可信度较高。

### 2.3 筛选差异表达的 miRs

利用差异倍数比值和 *P* 值(默认差异倍数比值  $\geq 2$ , *P*  $\leq 0.05$ )对两组样本进行差异表达 miRs 的挑

表 1 研究对象一般资料

病例	冠心病	性别	年龄(岁)	吸烟	酗酒	空腹血糖(mmol/L)	血脂 <sup>a</sup>	体质指数(kg/m <sup>2</sup> )	其他病史
1-1	是	男	53	无	无	5.2	正常	23.78	无
1-2	否	男	53	无	无	5.1	正常	23.51	无
2-1	是	男	53	无	无	5.3	正常	23.62	无
2-2	否	男	53	无	无	5.2	正常	23.88	无

注:<sup>a</sup> 血脂参考值:总胆固醇 < 5.18 mmol/L,三酰甘油 < 1.7 mmol/L,低密度脂蛋白胆固醇 < 3.37 mmol/L,高密度脂蛋白胆固醇 > 1.04 mmol/L

表 2 冠心病总 RNA 质量检测结果

编号	纯度(OD260/280 比率)	纯度(OD260/230 比率)	浓度(mg/L)	体积(μl)	质量(ng)	质控结果
1-1	1.80	2.07	204.05	20	4 121.20	通过
1-2	1.98	1.99	246.28	20	4 965.40	通过
2-1	1.96	2.03	186.73	20	3 734.40	通过
2-2	1.89	1.98	225.42	20	4 528.40	通过

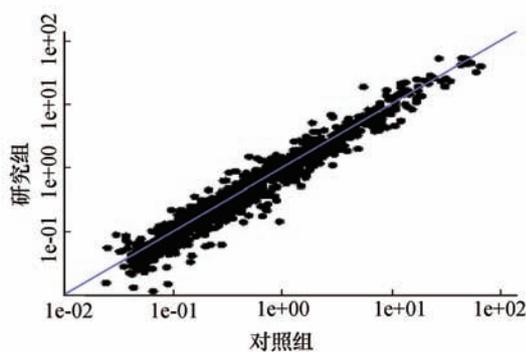


图 1 实验的芯片荧光信号强度相关性

选,结果在冠心病和健康者之间共筛选出 43 个显著差异表达的 miRs(已经随机抽取验证),其中 12 条表达上调,31 条表达下调,显著变化的有 7 条,主要为下调 miRs,其中最为显著的 hsa-miR-338-5p、hsa-miR-1066-5p、hsa-miR-3074-3p、hsa-miR-4505、hsa-miR-3658 和 hsa-miR-4459 分别下调 10 倍以上,hsa-miR-4699-3p 上调 8 倍以上,见表 3。

表 3 冠心病患者差异表达显著的 miRs 信息

编号	名称	差异倍数	P 值
169295	hsa-miR-338-5p	↓ 0.023880491	0.008126086
169143	hsa-miR-1066-3p	↓ 0.015296303	0.000492364
169189	hsa-miR-3074-5p	↓ 0.058224936	0.005482222
148652	hsa-miR-4505	↓ 0.013226881	0.003426626
428701	hsa-miR-3658	↓ 0.023461294	0.015155124
168792	hsa-miR-4459	↓ 0.054091272	0.001272352
110141	hsa-miR-4699-3p	↑ 0.049146283	0.019424454

## 2.4 靶基因预测

分别从 MirBase、TargetScan 和 MIRDB 数据库调取显著差异表达 miRs 靶基因信息。筛选数据库中共有的 miRs 靶基因数据作为靶基因预测结果,见表 4。

表 4 miRs 部分靶基因

miR 名称	靶基因(得分 > 90)
hsa-miR-1066-3p	BCL10、DLG1、MAPK1、MAPK9、MAP3K8、LPAR4、F3WIF1……
hsa-miR-3074-5p	TMEM、150CL、EMD3、TLR1、SRSF1TXLN、BIGL、ON5……
hsa-miR-4699-3p	CCNT2SCML、4ADA、MTS1、7ARH、GAP3、IUPF……
hsa-miR-3658	EGLN、3C20orf194、PTPN、11COP、S2CH、MP7M、NK1MAP……
hsa-miR-4459	ZNF38、5ALR、RC3BA、RID2KCNC、3SUR、F4PD、LIM5P……
hsa-miR-4505	GIPC3、NFIC、FOXK1、GNG13、XIRP1、HIVEP3、PAPLN……
hsa-miR-338-5p	ADCY6、LMX1B、PLEKHG4B、TYRO3、KRTAP10-9、HAP1……

