

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2024.05.012

论著·临床

基于血清 miR-351、miR-638 水平构建 2 型糖尿病患者颈动脉粥样硬化的影响因素列线图预测模型与评价

关晓燕,曹玲,闫雪梅,宁聪华,伊力多斯·阿里什



基金项目: 2022 年新疆生产建设兵团指导性科技计划项目(2022D72)

作者单位: 830054 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院检验科(关晓燕、曹玲、闫雪梅、宁聪华),内分泌科(伊力多斯·阿里什)

通信作者: 曹玲, E-mail: 512095209@qq.com

【摘要】目的 基于血清微小核糖核酸(miR)-351、miR-638 水平构建 2 型糖尿病(T2DM)患者颈动脉粥样硬化(CAS)的影响因素列线图预测模型并予评价。**方法** 选取 2021 年 3 月—2022 年 12 月新疆医科大学第一附属医院内分泌科收治的 T2DM 患者 182 例作为观察组,另选医院同期体检健康者 91 例作为健康对照组。比较 2 组血清 miR-351、miR-638 及血糖、血脂水平差异;T2DM 患者根据是否合并 CAS 分为 CAS 亚组($n=79$)和非 CAS 亚组($n=103$),并比较 2 亚组临床特点差异;多因素 Logistic 回归分析 T2DM 合并 CAS 的危险因素;依据危险因素构建 T2DM 合并 CAS 发生风险列线图预测模型;受试者工作特征(ROC)曲线分析预测效能,以 Bootstrap 法、决策曲线分析该模型校准度与决策能力。**结果** 观察组血清 miR-351 水平高于健康对照组,血清 miR-638 水平低于健康对照组($t/P=9.999/<0.001$ 、 $12.051/<0.001$)。观察组高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平低于健康对照组($t/P=11.060/<0.001$),空腹血糖(FPG)、餐后 2 h 血糖(2 h PG)、糖化血红蛋白(HbA_{1c})、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平均高于健康对照组($t=18.034$ 、 20.355 、 21.744 、 7.991 、 20.682 、 13.256 , P 均 <0.001);多因素 Logistic 回归分析显示,HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、miR-351 升高为 T2DM 合并 CAS 的独立危险因素[OR(95% CI)=8.129(3.377~19.567)、1.444(1.093~1.908)、7.868(2.254~27.459)、2.728(1.241~5.997)、1.337(1.039~1.721)],而 miR-638 升高为其保护因素[OR(95% CI)=0.046(0.006~0.337)]。ROC 分析显示,HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、miR-351、miR-638 水平及预测模型的曲线下面积(AUC)为 0.863、0.670、0.693、0.726、0.776、0.655、0.936,以预测模型的 AUC 最大($Z=3.468$ 、 6.602 、 5.832 、 5.599 、 5.064 、 6.674 , P 均 <0.001);采用 Bootstrap 法对列线图模型进行内部验证,重复抽样 1 000 次($B=1 000$)显示,C-index 为 0.871,提示该列线图模型预测能力较好。决策分析显示,该模型的阈值概率 0.01~0.97,净收益率 >0 ,高于两条无效线。**结论** T2DM 患者血清 miR-351 水平升高,miR-638 水平降低,参与了 T2DM 患者 CAS 的发生及进展。HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、miR-351 升高为 T2DM 合并 CAS 的独立危险因素,miR-638 升高为其保护因素,基于 miR-351、miR-638 及其他独立危险因素构建的列线图预测模型对 T2DM 合并 CAS 有良好预测价值,可用于评估 T2DM 患者合并 CAS 发生风险。

【关键词】 2 型糖尿病;颈动脉粥样硬化;微小核糖核酸-351;微小核糖核酸-638;影响因素;列线图预测模型**【中图分类号】** R587.1;R543.4**【文献标识码】** A

Construct a nomogram prediction model and evaluation of influencing factors of carotid atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus patients base on serum miR-351 and miR-638 levels

Guan Xiaoyan*, Cao Ling, Yan Xuemei, Ning Conghua, Yiliduosu · Alishi. *Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang Province, Urumqi 830054, China

Funding program: 2022 Guiding Science and Technology Plan Project of Xinjiang Production and Construction Corps (2022D72)

Corresponding author: Cao Ling, E-mail: 512095209@qq.com

【Abstract】 Objective To construct and evaluate a nomogram prediction model of influencing factors of carotid atherosclerosis (CAS) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) base on serum microribonucleic acid (miR)-351 and miR-638 levels. **Methods** One hundred and eighty-two T2DM patients admitted to the Department of Endocrinology of The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from March 2021 to December 2022 were selected as observation group, and 91 healthy cases who underwent physical examination in the hospital during the same period were selected as

