

急性冠状动脉综合征 (ACS) 患者血清 miR-186-5p, miR-23 和 miR-652 水平检测的临床意义

赵 莉, 白延平, 谢国媛 (延安大学附属医院, 陕西延安 716000)

摘要: 目的 探讨急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 患者血清 miR-186-5p, miR-23b 和 miR-652 水平检测的临床意义。方法 选择 2016 年 1 月~2018 年 1 月在延安大学附属医院行经皮冠状动脉介入治疗 (percutaneous coronary intervention, PCI) 手术的 ACS 患者 68 例作为观察组, 另外选取同期做冠脉造影符合冠心病诊断, 但排除 ACS 的患者 68 例作为对照组。收集两组受试对象外周血, 检测血清中 miR-186-5p, miR-23b 和 miR-652 水平, 并进行相关性分析。绘制 ROC 曲线分析 miR-186-5p, miR-23b 和 miR-652 单个指标及联合使用诊断 ACS 的临床价值。结果 与对照组比较, 观察组患者血清中 miR-186-5p, miR-23b 和 miR-652 水平均提高, 差异有统计学意义 ($Z=3.312\sim6.451$, 均 $P<0.05$)。不同病变支数的 ACS 患者血清中 miR-186-5p, miR-23b 和 miR-652 的水平比较不全相同, 差异有统计学意义 ($F=6.017\sim8.151$, 均 $P<0.05$)。与术前比较, 术后患者血清中 miR-186-5p, miR-23b 和 miR-652 水平显著降低, 差异有统计学意义 ($Z=2.090\sim3.036$, 均 $P<0.05$)。ACS 患者血清中 miR-186-5p, miR-23b 和 miR-652 水平与 cTnI 呈显著相关 ($r=0.689, 0.779, 0.746$, 均 $P=0.000$)。其临界值、AUC, 灵敏度和特异度, miR-186-5p 依次为 0.110, 0.775, 61.8% 和 91.2%; miR-23b 依次为 0.133, 0.799, 69.1% 和 88.2%; miR-652 依次为 0.164, 0.789, 67.6% 和 91.2%。三者联用 AUC, 灵敏度和特异度分别为 0.941, 91.2% 和 83.8%。cTnI 的 AUC 灵敏度和特异度分别为 0.857, 76.5% 和 79.4%。miRNAs 联合 AUC 显著高于 cTnI ($Z=2.243, P<0.05$)。结论 ACS 患者血清中 miR-186-5p, miR-23b 和 miR-652 水平升高, 联合使用诊断 ACS 具有一定的临床价值。

关键词: 急性冠状动脉综合征; miR-186-5p; miR-23b; miR-652; 诊断价值

中图分类号: R543.3; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 06-064-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.06.016

Clinical Value of Serum miR-186-5p, miR-23b and miR-652 Levels in Patients with Acute Coronary Syndrome (ACS)

ZHAO Li, BAI Yan-ping, XIE Yuan-yuan (Affiliated Hospital of Yan'an University, Shaanxi Yan'an 716000, China)

Abstract: Objective To investigate diagnostic value of serum miR-186-5p, miR-23b and miR-652 levels in patients with acute coronary syndrome (ACS). **Methods** 68 ACS patients who underwent percutaneous coronary intervention (PCI) in the Affiliated Hospital of Yan'an University from January 2016 to January 2018 were selected as the observation group, and 68 ACS patients who were admitted for coronary angiography during the same period were selected as the control group. The serum levels of miR-186-5p, miR-23b and miR-652 in the subjects were detected by qRT-PCR. Spearman was used to analyze the correlation between miRNAs level and cTnI. ROC curves were drawn to analyze the clinical value of miR-186-5p, miR-23b and miR-652 in the diagnosis of ACS. **Results** Compared with the control group, the serum levels of miR-186-5p, miR-23b and miR-652 in the observation group were all increased the difference were statistically ($Z=3.312\sim6.451$, all $P<0.05$). The levels of miR-186-5p, miR-23b and miR-652 in the serum of ACS patients with different lesions were not all the same, and the differences were statistically significant ($F=6.017\sim8.151$, all $P<0.05$). After PCI treatment, serum miR-186-5p, miR-23b and miR-652 levels were significantly lower, the difference were statistically significant ($Z=2.090\sim3.036$, all $P<0.05$). MiR-186-5p, miR-23b and miR-652 levels in the serum of ACS patients were significantly correlated with cTnI ($r=0.689, 0.779, 0.746$, all $P=0.000$). The critical value, the AUC, the sensitivity and the specificity of miR-186-5p were 0.110, 0.775, 61.8% and 91.2%. of miR-23b were 0.133, 0.799, 69.1% and 88.2%. of miR-652 were 0.164, 0.789, 67.6% and 91.2%, respectively. The AUC, sensitivity and specificity of miR-186-5p + miR-23b + miR-652 was 0.941, 91.2% and 83.8%, respectively. The AUC, the sensitivity and the specificity of cTnI were 0.857, 76.5% and 79.4%. The AUC associated with miRNAs was significantly higher than that of cTnI ($Z=2.243, P<0.05$). **Conclusion** Serum miR-186-5p, miR-23b and miR-652 were high-level in patients with ACS. Combined

