

· 临床研究 ·

# 急性冠脉综合征患者血清 microRNA-21 的表达及其与斑块稳定性的关系

李晓婷, 王太昊, 崔晓燕, 吴从印, 李文婷, 曾敏

海南省人民医院医疗保健中心, 海南 海口 570311

**摘要:** **目的** 研究 microRNA-21 (miR-21) 在急性冠脉综合征 (ACS) 患者血清的表达情况, 探讨 miR-21 对 ACS 的诊断价值, 并分析其与斑块稳定性的关系。 **方法** 选择 2016 年 1 月至 2018 年 1 月收治的 45 例 ACS 患者为研究对象, 另选择 45 例冠状动脉狭窄程度 <30% 的患者作为对照组, 收集患者的一般资料, 采用 RT-PCR 检测患者血清 miR-21 的表达水平, 并采用光学相干断层扫描 (OCT) 检测斑块的稳定性指标。通过受试者工作特征 (ROC) 分析的方法计算曲线下面积 (AUC), 计算 miR-21 对斑块稳定的诊断价值, 对 miR-21 与易损斑块的相关性进行分析。 **结果** 与对照组比较, ACS 患者血清 miR-21 明显升高 ( $9.87 \pm 0.648$  vs  $2.37 \pm 0.795$ ,  $P < 0.01$ ); miR-21 诊断 ACS 的 AUC 为 0.9814; miR-21 与易损斑块的数目、脂质核心的最大面积、巨噬细胞的数量呈线性正相关 ( $P < 0.01$ )。 **结论** ACS 患者血清 miR-21 表达显著升高, 与斑块的稳定性呈线性正相关, 或可作为 ACS 的诊断性指标及预后评价指标。

**关键词:** 急性冠状动脉综合征; 微小核糖核酸-21; 光学相干断层扫描; 冠状动脉; 易损斑块

**中图分类号:** R 541.4 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2020)09-1197-04

## Serum microRNA-21 level and its relationship with plaque stability in patients with acute coronary syndrome

LI Xiao-ting, WANG Tai-hao, CUI Xiao-yan, WU Cong-yin, LI Wen-ting, ZENG Min

Department of Health Care, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou, Hainan 570311, China

Corresponding author: ZENG Min, E-mail: hndzm6@126.com

**Abstract: Objective** To study the serum level of microRNAs-21 (miR-21) in the patients with acute coronary syndrome (ACS) to explore the diagnostic value of miR-21 in ACS and the relationship between miR-21 and plaque stability. **Methods** Forty-five patients with ACS treated from January 2016 to January 2018 were selected as the research object (ACS group), and 45 patients with coronary artery stenosis less than 30% were selected as the control group. After collecting the general data of patients, the serum level of miR-21 was detected by RT-PCR, and the plaque stability was measured by optical coherence tomography (OCT). The area under the curve (AUC) of receiver operating characteristic (ROC) analysis was calculated to determine the value of miR-21 on plaque stability, and the correlation between miR-21 and vulnerable plaque was analyzed. **Results** The serum miR-21 level in ACS group was significantly higher than that in control group ( $9.87 \pm 0.648$  vs  $2.37 \pm 0.795$ ,  $P < 0.01$ ). AUC value of miR-21 was 0.9814 in diagnosis of ACS; serum miR-21 level was positively correlated with the number of vulnerable plaques, the largest area of lipid core and the number of macrophages ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Serum miR-21 significantly increases in ACS patients, which has a positive linear correlation with plaque stability and may be used as a diagnostic index and prognostic indicator for ACS.

**Key words:** Acute coronary syndrome; MicroRNA-21; Optical coherence tomography; Vulnerable plaque

**Fund program:** Scientific Research Project of Health and Family Planning Industry in Hainan Province (1601320241A2006)

急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 是指由心肌组织缺血引起的冠状动脉斑块破裂

和血栓形成, 导致胸痛、呼吸困难、心律失常等临床症状, 主要包括急性心肌梗死和不稳定型心绞痛。ACS

发病率高,猝死率高,严重危害人类健康。ACS 的发生主要与冠状动脉易损斑块有关<sup>[1]</sup>。斑块易损性的决定因素是斑块的结构。目前认为,纤维帽(< 65 mm)、斑块内丰富的脂质、斑块附近大量巨噬细胞浸润等是斑块易损性的决定因素。目前针对斑块易损性检测的方法主要有血管内超声(IVUS)、血管内镜和光学相干断层扫描(OCT)<sup>[2]</sup>。OCT 是目前检测冠状动脉易损斑块最有效的方法,但其价格相对较高、操作相对费时费力,多数患者难以接受。

