

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.02.017

急性心肌梗死并心力衰竭患者血清 miR-132 和 miR-31 水平及其临床诊断价值研究*

田焕平^{1,2}, 吴海波¹, 刘惠良¹, 白世茹¹, 王学超¹, 杜荣品^{1△}

(1. 河北省人民医院心内六科, 石家庄 050000; 2. 河北医科大学研究生院, 石家庄 050000)

[摘要] **目的** 探讨急性心肌梗死并心力衰竭患者血清 miR-132 和 miR-31 水平及其临床诊断价值。**方法** 选取河北省人民医院 80 例急性心肌梗死并心力衰竭患者为病例组, 同期选取门诊健康体检者 76 例作为对照组, 测定三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、N 末端 B 型钠肽原(NT-proBNP)及 miR-132、miR-31 水平。**结果** 病例组 miR-132 表达水平低于对照组, miR-31 高于对照组($P>0.05$); 病例组 HDL-C 水平低于对照组, TG、LDL-C、hs-CRP、NT-proBNP 高于对照组($P<0.05$)。miR-132 与 HDL-C 及 miR-31 与 TG、LDL-C、hs-CRP、NT-proBNP 呈正相关($P<0.05$); miR-132 与 TG、LDL-C、hs-CRP、NT-proBNP 及 miR-31 与 HDL-C 呈负相关($P<0.05$)。诊断急性心肌梗死并心力衰竭时, miR-31、miR-132 两者的 AUC 相近($P>0.05$), 皆小于 miR-31+miR-132($P<0.05$), 均具有一定的诊断准确性。**结论** miR-132、miR-31 可用于急性心肌梗死并心力衰竭的诊断, 以 miR-31+miR-132 组合最佳。

[关键词] 心肌梗死; 心力衰竭; miR-132; miR-31**[中图分类号]** R541.4**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2019)02-0248-04

Levels of serum miR-132 and miR-31 in heart failure patients with acute myocardial infarction and their value on clinical diagnostic*

TIAN Huanping^{1,2}, WU Haibo¹, LIU Huiliang¹, BAI Shiru¹, WANG Xuechao¹, DU Rongpin^{1△}

(1. Department of Cardiovascular, Hebei Provincial People's Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050000, China; 2. Graduate School of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the levels of serum miR-132 and miR-31 in heart failure patients with acute myocardial infarction and their clinical diagnostic value. **Methods** 80 heart failure patients with acute myocardial infarction in our hospital were selected as the case group, and 76 healthy people were selected as the control group. TG, HDL-C, LDL-C, hs-CRP, NT-proBNP, and the expression level of miR-132 and miR-31 were measured. **Results** The expression of miR-132 in the case group was lower than that in the control group, while miR-31 was higher in the case group than control group ($P<0.05$). The level of HDL-C in the case group was lower than that in the control group, and the level of TG, LDL-C, hs-CRP and NT-proBNP was higher than control group ($P<0.05$). MiR-132 was positively related to HDL-C and negatively related to TG, LDL-C, hs-CRP, NT-proBNP, while miR-31 was positively related to TG, LDL-C, hs-CRP, NT-proBNP and negatively related to HDL-C ($P<0.05$). The AUCs of miR-31 and miR-132 were similar ($P>0.05$) which were less than miR-31+miR-132 ($P<0.05$). All of them had certain diagnostic accuracy. **Conclusion** The determination of miR-132 and miR-31 level is suitable for the diagnosis of heart failure patients with acute myocardial infarction, and the combination of miR-31+miR-132 is the most suitable for the diagnosis.

[Key words] myocardial infarction; heart failure; miR-132; miR-31

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是冠状动脉粥样硬化使血管狭窄或阻塞,常由不稳定斑块糜烂及破裂诱发,造成一过性或持续性阻塞,而引起的心肌损伤或坏死^[1]。冠状动脉粥样硬

化性心脏病(冠心病)是一种炎症性疾病,由粥样硬化斑破裂,诱发局部血栓形成,出现心肌缺血综合征^[2-5]。微小 RNA(microRNA, miRNA)能调控转录水平后的基因翻译^[6]。miRNA 的 5' 端的核苷酸能与

* 基金项目:河北省医学科学研究重点课题计划(20180163);河北科技计划课题项目(16277780D)。 作者简介:田焕平(1991-),住院医师,硕士,主要从事心血管病研究。 △ 通信作者, E-mail: minewuhaibo@126.com。

