

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20170809.015

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20170809.1111.030.html>

# 心肌梗死患者血清 miR-148b 表达量与心肌损伤、心肌纤维化的相关性分析

王芳<sup>1</sup>, 丁小云<sup>2</sup>, 党群<sup>1</sup>, 吕果<sup>1</sup>, 刘振国<sup>1</sup>, 李红军<sup>1</sup>, 耿李科<sup>1</sup>, 郭宁<sup>3</sup> ✉

(1. 陕西省汉中市中心医院心血管内科, 陕西 汉中 723000; 2. 陕西省汉中市中心医院导管室, 陕西 汉中 723000; 3. 陕西省西安交通大学第一附属医院心血管内科, 陕西 西安 710100)

**[摘要]** **目的:** 研究心肌梗死患者血清中 miR-148b 表达量与心肌损伤、心肌纤维化的相关性。 **方法:** 选择 2013 年 3 月~2016 年 10 月期间在汉中市中心医院诊断为急性心肌梗死(AMI)的 130 例患者以及体检的 100 例健康者, 分别作为 AMI 组和对照组, 采集血清并采用荧光定量 PCR 试剂盒检测 miR-148b 的表达量, 采用酶联免疫吸附试剂盒检测心肌损伤标志物、心肌纤维化标志物的含量。 **结果:** AMI 组患者血清中 miR-148b 的表达量以及肌酸激酶同工酶(CK-MB)、肌钙蛋白 T(cTnT)、心脏型脂肪酸结合蛋白(H-FABP)、I 型前胶原羧基端肽(PICP)、III 型前胶原氨基端肽(P III NP)、CTX-I、转化生长因子(TGF)- $\beta$ 1、GDF-15 的含量显著高于对照组( $P < 0.05$ ); miR-148b 高表达 AMI 患者血清中 CK-MB、cTnT、H-FABP、PICP、P III NP、CTX-I、TGF- $\beta$ 1、GDF-15 的含量显著高于 miR-148b 低表达的 AMI 患者( $P < 0.05$ )。 **结论:** 心肌梗死患者血清中高表达的 miR-148b 对心肌损伤、心肌纤维化具有促进作用。

**[关键词]** 心肌梗死; miR-148b; 心肌损伤; 心肌纤维化

**[中图分类号]** R542.22 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-1237(2017)14-1885-04

## Correlation of serum miR-148b expression with myocardial injury and myocardial fibrosis in patients with myocardial infarction

WANG Fang<sup>1</sup>, DING Xiao-yun<sup>2</sup>, Dang Qun<sup>1</sup>, LV Guo<sup>1</sup>, LIU Zhen-guo<sup>1</sup>, LI Hong-jun<sup>1</sup>, Geng Li-ke<sup>1</sup>, GUO Ning<sup>3</sup> ✉

(1. Department of Cardiology, Hanzhong Central Hospital, Shaanxi Hanzhong, 723000; 2. Catheter Laboratories, Hanzhong Central Hospital, Shaanxi Hanzhong, 723000; 3. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Xian Jiaotong University, Shaanxi Xian, 710100)

**[Foundation Project]:** This study is supported by National Natural Science Foundation (grant No. 81170138).

**[Author]:** WANG Fang (1978-), Female, Shaanxi Hanzhong, M.M., Attending Physician, Tel: 0916-2681733, 15909160595. E-mail: guoning0123@126.com.

**[Correspondence to]:** GUO Ning, Tel: 13991229101, E-mail: nguomd@qq.com.

Received: 2017-06-26 Revised: 2017-07-01

JHMC, 2017; 23(14): 1885-1888

**View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.**

**[ABSTRACT]** **Objective:** To study the correlation of serum miR-148b expression with myocardial injury and myocardial fibrosis in patients with myocardial infarction. **Methods:** A total of 130 patients who were diagnosed with acute myocardial infarction and 100 healthy subjects who received physical examination in Hanzhong Central Hospital between March 2013 and October 2016 were selected and enrolled in AMI group and control group respectively. Serum was collected, fluorescent quantitative PCR kit was used to detect miR-148b expression, and enzyme-linked immunosorbent assay kit was used to detect the

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(81170138)

**[作者简介]** 王芳(1978-),女,陕西汉中人,主治医师,硕士,电话:0916-2681733,15909160595, Email: guoning0123@126.com.

**[通讯作者]** 郭宁,电话:13991229101,邮箱:nguomd@qq.com.

**[收稿日期]** 2017-06-26 **[修回日期]** 2017-07-01 **网络出版时间:** 2017-08-09 11:11:29

contents of myocardial injury markers and myocardial fibrosis markers. **Results:** Serum miR-148b expression as well as CK-MB, cTnT, H-FABP, PICP, PIIINP, CTX-I, TGF- $\beta$ 1 and GDF-15 levels in AMI group was significantly higher than those in control group ( $P < 0.05$ ); serum CK-MB, cTnT, H-FABP, PICP, PIIINP, CTX-I, TGF- $\beta$ 1 and GDF-15 levels in AMI patients with high miR-148b expression were significantly higher than those in AMI patients with low miR-148b expression ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Highly expressed miR-148b in serum of patients with myocardial infarction can promote myocardial injury and myocardial fibrosis.