healthy control group. The expression levels of serum miR-351 and miR-638, as well as differences in blood glucose and blood lipid were compared between two groups. T2DM patients were divided into CAS subgroup and non-CAS subgroup according to whether they were combined with CAS, and the differences in clinical characteristics in two subgroups were compared. The risk factors of T2DM combined with CAS were analyzed by multivariate Logistic regression. The risk nomogram prediction model of T2DM combined with CAS was constructed according to the risk factors. The predictive efficacy was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve, and the calibration and decision-making ability of the model were analyzed by Bootstrap method and decision curve. **Results** The serum miR-638 level in observation group was lower than that in control group, and the serum miR-351 level was higher than that in control group ($t/P=9.999/ <0.001$, $12.051/ <0.001$). The level of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) in observation group was lower than that in control group ($t/P=11.060/ <0.001$), and the levels of fasting blood glucose (FPG), 2-hour postprandial blood glucose (2hPG), glycosylated hemoglobin (HbA_{1c}), total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were higher than those in control group ($t=18.034, 20.355, 21.744, 7.991, 20.682, 13.256, P<0.001$); Multivariate Logistic regression analysis showed that, elevated HbA_{1c}, TC, TG, LDL-C and miR-351 were independent risk factors for T2DM combined with CAS [$OR(95\% CI)=8.129(3.377 - 19.567), 1.444(1.093 - 1.908), 7.868(2.254 - 27.459), 2.728(1.241 - 5.997), 1.337(1.039 - 1.721)$], and elevated miR-638 was protective factor [$OR(95\% CI)=0.046(0.006 - 0.337)$]. ROC analysis showed that the area under the curve (AUC) of the levels of HbA_{1c}, TC, TG, LDL-C, miR-351, miR-638 and the prediction model were 0.863, 0.670, 0.693, 0.726, 0.776, 0.655 and 0.936 respectively, the AUC of the prediction model was the largest ($Z=3.468, 6.602, 5.832, 5.599, 5.064, 6.674, P<0.001$); The nomogram model internally was verified by Bootstrap method, the repeated sampling of 1000 times ($B=1\ 000$) showed that the C-index was 0.871, suggesting that the nomogram model had better predictive ability. The decision analysis shows that the threshold probability of the model was 0.01 - 0.97, and the net return rate was >0 , which was higher than two invalid lines. **Conclusion** The levels of serum miR-351 and miR-638 in T2DM patients are abnormally express, which are involve in the occurrence and progression of patients with CAS combine with T2DM. Elevated HbA_{1c}, TC, TG, LDL-C, miR-351, and decreased miR-638 are independent risk factors for T2DM combine with CAS, nomogram prediction model base on miR-351, miR-638 and other independent risk factors has good predictive value for T2DM combine with CAS, which could be used to evaluate the risk of patients with CAS combine with T2DM.

【Key words】 Type 2 diabetes mellitus; Carotid atherosclerosis; MicroRNA-351; MicroRNA -638; Influencing factors; Nomogram prediction model

2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 是一种慢性代谢性疾病,其特征是胰岛素分泌不足或组织细胞对胰岛素的敏感性降低,导致血糖升高^[1]。颈动脉粥样硬化 (carotid atherosclerosis, CAS) 则是 T2DM 常见并发症^[2]。T2DM 合并 CAS 的发病机制主要包括高血糖、高血脂、高血压等代谢紊乱,以及炎症反应和氧化应激等病理生理过程,CAS 可导致动脉管腔狭窄,影响组织器官的供血,加重靶器官损害,危及患者生命安全^[3]。因此,CAS 早期防治对治疗心血管事件意义重大。近年来,诸多研究表明微小核糖核酸 (miRNA) 在 CAS 的发生和发展中发挥了重要作用。其中,miR-351 和 miR-638 是两个备受关注的 miRNA 分子。相关研究表明^[4-5],miR-351 可能通过负性调节糖脂代谢、促进炎症反应和细胞凋亡等作用促进 AS 的发展。miR-638 可调节糖脂代谢以及减轻炎症反应,抑制动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 发展^[6]。然而,血清 miR-351 和 miR-638 表达是否参与了 T2DM 合并 CAS 的发生及进展尚不清楚。基于此,本研究旨

在探究血清中 miR-351 和 miR-638 的表达水平与 T2DM 患者合并 CAS 的关系,并构建 T2DM 合并 CAS 发生风险列线图预测模型,以期为 T2DM 患者合并 CAS 的临床防治提供新的思路,报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2021 年 3 月—2022 年 12 月新疆医科大学第一附属医院内分泌科收治的 T2DM 患者 182 例为观察组,其中男 107 例,女 75 例,年龄 50 ~ 74 (58.19 ± 6.23) 岁;吸烟史 86 例,饮酒史 96 例;体质指数 (BMI) $19.3 \sim 31.5(24.74 \pm 1.56)$ kg/m²; 糖尿病病程 2 ~ 17 (9.16 ± 2.41) 年。另选医院同期体检健康者 91 例为健康对照组,男 54 例,女 37 例,年龄 49 ~ 73 (58.72 ± 5.94) 岁; BMI $21.5 \sim 27.4(24.51 \pm 1.38)$ kg/m²; 吸烟史 38 例,饮酒史 43 例。2 组性别、年龄、吸烟史、饮酒史、BMI 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会批准 (KY2021020137),受试者或家属知情同意并签署知情同意书。

