

经皮冠状动脉介入治疗后患者血清长链非编码 RNA GAS5 水平与冠状动脉支架内再狭窄的相关性

陈晓杰¹, 梁春玲¹, 于洁², 谢宇端³

(中国中医科学院望京医院 1. 急诊科介入诊疗中心, 2. 心内科, 3. 检验科, 北京市 100102)

[关键词] 急性 ST 段抬高型心肌梗死; 经皮冠状动脉介入治疗; 支架内再狭窄; 长链非编码 RNA GAS5

[摘要] 目的 探究血清长链非编码 RNA GAS5(lncRNA GAS5)水平与急性 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)患者冠状动脉支架内再狭窄的相关性。方法 选取接受择期经皮冠状动脉介入治疗(PCI)的 STEMI 患者 144 例,根据随访结果将患者分为支架内再狭窄(ISR)组 27 例和非 ISR 组 109 例,失访 8 例。收集 STEMI 患者临床资料。采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测所有患者 PCI 术后血清 lncRNA GAS5 水平。结果 与非 ISR 组相比,ISR 组患者术前吸烟及合并糖尿病比例、总胆红素(TBIL)、血清总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平较高($P < 0.05$),血清中 lncRNA GAS5 水平较低($P < 0.05$);与 lncRNA GAS5 高水平者相比,lncRNA GAS5 低水平者 ISR 发生率较高($P < 0.05$),无再狭窄平均时间较短($P < 0.05$);Logistic 回归分析显示,低水平 lncRNA GAS5 是 STEMI 患者冠状动脉支架内再狭窄的危险因素。结论 lncRNA GAS5 在 STEMI 冠状动脉支架内再狭窄患者血清中水平下调,低水平 lncRNA GAS5 是 STEMI 患者冠状动脉支架内再狭窄的危险因素。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Correlation of serum long-chain non-coding RNA GAS5 level and coronary restenosis in patients after percutaneous coronary intervention

CHEN Xiaojie¹, LIANG Chunling¹, YU Jie², XIE Yudian³

(1. Intervention Center of Emergency Department, 2. Department of Cardiology, 3. Laboratory, Wangjing Hospital, Chinese Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[KEY WORDS] acute ST-segment elevation myocardial infarction; percutaneous coronary intervention; in-stent restenosis; long-chain non-coding RNA GAS5

[ABSTRACT] Aim To investigate the correlation between serum long-chain non-coding RNA GAS5 (lncRNA GAS5) level and in-stent restenosis in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI).

Methods 144 patients with STEMI who received selective percutaneous coronary intervention were selected, and according to the follow-up results, the patients were divided into 27 cases of in-stent restenosis (ISR) group and 109 cases of non-ISR group, with 8 cases lost. The clinical data of patients with STEMI were collected. The level of serum lncRNA GAS5 in all patients after percutaneous coronary intervention was measured by real-time quantitative PCR (qRT-PCR).

Results Compared with non-ISR group, the proportions of smokers before operation and complicated diabetic, total bilirubin (TBIL), levels of total cholesterol (TC) and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) in serum in ISR group were increased ($P < 0.05$), and the level of lncRNA GAS5 in serum was decreased ($P < 0.05$); The incidence of ISI in low level of GAS5 was higher than that in the patients with high level of lncRNA GAS5 ($P < 0.05$), and the average time of no restenosis was shorter ($P < 0.05$); Logistic regression analysis showed that low level of lncRNA GAS5 was a risk factor of in-stent restenosis in patients with STEMI.

Conclusion The level of lncRNA GAS5 is down-regulated in the serum of in-stent restenosis patients with STEMI, and it is a risk factor of in-stent restenosis patients with STEMI.