## 2.5 差异表达 miRs 靶基因 GO 分析

在生物学过程方面(go biological process),差异表达 miRs 靶基因主要与转录、转录调控、信号转导、凋亡过程及生物合成等相关,见表 5。

表 5 差异表达 miRs 靶基因在生物学过程方面的分析结果

条目号	条目名称	关联基因
GO:0031327	细胞生物合成过程的负调节	20
GO:0009890	生物合成过程的负调节	20
GO:0010605	负调节大分子代谢过程	21
GO:0006350	转录	45
GO:0045449	转录调节	53
GO:0030528	转录调节活性	32
GO:0000267	细胞分数	24
GO:0006355	转录调节,DNA 依赖性	35
GO:0007242	细胞内信号级联	25

在分子功能方面(molecular function),差异表达 miRs 靶基因主要与离子结合、DNA 结合、转录等相关,见表 6。

表 6 差异表达 miRs 靶基因在分子功能方面的分析结果

条目编号	条目名称	关联基因
GO:0030528	转录调节活性	32
GO:0003677	DNA 结合	45
GO:0046872	金属离子结合	71
GO:0043169	阳离子结合	71
GO:0043167	离子结合	71

在细胞成分方面(go cell component),差异表达 miRs 靶基因主要与细胞核、细胞质、细胞器调控等有关,见表 7。

表 7 差异表达 miRs 靶基因在细胞成分方面的分析结果

条目编号	条目名称	关联基因
GO:0005829	细胞质	30
GO:0031198	核腔	31
GO:0000267	细胞分数	24
GO:0044459	质膜部分	41
GO:0070013	细胞内细胞器腔	33
GO:0043233	细胞器腔	33

## 2.6 差异表达 miRs 靶基因 KEGG Pathway 分析结果

通过对差异表达 miRs 靶基因进行 Pathway 通路分析,共有 46 条通路,显著差异表达 miRs 靶基因相关通路主要有 T/B 细胞受体信号通路、Toll 样受体信号通路、JAK-STAT 信号通路、Wnt 信号通路和 MAPK 信号通路,见表 8。

## 2.7 miR-DiffGene-Network 调控网络

以 miR 为基础,通过靶基因预测,构建 miR-靶基因-Network 调控图后发现,一个靶基因可以受多个



表 8 部分差异表达 miRs 靶基因的相关通路和功能

通路	通路功能	相关靶基因
T 细胞受体信号通路	免疫反应	BCL10、DLG1、MAPK1、MAPK9、MAP3K8、NFAT5、PAK7、PIK3CA、PIK3R1、PLCG1
B 细胞受体信号通路	免疫反应	BCL10、MAPK1、NFAT5、PIK3CA、PIK3、PPP3R1、SOS1、SOS2、AKT3、RAF1
MAPK 信号通路	参与细胞增殖、分化迁移等	RPS6KA5、DUSP2、MAP3K2、CD180、PDGFRA、MKNK2、MAP3K14、DUSP8、MAP3K12、MAP3K11、ACVR1B、MAP3K3、TLR2、NF1、PDGFRB、MKNK1、CACNA1A、TLR1、SOS1、TGFB2
Wnt 信号通路	参与调节细胞的增殖、分化、凋亡及胚胎发育,肿瘤等	WNT4、PRICKLE1、CCND2、PPP2R5D、AXIN2、DAAM2、CREBBP、CXXC4、ROCK2、FZD1、FZD3、FZD4、FZD7、LRP6、MAPK9、NFAT5、PPARD、PLCB1、PPP3R1、TCF7L
JAK-STAT 信号通路	参与细胞的增殖、分化、凋亡及免疫调节	SPRY3、CCND2、PTPN11、PI3K、SOS1、TLR1、TLR2、CD180、CTNNBIP1、CCND1、CCND2、DKK2、TCF7L2、WIF1、PPP3R1

miRs 调节, miR 可以同时调控多个靶基因, 其中 TLR1、TLR2、CD180、MAPK、TLR8 受 hsa-miR-338-5p、hsa-miR-1066-3p、hsa-miR-3074-5p、hsa-miR-4699-3p、hsa-miR-4505、hsa-miR-3658 和 hsa-miR-4459 的共同调节, 每个 miR 同时调控着多个靶基因, 见图 2。

