

- the natriuretic peptide system in heart failure[J]. *Curr Heart Fail Rep*, 2017, 14(6): 536-542.
- [6] 沈长松. 重组人脑利钠肽联合左西孟旦治疗急性心肌梗死合并心力衰竭效果观察[J]. *中国乡村医药*, 2016, 23(24): 38-40.
- [7] 李善敬, 许锦荣, 苏成标, 等. 硝普钠联合缬沙坦治疗急性心力衰竭的效果观察及其对血栓弹力图和B型尿钠肽的影响[J]. *广东医科大学学报*, 2018, 36(3): 241-243.
- [8] 张生友. 重组人脑利钠肽rhBNP联合左西孟旦治疗急性心肌梗死合并心力衰竭的疗效[J]. *中国农村卫生*, 2017, 5(10):94-96.
- [9] 孙鸿. 血浆脑钠肽前体N-末端片段对心衰和呼吸困难的诊断价值[J]. *中国实验诊断学*, 2013, 17(5): 832-834.
- [10] 陈红伟. 重组人脑利钠肽联合左西孟旦治疗急性心肌梗死合并心力衰竭的临床疗效[J]. *中国校医*, 2017, 31(8): 605-606.
- [11] SAENGER A K, RODRIGUEZ-FRAGA O, LER R, et al. Specificity of B-type natriuretic peptide assays: cross-reactivity with different BNP, NT-proBNP, and proBNP peptides[J]. *Clin Chem*, 2016, 63(1): 351-358.
- [12] XU H, WANG B, MENG Q, et al. Effectiveness and safety of recombinant human brain natriuretic peptide in the treatment of acute myocardial infarction in elderly in combination with cardiac failure[J]. *Pak J Med Sci*, 2017, 33(3):540.
- [13] MIAO Z L, HOU A J, ZANG H Y, et al. Effects of recombinant human brain natriuretic peptide on the prognosis of patients with acute anterior myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: a prospective, multi-center, randomized clinical trial[J]. *J Thorac Dis*, 2017, 9(1): 54-63.
- [14] TORRES-COURCHOU I, CHEN H H. B-type natriuretic peptide and acute heart failure: fluid homeostasis, biomarker and therapeutics[J]. *Rev Clin Esp*, 2016, 216(7): 393-398.
- [15] 程小敏, 马淑梅. 左西孟旦治疗心力衰竭的临床应用及安全性评价[J]. *实用药物与临床*, 2009, 12(2): 125-126.
- [16] 衡明强, 昌思梦. 急性心肌梗死合并急性左心衰采用异舒吉治疗疗效及安全性分析[J]. *中西医结合心血管病电子杂志*, 2017, 5(23): 1-4.

血清miRNA-370与颈动脉粥样硬化微栓子形成间的关系研究

许宏俊, 周春山, 黄楚丽, 陈兰香 (广东省普宁华侨医院, 广东普宁 515300)

摘要: **目的** 探讨颈动脉粥样硬化微栓子(MES)的形成与患者血清微小RNA-370(miR-370)表达水平间的关系。**方法** 从心内超声科确诊的高血压合并颈动脉粥样硬化患者中筛选出不稳定性斑块患者135例, 应用经颅彩色多普勒检查鉴定出MES阳性73例(MES阳性组)和MES阴性62例(MES阴性)。同时, 选取60名健康者作为对照组。采用实时定量PCR技术检测所有研究对象血清miR-370的表达水平。**结果** MES阳性和阴性组患者血清中miR-370的表达量均高于对照组, 且MES阳性组更显著, 差异均有统计学意义($P<0.01$)。根据上调的中位倍数(3.05倍)分为miR-370高表达(>3.05 倍, 68例)和低表达(≤ 3.05 倍, 67例)。MES阳性组中miR-370高表达的患者显著高于MES阴性组(61.6% vs 37.1%, $P<0.01$)。Spearman相关性分析显示, 血清miR-370表达水平与低密度脂蛋白、总胆固醇、甘油三酯及同型半胱氨酸水平呈正相关($P<0.05$ 或 0.01)。**结论** 血清miR-370表达水平与颈动脉粥样硬化MES的形成有关, 或可作为分子标记物监测斑块的发生和发展。

关键词: 颈动脉粥样硬化; miRNA-370; 微栓子; 不稳定斑块

中图分类号: R 743

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2019)02-0151-04

Relationship between serum miR-370 level and formation of carotid atherosclerosis micro embolus

XU Hong-jun, ZHOU Chun-shan, HUANG Chu-li, CHEN Lan-xiang (Puning Overseas Chinese Hospital, Puning 515300, China)

