网络出版时间:2021 -7 -28 11:53 网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210728.1030.037.html

基于 circNRG-1/miR-193b-5p/NRG-1 探讨肥胖性高血压发生的分子机制

王玉孝[1],李 俊[1],汪生毅[2],白雪莲[3],李春梅[1],高登峰[4]

摘要 **目的** 基于 circNRG-1/miR-193b-5p/NRG-1 轴探讨肥胖性高血压发生的分子生物学机制。**方法** 90 只 SD 大鼠采用随机数字表法将其分为空白对照组($n=30$)、肥胖性高血压组($n=30$)、NRG-1 阻断剂组($n=30$)三组,检测大鼠的血压、体质量、Lee 系数、脂肪系数、血清中三酰甘油和总胆固醇水平及胸主动脉中 circNRG-1/miR-193b-5p/NRG-1 的表达;微阵列分析肥胖性高血压大鼠中 circNRG-1 的表达;双荧光素酶分析 circNRG-1 与 miR-193b-5p 的靶向关系。**结果** 微阵列结果发现,在空白对照组和肥胖性高血压组之间有 382 个 circRNAs 的差异表达,其中 235 个表达上调,147 个表达下调(>2 倍);与空白对照组比较,肥胖性高血压组的 MMU-CircRNA-42742(其父本基因为 NRG-1)上调,肥胖性高血压组大鼠的收缩压、体质量、Lee 系数、脂肪系数、血清中三酰甘油、总胆固醇、胸主动脉中 NRG-1、circNRG-1、miR-193b-5p 的 mRNA 表达均升高,且血管壁增生,血管中膜增厚;与肥胖性高血压组比较,NRG-1 阻断剂组大鼠的收缩压、体质量、Lee 系数、脂肪系数、血清中三酰甘油、总胆固醇、胸主动脉中 NRG-1、circNRG-1、miR-193b-5p 的 mRNA 表达均降低,且血管出现重构现象。**结论** 肥胖性高血压大鼠中 circNRG-1、NRG-1 表达上调,miR-193b-5p 表达下调,阻断 NRG-1 后肥胖性高血压大鼠症状有所改善,circNRG-1/miR-193b-5p/NRG-1 轴可能是治疗肥胖性高血压的潜在靶点。

关键词 circNRG-1;miR-193b-5p;NRG-1;肥胖性高血压
中图分类号 R 285.5
文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)09-1367-07
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.09.005

由于现代生活方式的改变,肥胖正以一种惊人的速度在全球肆虐流行,严重危害人类健康[1]。肥胖会导致多种心血管疾病的发生,其中高血压病是最为常见的,60%~70% 的高血压可能归因于肥胖[2]。据报道,每增加 10% 的体质量,收缩压就会增加 6.5 mmHg[3]。但是,肥胖引发高血压的具体机制尚不清楚,有待进一步研究。

人神经调节蛋白 1(NeuRegin-1,NRG-1)是表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)家族的一员。研究发现,NRG-1 在血管病理生理中起着重要作用,其可以在血管内皮细胞和平滑肌细胞中表达,也可明显的抑制体外培养的平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell,VSMC)的增殖和迁移[4]。环状 RNA(circular RNA,circRNA)是一类形成共价封闭循环的非编码 RNA,它是由许多原始 RNA 转录体反向衔接形成的,在脊椎动物中,大多数 RNA 在转录后 4~5 h 内被核糖核酸酶(Ribonuclease R,RNase R)降解,但 circRNAs 是非常稳定的[5]。circRNAs 在癌症、心肌肥大、动脉粥样硬化等具有血管风险疾病的生理病理过程中发挥着重要作用[6]。但是 circRNAs 对高血压的作用机制尚不清楚,该研究基于 circNRG-1/miR-193b-5p/NRG-1 轴探讨肥胖性高血压发生的分子生物学机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 本实验所用大鼠均购自兰州大学实验动物中心[许可证号:SCXK(甘):2017-0001],90 只实验用 SD 大鼠,雌雄各半,体质量 200~250 g,适应性喂养 1 周后开始实验。本实验设计及过程均经青海省红十字医院动物伦理委员会批准。

1.2 主要药品、仪器与试剂

1.2.1 主要药品与试剂 NRG-1 阻断剂 CGP52432(ProSpec 公司,批号:SMC-112B-DY488)、10% 水合氯醛溶液(广州化学试剂厂,批号:AR201704)、苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号:G1120)、大鼠抗 NRG-1、circNRG-1、miR-193b-5p 的原代抗体购自美国 ABCAM 公司。

1.2.2 仪器 BS110S 型电子分析天平(赛多利斯科学仪器有限公司)、alphaEaseFC 型灰度分析软件

2021-03-10 接收
基金项目:国家自然科学基金(编号:81570382)
作者单位:[1] 青海省红十字医院心血管内科,西宁 810000
[2] 青海省儿童医院心血管内科,西宁 810000
[3] 青海卫生职业技术学院教研室,西宁 810000
[4] 西安交通大学第二附属医院心血管内科,西安 710004
作者简介:王玉孝,男,主治医师;
李 俊,男,主治医师,责任作者,E-mail:121511742@qq.com

