

· 论著 ·

外周血 miR-24 水平与急性心肌梗死患者预后的相关性分析

吴海燕 解文静 吕向妮 薛宝宝

(中国人民解放军空军军医大学第一附属医院, 陕西 西安 710032)

【摘要】目的 分析外周血 miR-24 水平与急性心肌梗死(AMI)患者预后的相关性分析。**方法** 收集 2017 年 5 月—2018 年 5 月入院就诊的 AMI 患者 92 例,根据临床诊断确定为急性 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)患者 39 例、急性非 ST 段抬高型心肌梗死(NSTEMI)患者 53 例,另选取非冠心病患者 34 例作为对照组;采用实时定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)法检测患者外周血中 miR-24 水平,比较分析 AMI 患者 miR-24 水平与心功能指标的相关性;随访至 2019 年 5 月 31 日,分析 AMI 患者出院后主要不良心血管事件(MACE)发生与外周血 miR-24 水平的关系。**结果** STEMI 组患者外周血 miR-24 水平显著低于 NSTEMI 组和对照组,高敏肌钙蛋白(hs-cTnT)、肌酸激酶(CK)及肌酸激酶同工酶(CK-MB)水平显著高于 NSTEMI 组和对照组($P<0.05$);Pearson 相关分析显示,AMI 患者外周血 miR-24 水平分别与 hs-cTnT、CK-MB 及 CK 水平呈负相关(均 $P<0.05$);随访结果显示,AMI 患者出院后有 38 例出现 MACE,占比 41.30%;MACE 患者 miR-24 水平显著低于无 MACE 者($P<0.05$);当外周血 miR-24 ≤ 2.37 时,预测患者出现 MACE 的曲线下面积为 0.817,95% CI 为 0.722 ~ 0.890。**结论** 外周血 miR-24 水平在 AMI 患者中异常降低,可作为预测患者预后的潜在血清标志物。

【关键词】 急性心肌梗死;miR-24;心功能指标;预后

【DOI】 10.16806/j.issn.1004-3934.2020.06.022

Correlation Between Level of miR-24 in Peripheral Blood and Prognosis of Patients with Acute Myocardial Infarction

WU Haiyan, XIE Wenjing, LYU Xiangni, XUE Baobao

(The First Affiliated Hospital, Air Force Military Medical University of PLA, Xi'an 710032, Shaanxi, China)

【Abstract】Objective To analyze correlation between level of miR-24 in peripheral blood and prognosis of patients with acute myocardial infarction (AMI). **Methods** A total of 92 AMI patients who were treated in the hospital during the period from May 2017 to May 2018 were collected. According to clinical diagnosis, it was confirmed that there were 39 cases with acute ST segment elevation myocardial infarction (STEMI) and 53 cases with acute non-ST segment elevation myocardial infarction (NSTEMI). 34 patients with non-coronary heart disease were enrolled as control group. The level of miR-24 in peripheral blood was detected by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The levels of miR-24 in peripheral blood were compared among all groups. The correlation between miR-24 level and cardiac function indexes in AMI patients was analyzed. The follow-up lasted till May 31, 2019. The relationship between occurrence of major adverse cardiovascular events (MACE) and level of miR-24 in peripheral blood after discharge in AMI patients was analyzed. **Results** The level of miR-24 in peripheral blood in STEMI group was significantly lower than that in NSTEMI group and control group, while levels of high-sensitivity troponin (hs-cTnT), creatine kinase (CK) and CK-isoenzyme (CK-MB) were significantly higher than those in NSTEMI group and control group ($P<0.05$). Pearson correlation analysis showed that miR-24 level was negatively correlated to levels of hs-cTnT, CK-MB and CK ($P<0.05$). Follow-up results showed that there were 38 AMI patients (41.30%) with MACE after discharge. The miR-24 level in MACE patients was significantly lower than that in patients without MACE ($P<0.05$). When miR-24 in peripheral blood was not higher than 2.37, area under ROC curve and 95% CI for predicting MACE were 0.817 and 0.722 ~ 0.890, respectively. **Conclusion** The level of miR-24 in peripheral blood is abnormally decreased in AMI patients, which can be applied as a potential serum marker to predict their prognosis.

