

LncRNA-ZFAS1 在稳定性心绞痛患者中的表达及临床意义

赵沱 程涛 孙婧 白鹏飞

【摘要】 目的:观察长链非编码 RNA- 锌指结构反义转录本 1 (lncRNA-ZFAS1) 在稳定性心绞痛患者中的表达及临床意义。**方法:**选取 2019 年 6 月至 2021 年 6 月长安医院 108 例稳定性心绞痛患者为实验组,同期体检健康者 78 例为对照组。采用定时定量聚合酶链反应法比较 2 组血清 lncRNA-ZFAS1 的水平,采用硝酸还原酶法及酶联免疫吸附试验法分别检测血清一氧化氮 (NO)、内皮素 1 (ET-1)、超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA) 水平;采用受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) 评估 lncRNA-ZFAS1 对稳定性心绞痛的诊断价值。**结果:**与对照组相比,实验组患者血清 lncRNA-ZFAS1 表达明显上调 ($P<0.05$), NO、SOD 水平明显下调, ET-1、MDA 水平升高 ($P<0.05$); ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.788, 敏感度为 64.8%, 特异度为 85.9%。**结论:**lncRNA-ZFAS1 在稳定性心绞痛患者中高表达, 对诊断稳定性心绞痛具有一定价值。

【关键词】 长链非编码 RNA- 锌指结构反义转录本 1; 稳定性心绞痛; 受试者工作特征曲线
doi: 10.3969/j.issn.1673-6583.2023.03.015

长链非编码 RNA (lncRNA) 广泛参与各项生命活动的调控过程, 包括心力衰竭、心肌肥厚、心肌代谢疾病、心肌急性坏死等各心肌相关疾病^[1]。锌指结构反义转录本 1 (ZFAS1) 在心肌梗死小鼠模型中引起细胞 Ca^{2+} 超载, 诱导线粒体介导的细胞凋亡^[2]。这表明 ZFAS1 在心肌疾病中有重要作用^[3], 本研究观察 ZFAS1 在稳定性心绞痛患者血清中的表达及其与临床指标的相关性。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2019 年 6 月至 2021 年 6 月长安医院 108 例稳定性心绞痛患者为实验组, 同期健康体检者 78 例为对照组。实验组纳入标准: (1) 符合稳定性心绞痛的诊断标准^[4]; (2) 年龄 >15 岁; (3) 短期内未接受冠状动脉血运重建术。排除标准: (1) 合并心功能不全或急性心肌梗死, 且心功能 III 级以上; (2) 不稳定性心绞痛或缺血性心肌病; (3) 伴有严重肝功能、肾功能不全; (4) 收缩压 >180 mmHg 或舒张压 >100 mmHg; (5) 近期有手术史; (6) 合并恶性肿瘤。所有受试

者均签署知情同意书, 并经医院伦理委员会批准。

实验组男 59 例, 女 49 例, 年龄 (58.38 ± 18.29) 岁; 对照组男 40 例, 女 38 例, 年龄 (56.22 ± 15.30) 岁, 2 组受试者年龄 ($t=1.293$, $P=0.463$)、性别构成 ($\chi^2=0.204$, $P=0.652$) 差异均无统计学意义。

1.2 氧化应激及内皮功能指标

所有患者抽取清晨空腹静脉血 5 mL, 测定血清一氧化氮 (NO)、内皮素-1 (ET-1)、超氧化物歧化酶 (SOD) 及脂质过氧化物丙二醛 (MDA) 水平; NO 检测采用硝酸还原酶法 (上海研拓生物科技有限公司); ET-1 测定采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 法 (上海研尊生物科技有限公司); SOD、MDA 测定也采用 ELISA 法 (武汉菲恩生物科技有限公司), 均严格按照试剂盒步骤进行。

1.3 实时定量聚合酶链反应法检测 lncRNA-ZFAS1 表达

采用 TRIzol 法提取血清总 RNA, 通过琼脂糖凝胶电泳技术及分光光度计测定 RNA 的浓度和纯度后; 取 1 μg 总 RNA 反转录为 cDNA (lncRNA cDNA 试剂盒, 北京天根生物有限公司); 实时定量聚合酶链

反应 (RT-PCR) 检测 lncRNA-ZFAS1 表达。lncRNA-ZFAS1 上游引物为 5'-ACGTGCAG ACATCTACAACCT-3', 下游引物为 5'-TACTTCCA ACACCCGCAT-3'; 内参为 β -actin, 上游引物为 5'-TGGCAGCCAGCACAATGAA-3', 下游引物为 5'-GTCATAGTCCGCCTAGAAGC-3', 所有引物由上海生工合成。95℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 15 s, 60℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 30 s, 进行 40 个循环, 重复 3 次。反应结束后采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算 lncRNA-ZFAS1 的相对表达水平。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 23.0 和 Origin 9.1 进行数据分析, 计量数据采用均数 \pm 标准差表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; 受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) 评估 lncRNA-ZFAS1 对稳定性心绞痛的早期诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA-ZFAS1 表达比较

