

循环微小 RNA 识别冠状动脉粥样硬化不稳定斑块的价值研究

王磊 匡旭东

【摘要】 目的:探讨循环微小 RNA(miRNA)对冠状动脉粥样硬化斑块特征的识别价值。 方法:入选的 120 例急性冠脉综合征(ACS)患者,按斑块特点分为钙化斑块组($n=65$)、非钙化斑块组($n=55$),另选取同期 60 名健康体检者作为正常组。采集 3 组空腹静脉血检测 miRNA(miR-16、miR-126、miR-155、miR-21、miR-221、miR-222)的表达水平,采用受试者工作特征曲线进行分析并计算各种循环 miRNA 诊断非钙化斑块患者的曲线下面积(AUC)。 结果:非钙化斑块组、钙化斑块组及正常组的 miR-16、miR-126、miR-155、miR-21、miR-221 表达水平差异均具有统计学意义,非钙化斑块组的 miR-21 水平显著低于钙化斑块组和正常组;非钙化斑块组的 miR-16 水平显著高于钙化斑块组和正常组,差异均具有统计学意义(P 均 <0.05);循环 miRNA 诊断非钙化斑块均具有一定的价值,miR-16+miR-21 联合应用可以显著提高 AUC。 结论:外周血 miR-16、miR-21 水平表达与 ACS 患者的冠状动脉不稳定性斑块有关,可以作为判定斑块性质的诊断指标之一。

【关键词】 冠状动脉粥样硬化斑块;急性冠脉综合征;微小 RNA

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2018.05.012

Study on the value of circulating miRNA as a biomarker for the identification of unstable plaque in coronary artery WANG Lei, KUANG Xudong. Department of Cardiovascular Medicine, Hanchuan People's Hospital of Hubei Province, Hubei 431600, China

【Abstract】 **Objective:** To study the role of circulating miRNA in identifying the characteristics of coronary atherosclerotic plaque. **Methods:** A total of 120 patients with acute coronary syndrome were enrolled, including 65 patients with calcified plaque and 55 patients with non-calcified plaque. Sixty healthy subjects of the same period were selected as the normal group. The expressions of miRNAs (miR-16, miR-126, miR-155, miR-21, miR-221 and miR-222) were detected in three groups of fasting venous blood samples, area under receiver operating characteristic curve were used to analyze the diagnostic value of Circulating miRNAs in non-calcified plaque. **Results:** The expression levels of miR-16, miR-126, miR-155, miR-21 and miR-221 in non-calcified plaque group, calcified plaque group and normal group were all statistically significant ($P<0.05$). The level of miR-21 in the non-calcified plaque group was significantly lower than that in the calcified plaque group and the normal group ($P<0.05$). The level of miR-16 in the non-calcified plaque group was significantly higher than that in the calcified plaque group and the normal group ($P<0.05$). The circulating miRNAs had a certain value in diagnosing non-calcified plaques ($P<0.05$). Combined application of miR-16 and miR-21 can significantly improve the area under the ROC curve. **Conclusions:** The expression of miR-16 and miR-21 in peripheral blood is related to the unstable coronary plaque in patients with ACS, and it can be used as a diagnostic tool for determining the nature of the plaque.

【Key words】 Coronary atherosclerotic plaque; Acute coronary syndrome; MicroRNA

微小 RNA(microRNA, miRNA)可调控约 1/3 的编码 DNA,在多种疾病的发病机制中起着重要作用^[1],本研究主要探讨循环 miRNA 对冠状动脉粥样硬化斑块特征的诊断价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

经 64 层螺旋 CT 发现有冠状动脉粥样硬化斑块的 120 例患者,按斑块特点分为非钙化斑块组($n=55$),其中男性 32 例、女性 23 例,年龄 41~79 岁,平均(55.5 ± 7.8)岁;钙化斑块组($n=65$),男性 40 例、女性 25 例,年龄 42~79 岁,平均(56.3 ± 8.9)岁;另选择同期健康体检者作为正常组($n=60$),其中男性 36 例、女性 24 例,年龄 42~79 岁,平均(57.2 ± 8.4)岁。3 组的年龄、性别构成差异均无统计学意义($P>0.05$)。纳入标准:(1)非钙化斑块组为具有急性冠脉综合征(ACS)症状,如胸骨后疼痛、压迫感、烧灼感、紧缩压榨感等,症状持续时间 >10 min,经 64 层螺旋 CT 检查发现至少 1 支冠状动脉主干有典型的非钙化斑块(CT 值 <50 HU);(2)钙化斑块组为无典型的 ACS 临床症状,经 64 层螺旋 CT 检查至少 1 支冠状动脉主干存在典型的钙化斑块(CT 值 >50 HU)。排除合并急慢性感染、肿瘤、结缔组织疾病等。所有研究对象均知情同意。