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(美国 Alpha Innotech 公司)、T100 型实时荧光定量聚合酶链式反应仪(Real-time PCR)(北京伯辉生物科技有限公司)、DYY-Ⅰ C 型凝胶成像系统(北京六一仪器厂)、TE77XP 型半干转膜仪系统(美国 Hoefer 公司)、CUT4062 型石蜡切片机(德国 SLEE 公司)。

1.3 方法

1.3.1 分组与动物模型制备 采用随机数字表法将 90 只 SD 大鼠分为空白对照组(n = 30)、肥胖性高血压组(n = 30)、NRG-Ⅰ阻断剂组(n = 30)三组,肥胖性高血压组和 NRG-Ⅰ阻断剂组参考文献方法[7]制备肥胖性高血压大鼠模型,大鼠给予高脂饮食并筛选出肥胖性高血压大鼠,筛选标准为:大鼠的体质量比普通饲料喂养的大鼠重 20%〔单只高脂饮食组大鼠体质量 - 空白对照组体质量均值)/空白对照组体质量均值≥20%〕,且收缩压≥140 mmHg。高脂饲料的配方为:100 g 的基础饲料中加入 10 g 奶粉、10 g 猪油、1 个鸡蛋、10 滴鱼肝油,需当日配制饮食;NRG-Ⅰ阻断剂组从造模开始第 1 天给予 10 nmol/L NRG-Ⅰ阻断剂 CGP52432,每天 1 次,连续治疗 12 周;空白对照组大鼠给予普通饲料喂养。造模过程中,空白对照组大鼠无死亡,肥胖性高血压组大鼠死亡 2 只,NRG-Ⅰ阻断剂组大鼠死亡 3 只,各组间数量差异无统计学意义。

1.3.2 血压的检测 先将大鼠固定于血压检测器中使其适应里面的环境后,每 2 周检测一次血压,连续检测 12 周。连续检测 5 次的值相差≤5 mmHg 时为检测数据有效,最终结果取 5 次测定结果的平均值。

1.3.3 体质量、Lee 系数、脂肪系数的检测 每 2 周测定一次大鼠的体质量,连续检测 12 周并记录。12 周后,采集 5 ml 的血样,静置 10 min 后3 000 r/min 分离血清,取上清液,采用全自动生化分析仪检测大鼠血清中三酰甘油和总胆固醇水平,计算 Lee 系数,计算公式为:Lee 系数 = 体质量(g)1/3 × 1 000/体长(cm)。然后打开腹腔,取腹股沟、腹膜后、附睾、肠系膜的脂肪垫称重并计算全身脂肪质量,计算大鼠的脂肪系数,计算公式为:脂肪系数 =(脂肪质量/大鼠体质量)×100%。

1.3.4 胸主动脉病理学形态观察 待血压、体质量检测完毕后,每组取 9 只大鼠禁食不禁水 12 h,40 g/L 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉,分离大鼠的胸主动脉,一段用 4% 多聚甲醛溶液贮存,待其常规脱水后浸蜡,包埋 4 μm 连续切片采用 HE 染色并在显微镜下观察,采用 MPIAS-500 多媒体彩色病理图像分析仪分析大鼠胸主动脉的图像,测量血管壁中膜厚度(media thickness,MT)。另一段胸主动脉贮存于 5% 戊二醛溶液中,用磷酸缓冲液漂洗后用 1% 锇酸固定,染色,逐级乙醇脱水,浸渍,包埋,超薄切片机切片,观察胸主动脉的病理组织学变化。

1.3.5 NRG-Ⅰ蛋白水平的检测 待血压、体质量检测完毕后,每组取 9 只大鼠禁食不禁水 12 h,40 g/L 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉,分离大鼠的胸主动脉,采用 Western blot 法检测血管中 NRG-Ⅰ的蛋白水平,具体步骤如下:精密称取大鼠胸主动脉 0.1 g 后充分剪碎,加入裂解液、离心(3 500 r/min 离心 10 min,离心半径 8 cm),用组织蛋白抽提试剂盒提取相应组织蛋白,采用 BCA 法检测蛋白的浓度,并将其制成含等量蛋白的蛋白组织样品。加入蛋白上样缓冲液并煮沸后,SDS-PAGE 凝胶进行电泳,半干转膜仪转膜,加入 anti-NRG-Ⅰ(1∶500)一抗孵育,置于 4 ℃ 条件下放置过夜,二抗(1∶5 000)孵育后 ECL 显色,化学发光法检测,Quantity one 软件进行图像分析。

1.3.6 RT-PCR 检测胸主动脉中 NRG-Ⅰ、circNRG-1、miR-193b-5p 的 mRNA 表达 待血压、体质量检测完毕后,每组取 9 只大鼠禁食不禁水 12 h,40 g/L 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉,分离大鼠的胸主动脉,按照逆转录试剂盒及 PCR 试剂盒操作步骤进行反转录及实时荧光定量 PCR 反应。引物序列见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列