【Key words】 Acute myocardial infarction; miR-24; Cardiac function index; Prognosis

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是冠状动脉急性、持续性缺血缺氧引起的心肌坏死,临床症状为压榨性胸痛,并伴有出汗、恐惧或濒死感等,可累及心血管、呼吸、消化等系统,常可危及生命^[1]。研究数据显示,中国 AMI 发病年龄呈年轻化趋势,且 AMI 具有较高的病死率和致残率,严重威胁人类的健康安全^[2]。目前,AMI 的发病机制尚未完全明了,普遍认为遗传、生活方式及环境等因素与其发生发展有关^[3]。因此,AMI 早期诊断及治疗靶点的研究显得尤为重要。随着分子生物技术的飞速发展,miRNA 在疾病中的调控作用成为研究热点。miRNA 是一类非编码的小 RNA,可维持机体正常功能,并参与调控机体病理生理过程、老化及应激反应等^[4]。近年来研究表明,miRNA 与 AMI 的发生发展密切相关^[5]。动物实验数据表明,miR-24 在心肌梗死大鼠的心肌组织中显著下调,并与心肌损伤标志物水平呈负相关^[6]。褚福永等^[7]研究显示,急性冠脉综合征患者外周血 miR-24 表达水平下调,并与细胞凋亡及炎症因子水平呈负相关。上述研究表明,miR-24 可能在 AMI 中存在某种调控机制,参与其发病过程,但 miR-24 水平与 AMI 预后的研究较少,故本研究通过分析 AMI 患者外周血 miR-24 水平的分化,探究外周血 miR-24 评估 AMI 患者临床预后的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2017 年 5 月—2018 年 5 月入院就诊的 AMI 患者 92 例,年龄 51~76 岁,平均年龄(64.29±6.82)岁;男性 51 例,女性 41 例。根据临床诊断确定为急性 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)患者 39 例和急性非 ST 段抬高型心肌梗死(NSTEMI)患者 53 例,另选取非冠心病患者 34 例作为对照组。其中 AMI 患者符合《急性冠脉综合征急诊快速诊疗指南》^[8]中 STEMI 和 NSTEMI 的诊断标准,均接受经皮冠脉介入术;对照组符合非心源性胸痛,且既往无冠心病病史者。本研究已通过医院伦理委员会审批,所有患者及家属均签署知情同意书。排除标准:瓣膜性心脏病患者;既往心力衰竭病史;肥厚型心肌疾病者;严重肝、肺及肾等功能不全;合并恶性肿瘤;血液系统疾病;先天性免疫疾病;近期(一周内)非甾体类抗炎药物、降脂药物及抗血小板药物使用史;精神异常、神志不清者;未完成随访者。

1.2 方法

1.2.1 收集患者基础资料

入组患者入院后收集其基础资料,包括年龄、性

别、基础疾病史、吸烟史、体重指数、血压、空腹血糖、血脂、肾功能及心肌酶谱等,空腹血糖采用血糖测试仪(日本 OMRON)检测,血脂包括总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇及低密度脂蛋白胆固醇,肾功能指标包括血肌酸、血尿素氮及肾小球滤过率,心肌酶谱包括肌钙蛋白(cTnT)、肌酸激酶(CK)及肌酸激酶同工酶(CK-MB),其中 cTnT 采用电化学发光法检测(试剂盒购自上海信裕生物科技有限公司),血脂、肾功能、CK 和 CK-MB 采用全自动生化分析仪(日本希森美康)进行检测。

1.2.2 实时定量聚合酶链式反应法检测患者外周血中 miR-24 水平

入组者入院后抽取其静脉血 5 mL 左右,置于抗凝管中,离心吸取上层血清。加入 TRIzol 裂解液(广州蓝吉生物),充分震荡,以氯仿-异丙醇体系分离、沉淀总 RNA,经预冷 75% 乙醇清洗后重新溶解;检测其浓度、纯度及完整度后,参照 Taq-Man miRNA Reverse Transcription 逆转录试剂盒(美国 Thermo Fisher),将提取的 RNA 合成 cDNA 模板,再进行实时定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测。反应条件为:95℃ 预变性 1 min,95℃ 变性 15 s,60℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,共 39 个循环。以 U6 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法,计算 miR-24 的相对表达量。miR-24 上游引物序列:5'-GCGCCGGTGACTCAGTACAGC-3',下游引物序列:5'-GTGCCAGGTCCGAGGC-3'^[9];U6 上游引物序列:5'-GCCTGCTCCGGCAGCAC-3',下游引物序列:5'-GAGGTATTGCGACCAGAGGA-3',引物合成由上海信帆生物科技有限公司提供。

