

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2015.04.024

View this article at: http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2015.04.024

microRNA-208在急性心肌梗死患者外周血中的表达及意义

史万青¹, 高明珠², 韩志君²

(1. 滁州市第一人民医院心血管内科, 安徽 滁州 239000; 2. 无锡市第二人民医院检验科, 江苏 无锡 214002)

[摘要] 目的: 通过分析microRNA-208在急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)患者外周血中含量的变化, 探讨microRNA-208在AMI疾病进展中的作用。方法: 连续性收集2013年1月~2013年12月滁州市第一人民医院心血管内科和急诊科收治的急性心肌梗死(AMI)患者42例, 不稳定心绞痛(unstable angina, UA)患者22例, 健康体检志愿者20名, 荧光定量PCR测定外周血microRNA-208的含量, 电化学发光法检测血浆cTnI和CK-MB的水平。AMI组患者根据不同冠脉病变支数和接受急诊经皮冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention, PCI)治疗进行分组, 对比各组患者外周血microRNA-208水平的差异。结果: AMI患者外周血microRNA-208的水平显著高于UA组和健康对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.01$), AMI患者外周血microRNA-208的水平与血清cTnI含量呈正相关($r = 0.700$, $P = 0.000$)。24例行冠状动脉造影术的AMI组患者中, microRNA-208的表达在两支及三支病变中高于单支病变($P < 0.01$), 17例成功接受急诊PCI治疗的AMI患者, 其症状发作后的24h血浆microRNA-208水平较入院即刻时明显降低($P < 0.01$)。结论: 心肌细胞特异性的microRNA-208在心肌梗死后外周血含量明显升高, 随着血管狭窄严重程度的升高其浓度也显著变化, 可以作为辅助监测急性心肌梗死的敏感的生物标志物。

[关键词] microRNA-208; 急性心肌梗死; 生物学标记

Changes of microRNA-208 level in plasma of acute myocardial infarction patient and its clinical significance

SHI Wanqing¹, GAO Mingzhu², HAN Zhijun²

(1. Department of Cardiology, Chuzhou first People's Hospital of Anhui Medical University, Chuzhou Anhui 239000; 2. Department of Laboratory Medicine, Wuxi Second People's Hospital of Nanjing Medical University, Wuxi Jiangsu 214002, China)

Abstract **Objective:** To study the change of cardio-specific microRNA-208 levels in acute myocardial infarction patients and to explore the effect of microRNA-208 levels on the diagnosis of AMI. **Methods:** The consecutive subjects in roll in this study, including 42 patients with AMI, 22 patients with UA and 40 healthy subjects in our hospital from January 2013 to December 2013, microRNA-208 concentrations were measured with real-time reverse-transcription PCR, all the clinical data of patients was collected. AMI patients were further divided into subgroups

收稿日期 (Date of reception): 2015-02-15

通信作者 (Corresponding author): 高明珠, gaomingzhujewel@163.com; 韩志君, Email: zjhan1125@163.com

基金项目 (Foundation item): 无锡市医院管理中心医学科技项目 (YGM1119)。This work was supported by Science and Technology Projects of Wuxi City (YGM1119), P.R. China.

according to coronary arteries involved and primary PCI or not, Plasma microRNA-208 concentrations were analyzed. Serum Cardiac troponin I (cTnI) and creatine kinase-MB (CK-MB) concentrations were measured. **Results:** microRNA-208 expression was significantly higher in the AMI patients than that in the UA patients group and healthy controls immediately after admission ($P<0.01$). The Plasma microRNA-208 in the patients with AMI had a positive correlation with serum cTnI ($P<0.01$). MicroRNA-208 levels in AMI patients with two- and three-vessel coronary artery disease (CAD) were significantly higher than those in patients with single vessel CAD ($P<0.05$). microRNA-208 level at admission was significantly higher than that 24h after PCI in AMI patients ($P<0.01$). **Conclusion:** The circulation miRNA-208 was found to be linearly to myocardial damage and may prove to be a new biomarker of AMI.