基因	引物序列
GAPDH	F:5′-AAG GTG AAG GTC GGA GTC-3′
	R:5′-GAT TTT GGA GGG ATC TCG-3′
NRG-Ⅰ	F:5′-GGA GAT GCG AGC ATA GAC CG-3′
	R:5′-GTG TCT CGG GGC TAC TCT TG-3′
circNRG-Ⅰ	F:5′-AAC CCC TGA CTC CTA ACA GAG ACT-3′
	R:5′-CTG GTC CCA GTC GTG GAT GT-3′
miR-193b-5p	F:5′-CTA GTC TAG AGA ACT GGA GAG GAC CCT GAG AGG AGA-3′
	R:5′-CCG GAA TTC TCC CCA AAG CTC CCG CTC GAC TAG TGG TTA AGG GTG AGC CCGA-3′

1.3.7 微阵列分析 用 QIAzol 裂解试剂提取大鼠脂肪中的 circRNA。根据 Arraystar 的标准程序进行样品制备和微阵列杂交,总 RNA 用 RNaseR 消化后去除线性 RNA,丰富 circRNA。利用 Arraystar Super-RNA 标记试剂盒采用随机引物方法将富集的 cir-

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

cRNA 扩增并转录成荧光 cRNA，标记的 cRNAs 与 Arraystar 鼠环 RNA 阵列 V2 杂交，再用 G2505C 扫描仪对阵列进行扫描，使用 Agilent(11.0.1.1版) 特征提取软件对采集到的阵列图像进行分析。

1.3.8 双荧光素酶报告实验验证 circNRG-1 与 miR-193b-5p 之间的靶向关系 将 miR-193B-5P MIMIC 和 NC MIMIC 与 circNRG-1、circNRG-1 MUT、NRG-13′-UTR、NRG-13′-UTR MUT 的荧光素酶报告质粒或空载体联合转染 293T 细胞。24 h 后收集细胞，按照双荧光素酶报告基因试剂盒说明书进行荧光素酶活性检测。实验重复 3 次。

1.3.9 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络 基于 ceRNA 理论，利用 Cytoscape 软件(http://www.Cytoscape.org/) 构建 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络，并将其可视化。网络图通过节点和连线以直观的方式表示 circRNA-miRNA-mRNA 的互作关系，其中每个节点代表不同的 RNA 分子，连线代表节点之间的相互作用。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计软件进行试验数据分析，试验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间差异比较采用 t 检验，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 circNRG-1 在大鼠胸主动脉中表达 结果发现，在散点图中，高于绿线以上的 circRNAs 和低于绿线的 circRNAs 在两组间的变化 >1.5 倍，两组之间有 382 个 circRNAs 的差异表达，其中 235 个表达上调，147 个表达下调(>2 倍)。结果表明，与空白对照组比较，肥胖性高血压组的 MMU-CircRNA-42742(其父本基因为 NRG-1) 上调，此外肥胖性高血压上调了 circNRG-1 的表达。结果见图 1。