与对照组相比, 实验组患者血清 lncRNA-ZFAS1 表达明显上调 (1.14 ± 0.37 对 1.74 ± 0.44), 差异有统计学意义 ($t = -7.338$, $P < 0.01$)。

2.2 氧化应激及内皮功能指标比较

与对照组相比, 实验组 NO、SOD 水平下调, 而 ET-1、MDA 水平升高。见表 1。

表1 2组氧化应激及内皮功能指标比较

指标	对照组 ($n=78$)	实验组 ($n=108$)	t	P
NO/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	63.46 ± 11.08	46.36 ± 10.11	11.356	< 0.001
ET-1/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	40.65 ± 10.14	46.44 ± 9.67	-8.514	< 0.001
SOD/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	71.45 ± 10.34	51.76 ± 9.41	11.308	< 0.001
MDA/ $\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$	3.84 ± 0.48	6.25 ± 0.4	-8.451	< 0.001

2.3 lncRNA-ZFAS1 对稳定性心绞痛的诊断价值

ROC 曲线评估 lncRNA-ZFAS1 对稳定性心绞痛的诊断价值, 曲线下面积 (AUC) 为 0.788, 95%CI 为 0.723~0.854, Youden 指数 0.507, 敏感度为 64.8%, 特异度为 85.9%。见图 1。

3 讨论

非编码 RNA 可通过调控转录或转录后水平、表观遗传学等多种途径参与多种生理病理活动, 包括肿瘤的发生发展、神经系统功能调控^[5-9]。

ZFAS1 位于含 NFX-1 型锌指结构启动子区反义链上, 已有多个研究发现 ZFAS1 与癌症进展密切

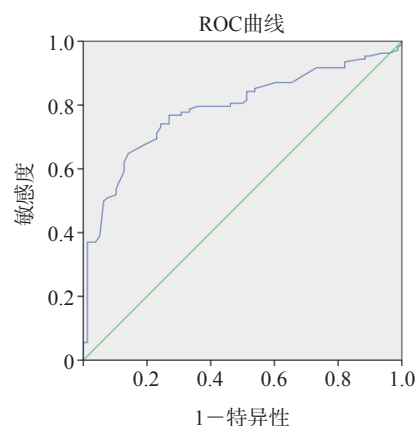


图1 lncRNA-ZFAS1对稳定性心绞痛的诊断价值

相关, 吴峰等^[10]发现肝细胞癌患者血清外泌体中 ZFAS1 显著上调, 并且与不良预后有明显的相关性。Zhang 等^[11]发现 lncRNA-ZFAS1/miR-589 介导磷酸酯酶与张力蛋白同源物/磷脂酰肌醇 3-激酶 (PTEN/PI3K/AKT) 信号通路调控乳腺癌细胞增殖、侵袭和迁移。研究发现 ZFAS1 通过诱发心脏钙超载诱导心肌梗死模型小鼠心肌细胞凋亡^[12]。在心肌纤维化模型的小鼠心脏组织中 ZFAS1 表达显著升高, 并且干扰 lncRNA-ZFAS1 表达后, III 型胶原蛋白 $\alpha 1$ 和转化生长因子 $\beta 1$ 的表达明显下调, 进而抑制心肌纤维化进展^[13]。本研究发现, 与健康体检者相比, 稳定性心绞痛患者血清中 ZFAS1 表达显著升高, 采用 ROC 曲线评估其对稳定性心绞痛的诊断, AUC 为 0.788。ZFAS1 对心脏的影响机制可能包括: (1) 作为微小 RNA (miRNA) 的分子海绵, 与 miRNA 靶向结合, 调控 miRNA 靶基因 mRNA 的翻译过程; (2) 影响细胞通路调控心肌细胞凋亡、增殖及迁移; (3) 通过调节细胞氧化应激传导、分子代谢、 Ca^{2+} 通道等影响心肌功能^[3,14-15]。

氧化应激和内皮功能异常是稳定性心绞痛重要的发病机制。本研究还发现实验组 NO、SOD 水平下降, 而 ET-1、MDA 水平升高, 与既往研究一致。

参考文献

- [1] Yan L, Zhang Y, Zhang W, et al. lncRNA-NRF is a potential biomarker of heart failure after acute myocardial infarction[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2020, 13(6):1008-1015.
- [2] Zhu XH, Yuan YX, Rao SL, et al. lncRNA MIAT enhances cardiac hypertrophy partly through sponging miR-150[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016, 20(17):3653-3660.
- [3] Jiao L, Li MM, Shao YC, et al. lncRNA-ZFAS1 induces mitochondria-mediated apoptosis by causing cytosolic Ca^{2+}