Keywords microRNA-208; acute myocardial infarction; biomarker

MicroRNA是一组内源性高度保守的单链非编码RNA小分子, 由20多个核苷酸组成, 通过抑制靶基因信使RNA(mRNA)翻译或促进mRNA降解等方式调控基因的表达^[1]。近年来的研究发现, 人体外周血存在循环microRNA, 这些microRNA是一类潜在的生物学标记, 可以为肿瘤^[2]、组织损伤^[3]、自身免疫性疾病^[4]等临床常见疾病的诊疗提供重要信息。

循环MicroRNA是非常稳定的, 有作为心血管疾病的生物标记物的潜力^[5], 已有研究推荐MicroRNA-1、MicroRNA-133、MicroRNA-208、MicroRNA-499为急性心肌梗死有价值的标记物^[6]。早期研究^[7-8]表明, miRNA-208特异性表达于心肌细胞, 是一种潜在的心肌损伤标志物, 后续的临床研究也逐渐发现miRNA-208对心肌梗死具有一定的诊断价值。但这方面的研究结论不完全一致, 因此, 仍有必要进一步进行研究, 以积累更多的证据。本研究通过对AMI患者冠状动脉造影和PCI治疗前后血浆中microRNA-208水平的变化进行分析, 进一步证实microRNA-208作为AMI治疗评估检测标志物的潜力。

1 材料与方法

1.1 研究对象

连续性地招募2013年1月~2013年12月期间于我院心血管内科和急诊科收治的急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)患者42例, 不稳定心绞痛(unstable angina, UA)患者22例。入选标准: AMI的诊断标准以及排除依据均为2007年欧洲心脏病学会(European Society of Cardiology, ESC)、美国心脏协会(American Heart Association, AHA)、美国心脏病学会基金会(American College of Cardiology Foundation, ACCF)和世界心脏联盟

(World Heart Federation, WHF)制定的心肌梗死标准^[9]。所有患者排除肝肾等慢性疾病。同期选择我院健康体检者20例(均无心脏及肝肾疾病)作为正常对照组。本研究得到了滁州市第一人民医院伦理委员会认可, 并得到所有纳入的研究对象的同意。

AMI组于症状发作后12 h内、24 h取血, UA组于入院即刻采血, 健康组于清晨空腹采血。所有标本均用EDTA抗凝管收集, 4 ℃ 3 000 g离心10 min分离血浆。取上清液置于无RNA酶的EP管中, 存储于-80 ℃冰箱备用。

1.2 资料的采集

收集患者住院期间的基础资料和临床资料, 包括患者的年龄、性别、身高、体重、吸烟史、是否合并糖尿病、高血压病、血脂、肌酐等; 收集AMI组患者入院后是否接受急诊经皮冠状动脉介入(percutaneous coronary intervention, PCI)治疗以及冠脉造影记录。

1.3 microRNA-208 的检测

采用Qiagen公司的miRNeasy RNA isolation试剂盒提取血浆总RNA, 然后Applied BioSystems公司的Taq-Man miRNA Reverse Transcription试剂盒进行逆转录, 最后以Applied BioSystems公司的miRNA-208和U6检测试剂盒检测血浆miRNA-208和U6。每个样本均进行三次检测, 应用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算miRNA-208的相对表达水平并对其进行 $\log_2^{-\Delta\Delta CT}$ 转换^[10-11], $\Delta\Delta CT = \text{实验组}(CT_{\text{MicroRNA-208}} - CT_{\text{U6}}) - \text{对照组}(CT_{\text{MicroRNA-208}} - CT_{\text{U6}})$, 我们采用 $-\Delta\Delta CT$ 表达MicroRNA-208的相对水平。

1.4 cTnI 和 CK-MB 检测

CK-MB和cTnI的检测仪器为OLYMPUS AU5421全自动生化分析仪。

1.5 统计学处理

分类变量之间的比较采用卡方检验或者Fisher确切概率法。连续变量以均值±标准差的形式表示,以单因素方差分析或Kruskal-Wallis H检验比较多组之间的差异是否具有统计学意义,配对样本t检验比较成对样本均数之间的差异是否有统计学意义,三组资料的比较采用Kruskal-Wallis H检验或单因素方差分析,组间比较采用LSD-t法。设定 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的临床特征