[收稿日期] 2020-10-22

[修回日期] 2021-04-30

[基金项目] 北京中医药科技发展资金项目(JJ2018-93);中国中医科学院望京医院科研课题(WJYY2018-09)

[作者简介] 陈晓杰,副主任医师,研究方向为心血管内科,E-mail 为 boj2120@163.com。通信作者梁春玲,硕士,主治医师,研究方向为心血管内科,E-mail 为 jingjingra@163.com。

冠心病作为严重心脏病的最常见类型之一,其病理基础是动脉粥样硬化^[1-2]。随着现代社会的发展和生活方式的改变,冠心病的发病率逐年增加。据报道,中国冠心病造成的死亡人数占总死亡人数的 40%。急性 ST 段抬高型心肌梗死(acute ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI)是冠心病中常见临床危重类型^[3]。经皮冠状动脉介入治疗(percutaneous coronary intervention, PCI)是冠心病重要的非药物治疗手段,能有效改善冠心病患者预后情况,但相当部分患者 PCI 术后发生支架内再狭窄^[4]。冠状动脉支架内再狭窄发生的原因与血管内皮细胞的生长相关^[5]。长链非编码 RNA(long-chain non-coding RNA, lncRNA)是一组包含 200 多个核苷酸的非编码 RNA。最近的一项研究发现, lncRNA GAS5 在心脏纤维化疾病中异常表达,提示 lncRNA GAS5 可能与心脏相关疾病有关^[6]。GAS5 也是与细胞周期和凋亡相关的 lncRNA,在血管内皮细胞凋亡中发挥重要作用, lncRNA GAS5 可能与冠心病患者发生冠状动脉支架内再狭窄有关^[7]。Yin 等^[8]研究发现, lncRNA GAS5 在冠心病患者血浆中水平下调,对冠心病的发生具有诊断价值。另外, Du 等^[9]报道,当 lncRNA GAS5 表达被沉默后,缺氧引发的大鼠胚胎心室肌细胞损伤会减弱。但 lncRNA GAS5 与 STEMI 患者冠状动脉支架内再狭窄关系尚不清楚,本文拟探讨 STEMI 患者 PCI 术后血清中 GAS5 水平与冠状动脉支架内再狭窄的关系,为调整治疗方案,改善预后,提供理论参考依据。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 8 月—2017 年 8 月本院心血管内科收治的住院并接受择期 PCI 的 STEMI 患者 144 例,根据随访结果将患者分为术后支架内再狭窄(in-stent restenosis, ISR)组 27 例和非 ISR 组 109 例,失访 8 例。ISR 组中,男性 18 例,女性 9 例;年龄 38~86 岁,平均(63.15±13.66)岁;植入 1 枚支架 13 例,植入 2 枚支架 8 例,植入 3 枚支架 6 例。非 ISR 组中,男性 65 例,女性 44 例;年龄 36~82 岁,平均(61.84±12.73)岁;植入 1 枚支架 66 例,植入 2 枚支架 34 例,植入 3 枚支架 9 例。STEMI 患者纳入标准:(1)冠状动脉造影显示左主干管腔狭窄程度≥50%;(2)分支血管管腔狭窄程度≥75%;(3)同意随访患者。排除标准:(1)严重肝、肾功能不全者;(2)伴有恶性肿瘤者;(3)伴有全身性免疫

疾病者;(4)近两个月内有手术史者;(5)非首次植入支架者;(6)因冠状动脉慢性完全闭塞植入支架者;(7)随访期间死亡患者。本研究受试者知情同意,并签署临床研究协议书,且经医学伦理委员会批准同意。

1.2 主要试剂与仪器

SYBR Premix Ex Taq II 荧光定量试剂盒(货号:RR820A)购自宝生物工程(大连)有限公司;Prime-script RT Reagent Kit(货号:DRR037A)购自日本 TaKaRa 公司;RNA 提取试剂盒(货号:E01010A)购自美国 GeneCopoeia 公司;分光光度仪(Nanodrop 2000)购自美国赛默飞世尔公司;引物购自生工生物工程(上海)股份有限公司;美国贝克曼 ILS-20 全自动生化分析仪。

1.3 样本采集

STEMI 患者 PCI 术后 24 h,空腹抽取静脉血 3~5 mL,装于 EP 管中,室温静置 15 min 后,4℃、3 500 r/min 条件下,离心 20 min,收集血清,分装,保存于-80℃待测。

