

慢性肾脏病并发 MACE 患者 miR-126、FGF-23、PTX3 和 Galectin-3 的变化及其临床意义

高玉伟, 徐保振, 王兴华, 杨洪娟, 胡秀红, 崔红蕊, 王涛

河北医科大学第一医院中西医结合肾内科, 河北 石家庄 050031

摘要: **目的** 探究慢性肾脏病(CKD)并发主要心血管不良事件(MACE)患者 miR-126 表达和成纤维细胞生长因子 23(FGF-23)、血浆五聚素 3(PTX3)、半乳糖凝集素 3(Galectin-3)水平及临床意义。**方法** 选取 2017 年 1 月至 2019 年 1 月收治的 CKD 3~5 期患者 92 例,依照 6 个月内是否发生 MACE 分成 MACE 组(研究组)和无 MACE 组(对照组),另选择同期健康体检的 60 例正常人作为健康组,对比不同 CKD 分期、不同分组患者 miR-126 表达及 FGF-23、PTX3、Galectin-3 水平,并分析其相关性。**结果** CKD 3、4、5 期患者 MACE 的发生率分别为 17.9%、33.3% 和 56.5%,随着 CKD 分期升高,患者 MACE 发生率递增($\chi^2 = 9.806, P = 0.006$)。随着 CKD 分期升高,miR-126 表达明显降低,FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 水平明显升高(P 均 < 0.01)。研究组、对照组及健康组患者 miR-126 表达及 FGF-23、PTX3、Galectin-3 水平比较差异有统计学意义(P 均 < 0.01)。Pearson 相关性分析结果显示,CKD 并发 MACE 患者血清 miR-126 表达与 FGF-23($r = -0.551, P = 0.000$)、PTX3($r = -0.506, P = 0.000$)、Galectin-3($r = -0.496, P = 0.000$)分别存在明显负相关关系。**结论** miR-126、FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 在 CKD 并发 MACE 患者中存在明显相关性,其对于 CKD 患者发生 MACE 的机制探讨具有重要意义。

关键词: 慢性肾脏病; 心血管不良事件; 微小核糖核酸-126; 成纤维细胞生长因子 23; 血浆五聚素 3; 半乳糖凝集素 3; 相关性分析

中图分类号: R 692 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2020)10-1336-04

Changes and clinical significance of miR-126, FGF-23, PTX3 and Galectin-3 in patients with chronic kidney disease complicated with MACE

GAO Yu-wei, XU Bao-zhen, WANG Xing-hua, YANG Hong-juan, HU Xiu-hong, CUI Hong-rui, WANG Tao

Department of Nephrology of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, the First Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, Hebei 050031, China

Corresponding author: XU Bao-zhen, E-mail: 992451649@qq.com

Abstract: Objective To investigate the expression of miR-126 and the levels of fibroblast growth factor 23 (FGF-23), plasma pentaxin 3 (PTX3) and Galectin-3 in patients with chronic kidney disease (CKD) complicated with major adverse cardiovascular events (MACE) and their clinical significance. **Methods** A total of 92 patients with stage 3 to 5 CKD treated from January 2017 to January 2019 were selected and divided into MACE group and non-MACE group (control group) according to whether MACE occurred in them within 6 months. In the same period, 60 healthy people were served as the healthy group. The expression of miR-126 and the levels of FGF-23, PTX3 and Galectin-3 were compared in the patients with different CKD stages and among three groups, and their correlations were analyzed. **Results** The incidences of MACE were 17.9%, 33.3% and 56.5% in CKD stage 3, 4 and 5, respectively and increased significantly with the increase of CKD stage ($\chi^2 = 9.806, P = 0.006$). With the increase of CKD stage, the expression of miR-126 decreased, and the levels of FGF-23, PTX3 and Galectin-3 increased significantly (all $P < 0.01$). There were significant differences in the expression of miR-126 and the levels of FGF-23, PTX3 and Galectin-3 among three groups (all $P < 0.01$). Pearson correlation analysis showed that miR-126 expression in CKD patients with MACE was negatively correlated with FGF-23 ($r = -0.551, P = 0.000$), PTX3 ($r = -0.506, P = 0.000$) and Galectin-3 ($r = -0.496, P = 0.000$), respectively. **Conclusion** There is a obvious correlation among miR-126, FGF-23, PTX3 and Galectin-3 in CKD patients complicated with MACE, which is

of great significance for exploring the mechanism of MACE in CKD patients.