1.2.3 冠状动脉造影检查

患者接受冠状动脉造影检查,采用 Judkins 法进行检查,诊断标准:(1)心外膜下冠状动脉左主干、前降支、回旋支、右冠状动脉中均无狭窄为正常;(2)上述动脉直径狭窄<50% 则为无意义病变;(3)上述动脉直径狭窄≥50% 则为有意义病变;(4)左主干狭窄≥50% 则为双支血管病变;(5)两支或两支以上心外膜冠状动脉狭窄程度>50% 为多支病变^[10]。

1.2.4 随访

随访至 2019 年 5 月 31 日,以门诊复查形式,1 次/月,记录 AMI 患者出院后主要不良心血管事件(major adverse cardiovascular events, MACE)情况,包括心力衰竭、非致死性心肌梗死、心源性再入院治疗及死亡等。

1.3 统计学方法

数据采取统计学软件 SPSS 17.0 进行分析处理,

符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两两均数比较采用 t 检验,多组均数比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-q 法;计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验;相关性分析采用 Pearson 相关系数进行描述;采用受试者工作特征(ROC)曲线描述外周血 miR-24 水平对于患者出院后 1 年出现 MACE 进行预测分析,以曲线下面积(AUC)评价其预测价值,以 $P < 0.05$

为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基础资料的比较

三组患者年龄、性别比例、基础疾病(高血压、糖尿病)、吸烟史、体重指数、血压、空腹血糖、血脂水平及肾功能情况比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,见表 1。

表 1 患者基础资料的比较

项目	STEMI 组 ($n=39$)	NSTEMI 组($n=53$)	对照组 ($n=34$)	F 或 χ^2	P
年龄(岁)	62.37±5.48	65.19±7.64	63.65±6.32	2.033	0.135
男性[$n(\%)$]	20(51.28)	31(58.49)	21(61.76)	0.883	0.643
高血压[$n(\%)$]	18(46.16)	28(52.83)	14(41.18)	1.176	0.555
糖尿病[$n(\%)$]	8(20.51)	13(24.53)	6(17.65)	0.611	0.737
吸烟[$n(\%)$]	13(33.33)	16(30.19)	10(29.41)	0.156	0.925
体重指数(kg/m^2)	25.62±2.85	25.19±2.61	24.32±2.37	2.294	0.105
收缩压(mm Hg)	130.54±15.62	129.18±13.25	126.65±11.37	0.763	0.469
舒张压(mm Hg)	76.42±9.97	77.53±10.34	74.38±8.69	1.071	0.346
空腹血糖(mmol/L)	6.29±2.61	6.45±2.49	5.32±1.85	2.532	0.084
总胆固醇(mmol/L)	4.56±0.92	4.78±0.96	4.32±0.84	2.633	0.076
甘油三酯(mmol/L)	1.68±0.54	1.75±0.61	1.50±0.44	2.197	0.115
高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	0.95±0.29	0.90±0.27	1.05±0.31	2.834	0.063
低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	3.15±1.09	3.11±1.05	2.65±0.84	2.779	0.066
血肌酸($\mu\text{mol}/\text{L}$)	65.47±20.11	63.29±19.48	61.52±18.52	0.380	0.685
血尿素氮(pg/mL)	109.64±10.87	108.53±10.24	105.29±9.87	1.727	0.182
肾小球滤过率[$\text{mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$]	112.67±9.50	113.85±9.86	116.53±10.52	1.431	0.243