基金项目: 延安市科技专项基金 (2017KS-19)。

作者简介: 赵莉 (1980-), 女, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 心血管内科疾病的诊治, E-mail: lzhaoli1980@163.com。

通讯作者: 谢国媛, 女, 副主任医师, 研究方向: 临床检验, E-mail: 2650974811@qq.com。

use has certain clinical value in the diagnosis of ACS.

Keywords: acute coronary syndrome (ACS); miR-186-5p; miR-23b; miR-652; diagnostic value

缺血性心脏病 (ischemic heart disease, IHD), 是中老年常见的后天性心脏病, 其发病率在各类心脏疾病中居首位^[1]。急性冠状动脉综合征 (acute coronary syndrome, ACS) 是 IHD 的主要表现形式, 是非常严重的医学急症, 主要是由冠状动脉粥样硬化斑块不稳定所导致的心肌缺血, 其临床表现包括急性心肌梗死 (acute myocardium infarction, AMI) 和不稳定心绞痛 (unstable angina pectoris, UAP)。ACS 的诊断目前主要基于临床症状、心电图或侵入性血管造影。然而, 这些检测易受临床主观性影响, 而且血管造影有可能产生一些并发症。血肌钙蛋白 I (cardiac troponin I, cTnI) 为心肌损伤坏死标记物^[2], 常被用于 ACS 的检测, 但是 cTnI 在早期阶段丰度较低、特异性差。因此, 急需寻找新的生物标志物来诊断 ACS。

微小 RNAs(miRNAs) 是一种小的 (18~24 个核苷酸) 非编码 RNA 分子, 在机体内调控相关基因表达, 参与各种生理过程的发展^[3]。miRNAs 存在于多种生物液体中, 如血清、尿液和唾液等, 检测手段简单, 并能够显示出器官特异性 (如肝脏中的 miR-122 和心脏中的 miR-499)^[4]。目前已有多项研究证实 miRNAs 在 ACS 诊断中具有重要作用^[5]。比如, miR-186-5p 在诊断 ACS 方面具有良好的性能^[6]; miR-23b 是 ST 段抬高型心肌梗死 (STEMI) 早期的生物标志物^[7]; miR-652 的 ACS 预后价值优于左心室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF) 和氨基脑钠肽前体 (N-terminal-pro brain natriuretic peptide, NT-proBNP)^[8]。基于这些发现, 本文评估了 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 联合使用在 ACS 患者中的诊断价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2016~2018 年在延安大学附属医院收治并确诊为 ACS 的患者 68 例, 另外选取同期做冠脉造影符合冠心病诊断, 但排除 ACS 的患者 68 例作为对照组。所有 ACS 患者均首次接受经皮冠状动脉介入治疗 (percutaneous coronary intervention, PCI)。纳入标准: 符合欧洲心脏病协会 (ESC) 和美国心脏病学会 (ACC) 制定的诊断标准, 并经冠状动脉造影检查确诊。排除标准: 有冠状动脉旁路移植术史、心源性休克、卒中、恶性疾病及各种急慢性感染性疾病的患者。根据上述诊断将 ACS 分为 2 个亚组: 急性心肌梗死 (AMI) 组 ($n=52$) 和不稳定性心绞痛 (UAP) 组 ($n=16$); 平均年龄 59.25 ± 11.22 岁; 男性 38 例, 女性 30 例。对照组平均年龄为 58.34 ± 9.32 岁;