1.4 实时荧光定量 PCR 检测血清 lncRNA GAS5 水平

遵照 RNA 提取试剂盒标准实验操作步骤,提取总 RNA,并采用紫外分光光度仪检测 RNA 的纯度及浓度,OD_{260/280} 约等于 1.8~2.0,表明浓度良好,保存于超低温冰箱备用。在 GeneBank 文库查询已知人 lncRNA GAS5 序列,设计引物,送于生工生物工程(上海)股份有限公司合成。lncRNA GAS5 正向引物 5'-CTTCTGGGCTCAAGTGATCCT-3',反向引物 5'-TTGTGCCATGAGACTCCATCAG-3';GAPDH 正向引物 5'-CATGAGCAGTAAACAGCCATGAT-3',反向引物 5'-AGTACACCCATCGAATTCCAGT-3'。采用荧光定量 PCR 仪对 lncRNA GAS5 及内参 GAPDH 进行扩增反应。qRT-PCR 反应体系 20 μL:2×Ultra-SYBR Mixture 10.0 μL, Template cDNA (50 mg/L) 2.0 μL,正向引物 2.0 μL,反向引物 2.0 μL, ddH₂O 4.0 μL。反应程序:95℃预热 5 min;95℃ 15 s;59℃ 60 s,72℃ 20 s;循环 38 次。采用 2^{-ΔΔCt} 法计算两组受试者血清 lncRNA GAS5 相对水平,并将 lncRNA GAS5 水平根据中位数区分高、低水平。

1.5 一般资料收集

记录所有患者术前的一般资料,包括性别、年龄、体质指数、患者合并基础疾病史、术前吸烟史。超声心动图检查所有患者术后指标包括左心室舒张期末容积(left ventricular end diastolic volume, LVEDV)、左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、

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)、左心室收缩期末容积(left ventricular end systolic volume, LVESV)。全自动生化分析仪检测所有患者术后血液生化指标,包括甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、总胆红素(total bilirubin, TBIL),并将 TC、LDLC、TBIL 根据中位数区分高、低水平。

1.6 随访

对 STEMI 支架植入患者自术后之日起随访 18 个月,对患者进行常规冠状动脉造影复查,在 6 个月内,每 2 个月对所有 STEMI 患者进行复查,6~18 个月患者自愿复查或因再次胸痛、胸闷症状来医院复查,将患者分为 ISR 组和非 ISR 组,失访 8 例。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件对数据进行分析,计数资

料采用百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验。采用乘积极限法(Kaplan-Meier, K-M)法分析血清 lncRNA GAS5 水平与 STEMI 患者术后发生 ISR 的关系,Log-rank 检验比较显著性,应用二元 Logistic 回归分析影响 STEMI 患者冠状动脉支架内再狭窄的危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床资料比较

ISR 组与非 ISR 组性别、年龄、体质指数、合并高血压及高血脂、病变支数、支架数量、LVEF、LVESD、LVEDD、LVEDV、LVESV、TG、LDLC、用药情况等比较差异无统计学意义($P > 0.05$);与非 ISR 组相比,ISR 组患者术前吸烟、合并糖尿病比例、TBIL、TC、LDLC 水平较高($P < 0.05$;表 1)。

表 1. 两组临床资料比较

Table 1. Comparison of clinical data between the two groups

因素	非 ISR 组($n=109$)	ISR 组($n=27$)	χ^2/t 值	P 值
男性/[例(%)]	65(59.63)	18(66.67)	0.450	0.502
年龄/岁	61.84±12.73	63.15±13.66	0.472	0.638
体质指数/(kg/m ²)	23.28±2.58	23.16±2.64	0.215	0.830
术前吸烟/[例(%)]	16(14.68)	9(33.33)	5.109	0.025
高血压/[例(%)]	61(55.96)	14(51.85)	0.148	0.701
糖尿病/[例(%)]	39(35.78)	16(59.26)	4.953	0.026
高血脂/[例(%)]	50(45.87)	12(44.44)	0.018	0.894
病变支数/[例(%)]			4.417	0.110
1 支	66(60.55)	13(48.15)		
2 支	34(31.19)	8(29.63)		
3 支	9(8.26)	6(22.22)		
支架数量/枚	1.66±0.42	1.83±0.55	1.764	0.080
LVEF/%	59.48±11.61	58.49±10.76	0.402	0.688
LVESD/mm	38.11±4.73	37.63±4.24	0.481	0.631
LVEDD/mm	52.78±6.17	52.05±6.28	0.548	0.584
LVEDV/mL	47.85±6.19	47.08±6.08	0.581	0.562
LVESV/mL	31.53±6.82	31.24±7.06	0.196	0.845
TC/(mmol/L)	3.92±1.01	4.44±1.05	2.376	0.019
TG/(mmol/L)	1.67±0.46	1.62±0.51	0.495	0.622
LDLC/(mmol/L)	2.11±0.59	2.46±0.61	2.741	0.007
HDLC/(mmol/L)	1.25±0.36	1.18±0.31	0.928	0.355
TBIL/(μmol/L)	9.88±2.16	13.28±2.47	7.113	0.000
用药情况				
ACEI/ARB/[例(%)]	50(45.87)	13(48.15)	0.045	0.832
硝酸酯类/[例(%)]	41(37.61)	10(37.04)	0.003	0.956
β受体阻滞剂/[例(%)]	51(46.79)	17(62.96)	2.264	0.132
钙拮抗剂/[例(%)]	74(67.89)	19(70.37)	0.062	0.804

