

· 论 著 ·

# 冠心病患者血清 miR-335 和 LTBP-2 水平及其临床意义

林能波, 郑炜华, 林永欢

汕头市潮阳区大峰医院心血管内科, 广东 汕头 515154

**摘要:** **目的** 探讨冠心病患者血清微小核糖核酸(miR)-335 表达和潜在转化生长因子结合蛋白 2(LTBP-2) 水平及其临床意义。**方法** 选取 2014 年 2 月至 2017 年 2 月收治的 96 例冠心病患者为研究对象,按发病类型分为稳定型心绞痛(SAP)组 34 例,不稳定型心绞痛(UAP)组 32 例,急性心肌梗死(AMI)组 30 例;选取同期 30 例健康体检者作为对照组。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测血清中 miR-335 表达水平,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清中 LTBP-2 水平。**结果** 随冠心病严重程度(按健康体检者、SAP、UAP、AMI 之序)逐级加重,血清 miR-335 表达水平逐级降低( $P < 0.01$ ),血清 LTBP-2 水平逐级升高( $P < 0.01$ ),且各级患者间两两比较差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ )。血清 miR-335 表达与 Gensini 评分呈明显负相关性( $r = -0.532, P < 0.05$ ),血清 LTBP-2 表达与 Gensini 评分呈明显正相关性( $r = 0.796, P < 0.01$ );冠心病患者血清中 miR-335 表达与 LTBP-2 水平呈明显负相关( $r = -0.547, P < 0.05$ )。**结论** miR-335 在冠心病患者血清中呈明显低表达,LTBP-2 水平显著增高,二者有望成为预测冠心病严重程度的参考指标。

**关键词:** 冠心病; 微小核糖核酸-335; 潜在转化生长因子结合蛋白 2; 稳定型心绞痛; 不稳定型心绞痛; 急性心肌梗死

中图分类号: R 541.4 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2018)03-0317-05

## Serum miR-335 and LTBP-2 levels and clinical significance in patients with coronary heart disease

LIN Neng-bo, ZHENG Wei-hua, LIN Yong-huan

Department of Cardiovascular Medicine, Dafeng Hospital of Chaoyang District, Shantou, Guangdong 515154, China

**Abstract: Objective** To explore the expression of serum microRNA (miR)-335 and the latent transforming growth factor (TGF)- $\beta$  binding protein 2 (LTBP-2) in patients with coronary heart disease (CHD) and the clinical significance.

**Methods** A total of 96 patients with CHD from February 2014 to February 2017 including 34 stable angina pectoris (SAP) patients, 32 unstable angina pectoris (UAP) patients and 30 acute myocardial infarction (AMI) patients were selected as research objects, and 30 healthy subjects of physical examination at the same time were selected as control group. Real time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression level of serum miR-335. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the level of serum LTBP-2. **Results**

With the severity of CHD (according to health check-up, SAP, UAP, AMI order) gradually increased, the expression level of serum miR-335 decreased gradually ( $P < 0.01$ ), while the level of serum LTBP-2 increased ( $P < 0.01$ ), and there were statistical differences between any two adjacent grades (all  $P < 0.05$ ). There were a significant negative correlation between the expression level of serum miR-335 and the Gensini score ( $r = -0.532, P < 0.05$ ) and a significant positive correlation between the level of serum LTBP-2 and the Gensini score ( $r = 0.796, P < 0.05$ ) and a significant negative correlation between serum miR-335 expression level and serum LTBP-2 content ( $r = -0.547, P < 0.05$ ). **Conclusion** The miR-335 presents low expression in serum for CHD patients, and serum LTBP-2 level increases significantly, and both them are expected to be the reference indexes for predicting the severity of CHD disease.

**Key words:** Coronary heart disease; MicroRNA-335; Latent transforming growth factor- $\beta$  binding protein 2; Stable angina pectoris; Unstable angina pectoris; Acute myocardial infarction

