



寇慧林,陈昕迪,王腾宇,高娃,温海峰,张艳敏,于宇,李峥,刘春霞,王文龙. 捻转血矛线虫耐药虫株与敏感虫株 circRNAs 差异表达分析[J]. 中国农业大学学报, 2024,29(02):122-130.

KOU Huilin, CHEN Xindi, WANG Tengyu, GAO Wa, WEN Haifeng, ZHANG Yanmin, YU Yu, LI Zheng, LIU Chunxia, WANG Wenlong. Differential expression of circRNAs in resistant and sensitive strains of *Haemonchus contortus*[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024,29(02):122-130.

DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.02.12

捻转血矛线虫耐药虫株与敏感虫株 circRNAs 差异表达分析

寇慧林¹ 陈昕迪¹ 王腾宇¹ 高娃² 温海峰¹ 张艳敏¹ 于宇¹
李峥¹ 刘春霞³ 王文龙^{1*}

(1. 内蒙古农业大学 兽医学院/农业农村部动物疾病临床诊疗技术重点实验室,呼和浩特 010010;

2. 河套学院 医学系/内蒙古自治区媒人畜共患传染病重点实验室,内蒙古 巴彦淖尔 015000;

3. 内蒙古农业大学 生命科学学院,呼和浩特 010010)

摘要 为分析捻转血矛线虫伊维菌素敏感虫株与耐药虫株之间差异表达的 circRNAs 在调控耐药性中的作用,本研究以捻转血矛线虫敏感虫株和耐药虫株为研究对象,采用 Illumina Hiseq 2 000 平台进行高通量测序及 cDNA 文库的构建,利用相关生物信息学软件对测得的 circRNAs 进行差异性分析,同时对来源基因进行 GO 和 KEGG pathway 功能富集。运用 TargetScan 和 Miranda 软件预测关键 circRNAs 靶向的 miRNAs,探究 circRNAs-miRNAs 的作用。随后又随机选取 5 个显著差异的 circRNAs,进行 RT-qPCR 检测并与转录组测序结果进行一致性评定。结果显示:1)敏感虫株与耐药虫株共筛选出 677 个差异表达的 circRNAs,其中 47 个显著差异,23 个显著上调,24 个显著下调。2)所有差异 circRNAs 的来源基因 GO 富集分析显示,共富集到生物过程 336 个、细胞组分 59 个和分子功能 110 个,主要与代谢过程、细胞膜结构和催化活性等相关;KEGG 富集分析显示,富集到 257 条通路,主要与代谢(脂肪酸生物合成、甘油磷脂代谢和丙酸代谢)、胰高血糖素信号通路和 AMPK 信号通路等相关。3)circRNAs-miRNAs 调控网络分析显示,627 个差异 circRNAs 靶向结合 187 个 miRNAs,组成了 10 602 组调控关系。综上,本研究成功筛选了捻转血矛线虫伊维菌素敏感虫株和耐药虫株间差异表达的 circRNAs,对所有差异 circRNAs 的来源基因进行功能注释和富集分析,并构建了部分显著差异 circRNAs-miRNAs 调控网络。本研究结果为捻转血矛线虫耐药性产生的分子机制研究提供了新思路。

关键词 捻转血矛线虫;伊维菌素;耐药性;转录组;circRNAs;差异分析

中图分类号 S855.9

文章编号 1007-4333(2024)02-0122-09

文献标志码 A

Differential expression of circRNAs in resistant and sensitive strains of *Haemonchus contortus*

KOU Huilin¹, CHEN Xindi¹, WANG Tengyu¹, GAO Wa², WEN Haifeng¹, ZHANG Yanmin¹,
YU Yu¹, LI Zheng¹, LIU Chunxia³, WANG Wenlong^{1*}

(1. Key Laboratory of Clinical Diagnosis and Treatment Technology in Animal Disease of Ministry of Agriculture/College of Veterinary Medicine, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010010, China;

2. Inner Mongolia Key Laboratory of Tick-borne Zoonotic Infectious Disease, Department of Medicine/Hetao College, Inner Mongolia Bayannur 015000, China;

3. College of Life Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010010, China)

Abstract The study was to investigate the role of differentially expressed circRNAs in the regulation of drug

收稿日期: 2023-06-07

基金项目: 内蒙古自然科学基金项目(2020MS03012);“科技兴安”行动重点专项(NMKJXM202203-5)

第一作者: 寇慧林(ORCID:0009-0005-2764-0088);硕士研究生,E-mail:1437125111@qq.com

通讯作者: 王文龙(ORCID:0000-0002-6161-5565);教授,主要从事寄生虫组学与分子免疫学研究,E-mail:wwl.imau@163.com

resistance between ivermectin sensitive and resistant strains of *Haemonchus contortus*. In this study, sensitive and resistant strains of *H. contortus* were taken as research objects. Illumina Hiseq 2 000 platform was used for high-throughput sequencing and cDNA library construction, and relevant bioinformatics software was used to analyze the difference of circRNAs. Simultaneously, GO and KEGG pathway functions of the source genes were enriched. TargetScan and Miranda software were used to predict the miRNAs targeted by key circRNAs, and the role of circRNAs-miRNAs was explored. Subsequently, 5 circRNAs with significant differences were randomly selected for RT-qPCR detection and consistency assessment with transcriptome sequencing result. The results showed that: 1) A total of 677 differentially expressed circRNAs were screened between sensitive and resistant strains, of which 47 were significantly different, 23 were significantly up-regulated, and 24 were significantly down-regulated. 2) GO enrichment analysis of all differentially derived circRNAs showed that 336 biological processes, 59 cell components and 110 molecular functions were enriched, which were mainly related to metabolic processes, cell membrane structure and catalytic activity. KEGG enrichment showed that 257 pathways were mainly enriched, most of which were related to metabolism (fatty acid biosynthesis, glycerophospholipid metabolism and propionate metabolism), glucagon signaling pathway and AMPK signaling pathway. 3) circRNAs-miRNAs regulatory network analysis showed that 627 circRNAs target bound 187 miRNAs, forming 10 602 regulatory relationships. In conclusion, this study successfully screened the differentially expressed circRNAs between ivermectin sensitive and resistant strains of *H. contortus*, functionally annotated and enriched the source genes of the all differentially expressed circRNAs, and constructed some significant differentially expressed circRNAs-miRNAs regulatory networks. The results of this study provides a new way to study the molecular mechanism of drug resistance in *H. contortus*.