从 miR-DiffGene-Network 调控网络图中可见, 冠心病患者差异表达的 hsa-miR-338-5p、hsa-miR-1066-3p、hsa-miR-3074-5p、hsa-miR-4699-3p、hsa-miR-4505、hsa-miR-3658 和 hsa-miR-4459 调控了多个靶基因, 如 TLR1、TLR2、CD180、MAPK、TLR8、BCL10、PPARD、PLCB1、PPP3R1、DLG1、MAPK1、MAPK9、MAP3K8 等, 其中 TLR1 和 TLR2 均受到上述差异表达的 miRs 的调控。同时, hsa-miR-4699-3p 调控了多个免疫基因, 推测 miR-4699-3p-TLR1/TLR2 在冠心病调控网络中扮演着核心角色。

### 3 讨论

双生子方法一直是研究疾病特征的经典途径。双生子差异基因筛选, 是评估遗传和环境对人类影响的最经典设计。同卵双生子自身基因变异小, 产生的差异基因表达较少, 作为病例或对照研究特异性状的基因表达具有潜在优势, 是研究基因差异性的首选方法。Iwashita 等<sup>[2]</sup>用患病 - 健康的同卵双生子筛选多发性骨髓瘤的差异表达基因, 发现两者间仅有 3.2% 的基因存在差异。Munshi 等<sup>[3]</sup>利用同卵双生子的骨髓制备成骨细胞样培养物进行全基因组基因表达实验, 以探讨骨质疏松症的调控基因。由于同卵双生子差异基因变化较小, 而基因是症状表型调控的基础, 所以同卵双生子用于冠心病差异表达基因的筛选, 对于其发病机制的研究, 具有科学性和优越性。

miRNA 组学是近年来一个新的研究领域, 通过 miR 的鉴定和功能分析, 为疾病的机制研究和治疗

提供新的思路<sup>[4]</sup>。段练<sup>[5]</sup>、刘佳<sup>[6]</sup>的研究均发现, miR 在冠心病症状调控中有重要作用, 对预防冠心病心血管事件具有重要意义。然而即使如此, 近年来 miR 在冠心病中的研究却无一个定性的结果。既往研究显示, 冠心病患者存在大量的差异表达 miR, 后期生物学分析发现, 大量的 BP、MF、CC、KEGG pathway 等对精确疾病的实际调控因子造成了干扰, 给分析结果的可靠性带来了不确定因素。同时健康个体间存在差异表达 miR, 这些差异表达的 miR 可能与所研究疾病无关, 但在常规研究途径中, 个体间差异 miR 无法排除, 这些与疾病无关的 miR 会造成大量的干扰调控因子, 这些干扰调控因子很难判断是否在疾病中起作用, 最终使研究结果出现大量的相关数据, 却无法得到一个定性的结果。针对这一问题, 有专家提出加大样本量, 严格控制筛查前的差异因素, 来减少误差, 但实践发现加大样本量不但增加了研究成本, 反而会增加筛选的数据量, 研究者始终无法摆脱大数据这一困境。且健康个体间差异因素始终无法解决, 加上增加样本量所带来的费用投入, 小样本量的实验又缺乏统计学意义, 导致大量研究者不得不放弃冠心病 miR 的研究。近年来, 同卵双生子经典研究途径的出现为冠心病 miR 研究带来了新希望。同卵双生子研究疾病基因特征的经典途径彻底解决了以上难题。双生子又称双胞胎, 同卵双胞胎指两个胎儿由一个受精卵发育而成。它具有个体差异表达 miR 少、定性研究结果简单、需要研究样本量少、研究费用低等特性, 适合于科学研究。同卵双胞胎是研究疾病差异表达基因的最佳途径, 有效避免了个体间差异 miR 的干扰, 极大地减少了筛查的样本量, 降低了研究成本, 减少了筛查的数据, 为后期精确疾病调控因子奠定了基础。

