·临床研究·

血小板源性 hsa_circ_0001535 与急性冠脉综合征患者双联抗血小板治疗后抗血小板反应性的相关性

姚妍竹[1,2],王语嫣[1,2],毛帅[1,2],刘雨琪[1,2],赵芸漳[1,2],王一凡[1,2],吕超[1,2],尹彤[1,2*]
([1]解放军医学院,北京 100853;[2]中国人民解放军总医院第二医学中心老年医学研究所,国家老年疾病临床医学研究中心,北京 100853)

【摘 要】 目的 探讨血小板源性 hsa_circ_0001535 的相对表达水平,并分析其与急性冠脉综合征(ACS)患者双联抗血小板治疗后抗血小板反应性的相关性。**方法** 连续募集 2020 年 10 月至 2022 年 3 月于解放军总医院心血管内科住院并接受阿司匹林联合 P2Y12 受体拮抗剂治疗的 ACS 患者 169 例。所有患者在经双联抗血小板药物稳定剂量治疗后,行血栓弹力图(TEG)检测,采用二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板纤维蛋白凝块强度(MA_{ADP})和 ADP 诱导的血小板抑制率(PI_{ADP})反映抗血小板反应性。以 PI_{ADP} 75%为界值,将患者分为低血小板反应性(LTPR)组 106 例(PI_{ADP}>75%)和高血小板反应性(HTPR)组 63 例(PI_{ADP}≤75%)。提取患者外周全血血小板 RNA,通过荧光定量多重聚合酶链式反应(PCR)对血小板源性 hsa_circ_0001535 的相对表达水平进行检测。采用 SPSS 27.0 统计软件与 R 语言 4.4.2 软件进行数据分析。根据数据类型,组间比较分别采用 t 检验、Wilcoxon 秩和检验或 χ^2 检验。采用多因素 logistic 回归分析明确血小板源性 hsa_circ_0001535 相对表达水平与抗血小板反应性的相关性。**结果** 在 169 例患者中,血小板源性 hsa_circ_0001535 相对表达水平中位数为 1.47(0.83,2.66),MA_{ADP} 中位数为 19.40(10.63,31.18),PI_{ADP} 中位数为 88.20%(55.04%,94.55%),均呈偏态分布。Spearmen 相关性分析发现,血小板源性 hsa_circ_0001535 相对表达水平与 PI_{ADP} 呈负相关($r=-0.16$,$P=0.039$)。HTPR 组血小板源性 hsa_circ_0001535 的表达水平显著高于 LTPR 组[1.94(1.15,3.76)和 1.28(0.59,2.14);$P=0.0006$]。多因素 logistic 回归分析发现,年龄($OR=1.07$,95%CI 1.02~1.13;$P=0.0071$)、体质量指数($OR=0.82$,95%CI 0.72~0.94;$P=0.0030$)、血小板源性 hsa_circ_0001535 相对表达水平($OR=1.22$,95%CI 1.04~1.43;$P=0.0160$)、氯吡格雷($OR=2.45$,95%CI 1.12~5.35;$P=0.0242$)及 CYP2C19 LOF($OR=1.24$,95%CI 1.01~1.51;$P=0.0421$)是 ACS 患者双联抗血小板治疗后抗血小板反应性的独立影响因素。**结论** 血小板源性 hsa_circ_0001535 的相对表达水平与 ACS 患者双联抗血小板治疗后抗血小板反应性呈独立相关性。

【关键词】 急性冠脉综合征;血小板;hsa_circ_0001535;抗血小板反应性
【中图分类号】 R541.4 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2026.01.001

Correlation between platelet-derived hsa_circ_0001535 and antiplatelet reactivity in patients with acute coronary syndrome after dual anti-platelet therapy