[KEY WORDS] Myocardial infarction; MiR-148b; Myocardial injury; Myocardial fibrosis

心肌梗死是心血管系统常见的疾病,冠状动脉粥样硬化是疾病发生的病理基础,粥样斑块破裂、血栓形成、管腔狭窄会造成心肌发生缺血缺氧性损伤。尽管近年来溶栓治疗和介入治疗发展迅速,患者发生心肌梗死后能够及时接受再灌注治疗,但治疗后多会遗留不同程度的心功能减退<sup>[1,2]</sup>。目前关于心肌梗死后心功能减退的研究认为,缺血缺氧以及缺血再灌注所致心肌细胞破坏会直接影响心肌的舒缩功能,而血供恢复后心肌组织发生的纤维化也会显著影响心肌的舒缩功能。心肌梗死病程中的心肌损伤及心肌纤维化受到复杂因素的调控,其中 miR-148b 被证实能够在心肌梗死动物模型中影响心肌的纤维化过程<sup>[3,4]</sup>。本研究分析了心肌梗死患者血清中 miR-148b 表达量与心肌损伤、心肌纤维化的相关性。

## 1 对象与方法

### 1.1 一般资料

选择 2013 年 3 月~2016 年 10 月期间在汉中市中心医院诊断为急性心肌梗死(AMI)的 130 例患者以及体检的 100 例健康者作为受试对象。所有心肌梗死患者结合临床症状、心肌酶谱、心电图进行诊断,为首次发作,纳入研究的 AMI 组;所有健康者经体检确认身体健康,排除有冠心病、心肌炎、心瓣膜病等病史的受试者,纳入研究的对照组。AMI 组中男性 71 例、女性 59 例,年龄 43~63 岁;对照组中男性 58 例、女性 42 例,年龄 42~60 岁。两组受试对象的一般资料比较无显著性差异( $P > 0.05$ ),具有可比性。

### 1.2 miR-148b 表达量的检测方法

AMI 组患者入院时采集肘静脉血 5~6 mL,对照组健康者体检时采集肘静脉血 5~6 mL,离心分离血清后采用血清 miRNA 提取试剂盒分离总 miRNA,使用 miRNA 专用的反转录试剂盒合成 cDNA,最后设计 miR-148b 的引物并进行 PCR 扩增,以 U6 基因为内参,计算 miR-148b 的表达量。

### 1.3 血清心肌损伤及纤维化标志物的检测方法

取 AMI 组和对照组的血清标本,采用酶联免疫吸附试剂盒测定肌酸激酶同工酶(CK-MB)、肌钙蛋白 T(cTnT)、心脏型脂肪酸结合蛋白(H-FABP)、I 型前胶原羧基端肽(PICP)、III 型前胶原氨基端肽(PIIINP)、CTX-I、转化生长因子(TGF)- $\beta$ 1、GDF-15 的含量。

### 1.4 统计学处理

采用 SPSS20.0 统计学软件进行分析,两组间 miR-148b

表达量及血清标志物的分析采用  $t$  检验,按照  $P < 0.05$  判断差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 血清中 miR-148b 的表达量

AMI 组患者血清中 miR-148b 的表达量为(2.37 ± 0.41),对照组健康者血清中 miR-148b 的表达量为(1.03 ± 0.16)。经  $t$  检验,AMI 组患者血清中 miR-148b 的表达量显著高于对照组,两组受试者血清中 miR-148b 表达量的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.2 血清中心肌损伤分子的含量及其与 miR-148b 表达量的相关性

两组受试者血清中心肌损伤分子 CK-MB(U/L)、cTnT(ng/mL)、H-FABP(pg/mL)含量的分析如下:AMI 组患者血清中 CK-MB、cTnT、H-FABP 的含量显著高于对照组,两组受试者血清中 CK-MB、cTnT、H-FABP 含量的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。AMI 组中不同 miR-148b 表达量患者血清 CK-MB、cTnT、H-FABP 含量的分析如下:miR-148b 高表达 AMI 患者血清中 CK-MB、cTnT、H-FABP 的含量显著高于 miR-148b 低表达的 AMI 患者,AMI 组中不同 miR-148b 表达量患者血清 CK-MB、cTnT、H-FABP 含量的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1、2。