本研究共纳入42例AMI患者,22例UA患者,20例健康志愿者作为对照组。临床特征资料见

表1 研究对象的临床特征

Table 1 Baseline characteristics of the patients and healthy control

组别	AMI	UA	健康组	P值
样本量/例	42	22	20	-
年龄/岁	69.2 ± 7.4	67.4 ± 5.4	68.1 ± 6.3	0.560 [#]
性别(男/女)	34/8	19/3	14/6	0.418 [#]
高血压史/例(%)	26(61.9)	10(45.5)	2(10)	0.001 [#]
糖尿病史/例(%)	9(21.4)	6(27.2)	0(0)	0.079 [#]
吸烟史/例(%)	26(61.9)	12(54.5)	7(35)	0.138 [#]
TC/mmol·L ⁻¹	4.12 ± 0.99	4.06 ± 1.11	3.72 ± 0.89	0.344 [#]
TG/mmol·L ⁻¹	1.69 ± 0.82	1.95 ± 1.19	1.44 ± 0.78	0.211 [#]
HDL/mmol·L ⁻¹	1.11 ± 0.27	1.12 ± 0.36	1.23 ± 0.41	0.393 [#]
LDL/mmol·L ⁻¹	2.69 ± 0.96	2.57 ± 1	2.20 ± 0.81	0.159 [#]
肌酐/μmol·L ⁻¹	71.6 ± 13.47	69.2 ± 14.52	67.4 ± 11.5	0.483 [#]

[#]表示三组(健康个体、UA患者、AMI患者)的总体P值。

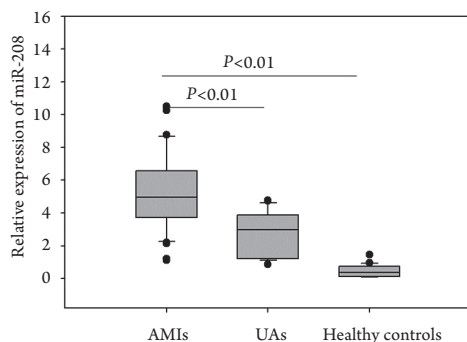


图1 研究对象外周血 MicroRNA-208 丰度分析

Figure 1 The levels of plasma microRNA-208 in the patients

表1。三组患者在性别,年龄等基础临床特征方面均无统计学差异($P > 0.05$)。

2.2 急性心肌梗死患者外周血 MicroRNA-208 的丰度分析

如图1所示,AMI患者外周血MicroRNA-208水平较UA组和健康个体明显增高,差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。

2.3 MicroRNA-208 与肌钙蛋白和 CK-MB 的相关性

相关性分析结果表明, MicroRNA-208与cTnT具有一定的相关性($r = 0.700$, $P = 0.000$),但MicroRNA-208与CK-MB之间的相关性无统计学意义($r = 0.27$, $P = 0.17$),结果见图2。

2.4 AMI 患者不同冠状动脉病变对 MicroRNA-208 水平的影响

42例AMI患者共有24例行过冠状动脉造影术,根据其血管病变支数($n = 1, 2, 3$)分为3组, microRNA-208的相对表达水平分别为 3.49 ± 1.76 、 5.74 ± 2.76 、 7.51 ± 2.4 ,两支、三支病变的AMI患者血浆microRNA-208的水平高于单支病变($P < 0.01$),结果见图3。

2.5 PCI 治疗前后 microRNA-208 水平变化

42例AMI患者中有17例成功接受急诊PCI治疗,25例未行急诊PCI治疗。如图4所示,接受PCI治疗的患者24 h循环microRNA-208相对表达水平(2.81 ± 1.19),较入院即刻(6.5 ± 2.3)明显降低($P < 0.01$)。

