

血清微小 RNA-302b 在老年急性心肌梗死患者中的诊断价值

羊子伦 羊壮绵 郑伟民 吴晓东 陈运起

【摘要】 目的:探讨微小 RNA-302b 在老年急性心肌梗死(AMI)患者中的表达及诊断价值。 方法:选取 125 例老年 AMI 患者(AMI 组)和 56 例健康体检者(对照组),比较两组血清 miR-302b、心肌肌钙蛋白 I(cTnI)及肌酸激酶同工酶(CK-MB)水平的变化。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-302b、cTnI 及 CK-MB 水平对老年 AMI 诊断的价值。老年 AMI 患者 miR-302b 水平与 cTnI、CK-MB 的相关性分析采用 Pearson 相关分析。 结果:AMI 组血清 miR-302b(4.20 ± 1.27 对 0.48 ± 0.14)、cTnI [(3.13 ± 1.32) ng/mL 对 (0.03 ± 0.01) ng/mL] 及 CK-MB [(70.42 ± 19.15) U/L 对 (10.63 ± 2.24) U/L] 水平均明显高于对照组(P 均 < 0.01)。ROC 曲线分析显示,miR-302b、cTnI 及 CK-MB 诊断 AMI 的临界值分别为 2.68、1.50 ng/mL、60.74 U/L,3 项联合诊断老年 AMI 的曲线下面积(AUC)最大,为 0.932(95%CI:0.870~0.981),其敏感度和特异度为 94.5%和 89.0%。相关分析显示,老年 AMI 患者血清 miR-302b 表达水平与 cTnI($r=0.817$)和 CK-MB($r=0.726$)均呈正相关(P 均 < 0.01)。 结论:血清 miR-302b 在老年 AMI 患者中呈高表达,与 cTnI、CK-MB 联合检测有助于提高老年 AMI 诊断的敏感度和特异度。

【关键词】 急性心肌梗死;微小 RNA-302b;诊断

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2019.05.014

急性心肌梗死(AMI)发病急骤,病情进展迅速,致死率较高^[1]。微小 RNA(miRNA)对心肌细胞功能具有调节作用,有望成为诊断 AMI 的生物标志物^[2]。近年来研究发现,miR-302b 与心血管疾病关系密切,参与心肌损伤的发生发展,并起着重要的基因调控作用^[3]。本研究通过检测老年 AMI 患者血清 miR-302b 的表达水平,分析其对 AMI 的诊断价值,旨在为老年 AMI 早期诊断提供参考依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2015 年 1 月至 2018 年 10 月儋州市中医医院收治的老年 AMI 患者 125 例作为 AMI 组,其中男性 79 例,女性 46 例,年龄 65~84 岁,平均年龄

(72.50 ± 6.92)岁。纳入标准:(1)符合 WHO 心肌梗死诊断和治疗指南制定的标准^[4];(2)年龄 ≥ 65 岁,且在发病 12 h 内采集血样。排除标准:(1)有陈旧性心肌梗死、慢性心力衰竭及心功能不全病史;(2)急性心肌炎,近期有脑血管事件;(3)肺源性心脏病、慢性阻塞性肺疾病、严重肝肾功能不全及自身免疫性疾病;(4)重度感染;(5)恶性肿瘤;(6)重大外伤及手术。另选取同期健康体检者 56 例作为对照组,其中男性 36 例,女性 20 例,年龄 65~78 岁,平均年龄(71.30 ± 6.82)岁。本研究经医院伦理委员会批准,并与所有研究对象签署知情同意书。

1.2 观测指标

所有研究对象均空腹抽取静脉血 5 mL,置于无抗凝剂的离心管中,离心分离血清, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱保存待测。应用 TaqMan MicroRNA Reverse Transcription 试剂盒逆转录已定量的 RNA,选用 U6 作为内参,反应体系为 15 μL ,反应参数为:

基金项目:海南省医学科研基金(16A500230)

作者单位:571799 儋州市中医医院老年病科(羊子伦,羊壮绵,吴晓东);571799 儋州,海南西部中心医院心血管内科(郑伟民,陈运起)