注:1 mm Hg=0.133 3 kPa。

2.2 患者外周血 miR-24 水平及测量指标的比较

STEMI 组患者外周血 miR-24 水平显著低于

NSTEMI 组和对照组,hs-cTnT、CK-MB 及 CK 水平显著高于 NSTEMI 组和对照组($P < 0.05$),见表 2。

表 2 患者外周血 miR-24 水平及测量指标的比较

组别	例数	miR-24	hs-cTnT(mg/L)	CK-MB(U/L)	CK(U/L)
STEMI 组	39	1.81±0.46 ^{ab}	1.78±0.32 ^a	71.15±9.80 ^{ab}	345.72±37.61
NSTEMI 组	53	3.15±0.65 ^b	0.84±0.18	35.42±6.24	286.54±31.59
对照组	34	4.32±0.84	0.03±0.01	9.37±2.57	112.32±14.21
F 或 t		133.090	618.469	739.128	583.109
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:^a表示与 NSTEMI 组比较, $P < 0.05$;^b表示与对照组比较, $P < 0.05$ 。

2.3 相关性分析

AMI 患者外周血 miR-24 水平为(2.53±0.52),hs-cTnT 为(1.26±0.27) mg/L,CK-MB 为(52.37±7.64) U/L,CK 为(306.98±33.48) U/L。

Pearson 相关分析显示,AMI 患者外周血 miR-24 水平分别与 hs-cTnT、CK-MB 及 CK 水平呈负相关(均 $P < 0.05$),如图 1。

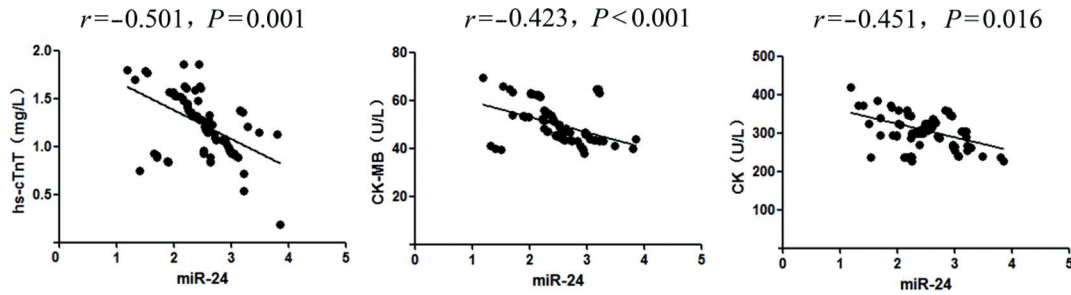


图1 AMI 患者外周血 miR-24 水平与心肌酶谱的相关性

2.4 AMI 患者 MACE 发生情况分析

随访结果显示,AMI 患者出院后有 38 例出现 MACE 作 MACE 组,占比 41.30%,剩余 54 例作无 MACE 组。比较两组外周血 miR-24 水平发现,MACE 组患者外周血 miR-24 水平明显低于无 MACE 组 $[(1.92 \pm 0.41) \text{ vs } (2.95 \pm 0.65), t = 8.627, P < 0.001]$ 。

2.5 外周血 miR-24 水平对 AMI 患者出院后发生 MACE 的预测价值

ROC 曲线显示,当外周血 miR-24 ≤ 2.37 时,AUC 为 0.817,95% CI 为 0.722 ~ 0.890,敏感度为 84.2%,特异度为 75.9%,如图 2。

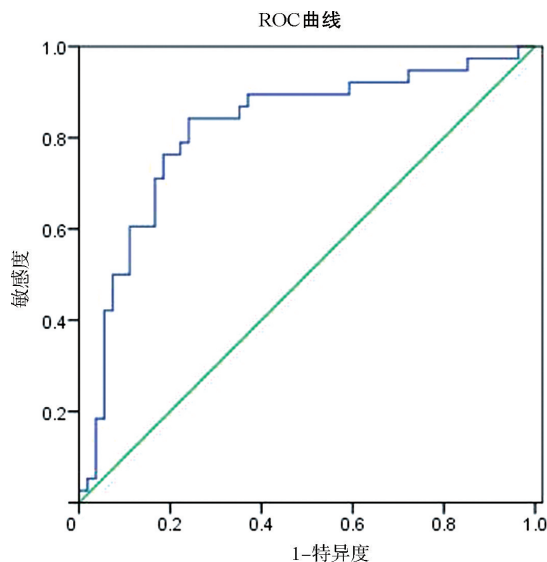


图2 外周血 miR-24 水平对 AMI 患者出院后发生 MACE 的预测价值

3 讨论

miR-24 属于 miR-23 ~ 27 ~ 24 家族,于 9 号染色体和 10 号染色体上有两个位点,两者序列一致。miR-24 在脑、肾及肌肉等组织中均有表达,但在心脏和肺中表达最高,尤其是血管组织^[11]。研究显示,miR-24 在血管内皮细胞中高表达,调控内皮细胞的增殖、凋亡、血管形成、炎症反应及分化等功能,且 miR-24 表达异常与内皮细胞功能紊乱密切相关^[12]。近年来,血管内皮细胞功能在心血管事件中的重要作用得到普遍