注:ACEI/ARB:血管紧张素转换酶抑制剂/血管紧张素受体阻滞剂。

2.2 两组患者血清 lncRNA GAS5 水平比较

与非 ISR 组相比,ISR 组患者血清 lncRNA GAS5 水平较低($P<0.05$;图 1)。

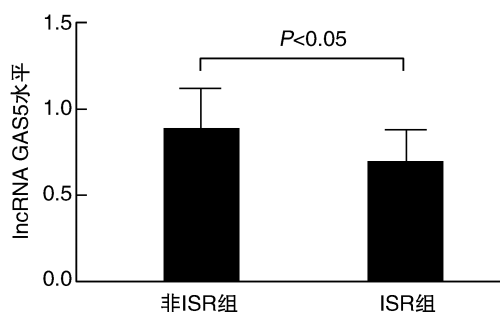


图 1. 两组患者血清 lncRNA GAS5 水平比较
Figure 1. Comparison of serum lncRNA GAS5 levels between the two groups

2.3 血清 lncRNA GAS5 水平与 STEMI 患者术后发生 ISR 的关系分析

144 例 STEMI 患者在 18 个月随访期内有 27 例术后发生 ISR,发生率为 18.75%。lncRNA GAS5 高水平者 ISR 发生率为 9.72% (7/72),无再狭窄平均时间为 17.597 (95% CI: 17.501 ~ 17.693) 个月; lncRNA GAS5 低水平者 ISR 发生率为 27.78% (20/72),无再狭窄平均时间为 16.770 (95% CI: 16.591 ~ 16.949) 个月。与 lncRNA GAS5 高水平者相比, lncRNA GAS5 低水平者 ISR 发生率较高 ($\chi^2 = 7.704, P = 0.006$),无再狭窄平均时间较短 (Log-rank 值为 84.625, $P = 0.000$;图 2)。

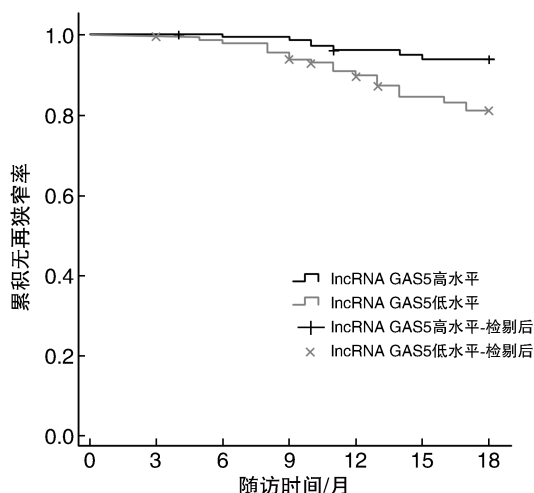


图 2. lncRNA GAS5 表达水平与 STEMI 患者术后发生 ISR 的 K-M 曲线
Figure 2. K-M curve of the expression of lncRNA GAS5 and ISR in STEMI patients

2.4 影响 STEMI 患者冠状动脉支架内再狭窄的 Logistic 回归分析

以 STEMI 患者术后是否发生冠状动脉支架内再狭窄为因变量,以 TC、LDLC、TBIL、lncRNA GAS5 为自变量,Logistic 回归分析显示,低水平 lncRNA GAS5 是 STEMI 患者冠状动脉支架内再狭窄的危险因素 ($P<0.05$;表 2)。

