

miR-328、miR-147 和 miR-22 在冠心病患者中的
表达变化及临床意义

冯 荣¹, 傅 广¹, 黄树斌¹, 石顺华¹, 汤 华¹, 王爱平²

(1. 长沙市第一医院心血管内一科, 湖南省长沙市 410000; 2. 南华大学医学院人体解剖学教研室, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] miR-328; miR-147; miR-22; 冠心病

[摘 要] 目的 探讨冠心病患者血浆及外周血单个核细胞(PBMC)miR-328、miR-22、miR-147 的表达变化及其临床意义。方法 筛选 100 例冠心病患者及相对健康对照组, 采用实时荧光定量 PCR 技术检测各组血浆及 PBMC 中 miR-328、miR-147、miR-22 的表达水平。结果 冠心病患者血浆中 miR-328、miR-22 的表达较非冠心病患者明显升高, 而 miR-147 的表达明显降低; 在冠心病患者 PBMC 中, miR-328 表达没有明显变化, miR-22 表达略微增加, miR-147 表达明显下降。在心肌梗死患者中, 血浆中 miR-328 和 miR-22 表达水平明显增加, 而 miR-147 表达明显下降; 心肌梗死患者 PBMC 中 miR-328 表达略降低, miR-22 表达增加, miR-147 表达水平略有下降。结论 miR-328、miR-22 及 miR-147 在冠心病患者中的差异表达, 有望作为冠心病疾病中一种新的标记物或基因治疗靶点。

[中图分类号] R5 [文献标识码] A

Differential Expression and Clinical Significance of miR-328, miR-22 and miR-147 in
Coronary Heart Disease Patients

FENG Rong¹, FU Guang¹, HUANG Shu-Bin¹, SHI Shun-Hua¹, TANG Hua¹, and WANG Ai-Ping²

(1. Department of Cardiology, the First Hospital of Changsha, Changsha, Hunan 410000; 2. Department of Anatomy, School of Medicine, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] miR-328; miR-147; miR-22; Coronary Heart Disease

[ABSTRACT] **Aim** To explore the expression level and clinical significance of miR-328, miR-22 and miR-147 in coronay heart disease (CHD) patients in plasma and peripheral blood mononuclear cells (PBMC). **Methods** 100 cases with CHD and healthy volunteers were screened; Expression of miR-328, miR-22 and miR-147 in plasma and PBMC in different groups was detected by real-time quantitative PCR. **Results** Compared with the patients with non-CHD, the plasma expression of miR-328 and miR-22 in patients with CHD significantly increased, and the plasma expression of miR-147 in patients with CHD significantly decreased; Compared with the non-CHD, the expression of miR-328 in PBMC had no significant difference in CHD group, and the expression of miR-22 in PBMC was up-regulated in CHD group, but the expression of miR-147 in PBMC was obviously down-regulated; Compared with the patients with non-AMI, the expres-sion of miR-328 and miR-22 in plasma was significantly increased in AMI, but the expression of miR-147 in plasma was obviously decreased in AMI; In addition, the miR-328 and miR-147 levels in PBMC in AMI patients were slightly lower, and the miR-22 level was elevated in PBMC in AMI patients. **Conclusion** Significantly differently expressed miR-328, miR-22 and miR-147 are expected to be new cardiovascular disease markers or gene therapeutic targets in CHD pa-tients.

miRNA 是一类存在于真核细胞胞质中非编码蛋白质的小 RNA, 由 18 ~ 25 个碱基组成, 在生物进化遗传中具有高度保守性^[1], miRNA 主要是通过其 5'端被称为种子序列(seed sequence)的 2-7nt 序列

与位于靶 mRNA 3'端非编码区(untranslated region, 3UTR)的特殊位点互补配对, 识别靶 mRNA 来发挥作用。研究表明, miRNA 在血管生成和心血管疾病中均发挥重要作用^[2]。新近研究报道在 RNA 酶存