的认可,miR-24 与 AMI 发病的相关机制研究已逐步展开。AMI 的病理基础为冠状动脉粥样硬化,某些条件刺激下斑块破裂、血栓形成,导致冠状动脉缺氧缺血,而高表达 miR-24 可抑制心肌细胞的凋亡,减少梗死面积,调节心肌收缩性^[13]。本研究结果表明,STEMI 组患者外周血 miR-24 水平显著低于 NSTEMI 组和对照组,与文献报道结果相符^[14]。

目前,心肌酶学在 AMI 的临床诊断和治疗中有重要作用,部分 AMI 患者,尤其是 NSTEMI 患者,早期临床表征不显著,也无明显的心电图改变,难以鉴别^[15]。本研究结果显示,AMI 患者 miR-24 水平分别与 hs-cTnT、CK-MB 及 CK 水平呈负相关,提示 miR-24 水平可能与 AMI 患者心功能损伤存在一定的关系,进一步说明外周血 miR-24 评估 AMI 患者临床预后的可行性。

另外,本研究随访发现,AMI 患者出院后 1 年有 38 例出现 MACE,占比 41.30%,与文献报道 MACE 发生率 6% ~ 51% 相符^[16-18];且 MACE 患者入院时外周血 miR-24 水平明显低于无 MACE 者。ROC 曲线分析结果显示,miR-24 对于 AMI 患者出院后发生 MACE 有一定的预测价值,但本研究纳入样本量较少,后续还需要扩大样本量进一步验证。miR-24 水平影响患者预后的具体作用机制还有待深入探索。

综上所述,外周血 miR-24 水平在 AMI 患者中异常降低,可作为预测患者预后的血清标志物。而且以 miR-24 为靶点进行治疗,可能对于改善 AMI 患者预后有重大的临床意义。另外对于外周血 miR-24 的测定时间及样本储存,目前尚无统一的技术标准,还需要进一步研究。

参考文献

- [1] 崔小蒙,杨志明. 和肽素在急性心肌梗死中的研究进展[J]. 心血管病学进展,2019,40(5):726-729.
- [2] Chang J, Liu X, Sun Y. Mortality due to acute myocardial infarction in China from 1987 to 2014: secular trends and age-period-cohort effects [J]. Int J Cardiol, 2017, 227:229-238.