1.2 病例选择标准 (1)纳入标准:①T2DM 患者符合《中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)》^[7] 诊断标准;②临床资料完整;③年龄 > 18 岁。(2)排除标准:①患有 1 型糖尿病或其他继发性糖尿病;②存在出血性疾病、心脑血管疾病、恶性肿瘤;③处于各种急慢性感染或昏迷状态。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 血清 miR-351、miR-638 水平检测:收集患者入院后翌日清晨和健康对照组体检时空腹肘静脉血 5 ml,离心留取上层清液,置于 -80℃ 环境下保存待测。使用 TRIzol 试剂(南京建成生物工程研究所)提取 RNA,将 RNA 逆转录成 cDNA 并进行质量检验。使用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR,仪器购自武汉金开瑞生物工程有限公司)法检测 miR-351、miR-638 的水平,以 U6 作为内参基因。循环条件:94℃ 持续 15 min,然后 94℃ 持续 30 s,60℃ 持续 30 s,72℃ 持续 30 s,循环进行 40 次;最后 72℃ 延伸 8 min,最后通过 2^{-ΔΔCt} 法计算 miR-351、miR-638 的相对表达量。miR-351 上游引物 5'-ACACTCCAGCTGGCTC-CCTGAGGAGCCCTTGG-3',下游引物 5'-CTCAACT-GCTCTCCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGTCAGGCTC-3';miR-638 上游引物 5'-TTGGCCTACCTATAACT-GG-3',下游引物 5'-CTGTAATATGCGCTAAGTCTC-3'。内参 U6 的上游引物:5'-GCTCGGCAGCACATATACTA-AAAT-3',下游引物:5'-CGCTTCACGAATTCCTCT-CAT-3'。

1.3.2 CAS 评判标准:根据《血管超声检查指南》^[8] 判定 CAS。颈动脉超声检测及 CAS 分级:采用多功能彩色多普勒超声成像系统(英国 PHILIPS 公司,型号 HDI5000),探头频率 5.0 ~ 12.0 MHz。受检者取仰卧位,静息状态下超声科医生检查颈总动脉,记录有无斑块形成及管腔狭窄情况。根据动脉壁内膜中层厚度(IMT)进行判断:<1.0 mm 为正常,1.0 ≤ IMT < 1.5 mm 为增厚,IMT ≥ 1.5 mm 为斑块,其中增厚和斑块均被定义为 CAS。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件统计分析数据。计数资料以频数或率(%)表示,比较行 χ² 检验;正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较行 t 检验;采用单因素和多因素 Logistic 回归分析 T2DM 并发 CAS 的独立危险因素;用 R 语言 RMS 程序包绘制列线图模型、校准曲线,建立受试者工作特征(ROC)曲线分析各指标对 T2DM 并发 CAS 的预测效能,采用 Bootstrap 法对列线图模型进行内部验证,利用 Rstudio 中 rmda 程序包绘制决策曲线。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组血清 miR-351、miR-638 表达水平比较 观察组血清 miR-351 水平高于健康对照组,血清 miR-638 水平低于健康对照组,差异均有统计学意义(P < 0.01),见表 1。

表 1 健康对照组与观察组血清 miR-351、miR-638 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of serum miR-351 and miR-638 levels between the healthy control group and the observation group

组别	例数	miR-351	miR-638
健康对照组	91	3.87 ± 1.07	1.18 ± 0.16
观察组	182	6.33 ± 2.22	0.81 ± 0.27
t 值		9.999	12.051
P 值		<0.001	<0.001

2.2 2 组血糖、血脂水平比较 观察组 HDL-C 水平低于健康对照组,FPG、2 hPG、HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C 水平均高于健康对照组,差异均有统计学意义(P < 0.01),见表 2。

表 2 健康对照组与观察组血糖、血脂水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of blood glucose and lipid levels between the healthy control group and the observation group

指标	健康对照组 (n = 91)	观察组 (n = 182)	t 值	P 值
FPG (mmol/L)	5.16 ± 0.87	8.21 ± 1.49	18.034	<0.001
2 hPG (mmol/L)	6.69 ± 1.37	11.90 ± 2.24	20.355	<0.001
HbA _{1c} (%)	5.17 ± 0.54	7.59 ± 0.99	21.744	<0.001
TC (mmol/L)	4.26 ± 1.69	6.07 ± 1.80	7.991	<0.001
TG (mmol/L)	1.16 ± 0.46	2.49 ± 0.52	20.682	<0.001
LDL-C (mmol/L)	2.76 ± 0.42	3.83 ± 0.71	13.256	<0.001
HDL-C (mmol/L)	1.63 ± 0.36	1.09 ± 0.39	11.060	<0.001

2.3 不同病情 T2DM 合并 CAS 患者临床特点比较 T2DM 患者 182 例根据是否合并 CAS 分为 CAS 亚组(n = 79)和非 CAS 亚组(n = 103)。2 亚组患者性别、年龄、吸烟史、饮酒史、糖尿病程、BMI、FPG、2 hPG、HDL-C 水平比较,差异无统计学意义(P > 0.05),与非 CAS 亚组比较,CAS 亚组患者 HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、miR-351 升高,miR-638 水平降低(P < 0.01),见表 3。

2.4 影响 T2DM 合并 CAS 的多因素 Logistic 分析 以影响 T2DM 合并 CAS 为因变量(赋值:是 = 1;否 = 0),以上述结果中 P < 0.05 项目(HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、miR-351、miR-638)为自变量进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示:HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、miR-351 升高为 T2DM 合并 CAS 的独立危险因素(P < 0.05 或 P < 0.01),而 miR-638 升高为 T2DM 合并 CAS 的独立

保护因素($P < 0.01$),见表 4。

表 3 非 CAS 亚组与 CAS 亚组患者临床特点比较

Tab. 3 Comparison of clinical characteristics between non CAS subgroup and CAS subgroup patients