的情况下,心血管疾病患者体液中仍可以检测到分泌到细胞外并稳定存在的 miRNA^[3-6],这就提示循环 miRNA 分子可作为一种疾病早期诊断、治疗及预后判断的新型标志。He 等^[7]报道,在急性心肌梗死(AMI)患者中,miR-328 的水平显著升高,且 miR-328 与心肌缺血再灌注、心肌肥大、心房颤动有关^[8-9];miR-147 作为与炎症相关的 miRNA 在冠心病患者外周血单个核细胞中显著降低^[10];miR-22^[11]作为抗凋亡的 miRNA,参与心肌纤维化、心肌肥大与重构,抑制其表达的升高可抑制心肌肥大的发生^[12-15],并与心衰、肺动脉高压、免疫性疾病及肿瘤等密切相关。但关于上述三种 miRNA 系统的生物学功能及与冠心病的相关性,目前尚需进一步明确。冠心病是心血管疾病中的常见病,其主要原因为心肌梗死的高发生率和致死率,严重威胁人体健康。针对 AMI 为冠心病中的一类高风险疾病,若能有效地早期诊断和干预,对于预防和减缓冠心病患者出现的急、恶性心血管事件,降低冠心病患者死亡率有重大意义。因此,要达到这一目的,必须有敏感性高、特异性强的心肌损伤标记物作为诊断。本研究观察了 miR-328、miR-147 和 miR-22 在冠心病患者中的表达变化,期望能筛选出作为冠心病有价值的新型标志物,并能为冠心病的机制研究提供实验基础,进一步揭示冠心病的发病进程,提供新的基因治疗靶点。

1 资料与方法

1.1 患者入选

筛选 2013 年 6 月至 2014 年 12 月间我院住院患者 100 例,均为汉族且无血缘关系。以冠状动脉造影为标准分为冠心病组和非冠心病组。排除心衰、肾衰、肝功能衰竭、血液系统疾病、恶性肿瘤、糖尿病及感染性疾病等并发症。入院前 2 周内,均未服用任何抗血小板、抗凝、溶栓药物及中药制剂,无出血性疾病,无肝病。全部研究对象在试验前签署知情同意书。冠心病组:80 例,有胸痛症状,造影显示有血管病变。80 例冠心病患者再分为非 AMI 组和 AMI 组。非 AMI 组($n=45$):心绞痛有加剧的趋势,或在静息状态或轻微活动时心绞痛复发,或持续时间延长(>20 min),伴缺血性心电图改变,如 ST 段改变和/或 T 波倒置,造影显示至少有 1 支血管病变大于 50%。AMI 组($n=35$):AMI 患者入院前 24 h 内胸痛持续时间至少 >30 min,硝酸制剂不能缓解,并存在肌酸激酶同工酶(CK-MB)和肌钙蛋白(TnI)水平升高等心

肌损伤指标的表达变化,造影显示有血管病变。非冠心病组(相对健康对照):20 例,有胸痛症状、但无心电图改变,造影显示无狭窄。

1.2 血浆样本收集

血液样本来自所有患者的肘静脉,AMI 患者样本于入院后 30 min 内抽取,其他样本均于患者到达医院的第二天早上抽取。抽血距胸痛发作 <24 h,血液放入含 EDTA 抗凝的采血管,1~2 h 内,4℃ 3000 r/min 离心 15 min,收集血浆至 1.5 mL EP 管中,贮存于 -40°C 冰箱保存,以备下一步的 RNA 抽提。

1.3 外周血单个核细胞的收集

采用密度梯度离心法分离患者外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMC)。具体操作方法为取新鲜抗凝血 5 mL,与 PBS 溶液 1:1 混匀后,缓慢沿试管壁铺在 1:1 淋巴细胞分离液上,室温下 1500 r/min 离心 20 min,离心管中由上至下细胞分为四层。第一层:血浆或组织匀浆液层;第二层:环状乳白色淋巴细胞或单核细胞层;第三层:透明分离液层;第四层:红细胞层。用 1 mL Tip 收集第二层,再用 PBS 重悬,以 1000 r/min 离心 5~10 min,重复 2 次,收集细胞,用于 RNA 的提取。

1.4 miRNA 的抽提

所有样本均在冰上融化,取 250 μL 血浆加入 750 μL TRIzol(细胞直接加入 1 mL TRIzol)混匀;加入 10 μL ath-MIR156a mimics(20 nmol/L)混匀,作为外源参照物,室温放置 5 min;加入 200 μL 氯仿(每 1 mL)涡旋混匀 15 s,室温放置 3~5 min;4℃ 12000 r/min 离心 15 min,转移上清液到新的 EP 管;加入 500 μL 异丙醇,混匀, -20°C 过夜;4℃ 12000 r/min 离心 15 min;75% 乙醇洗涤 RNA 沉淀,7500 r/min 离心 5 min;去上清,风干;最后加 20~30 μL Nuclease-Free 双蒸水溶解 RNA,溶液储存到 -80°C 备用。