冠心病(CHD)是临床上常见的一种心血管疾病<sup>[1]</sup>。近年来,我国CHD发病率呈现明显攀升趋势,

且发病呈现年轻化趋势,严重危害了我国居民的身体  
健康及生命安全<sup>[2]</sup>。CHD 病情复杂,有效监测 CHD  
病情进展并积极干预,对于延缓 CHD 进展、降低临床  
CHD 病死率具有十分重要的意义。冠脉造影是 CHD  
诊断的金标准<sup>[3]</sup>,但其具有有创性,对于自身条件差  
及造影剂过敏者难以应用,且不能用于 CHD 早期检  
测及急性冠脉综合征预测。本研究旨在探讨 CHD 患  
者血清微小核糖核酸(miR)-335 表达及潜在转化生  
长因子结合蛋白 2(latent TGF- $\beta$  binding protein 2, LT-  
BP-2)<sup>[4]</sup> 水平及其临床意义,为临床 CHD 早期诊断  
及危险评估提供一定的参考。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2014 年 2 月至 2017 年 2 月本  
院收治的 96 例 CHD 患者为研究对象。男性 59 例,  
女性 37 例;年龄 44 ~ 72(57.28  $\pm$  5.31) 岁。其中,稳  
定型心绞痛(SAP) 34 例,男性 22 例,女性 12 例,年  
龄 45 ~ 70(57.36  $\pm$  5.16) 岁;不稳定型心绞痛(UAP)  
32 例,男性 19 例,女性 13 例,年龄 44 ~ 72(58.03  $\pm$   
5.42) 岁;急性心肌梗死(AMI) 30 例,男性 18 例,女  
性 12 例,年龄 47 ~ 72(58.21  $\pm$  5.30) 岁。96 例中 1  
支血管病变者 24 例,2 支血管病变者 39 例,3 支血管  
病变者 33 例。入选标准:(1)符合国际心脏病学会  
和协会/世界卫生组织有关缺血性心脏病诊断标  
准<sup>[5]</sup>,且经冠状动脉造影证实至少 1 支冠状动脉血管  
狭窄  $\geq$  50% 者;(2)年龄 < 75 岁,性别不限;(3)患者  
及家属了解本研究,并签署知情同意书者。排除标  
准:(1)伴有血液系统疾病者;(2)怀孕及哺乳期妇  
女;(3)伴有炎症及免疫性疾病者;(4)患有严重肝  
脏、肺脏、肾脏、心脏疾病及恶性肿瘤者;(5)有急性  
出血性脑血管疾病史;(6)伴有心肌病、肺栓塞、心脏  
瓣膜病、充血性心力衰竭、主动脉瘤等其他引起胸痛  
疾病者;(7)曾行血管重建术或者冠状动脉旁路移植  
术者。选取同期 30 例体检健康者为对照组,男性 18  
例,女性 12 例,年龄 45 ~ 70(57.54  $\pm$  4.29) 岁。本研  
究经本院伦理委员会批准进行。

1.2 Gensini 积分 采用改良 Gensini 积分<sup>[6]</sup>对 CHD  
患者血管病变程度进行评定,定量评定每支血管变  
程度。以冠状动脉无狭窄记为 0 分,冠状动脉狭窄  
0 ~ 25% 记为 1 分;狭窄 26% ~ 50% 记为 2 分,51% ~  
75% 记为 4 分,76% ~ 90% 记为 8 分,91% ~ 99% 记  
为 16 分,100% 记为 32 分。每位患者冠状动脉病  
变程度最终积分为各个分支积分相加之和。以 Gensini  
积分为 0 ~ 25 分者为轻度病变组,26 ~ 49 分者为中  
度病变组,50 ~ 100 分者为重度病变组。

## 1.3 观察指标及方法

1.3.1 常规指标检测 常规检测所有受试者体质指  
数(BMI)、收缩压(SBP)、舒张压(DBP),采集受试者  
清晨空腹状态下肘静脉血 5 ml,离心分离血清。采用  
美国 Beckman 公司 AU5800 全自动生化分析仪检测  
血糖、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-  
C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、三酰甘油(TG)。