2.2 大鼠不同时间点的收缩压、体质量结果 与空

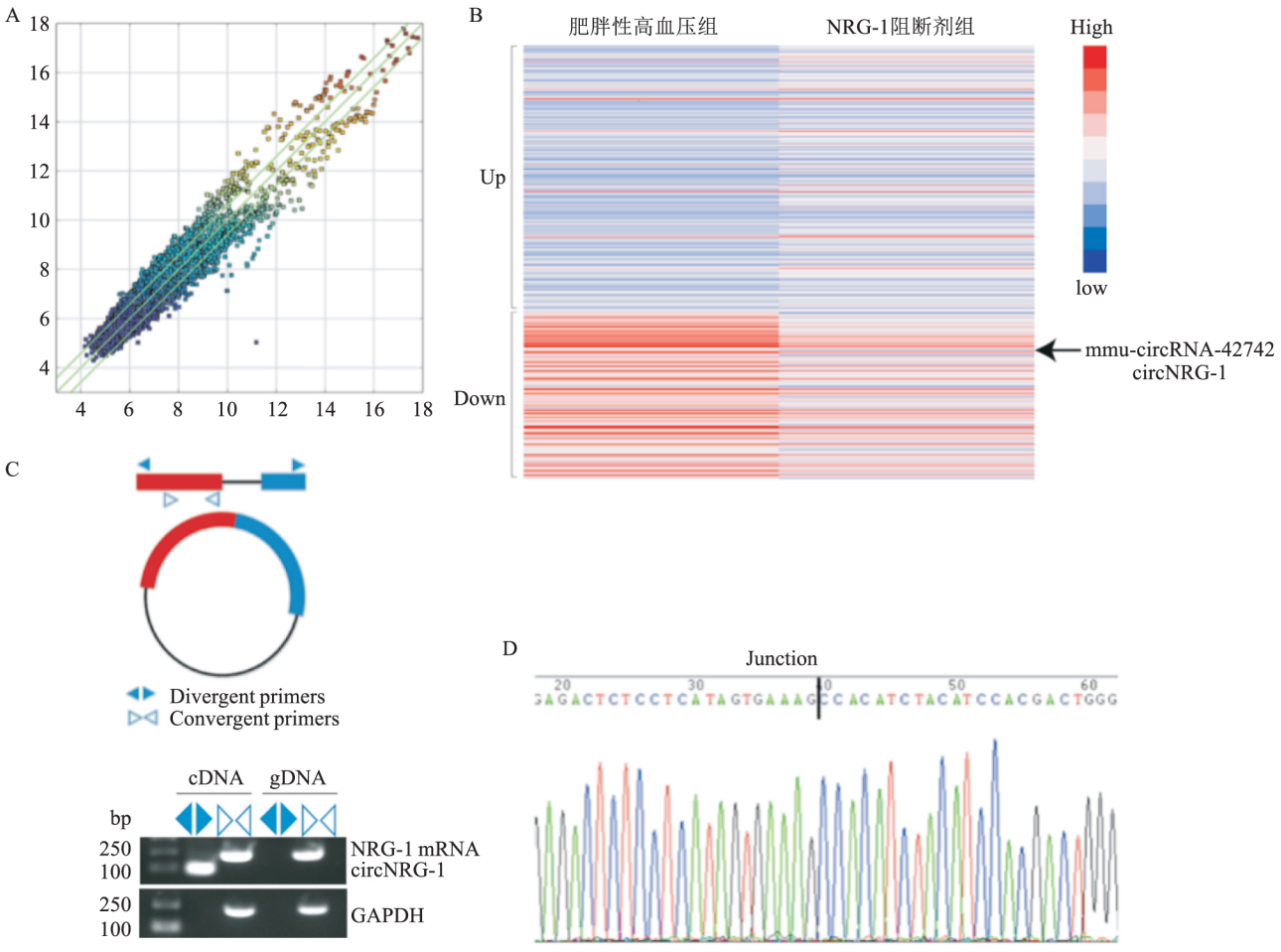

图 1 circNRG-1 在大鼠胸主动脉中表达

A：散点图分析两组环状 RNA 表达的差异(散点图，横坐标表示 circNRG-1 变化以 P 值的 −log10 表示，纵坐标表示两组中 circNRG-1 表达倍数数值以 log2 表示。横坐标的绝对值越大，两组之间表达量的差异越大；纵坐标值越大，差异越显著)；B：系统聚类分析(红色代表表达上调，蓝色代表表达下调)；C：发散引物；D：聚合酶链反应

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

白对照组比较，肥胖性高血压组大鼠的收缩压、体质量、Lee 系数、脂肪系数、血清中三酰甘油、总胆固醇显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）；与肥胖性高血压组比较，NRG-1 阻断剂组大鼠的收缩压、体质量、Lee 系数、血清中三酰甘油有所降低，差异有统计学意义（$P<0.05$），脂肪系数和总胆固醇虽有所下降，但差异无统计学意义。结果见表 2～5。

2.3 大鼠胸主动脉病理学结果 HE 染色显示空白对照组大鼠胸主动脉形态大致正常，主动脉内膜、中膜、外膜 3 层结构排列规整，界限清晰；血管内膜光滑，血管中膜弹性纤维呈同心圆排列，中膜无增厚，平滑肌排列规则，无肥大增生；肥胖性高血压组大鼠胸主动脉出现轻微血管重构情况，主动脉内膜增生不明显，部分内膜脱落；中膜弹性纤维形态不规则，部分出现断裂，平滑肌细胞无增生；NRG-1 阻断剂组大鼠胸主动脉血管重构表现。结果见图 2。

2.4 NRG-1 蛋白表达 与空白对照组比较，肥胖性高血压组大鼠胸主动脉中的 NRG-1 蛋白表达显著升高，差异有统计学意义（$P<0.05$）；与肥胖性高血压组比较，NRG-1 阻断剂组大鼠胸主动脉中的

表 2 大鼠不同时间点的收缩压（mmHg，$\bar{x}\pm s$）

时间（周）	空白对照组（$n=30$）	肥胖性高血压组（$n=28$）	NRG-1 阻断剂组（$n=27$）	F 值	P 值
0	117.4±11.2	116.8±8.2	118.0±12.1	8.130	1.12
2	118.4±12.1	128.4±15.1$^{\#}$	124.7±8.1$^{\#*}$	5.500	0.04
4	120.2±9.7	138.2±26.2$^{\#}$	132.0±11.2$^{\#*}$	6.075	0.04
6	122.4±9.9	144.8±9.8$^{\#}$	137.9±9.3$^{\#*}$	4.330	0.04
8	120.1±10.9	146.9±20.1$^{\#}$	139.2±10.81$^{\#*}$	4.060	0.03
10	121.9±8.9	151.2±17.3$^{\#}$	141.6±17.0$^{\#*}$	5.050	0.03
12	122.9±7.0	154.9±16.2$^{\#}$	144.6±26.1$^{\#*}$	7.500	0.03