表 1 两组受试者血清 CK-MB、cTnT、H-FABP 的含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	CK-MB	cTnT	H-FABP
AMI 组	130	79.39 ± 9.52	2.36 ± 0.38	62.41 ± 8.35
对照组	100	30.25 ± 4.48	0.58 ± 0.08	11.58 ± 1.84
<i>t</i>		13.287	21.498	45.682
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

表 2 AMI 组中不同 miR-148b 表达量患者血清 CK-MB、cTnT、H-FABP 的含量( $\bar{x} \pm s$ )

miR-148b	<i>n</i>	CK-MB	cTnT	H-FABP
高表达	65	103.42 ± 12.57	3.56 ± 0.52	93.41 ± 11.28
低表达	65	56.73 ± 7.28	1.14 ± 0.17	30.59 ± 5.58
<i>t</i>		9.382	15.282	20.375
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

### 2.3 血清中心肌纤维化分子的含量及其与 miR-148b 表达量的相关性

两组受试者血清中心肌纤维化分子 PICP(ng/mL)、PIIINP(ng/mL)、CTX-I(pg/mL)、TGF- $\beta$ 1(ng/mL)、GDF-15(ng/mL)含量的分析如下:AMI 组患者血清中 PICP、PIIINP、CTX-I、TGF- $\beta$ 1、GDF-15 的含量显著高于对照组,两组受试者血清中 PICP、PIIINP、CTX-I、TGF- $\beta$ 1、GDF-15 含量

的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。AMI 组中不同 miR-148b 表达量患者血清 PICP、PIIINP、CTX-I、TGF- $\beta$ 1、GDF-15 含量的分析如下:miR-148b 高表达 AMI 患者血清中 PICP、PIIINP、CTX-I、TGF- $\beta$ 1、GDF-15 的含量显著高于 miR-148b 低表达的 AMI 患者,AMI 组中不同 miR-148b 表达量患者血清 PICP、PIIINP、CTX-I、TGF- $\beta$ 1、GDF-15 含量的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3、4。

表 3 两组受试者血清心肌纤维化分子的含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	PICP	PIIINP	CTX-I	TGF- $\beta$ 1	GDF-15
AMI 组	130	252.31 $\pm$ 33.63	52.31 $\pm$ 7.42	187.51 $\pm$ 20.35	65.21 $\pm$ 8.25	2.31 $\pm$ 0.38
对照组	100	126.37 $\pm$ 16.28	23.44 $\pm$ 3.29	78.41 $\pm$ 9.38	27.58 $\pm$ 3.46	0.79 $\pm$ 0.10
t		10.938	12.559	13.627	11.857	21.498
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

表 4 AMI 组中不同 miR-148b 表达量患者血清心肌纤维化分子的含量( $\bar{x} \pm s$ )

miR-148b	n	PICP	PIIINP	CTX-I	TGF- $\beta$ 1	GDF-15
高表达	65	328.51 $\pm$ 42.19	67.63 $\pm$ 9.31	258.96 $\pm$ 28.95	90.21 $\pm$ 11.25	3.44 $\pm$ 0.51
低表达	65	182.34 $\pm$ 20.38	36.79 $\pm$ 4.69	119.31 $\pm$ 14.58	39.49 $\pm$ 6.58	1.20 $\pm$ 0.17
t		14.282	9.282	12.498	15.028	19.385
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

### 3 讨论

急性心肌梗死患者接受再灌注治疗后会遗留不同程度的心功能减退,心肌细胞的缺血缺氧损伤以及缺血再灌注损伤会造成细胞破坏并影响心肌的舒缩功能<sup>[5]</sup>;而在心肌梗死的修复过程中,胶原沉积、成纤维细胞增殖所造成的纤维化会限制心肌的舒张和收缩过程,进而影响心肌的舒缩功能<sup>[6]</sup>。目前,影响心肌梗死后心肌损伤及纤维化的机制尚未完全明确。微小 RNA(miRNA)是一类非编码小分子 RNA,通过与 mRNA 3'非翻译区上的相应靶点结合来发挥生物学作用。miRNA 与 3'非翻译区结合后能够使 mRNA 发生降解或者 mRNA 翻译发生抑制、减少 mRNA 所对应基因的表达量,进而根据基因表达产物功能的不同表现出相应的生物学效应。MiR-148b 是目前研究较为广泛的一类 miRNA,心肌组织中的 miR-148b 的异常表达与心肌损伤和纤维化均存在相关性,心肌梗死动物模型中 miR-148b 的表达量显著升高。但是,关于心肌梗死患者体内 miR-148b 的变化趋势尚未明确。为了明确 miR-148b 异常表达与心肌梗死发生及病情发展的关系,本文对心肌梗死患者及健康者血清中 miR-148b 表达量的差异进行了分析,结果显示:AMI 组患者血清中 miR-148b 的表达量显著高于对照组。这就说明 miR-148b 的高表达与心肌梗死的发生及病情的发展存在密切关系。

