

慢性收缩性心力衰竭患者血清 miR-129 表达与心功能的关系

杨萍, 代天, 张苏川

(江汉大学附属医院 武汉市第六医院心血管内科, 湖北省武汉市 430015)

[关键词] 慢性收缩性心力衰竭; miR-129; 左心室收缩期末内径; 左心室舒张期末内径; 左心室射血分数

[摘要] 目的 探讨慢性收缩性心力衰竭(CSHF)患者血清微小 RNA-129(miR-129)表达水平并分析其与心功能指标的关系。方法 选取2016年5月—2018年10月在武汉市第六医院收治的103例CSHF患者为观察组,依据纽约心脏病协会(NYHA)标准将其分为三组:NYHA II级组(33例)、NYHA III级(28例)、NYHA IV级组(42例)。另外选取110例同期健康体检者为对照组。采用飞利浦 iEElite 型心脏彩色多普勒超声仪检测左心室收缩期末内径(LVESD)、左心室舒张期末内径(LVEDD)、左心室射血分数(LVEF),采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测血清 miR-129 表达,并分析 miR-129 与 LVESD、LVEDD、LVEF、NYHA 分级的相关性。结果 在对照组、NYHA II 级组、NYHA III 级组、NYHA IV 级组中,LVESD、LVEDD 均依次升高($P<0.05$),LVEF 和血清 miR-129 表达均依次降低($P<0.05$);血清 miR-129 表达水平在冠心病、高血压心脏病、老年性心瓣膜病 CSHF 患者中差异无统计学意义($P>0.05$);CSHF 患者血清 miR-129 表达与 LVESD、LVEDD、NYHA 分级均呈负相关($P<0.05$),与 LVEF 呈正相关($P<0.05$)。结论 miR-129 在 CSHF 患者血清中低表达,与 LVESD、LVEDD、NYHA 分级均呈负相关,与 LVEF 呈正相关,可为 CSHF 的病情评估提供参考。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

The relationship between serum miR-129 expression and cardiac function in patients with chronic systolic heart failure

YANG Ping, DAI Tian, ZHANG Suchuan

(Department of Cardiovascular Medicine, Affiliated Hospital of Jiangnan University & Wuhan Sixth Hospital, Wuhan, Hubei 430015, China)

[KEY WORDS] chronic systolic heart failure; miR-129; left ventricular end systolic diameter; left ventricular end diastolic diameter; left ventricular ejection fraction

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the expression of microRNA-129 (miR-129) in serum of patients with chronic systolic heart failure (CSHF) and analyze its relationship with cardiac function indicators. **Methods** 103 patients with CSHF who were treated in Wuhan Sixth Hospital from May 2016 to October 2018 were selected as the observation group. According to the New York Heart Disease Association (NYHA) standard, the observation group was divided into three groups: NYHA class II group (33 cases), NYHA class III group (28 cases), NYHA class IV group (42 cases). In addition, 110 healthy people from Wuhan Sixth Hospital at the same time were selected as the control group. The left ventricular end systolic diameter (LVESD), left ventricular end diastolic diameter (LVEDD), left ventricular ejection fraction (LVEF) were measured by Philips iEElite type echocardiography, real-time fluorescence quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression of miR-129 in serum, and the correlation between miR-129 and LVESD, LVEDD, LVEF and NYHA classification was analyzed. **Results** Compared with the control group, the LVESD and LVEDD increased significantly in NYHA class II group, NYHA class III group and NYHA class IV group ($P<0.05$), while the LVEF and level of miR-129 decreased in turn ($P<0.05$). There was no significant difference in serum miR-129 expression among CSHF patients with coronary heart disease, hypertension heart disease and senile heart valve disease ($P>$

[收稿日期] 2020-03-19

[修回日期] 2020-05-21

[基金项目] 湖北省自然科学基金青年基金项目(2016CFB344)

[作者简介] 杨萍, 硕士, 主治医师, 研究方向为心血管内科, E-mail 为 lthgs83@163.com。通信作者张苏川, 硕士, 主任医师, 教授, 研究方向为冠心病, E-mail 为 zhangsuchuan@163.com。

0.05)。The serum miR-129 expression of CSHF patients was negatively correlated with LVESD, LVEDD and NYHA grade ($P<0.05$), and positively correlated with LVEF ($P<0.05$). **Conclusion** miR-129 is low expressed in the serum of patients with CSHF. It is negatively related to the LVESD, LVEDD and NYHA grade, and positively related to LVEF, which may provide reference for the evaluation of CSHF.