靶 miRNA 3'-UTR 区域互补,对下游靶基因产生调控^[7]。miR-132 可通过阻断蛋白激酶 B(protein kinase B,PKB) 信号通路抑制心血管内皮细胞增殖和集落形成^[8]。miR-31 对细胞 DNA 的复制起始和增殖具有重要作用^[9]。本研究拟探讨 AMI 并心力衰竭患者血清 miR-132 和 miR-31 水平及其临床诊断的价值,并与传统的 AMI 并心力衰竭评价指标超敏 C-反应蛋白(hs-CRP)、N 末端 B 型利钠肽原(NT-proBNP)进行相关性分析,为 AMI 并心力衰竭的早期诊断及治疗提供理论及实践基础,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 7 月至 2016 年 8 月河北省人民医院心内科确诊的 80 例 AMI 患者为病例组,其中男 40 例,女 40 例,年龄 43~73 岁,平均(59.8±13.4)岁,其中 ST 段抬高型心肌梗死 54 例,非 ST 段抬高型心肌梗死 26 例。选取同期 76 例门诊健康体检者作为对照组,其中男 36 例,女 40 例,年龄 46~70 岁,平均(58.7±12.7)岁,对照组均无既往肺栓塞病史、恶性肿瘤、6 周内手术史、下肢外伤史、心功能不全、脑血管意外、长期卧床等病史。所有对象均签署知情同意书。纳入标准:(1)患者经临床症状、心电图、冠状动脉造影明确诊断,符合《2010 年急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南》,以及符合《2012 年非 ST 段抬高急性冠状动脉综合征诊断和治疗指南》的高危患者;(2)AMI 发病小于 24 h;(3)初中以上文化水平;(4)既往无精神障碍史,可自由交流和沟通;(5)有一定的生活自理能力,意识清晰。排除标准:(1)孕妇或近 3 个月有手术、创伤史;(2)冠状动脉粥样硬化性心脏病以外的其他心脏病;(3)肝、肾功能不全者;(4)严重高血压未控制(≥180/110 mm Hg)、心源性休克、糖尿病酮症、呼吸道疾病、周围血管性疾病或栓塞性疾病者。

1.2 方法

1.2.1 仪器及试剂 贝克曼 AU-480 全自动生化分析仪(美国库尔特公司)、德铁 HBS-1096B 酶标仪(南京德铁实验设备有限公司)、Trizol 试剂(美国 Invitrogen 公司),反转录试剂盒及实时荧光定量 PCR 试剂盒(碧云天生物技术公司产品)、miR-132、miR-31 基因的表达测定采用 μ LtraSYBR One Step RNA PCR Kit(宝生物工程大连有限公司)、实时荧光定量 PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司)、NanoDrop2000c 型蛋白核酸检测仪(美国 Thermo 公司)、恒温培养箱 grp-9080(美国通用公司、超净工作台(上海恒跃医疗器械有限公司)。hs-CRP、NT-proBNP ELISA 试剂盒购于上海恒远生物科技有限公司,三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)试剂盒为 Syemex-i2000 全自动血细胞分析仪、贝克曼 AU-480 全自动生化分析仪原厂自带试剂。

1.2.2 实验步骤 病例组及对照组患者清晨空腹及肱静脉抽血;取静脉血 10 mL 置于无菌管中,室温静置 30 min,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,AU-480 全自动生化分析仪测定 TG、HDL-C、LDL-C,德铁 HBS-1096B 酶标仪测定 hs-CRP、NT-proBNP。剩余血清用于测定 miR-132、miR-31 基因的表达,参照 GenBank 数据获取 2 个基因多态性位点的序列,设计待测基因位点的 PCR 扩增引物和单碱基延伸引物,按 20 μ L 模板和 50 μ L 反应液构成 PCR 反应体系,扩增程序:95 $^{\circ}$ C 5 min;93 $^{\circ}$ C 10 s,61 $^{\circ}$ C 30 s,重复 40 个循环,61 $^{\circ}$ C 时采集荧光,反应体系为:5 μ L 2 \times μ L traSYBR One Step RT-qPCR Buffer、0.4 μ L 正向引物,10 μ mol/L、0.4 μ L 反向引物,10 μ mol/L、0.2 μ L SuperEnzyme Mix、0.6 μ L RNA Template、3.4 μ L Rnase-Free Water。实时荧光定量 PCR 仪检测其表达水平,见表 1。