1.2 方法

采用 64 排螺旋 CT(美国通用电气公司),扫描起点为气管隆突,扫描纵向从上至下到心尖部,患者吸气 1 次后屏气完成整个扫描,时长约为 6 s,使

用 Advantage Workstation 4.3 工作站处理图像。冠状动脉 Agatston 钙化积分用 Smart score 软件计算。

采集患者空腹血液样本 5 mL,按试剂盒说明书提取 RNA,采用 Northern 印迹分析法进行 miRNA 检测。试剂盒均购自上海岚派生物科技有限公司。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析,计量资料用均数±标准差表示,多组间比较采用单因素方差检验、组间两两比较采用 SNK 法 q 检验;相关性分析采用 Pearson 分析法,绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)并计算 miRNA 诊断非钙化斑块的曲线下面积(AUC)。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 miRNA 水平比较

非钙化斑块组、钙化斑块组及正常组 miR-16、miR-126、miR-155、miR-21、miR-221 表达水平的差异均具有统计学意义(P 均 <0.05),非钙化斑块组的 miR-21 水平显著低于钙化斑块组和正常组(P 均 <0.05);非钙化斑块组的 miR-16 水平显著高于钙化斑块组和正常组(P 均 <0.05),见表 1。

2.2 循环 miRNA 诊断非钙化斑块的价值

循环 miRNA 诊断非钙化斑块均具有一定的价值($P<0.05$),miR-16+miR-21 联合应用可以显著提高 AUC 值,见表 2。

表 1 循环 miRNA 水平比较

组别	<i>n</i>	miR-16	miR-126	miR-155	miR-21	miR-221	miR-222
正常组	60	1.66±0.08	1.02±0.10	0.90±0.07	0.87±0.09	0.35±0.13	0.21±0.11
钙化斑块组	65	1.68±0.09	0.81±0.08 ⁽¹⁾	1.12±0.11 ⁽¹⁾	0.60±0.12 ⁽¹⁾	0.04±0.10 ⁽¹⁾	0.19±0.10
非钙化斑块组	55	1.96±0.08 ⁽¹⁾⁽²⁾	0.84±0.09 ⁽¹⁾	1.09±0.09 ⁽¹⁾	0.35±0.10 ⁽¹⁾⁽²⁾	0.05±0.09 ⁽¹⁾	0.22±0.12
<i>F</i> 值		20.088	19.663	16.786	29.349	14.401	1.461
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	>0.05

注:与正常组比较,⁽¹⁾ $P<0.05$;与钙化组比较,⁽²⁾ $P<0.05$

表 2 循环 miRNA 诊断非钙化斑块的价值

指标	AUC	95%CI	<i>P</i> 值
miR-16	0.786	0.581~0.816	<0.05
miR-21	0.775	0.564~0.807	<0.001
miR-16+miR-21	0.885	0.694~0.929	<0.001

3 讨论

目前,识别心血管不稳定斑块主要通过高清影

像学检查和生化循环血标志物检测。64 排螺旋 CT 造影可以显示管腔狭窄的情况^[2],还能清晰显示传统冠状动脉造影无法显示或模糊的粥样斑块^[3];循环 miRNA 是一类游离于血浆或血清中的 miRNA,序列高度保守、稳定,可显著影响人蛋白质的转录及翻译过程,在各项生理功能发挥作用的过程中起着积极的调控作用^[4]。miRNA 具有组织病理表达特异性强、检测灵敏度高等特点,故近年来作为疾