与空白对照组比较：$^{\#}P<0.05$；与肥胖性高血压组比较：$^{*}P<0.05$

表 3 大鼠不同时间点的体质量（g，$\bar{x}\pm s$）

时间（周）	空白对照组（$n=30$）	肥胖性高血压组（$n=28$）	NRG-1 阻断剂组（$n=27$）	F 值	P 值
0	371.7±17.2	389.4±21.2	377.2±22.1	7.89	0.97
2	398.2±18.2	448.4±28.1$^{\#}$	409.7±22.1$^{\#*}$	5.24	0.04
4	404.3±18.7	482.2±36.2$^{\#}$	436.0±31.2$^{\#*}$	4.83	0.03
6	419.9±19.9	529.8±39.8$^{\#}$	478.9±19.3$^{\#*}$	6.59	0.03
8	453.1±20.9	576.9±36.1$^{\#}$	505.2±27.8$^{\#*}$	10.74	0.02
10	459.9±28.9	621.2±37.3$^{\#}$	519.6±27.0$^{\#*}$	4.17	0.02
12	465.9±23.0	654.9±47.2$^{\#}$	531.6±26.5$^{\#*}$	6.78	0.02

与空白对照组比较：$^{\#}P<0.05$；与肥胖性高血压组比较：$^{*}P<0.05$

表 4 大鼠肥胖相关指标结果（$\bar{x}\pm s$）

组别	Lee 系数	脂肪系数（%）	三酰甘油（mmol/L）	总胆固醇（mmol/L）
空白对照（$n=30$）	283.42±17.18	4.09±0.66	2.19±0.31	1.06±0.34
肥胖性高血压（$n=28$）	324.65±15.50$^{\#}$	4.36±0.72$^{\#}$	3.27±0.75$^{\#}$	1.43±0.25$^{\#}$
NRG-1 阻断剂（$n=27$）	302.01±19.08$^{\#*}$	4.21±0.57$^{\#}$	2.76±0.49$^{\#*}$	1.32±0.28$^{\#*}$
F 值	8.88	5.09	3.19	2.57
P 值	0.03	0.04	0.04	0.04

与空白对照组比较：$^{\#}P<0.05$；与肥胖性高血压组比较：$^{*}P<0.05$

表 5 大鼠的脂肪分布情况（mg/kg，$\bar{x}\pm s$）

组别	腹股沟	腹膜后	附睾	肠系膜	全身
空白对照（$n=30$）	8.07±0.23	7.39±0.47	5.15±0.54	4.69±0.15	25.64±0.55
肥胖性高血压（$n=28$）	18.42±0.47$^{\#}$	16.35±3.17$^{\#}$	10.71±2.58$^{\#}$	8.71±2.47$^{\#}$	53.82±6.71$^{\#}$
NRG-1 阻断剂（$n=27$）	15.76±0.54$^{\#*}$	12.95±4.19$^{\#*}$	7.11±1.92$^{\#*}$	6.27±2.01$^{\#*}$	36.52±7.19$^{\#*}$
F 值	5.26	6.06	3.40	2.17	3.56
P 值	0.03	0.04	0.04	0.04	0.02