Key words: Chronic kidney disease; Major adverse cardiovascular events; microRNA-126; Fibroblast growth factor 23; Plasma pentaxin 3; Galectin-3; Correlation analysis

Fund program: Medical Science Research Project Plan of Hebei Province (20190438)

慢性肾脏病 (chronic kidney disease, CKD) 多为肾小球肾炎、高血压、糖尿病、多囊肾等疾病迁延导致的人体肾病理、血液、尿液及肾影像学等发生异常变化^[1]。由于 CKD 患者机体长期的微炎症、氧化应激等状态,导致其发生主要心血管不良事件 (MACE) 的可能性明显升高。局部的炎症及炎性递质聚集容易导致动脉粥样硬化形成、斑块破裂等引发急性冠脉综合征。近年研究显示,CKD 并发 MACE 的发病率存在不断上升的趋势,这在终末期肾病中尤为常见^[2-3]。CKD 的不断发展与 MACE 等不良事件的发生与炎症和肾组织慢性纤维化有着密切关系,但目前对于 CKD 并发 MACE 的诊断缺乏灵敏度较高的生物标志物,以全面的反映 CKD 并发 MACE 患者的生理病理变化。miR-126 为内皮细胞表达较高的一类 miRNA,其参与了机体的多个病理及生理过程,研究显示,其与糖尿病肾病、心肌梗死等患者病情密切相关^[4]。成纤维细胞生长因子 (FGF)-23 与多种心血管疾病有关,FGF-23 升高可导致高血压、左心室肥厚、心源性死亡等的发生^[5]。血浆五聚素 (PTX)3 属于炎症急性反应蛋白,其与心肌梗死、不稳定型心绞痛等心血管疾病患者病情及预后密切相关^[6]。半乳糖凝集素 (Galectin)-3 为凝集素家族的一员,其在肿瘤的发生与发展、糖尿病、组织炎症和纤维化及动脉粥样硬化等疾病中均可发挥作用,其作为心血管疾病的非特异性病理因子,对于多种疾病的诊断与治疗具有指导意义^[7]。本研究对 CKD 并发 MACE 患者 miR-126、FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 水平进行探讨,以期对 CKD 并发 MACE 的临床诊断提供有效指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取河北医科大学第一医院 2017 年 1 月至 2019 年 1 月收治的 CKD 3~5 期患者 92 例为研究对象。92 例均符合 CKD 临床诊断及分期标准^[8],纳入标准:(1)均对本研究内容充分了解并自愿签署知情同意书;(2)均临床资料完善,各项基本信息准确。排除标准:(1)合并败血症、严重感染、原发性心脏病、心力衰竭、恶性肿瘤等疾病者;(2)合并免疫系统疾病、肝功能异常及肺部疾病者;(3)存在肾手术史者;(4)无法配合完成研究者;(5)接受过肾脏替代性治疗者。依据患者入院后 6 个月内是否发

生 MACE 将所有患者分为 MACE 组 (研究组) 和无 MACE 组 (对照组),均经影像学检查确诊。研究组 30 例,男 19 例,女 11 例;年龄 22~76 (59.3±3.8) 岁;其中糖尿病肾病 11 例,原发性肾小球疾病 8 例,高血压肾病 8 例,多囊肾 3 例;CKD 3 期 7 例,4 期 10 例,5 期 13 例。对照组 62 例,男 43 例,女 19 例;年龄 19~78 (59.9±4.2) 岁;其中糖尿病肾病 23 例,原发性肾小球疾病 17 例,高血压肾病 18 例,多囊肾 4 例;CKD 3 期 32 例,4 期 20 例,5 期 10 例。另选取同期体检的健康人员 60 例作为健康组,其中男 41 例,女 19 例;年龄 18~78 (59.5±4.6) 岁。三组研究对象在性别、年龄等一般资料上比较差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。研究经院伦理委员会批准。

1.2 检测方法 所有研究对象均于入院当日清晨空腹抽取 5 ml 静脉血,3 000 r/min (离心半径 17.5 cm) 离心 10 min 取血清, -70 °C 保存待测。(1) 采用实时荧光定量 PCR 法检测 miR-126 水平:取适量血清,依照试剂盒说明书提取总 RNA,反转录合成 cDNA,利用 SYBR Green 荧光定量 PCR 定量扩增,反应体系 20 μ l:上游引物 2 μ l,下游引物 2 μ l,SYBR Premix Ex TaqII (2 \times) 10 μ l, DNA 模板 2 μ l,加 DEPC 水至 20 μ l。引物序列:上游,5'-UCG UAC CGU GAG UAA UAA UGC-3';下游,5'-CGC AAG GAT GAC ACG CAA ATT CGT GAA GCG TTC CAT ATT TTT-3'。反应条件:95 °C 10 min,95 °C 15 s,60 °C 60 s,40 个循环。试剂盒购自美国 Sigma 公司,所有操作严格依照试剂盒说明书进行。每个样品 3 个重复,记录 Ct 值,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法测定 miR-126 表达水平。(2) FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 检测:采用酶联免疫吸附法 (ELISA),试剂盒购自哈尔滨百杰斯生物公司,检测严格按试剂盒说明书进行。