1.5 采用特异引物对 miRNA 进行逆转录反应

取上述样本 RNA 500 ng 进行逆转录,反应体系配制于冰上进行。反转录条件为 37°C 15 min 进行逆转录; 85°C 5 s 使逆转录酶失活。逆转录完短期保存于 4°C 冰箱。长期可保存于 -20°C 冰箱备用。

1.6 实时荧光定量 PCR 反应

以逆转录产物为模板进行荧光定量 PCR 扩增,miR-328、miR-147、miR-22 及外参引物由广州锐博公司设计、合成,所有操作均在冰上进行,设置 2 个复孔,各样本的相对表达量按公式 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算,重复 3 次。

1.7 统计学方法

数据分析使用 SPSS 20.0 软件(SPSS 公司, IL, 美国)对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。统计数据两组间均数比较采用独立样本 t 检验, 多组间均数比较采用 ANOVA 方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结 果

2.1 临床病例资料的特征统计

非冠心病组、AMI 组和冠心病非 AMI 组患者在年龄、性别、危险因素(除了高脂血症外)等方面差异无统计学意义;但高敏 C 反应蛋白(hs-CRP) 水平在非 AMI 组 and AMI 组与非冠心病组相比显著增加($P < 0.01$;表 1)。

表 1. 入选病例资料的特征统计

Table 1. Characteristics of study cohort

特征	非冠心病组 (<i>n</i> = 20)	AMI 组 (<i>n</i> = 35)	冠心病非 AMI 组(<i>n</i> = 45)
年龄(岁)	59 ± 6	62 ± 7	67 ± 8
男/女(例)	8/12	20/15	31/14
高血压(例)	6(30.0%)	13(37.1%)	19(42.2%)
糖尿病(例)	3(15.0%)	7(20.0%)	13(28.9%)
高血压合并糖尿病(例)	1(5.0%)	5(14.3%)	6(13.3%)
高血脂(例)	5(25.0%)	15(42.9%) ^a	18(40.0%)
吸烟(例)	6(30.0%)	9(25.7%)	25(55.6%)
hs-CRP(mg/L)	12.0 ± 3.9	37.1 ± 7.2 ^a	25.2 ± 9.7 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与非冠心病组比较。

2.2 冠心病组和非冠心病组患者血浆中 miRNA 的表达变化

冠心病组血浆 miR-328 水平高于非冠心病组, 差异有统计学意义($t = 9.623, P < 0.001$); miR-22 在冠心病组血浆中水平高于非冠心病组, 差异有统计学意义($t = 4.259, P < 0.01$); miR-147 表达下降 60% 左右, 在冠心病组血浆中水平明显低于非冠心病组, 差异有统计学意义($t = 4.029, P < 0.01$;表 2)。

表 2. 冠心病组和非冠心病组患者血浆中 miR-328、miR-22 和 miR-147 表达变化($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2. Relative expression of miR-328, miR-22 and miR-147 in plasma in CHD and non-CHD patients($\bar{x} \pm s, n = 3$)

miRNA	非冠心病组	冠心病组
miR-328	0.470 ± 0.056	1.320 ± 0.168 ^a
miR-22	0.497 ± 0.099	0.850 ± 0.134 ^a
miR-147	1.038 ± 0.163	0.625 ± 0.124 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与非冠心病组比较。

2.3 冠心病组和非冠心病组患者 PBMC 中 miRNA 的变化

冠心病组 PBMC 中 miR-328 水平与非冠心病组比较差异无统计学意义($t = 0.223, P > 0.05$); 在冠心病组 PBMC 中 miR-22 表达水平略微增加, 高于非冠心病组, 差异有统计学意义($t = 2.49, P < 0.05$); 冠心病组 PBMC 中 miR-147 表达明显下降, 约 3.5 ~ 4 倍左右, 明显低于非冠心病组, 差异有统计学意义($t = 19.588, P < 0.001$;表 3)。