项目	非 CAS 亚组 (n=103)	CAS 亚组 (n=79)	t/χ^2 值	P 值
性别[例(%)]				
男	61(59.22)	46(58.23)	0.018	0.892
女	42(40.78)	33(41.77)		
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	58.89 \pm 6.46	57.28 \pm 4.90	1.919	0.057
糖尿病程($\bar{x} \pm s$, 年)	9.03 \pm 1.98	9.29 \pm 2.12	0.851	0.396
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	24.69 \pm 2.16	25.19 \pm 2.09	1.570	0.118
吸烟史[例(%)]	44(42.72)	42(53.16)	2.341	0.126
饮酒史[例(%)]	52(50.49)	44(55.70)	0.487	0.485
FPG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	7.95 \pm 1.45	7.99 \pm 1.32	0.181	0.857
2 hPG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	11.75 \pm 2.28	12.10 \pm 2.18	1.038	0.301
HbA _{1c} ($\bar{x} \pm s$, %)	7.08 \pm 0.80	8.27 \pm 0.79	9.960	<0.001
TC($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	5.62 \pm 1.69	6.66 \pm 1.79	3.983	<0.001
TG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	2.27 \pm 0.33	2.76 \pm 0.48	8.152	<0.001
LDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	3.76 \pm 0.64	4.15 \pm 0.68	3.965	<0.001
HDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.11 \pm 0.40	1.05 \pm 0.38	1.059	0.291
miR-351($\bar{x} \pm s$)	5.38 \pm 1.61	7.57 \pm 2.31	6.349	<0.001
miR-638($\bar{x} \pm s$)	0.87 \pm 0.29	0.73 \pm 0.22	5.218	<0.001

表 4 影响 T2DM 合并 CAS 的多因素 Logistic 回归分析

Tab. 4 Multivariate Logistic regression analysis of factors affecting T2DM combined with CAS

项目	β 值	SE 值	Wald 值	P 值	OR(95% CI)
HbA _{1c} 高	2.095	0.448	21.861	<0.001	8.129(3.377 ~ 19.567)
TC 高	0.367	0.142	6.685	0.010	1.444(1.093 ~ 1.908)
TG 高	2.063	0.638	10.462	0.001	7.868(2.254 ~ 27.459)
LDL-C 高	1.004	0.402	6.240	0.012	2.728(1.241 ~ 5.997)
miR-351 高	0.290	0.129	5.078	0.024	1.337(1.039 ~ 1.721)
miR-638 高	-3.080	1.017	9.178	0.002	0.046(0.006 ~ 0.337)

2.5 T2DM 合并 CAS 发生风险列线图预测模型构建

基于上述多因素 Logistic 分析结果,依据独立危险因素(HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、miR-351、miR-638)构建 T2DM 合并 CAS 发生风险的列线图预测模型,见图 1。

2.6 列线图预测模型的 ROC 曲线、校准曲线、决策曲线分析

依据列线图风险预测模型得到 T2DM 合并 CAS 发生风险预测模型指标,将 HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、miR-351、miR-638 水平及预测模型指标作为检验变量,将组别作为状态变量,建立 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示:HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、miR-351、miR-638 水平、预测模型的曲线下面积(AUC)为 0.863、0.670、0.693、0.726、0.776、0.655、0.936,以预测模型的 AUC 最大($Z = 3.468$ 、 6.602 、 5.832 、 5.599 、 5.064 、 6.674 , P 均 < 0.001),见表 5、图 2。采用 Bootstrap 法对列线图模型进行内部验证,并重复抽样 1 000

次($B = 1\ 000$)显示,C-index 为 0.871,提示该列线图模型预测能力较好,见图 3。决策分析显示,该模型的阈值概率 0.01 ~ 0.97,净收益率 > 0 ,高于两条无效线,见图 4。

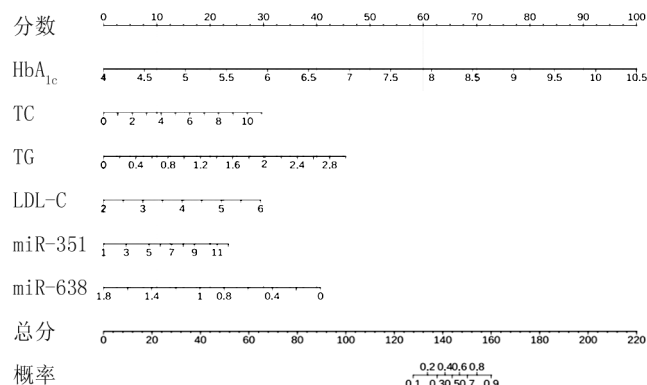


图 1 T2DM 合并 CAS 发生风险的列线图

Fig. 1 Nomogram of the risk of T2DM merging with CAS

表 5 各指标对 T2DM 合并 CAS 的预测价值

Tab. 5 Predictive value of various indicators for T2DM combined with CAS

检验变量	cut-off 值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
HbA _{1c}	7.45%	0.863	0.810 ~ 0.916	0.899	0.680	0.579
TC	6.75 mmol/L	0.670	0.591 ~ 0.749	0.532	0.738	0.270
TG	2.50 mmol/L	0.693	0.614 ~ 0.773	0.671	0.728	0.399
LDL-C	4.06 mmol/L	0.726	0.652 ~ 0.800	0.595	0.796	0.391
miR-351	7.68	0.776	0.705 ~ 0.847	0.532	0.942	0.474
miR-638	0.81	0.655	0.576 ~ 0.734	0.911	0.388	0.299
列线图模型	0.378	0.936	0.900 ~ 0.971	0.971	0.810	0.781