1.3 随访观察 所有患者随访 6 个月,记录非致死性心力衰竭、非致死性心肌梗死及心源性死亡等 MACE 事件的发生情况。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 统计学软件进行数据分析。计数资料以百分比表示,组间比较采用行 \times 列表 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD- t 检验;Pearson 相关性分析 miR-126 表达与 FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 水平在 CKD 并 MACE 患者中的相关性。检

验水准取 $\alpha = 0.05$, 双侧检验。

2 结果

2.1 不同 CKD 分期患者 MACE 发生率比较 92 例患者中, CKD 3、4、5 期分别为 39、30 和 23 例, CKD 3、4、5 期患者 MACE 的发生率分别为 17.9%、33.3% 和 56.5%, 不同 CKD 分期患者 MACE 发生率比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 9.806, P = 0.006$)。

2.2 不同 CKD 分期患者 miR-126 相对表达量及 FGF-23、PTX3、Galectin-3 水平比较 将研究组和对照组合并, 按不同 CKD 分期分析, 不同 CKD 分期患者 miR-126 相对表达量及 FGF-23、PTX3、Galectin-3 水平比较差异有统计学意义 (P 均 < 0.01), 且随着 CKD 分期增加, miR-126 水平明显降低, FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 水平明显升高 (P 均 < 0.01)。见表 1。

2.3 不同组别患者 miR-126 相对表达量及 FGF-23、PTX3、Galectin-3 水平比较 不同组别患者 miR-126 相对表达量及 FGF-23、PTX3、Galectin-3 水平比较差异有统计学意义 (P 均 < 0.01)。研究组患者 miR-126 水平显著低于对照组及健康组, FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 水平显著高于对照组及健康组 (P 均 < 0.05)。见表 2。

2.4 miR-126 表达与 FGF-23、PTX3、Galectin-3 水平在 CKD 并 MACE 患者中的相关性分析 相关性分析结果显示, miR-126 与 FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 分别存在明显负相关关系 (P 均 < 0.01)。见表 3。

表 1 不同 CKD 分期患者 miR-126 相对表达量及 FGF-23、PTX3、Galectin-3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

CKD 分期	例数	miR-126	FGF-23 (pg/ml)	PTX3 (ng/ml)	Galectin-3 (ng/ml)
3 期	39	16.7 ± 4.4	42.6 ± 8.5	2.9 ± 0.7	25.5 ± 3.3
4 期	30	11.2 ± 2.6 ^a	96.5 ± 18.2 ^a	4.1 ± 1.0 ^a	46.8 ± 6.2 ^a
5 期	23	5.1 ± 1.1 ^{ab}	170.8 ± 25.3 ^{ab}	6.4 ± 1.5 ^{ab}	77.7 ± 7.4 ^{ab}
F 值		12.990	32.575	12.114	40.020
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 CKD 3 期比较, ^a $P < 0.05$; 与 CKD 4 期比较, ^b $P < 0.05$ 。

表 2 不同组别患者 miR-126 相对表达量及 FGF-23、PTX3、Galectin-3 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

CKD 分期	例数	miR-126	FGF-23 (pg/ml)	PTX3 (ng/ml)	Galectin-3 (ng/ml)
研究组	30	5.5 ± 1.2	158.5 ± 22.1	5.2 ± 1.1	72.6 ± 8.1
对照组	62	14.6 ± 3.0 ^a	70.6 ± 10.8 ^a	3.8 ± 0.8 ^a	31.5 ± 3.9 ^a
健康组	60	26.3 ± 5.6 ^{ab}	12.6 ± 4.5 ^{ab}	1.8 ± 0.3 ^{ab}	5.7 ± 1.0 ^{ab}
F 值		23.043	32.669	15.696	34.950
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与研究组比较, ^a $P < 0.05$; 与对照组比较, ^b $P < 0.05$ 。