表 3. 冠心病组和非冠心病组患者 PBMC 中 miR-328、miR-22 和 miR-147 表达变化($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3. Relative expression of miR-328, miR-22 and miR-147 in PBMC in CHD and non-CHD patients($\bar{x} \pm s, n = 3$)

miRNA	非冠心病组	冠心病组
miR-328	2.605 ± 0.125	2.639 ± 0.276
miR-22	1.368 ± 0.078	1.586 ± 0.157 ^a
miR-147	4.432 ± 0.294	1.220 ± 0.146 ^b

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与非冠心病组比较。

2.4 AMI 组和非 AMI 组患者血浆 miRNA 的变化

AMI 患者血浆中 miR-328 水平增加约 3 倍, 显著高于非 AMI 组, 差异有统计学意义($t = 10.763, P < 0.001$); miR-22 表达明显增加, AMI 组血浆水平显著高于非 AMI 组, 差异有统计学意义($t = 4.276, P < 0.01$); miR-147 表达明显下降, AMI 组血浆 miR-147 水平明显低于非 AMI 组, 差异有统计学意义($t = 4.112, P < 0.01$;表 4)。

表 4. AMI 组和非 AMI 组患者血浆中 miR-328、miR-22 和 miR-147 表达变化($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4. Relative expression of miR-328, miR-22 and miR-147 in plasma in AMI and non-AMI patients($\bar{x} \pm s, n = 3$)

miRNA	非 AMI 组	AMI 组
miR-328	0.613 ± 0.137	1.853 ± 0.185 ^a
miR-22	0.663 ± 0.125	1.113 ± 0.169 ^a
miR-147	0.703 ± 0.126	0.377 ± 0.095 ^a

a 为 $P < 0.01$, 与非 AMI 组比较。

2.5 AMI 组和非 AMI 组患者 PBMC 中 miRNA 的变化

AMI 患者 PBMC 中 miR-328 表达略降低, 低于非 AMI 组 miR-328 水平, 差异有统计学意义($t = 3.015, P < 0.05$); AMI 组 PBMC 中 miR-22 表达增加, 高于非 AMI 组, 差异有统计学意义($t = 3.17, P$

<0.05);miR-147 表达略有下降,AMI 组 PBMC 中 miR-147 水平低于非 AMI 组,差异有统计学意义($t=2.764,P<0.05$;表 5)。

表 5. AMI 组和非 AMI 组患者 PBMC 中 miR-328、miR-22 和 miR-147 表达变化($\bar{x}\pm s,n=3$)

Table 5. Relative expression of miR-328, miR-22 and miR-147 in PBMC in AMI and non-AMI patients($\bar{x}\pm s,n=3$)

miRNA	非 AMI 组	AMI 组
miR-328	5.635±0.425	4.668±0.481 ^a
miR-22	2.073±0.334	2.791±0.340 ^a
miR-147	2.454±0.357	1.881±0.211 ^a

a 为 $P<0.05$,与非 AMI 组比较。

3 讨 论

冠心病(CHD)是当今世界威胁人类健康的重要疾病之一,主要为冠状动脉粥样硬化,由脂质代谢异常,在动脉内膜下有类似于粥样的脂类物质沉着而成的白色斑块^[16],斑块的日益堆积造成动脉管腔狭窄,血管阻塞,使得血管内血流不畅或者中断,发生心绞痛或者 AMI,甚至猝死^[17]。近年来,冠心病的发病率和病死率呈逐年上升的趋势^[18],而在年龄上有逐渐下降的趋势,这提示我们冠心病不仅给家庭、社会造成极大的负担,同时也是造成人类资源损失的主要原因之一。目前尽管冠心病的介入治疗和药物治疗都取得了长足进步,但仍旧具有高发病率和高致死率。因此,如何早期诊断冠心病,进一步缓解冠心病的疾病进展,对于降低冠心病潜在血管事件具有重要的临床价值。

研究表明,miRNA 调控细胞周期、生物发育时序等等,参与细胞的分化、生长发育、增殖与凋亡、激素分泌、肿瘤形成等各种过程。miRNA 的生物学作用与人类许多疾病密切相关,比如:血液系统疾病、肿瘤、糖尿病、高血压、心脑血管疾病和病毒感染等等^[19],因而具有极其重要的病理和生理意义。目前,在人类基因组中发现了约 800 种 miRNA,估计有超过 1000 多种 miRNA 在人类基因组中表达^[20]。另外,越来越多的证据表明,不同疾病情况下 miRNA 表达谱存在差异。那么,是否可以通过这种表达谱的差异,筛选出特异性和灵敏度较好的特定 miRNA 作为疾病的生物标志物或者新的治疗靶点呢?有趣的是,近几年来,对 miRNA 的研究也将其作为分子靶标应用于临床。国外研究报道循环 miRNA 能够在血液中被检测到^[21],并且在冠心病