Keywords *Haemonchus contortus*; Ivermectin; drug resistance; transcriptome; circRNAs; difference analysis

捻转血矛线虫(*Haemonchus contortus*)寄生在反刍动物消化道内^[1],以吸食宿主血液为生,常导致宿主出现被毛粗乱、贫血和慢性消耗性等临床症状,寄生严重者可致宿主死亡^[2]。在牧区、农牧区和规模化养殖场感染率和发病率均较高,现已造成世界范围内小反刍动物较大经济损失,特别是热带、亚热带以及降雨量充沛的地区^[3]。迄今为止,常用的是基于20世纪开发的驱虫药^[4],但是,从临床效果来看,由于生产实践中缺乏科学指导,盲目给药、反复用药以及超量用药等现象的出现,使得捻转血矛线虫对常见化学驱虫药物均产生了程度不一的耐药性。其中伊维菌素作为一种广泛用于捻转血矛线虫的驱虫药^[5],在1988年就已出现耐药性^[6]。在伊维菌素耐药机制的研究中,P-糖蛋白表达量的改变、谷氨酸门控氯离子通道受体的基因突变和 γ -氨基丁酸门控氯离子通道的改变是产生耐药性的主要原因。

circRNAs是一类新型ncRNA家族,大量存在于真核细胞中,Sanger等^[10]首次在植物类病毒和流感病毒颗粒中发现,自此开启了circRNAs在生物领域的研究。近年来相关研究不断增加,circRNAs在

细胞生理学中的多种功能及其潜在机制被逐一发现,包括海绵miRNA、与蛋白质结合、翻译成多肽和蛋白质,发挥转录或翻译调节作用^[11-14]。且随着转录组学和高通量测序技术的快速发展,circRNAs在耐药性调控方面的研究逐渐受到关注,Lv等^[15]发现 *supercont3.352:252102|253283* 在溴氰菊酯敏感菌株中高度表达,通过 *supercont3.352:252102|253283/pcp-mir-1671/CYP4G15* 通路参与淡色库蚊对溴氰菊酯的抗性;Feng等^[16]通过转录组测序,发现44个circRNAs在环氟甲醚抗性菌株中高度表达,其中过度表达的 *circ1-3p* 通过海绵 *miR-1-3p* 促进 *TcGSTm04* 的表达,参与节肢动物朱砂叶螨对丁氟螨酯的抗性;Dou等^[17]在乳腺癌的研究中发现 *circRNA_UBE2D22* 在乳腺癌组织和细胞中通过 *miR-512-3p/CDCA3* 轴参与乳腺细胞对阿霉素的抗性。尽管circRNAs在耐药性调控方面的研究中已取得很大进展,但关于捻转血矛线虫耐药性调控的相关研究却很少,捻转血矛线虫耐药性的出现对动物造成的危害和经济损失促使研究者加快对耐药性产生机制研究及新药研发。

本研究对捻转血矛线虫伊维菌素敏感虫株与耐

药虫株 circRNAs 表达谱进行分析,并将 circRNAs 和 miRNAs 进行靶向关联分析,为从非编码 RNA 探究捻转血矛线虫耐药性调控机制提供新思路。

1 材料与方法

1.1 样品采集

捻转血矛线虫伊维菌素敏感虫株由内蒙古农业大学寄生虫实验室通过体内和体外试验自行分离获得,耐药虫株采自内蒙古自治区土默特左旗,经体内驱虫试验、虫卵减少试验以及伊维菌素敏感性试验确定为耐药虫株。

1.2 试验材料与试剂

RNAiso puls 和荧光定量 PCR 试剂盒(TB Green® Premix ExTaq™ II)购自 TaKaRa 公司;反转录试剂盒购自北京全式金生物公司。

1.3 总 RNA 的提取及测序

取捻转血矛线虫敏感虫株雌虫和雄虫各 1 管,每管 50 条;耐药虫株雌虫和雄虫各 1 管,每管 50 条,分别将敏感虫株和耐药虫株进行混合,采用 Trizol 法提取敏感虫株和耐药虫株的总 RNA。使用 Nanodrop 2 000 生物分析仪检查样本 RNA 浓度和纯度。将浓度 ≥ 100 ng/ μ L, RIN 值 ≥ 7.5 ,总量 ≥ 15 μ g 的 RNA 逆转录构建 cDNA 文库,使用 Illumina HiSeq 2 000 平台进行测序。

1.4 测序数据分析处理

利用 Fastp 软件对 Raw reads 进行质控,得到 Clean reads。使用短 Reads 比对工具 Bowtie2 将 Clean reads 比对到捻转血矛线虫的核糖体数据库,得到 Unmapped reads。采用 HISAT 软件将保留下来的 Unmapped reads 比对到参考基因组(WBPS12),并与 RNA-seq 测序数据中的 Spliced reads 进行全局和局部的比对,将比对上的 reads,称为 Anchors reads。

1.5 敏感虫株和耐药虫株 circRNAs 的分析

对敏感虫株和耐药虫株 circRNAs 的表达量(Fragments per kilobase of transcript per Million mapped reads, FPMK)进行差异分析,以 $|\log_2(\text{Fold change})| \geq 1$ 且 $\text{FDR} \leq 0.05$ 作为阈值界定敏感虫株和耐药虫株之间差异表达的 circRNAs,将鉴定得到的 circRNAs 进行染色体分布分析、长度分布分析和基因组中位置分布分析。