表 3 miR-126 相对表达量与 FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 水平的相关性

指标	miR-126	
	r 值	P 值
FGF-23	-0.551	0.000
PTX3	-0.506	0.000
Galectin-3	-0.496	0.000

3 讨论

心血管事件是 CKD 患者的常见并发症, 其致死率在 CKD 各类并发症中占据首位。因此, 对于 CKD 患者及时评估和预防 MACE 的发生具有重要作用。临床上, 寻找能够有效评价 CKD 发生 MACE 的可靠指标一直是医学工作者的研究热点之一。研究显示, 由于 CKD 尤其是长期透析治疗患者机体往往存在微炎症、营养缺乏、钙磷代谢异常及继发性甲状旁腺功能亢进等症, 这些都是导致其发生 MACE 的危险因素^[9]。本研究中, 随着 CKD 患者分期增加, MACE 的发生率递升, 提示, CKD 患者疾病进展导致 MACE 的发生可能性提高, 随着 CKD 疾病的进展, 机体炎症和氧化应激逐渐加重, 患者动脉粥样硬化形成及斑块破裂发生的可能性明显提高, 从而引发各种心血管并发症的发生。

本研究中, 随着 CKD 分期增加, 患者机体 miR-126 表达明显降低, FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 水平明显升高, miR-126、FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 水平的变化与患者临床分期存在明显关系, 检测这些指标对于 CKD 患者疾病程度的评估具有良好意义。miRNAs 具有血浆稳定性、组织特异性及疾病状态下的差异性, 因此 miRNAs 逐渐成为疾病诊断和治疗新的生物学标志物, 在心血管领域, miRNAs 被证实与冠心病、高血压、心力衰竭等多种心血管疾病存在明显关系。miR-126 是内皮来源的 miRNAs, 其靶基因为胰岛素受体底物 1 (IRS1), 并可靶向抑制 IRS1 产生胰岛素抵抗。有研究表明, miR-126 在血管生成中存在关键作用^[10]。在糖尿病肾病、终末期肾病及糖尿病微血管损伤等疾病患者血液循环中 miR-126 存在明显异常。FGF-23 为 FGF 超家族成员, 其在维生素 D、血磷代谢中发挥调节作用。有研究显示, 在 CKD 患者中 FGF23 表达与其骨代谢及矿物质异常存在明显相关性, 且随着 CKD 进展到后期, 患者肾脏炎症和纤维化持续加剧, 导致 FGF23 呈指数级异常升高^[11]。PTX3 为急性反应蛋白, 其不同于 C 反应蛋白 (CRP), PTX3 为长链五聚素, CRP 为短链五聚素; PTX3 主要由平滑肌细胞、上皮细胞、单核细胞、脂肪细胞、巨噬细胞及纤维母细胞等多种细胞在炎症因子

的刺激下产生,有研究显示,PTX3 能够与补体 C1q 相互作用介导机体固有免疫反应而导致 CKD 的发生与发展^[12]。Galectin-3 能够与细胞基质中的胶原蛋白、层粘连蛋白、整合素等发生作用,胞内 Galectin-3 主要调控细胞周期和凋亡,胞外 Galectin-3 主要调控细胞移动及细胞间的相互作用。在正常组织中, Galectin-3 呈低表达状态,而在病理状态下其表达水平明显升高。Galectin-3 可参与器官纤维化进程,可激活细胞周期蛋白 D1 导致心肌成纤维细胞增生,并促进纤维化程序启动^[13-14]。本研究中,CKD 并发 MACE 患者 miR-126 表达明显低于未发生 MACE 患者,FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 水平明显高于未发生 MACE 患者,提示,在 CKD 发生 MACE 患者中,miR-126、FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 明显异常,其异常水平与 CKD 患者 MACE 的发生与发展有着密切关系。

本研究结果还显示,miR-126 的相对表达量与 FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 水平在 CKD 患者中存在明显负相关性,提示,在 CKD 患者并发 MACE 的过程中,miR-126、FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 之间可能存在协同或抑制作用。miR-126 能够介导内皮损伤,其通过激活核因子表达或降低 p65 蛋白表达,或通过抑制内皮型一氧化氮合酶抑制一氧化氮活性,进而降低蛋白质巯基亚硝基化作用,从而加重内皮损伤、炎症和氧化应激,导致血管并发症的发生^[15]。FGF-23 同样能够通过调控动脉粥样硬化、血容量及心脏重构等途径参与心血管疾病的生理病理过程,同时,PTX3 升高能够导致和增加斑块的不稳定性,增强机体代谢废物滞留和炎症反应,形成 CKD 及 MACE 的恶性循环。有研究显示, Galectin-3 在心肌梗死后左室重构进程、动脉粥样硬化进程等过程中明显增加^[16-17]。因此在 miR-126 异常表达,FGF-23、PTX3 及 Galectin-3 增高,加上 CKD 患者肾脏纤维化、氧化应激及炎症等的共同作用下,导致了 MACE 的发生。