Yao Yanzhu[1,2], Wang Yuyan[1,2], Mao Shuai[1,2], Liu Yuqi[1,2], Zhao Yunzhang[1,2], Wang Yifan[1,2], Lyu Chao[1,2], Yin Tong[1,2*]
([1]Chinese PLA Medical School, Beijing 100853, China; [2] Institute of Geriatrics of Second Medical Center, National Clinical Research Center for Geriatric Diseases, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】 Objective To investigate the expression of platelet-derived circular RNA hsa_circ_0001535 and to analyze its correlation with antiplatelet reactivity in patients with acute coronary syndrome (ACS) after dual antiplatelet therapy. **Methods** A total of 169 consecutive ACS patients hospitalized in the Department of Cardiology of Chinese PLA General Hospital between October 2020 and March 2022 and treated with aspirin combined with a P2Y12 receptor antagonist were enrolled. All patients underwent thromboelastography (TEG) after receiving a single dose of dual antiplatelet therapy. Adenosine diphosphate (ADP)-induced platelet-fibrin clot strength (MA_{ADP}) of platelet-fibrin clot strength and ADP-induced platelet inhibition rate (PI_{ADP}) were used to reflect antiplatelet reactivity. With PI_{ADP} 75% as the cutoff value, patients were divided into a low on-treatment platelet reactivity group (LTPR group, $n=106$, $PI_{ADP}>75\%$) and a high on-treatment platelet reactivity group (HTPR group, $n=63$, $PI_{ADP}\leqslant 75\%$). Platelet RNA was extracted from peripheral whole blood, and the relative expression level of hsa_circ_0001535 in platelets was detected by fluorescent quantitative multiplex polymerase chain reaction (PCR). Data analysis was performed using SPSS 27.0 and R language version 4.4.2. Based on data type, intergroup comparisons were conducted using the t-test, Wilcoxon rank-sum test, or χ^2 test. Multivariate logistic

收稿日期: 2025-07-08; **接受日期**: 2025-10-20
基金项目: 国家自然科学基金面上项目(82170352,82472193);国家老年疾病临床医学研究中心开放课题(NCRCG-PLAGH-2024004)
通信作者: 尹彤, E-mail: yintong301@163.com

regression analysis revealed that age (*OR* = 1.07, 95%*CI* 1.02-1.13; *P* = 0.0071), body mass index (*OR* = 0.82, 95%*CI* 0.72-0.94; *P* = 0.0030), platelet-derived hsa_circ_0001535 (*OR* = 1.22, 95%*CI* 1.04-1.43; *P* = 0.0160), clopidogrel (*OR* = 2.45, 95%*CI* 1.12-5.35; *P* = 0.0242), and CYP2C19 loss-of-function (*OR* = 1.24, 95%*CI* 1.01-1.51; *P* = 0.0421) were independent factors affecting antiplatelet reactivity after dual antiplatelet therapy in ACS patients. **Results** In the 169 patients, the median relative expression level of platelet-derived hsa_circ_0001535 was 1.47 (0.83, 2.66), the median MA_{ADP} was 19.40 (10.63, 31.18), and the median PI_{ADP} was 88.20% (55.04%, 94.55%), all showing a skewed distribution. Spearman correlation analysis found that the relative expression level of platelet-derived hsa_circ_0001535 was negatively correlated with PI_{ADP} (r = -0.16, P = 0.039). The expression level of platelet-derived hsa_circ_0001535 was significantly higher in the HTPR group than that in the LTPR group [1.94 (1.15, 3.76) *vs.* 1.28 (0.59, 2.14); P = 0.0006)]. Multivariate logistic regression analysis revealed that platelet-derived hsa_circ_0001535 was an independent factor affecting antiplatelet reactivity after dual antiplatelet therapy in ACS patients (*OR* = 1.22, 95%*CI* 1.04-1.43; *P* = 0.0160). **Conclusion** The relative expression level of platelet-derived hsa_circ_0001535 is independently correlated with antiplatelet reactivity in ACS patients after dual antiplatelet therapy.

【Key words】 acute coronary syndrome; platelet; hsa_circ_0001535; antiplatelet reactivity

This work was supported by General Program of National Natural Science Foundation of China (82170352; 82472193) *and Open Project of National Clinical Research Center for Geriatric Diseases* (NCRCG-PLAGH-2024004).

Corresponding author: *Yin Tong*, *E-mail*: *yintong301@163.com*

心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)严重威胁人类的生命健康,在全世界范围发病率和死亡率居高不下。急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)常为CVD的首发临床表现[1]。目前,抗血小板治疗是ACS以及接受再血管化手术如经皮冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention, PCI)治疗患者的治疗基石[2,3]。大量试验表明,P2Y12受体拮抗剂联合阿司匹林的双联抗血小板治疗与单独使用阿司匹林相比能更有效地减少缺血性事件的发生[4]。然而,即使按照指南建议规范接受双联抗血小板治疗,仍有高达10%的患者在12个月内出现反复的缺血事件,如心肌梗死、支架内血栓和支架内再狭窄[5]。此外,有研究发现30%~40%的氯吡格雷使用者仍表现出升高的血小板反应性[6]。替格瑞洛具有比氯吡格雷更强的抗血小板效果,被推荐用于ACS患者的治疗[1,7]。但在接受替格瑞洛治疗的ACS患者中,抗血小板反应性和缺血事件的残余风险仍存在差异[8]。临床实践中也发现,患者接受抗血小板治疗后的血小板反应性存在较大的个体差异,部分患者的血小板未能被充分抑制,出现治疗后血小板高反应性,这也是PCI术后不良心血管事件发生的主要原因之一[9,10]。鉴于此,明确抗血小板药物治疗后残余高血小板反应发生机制具有重要临床意义。