表 2. Logistic 回归分析冠状动脉支架内再狭窄发生的影响因素

Table 2. Influencing factors of in-stent restenosis was analyzed by Logistic regression

项目	β	S. E	Wald χ^2	P	OR	95% CI
TC	0.087	0.227	0.147	0.701	1.091	0.699 ~ 1.702
LDLC	0.152	0.211	0.518	0.472	1.164	0.769 ~ 1.760
TBIL	0.234	0.218	1.155	0.282	1.264	0.824 ~ 1.938
lncRNA GAS5	0.650	0.205	10.061	0.002	1.916	1.282 ~ 2.863

3 讨论

冠心病是由于动脉粥样硬化引起的血管腔狭窄或闭塞,属于心血管疾病,包括心肌梗死、不稳定型心绞痛、稳定型心绞痛和心源性猝死。PCI 术后发生 ISR 在临床上备受关注。ISR 可引起急性心肌梗死或进行性心绞痛等心脏事件^[10]。糖代谢失衡、胰岛素功能障碍可能参与激活血管内皮炎症,损坏血管内皮功能,最终导致术后 ISR 发生^[11-12]。阎志等^[13]发现冠心病患者术后 ISR 组合并糖尿病比例及血清 TC、LDLC 水平较高,且 LDLC、多支病变是冠心病患者发生 ISR 的危险因素。本研究发现 ISR 组患者有吸烟史、合并糖尿病比例明显高于非 ISR 组患者,ISR 组患者血清 TBIL、TC、LDLC 水平明显高于非 ISR 组患者,提示 ISR 发生可能与 STEMI 患者体内血脂代谢相关。

冠状动脉再狭窄的机制较为复杂,主要与冠状动脉炎症及细胞炎性因子释放、血管内皮损伤相关^[14-15]。lncRNA 在人生理病理过程中发挥重要作用,比如参与调控内皮细胞功能、血管炎症、细胞凋亡等^[16]。lncRNA GAS5 在心血管疾病中发挥重要作用,有研究显示,lncRNA GAS5 可调节血管内皮细胞凋亡^[7]。有文献报道,lncRNA GAS5 可通过促进血小板源性生长因子 BB 诱导血管平滑肌细胞增殖和迁移^[17]。近年来发现,lncRNA GAS5 与心脏微血管内皮细胞损伤有关^[18-19]。Li 等^[20]通过构建冠

心病大鼠模型发现,冠心病大鼠心肌组织中 lncRNA GAS5 水平下降,且 lncRNA GAS5 过表达可减轻冠心病大鼠心肌损伤,抑制心肌细胞凋亡。本研究发现,ISR 组患者血清 lncRNA GAS5 水平显著低于非 ISR 组患者,与 lncRNA GAS5 高水平者相比, lncRNA GAS5 低水平者术后 ISR 发生率较高,无再狭窄平均时间较短,提示 lncRNA GAS5 可能与 STEMI 患者术后发生冠状动脉支架内再狭窄有关。阎志等^[13]发现合并糖尿病是冠心病患者冠状动脉支架内再狭窄的危险因素。Logistic 回归分析发现,低水平 lncRNA GAS5 是 STEMI 患者冠状动脉支架内再狭窄的危险因素,提示为了及早预防 PCI 术后发生冠状动脉支架内再狭窄,可检测术后 lncRNA GAS5 水平。本研究从临床上分析了 lncRNA GAS5 与 STEMI 患者冠状动脉支架内再狭窄的相关性,为临床上探索 STEMI 患者冠状动脉支架内再狭窄的机制奠定了基础。

综上所述,STEMI 患者 lncRNA GAS5 水平下调,低水平 lncRNA GAS5 是 STEMI 患者冠状动脉支架内再狭窄的危险因素。由于本研究样本量偏少,样本来源单一,研究区域有限且随访时间短,结果具有一定的局限性,需增加样本量进一步探讨。

[参考文献]