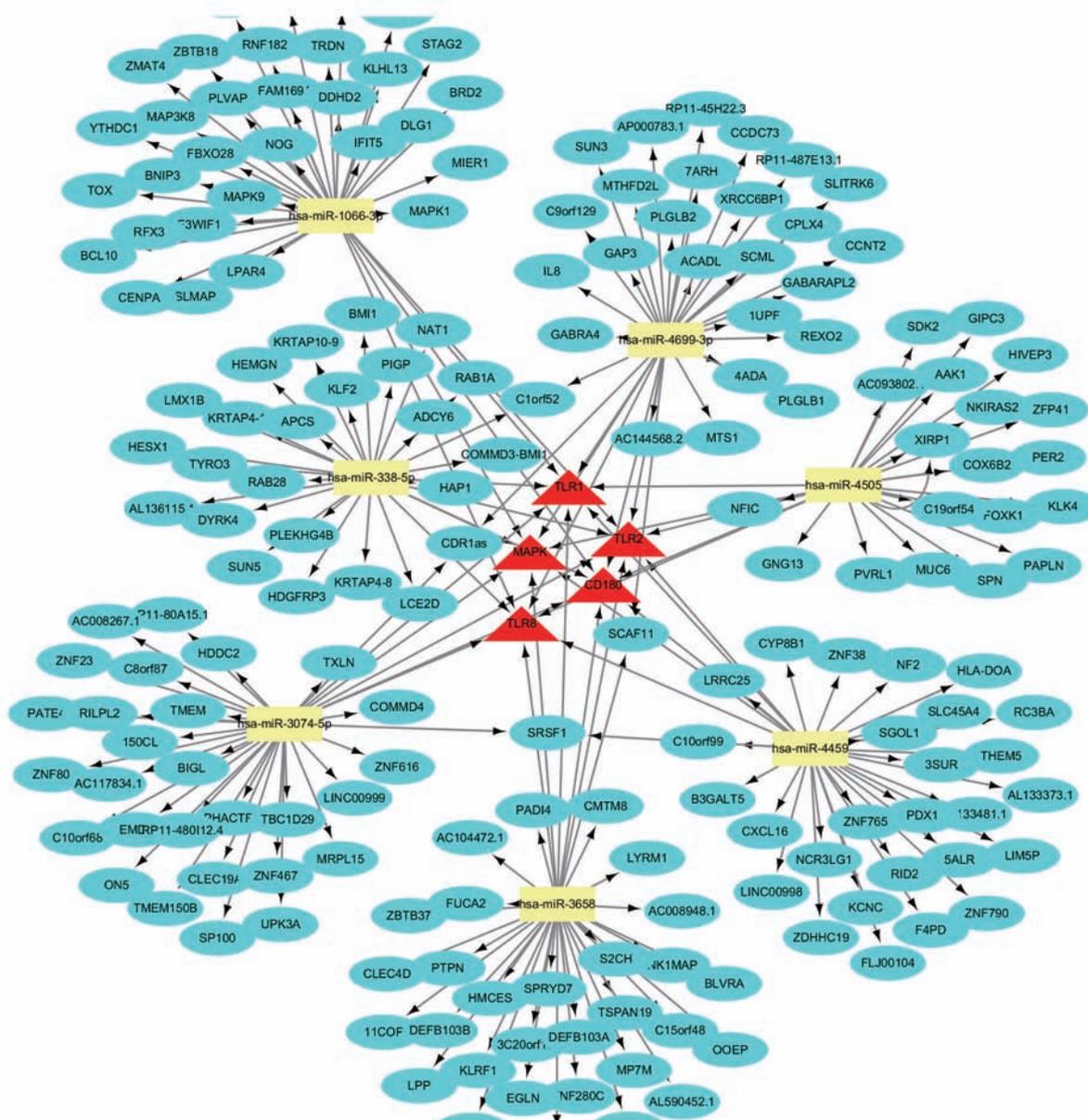


图 2 miR-靶基因-Network 调控图

本研究中,对冠心病双生子 miRNA 组学的研究发现,冠心病患者差异 miRs 表达谱,在这些差异表达 miRs 中,发现 43 个 miRs 中有 31 个表达下调,12 个表达上调,差异表达倍数在 10 倍以上者均出现在下调组中,分别为 hsa-miR-338-5p、hsa-miR-1066-3p、hsa-miR-3074-5p、hsa-miR-4505、hsa-miR-3658 和 hsa-miR-4459,hsa-miR-4699-3p 下调 8 倍。通过靶基因预测、构建网络调控图发现,TLR1、TLR2、MAPK 和 CD180 均受到 hsa-miR-338-5p、hsa-miR-1066-3p、hsa-miR-3074-5p、hsa-miR-4699-3p、hsa-miR-4505、hsa-miR-3658 和 hsa-miR-4459 的调控,由此推测 TLR1、TLR2、MAPK 和 CD180 可能在