表 1 β -actin、miR-132、miR-31 引物序列

基因	引物序列(5'-3')	退火温度	产物大小
β -actin	正向 CGTAAAGACCTCTATGCCAACA	65 $^{\circ}$ C	260 kb
	反向 CGGACTCATCGTACTCTCTGCT		
miR-132	正向 GGAGACATGAGAGCTGCCAAC	62 $^{\circ}$ C	262 kb
	反向 CCAGCAGCATGTGGAAGATC		
miR-31	正向 TGTCCATGAGAGCTCAGCA	62 $^{\circ}$ C	259 kb
	反向 TCGTACAGCATGTGCAATGCC		

1.3 统计学处理 采用 Epidata、SPSS19.0 软件进行数据分析,计量资料用以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 *t* 检验;计数资料以频数或百分率表示,比较采用 χ^2 检验;采用 Pearson 检验进行相关性分析法;受试者工作特征(ROC)曲线分析各指标诊断价值,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般情况比较 两组在性别、年龄、BMI、吸烟、饮酒、高血压、高脂血症等一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 两组一般情况比较

项目	对照组	病例组
<i>n</i>	76	80
男/女(<i>n/n</i>)	36/40	40/40
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	58.7±12.7	59.8±13.4
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	22.44±3.14	26.14±2.99
吸烟[<i>n</i> (%)]		
有	30(39.5)	38(47.5)
无	46(60.5)	42(52.5)
饮酒[<i>n</i> (%)]		
有	50(65.8)	61(76.2)
无	26(34.2)	19(23.8)

续表 2 两组一般情况比较

项目	对照组	病例组
高血压[n(%)]		
有	42(55.3)	53(66.2)
无	34(44.7)	27(33.8)
高脂血症[n(%)]		
有	39(51.3)	42(52.5)
无	37(48.7)	38(47.5)

2.2 两组 miR-132、miR-31 指标比较 病例组 miR-132 表达水平低于对照组,miR-31 表达水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 3 两组 miR-132、miR-31 指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	miR-132	miR-31
对照组	2.89 ± 1.14	2.34 ± 0.98
病例组	0.98 ± 0.58	9.36 ± 2.12
<i>t</i>	18.47	22.75
<i>P</i>	0.000	0.000

2.3 两组血脂指标比较 病例组 HDL-C 水平低于对照组,TG、LDL-C 水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表 4 两组血脂指标比较($\bar{x} \pm s$,mmol/L)

组别	TG	HDL-C	LDL-C
对照组	1.71 ± 0.19	1.19 ± 0.35	2.94 ± 0.38
病例组	2.56 ± 0.21	0.89 ± 0.24	3.58 ± 0.47
<i>t</i>	16.46	18.51	19.14
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000

2.4 两组 hs-CRP、NT-proBNP 水平比较 病例组 hs-CRP、NT-proBNP 水平高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 5。

表 5 两组 hs-CRP、NT-proBNP 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	hs-CRP(mg/L)	NT-proBNP (pg/mL)
对照组	0.49 ± 0.15	157.14 ± 46.35
病例组	3.47 ± 0.19	2 679.57 ± 123.24
<i>t</i>	16.14	21.49
<i>P</i>	0.000	0.000

2.5 miR-132、miR-31 与各指标相关性分析 miR-132 与 HDL-C,miR-31 与 TG、LDL-C、hs-CRP、NT-proBNP 呈正相关关系($P < 0.05$);miR-132 与 TG、LDL-C、hs-CRP、NT-proBNP,miR-31 与 HDL-C 呈负相关关系($P < 0.05$),差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 6。

2.6 ROC 曲线及灵敏度、特异度分析 受试者工作特征曲线提示,miR-31 + miR-132、miR-31、miR-132

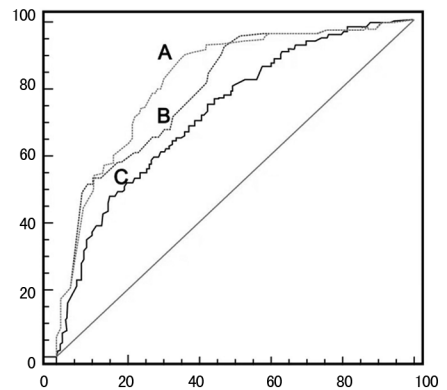
ROC 曲线下面积(AUC)为 0.832(0.799,0.893),0.801(0.758,0.868),0.793(0.735,0.852);miR-31、miR-132 两者的 AUC 相近,皆小于 miR-31 + miR-132;miR-31、miR-132 诊断急性心肌梗死并心力衰竭的灵敏度、特异度相近($\chi^2 = 1.219, 1.695, P > 0.05$),皆小于 miR-31 + miR-132($\chi^2 = 16.249, 17.023, P < 0.05$),均具有一定诊断准确性,见表 7、图 1。