患者中有异常表达^[22-26]。而且,在冠心病患者中,miRNA 在外周血分离的 PBMC 中检测到表达变化^[26-28]。由此可见,检测循环血液和 PBMC 中 miRNA 的水平可为疾病的诊断预后和疗效评估找到新的生物标志物,同时可为临床指导治疗提供新靶点。重要的是,血浆作为生物检测样本,易于获取,来源充足,无创伤性,早期能区分出不同的病理状态,且血浆中 miRNA 的高度稳定性为 miRNA 作为一种理想的生物标志物奠定了坚实的基础。因此,为了探讨 miRNA 在临床应用中的作用,我们检测了 miR-328、miR-22 和 miR-147 在冠心病患者中血浆和 PBMC 中表达变化,结果发现,miR-328 在冠心病患者血浆中含量明显增加,在 AMI 患者中增加更明显,因此我们推测,冠心病患者血浆和 PBMC 在炎症的应激状态下激发 miR-328 的释放,因而在循环血中能被检测到,AMI 的病理过程中大量炎症因子的刺激使得 miR-328 的表达量进一步增高;同时我们也发现 miR-22 在冠心病及 AMI 患者血浆中的表达均明显增加,另外在冠心病及 AMI 患者 PBMC 中的表达也明显增加,提示我们血浆中 miR-22 的表达模式与 PBMC 中 miR-22 的表达模式一致,说明血浆中的 miR-22 可能来源于 PBMC 的分泌;我们的结果也表明,miR-147 在冠心病及 AMI 患者血浆和 PBMC 中表达均下降,且下降明显,这就表明血浆中 miR-147 可能来源于 AMI 患者中心肌坏死组织的释放及 PBMC 的分泌。有趣的是,miR-328、miR-22、miR-147 在 AMI 患者 PBMC 中的表达变化与血浆中不尽相同,说明相同的 miRNA 在不同的组织结构中可能起着不同的作用,或者说反应了 miRNA 在冠心病不同亚型中可能的作用方式,这为我们 miRNA 的研究开辟了一条新的道路。

综上所述,miR-328、miR-22 和 miR-147 可望作为冠心病新的诊断标志物。然而,利用 miRNA 作为生物标志物检测仍然存在诸多问题,例如大多数循环 miRNA 的浓度通常很低,使得其可靠的量化和标准化相对较困难,检测费用较高且较费时、可重复性较低、以及 miRNA 易降解等等,都限制了 miRNA 的广泛运用。更为重要的是,关于 miRNA 在疾病发生发展中的作用和进程的研究有待进一步深入;作为生物标志物 miRNA 评价预后的作用是否更优于现有的生物标志物这一点还有待进一步研究证实。因此,进一步揭示 miRNA 的生理功能,在心血管领域通过对 miRNA 广泛而深入的研究,有望使其从科研走向临床,为未来冠心病的预防和诊疗提供新的分子标志物和研究方向。

[参考文献]

[1] 华友佳, 肖华胜. MicroRNA 研究进展[J]. 生命科学, 2005, 17 (3): 278-281.

[2] Carè A, Catalucci D, Felicetti F, et al. MicroRNA-133 controls cardiac hypertrophy [J]. Nat Med, 2007, 13(5): 613-618.

[3] Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease[J]. Cir Res, 2010, 107 (5): 677-684.

[4] Gupta SK, Bang C, Thum T. Circulating microRNAs as biomarkers and potential paracrine mediators of cardiovascular disease [J]. Cir Cardiovasc Genet, 2010, 3(5): 484-488.

[5] Wiedera C, Gupta SK, Lorenzen JM, et al. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome [J]. Mol Cell Cardiol, 2011, 51(5): 872-875.

[6] Zampetaki A, Kiechl S, Drozdov I, et al. Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial miR-126 and other microRNAs in type2 diabetes [J]. Circ Res, 2010, 107(6): 810-817.