MicroRNAs(miRNAs)是一类具有 22 个核苷酸的非编码小 RNA 分子。它通过与靶基因 mRNA 的 3'-UTR 区域结合抑制 mRNA 翻译或导致 mRNA 降解,miRNA-21(miR-21)在心血管疾病中广泛表达,有实验研究指出,miRNA 是颈动脉狭窄和易损动脉粥样硬化斑块的潜在调节因子<sup>[3]</sup>,qRT-PCR 证实,在模型动物心肌梗死后 7 d 其 miR-21 的表达量增加了 8 倍<sup>[4]</sup>。因此,本研究以海南省人民医院 ACS 患者为研究对象,研究 miR-21 与斑块易损性的关系。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

收集自海南省人民医院 2016 年 1 月至 2018 年 1 月收治的 ACS 病例 45 例。收集患者的一般临床资料,包括年龄、性别、吸烟史、高血压史、糖尿病史和高脂血症史。纳入标准:所有患者均行冠状动脉造影检查,有一个或多个冠状动脉狭窄程度 > 50%。排除标准:不符合冠心病诊断标准;血管完全闭塞患者;急性 ST 段抬高心肌梗死、肾功能不全合并感染性疾病患者;冠状动脉造影禁忌证及 OCT 检查禁忌证患者。对照组为门诊或住院冠状动脉造影冠状动脉狭窄程度 < 30% 的患者,共 45 例。本研究方案经海南省人民医院伦理委员会批准。所有患者均提供知情同意书。

### 1.2 血标本采集及指标检测

所有患者均于手术当天采静脉血 5 ml 置入 EDTA 管内。4 ℃,3 000 r/min,离心 15 min,取上清液储存于 -80 ℃ 冰箱。采用 miRNA 试剂盒(赛默飞科技中国)提取细胞总 RNA。RT-PCR 法检测血清 miR-21 的表达。根据目标基因的 mRNA 序列,按照引物设计的原则,用设计软件 Primer express 3.0 设计并合成引物及探针。见表 1。进行 RNA 反转录后,以反转录产物为模板,在 ProFlex™ 实时定量 PCR 仪(赛默飞有限公司)上进行扩增,反应条件为 85 ℃、3 min,85 ℃、20 s,42 ℃、40 s,循环 35 次。采用 2<sup>-ΔΔCT</sup> 法计算 miR-21。

### 1.3 OCT 检查斑块易损性

通过桡动脉或股动脉进行冠状动脉造影。使用 6F 型导管穿刺到达冠状动

表 1 miR-21 引物设计

基因		引物序列(5'-3')
miR-21	上游	CUUAUCAGACUGAUGUUGA
	下游	GATGGAGGGCCGACTCATC
GAPDH	上游	AGAAGGCTGGGGTCATTTC
	下游	AGGGCCATCCACAGTCTTC

脉。注射造影剂(1~3 ml/s)清除冠状动脉血流,用 1 mm/s 的自动收缩装置完成病变的成像。测量易损斑块数、易损斑块的纤维帽厚度及斑块内脂质核心最大面积的百分比。在计算机上放大易损斑块图像,计数巨噬细胞。以上定量指标测量 3 次,取平均值作为最终测量结果。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件包进行统计分析。计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,用独立样本 *t* 检验进行比较;计数资料用 *n*(%) 表示, $\chi^2$  检验进行比较。通过受试者工作特征(ROC)分析的方法计算曲线下面积(AUC),来评价 miR-21 对斑块稳定的诊断价值。miR-21 与易损斑块的相关性采用 Pearson 相关性分析方法。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组一般资料比较

ACS 组患者和对照组的年龄、性别、糖尿病、高血压、高脂血症、BMI、吸烟情况等指标差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见表 2。

### 2.2 两组患者 miR-21 的表达

采用 RT-PCR 对 ACS 组及对照组患者血清 miR-21 进行检测,结果发现 ACS 组患者 miR-21 的相对表达量为 9.87 ± 0.648,对照组患者为 2.37 ± 0.795,ACS 组高于对照组(*t* = 49.054, *P* < 0.01)。见图 1。

