

## miR-126 在血液透析 并发冠心病患者中检测的临床意义\*

阿地拉·阿布里孜<sup>1</sup>, 刘敏<sup>2</sup> (1. 新疆维吾尔自治区人民医院肾病科, 乌鲁木齐 830001;  
2. 新疆喀什地区第一人民医院血液透析科, 新疆喀什 844000)

**摘要:**目的 探讨血液透析并发冠心病患者检测 miR-126 的临床意义。方法 血液透析患者 60 例中并发冠心病组(A组)35例,其中单支病变12例,双支病变13例,多支病变10例。无并发冠心病组(B组)25例。正常对照组(C组)40例。茎环逆转录荧光定量PCR检测 miR-126 表达水平并进行统计学分析。结果 A组 miR-126 表达量为  $0.228 \pm 0.023$ , 比C组( $0.356 \pm 0.027$ )和B组( $0.371 \pm 0.022$ )均低( $F=5.32, P<0.05$ )。其中A组分别与B组和C组比较差异均有统计学意义( $t=6.32 \sim 8.35$ , 均  $P<0.05$ )。单支病变组 miR-126 表达量为  $0.246 \pm 0.025$ , 双支病变组为  $0.228 \pm 0.021$ , 多支病变组为  $0.206 \pm 0.019$ , 三组比较差异均有统计学意义( $F=6.15$ , 均  $P<0.05$ )。其中两两比较差异均无统计学意义( $t=8.41 \sim 11.65$ , 均  $P<0.05$ )。结论 miR-126 检测对血透患者透析时限预警有无并发冠心病意义重大。

**关键词:**血液透析;冠心病;miR-126

中图分类号:R541.4;R392.11 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)05-097-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.05.026

## Clinical Significance of Detecting miR-126 in Hemodialysis with Coronary Artery Disease

ADILA · Abulizi<sup>1</sup>, LIU Min<sup>2</sup> (1. Department of Nephropathy, Xinjiang Uygur  
Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830001, China; 2. Department of Hemodiagnosis,  
the First People's Hospital of Kashi Xinjiang, Xinjiang Kashi 844000, China)

**Abstract:** Objective To investigate the clinical significance and level changes of miR-126 on hemodialysis patients. **Methods** 60 cases from hemodialysis were divided into patients with coronary artery disease (35 cases), including single coronary artery lesion (12 cases) and two coronary artery lesion (13 cases) and coronary multivessel lesions (10 cases), or no coronary artery disease (25 cases). They were detected miR-126 expression by real-time PCR. **Results** There were obvious differences of miR-126 expression levels between patients and normal group ( $F=5.32, P<0.05$ ), and obvious differences of A groups and B groups, or C groups ( $t=6.32 \sim 8.35$ , all  $P<0.05$ ). Among single coronary artery lesion, two coronary artery lesion, and coronary multivessel lesions, there were obvious differences of miR-126 expression levels ( $F=6.15, P<0.05$ ). The single coronary artery lesion had a higher miR-126 expression levels than those of two coronary artery lesion and coronary multivessel lesions ( $t=8.41 \sim 11.65$ , all  $P<0.05$ ). **Conclusion** Detection of miR-126 expression levels could be related to hemodialysis with coronary artery disease.

**Keywords:** hemodialysis; coronary artery disease; miR-126

血液透析是终末期肾病患者主要的治疗手段,而心血管疾病又是血液透析患者主要的死亡原因。近年来该病群并发冠心病二级预防得到高度重视<sup>[1]</sup>。因为血液透析患者绝大多数长期处于低蛋白血症、贫血、电解质紊乱等不良状态,特别是代谢物蓄积造成身体微炎性反应,引发心血管病的风险加剧。血液透析患者一旦并发冠心病将进一步加大上述症状的发生。特别是脂质代谢也相继出现异常,故尽早检测此类人群是否存在冠心病风险显得尤为重要。近年来 miRNAs 与冠心病的关系是研究机构的热点特别是 miR-126 在正常人群与冠心病患者中表达的差异已得到共识。对于血液透