慢性收缩性心力衰竭(chronic systolic heart failure, CSHF)是心血管疾病终末阶段的一种并发症,发病率随着人口老龄化进程的演化呈逐渐增高趋势,生存率极低,几乎可以与恶性肿瘤相比,对患者及家庭造成严重负担^[1]。微小 RNA (microRNA, miRNA)是机体广泛分布无蛋白编码功能的内源性小分子 RNA,可通过在转录后水平调控基因表达,参与细胞增殖、凋亡、血管生成、脂肪代谢等过程^[2-3]。研究表明多种 miRNA 在 CSHF 患者血清中表达异常^[4-6],微小 RNA-129 (microRNA-129, miR-129)与心力衰竭的研究已有报道^[7-9],与 CSHF 的研究鲜见报道,本研究旨在探讨 CSHF 患者血清 miR-129 表达及其临床意义。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 5 月—2018 年 10 月本院收治的 103 例 CSHF 患者为观察组,年龄 57~78 岁,均符合《中国心力衰竭诊断与治疗指南 2014》中慢性心力衰竭诊断标准^[10],其中冠心病 59 例,高血压心脏病 33 例,老年性心瓣膜病 11 例。依据纽约心脏病协会(New York Heart Association, NYHA)标准^[11]对其进行心功能分级:I 级:未影响正常体力活动;II 级:静息状态下临床症状不明显,进行过度体力活动则会出现气短、心悸症状;III 级:患者日常体力活动严重受到限制或有心力衰竭史;IV 级:休息状态有心衰表现,日常活动严重受到限制。按照上述标准 103 例患者中 NYHA II 级 33 例, NYHA III 级 28 例, NYHA IV 级 42 例。CSHF 患者纳入标准:(1)符合慢性心力衰竭诊断标准;(2)基础病因为老年性心瓣膜病、高血压心脏病、冠心病;(3)左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF) $<40\%$;(4)NYHA 心功能分级为 II~IV 级;(5)年龄 <80 岁。排除标准:(1)合并肾、肺等器官严重功能障碍者;(2)其他原因引发的心力衰竭;(3)合并感染、免疫性疾病;(4)合并恶性肿瘤者;(5)妊娠、哺乳期女性。另外选取 110 例同期健康体检者为对照组,年龄 52~77 岁。本研究经医院伦理委员会批准,患

者及家属同意并签署知情同意书。

1.2 超声指标检测

受检者于静息状态下取左侧卧位,采用飞利浦 iEElite 型心脏彩色多普勒超声仪检测左心室收缩期末内径(left ventricular end systolic diameter, LVESD)、左心室舒张期末内径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)和 LVEF,探头频率为 2.5~3.5 MHz。

1.3 血清 miR-129 表达检测

所有研究对象于清晨空腹抽取 5 mL 静脉血,3 000 r/min 离心 10 min,保留上层清液,采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR)检测血清 miR-129 表达。采用 Trizol 法提取总 RNA,反转录得到 cDNA,进行扩增反应,反应条件为 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 10 s, 60 °C 30 s, 45 个循环。miR-129 正向引物为 5'-GATACTCACTTTTTCGCGTCT-3',反向引物为 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3',内参基因 U6 正向引物为 5'-CGCTTCGGCAGCACATATAC-3',反向引物为 5'-CAGGGGCCATGCTAATCTT-3'。试剂盒均购于上海生工生物工程有限公司,严格按照说明书操作。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算研究对象血清中 miR-129 的表达。