1.6 敏感虫株和耐药虫株差异 circRNAs 生物学功能分析

对差异 circRNAs 来源基因进行 GO (Gene Ontology)数据库富集分析,描述基因的分子功能(Molecular function)、细胞组分(Cellular component)和参与的生物学过程(Biological process),同时进行 KEGG (Kyoto encyclopedia of genes and genomes)数据库富集分析。

1.7 敏感虫株和耐药虫株差异 circRNAs 的 RT-qPCR 验证

随机从测序结果中筛选 5 个显著差异的 circRNAs,采用 Primer 5.0 软件设计引物。以 GADPH 为内参基因,利用 RT-qPCR 进行相对表达量检测,生物学重复和技术重复各 3 次。结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法分析,GraphPad Prism 8.0 软件制图。引物信息见表 1。

1.8 敏感虫株和耐药虫株差异 circRNAs 靶 miRNAs 的预测

采用 RNAhybrid、Miranda 和 TargetScan 软件对所有的差异 circRNAs 进行靶 miRNAs 预测,阈值参数如下:最大自由能 < -20 ,得分 ≥ 150 。通过 Cytoscape 软件对 circRNAs-miRNAs 靶向分析结果进行可视化分析。

2 结果与分析

2.1 测序数据分析

根据得到的测序数据显示,敏感虫株有 86 233 396 个,占 Raw reads 的 99.61% 和 63.65% 的 Reads 可以比对到核糖体 RNA 序列,36.35% 的 Unmapped_reads 可以比对到基因组,得到 14 101 352 个 Anchors reads;耐药虫株有 79 963 244,占 Raw reads 的 99.95%,24.21% 的 Reads 可以比对到核糖体 RNA 序列上,75.78% 的 Unmapped reads 可以比对到基因组,得到 31 619 298 个 Anchors reads(表 2)。

2.2 敏感虫株和耐药虫株差异 circRNAs 的鉴定与分析

捻转血矛线虫伊维菌素敏感虫株和耐药虫株鉴定得到 677 个差异 circRNAs,47 个显著差异,23 个显著上调,24 个显著下调(图 1)。对鉴定到的 677 个差异 circRNAs 进行染色体分布分析,结果显示 circRNAs 在敏感虫株和耐药虫株同一染色体上检测到的数目不同,但差异较小,均集中分布在 X 染色体上;长度分布结果显示,大多数 circRNAs 的长度

表 1 差异 circRNAs 荧光定量相关引物

Table 1 Differential circRNAs RT-qPCR related primers

名称 Name	序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	长度/bp Length	退火温度/℃ Tm
<i>novel_circ_000307</i>	F:GCCTTAACAACGATTGATACAG R:TCAGAGATAAGAAGAATTTTCAGG	269	56
<i>novel_circ_000319</i>	F:ATGACACCAGACGCCAATAC R:GTTCTCTCAGATGCCTTACTC	190	58
<i>novel_circ_000527</i>	F:CGTGTAAGGCGTCCGAATTGC R:TCGAGGTGCGTTCCACTTGTC	77	63
<i>novel_circ_000024</i>	F:GCCCTTACCCATTVVATC R:GCCGACAACAGGTCCATT	98	53
<i>novel_circ_000106</i>	F:TCGTGCCATGAGTTAGCAAT R:TCTAACAACATTGCTTGCAG	122	56
<i>GADPH</i>	F:TGCTGTCGAGAAGGACACTG R:ATCCTGTGAGTGCTCTTGCC	115	59

表 2 捻转血矛线虫敏感虫株与耐药虫株测序数据过滤信息统计表

Table 2 Statistical table of filtering information of sequencing data of sensitive and resistant strains of *H. contortus*

样本 Sample	原始读数 Raw data	有效读数 Clean data	有效匹配数 Mapped read	未匹配数 Unmapped read	比对基因组数 Anchors read
敏感虫株 Sensitive strains	86 571 256	86 233 396	54 891 064	31 342 332	14 101 352
耐药虫株 Resistant strains	79 999 798	79 963 244	19 356 778	60 606 466	31 619 298

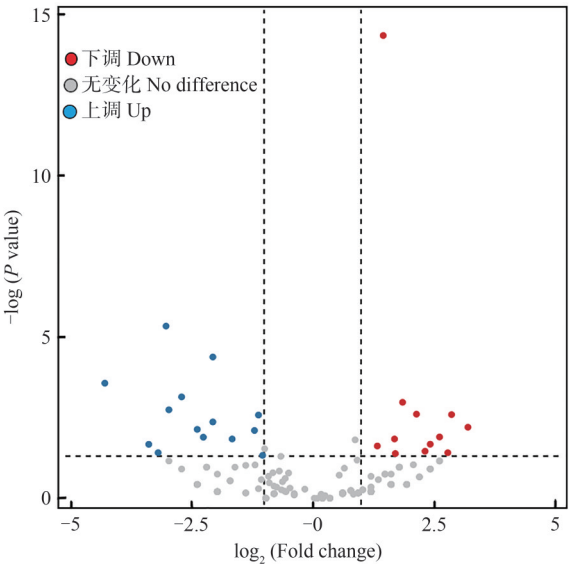


图 1 捻转血矛线虫的伊维菌素敏感虫株与耐药虫株显著差异 circRNAs

Fig. 1 The circRNAs of differentially expressed between ivermectin sensitive and resistant strains of *H. contortus*

为 200~700 bp,主要集中在 300 bp 左右,最长为 92 425 bp;基因组中位置分布结果显示,敏感虫株和耐药虫株中的 circRNAs 均主要来源于外显子区。