通信作者:郑伟民,Email:yz1897540493@163.com

16 ℃ 30 min;42 ℃ 30 min,85 ℃ 5 min。在 ABI 7500 型荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)上进行实时聚合酶链反应(RT-PCR)。采用 TaqMan MicroRNA Assay 试剂盒,反应体系为 20 μL: TaqMan MicroRNA Assay 1.00 μL, cDNA 1.33 μL, TaqMan 2× Universal PCR Master Mix 10.00 μL, ddH₂O 7.67 μL,混合后离心放入定量 PCR 仪。扩增条件为:95 ℃ 预热 10 min,95 ℃ 变性 15 s,60 ℃ 退火 60 s,45 个循环,最后 38 ℃ 延伸 5 s,实验重复 3 次。以 U6 为内参照,采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 miRNA 的相对表达水平,其中 ΔCt = Ct_{目的基因} - Ct_{U6}。

心肌肌钙蛋白 I(cTnI)采用贝克曼 DXI800 型全自动免疫分析仪通过化学发光法检测;总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)及肌酸激酶同工酶(CK-MB)水平检测采用贝克曼 AU5800 型全自动生化分析仪及配套试剂,操作严格按照仪器及试剂说明书进行。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析,数据以均数±标准差表示,组间比较采用 *t* 检验。计数资料以百分率(%)表示,组间比较采用卡方检验。绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析 miR-302b、cTnI 及 CK-MB 对老年 AMI 诊断的价值,曲线下面积(AUC)的比较采用 *Z* 检验。相关性分析采用 Pearson 相关分析。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AMI 组和对照组临床一般资料比较

AMI 组与对照组的性别、年龄、体质量指数、收缩压、舒张压、吸烟史、高血压史、糖尿病史、高脂血症、TC、TG、LDL-C 及 HDL-C 的差异均无统计学意义(*P* > 0.05)。见表 1。

2.2 AMI 组和对照组血清 miR-302b、cTnI 及 CK-MB 水平比较

AMI 组血清 miR-302b、cTnI 及 CK-MB 水平均明显高于对照组(*P* 均 < 0.01)。见表 2。

表 1 AMI 组与对照组临床一般资料比较

项目	对照组(<i>n</i> = 56)	AMI 组(<i>n</i> = 125)	χ ² / <i>t</i> 值	<i>P</i> 值
男性/例(%)	36(64.3)	79(63.2)	0.052	0.816
年龄/岁	71.30 ± 6.82	72.50 ± 6.92	0.542	0.605
体质量指数/kg · m ⁻²	23.48 ± 2.25	23.65 ± 2.40	0.472	0.633
收缩压/mmHg	128.35 ± 5.70	130.48 ± 6.14	0.628	0.536
舒张压/mmHg	77.64 ± 8.26	78.52 ± 7.38	0.711	0.437
吸烟史/例(%)	16(28.6)	39(31.2)	0.399	0.528
高血压史/例(%)	7(12.5)	25(20.0)	1.968	0.161
糖尿病史/例(%)	4(7.1)	18(14.4)	2.314	0.128
高脂血症/例(%)	8(14.3)	28(22.4)	2.126	0.145
TC/mmol · L ⁻¹	3.75 ± 0.80	4.19 ± 0.91	2.340	0.112
TG/mmol · L ⁻¹	1.42 ± 0.65	1.73 ± 0.84	1.986	0.171
LDL-C/mmol · L ⁻¹	2.34 ± 0.63	2.65 ± 0.80	1.952	0.183
HDL-C/mmol · L ⁻¹	1.23 ± 0.54	1.12 ± 1.08	1.341	0.268

表 2 AMI 组与对照组血清 miR-302b、cTnI 及 CK-MB 水平比较

组别	<i>n</i>	miR-302b	cTnI/ ng · mL ⁻¹	CK-MB/U · L ⁻¹
对照组	56	0.48 ± 0.14	0.03 ± 0.01	10.63 ± 2.24
AMI 组	125	4.20 ± 1.27	3.13 ± 1.32	70.42 ± 19.15
<i>t</i> 值		12.905	13.607	9.752
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001

2.3 miR-302b、cTnI、CK-MB 诊断老年 AMI 的价值

miR-302b、cTnI 及 CK-MB 诊断 AMI 的临界值分别为 2.68、1.50 ng/mL、60.74 U/L。3 项联合诊断老年 AMI 的 AUC 为 0.932(95%CI:0.870~0.981),明显高于单项 miR-302b(AUC=0.873,95%CI:0.811~0.930)、cTnI(AUC=0.887,