析患者尽早发现潜在冠心病风险的检验指标报道尚少。本研究通过检测血液透析患者血清中 miR-126 的表达水平,发现其表达水平与患者并发冠心病与否有一定的关系,且透析时间与患者 miR-126 的表达也有潜在的联系,即血液透析时间越长的患者并发冠心病的风险越高,现报道如下。

### 1 材料与方法

1.1 临床资料 2016年5月~2017年2月本院血液透析患者60例,其中男性32例,女性28例,年龄55~75岁,平均年龄  $66.1 \pm 4.1$  岁。正常对照组40例,男性20例,女性20例,年龄59~78岁,平均年龄  $66.9 \pm 3.9$  岁。血液透析患者均为透

\* 作者简介:阿地拉·阿布里孜(1974—),女,硕士学位,主任医师,主要从事血液透析患者诊疗。

析时间5年以上,分为并发冠心病组(A组=35例)和无并发冠心病组(B组=25例)。冠心病诊断标准参照中华医学会心血管分会制定的标准:冠状动脉造影检查确诊(至少有一支主要分支冠状动脉狭窄 $\geq 50\%$ )。血液透析并发冠心病患者中,单支病变12例,双支病变13例,多支病变10例。另外收集血液透析不足两年者(D组)30例,男性18例,女性12例,年龄50~75岁,平均年龄 $65.9 \pm 4.9$ 岁。

1.2 主要仪器和试剂 Trizol(美国Invitrogen公司);MMLV(Promega公司);DEPC(BBI公司);Ex Taq™ R-PCR Version 2.1(大连宝生物工程有 限公司,DRR031);miR-126引物(上海生工生物公司)。ABI 9600 低温高速离心机(德国 Heraeus 公司)。

1.3 茎环逆转录荧光定量PCR检测miR-126表达 ①所有研究对象入院透析前空腹采集静脉血2 ml,置含EDTA-K<sub>2</sub>真空采血管,以 $3\,000 \times g$  / min,离心半径为15 cm,离心10 min后分离上清,取250  $\mu$ l加入蛋白酶K于56℃水浴2 h。②采用Trizol法提取总RNA,具体操作按试剂盒说明。③cDNA的合成:RNA 4  $\mu$ l(2 ng/ $\mu$ l),特异逆转录引物5  $\mu$ l,DEPC H<sub>2</sub>O 4.2  $\mu$ l,MMLV 1  $\mu$ l,Rnasin 0.2  $\mu$ l,10 $\times$  buffer 0.6  $\mu$ l,16℃ 30 min,42℃ 30 min,85℃ 5 min。④荧光定量PCR: TaqMen 5  $\mu$ l, assay 0.5  $\mu$ l,dH<sub>2</sub>O 4  $\mu$ l,ample 0.5  $\mu$ l 95℃ 10 min 预变性 95℃ 15 s,60℃ 60 s,读板45个循环。⑤结果判定与分析,试验采用U6作为内参照,根据标准曲线得出待测基因的分子拷贝数。经可行性试验验证目的基因与内参的扩增斜线差值小于0.1,可以应用 $\Delta\Delta Ct$ 法进行定量分析。计算公式:基因相对量= $2^{-\Delta Ct}$ , $\Delta Ct = Ct_{\text{目的基因}} - Ct_{\text{内参基因}}$ ;实验组/对照组的相对量: $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{实验组}} - \Delta Ct_{\text{对照组}}$ 。

1.4 统计学分析 数据处理用SPSS10.0软件。两样本均数比较采用 $t$ 检验,多个样本均数比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 血液透析患者有无并发冠心病组miR-126表达的比较 对照组(C组)的表达量为 $0.392 \pm 0.027$ ,血液透析患者无并发冠心病组(B组)为 $0.371 \pm 0.022$ ,血液透析患者并发冠心病组(A组)为 $0.228 \pm 0.023$ ,三组差异有统计学意义( $F = 5.32, P < 0.05$ )。其中A组分别与B组和C组比较差异有统计学意义( $t = 6.32, 8.35, P < 0.05$ ),B组和C组比较差异无统计学意义( $t = 0.33, P > 0.05$ )。