近年来,通过研究血小板转录组发现血小板中含有丰富的非编码RNA。与其他造血细胞相比,血小板中环状RNA(circular RNA, circRNA)的比例更高[11]。circRNA由前体mRNA通过替代剪接产生,独特的环状结构赋予了其极高的生物稳定性,并能有效抵抗核糖核酸酶的降解,因此circRNA成为一种理想的生物标志物[12,13]。最近的研究表明,hsa_circ_0001535作为人类血小板中高度丰富的circRNA之一,其表达的失调可能具有作为癌症治疗生物标志物的潜在价值,其机制包括通过抑制糖酵解过程抑制膀胱癌的增殖,以及在肝细胞癌中充当miR-212的分子海绵从而影响下游信号通路[14,15]。然而,hsa_circ_0001535在血小板中的作用尚未被研究。因此,本研究通过分析接受双联抗血小板治疗的ACS患者血小板源性hsa_circ_0001535相对表达水平与抗血小板药物治疗后患者残余血小板反应性的相关性,以期为个体化抗栓治疗提供依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

本研究连续募集2020年10月至2022年3月于解放军总医院心血管内科住院并接受P2Y12受体拮抗剂联合阿司匹林的双联抗血小板治疗的ACS患者169例。纳入标准:(1)年龄>18岁;(2)ACS的诊断符合《急性冠脉综合征急诊快速诊治指南》标准,包括具有典型缺血性胸痛症状、心电图动态演变和(或)心肌损伤标志物(主要是心肌肌钙蛋白)水平升高。患者类型包括ST段抬高型心肌梗死、非ST段抬高型心肌梗死及不稳定型心绞痛;(3)能够提供外周血并用于血小板RNA提取;(4)自愿参加本研究并签署知情同意书。排除标准:(1)抗血小板药物治疗禁忌证;(2)急、慢性炎症疾病;(3)近4周内有深部穿刺及大手术史;(4)预期寿命<1年;(5)近期有出血倾向或血液系统疾病;(6)应用非甾体类抗炎药及阿片类药物;(7)处于生命终末期。本研究经解放军总医院伦理委员会审查批准(伦理号:S2021-664-02)。

1.2 方法

1.2.1 血小板功能检测及分组 所有ACS患者经P2Y12受体拮抗剂稳定剂量治疗后,经肘部静脉采集3 ml外周全血,行血栓弹力图(thromboelastography, TEG)检测,采用二磷酸腺苷(adenosine diphosphate, ADP)诱导的血小板纤维蛋白凝块强度(ADP-induced platelet-fibrin clot strength, MA_{ADP})和ADP诱导的血小板抑制率(ADP-induced platelet inhibition rate, PI_{ADP})反映抗血小板反应性。以PI_{ADP}75%为界值,将患者分为低血小板反应性组106例(PI_{ADP}>75%,提示血小板功能被显著抑制)和高血小板反应性组63例(PI_{ADP}≤75%,提示血小板功能抑制不足)。

1.2.2 血小板分离及hsa_circ_0001535检测 所有ACS患者在接受P2Y12受体拮抗剂稳定剂量治疗后,使用枸橼酸钠抗凝的真空采血管经肘部静脉采全血约3ml,在采血后2h内完成血小板分离。全血于室温下200g离心15min,收集上清为富含血小板的血浆。将富含血小板的血浆在室温下800g离心15min,弃上清,保留血小板沉淀。使用miRcute miRNA提取分离试剂盒(北京天根生化科技公司,型号:DP501)从血小板中提取总RNA。使用miRNA第一链cDNA合成(加尾法)试剂盒(上海生工生物公司,型号:B532451)进行反转录。荧光定量多重聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)检测hsa_circ_0001535的相对表达水平,采用PowerUp SYBR Green试剂盒(美国Thermo Fisher Scientific公司,型号:A25742)和荧光定量PCR仪(美国Biorad公司,型号:CFX96)。所有反应条件均基于试剂盒的说明书设置。所有实验均重复进行3次。使用磷酸甘油醛脱氢酶作为hsa_circ_0001535荧光定量PCR内参(表1),数据分析采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$计算。