95%CI:0.826~0.950)或 CK-MB(AUC=0.718,95%CI:0.661~0.776),差异有统计学意义($Z=4.862$ 、 4.537 、 7.250 , P 均 <0.05),其敏感度和特异度分别为 94.5%和 89.0%。miR-302b 及 cTnI 诊断老年 AMI 的 AUC 相当,而且均明显高于 CK-MB,差异有统计学意义($Z=5.617$ 、 5.912 , P 均 <0.05)。见表 3、图 1。

表 3 miR-302b、cTnI、CK-MB 诊断老年 AMI 的价值

项目	最佳截值	标准误	AUC(95%CI)	P 值	敏感度(%)	特异度(%)	阳性预测值(%)	阴性预测值(%)
miR-302b	2.68	0.035	0.873(0.811~0.930)	<0.001	83.7	82.5	85.2	81.3
cTnI	1.50 ng/mL	0.030	0.887(0.826~0.950)	<0.001	86.0	84.2	87.3	83.5
CK-MB	60.74 U/L	0.056	0.718(0.661~0.776)	0.019	67.5	78.2	75.0	72.0
3 项联合	—	0.014	0.932(0.870~0.981)	<0.001	94.5	89.0	92.4	91.2

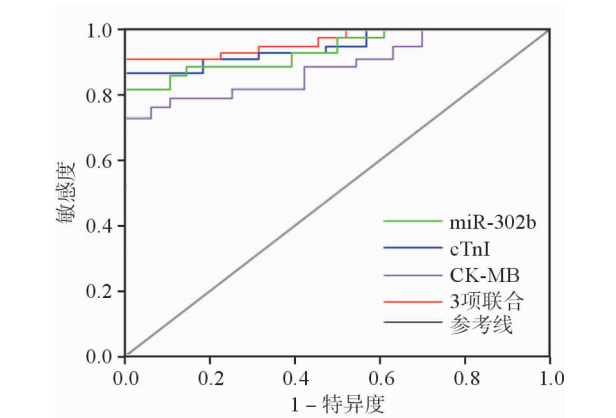


图 1 miR-302b、cTnI、CK-MB 诊断老年 AMI 的 ROC 曲线

2.4 血清 miR-302b 表达水平与 cTnI、CK-MB 的相关性分析

Pearson 相关分析显示,老年 AMI 患者血清 miR-302b 表达水平与 cTnI($r=0.817$)、CK-MB($r=0.726$)均呈正相关(P 均 <0.01)。

3 讨论

AMI 是老年人常见的急危重症,目前 cTnI、CK-MB 等传统心肌损伤标志物在 AMI 的诊疗中发挥着重要作用,但这些标志物诊断老年 AMI 的敏感度和特异度不高^[5]。Eggers 等^[6]研究证实,cTnI 在多种疾病治疗过程中可明显升高,在 AMI 早期诊断中存在一定缺陷。因此,有必要研究新型心肌损伤标志物,以期为 AMI 的早期诊断、早期治疗提供有利的佐证。miRNA 是可在转录水平调控基因表达的小分子非编码 RNA,参与心肌和血管平滑肌细胞的信号转导,并与心肌梗死、心律失常、心肌病和血管增生等疾病的病理生理有关^[7]。近期研究表明,miRNA 在细胞增殖、分化、发育及死亡过程中

发挥重要作用,有可能成为诊断心肌病变的新型生物标志物,这也为研究 AMI 发生机制提供了新的思路^[8]。cTnI 是心肌特有的结构蛋白,对心肌损伤有高度敏感性和特异性,是欧洲和美国指南中诊断 AMI 的首选生物标志物。当 AMI 患者的心肌发生坏死时,cTnI 才会释放到血液中,而 miRNA 可以稳定存在于血液中,且比 cTnI 更早释放入血液。CK-MB 是一种与心肌梗死密切相关的酶类,也是临床上诊断 AMI 的常用指标,但其预测早期 AMI 的效能欠佳^[9]。