### 2.3 miR-21 诊断 ACS 的 ROC 曲线

采用 ROC 分析法,评价 miR-21 对 ACS 的诊断价值。如图 2 所示,miR-21 诊断 ACS 的 AUC 为 0.9814,具有较高的诊断价值。

### 2.4 miR-21 与易损斑块的相关分析

miR-21 的表达水平与易损斑块数量、脂质核心的最大面积(%)、巨噬细胞的数量呈正相关(*r* = 0.9493, *P* < 0.01; *r* = 0.8868, *P* < 0.01; *r* = 0.965, *P* < 0.01)。见图 3。

表 2 ACS 组和对照组患者一般资料比较 例(%)

项目	对照组( <i>n</i> = 45)	ACS 组( <i>n</i> = 45)	<i>t</i> / $\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	47.55 ± 12.45	51.53 ± 12.97	1.48	0.13
性别(男性)	32(71.11)	35(77.78)	0.07	0.86
糖尿病	14(31.11)	18(40.00)	0.77	0.12
高血压	15(33.33)	17(37.78)	0.19	0.26
高脂血症	5(11.11)	7(15.56)	0.38	0.23
BMI( $\bar{x} \pm s$ )	22.4 ± 2.8	23.3 ± 2.2	1.69	0.70
吸烟	28(62.22)	20(44.44)	2.85	0.54

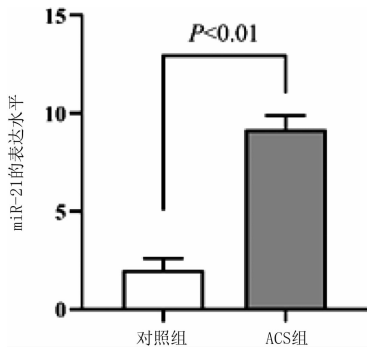


图 1 两组患者血清 miR-21 表达水平的比较

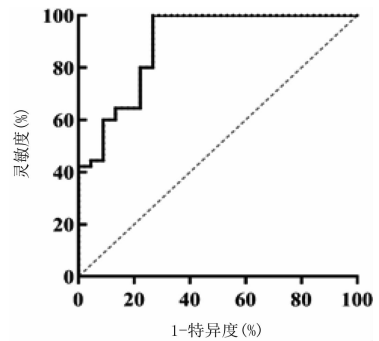


图 2 血清 miR-21 辅助诊断 ACS 的 ROC 曲线

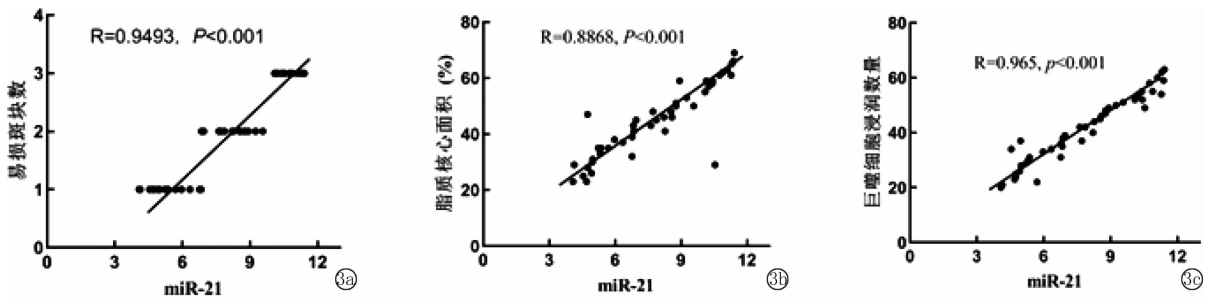


图 3 miR-21 与易损斑块数量、脂质核心面积、巨噬细胞浸润数量的相关分析

### 3 讨论

冠状动脉粥样硬化的病理生理学机制是持续平滑肌细胞和胶原纤维在长期脂质或血液成分沉积基础上的慢性炎症反应<sup>[5]</sup>。易损斑块是造成 ACS 的主要原因。炎症激活和脂核大、血栓形成和斑块破裂的薄壁纤维粥样斑块是易损斑块的主要特征<sup>[6]</sup>。但目前针对易损斑块的诊断费时、费力，多数患者不愿意接受。近年来，发现 miRNAs 在炎症调节中起着重要作用，广泛参与细胞增殖、分化、肿瘤形成、免疫功能等生理和病理过程的调节<sup>[7]</sup>。miR-21 在心血管系统中的作用受到广泛关注<sup>[8]</sup>。本研究发现，相比对照组冠状动脉造影冠脉狭窄 < 30% 的患者，ACS 患者血清中 miR-21 的表达水平明显升高，而且对 ACS 有较好的诊断价值。