收稿日期: 2018-12-26; 修订日期: 2019-03-27

作者简介: 许宏俊(1978-), 男, 本科, 副主任医师

Abstract: Objective To investigate the relationship between serum miR-370 level and formation of carotid atherosclerosis micro embolus (MES). **Methods** A total of 135 cases with unstable plaque were selected from the patients diagnosed with hypertension complicated with carotid atherosclerosis by the Department of Intracardiac Ultrasound. There were 73 cases with MES positive (MES Positive Group) and 62 cases with MES negative (MES Negative Group) identified in transcranial color Doppler examination. At the same time, 60 healthy persons were selected as the Control Group. The MiR-370 expression in all serum samples was detected by using real-time PCR technique. **Results** The expression of miR-370 in MES Positive and Negative Group was higher than the Control Group, and the MES Positive Group showed a more significant increase, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). According to the upregulated "multiples of the median" (3.05), it was divided into miR-370 high expression (> 3.05 , 68 cases) and miR-370 low expression (≤ 3.05 , 67 cases). The number of patients with miR-370 high expression in MES Positive Group was greater than that in MES Negative Group (61.6% vs 37.1%, $P < 0.01$). The Spearman correlation analysis showed that serum miR-370 level was positively correlated with LDL, total cholesterol, triglycerides and homophenine level ($P < 0.01$). **Conclusion** Serum miR-370 level in patients with carotid atherosclerosis is significantly relevant to the formation of MES and may represent a novel biomarker for monitoring the occurrence and development of plaque.

Key words: carotid atherosclerosis; MicroRNA-370; micro embolus; unstable plaques

动脉粥样硬化是一种动脉壁的慢性炎性病变。不稳定性斑块主要包含有泡沫细胞组成的脂质核心和纤维帽,它可引起斑块侵蚀或破裂,从而诱发血栓形成和急性心梗的发生。微栓子(MES)的形成是不稳定性斑块的重要特征。微小RNA(miRNA)是内源性非编码单链RNA小分子,可参与细胞的分化、增生、死亡以及各种生物组织的发育调节。近年循环miRNA被当做理想分子标记物用于疾病进展的评估。Gao等^[5-6]研究也提示miR-370广泛参与了动脉粥样硬化及斑块稳定性的基因调控。本研究基于血清层面探索了miR-370同颈动脉粥样硬化微栓子MES形成之间的关系,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

依据中华医学会《老年人颈动脉粥样硬化性疾病诊治中国专家建议》的诊断标准^[7],选取2018年6-11月就诊于我院并被确诊为急性缺血性脑卒中(排除脑动脉炎、心源性脑梗塞等其他原因引起的脑梗死)且合并有不稳定斑块的患者135例,其中男76例,女59例,平均年龄(63.4 ± 10.9)岁。收集患者的临床资料,包括性别、年龄、饮酒史、糖尿病史、体质指数、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白及同型半胱氨酸水平等。应用经颅多普勒超声检查患者微栓子MES的情况,其中MES阳性73例(MES阳性组),阴性62例(MES阴性组)。另选取同期我院60名健康体检者作为对照组,其中男35名,女25名,平均年龄(62.3 ± 11.2)岁。研究对象均签署知情同意书,且通过了我院伦理委员

会审核。

1.2 方法

1.2.1 血液样本的收集 所有研究对象于清晨空腹时采集静脉血约8 mL,室温下静置半个小时后,于4℃ 1 500 r/min离心10 min,取上层血清置新的EP管,并放到-80℃超冷冰箱中保存,待测miR-370的表达水平。

1.2.2 颈动脉超声检查及MES的监测 应用PHILIPS IE33彩色多普勒超声诊断仪(探头频率7~12 MHz)仔细监测管腔狭窄及斑块形成情况,重点关注斑块回声特点及斑块部位等。超声探查时患者取仰卧位,头部往后仰并偏向检查面对侧,由下到上依次探查颈总动脉、颈动脉窦部、颈外及颈内动脉颅外段。采用Multi-DopX2型4门深通道TC仪(德国DWL公司生产)监测MES。探头频率为2 MHz。MES阳性识别标准参考2011年国际脑血管动力学会议共识^[8]:(1)短时程持续时间 < 300 ms;(2)高强度(较背景血流信号 ≥ 3 dB);(3)单向出现于频谱中;(4)伴有和谐的“噼啪音”或者“鸟鸣音”;(5)随机出现在心动周期;(6)在两个监测深度有时间延迟。每个患者的MES监测均由2名有经验的超声科医生共同判断。