2.3 敏感虫株和耐药虫株差异 circRNA 来源基因富集分析

将所有差异 circRNAs 来源基因进行 GO 功能注释,初步分析发现差异 circRNAs 来源基因显著富集到 33 条 GO 条目,按富集数量从多到少排序,在生物学过程中主要富集在细胞过程、代谢过程和单个生物体等共计 18 条 GO terms;在细胞组分中主要富集在细胞膜结构、细胞器和细胞部分等 10 条 GO terms;在分子功能中主要富集在催化活性、各类结合和转运活动等 5 条 GO terms。

KEGG 信号通路富集显示,差异 circRNAs 来源基因共富集到 257 条通路,按 Q 值由小到大顺序排列,富集最多的前 10 位为脂肪酸生物合成、造血细胞谱系、甘油磷脂代谢、丙酸代谢、脂肪酸代谢、胰

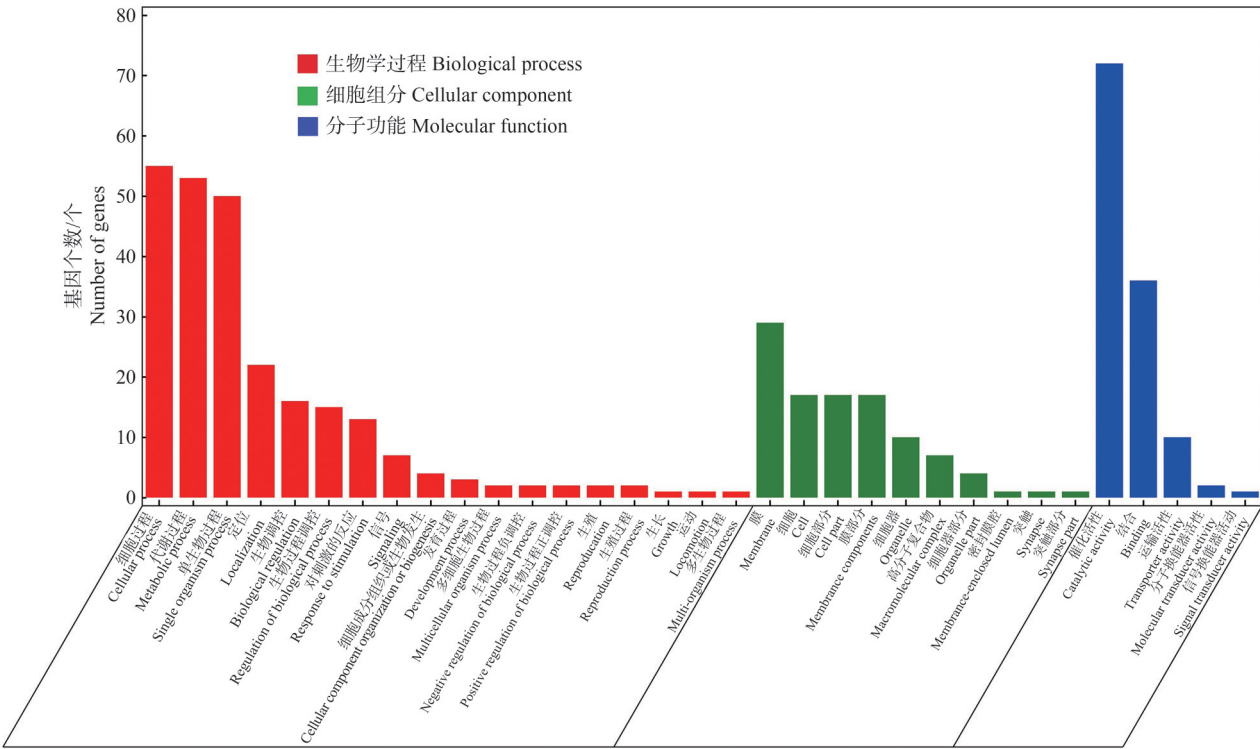


图2 捻转血矛线虫伊维菌素敏感虫株与耐药虫株差异 circRNAs 来源基因 GO 富集分析

Fig. 2 Annotated map of circRNAs derived gene GO classification for differences between ivermectin sensitive and resistant strains of *H. contortus*