表 6 miR-132、miR-31 与各指标相关性分析

变量 1	变量 2	<i>R</i>	<i>P</i>
miR-132	TG	-0.541	0.000
	HDL-C	0.567	0.000
	LDL-C	-0.569	0.000
	hs-CRP	-0.624	0.000
miR-31	NT-proBNP	-0.644	0.000
	TG	0.498	0.000
	HDL-C	-0.501	0.000
miR-132	LDL-C	0.566	0.000
	hs-CRP	0.594	0.000
	NT-proBNP	0.587	0.000

表 7 ROC 曲线及灵敏度、特异度分析

项目	AUC(95%CI)	灵敏度	特异度
miR-31 + miR-132	0.832(0.799,0.893)	0.821	0.824
miR-31	0.801(0.758,0.868)	0.729	0.719
miR-132	0.793(0.735,0.852)	0.722	0.712



A: miR-31 + miR-132; B: miR-31; C: miR-132

图 1 miR-31 + miR-132、miR-31、miR-132 的 ROC 曲线

3 讨论

miRNA 是一种具有高度进化保守性的非编码小 RNA,其在调控细胞的基因表达方面有极其重要的作用,在肿瘤的发生、发展中也扮演着重要的角色^[10]。miRNA 可通过与下游靶基因的 3'-非翻译区相结合,参与细胞增殖、分化、及信号转导等过程^[11]。研究发现,miR-31 蛋白可介导细胞的定向转移和趋化性,并激活淋巴细胞、内皮细胞、中性粒细胞、上皮细胞上相应的趋化因子受体^[12]。遗传基因学发现 miR-31 过表

达是引发大部分自身炎症反应的主要原因,高度表达 miR-31 蛋白的淋巴细胞增殖能力明显高于野生株^[13]。高表达 miR-31 蛋白的淋巴细胞可分泌更多的白细胞介素(IL)-8 及血管内皮生长因子(VEGF),而 IL-8、VEGF 在炎症的形成过程中发挥重要作用^[14-15]。此外 miR-31 还可致使血管内皮严重损伤,胶原组织暴露,组织因子释放,刺激血小板附着和聚集,从而激活凝血反应链,导致纤维蛋白及免疫球蛋白也应激增高,形成高凝状态和纤溶亢进,进一步诱发 AMI 及心力衰竭的发生^[16]。miR-132 具有组织特异性,在癌症、神经退行性病变、免疫系统疾病中也发挥重要作用^[17];也可能促进动脉粥样硬化,参与内皮细胞中脂肪的生成和胆固醇的合成^[18]。miR-31 的作用机制与 miR-132 相反,研究表明 miR-31 与胚胎的发育有关,能直接下调 Nodal 蛋白家族中的 squint 蛋白,还能调控 Nodal 蛋白的抑制剂 letfy^[19]。

目前与心力衰竭相关 miRNA 的表达及功能研究主要集中在动物模型上,较少在临床患者中研究。因此本研究设计从临床角度探讨心肌梗死后心力衰竭患者血清 miR-31、miR-132 的表达水平及其意义。本研究结果显示,病例组 miR-132 表达水平低于对照组,而 miR-31 水平高于对照组;病例组 HDL-C 水平低于对照组, TG、LDL-C、hs-CRP、NT-proBNP 水平均高于对照组,且两组间差异有统计学意义($P < 0.05$)。miR-132 与 HDL-C 及 miR-31 与 TG、LDL-C、hs-CRP、NT-proBNP 呈正相关;miR-132 与 TG、LDL-C、hs-CRP、NT-proBNP 及 miR-31 与 HDL-C 呈负相关,差异有统计学意义($P < 0.05$);说明 AMI 并心力衰竭患者血清 miR-132 水平降低,miR-31 水平升高;诊断 AMI 并心力衰竭时,miR-31、miR-132 两者的 AUC 相近,皆小于 miR-31 + miR-132,且 AUC 均具有一定的诊断准确性。说明 miR-132、miR-31 及 miR-31 + miR-132 对于 AMI 并心力衰竭有一定的诊断价值,以 miR-31 + miR-132 组合最佳。