1.2.3 血清miR-135含量的检测 实验过程主要包括总RNA的抽提、逆转录反应及PCR。血清样本均需放置于冰上操作。步骤依据各自对应的试剂盒说明书进行。实验选择U6作为内参基因,miR-370的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示,其中 $\Delta Ct = Ct_{miR-370} - Ct_{U6}$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{实验组}) - \Delta Ct(\text{对照组})$ 。

1.3 统计学处理

运用SPSS21.0统计学软件对实验数据进行分

析。计量资料以均数±标准差表示,采用 t 检验、单因素方差分析及 q 检验;计数资料采用 χ^2 检验。运用秩相关Spearman分析血清miR-370的表达量与血糖、血脂等指标间的关系。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 颈动脉粥样硬化MES阳性和阴性患者一般资料的比较

MES阳性组患者吸烟率、低密度脂蛋白和总胆固醇含量均高于MES阴性组,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 0.01)。两组的体质指数、高密度脂蛋白和尿酸等差异无统计学意义($P>0.05$)。

表1 MES阳性和阴性患者一般资料的比较

变量	MES阳性组 ($n=73$)	MES阴性组 ($n=62$)
年龄/岁	62.7±11.2	64.3±10.7
男性/%	60.3	51.6
饮酒史/%	32.9	27.4
吸烟史/%	60.3 ^a	41.9
腰围/cm	86.5±6.9	84.3±7.5
体质指数/(kg/m ²)	25.8±2.6	25.2±2.8
糖尿病/%	34.2	25.8
低密度脂蛋白/(mmol/L)	3.2±1.2 ^b	2.6±0.9
高密度脂蛋白/(mmol/L)	1.2±0.2	1.1±0.2
总胆固醇/(mmol/L)	5.6±1.4 ^a	4.5±1.0
同型半光氨酸/(μm)	10.9±1.1	10.7±1.1
甘油三酯/(mmol/L)	1.8±0.7	1.4±0.6
尿酸/(μmol/L)	305.0±113.2	293.0±101.9

与MES阴性组比较:^a $P<0.05$,^b $P<0.01$

2.2 miRNA-370在MES阳性、MES阴性和健康者血清中的表达水平

MES阳性和阴性组患者血清中miR-370的表达量均高于对照组,且MES阳性组更显著,差异均有统计学意义($P<0.01$)。

2.3 血清miR-370与MES关系分析

为进一步分析血清miR-370与MES之间的关系,根据上调的中位倍数(3.05倍)分为miR-370高表达(>3.05倍,68例)和低表达(≤ 3.05 倍,67例)。如表2,MES阳性组中miR-370高表达者显著多于MES阴性组(61.6% vs 37.1%, $P<0.01$)。

2.4 血清miR-370与血糖、血脂等指标的关系

表2 3组miRNA-370表达水平的比较

组别	n	miRNA-370
MES阳性组	73	4.41±2.14 ^{ab}
MES阴性组	62	2.20±1.05 ^a
对照组	60	1.08±0.46

与对照组比较:^a $P<0.01$;与MES阴性组比较:^b $P<0.01$

表3 血清miR-370与MES的关系 (例)

变量	miR-370		总计
	高表达	低表达	
MES阳性组	45	28	73
MES阴性组	23	39	62
总计	68	67	135

Spearman相关分析显示,血清miR-370表达水平与低密度脂蛋白、总胆固醇、甘油三酯及同型半光氨酸水平呈正相关($P<0.05$ 或 0.01),而与年龄、体质指数、高密度脂蛋白、血糖及尿酸等无明显相关性($P>0.05$)。

表4 血清miR-370与血糖、血脂等指标的相关性

变量	相关系数	P 值
年龄	0.312	0.264
性别	0.278	0.501
吸烟	0.371	0.417
体质指数	-0.284	0.183
高密度脂蛋白	-0.213	0.242
低密度脂蛋白	0.403	0.011
血糖	0.287	0.383
总胆固醇	0.447	0.007
甘油三酯	0.387	<0.01
同型半光氨酸	0.536	<0.01
尿酸	0.208	0.573

3 讨论

近年来MES领域的研究发展迅速,MES的发生不仅与颈动脉狭窄的严重程度、斑块特征等密切相关,还与患者有无症状的出现有关。系统评价结果表明:无症状的颈动脉狭窄患者仅10%,有症状患者MES阳性率可达43%,且未来发生卒中的风险显著增高^[1]。目前经颅多普勒仍是唯一并且有效的MES监测方法,但其诊断价值高度依赖于操作人员的技术水平。因此,提高MES的检出率,对降低颈动脉粥样硬化患者脑卒中的发生,以及改善远期预