1.2.3 全血DNA的单核苷酸多态性分型 采用全血基因组DNA提取系统(Solarbio公司,型号:D1850)提取DNA,置于-20℃冰箱保存备用。采用SnapShot法检测候选单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点[16],通过PCR扩增,检测CYP2C19 * 2(rs4244285)及CYP2C19 * 3(rs4986893)2个SNPs位点。检测位点的引物序列分别为:rs4636297上游5′ACACT-TCAAACTCGTAC-CGTGAG3′,下游5′CACGCT-GAGGGAGGTCAA3′;rs4244285上游5′GAGCTTG-GCATATTGTATCTAT-ACCTT3′,下游5′CGATTCTT-GGTGTTCTTTTACTTT-CTC3′;rs4986893上游5′TCAGCAATTTCTTAACTT-GATGGA3′,下游5′TTC-AGGGCTTGGTCAATATA-GA3′。测序采用美国ABI公司的3730XL基因测序仪、SnapShot试剂盒及配套试剂。PCR采用北京东胜创新生物科技有限公司的东胜龙黑金刚EDC-810 PCR仪及配套试剂[17]。CYP2C19功能丧失性等位基因(loss-of-function allele, LOF)是指任何能导致CYP2C19酶功能降低或丧失的基因变异。患者携带此类等位基因的数量,是划分其CYP2C19代谢表型(如快代谢型、中间代谢型等)的主要依据之一。

1.2.4 资料收集方法 患者年龄、性别、体质量指数(body mass index, BMI)等基本资料通过查阅电子病历系统获取;合并肾功能不全、卒中及既往心肌梗死等病史通过复核病历档案中的实验室检查与影像学报告确认;用药信息通过审核医嘱记录及用药清单获取。

1.3 统计学处理

采用SPSS 27.0统计软件与R语言4.4.2软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用t检验;不符合正态分布的计量资料以中位数(四分位数间距)[$M(Q_1,Q_3$]表示,组间比较采用秩和检验。计数资料以例数(百分率)表示,组间比较采用χ^2检验。采用Spearmen相关性分析血小板源性hsa_circ_0001535与P2Y12受体拮抗剂治疗后PI_{ADP}的相关性。多因素logistic回归分析通过校正年龄、性别、BMI、合并肾功能不全、卒中、既往心肌梗死、用药种类及CYP2C19 LOF等位基因频率分布等因素,以明确血小板源性hsa_circ_0001535与抗血小板反应性的相关性。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者临床资料

两组患者年龄、BMI、性别、吸烟状况、肾功能不全、PI_{ADP}、P2Y12受体拮抗剂种类、CYP2C19 LOF及血小板源性hsa_circ_0001535的相对表达水平比较,差异均有统计学意义(均P<0.05;表2)。

表1 荧光定量PCR引物序列

Table 1 Fluorescent quantitative PCR primer sequence

Gene name	Upstream primer(5′-3′)	Downstream primer(5′-3′)
hsa_circ_0001535	CAATGAAGCTATGCAGCAAGA	CAAAAAGGTGCTGTTCCACA
GAPDH	GAAGGTGAAGGTCGGAGTC	GAAGATGGTGATGGGATTTC

PCR: polymerase chain reaction; GAPDH: glyceraldehyde phosphate dehydrogenase.

表2 两组患者临床资料比较

Table 2 Comparison of clinical data between two groups

Item	LTPR group(n=106)	HTPR group(n=63)	P value
Age($\bar{x}\pm s$)	59.70±7.74	64.02±6.99	<0.001
BMI(kg/m^2, $\bar{x}\pm s$)	26.48±3.36	24.77±2.67	<0.001
Gender[n(%)]			0.021
Female	23(21.70)	24(38.10)	
Male	83(78.30)	39(61.90)	
Smoking status[n(%)]			0.002
No	38(35.85)	35(55.55)	
Yes	48(45.28)	12(19.05)	
Quitting	20(18.87)	16(25.40)	
ACS[n(%)]			0.673
UA	89(83.96)	56(88.89)	
NSTEMI	7(6.61)	3(4.76)	
STEMI	10(9.43)	4(6.35)	
Prior MI[n(%)]	11(10.38)	7(11.11)	0.881
Prior PCI[n(%)]	33(31.13)	25(39.68)	0.258
Prior CABG[n(%)]	4(3.77)	0(0.00)	0.119
Prior stroke[n(%)]	13(12.38)	12(19.05)	0.240
Diabetes mellitus[n(%)]	42(39.62)	28(44.44)	0.538
Hypohepatia[n(%)]	0(0.00)	1(1.59)	0.193
Hypertension[n(%)]	81(76.42)	51(80.95)	0.490
Hyperlipemia[n(%)]	45(42.45)	21(33.33)	0.240
Renal insuffiiciency[n(%)]	2(1.89)	7(11.11)	0.010
MA_{ADP}[$M(Q_1, Q_3)$]	15.10(4.10, 65.40)	22.20(5.20, 41.00)	0.069
PI_{ADP}[%, $M(Q_1, Q_3)$]	93.40(75.80, 99.80)	48.23(5.21, 74.00)	<0.001
P2Y12 receptor antagonist[n(%)]			<0.001
Clopidogrel	45(42.45)	46(73.02)	
Ticagrelor	61(57.55)	17(26.98)	
CYP2C19 LOF[n(%)]	21(47.73)	29(69.05)	0.045
Relative expression level of hsa_circ_0001535($2^{-\Delta\Delta Ct}$)[$M(Q_1, Q_3)$]	1.27(0.00, 10.47)	1.94(0.03, 16.38)	<0.001