- [1] 刘镇,雷荣. PCI 治疗后 $\beta 2$ 微球蛋白变化与冠心病患者支架内再狭窄的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2019, 27(11): 985-989.
- [2] 王露朝,柴小奇,陈玉军,等. 血浆致动脉粥样硬化指数与 2 型糖尿病患者并发冠心病及其冠状动脉狭窄程度的关系研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, 28(6): 22-27.
- [3] 邵海锐,王昭军,时小凤,等. 急性心肌梗死患者非梗死相关血管 PCI 的时机对预后的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(2): 147-153.
- [4] 邢雪琴,李润琴. 稳定型冠心病患者血清可溶性凝集素样氧化低密度脂蛋白受体-1 水平与冠状动脉支架内再狭窄关系[J]. 中国药物与临床, 2019, 19(16): 2816-2818.
- [5] 张涛,周心涛. 血清骨形态发生蛋白 2 水平与药物洗脱支架置入术后支架内再狭窄的相关性研究[J]. 中国心血管杂志, 2018, 23(2): 124-128.
- [6] TAO H, ZHANG J G, QIN R H, et al. LncRNA GAS5 controls cardiac fibroblast activation and fibrosis by targeting miR-21 via PTEN/MMP-2 signaling pathway[J]. Toxicology, 2017, 386(1): 11-18.
- [7] 孙玉聪,楚海荣,李宏,等. 长链非编码 RNA GAS5 抑制内皮细胞功能[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2018, 34(8): 905-910.
- [8] YIN Q, WU A, LIU M. Plasma long non-coding RNA (lncRNA) GAS5 is a new biomarker for coronary artery disease[J]. Med Sci Monit, 2017, 23(1): 6042-6048.
- [9] DU J, YANG S T, LIU J, et al. Silence of lncRNA GAS5 protects cardiomyocytes H9c2 against hypoxic injury via sponging miR-142-5p[J]. Mol Cells, 2019, 42(5): 397-405.
- [10] 王聪霞,贾珊. 冠状动脉支架内再狭窄发生机制的研究进展[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2018, 39(3): 303-309.
- [11] 张承圣,谢锐,文飞. 下肢动脉粥样硬化闭塞支架术后再狭窄研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2018, 26(5): 525-530.
- [12] 王振,徐通达,李东野. 冠心病合并糖尿病经皮冠状动脉介入治疗术后支架内再狭窄预测因素分析[J]. 安徽医药, 2019, 23(9): 1821-1825.
- [13] 阎志,邢小卫,刘玉胜,等. 冠心病患者 PCI 术后冠状动脉药物支架内再狭窄的危险因素分析[J]. 山东医药, 2019, 59(17): 47-50.
- [14] NICCOLI G, MONTONE R A, SABATO V, et al. Role of allergic inflammatory cells in coronary artery disease[J]. Circulation, 2018, 138(16): 1736-1748.
- [15] 周迎生,苏申慧,汤雅迪,等. 经皮冠状动脉介入治疗术后发生支架内再狭窄的冠心病患者心血管危险因素分析[J]. 中华老年医学杂志, 2020, 39(4): 386-390.
- [16] 张盼,杜阳光,姜培安,等. 糖尿病前期患者长链非编码 RNA 的筛选和功能研究[J]. 中国病原生物学杂志, 2018, 13(4): 403-407.
- [17] 孙越晨,许岚,谈鹰. 长链非编码 RNA GAS5 通过调节 miR-137/IGFBP-5 促进 PDGF-BB 诱导的血管平滑肌细胞增殖和迁移[J]. 免疫学杂志, 2018, 34(10): 856-862.
- [18] DIAO L, BAI L, JIANG X, et al. Long-chain noncoding RNA GAS5 mediates oxidative stress in cardiac microvascular endothelial cells injury[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(10): 17649-17662.
- [19] 尹鲁平,张洪明,谈红,等. 血清 lncRNA GAS5 水平与老年冠心病 PCI 后支架内再狭窄的关系探讨[J]. 中国循证心血管医学杂志, 2020, 12(10): 1176-1178.
- [20] LI X, HOU L, CHENG Z, et al. Overexpression of GAS5 inhibits abnormal activation of Wnt/ β -catenin signaling pathway in myocardial tissues of rats with coronary artery disease[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(7): 11348-11359.

(此文编辑 许雪梅)