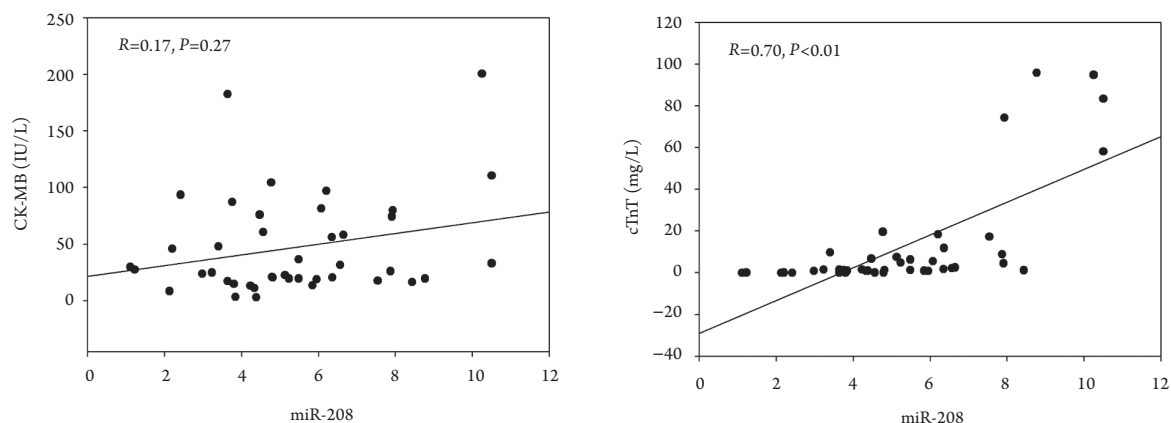


图2 MicroRNA-208与肌钙蛋白和CK-MB的相关性

Figure 2 The correlations between microRNA-208 and concentration of cTnI and CK-MB

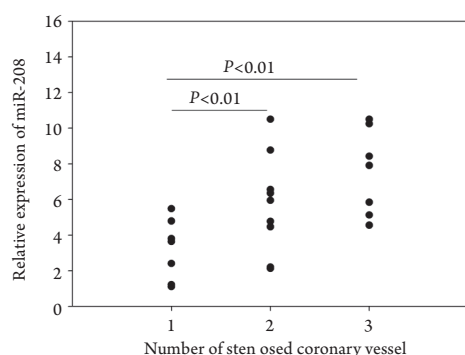


图3 AMI组冠脉病变与microRNA-208水平的比较

Figure 3 microRNA-208 and the severity of coronary atherosclerosis

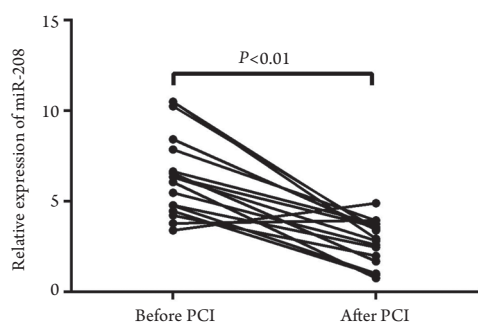


图4 PCI治疗前后microRNA-208水平变化

Figure 4 microRNA-208 expression in AMI patients after emergency PCI

3 讨论

及时、快速地诊疗心肌梗死至关重要，虽然肌钙蛋白，CK-Mb为代表的肌损伤标志物在急性心肌梗死的诊疗中发挥着无法替代的作用，但这些标志物仍然不足以绝对准确地诊疗急性心肌梗死。因此，仍然有必要进一步挖掘新的心肌损伤标志物，以丰富急性心肌梗死的诊疗体系。

我们之前对血浆microRNA-499在急性心肌梗死的早期诊断价值进行了初步研究^[12]，结果表明血浆microRNA-499是诊断AMI的有益标志物，可以提供cTnI以外的诊断信息，二者联合应用有助于提高AMI的诊断准确性。本课题是系列研究，我们本次研究在于观察microRNA-208是否可以反映病情的变化并作为疾病监测的标志物。我们研究发现，AMI组患者症状发作12 h内，血浆microRNA-208的水平明显高于UA组和健康对照组，且与CK-MB及cTnI的表达水平呈正相关，这和Bostjancic的研究结果，microRNA-208的水平在心肌梗死后12 h明显升高的研究结果相似^[13]，这说明microRNA-208可以作为反映急性肌损伤的良好指标，我们研究还发现UA患者的血浆microRNA-208水平较对照组也有一定的升高，这可能与缺血心肌组织收缩，释放增加有关。