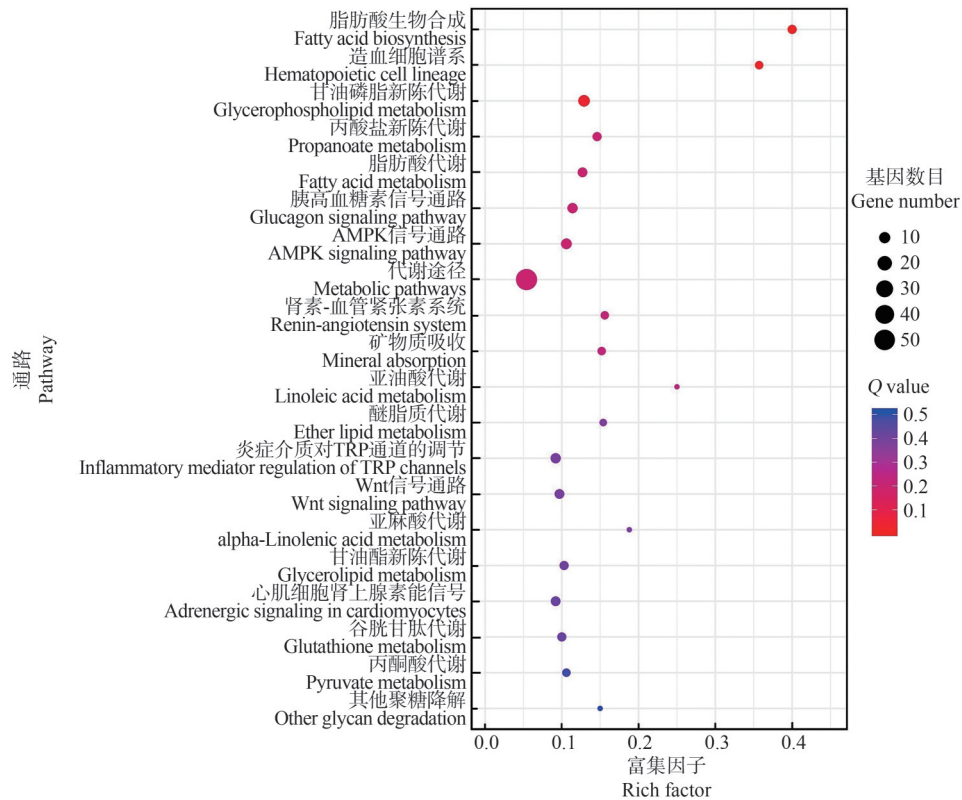


图3 捻转血矛线虫伊维菌素敏感虫株和耐药虫株差异 circRNAs 来源基因 KEGG 富集分析

Fig. 3 circRNAs-derived genes KEGG enrichment analysis of ivermectin sensitive and resistant strains in *H. contortus*

高血糖素信号通路、AMPK 信号通路、代谢途径、肾素-血管紧张素系统和矿物质吸收(图7)。

2.4 RT-qPCR 验证差异 circRNAs

RT-qPCR 结果显示, 随机筛选出的 5 个显著差异 circRNAs 相对表达水平与转录组测序结果一致(图4), 表明转录组测序结果较为可靠, 可用于后续分析研究。

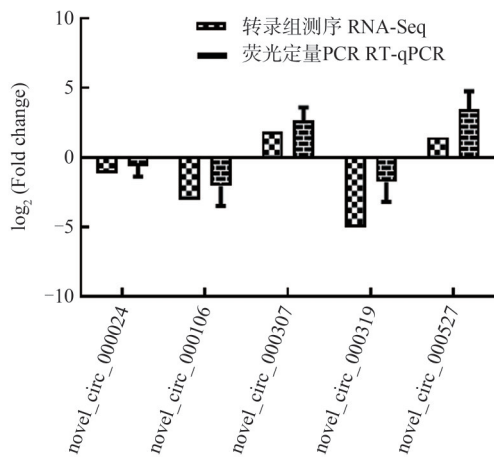


图4 差异 circRNAs RT-qPCR 与 RNA-seq 比较分析

Fig. 4 Comparative analysis between RT-qPCR and RNA-seq of differentially expressed circRNAs

2.5 捻转血矛线虫的伊维菌素敏感虫株和耐药虫株 circRNAs-miRNAs 的联合分析

本研究将鉴定到的 circRNAs 和 miRNAs 采用

perl 脚本进行关联分析, 结果显示共有 10 602 条 circRNAs-miRNAs 靶向调控关系, 其中涉及到 624 个 circRNAs 和 187 个 miRNAs。图5为随机选取的 3 个显著差异 circRNAs 的 circRNAs-miRNAs 网络图, 其中红色三角代表显著差异 circRNAs, 绿色椭圆代表靶向到的 miRNAs。

3 讨论

circRNAs 是一类特殊的 RNA, 因其结构稳定, 表达丰度高, 且具有组织特异和高度保守等特性而逐渐成为近年来 RNA 领域研究的热点。作为竞争性内源 RNA, circRNAs 通过其表面结合位点与其相应的 miRNAs 吸附结合, 使 miRNAs 无法与靶基因结合, 进而与 miRNAs 共同调控靶基因的表达, 影响机体众多疾病的发生发展^[18]。且随着测序技术的发展, 越来越多的相关研究证实了与耐药性相关的 circRNAs 通过此调控方式参与耐药性调节, 如 *circRNA-SORE* 通过海绵 *miR-103a-2-5p* 和 *miR-660-3p* 激活 Wnt/ β -catenin 途径, 参与肝癌细胞对索拉非尼的抗性^[19]; *circWHSC1* 通过海绵 *miR-107* 下调生物钟循环输出蛋白表达, 降低卵巢癌细胞对顺铂的耐药性^[20]。目前古生菌、人、猪、山羊、果蝇、拟南芥及水稻等许多物种均有关于 circRNAs 的相关报道, 但与脊椎动物和植物相比, 线虫中 circRNAs 的研究仍然相对较少。

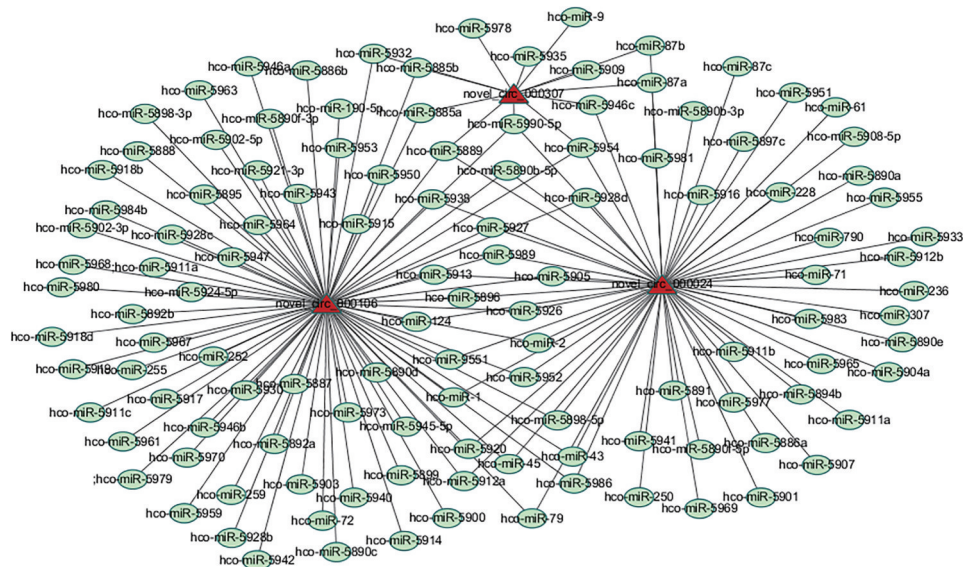


图5 捻转血矛线虫伊维菌素敏感虫株和耐药虫株 circRNAs-miRNAs 负相关网络图

Fig. 5 Negative correlation network of circRNAs-miRNAs between ivermectin sensitive and resistant strains of *H. contortus*