急性心肌梗死病程进展过程中,缺血缺氧对心肌细胞的损伤会造成细胞中多种催化酶、结构蛋白

释放进入血液循环,进而成为反映心肌损伤程度的标志物。CK-MB、cTnT、H-FABP 是目前临床上常用的心肌损伤标志分子。CK-MB 是肌酸激酶的同工酶,在心肌细胞中特异性高表达并参与能量代谢、ATP 生成的调节<sup>[7,8]</sup>;cTnT 是一类肌钙蛋白,参与细胞内钙离子调节横纹肌收缩的过程<sup>[9,10]</sup>;H-FABP 是心肌细胞内高表达的一类脂肪酸结合蛋白,参与细胞内脂肪酸的转运及生物利用<sup>[11,12]</sup>。本文通过分析心肌梗死患者及健康者血清中上述心肌损伤标志物含量的差异可知:AMI 组患者血清中 CK-MB、cTnT、H-FABP 的含量显著高于对照组,这就说明在心肌梗死发生后,心肌细胞损伤会造成标志物 CK-MB、cTnT、H-FABP 大量释放入血。为了明确 miR-148b 高表达对心肌细胞损伤的影响,本文进一步分析了 AMI 患者血清中 miR-148b 表达量与心肌损伤标志物含量的相关性,结果显示:miR-148b 高表达 AMI 患者血清中 CK-MB、cTnT、H-FABP 的含量显著高于 miR-148b 低表达的 AMI 患者。这就说明心肌梗死患者血清中 miR-148b 的高表达与血清中心肌损伤标志物含量的升高密切相关,由此也证实 miR-148b 对心肌细胞的损伤具有促进作用。

心肌梗死患者接受再灌注治疗后,心肌间质的纤维化与成纤维细胞增殖、胶原合成密切相关。GDF-15 和 TGF- $\beta$ 1 均是转化生长因子家族的成员,对心肌组织中成纤维细胞的活化和增殖具有显著的促进作用,进而加速纤维瘢痕的形成过程<sup>[13-15]</sup>。同时,成纤维细胞的异常增殖会影响心肌细胞外基质的合成与降解,I 型胶原是心肌细胞外基质中含量最丰富的胶原类型,在 I 型胶原合成和沉积的过程中 PICP、PIIINP、CTX-I 等胶原代谢产物生成显著增多<sup>[16,17]</sup>。本文通过分析心肌梗死患者及健康者血清中上述心肌纤维化标志物含量的差异可知:AMI 组患者血清中 PICP、PIIINP、CTX-I、TGF- $\beta$ 1、GDF-15 的含量显著高于对照组。这就说明在心肌梗死发生后,成纤维细胞增殖和胶原增加与心肌纤维化密切相关。为了明确 miR-148b 高表达对心肌纤维化的影响,本文进一步分析了 AMI 患者血清中 miR-148b 表达量与心肌纤维化标志物含量的相关性,结果显示:miR-148b 高表达 AMI 患者血清中 ICP、PIIINP、CTX-I、TGF- $\beta$ 1、GDF-15 的含量显著高于 miR-148b 低表达的 AMI 患者。这就说明心肌梗死患者血清中 miR-148b 的高表达与血清中心肌纤维化标志物含量的升高密切相关,由此也证实 miR-148b 对心肌纤维化的过程具有促进作用。