LTPR: low on-treatment platelet reactivity; HTPR: high on-treatment platelet reactivity; BMI: body mass index; ACS: acute coronary syndrome; UA: unstable angina; NSTEMI: non-ST-segment elevation myocardial infarction; STEMI: ST-segment elevation myocardial infarction; MI: myocardial infarction; PCI: percutaneous coronary intervention; CABG: coronary artery bypass grafting; MA_{ADP}: ADP-induced platelet-fibrinclot strength; PI_{ADP}: ADP-induced platelet inhibition rate; LOF: loss-of-function allele.

2.2 血小板源性 hsa_circ_0001535 相对表达水平及抗血小板反应性的分布特征

在169例患者中,通过PCR对患者血小板源性hsa_circ_0001535相对表达水平进行检测,发现hsa_circ_0001535相对表达水平中位数为1.47(0.83,2.66),呈偏态分布。通过TEG检测患者的残余血小板反应性,发现MA_{ADP}中位数为19.40(10.63,31.18),PI_{ADP}中位数为88.20%(55.04%,94.55%),均呈偏态分布。

2.3 血小板源性 hsa_circ_0001535 相对表达水平与抗血小板反应性的相关性分析

Spearmen相关性分析发现,血小板源性hsa_circ_0001535相对表达水平与PI_{ADP}呈负相关($r=-0.16$, $P=0.039$;图1)。与HTPR组患者相比,hsa_circ_0001535在LTPR组患者中的相对表达水平显著降低[1.28(0.59,2.14)和1.94(1.15,3.76),$P=0.0006$;图2]。

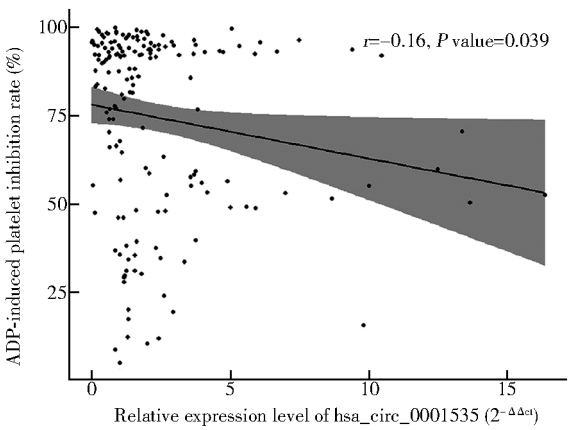


图1 P2Y12受体拮抗剂稳定剂量治疗后ACS患者血小板源性hsa_circ_0001535相对表达水平与抗血小板反应性的Spearmen相关性分析

Figure 2 Spearman correlation analysis between relative expression level of platelet-derived hsa_circ_0001535 and antiplatelet reactivity in patients with ACS after stable dose therapy with P2Y12 receptor antagonist

ACS: acute coronary syndrome.

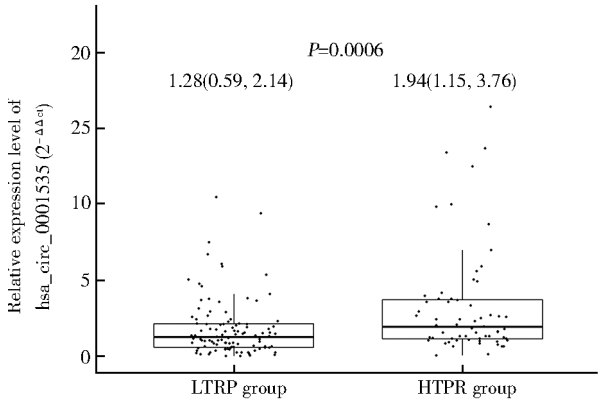


图 2 LTPR 组与 HTPR 组患者血小板源性 hsa_circ_0001535 相对表达水平的差异

Figure 2 Difference of relative expression level of platelet-derived hsa_circ_0001535 between LTPR and HTPR groups

LTPR: low on-treatment platelet reactivity; HTPR: high on-treatment platelet reactivity.