1.3.2 实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检  
测血清 miR-335 表达水平 采用 qRT-PCR 检测血清  
中 miR-335 表达水平。Trizol 法提取血清总 RNA,利  
用美国 Qiagen 公司 miRNeasy 提取分离试剂盒提取  
血清 miRNA,严格按照试剂盒使用说明进行操作,所  
提取 miRNA 经 OD 测定,OD260/OD280 比值在 1.8 ~  
2.0 范围内,表明所提取 miRNA 纯度较高,无 DNA  
及蛋白质残留。严格按照美国 ABI 公司 miRNA Re-  
verse Transcription Kit(反转录试剂盒)说明书配制反  
应体系,进行反转录操作,所得 cDNA 用作 qRT-PCR  
反应模板,以 U6 为内参基因检测 miR-335 表达水  
平。qRT-PCR 试剂盒为日本 TaKaRa 公司 SYBR<sup>®</sup>  
PrimeScript<sup>™</sup> RT-PCR 试剂盒(RT-PCR Kit)。qRT-  
PCR 反应体积(25  $\mu$ l)如下:cDNA 1.0  $\mu$ l, SYB<sup>®</sup>  
Primix Ex Taq<sup>™</sup> 10  $\mu$ l, Primer 0.8  $\mu$ l, RNase H<sub>2</sub>O  
12.4  $\mu$ l。利用美国 ABI 公司 qRT-PCR 仪 ABI7700  
进行 qRT-PCR 反应扩增。qRT-PCR 反应条件如下:  
95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min,95  $^{\circ}$ C 5 s,60  $^{\circ}$ C 30 s,72  $^{\circ}$ C 40 s,  
共 40 个循环。每个样品均设置 3 个平行孔,采用  
2<sup>- $\Delta\Delta$ CT</sup>方法处理结果,其中  $\Delta\Delta$ CT = (CT<sub>miR-335</sub> -  
CT<sub>U6</sub>) 观察组 - (CT<sub>miR-335</sub> - CT<sub>U6</sub>) 对照组。qRT-PCR  
引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 扩增引物序列

基因	正向引物 5'-3'	反向引物 5'-3'
miR-335	CTCCAGCTGTCAAGACAATAACGAA	TCCAGTGCAGGTCGCCAGGT
U6	ATTGGAACGATACAGAGAAGATT	GGAACGCTTCACGAATTTC

1.3.3 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 LTBP-  
2 水平 采用 ELISA 检测血清 LTBP-2 水平,试剂盒  
由武汉优尔生科技提供。ELISA 操作步骤:(1)准  
备:从冰箱中取出试剂盒,于室温复温平衡 30 min。  
(2)配液:用蒸馏水将 20 倍浓缩洗涤液稀释成为原  
倍洗涤液。(3)加标准品及待检样品:分别设置空白  
对照孔、标准品孔及待检样品孔,标记各孔位置,于标  
准孔中加入 50  $\mu$ l 标准品;待检样品孔中先加入 10  $\mu$ l  
待检样品,再加入 40  $\mu$ l 样本稀释液;空白对照孔不  
加样品。(4)温育:37  $^{\circ}$ C 温育 30 min。(5)洗板:弃  
去液体,于吸水纸上拍干,每孔加满洗涤液后静置  
1 min,甩去洗涤液后,于吸水纸上拍干,重复洗涤 4

次。(6)加入酶标工作液:每孔加入 50  $\mu\text{l}$  酶标工作液,空白对照不加样。(7)温育:37  $^{\circ}\text{C}$  温育 30 min。(8)洗板:重复操作步骤 5。(9)显色:每孔首先加入 50  $\mu\text{l}$  显色剂 A 液,再加入 50  $\mu\text{l}$  显色剂 B 液,37  $^{\circ}\text{C}$  避光,显色 15 min。(10)终止:取出酶标板,每孔加入 50  $\mu\text{l}$  终止液,终止反应。(11)测定:以空白孔作为调零孔,终止反应 15 min 内 450 nm 波长下检测各孔 OD 值。(12)计算:计算标准曲线直线回归方程,根据样品 OD 值计算样本浓度。

1.4 统计学方法 利用统计学软件 SPSS 19.0 进行数据统计学分析。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,符合正态分布时多组比较采用方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验;若不符合正态分布,则采用非参数检验;计数资料采用  $R \times C$  表  $\chi^2$  检验;相关性分析采用 Pearson 直线相关性分析。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般资料比较 对照组、SAP 组、UAP 组、AMI