与空白对照组比较：$^{\#}P<0.05$；与肥胖性高血压组比较：$^{*}P<0.05$

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

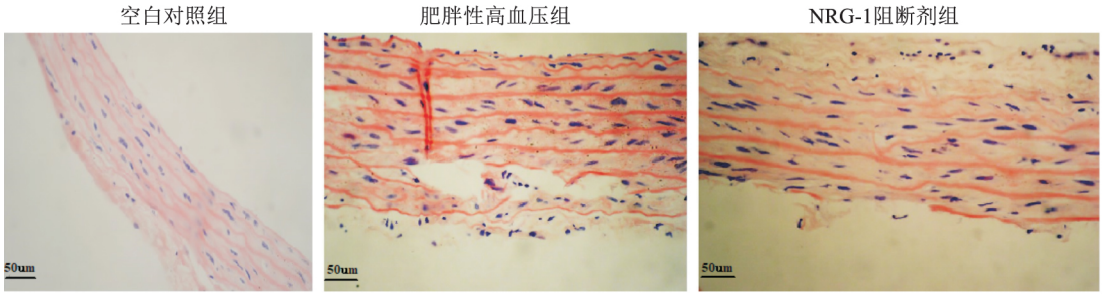

图2 大鼠胸主动脉病理学结果 HE×400

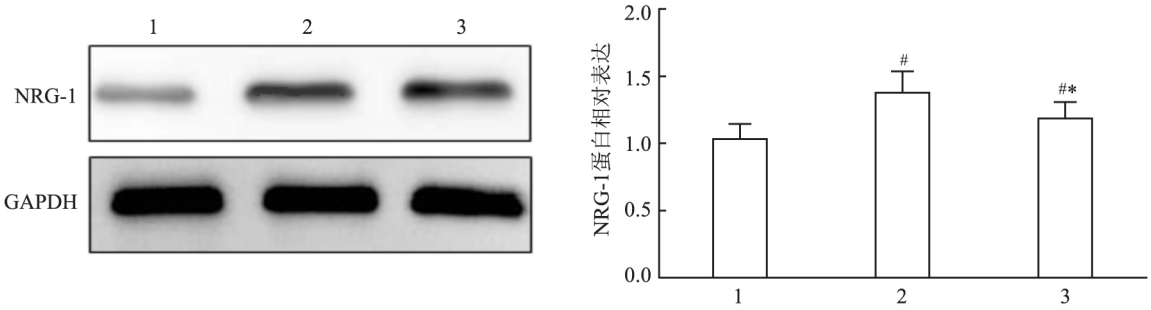

图3 NRG-1 蛋白表达

1: 空白对照组; 2: 肥胖性高血压组; 3: NRG-1 阻断剂组; 与空白对照组比较: $^{\#}P<0.05$; 与肥胖性高血压组比较: $^{*}P<0.05$

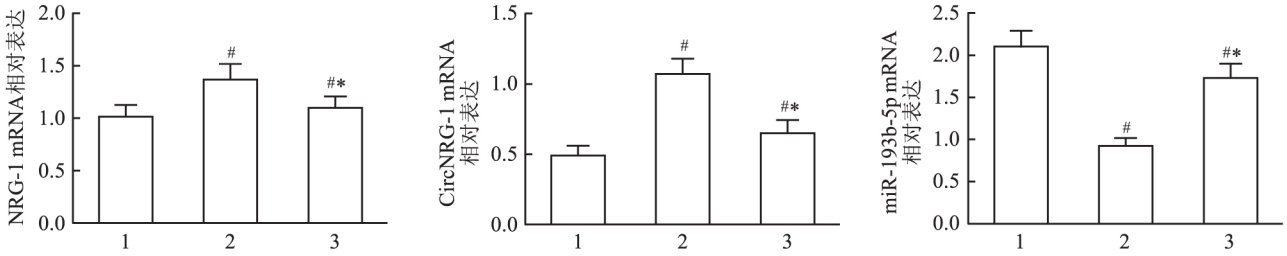

图4 NRG-1、circNRG-1、miR-193b-5p 的 mRNA 表达

1: 空白对照组; 2: 肥胖性高血压组; 3: NRG-1 阻断剂组; 与空白对照组比较: $^{\#}P<0.05$; 与肥胖性高血压组比较: $^{*}P<0.05$

NRG-1 蛋白表达有所降低，差异有统计学意义($P<0.05$)。结果见图3。

2.5 NRG-1、circNRG-1、miR-193b-5p 的 mRNA 表达 与空白对照组比较，肥胖性高血压组大鼠胸主动脉中的 NRG-1、circNRG-1 的 mRNA 表达升高，miR-193b-5p 的 mRNA 表达降低，差异有统计学意义($P<0.05$)；与肥胖性高血压组比较，NRG-1 阻断剂组大鼠的 NRG-1、circNRG-1 的 mRNA 表达降低，miR-193b-5p 的 mRNA 表达升高，差异有统计学意义($P<0.05$)。结果见图4。

2.6 CircRNA-miRNA-mRNA 调控网络 circRNA-miRNA-mRNA 调控网络基于共表达 RNA 构建，并通过 Cytoscape 可视化。结果显示，以 circNRG-1 为中心、5 个 miRNAs 节点、40 个 mRNAs 节点组成了 CircRNA-miRNA-mRNA 调控网络。结果见图5。

2.7 miR-193b-5p 与 CircR-NRG-1 的靶向关系 采用生物信息学方法在 NRG-1 3′-UTR 中搜索 miR-193b-5p 的潜在匹配位点，发现小鼠 NRG-1 3′-UTR 在 544～550 和 3 195～3 201 核苷酸处含有 2 个 miR-193b-5p 结合位点(图6A)。为了观察 miR-193b-5p 对 NRG-1 表达的影响，研究中构建了野生型 pmirGLO-NRG-1 3′-UTR 及其突变体 pmirGLO-NRG-1 3′-UTR，并与 miR-193b-5p 模拟或 miR-CTL 共转染 293T 细胞，结果发现 miR-193b-5p 模拟物使荧光素酶活性降低 50%，而 NRG-1 3′-UTR 中 miR-193b-5p 结合位点的突变在 miR-193b-5p 模拟物存在下完全恢复了荧光素酶活性(图6B)。

3 讨论

circRNAs 是一种新型的非编码的 RNA，被认为是一种重要的基因调控因子[5]。到目前为止，已在哺乳动物中鉴定了数千个高表达的 circRNAs，并报道了 circRNAs 的不同功能。circRNAs 可以作为