2.4 影响抗血小板反应性的 logistic 回归分析

校正年龄、性别、BMI、合并肾功能不全、既往卒中、既往心肌梗死、氯吡格雷及 CYP2C19 LOF 等因素后，多因素 logistic 回归分析发现，年龄、BMI、血小板源性 hsa_circ_0001535 相对表达水平、氯吡格雷及 CYP2C19 LOF 是 ACS 患者 P2Y12 受体拮抗剂高血小板反应性的独立影响因素（$P<0.05$；表 3）。

3 讨 论

circRNA 已被证实在多种心血管疾病（如心肌梗死、动脉粥样硬化及心力衰竭）的病理生理过程中扮演重要角色，并显示出作为治疗靶点或生物标志物的巨大潜力[18]。在药物疗效调控方面，前期研究表明，circRNA 的表达变化可能与阿托伐他汀等心血管药物的作用机制相关[19]。特别值得注意的是，近期研究揭示了如 hsa_circ_0057714 和 hsa_circ_0076957 等 circRNA 可作为氯吡格雷抵抗的新型生物标志物，提示 circRNA 在抗血小板治疗个体反应性调控中可能具有重要功能[20]。然而，目前关于血小板来源的 circRNA 如何影响冠心病患者对抗血小板药物（尤其是 P2Y12 受体拮抗剂）的高反应性，相关研究仍较为有限。

hsa_circ_0001535 是血小板中检测出的 10 种最丰富的 circRNA 之一[12]，其作为一种位于 5 号染色体上的长度 331bp 的 circRNA，在睾丸、子宫内膜及膀胱等组织中也高度表达。circRNA 可通过多种机制发挥作用，包括作为 microRNAs 的分子海绵、与蛋白质结合调控基因转录或翻译过程，以及充当肽或蛋白质的翻译模板[21]。对于那些既不能被 miRNAs 识别也不能被翻译的 circRNA，其核心功能机制可能是通过与 RNA 结合蛋白结合来实现[22,23]。现有研究发现，在膀胱癌组织中表达的 hsa_circ_0001535 通过与胰岛素样生长因子-2 mRNA 结合蛋白 1（insulin-like growth factor-2 mRNA binding protein 1, IGF2BP1）结合，从而减少 IGF2BP1 和 3'UTR 结合，起到调控细胞糖酵解水平的作用[15]。丙酮酸激酶肌肉同工酶 M2（pyruvate kinase muscle isozyme M2, PKM2）是糖酵解最后一步的关键酶，PKM2 可能通过调节乳酸生成和葡萄糖摄取，对血小板功能的多个方面产生影响[24,25]。而 hsa_circ_0001535 可通过抑制 IGF2BP1 的功能，下调糖酵解关键酶 PKM2 的表达，从而抑制血小板糖酵解水平。血小板糖酵解的减弱会导致其活化过程所需的能量供应受阻，最终抑制了血小板的活化与血栓形成。

我们前期研究发现血小板源性 hsa_circ_0001535 与接受替格瑞洛治疗的 ACS 患者的抗血小板反应性及不良缺血事件存在关联[26]。因此，推测 hsa_circ_0001535 可能有助于提高预测不良缺血事件发生的能力，并可作为监测 ACS 患者抗血小板治疗效果的指标[26]。本研究首先验证了该环状 RNA 及血小板反应性的人群分布特征，结果显示，在 169 例患者中，血小板源性 hsa_circ_0001535 相对

表 3 影响抗血小板反应性的 logistic 回归分析

Table 3 Logistic regression analysis of influencing antiplatelet reactivity

Variable	Univariate analysis			Multivariate analysis *		
	OR	95%*CI*	*P* value	*OR*	95%*CI*	*P* value
Age	1.08	1.03-1.13	0.0006	1.07	1.02-1.13	0.0071
BMI	0.83	0.74-0.93	0.0012	0.82	0.72-0.94	0.0030
Relative expression level of hsa_circ_0001535	1.24	1.08-1.42	0.0025	1.22	1.04-1.43	0.0160
Clopidogrel	3.67	1.86-7.22	0.0002	2.45	1.12-5.35	0.0242
CYP2C19 LOF	2.44	1.01-5.90	0.0471	1.24	1.01-1.51	0.0421
Male	0.45	0.23-0.90	0.0228	0.69	0.31-1.55	0.3693
Renal insuffiiciency	6.50	1.31-32.35	0.0222	3.59	0.62-20.94	0.1551
Prior MI	1.08	0.40-2.94	0.8812	1.22	0.40-3.74	0.7308
Prior stroke	1.67	0.71-3.92	0.2430	1.34	0.51-3.50	0.5490

BMI: body mass index; LOF: loss-of-function allele; MI: myocardial infarction. * Multivariate logistic regression analysis, with the following covariates adjusted: age, sex, BMI, comorbid renal insufficiency, stroke, prior myocardial infarction, clopidogrel use history, and CYP2C19 LOF.