男性 35 例, 女性 33 例。两组性别、年龄等一般资料比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 具有可比性。本研究得到延安大学附属医院伦理委员会的批准 (批准文号: 2015-YAFVD-017), 患者及家属均知情同意。

1.2 仪器与试剂 ADVIA CENTAUR XP 全自动化学发光免疫分析仪检测 cTnI 水平; RNA 提取和 qRT-PCR 试剂盒用于检测 miRNAs 水平。

1.3 方法

1.3.1 检测外周血中的 cTnI 水平: 收集 ACS 患者入院时 (PCI 术前) 及 PCI 术后 7 天时的外周静脉血 5 ml。同时外收集对照组血样, 所有样品立即以 3 000 r/min 离心 5 min; 取上清置于 -80°C 保存待测。实验步骤按照说明书进行。

1.3.2 PCI 治疗: 由两名或两名以上经验丰富的医生根据标准指南进行 PCI 介入治疗。当梗死相关动脉狭窄度 $\geq 70\%$ 时置入支架, 同时由手术人员对病变动脉的类型、数量和狭窄程度进行视觉采集。经皮冠状动脉介入治疗后, 残余狭窄 $\leq 20\%$, 心肌梗死相关动脉中至少有两处出现溶栓血流分级。在进行导管插入术前, 患者口服 300 mg 阿司匹林 (拜阿司匹林)、600 mg 氯吡格雷 (波立维)、20 mg 阿托伐他汀钙片, 并在 PCI 过程中静脉注射 50~100 IU/kg 肝素。

1.3.3 RNA 提取和 qRT-PCR: 采用 miRNA 提取试剂盒提取总 RNA, 然后利用 Nanodrop 评估 RNA 的质量。取 5 ng 总 RNA, 采用 TaqMan microRNA 逆转录试剂盒合成 cDNA, 采用 miRNA-specific TaqMan MiRNA 检测试剂盒用于测定 miRNAs 的含量, 以 U6 作为内参。反应条件: 预变性 95°C , 3 min; 变性 95°C , 30 s, 退火 58°C , 20 s, 延伸 72°C , 20 s, 30 个循环。每个样本设置三个复孔。每组实验独立重复三次。miR-186-5p, miR-23b, miR-652 相对表达水平用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法表示, 其中 $\Delta Ct = (Ct_{\text{目的 miRNA}} - Ct_{\text{内参 U6}})$ 。miR-186-5p 引物: CAAAGAATTCTCCTTT; miR-23b 引物: ATCACATTGCCAG; miR-652 引物: ATCACATTCAACCCTAGGAGAGGG。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 进行统计学分析。数据以 $M (P_{25}, P_{75})$ 表示, 两组间比较采用 Mann-Whitney U 检验, 三组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验。采用 Spearman 分析 miRNA 水平与 cTnI 之间的相关性。采用受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic, ROC) 评估诊断价值。曲线下面积 (area under curve, AUC) 比较采用 Z 检验。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平比较 见表1。AMI 患者血清中 miR-186-5p, miR-23b 水平均显著高于对照组 ($Z=6.451, 5.087$, 均 $P=0.000$) ; UAP 患者血清中 miR-23b 水平显著高于对照组 ($Z=4.995$,

$P=0.000$)。AMI 患者血清中 miR-652 水平显著高于对照组 ($Z=5.436, P=0.000$) ; UAP 患者血清中 miR-652 水平显著高于对照组 ($Z=3.312, P=0.001$) , 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

表1 血清 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平比较 [M(P₂₅,P₇₅)]

指标	对照组 (n=68)	ACS (n=68)	
		AMI (n=52)	UAP (n=16)
miR-186-5p	0.029 (0.016, 0.046)	0.315 (0.071, 0.465)	0.088 (0.008, 0.209)
miR-23b	0.025 (0.014, 0.078)	0.253 (0.132, 0.388)	0.230 (0.143, 0.434)
miR-652	0.036 (0.043, 0.09)	0.294 (0.072, 0.506)	0.235 (0.032, 0.507)

2.2 不同病变支数患者血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平比较 见表2。不同病变支数的 ACS 患者血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平比较不全相同, 差异有统计学意义 (均