- overload in myocardial infarction mice model[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(12):942.
- [4] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 慢性稳定性心绞痛诊断与治疗指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2007, 35(3):195-206.
- [5] Feng LL, Shen FR, Zhou JH, et al. Expression of the lncRNA-ZFAS1 in cervical cancer and its correlation with prognosis and chemosensitivity[J]. *Gene*, 2019, 696:105-112.
- [6] Tang BH. Inference of crosstalk effects between DNA methylation and lncRNA regulation in NSCLC[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018:7602794.
- [7] Chao YJ, Zhou DJ. lncRNA-D16366 is a potential biomarker for diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25:6581-6586.
- [8] Jiang JJ, Piao XY, Hu SY, et al. lncRNA H19 diminishes dopaminergic neuron loss by mediating microRNA-301b-3p in Parkinson's disease via the HPRT1-mediated Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(10):8820-8836.
- [9] Li YW, Wang J, Sun LL, et al. lncRNA myocardial infarction-associated transcript (MIAT) contributed to cardiac hypertrophy by regulating TLR4 via miR-93[J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 818:508-517.
- [10] 吴锋, 王翠香, 田华. 肝细胞癌患者血清外泌体 lncRNAZFAS1 表达临床意义[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2019, 26(12):849-854.
- [11] Zhang S, Wang J, Yao TJ, et al. lncRNA-ZFAS1/miR-589 regulates the PTEN/PI3K/AKT signal pathway in the proliferation, invasion and migration of breast cancer cells[J]. *Cytotechnology*, 2020, 72(3):415-425.
- [12] 焦磊. 长链非编码RNA-ZFAS1通过诱发心脏钙超载诱导心肌梗死模型小鼠心肌细胞凋亡[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2019, 33(10):810-811.
- [13] 焦磊, 宫曼钰, 张莹. lncRNA-ZFAS1对心肌纤维化调控作用研究[J]. *中国药理学通报*, 2021, 37(1):38-42.
- [14] 梁海军, 颜文华, 梁宇晨. ST段抬高型心肌梗死患者 lncRNA-ZFAS1/Caspase-3轴的变化及其与急诊PCI预后的关系[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(7):611-616.
- [15] Xiang X, Zheng L, Li X. Silencing of lncRNA-ZFAS1 protects against hypoxia/reoxygenation-induced injury in HL-1 cells through targeting the miR-761/CDIP1 axis[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2020, 76(5):564-573.
- (收稿:2022-10-14 修回:2022-12-08)
(本身编辑:丁媛媛)

=====

(上接第 150 页)

- [18] Cox ZL, Rao VS, Ivey-Miranda JB, et al. Compensatory post-diuretic renal sodium reabsorption is not a dominant mechanism of diuretic resistance in acute heart failure[J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(43):4468-4477.
- [19] Mullens W, Damman K, Harjola VP, et al. The use of diuretics in heart failure with congestion—a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology[J]. *Eur J Heart Fail*, 2019, 21(2):137-155.
- [20] Rao VS, Ivey-Miranda JB, Cox ZL, et al. Natriuretic equation to predict loop diuretic response in patients with heart failure[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2021, 77(6):695-708.
- [21] Ter Maaten JM, Beldhuis IE, van der Meer P, et al. Natriuresis-guided therapy in acute heart failure: rationale and design of the Pragmatic Urinary Sodium-based treatment algorithm in Acute Heart Failure (PUSH-AHF) trial[J]. *Eur J Heart Fail*, 2022, 24(2):385-392.
- [22] Dauw J, Lelonek M, Zegri-Reiriz I, et al. Rationale and design of the efficacy of a standardized diuretic protocol in acute heart failure study[J]. *ESC Heart Fail*, 2021, 8(6):4685-4692.
- [23] Khorramshahi Bayat M, Ngo L, Mulligan A, et al. The association between urinary sodium concentration (UNa) and outcomes of acute heart failure: a systematic review and meta-analysis[J]. *Eur Heart J Qual Care Clin Outcomes*, 2022, 8(7):709-721.
- [24] de la Espriella R, Núñez E, Llàcer P, et al. Early urinary sodium trajectory and risk of adverse outcomes in acute heart failure and renal dysfunction[J]. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, 2021, 74(7):616-623.
- [25] Cunningham JW, Sun JL, mc Causland FR, et al. Lower urine sodium predicts longer length of stay in acute heart failure patients: insights from the ROSE AHF trial[J]. *Clin Cardiol*, 2020, 43(1):43-49.
- [26] Wongboonsin J, Thongprayoon C, Bathini T, et al. Acetazolamide therapy in patients with heart failure: a meta-analysis[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(3):349.
- [27] Verbrugge FH, Dupont M, Bertrand PB, et al. Determinants and impact of the natriuretic response to diuretic therapy in heart failure with reduced ejection fraction and volume overload[J]. *Acta Cardiol*, 2015, 70(3):265-273.
- [28] Miller WL. Fluid volume overload and congestion in heart failure: time to reconsider pathophysiology and how volume is assessed[J]. *Circ Heart Fail*, 2016, 9(8):e002922.
- [29] Boersma EM, Ter Maaten JM, Damman K, et al. Congestion in heart failure: a contemporary look at physiology, diagnosis and treatment[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(10):641-655.
- [30] Desai AS, Mc Causland FR. Urinary sodium as a heart failure biomarker: more complicated than it seems[J]. *JACC Heart Fail*, 2019, 7(5):415-417.
- (收稿:2022-09-12 修回:2022-11-28)
(本文编辑:丁媛媛)