1.4 统计学方法

采用 SPSS17.0 软件对数据进行统计学处理。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 LSD- t 检验;计数资料以例和百分比表示,采用 χ^2 检验;采用 Pearson 法分析 miR-129 与 LVESD、LVEDD、LVEF 的相关性, Spearman 法分析 miR-129 与 NYHA 分级的相关性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组与对照组一般资料比较

观察组与对照组在性别、年龄、体质指数(body mass index, BMI)上比较差异无统计学意义($P>0.05$;表 1)。

2.2 心脏彩色多普勒超声参数

采用心脏彩色多普勒超声仪检测 LVESD、LVEDD 和 LVEF,结果发现对照组、NYHA II 级组、NYHA III 级组、NYHA IV 级组 LVESD、LVEDD 均依

次升高 ($P < 0.05$), LVEF 依次降低 ($P < 0.05$; 表 2)。

表 1. 观察组与对照组一般资料比较

Table 1. Comparison of general data between control group and observation group

分组	<i>n</i>	男性/ [例(%)]	年龄/岁	BMI/ (kg/m ²)
对照组	110	81 (73.6)	65.19±7.39	24.12±2.87
观察组	103	67 (65.0)	65.45±8.15	24.16±2.56
<i>t</i> / χ^2		1.850	0.244	0.107
<i>P</i>		0.174	0.807	0.915

表 2. 各组心脏彩色多普勒超声参数比较

Table 2. Comparison of cardiac color Doppler ultrasound parameters in each group

分组	<i>n</i>	LVESD/mm	LVEDD/mm	LVEF/%
对照组	110	29.76±3.47	45.46±5.31	65.89±6.71
NYHA II 级组	33	34.81±4.64 ^a	54.15±5.87 ^a	37.15±3.82 ^a
NYHA III 级组	28	41.20±4.52 ^{ab}	57.94±6.83 ^{ab}	34.36±3.75 ^{ab}
NYHA IV 级组	42	45.57±4.61 ^{abc}	62.15±6.84 ^{abc}	31.67±3.72 ^{abc}
<i>F</i>		178.717	96.230	596.426
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

注:a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 NYHA II 级组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 NYHA III 级组比较。

2.3 血清 miR-129 表达水平

miR-129 表达水平在对照组、NYHA II 级组、NYHA III 级组、NYHA IV 级组依次降低 ($P < 0.05$, 表 3)。

表 3. 各组 miR-129 表达水平比较

Table 3. Comparison of miR-129 expression in each group

分组	<i>n</i>	miR-129
对照组	110	4.26±0.62
NYHA II 级组	33	3.47±0.37 ^a
NYHA III 级组	28	3.25±0.36 ^{ab}
NYHA IV 级组	42	2.78±0.32 ^{abc}
<i>F</i>		99.928
<i>P</i>		0.000

注:a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 NYHA II 级组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 NYHA III 级组比较。

2.4 不同病因 CSHF 患者血清 miR-129 表达水平

血清 miR-129 表达水平在冠心病、高血压心脏病、老年性心瓣膜病 CSHF 患者比较, 差异无统计学

意义 ($P > 0.05$, 表 4)。

表 4. 不同病因 CSHF 患者血清 miR-129 表达水平比较

Table 4. Comparison of serum miR-129 expression in patients with CSHF of different etiologies

病因	<i>n</i>	miR-129
冠心病	59	3.29±0.47
高血压心脏病	33	3.23±0.56
老年性心瓣膜病	11	3.31±0.52
<i>F</i>		0.182
<i>P</i>		0.834

2.5 CSHF 患者血清 miR-129 表达水平与心脏彩色多普勒超声参数、NYHA 分级的相关性分析

相关分析结果显示, CSHF 患者血清 miR-129 表达水平与 LVESD、LVEDD、NYHA 分级均呈负相关 ($P < 0.05$), 与 LVEF 呈正相关 ($P < 0.05$; 表 5 和图 1 ~ 图 3)。

表 5. CSHF 患者血清 miR-129 表达水平与心脏彩色

多普勒超声参数、NYHA 分级的相关性分析

Table 5. Correlation analysis of serum miR-129 expression with cardiac color Doppler ultrasound parameters and NYHA classification in patients with CSHF