$P<0.05$)。进一步两两比较, 三支、双支病变数的 ACS 患者血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平均高于单支, 差异有统计学意义 (均 $P<0.05$)。

表2 不同病变支数患者血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平比较 [M(P₂₅,P₇₅)]

指标	病变支数			F	P
	三支 (n=28)	双支 (n=23)	单支 (n=17)		
miR-186-5p	0.315 (0.144, 0.485)* [△]	0.156 (0.017, 0.451)*	0.079 (0.033, 0.240)	7.061	0.029
miR-23b	0.299 (0.157, 0.434)*	0.225 (0.017, 0.382)*	0.08 (0.020, 0.298)	6.017	0.049
miR-652	0.387 (0.173, 0.631)*	0.309 (0.031, 0.476)*	0.139 (0.036, 0.273)	8.151	0.017

注: *表示与单支病变数组比较, $P<0.05$; [△]表示与双支病变数组比较, $P<0.05$ 。

2.3 PCI 术前及术后 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平比较 见表3。与术前比较, 术后 ACS 患

者血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平均显著下降, 差异有统计学意义 (均 $P<0.05$)。

表3 PCI 术前及术后 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平比较 [M(P₂₅,P₇₅)]

指标	手术前	手术后7天	Z	P
miR-186-5p	0.253 (0.037, 0.438)	0.093 (0.031, 0.188)	2.090	0.037
miR-23b	0.230 (0.057, 0.416)	0.084 (0.027, 0.234)	2.823	0.005
miR-652	0.277 (0.061, 0.506)	0.079 (0.034, 0.255)	3.036	0.002

2.4 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平与 cTnI 的相关性 见表4。进一步通过 Spearman 分析 ACS 患者血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平分别与 cTnI 水平的相关性, 结果显示 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 与 cTnI 呈显著正相关 ($r=0.689, 0.779, 0.746$, 均 $P=0.000$)。

表4 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 与 cTnI 相关性

指标	r	95%CI	P
miR-186-5p	0.689	0.536~0.795	0.000
miR-23b	0.779	0.664~0.858	0.000
miR-652	0.746	0.617~0.836	0.000

2.5 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 对 ACS 患者的诊断价值 见表5。绘制 ROC 受试者工作曲线, 并计算 AUC。通过计算最大 Youden 指数确定最佳诊断临界值。miR-186-5p 临界值为 0.110 时, AUC 为 0.775, 灵敏度为 61.8%, 特异度为 91.2%; miR-23b 临界值为 0.133, AUC 为 0.799, 灵敏度为 69.1%, 特异度为 88.2%; miR-652 临界值为 0.164, AUC 为 0.789, 灵敏度为 67.6%, 特异度为 91.2%。三者联用 AUC 为 0.941, 灵敏度为 91.2%, 特异度为 83.8%。cTnI 的 AUC 为 0.857, 灵敏度为 76.5%, 特异度为 79.4%。miRNAs 联合 AUC 显著高于 cTnI ($Z=2.243, P<0.05$)。见图1。

表5 各项指标单独及联合使用对ACS患者的诊断价值

指标	临界值	灵敏度(%)	特异度(%)	AUC值	P	95%CI
miR-186-5p	0.110	61.8	91.2	0.775	0.000	0.691~0.859
miR-23b	0.133	69.1	88.2	0.799	0.000	0.721~0.878
miR-652	0.164	67.6	91.2	0.789	0.000	0.709~0.869
miR-186-5p+miR-23b+miR-652	--	91.2	83.8	0.941	0.000	0.901~0.981
cTnI (ng/ml)	1.02	76.5	79.4	0.857	0.000	0.797~0.917

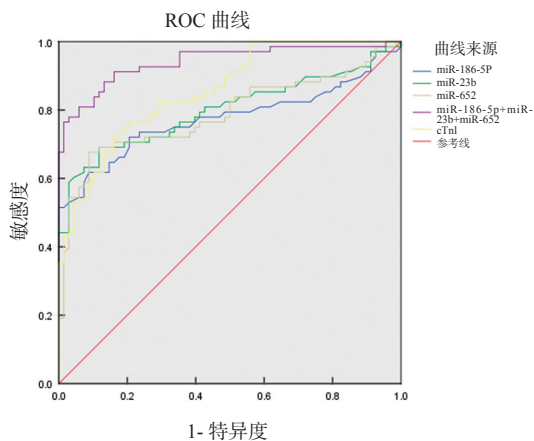


图1 血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 及 cTnI 对 ACS 的诊断价值

3 讨论

ACS 是一种由动脉阻塞引起的心血管疾病, 死亡率高、预后差^[9]。目前 ACS 的诊断主要取决于临床表现和 cTnI 的变化, 但 cTnI 在 ACS 早期敏感度低且特异度差^[10-12], 因此寻找更高灵敏度和特异度的标记物对 ACS 诊断具有重要意义。