表达水平以及 MA_{ADP} 和 PI_{ADP} 均呈偏态分布，提示患者在生物学反应上存在异质性。在此基础上，本研究进一步聚焦于经 P2Y12 受体拮抗剂治疗的 ACS 人群，通过 TEG 法检测 P2Y12 受体拮抗剂治疗后血小板反应性，并首次发现在高血小板反应性患者中，血小板源性 hsa_circ_0001535 的相对表达水平显著高于低反应性组。多因素 logistic 回归分析也证实，血小板源性 hsa_circ_0001535 相对表达水平与 P2Y12 受体拮抗剂治疗后抗血小板反应性具有相关性，为评估此类药物治疗后患者的血小板功能提供了潜在的生物标记物。这一发现与将 circRNA 视为抗血小板反应关键调节因子的新兴研究趋势高度一致。此前就有研究发现，hsa_circ_0057714 和 circ-0076957 在氯吡格雷抵抗患者中异常表达，并通过 miRNA-mRNA 轴调控药物反应[20]。

综上，血小板源性 hsa_circ_0001535 的相对表达水平与 ACS 患者双联抗血小板治疗后抗血小板反应性呈独立相关性。本研究存在部分局限性。首先，单中心设计与有限样本量可能引入选择偏倚。其次，尽管本研究结论提示 hsa_circ_0001535 的作用独立于 CYP2C19 基因型，但在更大规模的氯吡格雷治疗人群中仍需结合基因分型进行前瞻性验证。此外，本研究结果在非 ACS 人群中的普适性有待确认，其具体分子机制亦需深入探讨。未来研究应着力于开展多中心临床试验并拓展至不同疾病人群，并深入解析 hsa_circ_0001535 调控血小板功能的具体分子机制，以推动其临床转化应用。

【参考文献】

[1] Byrne RA, Rossello X, Coughlan JJ, *et al*. 2023 ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes[J]. Eur Heart J, 2023, 44(38): 3720-3826. DOI: 10.1093/eurheartj/ehad191.

[2] Deo SV, Dunlay SM, Shah IK, *et al*. Dual anti-platelet therapy after coronary artery bypass grafting: is there any benefit? A systematic review and meta-analysis[J]. J Card Surg, 2013, 28(2): 109-116. DOI: 10.1111/jocs.12074.

[3] Bainey KR, Marquis-Gravel G, Belley-Côté E, *et al*. Canadian Cardiovascular Society/Canadian Association of Interventional Cardiology 2023 focused update of the guidelines for the use of antiplatelet therapy[J]. Can J Cardiol, 2024, 40(2): 160-181. DOI: 10.1016/j.cjca.2023.10.013.

[4] Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, *et al*. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation[J]. N Engl J Med, 2001, 345(7): 494-502. DOI: 10.1056/NEJMoa010746.

[5] Raposeiras-Roubín S, Abu-Assi E, D'Ascenzo F, *et al*. Annual incidence of confirmed stent thrombosis and clinical predictors in patients with ACS treated with ticagrelor or prasugrel[J]. Rev Esp Cardiol (Engl Ed), 2019, 72(4): 298-304. DOI: 10.1016/j.rec.2018.05.021.

[6] Erlinge D, Varenhorst C, Braun OO, *et al*. Patients with poor responsiveness to thienopyridine treatment or with diabetes have lower levels of circulating active metabolite, but their platelets respond normally to active metabolite added *ex vivo*[J]. J Am Coll Cardiol, 2008, 52(24): 1968-1977. DOI: 10.1016/j.jacc.2008.07.068.

[7] Sanderson NC, Parker WAE, Storey RF. Ticagrelor: clinical development and future potential[J]. Rev Cardiovasc Med, 2021, 22(2): 373-394. DOI: 10.31083/j.rcm2202044.

[8] Wen M, Li Y, Qu X, *et al*. Comparison of platelet reactivity between prasugrel and ticagrelor in patients with acute coronary syndrome: a meta-analysis[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2020, 20(1): 430. DOI: 10.1186/s12872-020-01603-0.

[9] Cuisset T, Verheugt FWA, Mauri L. Update on antithrombotic therapy after percutaneous coronary revascularisation[J]. Lancet, 2017, 390(10096): 810-820. DOI: 10.1016/s0140-6736(17)31936-0.