变量	miR-129 表达	
	<i>r</i>	<i>P</i>
LVESD	-0.531	0.000
LVEDD	-0.592	0.000
LVEF	0.576	0.000
NYHA 分级	-0.626	0.000

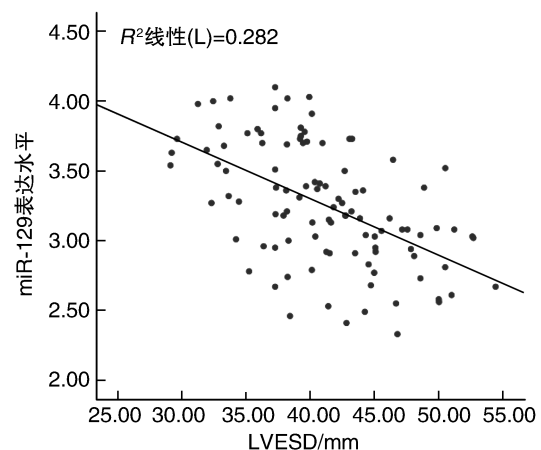


图 1. miR-129 表达水平与 LVESD 的相关性
Figure 1. Correlation between miR-129 expression and LVESD

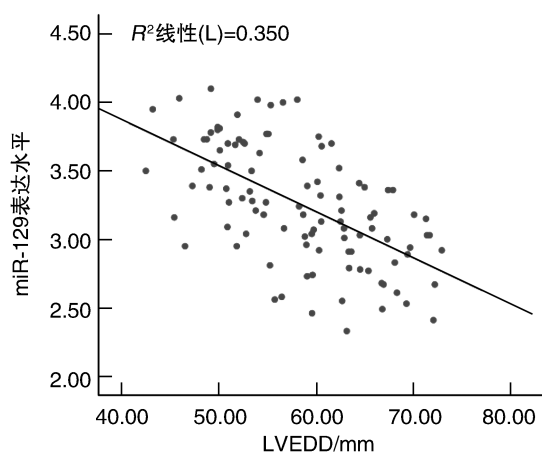


图 2. miR-129 表达水平与 LVEDD 的相关性
Figure 2. Correlation between miR-129 expression and LVEDD

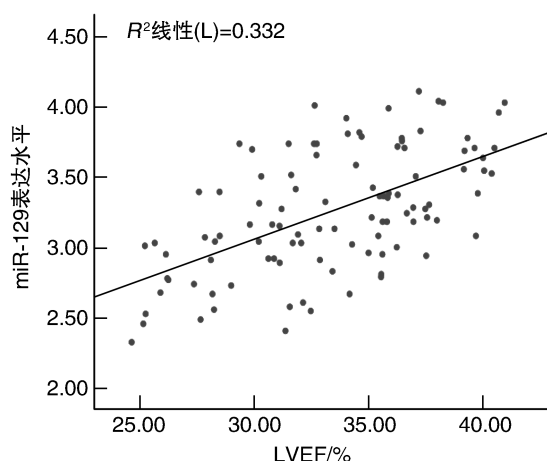


图 3. miR-129 表达水平与 LVEF 的相关性
Figure 3. Correlation between miR-129 expression and LVEF

3 讨论

心肌纤维化及心室重塑是心力衰竭的基本发生机制^[12-13],随着慢性心力衰竭病情发展,患者心功能受损日益严重,准确评估患者心功能以便拟定合适的治疗方案对于预后效果至关重要,CSHF 是慢性心力衰竭的主要发病形式^[14],主要病理变化是心脏收缩功能减退引起收缩期排空能力降低^[15-16]。临床主要依据患者临床表现、超声检查及血浆脑钠肽前体诊断慢性心力衰竭,临床症状评估慢性心力衰竭病情存在一定主观性,超声检查早期诊断困难,易发生漏诊、误诊,延误治疗时机,血浆脑钠肽前体评估标准尚无统一,对慢性心力衰竭有可靠诊断价值的血清指标一直是研究热点^[17-18]。郑琨