表 1 各组一般资料比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

观察指标	SAP 组 ( $n=34$ )	UAP 组 ( $n=32$ )	AMI 组 ( $n=30$ )	对照组 ( $n=30$ )
年龄(岁)	57.36 $\pm$ 5.16	58.03 $\pm$ 5.42	58.21 $\pm$ 5.30	57.54 $\pm$ 4.29
男/女(例)	22/12	19/13	18/12	18/12
BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	24.56 $\pm$ 2.87	24.30 $\pm$ 3.21	25.03 $\pm$ 3.69	23.46 $\pm$ 2.98
DBP(mm Hg)	81.42 $\pm$ 14.28	82.57 $\pm$ 14.16	83.34 $\pm$ 14.45	79.16 $\pm$ 14.32
SBP(mm Hg)	136.59 $\pm$ 20.31	137.51 $\pm$ 19.66	139.06 $\pm$ 21.47	132.20 $\pm$ 22.49
空腹血糖( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	5.89 $\pm$ 1.35	5.79 $\pm$ 1.36	6.06 $\pm$ 2.14	6.21 $\pm$ 2.03
TG( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	1.46 $\pm$ 1.06	1.50 $\pm$ 1.13	1.52 $\pm$ 1.24	1.47 $\pm$ 1.14
TC( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	4.59 $\pm$ 1.23	4.64 $\pm$ 1.17	4.83 $\pm$ 1.15	4.86 $\pm$ 1.12
HDL-C( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	1.11 $\pm$ 0.28	1.13 $\pm$ 0.21	1.09 $\pm$ 0.29	1.10 $\pm$ 0.25
LDL-C( $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ )	3.13 $\pm$ 0.85	3.15 $\pm$ 1.01	3.17 $\pm$ 0.76	3.16 $\pm$ 0.62

表 2 各组血清 miR-335 表达、LTBP-2 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	miR-335	LTBP-2( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )
对照组	30	1.16 $\pm$ 0.17	15.68 $\pm$ 7.69
SAP 组	34	0.63 $\pm$ 0.15 <sup>1</sup>	21.34 $\pm$ 8.12 <sup>1</sup>
UAP 组	32	0.47 $\pm$ 0.13 <sup>12</sup>	26.81 $\pm$ 9.23 <sup>12</sup>
AMI 组	30	0.32 $\pm$ 0.11 <sup>123</sup>	33.45 $\pm$ 12.28 <sup>123</sup>
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01

注:与对照组比较,<sup>1</sup> $P < 0.05$ ;与 SAP 组比较,<sup>2</sup> $P < 0.05$ ;与 UAP 组比较,<sup>3</sup> $P < 0.05$ 。

表 3 不同 Gensini 积分组血清 miR-335、LTBP-2 水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	miR-335	LTBP-2( $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ )
轻度病变组	31	0.64 $\pm$ 0.15	22.56 $\pm$ 8.34
中度病变组	35	0.43 $\pm$ 0.13 <sup>*</sup>	27.12 $\pm$ 9.30 <sup>*</sup>
重度病变组	30	0.34 $\pm$ 0.12 <sup>**</sup>	33.68 $\pm$ 12.45 <sup>**</sup>
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01

注:与轻度病变组比较,<sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;与中度病变组比较,<sup>#</sup> $P < 0.05$ 。

组年龄、性别、BMI、血压、血糖、TG、TC、HDL-C、LDL-C 等一般资料比较,差异无统计学意义( $P$  均  $> 0.05$ )。见表 1。

2.2 各组血清 miR-335 表达、LTBP-2 水平比较 随冠心病严重程度(按健康体检者、SAP、UAP、AMI 之序)逐级加重,血清 miR-335 表达水平逐级降低( $P < 0.01$ ),血清 LTBP-2 水平逐级升高( $P < 0.01$ ),且各级患者间两两比较差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ )。表 2。

2.3 冠心病不同 Gensini 积分组血清 miR-335、LTBP-2 水平比较 按照改良 Gensini 积分进行冠心病患者的分组,其中轻度病变组 31 例,中度病变组 35 例,重度病变组 30 例。随冠状动脉病变程度加重,血清 miR-335 表达水平呈明显逐级下降趋势( $P < 0.01$ ),血清 LTBP-2 水平呈明显逐级上升趋势( $P < 0.01$ ),且各相邻两级间比较差异均有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ )。见表 3。

2.4 血清 miR-335、LTBP-2 水平与 Gensini 积分相关性分析 Pearson 直线相关性分析结果显示,血清 miR-335 表达与 Gensini 评分呈明显负相关性( $r = -0.532, P < 0.005$ ),血清 LTBP-2 表达与 Gensini 评分呈明显正相关性( $r = 0.796, P < 0.01$ )。