ACS 发生过程中会出现多种生理和病理变化, 包括内皮功能障碍、斑块破裂、血小板聚集、冠状动脉血栓形成、心肌缺血、再灌注损伤等^[13]。miRNAs 因其独特的表达模式、较高的稳定性, 正被开发用于心血管疾病的诊断或预后^[14]。miR-186-5p 作为其中之一, 已被证实在 ACS 患者中呈高表达, 其高表达后能促进动脉粥样硬化脂质的积累, 增加巨噬细胞中促炎细胞因子分泌, 从而加速动脉粥样硬化病变, 最终导致 ACS 的发生^[15-16]。另一项研究发现 miR-23b 在心力衰竭细胞中呈过表达, 通过抑制缺氧下细胞的生长速度来促进心肌细胞凋亡^[17]。当发生急性心肌组织损伤时, miR-652 在巨噬细胞中呈现高表达, 会诱导产生大量炎症因子, 而炎症因子会进一步促进巨噬细胞的增殖、分化, 从而加速斑块损伤, 导致 ACS 发生^[18-19]。基于此, 本文检测了非 ACS 患者和 ACS 患者血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平, 发现 ACS 患者血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平显著升高, 这与之前的研究结果一致^[6-8]。进一步发现

三支、双支病变患者血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平均高于单支。表明 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平与 ACS 患者病情严重程度密切相关。分析对比 PCI 术前、术后 ACS 患者血清中 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平变化, 结果显示术后 miRNAs 水平显著降低。因此, miRNAs 水平变化可以用于观察 ACS 患者再灌注治疗后的病情进展情况。

早期研究发现 miR-186-5p 联合脂质参数与炎症指数在 ACS 诊断中具有优良的性能 (AUC 为 0.94)^[6]。miR-23b (AUC 为 0.809) 在 AMI 的诊断上能力优于传统 CK-MB (AUC 为 0.753) 和 cTnI (AUC 为 0.783)^[7]。miR-652 水平在 ACS 急性期显著升高, 与 ACS 的预后相关^[8]。本文分析发现, miR-186-5p, miR-23b, miR-652 水平与 cTnI 呈显著正相关, 推测 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 可能与 cTnI 具有相似的 ACS 诊断能力。进一步绘制 ROC 曲线, 结果表明 miR-186-5p, miR-23b 联合 miR-652 (AUC 为 0.941) 诊断能力优于 cTnI (AUC 为 0.857), 且灵敏度 (91.2% vs 83.8%) 和特异度 (76.5% vs 79.4%) 高于 cTnI。

总之, 本文证实了 miR-186-5p, miR-23b, miR-652 联合使用诊断 ACS 优于 cTnI, 为 ACS 的诊断提供临床参考价值。

参考文献:

- [1] LUAN Luan, HU Hao, LI Shuchuen. A review of studies of quality of life for Chinese-Speaking patients with ischemic heart disease[J]. Value in Health Regional Issues, 2018, 15(4): 82-90.
- [2] 张维贞, 向丽, 黄山, 等. NT-ProBNP 和 cTnI 联合检测对心律失常不同类型的鉴别诊断价值探讨 [J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(1):102-105.
ZHANG Weizhen, XIANG Li, HUANG Shan, et al. Differential diagnosis value of combined detection NT-ProBNP and cTnI for different types of arrhythmia[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(1):102-105.
- [3] 李艳, 李新宇. 妊娠糖尿病患者外周血 miRNA-21 检测的临床应用价值 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(2):35-38.
LI Yan, LI Xinyu. Clinical application value of detection of miRNA-21 in peripheral blood of patients with gestational diabetes [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(2):35-38.

(下转第 124 页)