[10] 唐细梅，张志能，肖纯，等. 经皮冠状动脉介入患者氯吡格雷治疗后血小板高反应性的危险因素筛查及基因多态性研究[J]. 中国医药，2020，(8)：1178-1182. DOI：10.3760/j.issn.1673-4777.2020.08.007

[11] Alhasan AA, Izuogu OG, Al-Balool HH, *et al*. Circular RNA enrichment in platelets is a signature of transcriptome degradation[J]. Blood, 2016, 127(9): e1-e11. DOI: 10.1182/blood-2015-06-649434.

[12] Preußer C, Hung LH, Schneider T, *et al*. Selective release of circRNAs in platelet-derived extracellular vesicles[J]. J Extracell Vesicles, 2018, 7(1): 1424473. DOI: 10.1080/20013078.2018.1424473.

[13] Li X, Yang L, Chen LL. The biogenesis, functions, and challenges of circular RNAs[J]. Mol Cell, 2018, 71(3): 428-442. DOI: 10.1016/j.molcel.2018.06.034.

[14] Xie Y, Hang X, Xu W, *et al*. CircFAM13B promotes the proliferation of hepatocellular carcinoma by sponging miR-212, upregulating E2F5 expression and activating the P53 pathway[J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1): 410. DOI: 10.1186/s12935-021-02120-6.

[15] Lv J, Li K, Yu H, *et al*. HNRNPL induced circFAM13B increased bladder cancer immunotherapy sensitivity *via* inhibiting glycolysis through IGF2BP1/PKM2 pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42(1): 41. DOI: 10.1186/s13046-023-02614-3.

[16] Bing XY, Batut PJ, Levo M, *et al*. SnapShot: the regulatory genome[J]. Cell, 2020, 182(6): 1674-1674.e1671. DOI: 10.1016/j.cell.2020.07.041.

[17] 邹宇婷，王观筠，刘军，等. 血小板源性 miR-126 的功能基因多态性与急性冠状动脉综合征患者氯吡格雷抗血小板反应性及疗效的相关性[J]. 中华老年多器官疾病杂志，2021，20(4)：254-258. DOI：10.11915/j.issn.1671-5403.2021.04.053.

[18] Cheng C, Wang Y, Xue Q, *et al*. CircRnas in atherosclerosis, with special emphasis on the spongy effect of circRNAs on miRNAs[J]. Cell Cycle, 2023, 22(5): 527-541. DOI: 10.1080/15384101.2022.2133365.

[19] Su G, Sun G, Lv J, *et al*. Hsa_circ_0004831 downregulation is partially responsible for atorvastatin alleviated human umbilical vein endothelial cell injuries induced by ox-LDL through targeting the miR-182-5p/CXCL12 axis[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2021, 21(1): 221. DOI: 10.1186/s12872-021-01998-4.

[20] Xu H, Su J, Chen X, *et al*. Identification of hsa_circ_0076957 and miR-4512-targeted COL19A1 as regulators in clopidogrel resistance among stable coronary heart disease patients through comprehensive circRNA and miRNA analysis[J]. Eur J Pharmacol, 2025, 986: 177156. DOI: 10.1016/j.ejphar.2024.177156.

[21] Zang J, Lu D, Xu A. The interaction of circRNAs and RNA binding proteins: an important part of circRNA maintenance and function[J]. J Neurosci Res, 2020, 98(1): 87-97. DOI: 10.1002/jnr.24356.

[22] Huang Q, Guo H, Wang S, *et al*. A novel circular RNA, circXPO1, promotes lung adenocarcinoma progression by interacting with IGF2BP1[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(12): 1031. DOI: 10.1038/s41419-020-03237-8.

[23] Xie F, Huang C, Liu F, *et al*. CircPTPRA blocks the recognition of RNA N^6-methyladenosine through interacting with IGF2BP1 to suppress bladder cancer progression[J]. Mol Cancer, 2021, 20(1): 68. DOI: 10.1186/s12943-021-01359-x.

[24] Nayak MK, Ghatge M, Flora GD, *et al*. The metabolic enzyme pyruvate kinase M2 regulates platelet function and arterial thrombosis[J]. Blood, 2021, 137(12): 1658-1668. DOI: 10.1182/blood.2020007140.

[25] Zhu S, Guo Y, Zhang X, *et al*. Pyruvate kinase M2 (PKM2) in cancer and cancer therapeutics[J]. Cancer Lett, 2021, 503: 240-248. DOI: 10.1016/j.canlet.2020.11.018.

[26] Zou Y, Wang Y, Yao Y, *et al*. Platelet-derived circFAM13B associated with anti-platelet responsiveness of ticagrelor in patients with acute coronary syndrome[J]. Thromb J, 2024, 22(1): 53. DOI: 10.1186/s12959-024-00620-9.

（编辑：和雨璇）