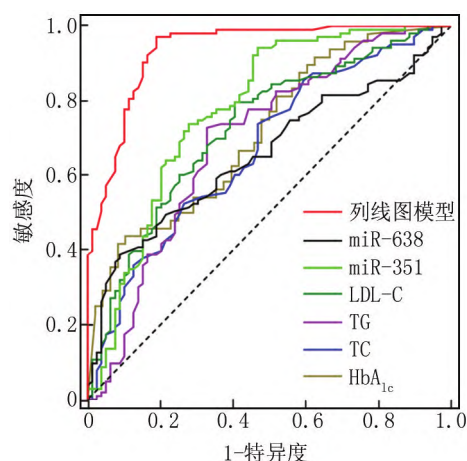


图 2 各指标及列线图预测模型的 ROC 曲线

Fig. 2 ROC curves of various indicators and nomogram prediction models

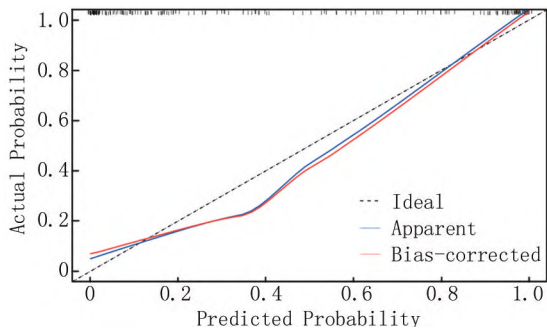


图 3 列线图预测模型的校准曲线

Fig. 3 Calibration curve of nomogram prediction model

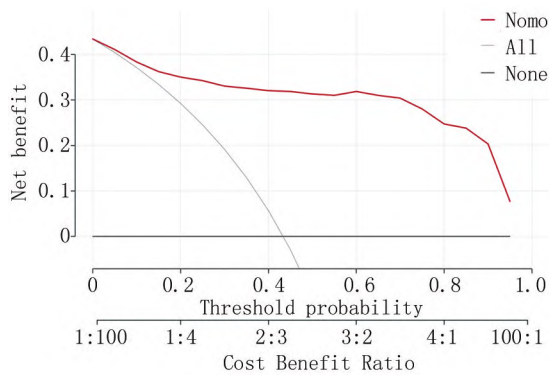


图 4 列线图预测模型的决策曲线

Fig. 4 Decision curve of nomogram prediction model

3 讨论

T2DM 是一种常见的慢性代谢性疾病,其特征在于胰岛素分泌不足或胰岛素抵抗,进而引发血糖水平升高。T2DM 发病机制受到遗传、环境和免疫等多重因素的影响,这些因素均在不同程度上影响着胰岛素的分泌和敏感性^[2]。若 T2DM 患者的血糖水平长期无法得到有效控制,可能会引发一系列并发症,包括大血管病变、微血管病变和神经病变等,其中合并 CAS 的状况尤其复杂^[9]。CAS 是一种慢性炎症性疾病,主要特征为动脉内膜出现脂质沉积、纤维斑块和钙化等病变,可能导致动脉狭窄和阻塞。T2DM 合并 CAS 的发病机制主要源于代谢紊乱如高血糖、高血脂、高血压,以及炎症反应、氧化应激等病理生理过程^[10]。患者可能会出现多饮、多尿、多食、消瘦等代谢紊乱表现,以及心绞痛、胸闷、心悸等心血管症状,这些症状不仅影响患者的生活质量,严重时甚至会危及生命。因此,积极防治和管理 T2DM 合并 CAS 至关重要。

血清 miR-351 和 miR-638 属于微小 RNA 分子,它们在生物体内具有重要调控作用,这些短的非编码 RNA 分子通过与靶 mRNA 结合来影响基因表达,从而