2.5 CHD 患者血清中 miR-335 与 LTBP-2 表达相关性分析 相关性分析结果显示,CHD 患者血清中 miR-335 与 LTBP-2 表达呈明显负相关( $r = -0.547, P < 0.05$ )。

## 3 讨论

CHD 是由于机体脂质代谢异常,脂质在动脉内膜上呈粥样沉着,形成白色斑块造成冠状动脉腔狭窄,血流不畅或中断,导致患者心脏缺血以及产生心绞痛症状的一种临床常见心血管疾病<sup>[7-8]</sup>。目前,CHD 发病机制尚未完全阐明<sup>[9]</sup>,尽管临床对于 CHD 介入治疗及药物治疗取得了一定的进步<sup>[10]</sup>,但其病

情复杂,仍具有较高的发病率及致死率。如何早期有效诊断 CHD、有效监测疾病进展,对于降低临床 CHD 潜在血管事件具有十分重要的临床意义。寻找新型 CHD 病情评估生物标记物,仍然是目前国内外诊治 CHD 的重要研究热点。

微小 RNA 是一类可以特异性结合靶向 mRNA 的短序列非编码 RNA,在生物体胚胎发育、细胞增殖、凋亡、分化、肿瘤形成、激素分泌等多个重要生物学方面扮演举足轻重的角色<sup>[11-12]</sup>。miRNA 因其具有特殊的生理学作用,与诸如肿瘤、糖尿病、血液系统性疾病、心脑血管性疾病、高血压及病毒感染等多种人类疾病的发生发展密切相关<sup>[13]</sup>。miR-335 定位于人类染色体 7q32.2 上,在人类乳腺癌、胃癌、骨肉瘤等多种肿瘤发生发展中扮演重要角色<sup>[14-16]</sup>。目前,国内外有关 miR-335 的研究大多集中于其在肿瘤中的表达<sup>[17]</sup>,与 miR-335 在心血管疾病中的相关研究甚少。王磊等<sup>[18]</sup>探讨 miR-335 对于大鼠模型微血管内皮细胞凋亡的影响结果显示,miR-335 可能加速鼠心肌微血管内皮细胞缺氧/复氧模型的内皮细胞凋亡,在缺氧复氧过程中起关键性调控作用,推测其有望成为缺血再灌注损伤的有效治疗靶点。袁梅等<sup>[19]</sup>研究结果显示,急性缺血性脑卒中患者外周血白细胞存在 miR-335 启动子区域高度甲基化,推测其可能参与脑卒中的发生发展过程。而目前有关 miR-335 在冠心病患者血清中的表达研究尚未见报道。本研究结果提示,miR-335 在 CHD 患者中明显低表达,且随着 CHD 疾病进展,miR-335 表达明显下降,说明 miR-335 参与 CHD 疾病发生及发展过程,有望成为早期诊断 CHD 的有效指标。按照改良 Gensini 积分进行分组检测 miR-335 表达水平,结果显示,随冠状动脉病变程度加重,血清 miR-335 表达水平呈明显逐级下降;相关性分析结果显示,血清 miR-335 表达与 Gensini 评分呈明显负相关性,说明 CHD 病变程度越重,血清 miR-335 水平越低,推测血清 miR-335 可作为评估 CHD 患者冠状动脉病变程度的良好指标。

LTBP-2 是 LTBP/fibrilins 超家族成员之一,是一种细胞外基质糖蛋白,在人体心脏、肺脏、肝脏、脾脏中均有表达,在修复机体动脉损伤、胚胎发生、细胞粘附以及弹性纤维凝聚等过程中具有重要作用。Bredthardt 等<sup>[20]</sup>招募 292 例急性呼吸困难患者,以 LTBP-2 水平预测患者 1 年内死亡率,结果显示 LTBP-2 可作为一个新的、较强的全因死亡预测因子,其预测能力与 N 端 pro-B 型尿钠肽的预测潜力相当,提示 LTBP-2 有望成为应用于临床心血管疾病早期预测及预后的标志物。本研究结果提示 LTBP-2 在 CHD 患者

血清中含量明显增加,且其随着 CHD 疾病进展明显上升,说明 LTBP-2 与 CHD 发生发展密切相关,推测其可作为早期诊断及监测 CHD 病情进展的一个参考指标。进一步评价 LTBP-2 与 Gensini 评分的相关性可见,二者呈明显正相关性,即 Gensini 评分越高,LTBP-2 水平越高,提示 LTBP-2 在一定程度上可以反映 CHD 患者冠状动脉病变程度,对于疾病进展危险评估具有重要的指示作用。相关性分析结果还显示,CHD 患者血清中 miR-335 表达与 LTBP-2 水平呈明显负相关,推测二者可能存在某种调控作用,共同参与 CHD 疾病发生及发展,其具体相互作用机制,值得进一步深入研究。