本研究利用高通量测序的方法,对捻转血矛线虫伊维菌素敏感虫株与耐药虫株中 circRNAs 表达谱进行分析,二者间存在 677 个差异表达的 circRNAs,其中 47 个显著差异,预测这些显著差异的 circRNAs 可能参与了捻转血矛线虫对伊维菌素耐药性调控过程。对差异 circRNAs 来源基因进行 GO 和 KEGG 富集分析,GO 分析结果显示,差异 circRNAs 来源基因主要富集代谢过程、细胞膜结构和催化活性中,推测其可能与捻转血矛线虫的耐药性之间存在一定的关系,具体机制尚未清楚。KEGG 分析结果显示,差异 circRNAs 来源基因除了富集在各类代谢信号通路上,也被富集在药物代谢过程中起着重要调控作用的通路上,如: *HCON_00036280*、*HCON_0007120* 和 *HCON_00072770* 富集在了 PPAR 信号通路, *HCON_0000255*、*HCON_00046760*、*HCON_0011598*、*HCON_00183810*、*HCON_0018383*、*HCON_00186420* 和 *HCON_00189270* 富集在了 Wnt 信号通路, *HCON_00046480*、*HCON_00162780*、*HCON_0017546* 和 *HCON_00189480* 富集在了 ABC 转运蛋白等。PPAR 是 PPAR 信号通路的关键蛋白,由脂肪酸及其衍生物激活的核激素受体,属于配体诱导的核激素受体超家族。研究表明过表达 PPAR γ 会使得甲状腺未分化癌细胞对阿霉素产生耐药性^[21]; PPAR γ 是肝癌索拉非尼耐药的关键分子^[22]; PPAR γ 配体罗格列酮在体外试验能部分逆转人胃癌 SGC7901/VCR 细胞对丝裂霉素的耐药性^[23]。Wnt 信号通路是调节上皮间质转化 EMT 的重要通路,研究表明 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活在人参皂苷 Rg3 调控人胃癌顺铂耐药性中起重要作用^[24]; cAMP/Wnt/ β -catenin 信号通路的激活使得黄腐酚类似物降低了细胞对顺铂的耐药性^[25]; Wnt 信号通路的抑制,使急性白血病淋巴瘤细胞对天门冬酰胺酶产生耐药性^[26]。ABC 转运蛋白是一类负责多种物质的跨膜转运蛋白^[27],捻转血矛线虫大部分基因属于 B 型亚家族,其中最主要的基因是 P-糖蛋白,它可通过 ATP 供能将药物从细胞内泵到细胞外,从而降低细胞内药物浓度并产生耐药性。研究表明,P-糖蛋白在捻转血矛线虫中伊维菌素驱虫药的抗性中发挥了作用,如 Xu 等^[28]通过克隆测序 P-糖蛋白的 cDNA,发现伊维菌素的耐药性与捻转血矛线虫 P-糖蛋白的过表达有关; Blackhaall 等^[29]通过对捻转血矛线虫 P-糖蛋白的同

源染色体的基因多态性分析,证实了 P-糖蛋白与伊维菌素耐药性有着一定的联系; Maté 等^[30]利用 RT-qPCR 技术,通过测定不同捻转血矛线虫中 P-糖蛋白表达水平的变化证实了其在捻转血矛线虫耐药过程中发挥了作用。

通过 RNA-seq 筛选到的 *novel_circ_000478* 在捻转血矛线虫敏感虫株和耐药虫株中表达显著差异,其来源基因 *HCON_00189270* 富集在了 Wnt 信号通路,且其靶基因 *hco-miR-1* 与 *cel-miR-1* 同源,有报道 *cel-miR-1* 可通过负反馈调节左旋咪唑的乙酰胆碱受体,改变肌肉对乙酰胆碱和左旋咪唑的敏感性^[31]。推测 *novel_circ_000478* 可能通过靶向 *hco-miR-1* 在转血矛线虫伊维菌素耐药调控中发挥关键作用。其他差异 circRNAs 也可能通过类似作用参与捻转血矛线虫对伊维菌素耐药性的产生,其机制有待验证。

4 结 论

本研究通过对捻转血矛线虫敏感虫株和耐药虫株进行转录组测序分析,成功筛选到 677 个差异 circRNAs,对所有差异 circRNAs 的来源基因进行功能注释和富集分析,并通过 circRNAs-miRNAs 调控网络得到 10 602 组 circRNAs-miRNAs 调控关系。本研究通过转录组学为 circRNAs 参与捻转血矛线虫伊维菌素耐药性调控提供科学依据。

参考文献 References

- [1] 王腾宇,陈昕迪,翟帅,石雅琴,刘春霞,王文龙. 捻转血矛线虫丙硫咪唑敏感虫株和耐药虫株 miRNA-mRNA 关联比较分析[J]. 中国农业大学学报, 2021, 26(6): 90-99
Wang T Y, Chen X D, Zhai S, Shi Y Q, Wang W L. Comparative analysis of miRNA-mRNA association between albendazole-susceptible and-resistant strains of *Haemonchus contortus* [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2021, 26(6): 90-99 (in Chinese)
- [2] 陈昕迪,王腾宇,刘春霞,王文龙. 捻转血矛线虫伊维菌素耐药相关长链非编码 RNA 及其调控功能分析[J]. 中国农业大学学报, 2023, 28(1): 190-202
Chen X D, Wang T Y, Liu C X, Wang W L. Analysis of long non-coding RNAs associated with ivermectin resistance and its regulatory function in *Haemonchus contortus* [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2023, 28(1): 190-202 (in Chinese)
- [3] 王文龙,苏倩,赵学亮,孙柯,翟帅,王腾宇,呼和巴特尔. 捻转血矛线虫耐药相关基因 P450 原核表达及其生物信息学分析[J]. 中国预防兽医学报, 2020, 42(11): 1181-1184
Wang W L, Su Q, Zhao X L, Sun K, Zhai S, Wang T Y, Hu H.