综上所述,miR-126 的表达和 FGF-23、PTX3、Galectin-3 水平在 CKD 并发 MACE 患者中存在明显相关性,其对于 CKD 患者发生 MACE 机制的探讨具有重要意义。

参考文献

[1] Okoye O. Environmental exposure to crude oil: a potential risk for chronic kidney disease (CKD) in disadvantaged countries [J]. West

Afr J Med, 2019, 36(2): 144-157.

- [2] Omotoso Bolanle A, Abdel-Rahman Emaad M, Xin WJ, et al. Dialysis requirement and long-term major adverse cardiovascular events (MACE) in CKD patients with superimposed AKI-a propensity-matched cohort study [J]. Am J Kidney Dis, 2016, 67(5): 847-855.
- [3] Cardi T, Kayali A, Trimaille A, et al. Prognostic value of incomplete revascularization after percutaneous coronary intervention following acute coronary syndrome: focus on CKD patients [J]. J Clin Med, 2019, 8(6): 810.
- [4] 仲海峰, 周永华, 韩晓骏, 等. miR-126、Transferrin、miR-133 b、miR-342 和 Cystatin C 对 2 型糖尿病肾病的诊断价值 [J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(11): 1674-1678.
- [5] 甘露, 周巧玲. 慢性肾病患者血清 FGF23 和 Klotho 蛋白与心脏并发症的关系 [J]. 中南大学学报(医学版), 2017, 42(9): 1058-1065.
- [6] 丘创华, 李卓成, 卢章, 等. 血浆 PTX3 对 STEMI 近期不良心血管事件的预测价值 [J]. 热带医学杂志, 2017, 17(3): 405-408.
- [7] 张志宏. 半乳糖凝集素 3 与慢性肾脏病风险评估 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2015, 24(5): 459-462, 492.
- [8] 田瑞, 周芸. 慢性肾脏病概念及分期诊断标准的演变和现状 [J]. 国际移植与血液净化杂志, 2018, 16(1): 1-4.
- [9] 陈胜男, 申燕. 慢性肾脏病的心血管并发症研究进展 [J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(8): 1532-1536.
- [10] 郎明健, 王越, 李志, 等. 缺血再灌注损伤中 miR-126 的作用及对心肌细胞凋亡的影响 [J]. 重庆医科大学学报, 2017, 42(9): 1131-1136.
- [11] Pereira RC, Salusky IB, Bowen RE, et al. Vitamin D sterols increase FGF23 expression by stimulating osteoblast and osteocyte maturation in CKD bone [J]. Bone, 2019, 127: 626-634.
- [12] Pilely K, Fumagalli S, Rosbjerg A, et al. Pentraxins PTX3 and CRP recruit C1q to cholesterol crystals and co-localize with the terminal complement complex in human atherosclerotic plaques [J]. Mol Immunol, 2017, 89: 126-127.
- [13] 张志宏, 张丽华, 郑春霞, 等. 循环半乳糖凝集素 3 水平预测慢性肾脏病患者心血管事件风险的价值 [J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2016, 25(2): 101-106, 158.
- [14] 赖冬, 熊咏梅, 龙敏, 等. 慢性肾脏病患者血清半乳糖凝集素-3 检测的临床意义 [J]. 重庆医学, 2014, 43(33): 4460-4461.
- [15] 高威, 钟锋. miR-126 对急性心肌梗死大鼠心肌细胞凋亡的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2016, 26(7): 57-63.
- [16] Tuegel C, Katz R, Alam M, et al. GDF-15, Galectin 3, Soluble ST2, and risk of mortality and cardiovascular events in CKD [J]. Am J Kidney Dis, 2018, 72(4): 519-528.
- [17] 张敬红, 余丹, 徐晓红, 等. 2 型糖尿病患者血清半乳糖凝集素-3 水平与冠脉支架内狭窄的关系 [J]. 中华全科医学, 2019, 17(6): 940-943.

收稿日期: 2020-01-16 修回日期: 2020-02-10 编辑: 石嘉莹