综上所述,miR-335 在 CHD 患者血清中呈明显低表达,LTBP-2 血清含量明显增加,二者有望成为预测 CHD 疾病严重程度的参考指标。本研究存在样本量较小、研究对象纳入并未采用随机化原则等不足之处,后期将进一步扩大样本量进一步深入探讨。

#### 参考文献

- [1] 田华伟,刘盛元,郑南,等.老年及中青年冠心病患者冠脉病变特点及相关危险因素分析[J].中国临床研究,2013,26(7):652-653.
- [2] 仲崇星.北京市丰台区社区居民 2011 年冠心病流行病学调查分析[J].心血管康复医学杂志,2013,22(4):348-350.
- [3] Opolski MP, Kim WK, Liebetrau C, et al. Diagnostic accuracy of computed tomography angiography for the detection of coronary artery disease in patients referred for transcatheter aortic valve implantation [J]. Clin Res Cardiol, 2015, 104(6):471-480.
- [4] Inoue T, Ohbayashi T, Fujikawa Y, et al. Latent TGF- $\beta$  binding protein-2 is essential for the development of ciliary zonule microfibrils [J]. Hum Mol Genet, 2014, 23(21):5672-5682.
- [5] 徐济民.缺血性心脏病诊断的命名及标准——国际心脏病学会和协会/世界卫生组织临床命名标准化专题组的联合报告[J].国外医学·心血管疾病分册,1979,5(6):365-366.
- [6] Sullivan DR, Marwick TH, Freedman SB. A new method of scoring coronary angiograms to reflect extent of coronary atherosclerosis and improve correlation with major risk factors [J]. Am Heart J, 1990, 119(6):1262-1267.
- [7] Moriyama Y, Okamura T, Inazu A, et al. A low prevalence of coronary heart disease among subjects with increased high-density lipoprotein cholesterol levels, including those with plasma cholesteryl ester transfer protein deficiency [J]. Prev Med, 1998, 27(5 Pt 1):659-667.
- [8] 罗海涛,赵慧辉,冯玄超,等.中医医院冠心病慢性心力衰竭患者临床流行病学调查[J].北京中医药大学学报,2013,36(9):645-648.
- [9] 韩旭,王高丹.冠心病的发病机制及与内皮素、一氧化氮相关性研究进展[J].中国医药导报,2014,11(11):167-168.