在转录后水平上调节蛋白质的合成。miR-351 主要在造血系统中发挥重要作用,它可以影响淋巴细胞的分化和功能,参与免疫应答和炎症反应的调节;miR-638 主要在大脑中表达,参与神经元的功能和神经胶质细胞的分化^[5-6]。研究显示,miR-351 和 miR-638 在心血管疾病和神经系统疾病中的表达水平与疾病的发生和发展密切相关。一项对 AS 小鼠的研究发现^[11],miR-351 的表达水平在小鼠血清中显著升高,并且与 AS 严重程度相关。Zhang 等^[12]对 AS 患者的研究发现,miR-638 的表达水平与 AS 疾病严重程度相关。本研究结果显示,观察组血清 miR-351 水平高于健康对照组,血清 miR-638 水平低于健康对照组;CAS 亚组血清 miR-351 水平高于非 CAS 亚组,miR-638 水平低于非 CAS 亚组,说明血清 miR-351、miR-638 可能参与 T2DM 合并 CAS 发生发展。分析其可能原因,一方面,T2DM 患者高血糖状态可能对血管内皮细胞造成损害,从而影响其功能。这些细胞位于血管壁内侧,负责维护血管的完整性。miR-351 可能通过影响血管内皮细胞的增殖、分化、凋亡等过程,进一步影响血管的功能。张东方等^[13]研究发现,miR-351 可能通过靶向调控与细胞增殖、凋亡和血管功能相关的基因和信号通路,如 PI3K/Akt、MAPK、VEGF 等,进而影响血管内皮细胞的生理和病理过程。此外,糖尿病患者中的炎症反应可能导致血管损伤和 CAS 的发生。Chen 等^[14]研究发现,miR-351 通过靶向调控 NF- κ B、TNF- α 、IL-6 等炎症相关基因的表达,从而影响炎症反应的强度和持续性。这可能导致血管内皮细胞的功能异常、血管壁的炎症反应和斑块形成,最终加快 CAS 的发展。miR-351 可能调节糖脂代谢,Badacz 等^[15]研究发现,miR-351 通过靶向调控与糖脂代谢相关的基因和信号通路,如 PPAR γ 、SREBP-1c、AMPK 等,影响糖脂合成、分解和运输等生物过程,这可能导致血脂异常,如高胆固醇、高三酰甘油等,进而促进 CAS 的发生和发展。另一方面,miR-638 可能通过抑制炎症反应来抑制 CAS 的发生和发展,miR-638 可通过 2 种方式减轻炎症反应对血管的损伤:一是通过与炎症因子的信使 RNA 结合,抑制其翻译过程,降低炎症因子的表达水平;Lin 等^[16]研究表明,在血管平滑肌细胞(VSMC)中,miR-638 可以下调 IL-6 和 IL-8 等炎症因子的表达水平,IL-6 和 IL-8 是促炎细胞因子,它们在动脉粥样硬化的发生和发展中发挥重要作用,通过与 IL-6 和 IL-8 的 mRNA 结合,miR-638 抑制这些炎症因子的翻译过程,从而降低其表达水平;二是通过激活抗炎信号通路,促进抗炎因子的合成和释放,平衡炎症反应。相关

研究发现^[17], miR-638 可以激活 PI3K/Akt 通路, 促进抗炎因子的合成和释放, 如 IL-10 和 IL-13 等。这些抗炎因子可以抑制促炎细胞因子的表达, 平衡炎症反应, 并保护血管免受损伤。这些作用有助于保护血管健康, 减少 CAS 等血管并发症的发生和发展。以往研究证实 HbA_{1c}、TC、TG 和 LDL-C 等传统危险因素在 T2DM 合并 CAS 中起重要作用^[18]。不同之处在于, 微小 RNA 在 CAS 发生中的具体作用机制和调控网络尚不完全清楚。本研究进一步采用多因素 Logistic 回归分析 T2DM 合并 CAS 的影响因素发现, HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、miR-351 升高, miR-638 降低为 T2DM 合并 CAS 的独立危险因素。HbA_{1c}、TC、TG 和 LDL-C 作为传统的糖尿病和心血管疾病风险指标, 在 T2DM 合并 CAS 的发生中起到重要作用。分析原因: HbA_{1c} 是糖尿病血糖控制的重要指标之一, HbA_{1c} 升高提示血糖控制不佳, 而高血糖是糖尿病的主要特征之一, 可导致内皮细胞损伤、炎症反应和动脉硬化的发展。高血糖状态下, 内皮细胞功能紊乱和炎症因子释放增加, 进而促进 AS 的形成^[18-19]。血脂异常包括 TC、TG 和 LDL-C 升高, 这些血脂异常可促进动脉硬化的发展^[20]。高水平的 TC、TG 和 LDL-C 可增加血液中胆固醇含量, 促进血管壁脂质沉积, 形成 AS 斑块。miR-351 负性调节糖脂代谢, 促进炎症反应和动脉硬化的发展。在 T2DM 患者中, miR-351 表达水平升高, 导致炎症反应的作用增强, 从而促进动脉硬化的发展。另外, 许斌等^[21] 研究发现, miR-638 能够抑制动脉硬化的发展, 通过调节脂质代谢、炎症反应和细胞凋亡等过程发挥作用。在 T2DM 患者中, miR-638 的表达水平降低, 导致其促进糖脂代谢的作用减弱, 进而加速动脉硬化的进程^[22]。这些因素的综合作用可促进 T2DM 合并冠状动脉粥样硬化的发展。因此, 药物作用机制方面, 针对这些独立危险因素的干预可能有助于降低 T2DM 患者 CAS 的发生风险。如降糖药物可以改善血糖控制, 降低 HbA_{1c} 水平; 调脂药物可以调节血脂代谢, 降低 TC、TG 和 LDL-C 水平; 而针对 miR-351 和 miR-638 等靶点进行药物研发也可能为 CAS 的治疗提供新的思路。通过综合治疗和管理, 可降低 T2DM 合并 CAS 的发生风险, 提高患者的生活质量和预后。

基于上述危险因素构建 T2DM 合并 CAS 风险列线图预测模型, 通过 ROC 分析发现, 该模型的 AUC 为 0.936, 高于其他单一指标, 表明该模型在预测 T2DM 患者 CAS 发生风险上的效能较高。Bootstrap 法的内部验证进一步证实了模型的预测能力, C-index 为 0.871, 接近于 1, 说明模型稳定性好, 预测准确性高。