等^[19]研究发现,慢性心力衰竭患者血清半乳糖凝集素 3、亲环素 A 水平随着 NYHA 分级升高而增高,同时,心力衰竭超声指数呈上升趋势,CSHF 患者血清半乳糖凝集素 3、亲环素 A、心力衰竭超声指数均较慢性舒张性心力衰竭患者升高,均与 LVEF 呈负相关,可反映慢性心力衰竭患者病情。顾刚强等^[20]研究发现,慢性心力衰竭患者与健康对照者相比,LVESD、LVEDD 较高,LVEF 较低,均与患者预后密切相关;血清钾水平较低,可能成为诊断慢性心力衰竭的有效指标及预后预测因子。本研究发现,在对照组、NYHA II 级组、NYHA III 级组、NYHA IV 级组中,LVESD、LVEDD 依次升高,LVEF 依次降低,提示随着 NYHA 心功能分级增高,患者心功能受损程度加重。

miRNA 由 18 ~ 24 个核苷酸组成,一种 miRNA 可调控多达上百种靶基因,一种靶基因可能受几种 miRNA 共同调控,miR-129 能够产生三种成熟产物,即 miR-129-5p、miR-129-1-3p 和 miR-129-2-3p,在多种肿瘤中表达异常。研究表明,miR-129 在胃癌、肺癌中为高表达,在鼻咽癌、卵巢癌等中为低表达^[21-23],提示 miR-129 在不同疾病中表达模式不同。另外已有报道,miR-129 与心力衰竭有关,Cakmak 等^[4]研究发现,miR-129-5p 在慢性充血性心力衰竭患者血清中低表达。Ramachandran 等^[8]研究发现,单心室生理性心力衰竭患儿循环微泡中 miR-129-5p 与临床心力衰竭程度呈负相关,是一种对单室性心脏病心力衰竭兼具敏感性、特异性的生物标志物。本研究发现,miR-129 在冠心病、高血压心脏病、老年性心瓣膜病 CSHF 患者血清中表达水平差异无显著性,表明 miR-129 与造成 CSHF 下的基础病因无关。血清 miR-129 表达在对照组、NYHA II 级组、NYHA III 级组、NYHA IV 级组依次降低,与 Ramachandran 等^[8]研究一致,提示 miR-129 可能与 CSHF 患者的心功能分级相关,进一步分析结果显示,CSHF 患者血清 miR-129 表达与 LVESD、LVEDD、NYHA 分级均呈负相关,与 LVEF 呈正相关,提示血清 miR-129 表达能够反映 CSHF 患者心功能受损情况。心肌细胞缺失是致使 CSHF 病情恶化的重要原因,路喆鑫等^[9]研究发现,miR-129 可能通过抑制糖原合成酶激酶的表达,减弱对 β -catenin 磷酸化的抑制作用,从而促进大鼠骨髓间充质干细胞分化为心肌细胞,然而 miR-129 低表达在 CSHF 发生发展中的作用机制并不清楚,有赖于基础研究进一步探讨。

综上所述,CSHF 患者血清中 miR-129 低表达,

与LVESD、LVEDD、NYHA 分级呈负相关,与LVEF 呈正相关,可能参与CSHF 疾病发生及病情发展。本研究样本量少,后期将进一步扩大研究样本量并尽可能开展多中心研究以进一步验证 miR-129 与CSHF 发生发展的关系。

[参考文献]