- [3] Gawinecka J, Schönraht F, von Eckardstein A. Acute aortic dissection; pathogenesis, risk factors and diagnosis [J]. *Swiss Med Wkly*, 2017, 147;w14489.
- [4] Vishnoi A, Rani S. MiRNA biogenesis and regulation of diseases; an overview [J]. *Methods Mol Biol*, 2017, 1509:1-10.
- [5] Li S, Guo LZ, Kim MH, et al. Platelet microRNA for predicting acute myocardial infarction [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2017, 44(4):556-564.
- [6] Pan LJ, Wang X, Ling Y, et al. MiR-24 alleviates cardiomyocyte apoptosis after myocardial infarction via targeting BIM [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(13):3088-3097.
- [7] 褚福永, 刘红旭, 程敏, 等. 急性冠状动脉综合征患者外周血微小 RNA-24 表达与细胞凋亡及炎症因子的相关性研究 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2016, 18(8):808-811.
- [8] 中国医师协会急诊医师分会, 中华医学会心血管病学分会, 中华医学会检验医学分会. 急性冠脉综合征急诊快速诊疗指南 [J]. *中华急诊医学杂志*, 2016, 25(4):397-404.
- [9] Tong X, Wang X, Wang C, et al. Elevated levels of serum miR-152 and miR-24 in uterine sarcoma; potential for inducing autophagy via SIRT1 and deacetylated LC3 [J]. *Br J Biomed Sci*, 2017, 75(1):7-12.
- [10] Karwowski J, Gierlotka M, Gašior M, et al. Relationship between infarct artery location, acute total coronary occlusion, and mortality in STEMI and NSTEMI patients [J]. *Pol Arch Intern Med*, 2017, 127(6):401-411.
- [11] Naqvi AR, Fordham JB, Ganesh B, et al. MiR-24, miR-30b and miR-142-3p interfere with antigen processing and presentation by primary macrophages and dendritic cells [J]. *Sci Rep*, 2016, 6:32925.
- [12] Chen W, Ou HS. Regulation of miR-24 on vascular endothelial cell function and its role in the development of cardiovascular disease [J]. *Sheng Li Xue Bao*, 2016, 68(2):201-206.
- [13] Li Q, van Linda LW, Huang Y, et al. miR-24 inhibits apoptosis and represses Bim in mouse cardiomyocytes [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(3):549-560.
- [14] 王珏, 黄伟聪, 郑亮承, 等. MicroRNA-24 对心肌梗死后心肌细胞凋亡的调控作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29(4):18-24.
- [15] Feldman L, Steg PG, Amsallem M, et al. Medically managed patients with non-ST-elevation acute myocardial infarction have heterogeneous outcomes, based on performance of angiography and extent of coronary artery disease [J]. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*, 2016, 6(3):262-271.
- [16] Doi T, Kataoka Y, Noguchi T, et al. Coronary artery ectasia predicts future cardiac events in patients with acute myocardial infarction [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(12):2350-2355.
- [17] Tong J, Yu Q, Li C, et al. Successful revascularization of noninfarct related artery with chronic total occlusion among acute myocardial infarction patients; a systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(3):e9655.
- [18] Moura FA, Cintra R, Carvalho LSF, et al. Adverse outcome has a U-shaped relation with acute phase change in insulin sensitivity after ST-elevation myocardial infarction [J]. *Int J Cardiol*, 2017, 254:16-22.

收稿日期:2020-01-06

《心血管病学进展》对来稿中表格制作的要求

表格可用全线表、省线表(包括三线表)和无线表。表格应是完整的、可独立存在的形象化语言,表格的内容应简洁直观,以数字表达为主,避免与文字表述过于重复,同时表格应具有自明性。

1. 表格的组成:(1)表序和表题:表序即表格的序号,一篇论文中如只有 1 个表格则表序编为表 1,有两个及以上的表格,应按先后标出表的序号。序号用阿拉伯数字表示,置于表的上方。表题应准确得体、简洁精练,中间不用标点,末尾不加句号。(2)表头:对表格各行和各列单元格内容进行概括和提示的栏目,反映了表身中该栏信息的特征或属性。(3)表身:表头之外的单元格总体,是表格的主体,表身中单元格内的数值不宜带单位;表身中如果一个单元格内包含两个数据,其中一个数据应用括号,同时需要在表头或标注中说明;表身中单元格内可使用空白或一字线“—”填充,如果需要区别数据“不适用”和“无法获得”,前者可采用空白单元格,后者可采用一字线,并在正文或标注中说明这种区别。(4)表注:必要时,应将表中的符号、标记、代码,以及需要说明的事项,以最简练的文字,横排于表身下。

2. 表格制作的要求:(1)主谓清楚:表的横表头为主语,指表中所要说明的对象;纵表头为谓语,表示对主语的说明,读表的顺序为:主语→谓语→数据。特殊情况时,主、谓语可以换位,但换位后的主谓语的性质不变。作者在设计表格时,应力求科学、准确、一目了然。一个好的表格应具有语言学上的逻辑性,即主谓清楚、层次分明、标目合理。(2)数字准确:表格内的数字应准确无误,一律用阿拉伯数字,上下个位数对齐,数字中如有“±”或“~”号,则以其为中心对齐。表内不宜用“同上”“同左”“同类”词,须填入具体的数字或文字。(3)表格内的单位:表头中量和单位的标注形式应为“量的名称或符号/单位符号”;表格中涉及的单位全部相同时,宜在表的右上方统一标注。(4)表格中的统计学符号:论文中的显著性检验,只在表下注释 *P* 值是不够的,应将检验方法、计算结果及 *P* 值均列出,以便读者进一步了解实际差异的大小。

本刊编辑部