

# 冠状动脉粥样硬化心脏病患者外周血中血小板 miR-126 水平及临床意义

沈阳市第四人民医院 王阳\* 栗印军 邢芸芸 李欣, 沈阳 110031

**摘要** 目的:探讨外周血中血小板 miR-126 水平在冠心病诊断、预测及预后分析中的应用价值。方法:选取冠心病患者 80 例为冠心病组,包括稳定型心绞痛 (SAP) 组及急性冠状动脉综合征 (ACS) 组各 40 例,选择同期健康体检者 40 例作为健康对照 (NC) 组,qRT-PCR 检测 3 组患者血小板 miR-126 表达,比较其在 3 组患者中表达水平的差异,分析 miR-126 与冠脉斑块 CT 值分型的关系,比较 miR-126 在不同冠脉造影病变程度、分型及病变支数中表达水平的差异。结果:ACS 组及 SAP 组 miR-126 表达高于 NC 组 ( $P < 0.01$ ),且 ACS 组高于 SAP 组 ( $P < 0.05$ );在冠脉斑块 CT 值分型中,钙化型 miR-126 表达水平高于纤维型及软质型,且纤维型高于软质型 ( $P < 0.05$ );中度、重度及闭塞组 miR-126 表达水平高于轻度组 ( $P < 0.05$ ),且重度及闭塞组高于中度组 ( $P < 0.05$ );在 2 支及  $\geq 3$  支病变组 miR-126 表达水平高于 1 支病变组 ( $P < 0.05$ ), $\geq 3$  支病变组高于 2 支病变组 ( $P < 0.05$ )。结论:在不同冠状动脉粥样硬化严重程度中,血小板 miR-126 表达水平不同,miR-126 表达高者冠状动脉病变程度及支数均较高。

**关键词** miR-126; 冠状动脉粥样硬化性心脏病; 稳定型心绞痛; 急性冠状动脉综合征

中图分类号 R541.6 文献标识码 A DOI 10.1176/nkjwzzz20190509

**Correlation between peripheral blood platelet miR-126 expression and coronary arteriosclerosis disease YANG Wang\*, YIN-jun Li, XING Yun-yun, LI Xin. Department of Cardiovascular Diseases, Shenyang Fourth People's Hospital, Shenyang 110031, China**

**Abstract** Objective: To observe the correlation between miR-126 expression and coronary arteriosclerosis disease, and discuss the value of miR-126 in diagnosis, forecast and prognosis of coronary heart disease (CHD). Methods: Eighty patients diagnosed as CHD were divided into stable angina pectoris (SAP) group ( $n = 40$ ) and acute coronary arterial syndrome (ACS) group ( $n = 40$ ). Forty healthy people selected from physical examination center served as control group (NC group). QRT-PCR was used to detect the platelet miR-126 expression in all three groups. The correlation between miR-126 expression and coronary plaque CT value type, coronary angiography degree and pathological arterial numbers was evaluated. Results: The expression of miR-126 in ACS group and SAP group was significantly higher than in NC group ( $P < 0.01$ ), and that in ACS group was significantly higher than in SAP group ( $P < 0.05$ ). The expression of miR-126 in calcium type group was significantly higher than in fibrosis type group and soft type group, and that in fibrosis type group was significantly higher than in soft type group ( $P < 0.05$ ). The expression of miR-126 in median, serious and occlusion groups was significantly higher than in mild group ( $P < 0.05$ ), and that in serious and occlusion groups was significantly higher than in median group ( $P < 0.05$ ). The expression of miR-126 in 2 and  $\geq 3$  branches groups was significantly higher than in 1 branch group ( $P < 0.05$ ). Conclusions: Platelet miR-126 expression is various in different degrees of coronary arteriosclerosis, and miR-126 expression was high in serious coronary pathological changes and much branches.