[7] He F, Lv P, Zhao X, et al. Predictive value of circulating miR-328 and miR-134 for acute myocardial infarction [J]. Mol Cell Biochem, 2014, 394(1-2): 137-144.

[8] Li C, Li X, Gao X, et al. MicroRNA-328 as a regulator of cardiac hypertrophy [J]. Int J Cardiol, 2014, 173(2): 268-276.

[9] Wang X, Qiu CG, Huang ZW, et al. The expression and clinical implication of plasma miR-328 in patients with atrial fibrillation [J]. Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi, 2013, 41 (2): 126-129.

[10] Hoekstra M, van der Lans CA, Halvorsen B, et al. The peripheral blood mononuclear cell microRNA signature of coronary artery disease [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 394 (3): 792-797.

[11] Ramasamy S, Velmurugan G, Shanmugha Rajjan K, et al. MiRNAs with apoptosis regulating potential are differentially expressed in chronic exercise-induced physiologically hypertrophied hearts [J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0121 401.

[12] Huang ZP, Wang DZ. miR-22 in cardiac remodeling and disease [J]. Trends Cardiovasc Med, 2014, 24(7): 267-272.

[13] Tu Y, Wan L, Zhao D, et al. In vitro and in vivo direct monitoring of miRNA-22 expression in isoproterenol-induced cardiac hypertrophy by bioluminescence imaging [J]. 2014, 41(5): 972-984.

[14] Yang J, Chen L, Yang J, et al. MicroRNA-22 targeting CBP protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through anti-apoptosis in rats [J]. Mol Biol Rep, 2014, 41(1): 555-561.

[15] Gurha P, Wang T, Larimore AH, et al. microRNA-22 promotes heart failure through coordinate suppression of PPAR/ERR-nuclear hormone receptor transcription [J]. PLoS One, 2013, 8(9): e75 882.

[16] Wilkins JT, Ning H, Stone NJ, et al. Coronary heart disease risks associated with high levels of hdl cholesterol [J]. J Am Heart Assoc, 2014, 3(2): e000 519.

[17] Armellini I, Zanuttini D, Nucifora G, et al. Role of emergent coronary angiography in post-cardiac arrest care: from literature review to clinical practice [J]. G Ital Cardiol (Rome), 2014, 15(2): 79-89.

[18] Yang ZJ, Liu J, Ge JP, et al. Prevalence of cardiovascular disease risk factor in the Chinese population: the 2007-2008 China National Diabetes and Metabolic Disorders Study [J]. Eur Heart J, 2012, 33(2): 213-220.

[19] Pascale A, Govoni S. The complex world of post-transcriptional mechanisms: is their deregulation a common link for diseases Focus on ELAV-like RNA-binding proteins [J]. Cell Mol Life Sci, 2012, 69(4): 501-517.

[20] Bentwich I, Avniel A, Karov Y, et al. Identification of hundreds of conserved and nonconserved human microRNAs [J]. Nat Genet, 2005, 37: 766-770.

[21] Osman A. MicroRNAs in health and disease-basic science and clinical applications [J]. Clin Lab, 2012, 58(5-6): 393-402.

[22] Adachi T, Nakanishi M, Otsuka Y, et al. Plasma microRNA 499 as a biomarker of acute myocardial infarction [J]. Clin Chem, 2010, 56(7): 1 183-185.

[23] Ai J, Zhang R, Li Y, et al. Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 391(1): 73-77.

[24] Wang G K, Zhu J Q, Zhang J T, et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans [J]. Eur Heart J, 2010, 31(6): 659-666.

[25] Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease [J]. Circ Res, 2010, 107 (5): 677-684.

[26] Witwer KW, Watson AK, Blankson JN, et al. Relationships of PBMC microRNA expression, plasma viral load, and CD4 + T-cell count in HIV-1-infected elite suppressors and viremic patients [J]. Retrovirology, 2012, 9: 5.

[27] Cui W, Ma J, Wang Y, et al. Plasma miRNA as biomarkers for assessment of total-body radiation exposure dosimetry [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e22 988.

[28] Otaegui D, Baranzini S E, Armananzas R, et al. Differential microRNA expression in PBMC from multiple sclerosis patients [J]. PLoS One, 2009, 4(7): e6 309.

(此文编辑 许雪梅)