后具有重要意义。

本研究首先对MES阳性组和阴性组患者的基线资料进行比较,发现两组的低密度脂蛋白和总胆固醇含量差异有统计学意义($P<0.05$ 或 0.01),提示MES的形成与患者血脂的关系密切。

MES形成是不稳定斑块的重要特征,血管生成与斑块不稳定性和破裂显著相关^[12]。Gao等^[5]发现miR-370广泛参与调控平滑肌细胞的表型,在调控动脉的平滑肌细胞去分化和过渡增殖后,随之造成的血管损伤后动脉粥样硬化会引起血管堵塞。循环miRNA作为近年研究的热点,已证实其作为生物标志物应用于临床疾病诊断及生物学行为变化的价值。本研究重点关注了MES阳性及阴性患者血清中miR-370的表达差异以及两者之间的关系,结果显示MES阳性患者血清miR-370不仅显著高于阴性患者,且亚组分析发现MES阳性组中miR-370高表达的患者例数亦明显多于MES阴性组。另外,本研究观察到miR-370表达与低密度脂蛋白、总胆固醇和甘油三酯等指标密切相关。血清miRNA因其具有无创伤、操作简单及可重复性等优点为MES的监测提供了更为有力的辅助作用。

综上所述,除了经颅多普勒外,血清miR-370的检测可更加高效地监测MES,可作为颈动脉狭窄患者抗栓治疗或颈动脉支架置入术的辅助性监测指标。

参考文献:

- [1] 刘艳,曹桂莲,陈爱芳.原发性高血压患者动态动脉硬化指数与颈动脉粥样硬化的相关性[J].中国动脉硬化杂志,2010,18(7):563-565.
- [2] 宫健,彭思存.颈动脉粥样硬化斑块超声特征与微栓子信号的临床研究[J].中国临床医学影像杂志,2005,16(7):371-372,375.
- [3] TAO J, LI S F, XU M. The roles of microRNA in the diagnosis and therapy for cardiovascular diseases[J]. Sheng Li Ke Xue Jin Zhan, 2011, 42(5): 335-339.
- [4] CHEN K C, LIAO Y C, HSICH I C, et al. OxLDL causes both epigenetic modification and signaling regulation on the microRNA-29b gene: novel mechanisms for cardiovascular diseases[J]. J Mol Cell Cardiol, 2012, 52(3): 587-595.
- [5] GAO W, HE H W, WANG Z M, et al. Plasma levels of lipometabolism-related miR-122 and miR-370 are increased in patients with hyperlipidemia and associated with coronary artery disease[J]. Lipids Health Dis, 2012, 11: 55.
- [6] MITCHELL P S, PARKIN R K, KROH E M, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(30): 10513-10518.
- [7] 巩向宇.多层螺旋CT在脑血管疾病中的诊断及应用[J].中外健康文摘,2012(40):212.
- [8] 刘鑫爱.微栓子监测在缺血性脑血管病中的临床应用与研究现状[J].医学综述,2011,17(17):2691-2694.
- [9] ZHANG C, QU S, LI H, et al. Microembolic signals and carotid plaque characteristics in patients with asymptomatic carotid stenosis[J]. Scand Cardiovasc J, 2009, 43(5): 345-351.
- [10] 沈焱,白向东,马瑞莲,等.基质金属蛋白酶-9基因多态性与颈动脉粥样硬化微栓子形成的相关性研究[J].宁夏医学杂志,2013,35(3):207-210.
- [11] RITTER M A, DITTRICH R, THOENISSEN N, et al. Prevalence and prognostic impact of microembolic signals in arterial sources of embolism. A systematic review of the literature[J]. J Neurol, 2008, 255(7): 953-961.
- [12] OWENS G K, KUMAR M S, WAMHOFF B R. Molecular regulation of vascular smooth muscle cell differentiation in development and disease[J]. Physiol Rev, 2004, 84(3): 767-801.
- [13] FARHAT N, THORIN-TRESCASES N, MAMARBACHI M, et al. Angiopoietin-like 2 promotes atherogenesis in mice[J]. J Am Heart Assoc, 2013, 2(3): e201.
- [14] BELLARY S, FAINT J M, ASSI L K, et al. Elevated serum free light chains predict cardiovascular events in type 2 diabetes[J]. Diabetes Care, 2014, 37(7): 2028-2030.