- [1] 王东旭,张蕾,孙钦亮,等.应用血流向量成像技术评价慢性心力衰竭患者左心室收缩功能[J].中华超声影像学杂志,2018,27(6):479-485.
- [2] 赵润生.miR-200 家族在非小细胞肺癌中的研究进展[J].中国综合临床,2016,32(6):573-576.
- [3] Zhang G, Chen L, Khan AA, et al. miRNA-124-3p/neuropilin-1(NRP-1) axis plays an important role in mediating glioblastoma growth and angiogenesis[J]. Int J Cancer, 2018, 143(3): 635-644.
- [4] Cakmak H, Coskunpinar E, Ikitimur B, et al. The prognostic value of circulating microRNAs in heart failure: preliminary results from a genome-wide expression study[J]. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2015, 16(6): 431-437.
- [5] 李璐,陈群蓉,纪玲.慢性心力衰竭患者血浆 miRNA 表达谱分析[J].海南医学,2016,27(15):2438-2440.
- [6] 吴伟东,易永盛,周洋洋.microRNA 在心力衰竭病理变化过程中的调节意义[J].心血管病学进展,2016,37(5):554-558.
- [7] He X, Ji J, Wang T, et al. Upregulation of circulating miR-195-3p in heart failure[J]. Cardiology, 2017, 138(2): 107-114.
- [8] Ramachandran S, Lowenthal A, Ritner C, et al. Plasma microvesicle analysis identifies microRNA 129-5p as a biomarker of heart failure in univentricular heart disease[J]. PLoS One, 2017, 12(8): e0183624.
- [9] 路喆鑫,连锋,薛松,等. MicroRNA-129 促进骨髓间充质干细胞向心肌分化的实验研究[J].中国胸心血管外科临床杂志,2013,20(5):570-576.
- [10] 中华医学会心血管病学分会,中华心血管病杂志编辑委员会.中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014[J].中国实用乡村医生杂志,2014,42(24):3-10.
- [11] Fisher JD. New York Heart Association Classification[J]. Arch Intern Med, 1972, 129(5): 836.
- [12] 田倪妮,魏玲,李宏键,等. Klotho 基因在慢性心力衰竭患者心肌中的表达[J].中华老年多器官疾病杂志,2016,15(11):849-852.
- [13] 蔡昌新,李二琴,张婷.曲美他嗪对冠心病合并慢性心力衰竭患者的疗效[J].中国循证心血管医学杂志,2016,8(5):576-579.
- [14] 康玉顺.芪苈强心胶囊治疗慢性收缩性心力衰竭的临床观察[J].中国实用医药,2016,11(26):214-215.
- [15] 李淑娟,崔晓迎,段莎莎,等.实时三维超声心动图联合血浆 NT-proBNP 评估心衰患者左室收缩同步性的研究[J].中国心血管病研究,2016,14(9):796-800.
- [16] Hsiao SH, Lin SK, Chiou YR, et al. Utility of left atrial expansion index and stroke volume in management of chronic systolic heart failure[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2018, 31(6): 650-659.
- [17] Nazemiyeh M, Sharifi A, Amiran F, et al. Relationship between prohormone brain natriuretic peptide (NT-proBNP) level and severity of pulmonary dysfunction in patients with chronic congestive heart failure[J]. J Cardiovasc Thorac Res, 2015, 7(1): 24-27.
- [18] Pe M, Dickman E, Tessaro M. A novice user of pediatric emergency point-of-care ultrasonography avoids misdiagnosis in a case of chronic abdominal distention[J]. Pediatr Emerg Care, 2016, 32(2): 116-119.
- [19] 郑琨,张淋淋,解东兴,等.超声联合血清标志物诊断慢性心力衰竭的研究[J].中国现代医学杂志,2019,29(12):102-105.
- [20] 顾刚强,俞迪红,王勇.血清钾水平与慢性心力衰竭患者病死率的相关性[J].医学研究杂志,2019,48(6):100-104.
- [21] 罗琳,郭俊明.微小 RNA-129 在肿瘤发生中的作用机制[J].中国生物化学与分子生物学报,2013,29(11):1024-1028.
- [22] 齐力,耿彬,宋丽华.miR-129 抑制鼻咽癌细胞系 CNE2 增殖[J].基础医学与临床,2019,39(8):1178-1182.
- [23] 邓艳蕾,赵琴,李明明.miR-129 通过靶向调控 HMGA2 抑制卵巢癌细胞侵袭迁移的作用机制[J].临床与病理杂志,2018,38(11):2329-2336.

(此文编辑 许雪梅)