- Thorac Cardiovasc Surg, 1996, 111(6): 1123 - 1124.
- [17] Takamochi K, Nagai K, Suzuki K, et al. Clinical predictors of N2 disease in non-small cell lung cancer[J]. Chest, 2000, 117(6): 1577 - 1582.
- [18] Lee PC, Port JL, Korst RJ, et al. Risk factors for occult mediastinal metastases in clinical stage I non-small cell lung cancer[J]. Ann Thorac Surg, 2007, 84(1): 177 - 181.
- [19] Kanzaki R, Higashiyama M, Fujiwara A, et al. Occult mediastinal lymph node metastasis in NSCLC patients diagnosed as clinical N0-1 by preoperative integrated FDG-PET/CT and CT: risk factors, pattern, and histopathological study[J]. Lung Cancer, 2011, 71(3): 333 - 337.
- [20] Zhang Y, Sun Y, Shen L, et al. Predictive factors of lymph node status in small peripheral non-small cell lung cancers; tumor histology is more reliable[J]. Ann Surg Oncol, 2013, 20(6): 1949 - 1954.
- [21] Wang Y, Wang R, Zheng D, et al. Predicting the recurrence risk factors and clinical outcomes of peripheral pulmonary adenocarcinoma  $\leq 3$  cm with wedge resection[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2017, 143(6): 1043 - 1051.
- [22] Ito T, Murakawa T, Sato H, et al. Simple preoperative computed tomography image analysis shows good predictive performance for pathological vessel invasion in clinical stage IA non-small cell lung cancer[J]. Interact Cardiovasc Thorac Surg, 2012, 15(4): 633 - 638.
- [23] Macchiarini P, Fontanini G, Hardin MJ, et al. Blood vessel invasion by tumor cells predicts recurrence in completely resected T1 N0 M0 non-small-cell lung cancer[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 1993, 106(1): 80 - 89.
- [24] Br  chet JM, Chevret S, Charpentier MC, et al. Blood vessel and lymphatic vessel invasion in resected nonsmall cell lung carcinoma. Correlation with TNM stage and disease free and overall survival[J]. Cancer, 1996, 78(10): 2111 - 2118.
- [25] Hanagiri T, Takenaka M, Oka S, et al. Prognostic significance of lymphovascular invasion for patients with stage I non - small cell lung cancer[J]. Eur Surg Res, 2011, 47(4): 211 - 217.
- [26] Wang L, Jiang W, Zhan C, et al. Lymph node metastasis in clinical stage IA peripheral lung cancer[J]. Lung Cancer, 2015, 90(1): 41 - 46.
- [27] Jones DR. Morbidity and mortality of major pulmonary resections in patients with early-stage lung cancer: initial results of the randomized, prospective ACOSOG Z0030 trial[J]. Ann Thorac Surg, 2006, 81(3): 1013 - 1019.
- [28] Izbicki JR, Passlick B, Pantel K, et al. Effectiveness of radical systematic mediastinal lymphadenectomy in patients with resectable non-small cell lung cancer: results of a prospective randomized trial[J]. Ann Surg, 1998, 227(1): 138 - 144.
- [29] Ishiguro F, Matsuo K, Fukui T, et al. Effect of selective lymph node dissection based on patterns of lobe-specific lymph node metastases on patient outcome in patients with resectable non-small cell lung cancer: a large-scale retrospective cohort study applying a propensity score[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2010, 139(4): 1001 - 1006.

收稿日期: 2017 - 11 - 12 编辑: 王国品

(上接第 320 页)

- [10] 张丽. 冠心病患者行经皮冠状动脉介入术治疗前后的血清胱抑素 C 水平观察[J]. 中国临床研究, 2013, 26(10): 1043 - 1044.
- [11] Vidigal JA, Ventura A. The biological functions of miRNAs: lessons from in vivo studies[J]. Trends Cell Biol, 2015, 25(3): 137 - 147.
- [12] 张瑞萍, 李翠茹. 类风湿性关节炎患者血浆 microRNA - 221 检测及临床意义[J]. 中国临床研究, 2016, 29(6): 800 - 802.
- [13] 陆南佳, 刘艳芬, 王长义, 等. 循环 miRNAs 与心脑血管疾病的研究进展[J]. 生命科学研究, 2017, 21(2): 179 - 188.
- [14] 伍家燕, 高月, 曾帆, 等. miR-335 对 MDA-MB-231 乳腺癌细胞生物学特性的影响[J]. 第三军医大学学报, 2015, 37(14): 1406 - 1411.
- [15] 张家魁, 谢强, 刘继超, 等. MiR-335 表遗传学调控与胃癌临床病理特征和预后相关性研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2015, 22(21): 1680 - 1687.
- [16] 王勇, 王科峰, 赵伟. miR-335 靶向 Rho 相关卷曲螺旋形成蛋白激酶 1 抑制人骨肉瘤细胞 MG-63 侵袭转移的实验研究[J]. 中国癌症杂志, 2014, 24(11): 801 - 807.
- [17] Stachowiak G, Zajac A, Nowak M, et al. Hemostatic disorders of the menopausal period: the role of microRNA[J]. Prz Menopause, 2015, 14(2): 144 - 148.
- [18] 王磊, 詹羽, 任飞, 等. 微小 RNA-335 调控缺氧复氧诱导下心肌微血管内皮细胞的凋亡[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2016, 18(7): 739 - 743.
- [19] 袁梅, 周成芳, 汤永红, 等. 急性缺血性脑卒中患者外周血白细胞 miR-335 基因启动子甲基化状态及意义[J]. 中国动脉硬化杂志, 2017, 25(7): 705 - 709.
- [20] Breidhardt T, Vanpoucke G, Potocki M, et al. The novel marker LT-BP2 predicts all-cause and pulmonary death in patients with acute dyspnoea[J]. Clin Sci, 2012, 123(9): 557 - 566.

收稿日期: 2017 - 08 - 27 修回日期: 2017 - 10 - 17 编辑: 周永彬