**Key words** miR-126; Coronary arteriosclerosis disease; Stable angina pectoris; Acute coronary arterial syndrome

冠状动脉粥样硬化 (coronary arteriosclerosis disease, CAD) 是多因素的作用结果, 在多种基因及细胞因子的作用下诱发粥样斑块形成、破裂, 并发展至纤维化和钙化<sup>[1,2]</sup>。microRNA (简写为 miRNA) 是内源性非编码 RNA, 通过识别并靶向作用于靶基因的 3'UTR 端发挥生物学作用, 研究显示, 多种 miRNA 对血管壁内皮细胞炎症反应、粥样斑块形成、心肌细胞生长等具有调控作用, 参与 CAD 的发生及发展过程<sup>[3,4]</sup>。多因素分析显示, miR-126 表达水平升

高与冠心病发病风险升高具有相关性, miR-126 在外周血单核细胞中的表达水平与冠心病炎性因子表达水平具有相关性<sup>[5,6]</sup>。本研究观察血小板 miR-126 表达与冠脉硬化相关指标的关系, 探讨其在冠心病监测及预后分析中的价值。

## 资料与方法

**一般资料** 采用计算机随机数法选取 2016 年 3 月 ~ 2018 年 3 月在沈阳市第四人民医院循环内科以 WHO 及国际心脏病学会标准<sup>[7]</sup>确诊为冠心病的患者 80 例, 均为冠脉造影确诊患者, 作为冠心病组, 包括稳定型心绞痛 (stable angina pectoris, SAP) 组

\* 通信作者:王阳,E-mail:58837999@qq.com

40 例及急性冠状动脉综合征 (acute coronary arterial syndrome, ACS) 组 40 例, 选取体检中心健康人 40 例, 作为健康对照 (NC) 组。其中, 男性 71 例, 女性 49 例, 年龄 ( $56.3 \pm 26.7$ ) 岁, 各组间在性别、年龄及身高、体重指数方面比较, 差异无统计学意义, 具有可比性。排除标准: 恶性肿瘤; 3 个月内有感染史、外科手术等操作史、重大创伤史; 患血液系统疾病、贫血、免疫系统疾病; 原有扩张性心肌病、心力衰竭、动脉炎、风湿性心脏病、糖尿病患者。

**材料** 所有患者在晨起空腹状态下经肘正中静脉采取静脉血 15 mL EDTA 抗凝, 于 23°C 3000 转/min, 离心 15 min, 备检测用。256 排 CT 购自美国 GE 公司。miRNA 提取分离试剂盒、All-in-One™ qPCR Mix 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司, RT-PCR 逆转录试剂盒购自立陶宛 Fermentas 公司。引物由大连宝生生物技术有限公司设计及合成。

**CT 冠状动脉成像分析及分型** 冠心病组患者行 CT 冠状动脉成像, 对图像进行横断面 CT 三维重建, 以盲法让 3 位影像科高年资主任医师分析狭窄处血管 CT 值, 取平均值, CT 值  $\geq 130$  HU 为钙化型; 60~129 HU 为纤维型;  $< 60$  HU 为软质型。

**冠状动脉造影成像分析及分组** 由 3 位循环内科从事造影工作的高年资主任医师分析病因血管, 病变分型: I 型(表面光滑基底较宽); II 型(基底较窄、龛影、火山口、尖角、表面凹凸不平); III 型(狭窄不规则)。病变程度分组: 轻度组为狭窄 50%~70%; 中度组为狭窄 71%~90%; 重度组为狭窄 91%~99%; 闭塞组为狭窄 100%。病变支数分组: 1 支组; 2 支组;  $\geq 3$  支组。

**qRT-PCR 检测血小板 miR-126 表达** 对血样标本以 3 000 转/min 离心 15 min, 1% EDTA 及 0.1% BAS 混合液冲洗后再次离心, 提纯 3 次, 纯化血小板, 采用 TRizol 试剂盒分离纯化血小板 RNA, 对 RNA 的质量进行检测。合成样品 cDNA、进行梯度稀释标准品和待测样品的管家基因 ( $\beta$ -actin) 实时定量 PCR、制备绘制梯度稀释标准曲线 DNA 模板, 实时定量 PCR 进行待测基因的检测,  $\Delta\Delta Ct$  法对溶解曲线进行分析。

**统计学处理** 采用 SPSS 22.0 统计软件。正态分布计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 多组间比较采用方差分析, 两两比较采用 LSD-t 检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

### miR-126 在 NC、ACS 及 SAP 组中的表达水平

qRT-PCR 显示, 与 NC 组比较, ACS 组及 SAP 组 miR-126 表达较高 ( $F = 22.352, P < 0.01$ ), 且 ACS 组高于 SAP 组 ( $t = 5.632, P < 0.05$ ), 见图 1。