决策曲线显示, 该模型的阈值概率范围在 0.01 ~ 0.97 之间, 净收益率始终大于 0, 且高于两条无效线, 说明该模型在不同概率阈值下均能保持较好的决策效果, 且基于 miR-351、miR-638 及其他独立危险因素构建的列线图预测模型价值更高, 预测效能良好, 敏感度与特异度均较高, 临床可用于评估 T2DM 患者合并 CAS 发生风险。

综上所述, T2DM 患者血清 miR-351 水平升高, miR-638 水平降低, 参与了 T2DM 患者 CAS 的发生及进展, 且 HbA_{1c}、TC、TG、LDL-C、miR-351 升高为 T2DM 合并 CAS 的独立危险因素, miR-638 升高为其保护因素, 基于 miR-351、miR-638 及其他独立危险因素构建的列线图预测模型对 T2DM 合并 CAS 有良好预测价值, 可用于评估 T2DM 患者合并 CAS 发生风险。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

关晓燕: 设计研究方案, 实施研究过程, 论文撰写, 论文修改; 曹玲: 提出研究思路, 分析试验数据, 论文审核; 闫雪梅: 实施研究过程, 资料搜集整理; 宁聪华、伊力多斯·阿里什: 进行统计学分析

参考文献

- [1] 孟令萃, 乔妙, 乔利军, 等. ApoE 基因多态性与 2 型糖尿病患者颈动脉粥样硬化斑块的相关性分析 [J]. 河北医药, 2023, 45 (4): 504-508. DOI:10.3969/j.issn.1002-7386.2023.04.005.
- [2] Jung CH, Mok JO. Recent updates on vascular complications in patients with Type 2 diabetes mellitus [J]. Endocrinol Metab (Seoul), 2020, 35 (2): 260-271. DOI:10.3803/EnM.2020.35.2.260.
- [3] Ménégaut L, Laubriet A, Crespy V, et al. Inflammation and oxidative stress markers in type 2 diabetes patients with advanced carotid atherosclerosis [J]. Cardiovasc Diabetol, 2023, 22 (1): 248. DOI:10.1186/s12933-023-01979-1.
- [4] 韩琦, 朱伟, 王晓慧, 等. miR-638 在糖尿病肾病中的研究进展 [J]. 华南国防医学杂志, 2020, 34 (8): 591-593. DOI:10.13730/j.issn.1009-2595.2020.08.016.
- [5] Luque A, Farwati A, Krupinski J, et al. Association between low levels of serum miR-638 and atherosclerotic plaque vulnerability in patients with high-grade carotid stenosis [J]. J Neurosurg, 2018, 131 (1): 72-79. DOI:10.3171/2018.2.JNS171899.
- [6] Li H, Song D, Liu Q, et al. miR-351 promotes atherosclerosis in diabetes by inhibiting the ITGB3/PIK3R1/Akt pathway and induces endothelial cell injury and lipid accumulation [J]. Mol Med, 2022, 28 (1): 120. DOI:10.1186/s10020-022-00547-9.
- [7] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南 (2020 年版) [J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13 (4): 315-409. DOI:10.3760/cma.j.cn115791-20210221-00095.
- [8] 中国医师协会超声医师分会. 血管超声检查指南 [J]. 中华超声影像学杂志, 2009, 18 (10): 911-920. DOI:10.3760/cma.j.issn.1004-4477.2009.10.037.

(下转 580 页)

- [6] Van den Berg FF, Boermeester MA. Update on the management of acute pancreatitis[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2023, 29(2):145-151. DOI:10.1097/MCC.0000000000001017.
- [7] 王富艳,赵庆云,张雪云.重症急性胰腺炎患者肠内营养喂养不耐受风险的列线图模型的建立[J]. *中华现代护理杂志*, 2019, 25(1):42-48. DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-2907.2019.01.010.
- [8] Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, et al. Classification of acute pancreatitis-2012: Revision the Atlanta classification and definitions by international consensus[J]. *Gut*, 2013, 62(1):102-111. DOI:10.1136/gutjnl-2012-302779.
- [9] Chi JY, Ma LY, Zou JC, et al. Risk factors of pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography in patients with biliary tract diseases[J]. *BMC Surg*, 2023, 23(1):62. DOI:10.1186/s12893-023-01953-4.
- [10] Qiu Z, Cheng F, Jiang H, et al. Efficacy of microecopharmaceutics combined with early enteral nutrition support in the treatment of severe acute pancreatitis[J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2020, 30(1):96-98. DOI:10.29271/jcsp.2020.01.96.
- [11] 刘丹.重症急性胰腺炎患者发生肠内营养喂养不耐受现状及其影响因素分析[J]. *中国现代药物应用*, 2020, 14(19):71-74. DOI:10.14164/j.cnki.cn11-5581/r.2020.19.029.
- [12] Xiao Y, Xu L. Prevalence and risk factors of enteral feeding intolerance in critically ill patients and the effectiveness of preventive treatments: A prospective study[J]. *Saudi J Med Med Sci*, 2023, 11(2):135-142. DOI:10.4103/sjms.sjms_384_22.
- [13] 刘雅娟,徐婷,伍柳芳,等.重症急性胰腺炎患者肠内营养喂养不耐受的影响因素分析[J]. *中国食物与营养*, 2018, 24(6):71-73. DOI:10.3969/j.issn.1006-9577.2018.06.017.
- [14] 谢芳,王海燕,余丽娜.重症胰腺炎患者发生肠内喂养不耐受的相关危险因素分析[J]. *现代诊断与治疗*, 2023, 34(1):97-99.
- [15] Traiki TAB, Alshammari SA, Aljomah NA, et al. The impact of preoperative total parenteral nutrition on the surgical complications of Crohn's disease: A retrospective cohort study[J]. *Saudi J Gastroenterol*, 2023, 29(3):158-163. DOI:10.4103/sjg.sjg_425_22.
- [16] 金丽美,林陈拉,刘群.重症急性胰腺炎肠内营养不能耐受的危险因素分析[J]. *世界华人消化杂志*, 2018, 26(16):993-998. DOI:10.11569/wjcd.v26.i16.993.
- [17] Veldscholte K, Cramer ABG, de Jonge RCJ, et al. Intermittent feeding with an overnight fast versus 24 h feeding in critically ill neonates, infants, and children: An open-label, single-centre, randomised controlled trial[J]. *Clin Nutr*, 2023, 42(9):1569-1580. DOI:10.1016/j.clnu.2023.07.010.
- [18] 金迪,全静雯,蒋孟柳,等.老年心力衰竭患者营养不良的影响因素分析及早期肠内营养对营养不良患者心功能,营养状况和肠道黏膜屏障功能的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2022, 22(24):4669-4673. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2022.24.013.