冠心病的发病中扮演重要角色,除这 4 种靶基因外,本研究中还发现了其他多种可能与冠心病相关的靶基因,如 PIK3R1、PLCG1、PPP3R1、PDK1、SOS2、AKT3 和 RAF1 等,在冠心病中表达水平也发生了显著变化,这可能是冠心病发病机制未来研究的方向。GO 分析表明,“免疫应答与转录调控”是最显著富集的项目,“炎症反应”被定为最显著富集途径。其中 TLR1、TLR2、CD180、MAPK、TLR8、BCL10、PPARD、PLCB1、PPP3R1、DLG1、MAPK1、MAPK9 和 MAP3K8 等参与了“免疫应答”的调控,表明炎症与冠心病的发生密切相关<sup>[7-8]</sup>。KEGG 显示,多条免疫通路如 T/B 细胞受体信号通路、Toll 样



受体信号通路、JAK-STAT 信号通路等均参与了冠心病分子机制的调控,其中 JAK-STAT 信号通路中参与调控的靶基因数最多,包含了 TLR1、TLR2、CD180 和 MAPK 等。TLR1/2 通路活化可促进外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)增殖,并增强 PBMC 对脐带间充质干细胞(umbilical cord mesenchymal stem cell, UCMSC)的免疫杀伤效应,荧光定量 PCR 结果表明 UCMSC 中多个免疫相关因子被 TLR1/2 明显诱导,如白细胞介素(IL-2、IL-6、IL-10、IL-12)、干扰素  $\gamma$ 、核因子  $\kappa$ B、肿瘤坏死因子  $\alpha$ ; TLR1/2 不影响 UCMSC 的定向分化能力。因此,TLR1/2 可改变 UCMSC 的免疫状态,在一定程度上诱导针对 UCMSC 的免疫攻击<sup>[9]</sup>。骆菲菲等<sup>[10]</sup>研究发现,激活 TLR1/2 可有效上调荷瘤机体 CD8<sup>+</sup>T 细胞 TLR1 和 TLR2 分子的基因和蛋白水平,促进 CD8<sup>+</sup>T 细胞分泌功能性细胞因子干扰素  $\gamma$ 、IL-2,这一效应依赖于核因子  $\kappa$ B 和 P38 通路。表明 TLR1/2 信号直接作用于荷瘤小鼠的 CD8<sup>+</sup>T 细胞并促进其功能,该研究既丰富了 TLR 的作用范围,也为基于 TLR 激动剂的肿瘤生物治疗提供了实验依据。JAK1-STAT3 信号途径参与了免疫调节, JAK1 和 STAT3 属于促炎基因<sup>[11]</sup>。在冠心病研究中发现, JAK1 和 STAT3 基因共同受到 hsa-miR-4699-3p 的调节,而在冠心病中 hsa-miR-4699-3p 的表达是上调的,其可能抑制了 JAK1 和 STAT3 基因的翻译表达,影响 JAK1-STAT3 信号途径,达到减轻或抗炎的作用,从而修复免疫稳态的紊乱。推测 hsa-miR-4699-3p 属于炎症修复基因,是机体免疫紊乱自我修复分子。

本研究利用双生子经典途径最终发现,冠心病的发生与 miR 调控的炎症因子密切相关,其中 miR-4699-3p-TLR1/TLR2 的调控关系可能成为今后冠心病基因治疗的靶点。