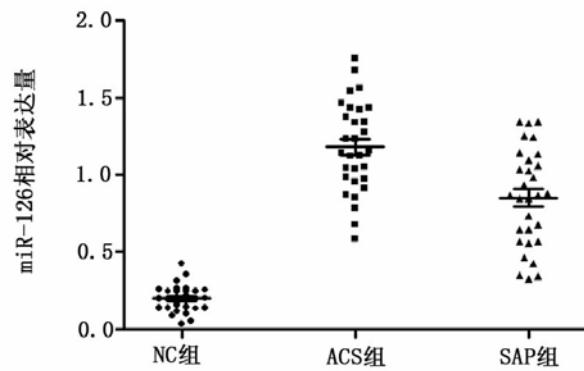


图 1 miR-126 在 NC、ACS 及 SAP 组中的表达水平

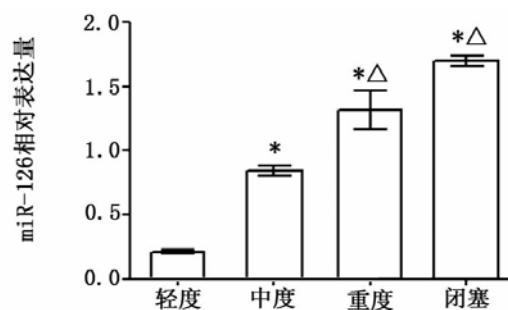
**miR-126 与冠脉斑块 CT 值分型的关系** qRT-PCR 显示, miR-126 在冠脉斑块 CT 值分型间差异有统计学意义 ( $F = 6.322, P < 0.05$ ), 钙化型高于纤维型及软质型, 纤维型高于软质型(均  $P < 0.05$ ), 见表 1。

表 1 miR-126 与冠脉斑块 CT 值的关系 ( $\bar{x} \pm s$ )

miR-126	CT 值分型
钙化型	$1.534 \pm 0.366^*$
纤维型	$0.917 \pm 0.235$
软质型	$0.475 \pm 0.122^*$

注: 与纤维型比较, \*  $P < 0.05$

**miR-126 表达与冠脉造影病变程度及分型的关系** miR-126 表达水平在不同冠脉病变程度间的差异具有统计学意义 ( $F = 61.645, P < 0.001$ ), 中度、重度及闭塞组与轻度组比较, 差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ ), 重度及闭塞组高于中度组(均  $P < 0.05$ ), 闭塞组高于重度组, 但无统计学差异 ( $P > 0.05$ ), 见图 2; miR-126 表达水平在不同冠脉分型(I、II、III型)间的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见图 3。



注: 与轻度比较, \*  $P < 0.05$ ; 与中度比较, △  $P < 0.05$

图 2 miR-126 在冠脉造影不同病变程度中的表达

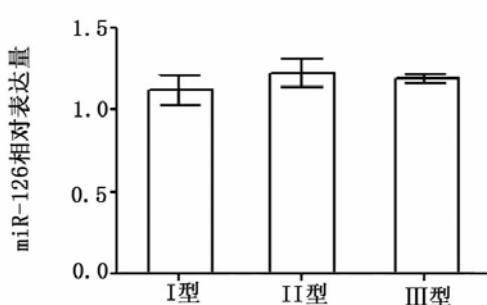


图3 miR-126在冠脉造影不同分型中的表达

miR-126与冠脉造影病变支数的关系 2支、 $\geq 3$ 支病变组miR-126表达水平与1支病变组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), $\geq 3$ 支病变组与2支病变组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表2。

表2 miR-126与冠脉造影病变支数的关系 ( $\bar{x} \pm s$ )

miR-126	病变支数
1支	$0.614 \pm 0.366$
2支	$1.129 \pm 0.257^\Delta$
$\geq 3$ 支	$1.642 \pm 0.336^{\Delta\blacktriangle}$