miR-21 的表达与冠状动脉狭窄程度有关<sup>[9]</sup>，但未发现 miR-21 与斑块稳定性的相关报道。易损斑块数量、脂质核心面积、巨噬细胞浸润数量与斑块的稳定性有直接关系<sup>[10]</sup>。本研究发现 miR-21 与易损斑块数量、脂质核心面积、巨噬细胞浸润数量均为显著正相关。miR-21 的表达水平越高，纤维帽的厚度越薄，最大脂质池的核心面积越大，纤维帽周围巨噬细胞的数量越多，说明斑块更不稳定。提示 miR-21 可以作为斑块稳定性的检测方法。

OCT 检测是在体内量化纤维帽中巨噬细胞的唯一方法，检测发现 ACS 患者易损斑块周围存在大量巨噬细胞，且巨噬细胞数量越多，表明斑块越不稳

定<sup>[11]</sup>。miR-21 有许多靶基因，主要存在于 SPRY1 (sprout 同源 1)、PTEN (phosphatase and tensin 同源 1) 等心血管疾病基因中<sup>[12]</sup>。在急性心肌缺血时，miR-21 可抑制 PTEN 基因表达，促进基质金属蛋白酶(MMP)-2 表达。MMP-2 具有降解细胞外基质，破坏纤维帽完整性，导致斑块破裂的作用<sup>[13]</sup>。可见，miR-21 还可以通过直接靶向基因调控影响冠状动脉粥样硬化斑块。最近的研究报道 miR-21 循环水平的测定可以区分缺血性心力衰竭和非缺血性心力衰竭<sup>[14]</sup>。笔者认为 miR-21 或可作为诊断 ACS 患者的生物标记物，并可预测斑块的稳定性。

综上所述，ACS 患者血清 miR-21 出现高表达，并且与斑块稳定性相关。有望作为 ACS 的诊断及预后评价指标。

### 参考文献

[1] Sinclair H, Bourantas C, Bagnall A, et al. OCT for the identification of vulnerable plaque in acute coronary syndrome [J]. JACC: Cardiovasc Imaging, 2015, 8(2): 198-209.  
 [2] Wang J, Jia L, Li X, et al. New insights into the association between fibrinogen and coronary atherosclerotic plaque vulnerability: an intravascular optical coherence tomography study [J]. Cardiovasc Ther, 2019, 2019: 8563717.  
 [3] Jin H, Li DY, Chernogubova E, et al. Local delivery of mir-21 stabilizes fibrous caps in vulnerable atherosclerotic lesions [J]. Mol Ther, 2018, 26(4): 1040-1055.