综上所述,心肌梗死患者血清中 miR-148b 的表达量异常升高;高表达的 miR-148b 与心肌损伤、心肌纤维化的进程密切相关。

## 参考文献

- 1 Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C, Leischik R, et al. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome[J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(13): 256.
  - 2 Schulman-Marcus J, Shah T, Swaminathan RV, et al. Comparison of recent trends in patients with and without major depression and acute ST-Elevation myocardial infarction[J]. *Am J Cardiol*, 2016, 118(6): 779-784.
  - 3 Yang J, Brown ME, Zhang H, et al. High-throughput screening identifies microRNAs that target Nox2 and improve function after acute myocardial infarction[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2017, 312(5): 1002-1012.
  - 4 Yang Q, Cui J, Wang P, et al. Changes in interconnected pathways implicating microRNAs are associated with the activity of apocynin in attenuating myocardial fibrogenesis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 5(784): 22-32.
  - 5 Traverse JH, Henry TD. Myocardial injury as a new target for cell therapy in patients with chronic heart failure: when something bad is actually good? [J]. *Circ Res*, 2017, 120(12): 1857-1859.
  - 6 Gao C, Howard-Quijano K, Rau C, et al. Inflammatory and apoptotic remodeling in autonomic nervous system following myocardial infarction[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0177750.
  - 7 Bagale KR, Ingle AS, Choudhary R. Contribution of various lipid profile parameters in determining creatine kinase-MB levels in unstable angina patients[J]. *Int J Appl Basic Med Res*, 2016, 6(2): 106-110.
  - 8 Danese E, Montagnana M. An historical approach to the diagnostic biomarkers of acute coronary syndrome[J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(10):194.
  - 9 Rahman MM, Alam MM, Jahan NA, et al. Prognostic role of multiple cardiac biomarkers in newly diagnosed acute coronary syndrome patients[J]. *Mymensingh Med J*, 2016, 25(2):326-333.
  - 10 Maharjan P, Manandhar R, Xu W, et al. Markers of autolysis in acute ST elevation myocardial infarction[J]. *JNMA J Nepal Med Assoc*, 2015, 53(198): 96-103.
  - 11 Hamza M, Demerdash S, Ibrahim M. Heart-type fatty acid-binding protein as a diagnostic biochemical marker for early detection of myocardial infarction[J]. *Acta Cardiol*, 2016, 71(5): 537-541.
  - 12 Pyati AK, Devaranavadagi BB, Sajjannar SL, et al.Heart-type fatty acid-binding protein, in early detection of acute myocardial infarction: comparison with CK-MB, troponin I and myoglobin [J]. *Indian J Clin Biochem*, 2016, 31(4):439-445.
  - 13 Hagström E, Held C, Stewart RA, et al. Growth differentiation factor 15 predicts all-cause morbidity and mortality in stable coronary heart disease[J]. *Clin Chem*, 2017, 63(1):325-333.
  - 14 Wang FF, Chen BX, Yu HY, et al. Correlation between growth differentiation factor-15 and collagen metabolism indicators in patients with myocardial infarction and heart failure [J]. *J Geriatr Cardiol*, 2016, 13(1): 88-93.
  - 15 Frangogiannis NG. The role of transforming growth factor (TGF)- $\beta$  in the infarcted myocardium[J]. *J Thorac Dis*, 2017, 9(Suppl 1): 52-63.
  - 16 Lepojärvi ES, Piira OP, Pääkkö E, et al. Serum PINP, PII-INP, galectin-3, and ST2 as surrogates of myocardial fibrosis and echocardiographic left ventricular diastolic filling properties [J]. *Front Physiol*, 2015, 13(6): 200.
  - 17 Gao H, Zhang XS, Zhao Q, et al. Predictive value of serum collagen biomarkers on the outcome of acute myocardial infarction treated with percutaneous coronary intervention[J]. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2015, 159(2): 272-276.
- 
- (上接第 1884 页)
- 12 Prauchner CA. Oxidative stress in sepsis: Pathophysiological implications justifying antioxidant co-therapy [J]. *Burns*, 2017, 43(3): 471-485.
  - 13 Yaroustovsky M, Rogalskaya E, Plyushch M, et al. the level of oxidative neutrophil response when determining endotoxin activity assay: a new biomarker for defining the indications and effectiveness of intensive care in patients with sepsis[J]. *Int J Inflam*, 2017, 2017:3495293.
  - 14 Haileselassie B, Su E, Pozios I, et al. Myocardial oxidative stress correlates with left ventricular dysfunction on strain echocardiography in a rodent model of sepsis [J]. *Intensive Care Med Exp*, 2017, 5(1):21
  - 15 Shankar-Hari M, Fear D, Lavender P, et al. Activation-associated accelerated apoptosis of memory b cells in critically ill patients with sepsis[J]. *Crit Care Med*, 2017, 45(5):875-882.
  - 16 Crowell KT, Soybel DI, Lang CH. Inability to replete white adipose tissue during recovery phase of sepsis is associated with increased autophagy, apoptosis, and proteasome activity [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2017, 312(3): 388-399.