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

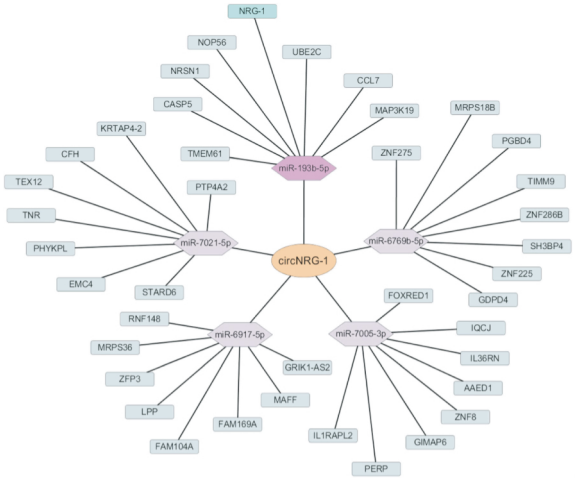

图 5 CircRNA-miRNA-mRNA 调控网络

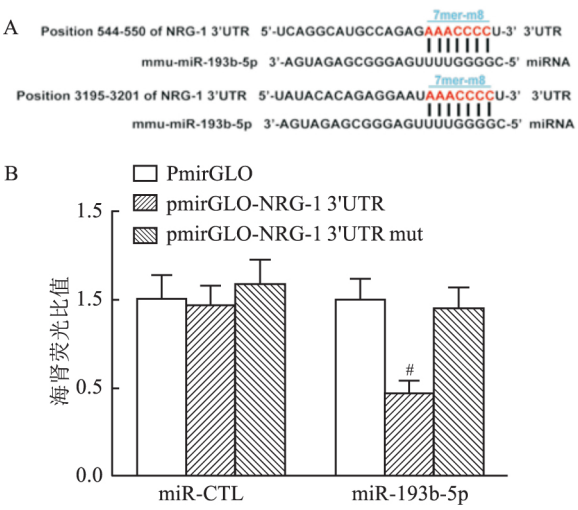

图 6 miR-193b-5P 与 CircR-NRG-1 的靶向关系

与 miR-CTL 组比较: $^{\#}P<0.01$

miRNA 海绵与 miRNA 反应元件结合来分离 miRNAs，从而终止对其目标基因的转录后控制，还可以促进细胞内 miRNA 的转运，分离 RNA 结合蛋白，以及通过不完全的碱基配对直接靶向和调节信使 RNA[8]。最近有两项临床研究发现 circRNAs 在高血压中发挥作用[9-10]；Cheng et al[11] 也对高血压研究中广泛使用的 4 种大鼠品系(S、R、SHR 和 WKY 品系)的 circRNAs 进行了全基因组范围的调查，并检测到 12 846 个 circRNAs 在大鼠肾组织中表达，此外许多 circRNAs 在正常血压大鼠和高血压大鼠之间差异表达。

NRG-1 是一种 EGF 相关蛋白，它通过红细胞型病毒癌基因同源物在心脏内发挥多种调节作用。NRG-1 是由心内膜和心肌微血管内皮细胞合成和释放的，作为对机械牵张、缺氧和信号肽的反应，参与了心室组织中的旁分泌细胞间通讯[12]。有研究发现 NRG-1 在血管生理病理中起重要作用[13]；NRG-1 在血管内皮细胞和平滑肌细胞中表达，其受体定位于潜在的平滑肌细胞[14]；NRG-1 处理体外培养的 VSMCs，可显著降低血小板衍生生长因子刺激的 VSMCs 的增殖和迁移[15]。本研究结果发现：在转录后水平上 miRNAs 或 circRNAs 是否调控 NRG-1 的表达，根据 circRNAs 芯片发现肥胖性高血压模型中 circNRG-1 被上调。通过散点图确定两组间 circRNAs 的差异表达水平，发现高于绿线以上的环状 RNA 和低于绿线的环状 RNA 在两组间的变化 > 1.5 倍。两组间有 382 个 circRNAs 的图差异表达，其中 235 个表达上调，147 个表达下调(>2 倍)，肥胖性高血压组的 MMU-CircRNA-42742(其父本基因为 NRG-1)上调，同时肥胖性高血压还上调了 circNRG-1 的表达。阻断 NRG-1 后肥胖性高血压大鼠的收缩压、体质量、Lee 系数、脂肪系数、血清中三酰甘油、总胆固醇有所降低，NRG-1 表达有所下调，此外，大鼠大鼠胸主动脉血管重构表现。

综上所述，肥胖性高血压大鼠中 circNRG-1、NRG-1 表达上调，miR-193b-5p 表达下调，阻断 NRG-1 后可以使肥胖性高血压大鼠体质量、血压有所改善，并且可以使 circNRG-1、NRG-1 表达下调，miR-193b-5p 表达上调，说明 NRG-1 阻断剂在一定程度上改善了肥胖性高血压，而 circNRG-1/miR-193b-5p/NRG-1 轴可能是治疗肥胖性高血压的潜在靶点。

参考文献

[1] Kotsis V, Nilsson P, Grassi G, et al. New developments in the pathogenesis of obesity-induced hypertension [J]. J Hypertension, 2015, 33(8): 1499 - 508.

[2] Schiavon C A, Bersch-Ferreira A C, Santucci E V, et al. Effects of bariatric surgery in obese patients with hypertension: the GATEWAY randomized trial (gastric bypass to treat obese patients with steady hypertension) [J]. Circulation, 2018, 137(2): 1132 - 42.

[3] Kidambi S, Kotchen T A. Treatment of hypertension in obese patients [J]. Am J Cardiovasc Drugs, 2013, 13(3): 163 - 75.