2.2 不同冠脉病变的血液透析并发冠心病患者miR-126表达水平比较 miR-126表达量单支病变组为 $0.246 \pm 0.025$ ,双支病变组为 $0.228 \pm 0.021$ ,多支病变组为 $0.206 \pm 0.019$ ,三组差异有统计学意义( $F = 6.15, P < 0.05$ )。其中单支病变组、双支病变组和多支病变组两两比较差异均有统计学意义( $t = 8.41 \sim 11.65, P < 0.05$ )。miR-126表达量随着冠脉病变支数增加而减少。

2.3 不同血液透析时间患者miR-126表达的比较 miR-126表达量对照组(C组)为 $0.392 \pm 0.027$ ,血液透析时间两年以下患者(D组)为 $0.386 \pm 0.031$ ,血液透析时间五年以上患者(E组)为 $0.323 \pm 0.025$ ,三组比较差异有统计学意义( $F = 7.82, P < 0.05$ )。其中E组分别与D组和C组比较差异均有统计学意义( $t = 6.32 \sim 8.35$ ,均 $P < 0.05$ ),D组和C组比较差异无统计学意义( $t = 0.25, P > 0.05$ )。

3 讨论 miRNAs存在于人外周血中,在血清或血浆中持续表达且稳定性好,具有可重复性<sup>[2]</sup>。这些特点有望使其成为新型无创伤性生物学标志物。内皮损伤是近年来公认的导致机体动脉粥样硬化的刺激因素。其中miR-126在调控黏附分子表达和血管炎症反应中作用显著,故miR-126在冠心病的发生中作用独特。血液透析患者由于长期处于连续性透析状态,透析机引发内皮损伤及炎性细胞反应明显,miR-126的表达处于抑制状态,以至于透析患者并发冠心病的风险加大。

本研究的结果显示随着血液透析患者冠心病冠脉病变支数的增加,miR-126的表达量逐渐降低。可见miR-126的表达与冠心病的发生关系密切。有研究发现miR-126能够抑制肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),并刺激血管黏附细胞因子1(VCAM-1)的表达,限制白细胞在血管内皮的黏附<sup>[3]</sup>。血液透析患者miR-126的表达量比正常人群低,且并发冠心病者的表达量更低,可能导致TNF- $\alpha$ 诱导的VCAM-1表达上调,从而促进白细胞向内皮细胞的黏附,促使动脉粥样硬化的发生发展<sup>[4]</sup>。这可能是血液透析患者冠心病发病增加的重要原因之一。

血液透析患者提高生活质量的途径主要依靠连续性透析,但透析本身给患者带来一定的危险,特别是透析材料长期损伤患者内皮,使该人群长期处于微炎症反应状态<sup>[5]</sup>。文献报道miR-126的表达水平与血管的生成、发育和修复等诸多因素有关<sup>[6]</sup>,故miR-126与冠心病的发生有着密切的联系。本研究发现血液透析患者随着透析时间的延长miR-126的表达有逐渐下降的趋势,即透析时

间越长患者并发冠心病的风险越高。故早期发现该病群患冠心病的潜在危险显得至关重要。

血液透析患者冠心病的发生可加重肾脏受累程度。以往临床医生只是重视常规患者发生心肌梗死和缺血性卒中的二级预防。miR-126 的检测对血液透析患者并发冠心病风险提示以及透析时间预警意义重大,应引起临床医生和检验人员高度重视。