- Bioinformation analysis and prokaryotic expression of *Haemonchus contortus* of P450 gene related to drug resistance[J]. *Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine*, 2020, 42(11): 1181-1184 (in Chinese)
- [4] Laing R, Doyle S R, McIntyre J, Maitland K, Morrison A, Bartley D J, Kaplan R, Chaudhry U, Sargison N, Tait A, Cotton J A, Britton C, Devaney E. Transcriptomic analyses implicate neuronal plasticity and chloride homeostasis in ivermectin resistance and response to treatment in a parasitic nematode[J]. *PLoS Pathogens*, 2022, 18(6): 1-23
- [5] Peng C F, Tan Y Q, Yang P, Jin K P, Zhang C, Peng W, Wang L, Zhou J H, Chen R R, Wang T, Jin C, Ji J Z, Feng Y F, Tang J W, Sun Y M. Circ-GALNT16 restrains colorectal cancer progression by enhancing the SUMOylation of hnRNP[J]. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 2021, 40(1)
- [6] van Wyk J A, Malan F S. Resistance of field strains of *Haemonchus contortus* to ivermectin, closantel, rafoxanide and the benzimidazoles in South Africa[J]. *Veterinary Record*, 1988, 123(9): 226-228
- [7] Khan S, Nisar A, Yuan J Q, Luo X P, Dou X Q, Liu F, Zhao X C, Li J Y, Ahmad H, Mehmood S A, Feng X G. A whole genome re-sequencing based GWA analysis reveals candidate genes associated with ivermectin resistance in *Haemonchus contortus*[J]. *Genes*, 2020, 11(4): 367
- [8] 刘阳. 捻转血矛线虫转录组和蛋白组学分析及耐 IVM 候选基因功能研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020
- Liu Y. Analysis of transcriptomics and proteomics and functional research of ivm-resistant candidate genes in *Haemonchus contortus*[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2020 (in Chinese)
- [9] 尚世杰. 捻转血矛线虫伊维菌素耐药株的分离及其代谢组学研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2022
- Shang S J. Isolation and metabonomics of ivermectin resistant strains of *Haemonchus contortus*[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2022, (in Chinese)
- [10] Sanger H L, Klotz G, Riesner D, Gross H J, Kleinschmidt A K. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures[J]. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 1976, 73(11): 3852-3856
- [11] Salzman J, Gawad C, Wang P L, Lacayo N, Brown P O. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30733
- [12] Zhang Y, Tan D X, Xie Y, Wu L Y, Wu S, Tang Y H, Luo Y Z, Xiao X S, Li X. CircEPSTI1 promotes the proliferation of HER2-positive breast cancer cells via circEPSTI1/miR-145/ERBB3 axis [J]. *Journal of Oncology*, 2022, 2022: 1028851
- [13] Wei L, Wang X W, Lv L Y, Liu J B, Xing H X, Song Y M, Xie M Y, Lei T S, Zhang N S, Yang M. The emerging role of microRNAs and long noncoding RNAs in drug resistance of hepatocellular carcinoma [J]. *Molecular Cancer*, 2019, 18(1): 147
- [14] Zhong Y M, Wang D, Ding Y L, Tian G X, Jiang B. Circular RNA circ_0032821 contributes to oxaliplatin (OXA) resistance of gastric cancer cells by regulating SOX9 via miR-515-5p [J]. *Biotechnology Letters*, 2021, 43(2): 339-351
- [15] Lv Y, Li X X, Zhang H B, Zou F F, Shen B. CircRNA expression profiles in deltamethrin-susceptible and-resistant culex pipiens pallens (Diptera: Culicidae)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2022, 261: 110750
- [16] Feng K Y, Jiang Z X, Liu P L, Liu J, Wen X, He L. Circular RNA, *circI-3p*, is involved in cyflumetofen resistance by acting as a competitive RNA against miR-1-3p in *Tetranychus cinnabarinus* [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(4): 1068-1078
- [17] Dou D W, Ren X Y, Han M L, Xu X D, Ge X, Gu Y T, Wang X X, Zhao S. CircUBE2D2 (hsa_circ_0005728) promotes cell proliferation, metastasis and chemoresistance in triple-negative breast cancer by regulating miR-512-3p/CDCA3 axis [J]. *Cancer Cell International*, 2020, 20(1): 454
- [18] Hansen T B, Jensen T I, Clausen B H, Bramsen J B, Finsen B, Damgaard C K, Kjems J. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges[J]. *Nature*, 2013, 495(7441): 384-388
- [19] Xu J J, Wan Z, Tang M Y, Lin Z J, Jiang S, Ji L, Gorshkov K, Mao Q J, Xia S J, Cen D, Zheng J H, Liang X, Cai X J. N6-methyladenosine-modified CircRNA-SORE sustains sorafenib resistance in hepatocellular carcinoma by regulating β -catenin signaling [J]. *Molecular Cancer*, 2020, 19(1): 163
- [20] 高秀娟, 庄新荣, 张雅丽, 张桂香. CircWHSC1调节 miR-107/CLOCK 轴对卵巢癌细胞增殖、凋亡和顺铂耐药性的影响[J]. 现代妇产科进展, 2023, 32(2): 95-101
- Gao X J, Zhuang X R, Zhang Y L, Zhang G X. Impacts of circWHSC1 on the proliferation, apoptosis and cisplatin resistance of ovarian cancer cells by regulating the miR-107/CLOCK axis [J]. *Prog Obstet Gynecol*, 2023, 32(2): 95-101 (in Chinese)
- [21] 许远. miR-27b-3p 靶向 PPAR- γ 调节人甲状腺未分化癌细胞阿霉素耐药性的机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2021
- Xu Y. MiR-27b-3p is involved in doxorubicin resistance of human anaplastic thyroid cancer cells via targeting peroxisome proliferator-activated receptor gamma [D]. Jinan: Shandong University, 2021 (in Chinese)
- [22] 蒋国平. 肝癌索拉非尼耐药标志物筛选及 PPAR γ 拮抗剂抗耐药作用研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016
- Jiang G P. Biomarkers screening of sorafenib resistance and its overcoming by PPAP γ antagonists in hepatocellular carcinoma [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2016 (in Chinese)
- [23] 胡剑峰. 罗格列酮逆转人胃癌细胞多药耐药及其机制的实验研究[D]. 衡阳: 南华大学, 2007
- Hu J F. Reversing of multidrug resistance and the correlative mechanism in SGC7901/VCR cell lines by rosiglitazone [D]. Hengyang: University of South China, 2007 (in Chinese)
- [24] 孟子琪, 张睿, 吴旭微, 金铁峰, 张美花. 人参皂苷 Rg3 靶向 Wnt/ β -连环蛋白信号通路调控胃癌顺铂耐药性[J]. 中国医学科学院学报, 2022, 44(3): 366-376
- Meng Z Q, Zhang R, Wu X W, Jin T F, Zhang M H. Ginsenoside Rg3 regulates cisplatin resistance in gastric cancer by Wnt/ β -catenin signaling pathway [J]. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2022, 44(3): 366-376 (in Chinese)
- [25] 王慧, 王静, 闫冬娟, 茹晓楠, 马春星, 王思思, 康燕华, 陈江平. 黄腐酚类似物通过 cAMP/Wnt/ β -catenin 信号通路抑制卵巢癌细胞增殖降低对