病无创诊断和预后判断的生物指标之一。但对 miRNA 在不稳定冠状动脉粥样斑块的诊断中的机制尚不明确^[5-6]。寻找特异性出现在外周血中的 miRNA 对冠状动脉粥样硬化的及时诊治具有重要意义^[7-8]。在本研究中,非钙化斑块组的 miR-21 水平显著低于钙化斑块组和正常组;非钙化斑块组的 miR-16 水平显著的高于钙化斑块组和正常组,结果表明 miR-16 表达水平上调能够评估急性冠脉综合征患者病情程度,而 miR-21 水平下调也具有相同的评估功能。miR-16 与 miR-11(AUC=0.857)联合应用在诊断非钙化斑块方面的诊断价值高于单独检测 miR-16(AUC=0.786)或 miR-21(AUC=0.775), $P<0.05$ 。

综上所述,外周血 miR-16、miR-21 水平有望能作为判定斑块性质的血清学检测指标之一。

参 考 文 献

[1] Ballouz S, Liu JY, Oti M, et al. Candidate disease gene prediction using Gentrepid; application to a genome-wide association study on coronary artery disease[J]. Mol Genet Genomic Med, 2014, 2(1):44-57.

[2] 范雪松, 谷春, 王宪云, 等. miR-16 和 miR-21 作为冠脉不稳定斑块生物标志物的研究[J]. 中国循环杂志, 2013, 28

(S1):54.

[3] 杨中保. 血液循环和植物来源 miRNA 的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(3):271-274.

[4] Schulte C, Zeller T. microRNA-based diagnostics and therapy in cardiovascular disease-Summing up the facts[J]. Cardiovasc Diagn Ther, 2015, 5(1):17-36.

[5] 郁怡, 孙赬. 基质金属蛋白酶 9 与 2 型糖尿病并发冠状动脉粥样硬化关系的研究进展[J]. 中国心血管杂志, 2017, 22(2):147-150.

[6] 马小欣, 彭萍, 徐光泽, 等. 急性冠状动脉综合征患者血浆 MMP-2、MMP-9 水平变化的临床观察[J]. 心脑血管病防治, 2016, 16(5):353-355.

[7] Wang J, Hang T, Cheng XM, et al. Associations of C1q/TNF-Related protein-9 levels in serum and epicardial adipose tissue with coronary atherosclerosis in humans[J]. Biomed Res Int, 2015(2):971683.

[8] Yin X, Zhou L, Han F, et al. Beta-adrenoceptor activation by norepinephrine enhances lipopolysaccharide-induced matrix metalloproteinase-9 expression through the ERK/JNK-c-Fos pathway in human THP-1 cells[J]. J Atheroscler Thromb, 2017, 24(1):55-67.

(收稿:2017-12-20 修回:2018-05-15)

(本文编辑:丁媛媛)

(上接第 284 页)

[7] Fujimoto M, Takaki E, Hayashi T, et al. Active HSF1 significantly suppresses polyglutamine aggregate formation in cellular and mouse models[J]. J Biol Chem, 2005, 280(41):34908-34916.

[8] Santos SD, Fernandes R, Saraiva MJ. The heat shock response modulates transthyretin deposition in the peripheral and autonomic nervous systems[J]. Neurobiol Aging, 2010, 31(2):280-289.

[9] Teixeira PF, Cerca F, Santos SD, et al. Endoplasmic reticulum stress associated with extracellular aggregates-evidence from transthyretin deposition in familial amyloid polyneuropathy [J]. J Biol Chem, 2006, 281(31):21998-22003.

[10] Batulan Z, Shinder GA, Minotti S, et al. High threshold for induction of the stress response in motor neurons is associated with failure to activate HSF1[J]. J Neurosci, 2003, 23(13):5789-5798.

[11] Warrick JM, Chan HY, Gray-Board GL, et al. Suppression of polyglutamine-mediated neurodegeneration in Drosophila by the molecular chaperone HSP70[J]. Nat Genet, 1999, 23(4):425-428.

[12] Wiederrecht G, Seto D, Parker CS. Isolation of the gene encoding the S. cerevisiae heat shock transcription factor[J]. Cell, 1988, 54(6):841-853.

[13] Sakamoto M, Minamino T, Toko H, et al. Upregulation of heat shock transcription factor 1 plays a critical role in adaptive cardiac hypertrophy[J]. Circ Res, 2006, 99(12):1411-1418.

[14] Rapezzi C, Quarta CC, Riva L, et al. Transthyretin-related amyloidoses and the heart: a clinical overview[J]. Nat Rev Cardiol, 2010, 7(7):398-408.

(收稿:2017-11-10 修回:2018-02-15)

(本文编辑:丁媛媛)