利益冲突:无

#### 参 考 文 献

- [ 1 ] 陈尔佳, 李晓枫, 方丕华. 2017 动态心电图国际指南和专家共识更新[J]. 中国心血管杂志, 2018, 23(6): 437-440. DOI:10.3969/j.issn.1007-5410.2018.06.001.  
Chen EJ, Li XF, Fang PH. 2017 international guidelines and expert consensus for ambulatory electrocardiography [J]. Chin J Cardiovasc Med, 2018, 23(6): 437-440. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5410.2018.06.001.
- [ 2 ] Iwashita T, Kruger GM, Pardal R, et al. Hirschsprung disease is linked to defects in neural crest stem cell function [J]. Science, 2003, 301(5635): 972-976. DOI:10.1126/science.1085649.
- [ 3 ] Munshi NC, Hideshima T, Carrasco D, et al. Identification of genes modulated in multiple myeloma using genetically identical twin samples [J]. Blood, 2004, 103(5): 1799-1806. DOI: 10.1182/blood-2003-02-0402.
- [ 4 ] 朱晓彤, 张圣洁, 梁雪, 等. MicroRNA-21 及其靶基因程序性细胞死亡因子 4 在动脉粥样硬化中的作用[J]. 中国心血管杂志, 2017, 22(3): 201-205. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5410.2017.03.009.  
Zhu XT, Zhang SJ, Liang X, et al. Roles of microRNA-21 and its target gene programmed cell death 4 in atherosclerosis [J]. Chin J Cardiovasc Med, 2017, 22(3): 201-205. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5410.2017.03.009.
- [ 5 ] 段练. 冠心病血瘀证相关 miRNA 表达的甲基化调控机制及生物标志物的研究[D]. 北京:北京中医药大学, 2018.  
Duan L. Studies on the methylation regulation mechanism and biomarkers of miRNA expression related to blood stasis syndrome of coronary heart disease [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2018.
- [ 6 ] 刘佳. 冠心病血栓前状态相关危险因素分析和 Zedoarondiol 调控目标 miRNA 对炎症反应的作用[D]. 北京:中国中医科学院, 2018.  
Liu J. Analysis of risk factors related to prethrombotic state and effect of Zedoarondiol regulation target miRNA on inflammatory response [D]. Beijing: China Academy of Chinese Medical Science, 2018.
- [ 7 ] 王崇良, 贺美先, 刘勇. 冠心病是炎症性疾病[J]. 心脏杂志, 2003, 15(2): 178-179. DOI:10.3969/j.issn.1009-7236.2003.02.029.  
Wang CL, He MX, Liu Y. Coronary heart disease is an inflammatory disease [J]. Chin Heart J, 2003, 15(2): 178-179. DOI:10.3969/j.issn.1009-7236.2003.02.029.
- [ 8 ] 罗春艳, 来春林, 邢金平, 等. 冠心病患者 Toll 样受体 4 与冠脉病变严重程度的相关性[J]. 心脏杂志, 2018, 30(1): 62-64. DOI:10.13191/j.chj.2018.0015.  
Luo CY, Lai CL, Xing JP, et al. Relationship between toll like receptors 4 and the severity of coronary artery lesion in patients with coronary heart disease [J]. Chin Heart J, 2018, 30(1): 62-64. DOI:10.13191/j.chj.2018.0015.
- [ 9 ] 马宇, 张立, 江婷, 等. TLR1/2 通路活化对脐带间充质干细胞免疫状态影响的研究[J]. 四川大学学报(医学版), 2015, 46(5): 679-683, 701.  
Ma Y, Zhang L, Jiang T, et al. The Study of Altered Immune Status of UCMSC upon the Activation of TLR1/2 Pathway [J]. Journal of Sichuan University (Medical Science Edition), 2015, 46(5): 679-683, 701.
- [ 10 ] 骆菲菲, 郑秀娟, 张丹, 等. TLR1/2 信号促 CD8<sup>+</sup>T 细胞功能及其机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2017, 24(1): 38-42. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.01.008.  
Luo FF, Zheng XJ, Zhang D, et al. TLR1/2 signaling enhances CD8<sup>+</sup>T cell function and its underlying mechanism [J]. Chinese Journal of Cancer Biotherapy, 2017, 24(1): 38-42. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.01.008.
- [ 11 ] 冯静, 刘海兵. JAK1 基因多态与变应性鼻炎遗传易感性研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015, 29(19): 1713-1716. DOI:10.13201/j.issn.1001-1781.2015.19.013.  
Liu J, Liu HB. Associations of JAK1 gene polymorphisms with allergic rhinitis in Chinese Han populations [J]. J Clin Otorhinolaryngol Head Neck Surg, 2015, 29(19): 1713-1716. DOI:10.13201/j.issn.1001-1781.2015.19.013.

(收稿日期:2018-09-10)  
(本文编辑:谭潇)