注:与1支病变组比较, $^\Delta P < 0.05$ ;与2支病变组比较,

$^\Delta P < 0.05$

## 讨 论

miRNA作为内源性非编码RNA在冠心病发生及发展中具有重要的调控作用<sup>[6]</sup>,参与心肌细胞分化、增殖、心脏形态学发生、冠脉内皮细胞稳定性、粥样斑块中的炎性反应等过程<sup>[8]</sup>。Wu等<sup>[9]</sup>认为,在外周血单核细胞中,miR-126表达与冠心病相关因子具有相关性。miR-126在血小板中表达较高,调控血小板相关基因的表达,血小板在冠心病发病中具有关键作用<sup>[10]</sup>。本研究显示,miR-126在ACS及SAP患者中表达高于正常健康人群,ACS患者高于SAP患者,表明miR-126表达可能与冠心病的发病具有相关性。Wang等<sup>[6]</sup>发现miR-126在不稳定型心绞痛中和急性心肌梗死患者中表达明显高于健康对照人群,并与血浆胎盘生长因子(placental growth factor, PLGF)表达水平具有相关性。Lin等<sup>[5]</sup>认为miR-126可能是冠心病的危险因素。以上研究均表明,miR-126可能作为冠心病的预测因素。冠脉斑块CT值分型的关系、冠脉造影病变程度、分型及病变支数是CAD严重程度主要的表现指标,是患者临床症状及预后分析的主要因素<sup>[11~13]</sup>。本研究中miR-126在冠脉斑块CT值分型中钙化型高于纤维型及软质型,纤维型高于软质型,病变程度越高miR-126表达水平越高,miR-126表达水平在多支病

变高于单支病变,表明miR-126表达水平与CAD严重程度具有相关性。miR-126表达上调者患者粥样硬化程度CT分型及冠脉造影分型均不良,病变支数也较多,这可能对患者不良预后具有预测作用。Sun等<sup>[10]</sup>报道,miR-126通过对血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)及肿瘤生长因子 $\beta 1$ 的调控介导血管内皮细胞的增殖,可能促进动脉粥样斑块的形成。

## 参 考 文 献

- Opstad TB, Brusletto BS, Arnesen H, et al. Cigarette smoking represses expression of cytokine IL-12 and its regulator miR-21-An observational study in patients with coronary artery disease[J]. Immunobiology, 2017, 222(2): 169-175.
- Rong X, Jia L, Hong L, et al. Serum miR-92a-3p as a new potential biomarker for diagnosis of kawasaki disease with coronary artery lesions[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2017, 10(1): 1-8.
- 陈婧,张亚芬,陆奎英.不同剂量瑞舒伐他汀对于急性脑梗死患者血清相关miRNAs水平的影响[J].内科急危重症杂志,2018,24(1):31-33.
- Chen B, Luo L, Zhu W, et al. miR-22 contributes to the pathogenesis of patients with coronary artery disease by targeting MCP-1: An observational study[J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(33): e4418.
- Lin DC, Lin JB, Chen Z, et al. Independent and combined effects of environmental factors and miR-126, miR-143, and miR-145 on the risk of coronary heart disease[J]. J Geriatr Cardiol, 2017, 14(11): 688-695.
- Wang X, Lian Y, Wen X, et al. Expression of miR-126 and its potential function in coronary artery disease[J]. Afr Health Sci, 2017, 17(2): 474-480.
- Shah N, Soon K, Wong C, et al. Screening for asymptomatic coronary heart disease in the young 'at risk' population: Who and how? [J]. Int J Cardiol Heart Vasc, 2014, 6(12): 60-65.
- Yu XY, Chen JY, Zheng ZW, et al. Plasma miR-126 as a potential marker predicting major adverse cardiac events in dual antiplatelet-treated patients after percutaneous coronary intervention[J]. EuroIntervention, 2013, 9(5): 546-554.
- Wu H, Zhang J. miR-126 in peripheral blood mononuclear cells negatively correlates with risk and severity and is associated with inflammatory cytokines as well as intercellular adhesion molecule-1 in patients with coronary artery disease[J]. Cardiology, 2018, 139(2): 110-118.
- Sun Y, Liu XL, Zhang D, et al. Platelet-derived exosomes affect the proliferation and migration of human umbilical vein endothelial cells via miR-126[J]. Curr Vasc Pharmacol, 2018, 17(4): 379-387.
- Norgaard BL, Leipsic J, Achenbach S. Coronary CT angiography to guide treatment decision making: lessons from the SYNTAX II trial [J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 71(24): 2770-2772.
- Kishi S, Giannopoulos AA, Tang A, et al. Fractional flow reserve estimated at coronary CT angiography in intermediate lesions: comparison of diagnostic accuracy of different methods to determine coronary flow distribution[J]. Radiology, 2018, 287(1): 76-84.
- Gu H, Gao Y, Hou Z, et al. Prognostic value of coronary atherosclerosis progression evaluated by coronary CT angiography in patients with stable angina[J]. Eur Radiol, 2018, 28(3): 1066-1076.

(2018-06-06 收稿 2019-08-24 修回)