(收稿日期:2024-01-25)

(上接 574 页)

- [9] 李茗茗,冯斌,吴梦娇,等.2型糖尿病 155 例血清肌腱蛋白 C 水平与颈动脉粥样硬化的相关性分析[J]. *安徽医药*, 2023, 27(10):1970-1975. DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2023.10.014.
- [10] 侯蓓蕾,熊亚丹,胡雷袁,等.NLR,PLR,TyG 指数与 2 型糖尿病肾病患者肾功能、胰岛素抵抗和颈动脉粥样硬化的关系[J]. *现代生物医学进展*, 2023, 23(7):1288-1293. DOI:10.13241/j.cnki.pmb.2023.07.017.
- [11] Zhang Y, Liu Y, Zhang H, et al. Mmu-miR-351 attenuates the survival of cardiac arterial endothelial cells through targeting STAT3 in the atherosclerotic mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 468(1-2):300-305. DOI:10.1016/j.bbrc.2015.10.108.
- [12] Zhang X, Guan MX, Jiang QH, et al. NEAT1 knockdown suppresses endothelial cell proliferation and induces apoptosis by regulating miR-638/AKT/mTOR signaling in atherosclerosis[J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(1):115-125. DOI:10.3892/or.2020.7605.
- [13] 张东方,王茜,李娟,等.高龄妊娠期糖尿病患者血清 miR-351, FGF19 和 LP-PLA2 表达水平及其与产后糖代谢异常的相关性研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2023, 38(1):66-72. DOI:10.3969/j.issn.1671-7414.2023.01.013.
- [14] Chen SH, Liu XN, Peng Y. MicroRNA-351 eases insulin resistance and liver gluconeogenesis via the PI3K/AKT pathway by inhibiting FLOT2 in mice of gestational diabetes mellitus[J]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(9):5895-5906. DOI:10.1111/jcmm.14079.
- [15] Badacz R, Przewiocki T, Legutko J, et al. microRNAs associated with carotid plaque development and vulnerability: The clinician's perspective[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(24):15645. DOI:10.3390/ijms232415645.
- [16] Lin M, Song D, Zhang S, et al. Dysregulation of miR-638 in diabetic nephropathy and its role in inflammatory response[J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2021, 13(1):122. DOI:10.1186/s13098-021-00744-2.
- [17] 马雅楠,刘德敏,谷国强. miRNAs 与 2 型糖尿病相关动脉粥样硬化的研究进展[J]. *中国糖尿病杂志*, 2022, 30(4):295-299. DOI:10.3969/j.issn.1006-6187.2022.04.011.
- [18] 刘洁,丁玲,夏春勇,等.TCF7L2 基因多态性、HbA_{1c}、血浆致动脉粥样硬化指数与 2 型糖尿病合并冠心病的关系研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2023, 22(11):1144-1148. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2023.11.007.
- [19] 《中国老年型糖尿病防治临床指南》编写组.中国老年 2 型糖尿病防治临床指南(2022 年版)[J]. *中国糖尿病杂志*, 2022, 30(1):2-51. DOI:10.3969/j.issn.1006-6187.2022.01.002.
- [20] 辛鹏,李静,李昌昆,等.脂质比值 TC/HDL-C、TG/HDL-C 和 LDL-C/HDL-C 与胰岛素抵抗、糖尿病及糖尿病前期的关联性[J]. *中华疾病控制杂志*, 2022, 26(5):535-540. DOI:10.16462/j.cnki.zhjbkz.2022.05.008.
- [21] 许斌,任春梅,彭思璐,等. MiR-132、miR-143、miR-638、AFP 在 104 例乙肝相关肝癌中的表达分析[J]. *肿瘤学杂志*, 2021, 27(8):682-685. DOI:10.11735/j.issn.1671-170X.2021.08.B014.
- [22] 杨迎亚,周雯静,王海英. miRNA 调控细胞焦亡在 2 型糖尿病及相关心血管疾病中的研究进展[J]. *中国临床解剖学杂志*, 2023, 41(4):499-502. DOI:10.13418/j.issn.1001-165x.2023.4.24.

(收稿日期:2024-01-17)