- 顺铂的耐药性[J]. 现代肿瘤医学, 2022, 30(9): 1567-1572
- Wang H, Wang J, Yan D J, Ru X N, Ma C X, Wang S S, Kang Y H, Chen J P. Xanthohumol analogues inhibit ovarian cancer cell proliferation and reduce the resistance of cisplatin through cAMP/Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2022, 30(9): 1567-1572 (in Chinese)
- [26] 高晓艳, 刘梅, 田小清, 吕润林, 鲁英娟. Wnt信号通路抑制对急性白血病天门冬酰胺酶耐药性的影响[J]. 川北医学院学报, 2019, 34(5): 500-503
- Gao X Y, Liu M, Tian X Q, Lv R L, Lu Y J. Effects of Wnt signaling pathway inhibition on asparaginase resistance in acute leukemia[J]. *Journal of North Sichuan Medical College*, 2019, 34(5): 500-503 (in Chinese)
- [27] 孙铭优, 吴照晨, 王斌, 王婷婷, 李雪明, 宋佳露, 刘鹏飞, 刘西莉. ABC转运蛋白及其相关的多药抗性研究现状[J]. 植物保护学报, 2022, 49(1): 374-382
- Sun M Y, Wu Z C, Wang B, Wang T T, Li X M, Song J L, Liu P F, Liu X L. Research status of ATP-binding cassette transporters and related multidrug resistance[J]. *Journal of Plant Protection*, 2022, 49(1): 374-382 (in Chinese)
- [28] Xu M, Molento M, Blackhall W, Ribeiro P, Beech R, Prichard R. Ivermectin resistance in nematodes may be caused by alteration of P-glycoprotein homolog[J]. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1998, 91(2): 327-335
- [29] Blackhall W J, Liu H Y, Xu M, Prichard R K, Beech R N. Selection at a P-glycoprotein gene in ivermectin-and moxidectin-selected strains of *Haemonchus contortus*[J]. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1998, 95(2): 193-201
- [30] Maté L, Ballent M, Cantón C, Ceballos L, Lifschitz A, Lanusse C, Alvarez L, Liron J P. Assessment of P-glycoprotein gene expression in adult stage of *Haemonchus contortus* in vivo exposed to ivermectin[J]. *Veterinary Parasitology*, 2018, 264: 1-7
- [31] Simon D J, Madison J M, Conery A L, Thompson-Peer K L, Soskis M, Ruvkun G B, Kaplan J M, Kim J K. The microRNA miR-1 regulates a MEF-2-dependent retrograde signal at neuromuscular junctions[J]. *Cell*, 2008, 133(5): 903-915

责任编辑: 秦梅



第一作者简介:寇慧林,女,汉族,内蒙古农业大学在读硕士研究生。2021年获得校级二等奖学金,2022年获得自治区学业奖学金。



通讯作者简介:王文龙,男,蒙古族,博士,教授,博士生导师。现任内蒙古农业大学兽医学院预防兽医学科主任。多年来一直从事家畜寄生虫分子生物学、生物信息学、免疫学诊断和防治方面的研究工作,长期从事草食家畜常见病原性疾病的诊疗,相关诊断试剂开发及社会服务工作。先后主持国家自然科学基金项目2项、其它省部级科研项目8项;参与完成国家及省部级各类科研项目20余项。以第一作者和通讯作者在国内外各种学术刊物上发表学术论文70余篇;获得国家发明专利7项;主参编教材与专著7部。