[4] Clement C M, Thomas L K, Mou Y, et al. Neuregulin-1 attenuates neointimal formation following vascular injury and inhibits the proliferation of vascular smooth muscle cells [J]. J Vasc Res, 2007, 44(4): 303 - 12.

[5] 蔡 茗，邵 峰，林先盛，等. 不同来源的胰腺星状细胞 CircRNA 表达谱差异分析 [J]. 安徽医科大学学报，2020，55(8)：1209 - 14.

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

[6] Zheng X B,Zhang M,Xu M Q. Detection and characterization of cirs-7: a potential promoter of the development of cancer [J]. Neoplasma,2017,64(3):321-8.
[7] 马俊梅. 川芎嗪对肥胖性高血压大鼠症状的改善作用研究[J]. 中外医疗,2014,33(5):21-2.
[8] Lasda E,Parker R. Circular RNAs: diversity of form and function [J]. RNA,2014,20(12):1829-42.
[9] Miao R,Wang Y,Wan J,et al. Microarray expression profile of circular RNAs in chronic thromboembolic pulmonary hypertension [J]. Medicine (Baltimore),2017,96(27):7354.
[10] Wu N,Jin L,Cai J. Profiling and bioinformatics analyses reveal differential circular RNA expression in hypertensive patients [J]. Clin Exp Hypertens,2017,39(5):454-9.
[11] Cheng X,Joe B. Circular RNAs in rat models of cardiovascular and renal diseases [J]. Physiol Genomics,2017,49(9):484-90.
[12] Vermeulen Z,Hervent A S,Dugaucquier L,et al. Inhibitory actions of the NRG-1/ErbB4 pathway in macrophages during tissue fibrosis in the heart,skin,and lung [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol,2017,313(5):934-45.
[13] Parodi E M,Kuhn B. Signalling between microvascular endothelium and cardiomyocytes through neuregulin [J]. Cardiovasc Res,2014,102(2):194-204.
[14] Odiete O,Hill M F,Sawyer D B. Neuregulin in cardiovascular development and disease [J]. Circ Res,2012,111(10):1376-85.
[15] Kyotani Y,Ota H,Itaya-Hironaka A,et al. Intermittent hypoxia induces the proliferation of rat vascular smooth muscle cell with the increases in epidermal growth factor family and erbB2 receptor [J]. Exp Cell Res,2013,319(19):3042-50.

Molecular biological mechanism of obesity hypertension based on circNRG-1/miR-193b-5p/NRG-1 axis

Wang Yuxiao[1],Li Jun[1],Wang Shengyi[2],et al
([1]*Dept of Cardiovascular Medicine,Qinghai Provincial Red Cross Hospital,Xining* 810000;
[2]*Dept of Cardiovascular Medicine,Qinghai Children's Hospital,Xining* 810000)

Abstract ***Objective*** To explore molecular biological mechanism of Obesity Hypertension based on circNRG-1/miR-193b-5p/NRG-1 Axis. ***Methods*** 90 SD rats were randomly divided into three groups: control group ($n=30$), obese hypertension group ($n=30$) and NRG-1 blocker group ($n=30$). Blood pressure,body weight,Lee coefficient,fat coefficient,serum triglyceride and total cholesterol levels and the expression of circNRG-1/miR-193b-5p/NRG-1 in thoracic aorta were measured,and the expression of circNRG-1 in obese hypertensive rats was analyzed by microarray,the targeting relationship between circNRG-1 and miR-193b-5p was analyzed by double luciferase. ***Results*** The results of microarray showed that there were 382 circRNAs differentially expressed between the blank control group and the obese hypertension group,of which 235 were up-regulated and 147 were down-regulated (>2 times). Compared with the blank control group,the MMU-CircRNA-42742 (whose paternal gene was NRG-1) was up-regulated in the obese hypertension group. Compared with the blank control group,the MMU-CircRNA-42742(paternal gene NRG-1) was up-regulated in the obese hypertension group. Compared with the blank control group,the systolic blood pressure,body weight,Lee coefficient,fat coefficient,serum triglyceride,total cholesterol,and the mRNA expression of NRG-1,circNRG-1 and miR-193b-5p in thoracic aorta of obese hypertensive rats all increased,and the vascular wall was proliferated and the intima was thickened. Compared with obese hypertension group,systolic blood pressure,body weight,Lee coefficient,fat coefficient,serum triglyceride,total cholesterol,mRNA expression of NRG-1,circNRG-1 and miR-193b-5p in thoracic aorta decreased in NRG-1 blocker group,and vascular remodeling appeared. ***Conclusion*** The expression of circNRG-1 and NRG-1 is up-regulated and the expression of miR-193b-5p is down-regulated in obese hypertensive rats. After blocking NRG-1,the symptoms of obese hypertensive rats improve,so circNRG-1/miR-193b-5p/NRG-1 axis may be a potential target for the treatment of obese hypertension.

Key words circNRG-1; miR-193b-5p; NRG-1; obese hypertension

(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net