本研究结果显示,AMI 组血清 miR-302b、cTnI 及 CK-MB 水平均明显高于对照组,提示血清 miR-302b 在老年 AMI 患者中高表达,可能参与 AMI 的发生发展。陈劲松等^[10]对 73 例 AMI 患者、49 例不稳定性心绞痛患者和 29 名健康老人血清 miRNA 进行分析,结果显示老年 AMI 患者 miRNA 的表达水平明显升高,高表达 miRNA 可能与心肌损伤或坏死有关。Guo 等^[11]研究发现,AMI 患者外周血中的 miRNA 表达水平显著升高,与 cTnI、CK-MB 均呈正相关,而且 miRNA 达峰时间早于 cTnI 及 CK-MB,可作为 AMI 早期诊断的生物标志物。本研究应用 ROC 曲线分析,结果显示 miR-302b 及 cTnI 诊断老年 AMI 的 AUC 相当,而且均明显高于 CK-MB,3 项联合诊断老年 AMI 的 AUC(0.932,95%CI:0.870~0.981)最大,其敏感度和特异度分别为 94.5%和 89.0%,提示 miR-302b 与 cTnI 和 CK-MB 联合检测有助于提高老年 AMI 诊断的准确性。相关性分析也显示,老年 AMI 患者血清 miR-302b 表达水平与 cTnI、CK-MB 均呈正相关。Yang 等^[12]的研究也表明,血清

miR-302b 是诊断 AMI 的新型生物标志物,在未来有广阔的应用前景。

综上所述,血清 miR-302b 在老年 AMI 患者中明显升高,其诊断老年 AMI 的效能与 cTnI 相当,可作为诊断老年 AMI 的生物标志物。miR-302b 与 cTnI、CK-MB 联合检测有助于提高老年 AMI 诊断的敏感度和特异度,但目前缺乏大样本临床随访研究支持,miRNA 的分析技术与结果判断标准也不统一,还需进一步验证 miR-302b 的临床应用价值。

参 考 文 献

- [1] Deng D, Liu L, Xu G, et al. Epidemiology and serum metabolic characteristics of acute myocardial infarction patients in chest pain centers[J]. Iran J Public Health, 2018, 47(7):1017-1029.
- [2] Chen Z, Li C, Lin K, et al. MicroRNAs in acute myocardial infarction: evident value as novel biomarkers? [J]. Anatol J Cardiol, 2018, 19(2):140-147.
- [3] Li G, Song Y, Li YD, et al. Circulating miRNA-302 family members as potential biomarkers for the diagnosis of acute heart failure[J]. Biomark Med, 2018, 12(8):871-880.
- [4] Mendis S, Thygesen K, Kuulasmaa KA, et al. World Health Organization definition of myocardial infarction: 2008-09 revision[J]. Int J Epidemiol, 2011, 40(1):139-146.
- [5] Mueller C, Auer J, Halvorsen S. Cardiac troponin elevations in acute non-coronary disease: helpful or not? [J]. Eur Heart J Acute Cardiovasc Care, 2015, 4(5):429-430.
- [6] Eggers KM, Lindahl B. Application of cardiac troponin in cardiovascular diseases other than acute coronary syndrome [J]. Clin Chem, 2017, 63(1):223-235.
- [7] Wu K, Zhao Q, Li Z, et al. Bioinformatic screening for key miRNAs and genes associated with myocardial infarction[J]. FEBS Open Bio, 2018, 8(6):897-913.
- [8] Sun T, Dong YH, Du W, et al. The role of MicroRNAs in myocardial infarction: from molecular mechanism to clinical application[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(4):e745.
- [9] Fan J, Ma J, Xia N, et al. Clinical value of combined detection of CK-MB, MYO, cTnI and plasma NT-proBNP in diagnosis of acute myocardial infarction[J]. Clin Lab, 2017, 63(3):427-433.
- [10] 陈劲松, 刘访遥, 刘运阳, 等. miR-214 在老年急性心肌梗死患者血清中的表达及其临床意义[J]. 中国急救医学, 2018, 38(4):341-344.
- [11] Guo ML, Guo LL, Weng YQ. Implication of peripheral blood miRNA-124 in predicting acute myocardial infarction [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(5):1054-1059.
- [12] Yang S, Fu C, Xu R, et al. Serum microRNA-302b: the novel biomarker for diagnosis of acute myocardial infarction [J]. Br J Biomed Sci, 2017, 74(4):214-216.

(收稿:2019-02-25 修回:2019-05-29)

(本文编辑:胡晓静)