- 378(14):1360-1361.
- [2] Xaplanteris P, Fournier S, Pijls NHJ, et al. Five-year outcomes with PCI guided by fractional flow reserve[J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(3):250-259.
- [3] 刘焰华, 李枫, 汪蛟龙, 等. 沙库巴曲缬沙坦治疗慢性心力衰竭[J]. *长春中医药大学学报*, 2019, 35(3):457-460.
- [4] 高扬, 栾波, 高尧, 等. 沙库巴曲/缬沙坦治疗慢性心力衰竭的临床观察[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2019, 11(5):595-597.
- [5] 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. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2010, 38(8):675-690.
- [6] 张晓峰, 刘刚, 张君红, 等. 阿司匹林联合氯吡格雷对急性心肌梗死急诊经皮冠脉介入治疗术后心功能影响[J]. *药物评价研究*, 2018, 41(8):1473-1476.
- [7] Betgem RP, de Waard GA, Nijveldt R, et al. Intramyocardial haemorrhage after acute myocardial infarction[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2015, 12(3):156.
- [8] 李淑岩, 崔丽杰, 王丽杰, 等. 急性心肌梗死心肌组织再灌注的心电图 ST 段动态变化分析[J]. *陕西医学杂志*, 2017, 46(1):51-52.
- [9] 韩恭祝. 盐酸替罗非班辅助经皮冠状动脉介入治疗在急性 ST 段抬高型心肌梗死患者中的应用价值[J]. *中国医药*, 2017, 12(8):1133-1136.
- [10] 刘冬梅, 武金玉, 戴海鹏, 等. RT-3DE 评估急性心梗 PCI 术后左室收缩功能及同步性的临床价值[J]. *现代生物医学进展*, 2017, 17(7):1364-1367, 1363.
- [11] 冯建海. 硝苯地平缓释片联合依那普利治疗老年冠心病合并高血压的疗效观察[J]. *河北医药*, 2016, 38(15):2330-2332.
- [12] 张相杰, 黄文平, 许有凡. 沙库巴曲缬沙坦和盐酸贝那普利片对心力衰竭患者心室重塑、炎症因子的影响[J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(5):795-799.
- [13] 刘岳, 汪芳. 沙库巴曲缬沙坦的药代动力学和药效学特点[J]. *中国循环杂志*, 2018, 33(2):198-200.
- [14] Minguet J, Sutton G, Ferrero C, et al. LCZ696: a new paradigm for the treatment of heart failure? [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2015, 16(3):435-446.
- [15] Martens P, Beliën H, Dupont M, et al. The reverse remodeling response to sacubitril/valsartan therapy in heart failure with reduced ejection fraction[J]. *Cardiovasc Ther*, 2018, 36(4):e12435.
- [16] 牛潇玉, 赵晓燕. 沙库巴曲缬沙坦及培哚普利治疗慢性心力衰竭的疗效对比[J]. *重庆医学*, 2019, 48(11):1874-1877.
- [17] Vicent L, Juárez M, Martín I, et al. Ventricular arrhythmic storm after initiating sacubitril/valsartan [J]. *Cardiology*, 2018, 139(2):119-123.
- [18] de Vecchis R, Ariano C, di Biase G, et al. Sacubitril/valsartan for heart failure with reduced left ventricular ejection fraction[J]. *Herz*, 2019, 44(5):425-432.

收稿日期:2019-12-10 编辑:王娜娜

(上接第 1199 页)

- [4] Renaud L, Kasiganesan H, Gao E, et al. Regulation of miR-21 expression by acetylation in myocardial infarction[J]. *Cir Res*, 2012, 111:A158.
- [5] Zhang YH, Zhang YH, Dong XF, et al. ACE2 and Ang-(1-7) protect endothelial cell function and prevent early atherosclerosis by inhibiting inflammatory response[J]. *Inflamm Res*, 2015, 64(3/4):253-260.
- [6] 赵克强, 谢霞, 尹洪芳, 等. 颈动脉易损斑块影像学评估与术后病理的临床队列研究[J]. *中华医学杂志*, 2018, 98(30):2424-2428.
- [7] Chiodoni C, Cancila V, Renzi TA, et al. Transcriptional profiles and stromal changes reveal bone marrow adaptation to early breast cancer in association with deregulated circulating microRNAs[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(3):484-498.
- [8] Kaur A, Mackin ST, Schlosser K, et al. Systematic review of microRNA biomarkers in acute coronary syndrome and stable coronary artery disease[J]. *Cardiovasc Res*, 2020, 116(6):1113-1124.
- [9] Nariman-Saleh-fam Z, Vahed SZ, Aghae-Bakhtiari SH, et al. Expression pattern of miR-21, miR-25 and PTEN in peripheral blood mononuclear cells of patients with significant or insignificant coronary stenosis[J]. *Gene*, 2019, 698:170-178.
- [10] He W, Zhu L, Huang Y, et al. The relationship of MicroRNA-21 and plaque stability in acute coronary syndrome[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(47):e18049.
- [11] 王宁, 于波. 光学相干断层成像技术对冠状动脉斑块应用的进展[J]. *心血管康复医学杂志*, 2019, 28(3):373-376.
- [12] Chai C, Song LJ, Han SY, et al. MicroRNA-21 promotes glioma cell proliferation and inhibits senescence and apoptosis by targeting SPRY1 via the PTEN/PI3K/AKT signaling pathway[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2018, 24(5):369-380.
- [13] Hakimzadeh N, Pinas VA, Molenaar G, et al. Novel molecular imaging ligands targeting matrix metalloproteinases 2 and 9 for imaging of unstable atherosclerotic plaques [J]. *PLoS One*, 2017, 12(11):e0187767.
- [14] de Rosa S, Eposito F, Carella C, et al. Transcoronary concentration gradients of circulating microRNAs in heart failure[J]. *Eur J Heart Fail*, 2018, 20(6):1000-1010.

收稿日期:2019-12-18 修回日期:2020-04-04 编辑:王娜娜