我们还发现，两支、三支病变患者的microRNA-208水平比单支病变的水平升高，这研究结果提示microRNA-208对冠状动脉病变损伤程度有一定的预测作用。这可能的原因是，AMI过程中的形成不稳定的粥样斑块破裂，引起冠状动脉出血，血管腔内血栓形成而使管腔闭塞，继而引

起心肌细胞急性持续性缺血缺氧而导致坏死。

同时, 我们还发现PCI治疗后24 h, AMI患者microRNA-208水平明显降低, 这说明, 成功的临床干预治疗可降低AMI患者microRNA-208表达, 这提示microRNA-208对评估急性心肌梗死患者心肌缺血有效再灌注有重要的价值, 对评估早期的临床干预治疗有一定的意义, 因此, 说明microRNA-208对临床病情的监测的价值。

总之, 本研究初步发现循环microRNA-208是心肌梗死的诊疗有益标志物, 为阐明microRNA-208在急性心肌梗死诊疗体系评估中的价值继续增加新的证据。

参考文献

1. Ambros V. The functions of animal microRNAs[J]. *Nature*, 2004, 431(7006): 350-355.
2. Bartels CL, Tsongalis GJ. MicroRNAs: novel biomarkers for human cancer[J]. *Clin Chem*, 2009, 55(4): 623-631.
3. Zhang Y, Jia Y, Zheng R, et al. Plasma microRNA-122 as a biomarker for viral-, alcohol-, and chemical-related hepatic diseases[J]. *Clin Chem*, 2010, 56(12): 1830-1838.
4. Carlsen AL, Schetter AJ, Nielsen CT, et al. Circulating microRNA expression profiles associated with systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 2013, 65(5): 1324-1334.
5. Gupta SK, Bang C, Thum T. Circulating microRNAs as biomarkers and potential paracrine mediators of cardiovascular disease[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2010, 3(5): 484-488.
6. Rayner K, Dimmeler S, Calin GA, et al. Novel biomarkers for acute myocardial infarction: is microRNA the new kid on the block?[J]. *Clin Chem*, 2014, 60(6): 812-817.
7. Widera C, Gupta SK, Lorenzen JM, et al. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 51(5): 872-875.
8. Kukreja RC, Yin C, Salloum FN. MicroRNAs: new players in cardiac injury and protection[J]. *Mol Pharmacol*, 2011, 80(4): 558-564.
9. Thygesen K, Alpert JS, White HD; Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction, et al. Universal definition of myocardial infarction[J]. *Circulation*, 2007, 116(22): 2634-2653.
10. Wang GK, Zhu JQ, Zhang JT, et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans[J]. *Eur Heart J*, 2010, 31(6): 659-666.
11. Devaux Y, Vausort M, Goretti E, et al. Use of circulating microRNAs to diagnose acute myocardial infarction[J]. *Clin Chem*, 2012, 58(3): 559-567.
12. 韩志君, 史万青, 沈红远, 等. 血浆miR-499对急性心肌梗死的诊断价值[J]. *中华检验医学杂志*[J]. 2013, 36(12): 1096-1099. HAN Zhijun, SHI Wanqing, SHEN Hongyuan, et al. Diagnostic performance of plasma miR-499 for acute myocardial infarction[J]. *Chinese Journal of Laboratory Medicine*, 2013, 36(12): 1096-1099.
13. Bostjancic E, Zidar N, Stajer D, et al. MicroRNAs miR-1, miR-133a, miR-133b and miR-208 are dysregulated in human myocardial infarction[J]. *Cardiology*, 2010, 115(3): 163-169.

本文引用: 史万青, 高明珠, 韩志君. microRNA-208 在急性心肌梗死患者外周血中的表达及意义 [J]. *临床与病理杂志*, 2015, 35(4): 648-652. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2015.04.024

Cite this article as: SHI Wanqing, GAO Mingzhu, HAN Zhijun. Changes of microRNA-208 level in plasma of acute myocardial infarction patient and its clinical significance[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2015, 35(4): 648-652. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2015.04.024