综上所述,AMI 并心力衰竭患者血清 miR-132、miR-31 与 miR-31 + miR-132 具有一定的诊断价值,以 miR-31 + miR-132 组合最佳。

参考文献

- [1] 邢冬梅,李彬,朱明军,等. 中医药预防急性心肌梗死后心力衰竭的新思路[J]. 中华中医药杂志,2017,6(1):196-198.
- [2] 李春华,徐萍. 行经皮冠状动脉介入术的急性心肌梗死患者的围术期护理[J]. 中国医科大学学报,2017,46(2):181-183.
- [3] 曹丽,安冬梅,石磊,等. 急性心肌梗死患者经皮冠状动脉支架植入术后血清 soL-CXCL16 及 NT-proBNP 水平变化分析[J]. 重庆医学,2017,46(8):1036-1037,1041.
- [4] 王婷,李结华. hs-CRP、BNP 和 cTnI 联合检测对急性心肌梗死患者 PCI 术后 MACE 的预测价值[J]. 重庆医学,2017,46(3):380-382.
- [5] 董海秋,董梅,任法新. 雌激素水平对绝经后女性急性心肌梗死发生的影响研究[J]. 临床心血管病杂志,2017,7(2):153-156.
- [6] 谢小缺,王华,顾康生. 胃癌中长链非编码 RNA 和微小 RNA 的相关研究进展[J]. 安徽医科大学学报,2017,9(2):301-303.
- [7] 张浩,徐辰,刘洋,等. 微小 RNA-563 通过靶向抑制 SMURF1 基因促进后纵韧带细胞成骨分化的体外研究[J]. 中华外科杂志,2017,55(3):203-207.
- [8] XU B,ZHANG Y,DU X F,et al. Neurons secrete miR-132-containing exosomes to regulate late brain vascular integrity[J]. Cell Res,2017,27(7):882-897.
- [9] PICHLER S,GU W,HARTL D,et al. The miRNome of Alzheimer's disease: consistent downregulation of the miR-132/212 cluster[J]. Neurobiol Aging,2017,50(5):e1-10.
- [10] SHIH J W,CHIANG W F,WU A T,et al. Long noncoding RNA LncHIFCAR/MIR31HG is a HIF-1 α co-activator driving oral cancer progression[J]. Nat Commun,2017,8(5):15874.
- [11] KUWABARA Y,HORIE T,BABA O,et al. MicroRNA-451 exacerbates lipotoxicity in cardiac myocytes and high-fat diet-induced cardiac hypertrophy in mice through suppression of the LKB1/AMPK pathway[J]. Circ Res,2015,116(2):279-285.
- [12] 黄俊. 微小 RNA 在糖尿病视网膜病变新生血管生成中的研究进展[J]. 中华实验眼科杂志,2017,35(5):478-480.
- [13] 丁楠,李力. 外周血微小 RNA 在卵巢上皮性癌早期诊断、预后评估及疗效监测中的作用[J]. 中华妇产科杂志,2017,52(1):68-70.
- [14] 何佳,肖斌,孙朝晖. 血清微小 RNA 在肝癌诊断的应用进展[J]. 中华检验医学杂志,2017,40(1):72-76.
- [15] 刘忆南,邵蕾,魏文斌. 不同病理类型的葡萄膜黑色素瘤中微小 RNA 差异表达谱分析[J]. 中华实验眼科杂志,2017,35(9):778-785.
- [16] SUN X P,LV Z M,LI C H,et al. Identification and characterization of miR-31 potential targets by RNA-seq[J]. Fish Shellfish Immunol,2016,51(6):26-32.
- [17] 陈鑫玥,胡雪玲,孙丽华. miR-132 的生理功能及其在疾病中的作用[J]. 中国医药导报,2014,11(29):159-162.
- [18] 黄显莹,符方勇,陈清,等. miR-132 诱导动脉粥样硬化中血管内皮细胞的促炎症过程[J]. 实用医学杂志,2016;32(5):715-717.
- [19] ILIK I A,MATICZKA D,GEORGIEV P,et al. A mutually exclusive stem-loop arrangement in roX2 RNA is essential for X-chromosome regulation in Drosophila[J]. Genes Dev,2017,31(19):1973-1987.