#### 参考文献:

- [1] Hung KC, Wu CC, Chen HS, et al. Serum IL-6, albumin and comorbidities are closely correlated with symptoms of depression in patients on maintenance haemodialysis[J]. Nephrol Dial Transplant, 2011, 26(2):658-664.
- [2] Ajit SK. Circulating microRNAs as biomarkers, therapeutic targets and signaling molecules[J]. Sensors, 2012, 12(3):3359-3369.
- [3] Tamia A, Muneakazu Y, Marcella F, et al. Micro RN A126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1[J]. PNAS, 2008, 105(5):1516-1521.
- [4] 尹秀华,张莉.凝血因子在糖尿病并发脑梗死患者中检测的临床价值[J].现代检验医学杂志,2014,29(6):150-152.  
Yin XH, Zhang L. Clinical significance of detection blood coagulation factor in diabetes complicated cerebral infarction[J]. J Mod Lab Med, 2014, 29(6):150-152.
- [5] Noyes AM, Dua K, Devadoss R, et al. Cardiac adipose tissue and its relationship to diabetes mellitus and cardiovascular disease[J]. World J Diabetes, 2014, 5(6):868-876.
- [6] 李云,宋银宏,吕云波. miR-126 与血管的研究进展[J].基础医学与临床,2015,35(2):257-261.  
Li Y, Song YH, Lu YB. The research progress of miR-126 and blood vessels[J]. Basic Clinical Medicine, 2015, 35(2):257-261.
- 收稿日期:2017-07-24  
修回日期:2017-08-23
- 
- (上接 96 页)
- Chinese Journal of Postgraduates of Medicine, 2012, 35(10):68-70.
- [8] Currie G, McKay G, Delles C. Biomarkers in diabetic nephropathy: Present and future[J]. World Journal of Diabetes, 2014, 5(6):763-776.
- [9] 朱海兵.尿微量白蛋白、胱抑素 C、 $\beta_2$  微球蛋白和尿微量白蛋白/肌酐比值检测在 2 型糖尿病早期肾损害诊断的临床意义[J].实验与检验医学,2016,34(1):84-86.  
Zhu HB. The clinical significance of urine microalbumin, cystatin C,  $\beta_2$ -microglobulin and urine microalbumin /creatinine ratio detection early renal damage in type 2 diabetes diagnosis[J]. Experimental and Laboratory Medicine, 2016, 34(1):84-86.
- [10] 赵建军,朱武.血清胱抑素 C、同型半胱氨酸及尿微量清蛋白/肌酐比值在糖尿病肾病早期诊断中的应用[J].现代检验医学杂志,2014,29(2):117-120.  
Zhao JJ, Zhu W. Application of serum cystatin C, homocysteine, the ratio between microalbuminuria and creatinine in the early diagnosis of the diabetic nephrosis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(2):117-120.
- [11] 姚碧婉.多项生化检测指标对糖尿病肾病的早期诊断价值[J].国际检验医学杂志,2014,35(14):1873-1874,1877.  
Yao BW. Values of multiple biochemical indexes in diagnosis of early diabetic nephropathy[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2014, 35(14):1873-1874,1877.
- [12] Akerstr MB, Lögdberg L, Berggard T, et al. Alpha (1)-Microglobulin: a yellow-brown lipocalin[J]. Biochimica Et Biophysica Acta, 2000, 1482(1/2):172-184.
- [13] Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids [J]. Clinical Nephrology, 1992, 38(Suppl 1):S20-27.
- [14] 魏雁虹,杨广民.  $\alpha_1$  微球蛋白的生物学特性及临床应用研究进展[J].国际检验医学杂志,2012,33(17):2111-2113.  
Wei YH, Yang GM.  $\alpha_1$ -Microglobulin biological characteristics and clinical application research progress [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2012, 33(17):2111-2113.
- [15] Pompach P, Ashline DJ, Brnakova Z, et al. Protein and site specificity of fucosylation in liver-secreted glycoproteins[J]. Journal of Proteome Research, 2014, 13(12):5561-5569.
- [16] Sharma JN, Narayanan P. The kallikrein-kinin pathways in hypertension and diabetes [J]. Prog Drug Res, 2014(69):15-36.
- [17] Gonzalez Calero L, Martin-Lorenzo M, Ramos-Baron A, et al. Urinary kininogen-1 and retinol binding protein-4 respond to acute kidney injury: predictors of patient prognosis[J]. Sci Rep, 2016(6):19667.
- [18] Katorl M, Majima M. A missing link between a high salt intake and blood pressure increase[J]. Journal of Pharmacological Sciences, 2006, 100(5):370-390.
- 收稿日期:2017-06-04  
修回日期:2017-07-31