

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2022.09.028

❖ 临床研究 ❖

# 急性心肌梗死合并心力衰竭患者血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 水平及意义

徐莎  
(成都医学院第二附属医院·核工业四一六医院心内科,四川 成都 610051)

**【摘要】目的:** 探讨急性心肌梗死(AMI)合并心力衰竭(HF)患者血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 水平及意义。**方法:** 选取 90 例 AMI 合并 HF 患者作为观察组,50 例 AMI 未合并 HF 患者作为对照组,采用实时荧光定量 PCR 测定各组血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 表达,分析其表达与临床病理资料的相关性,用 ROC 曲线检验其对 AMI 合并 HF 的预测效能。**结果:** 与对照组相比,观察组吸烟比例、肌钙蛋白 I (cTn I)、肌酸激酶(CK-MB)、N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)及血浆 miR-31、miR-133a 表达更高,左室射血分数(LVEF)更低(均  $P < 0.05$ );血浆 miR-31、miR-133a 与 cTn I、CK-MB、NT-proBNP 呈正相关,与 LVEF 呈负相关;miR-132 与 cTn I、CK-MB、NT-proBNP 呈负相关( $P < 0.05$ );ROC 曲线分析发现,血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 联合预测 AMI 合并 HF 的 AUC 为 0.803,高于 miR-31、miR-132、miR-133a 单独预测( $P < 0.05$ )。**结论:** AMI 合并 HF 患者血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 表达与心肌损伤、左心功能相关,三项联合检测有助于早期预测 AMI 合并 HF。

**【关键词】** 急性心肌梗死;心力衰竭;miR-31;miR-132;miR-133a

**【中图分类号】** R542.22 **【文献标志码】** A

## Levels and significance of plasma miR-31, miR-132 and miR-133a in patients with acute myocardial infarction and heart failure

XU Sha  
(Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Chengdu Medical College, Nuclear Industry 416 Hospital, Chengdu 610051, Sichuan, China)

**【Abstract】 Objective:** To investigate the levels and significance of plasma miR-31, miR-132 and miR-133a in patients with acute myocardial infarction (AMI) and heart failure (HF). **Methods:** 90 patients with AMI complicated with HF were selected as observation group, 50 patients with AMI without HF were selected as control group. The expression levels of plasma miR-31, miR-132 and miR-133a were determined by quantitative real-time PCR, and their relationship with clinicopathological data was analyzed. The ROC curve was used to test the value of plasma miR-31, miR-132 and miR-133a expression in the prediction of AMI complicated with HF. **Results:** Compared with control group, the smoking rate, levels of troponin I (cTn I), creatine kinase (CK-MB), N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP) and plasma miR-31, The expression of miR-133a in the observation group were higher, and the left ventricular ejection fraction (LVEF) was lower (all  $P < 0.05$ ). Plasma miR-31 and miR-132 were positively correlated with cTn I, CK-MB and NT-proBNP, and negatively correlated with LVEF. miR-132 was negatively correlated with cTn I, CK-MB and NT-proBNP ( $P < 0.05$ ). ROC curve analysis showed that the AUC of plasma miR-31, miR-132 and miR-133a in combination to prediction AMI with HF was 0.803, which was larger than predicted by of miR-31, miR-132 or miR-133a alone ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The expression of plasma miR-31, miR-132 and miR-133a in patients with AMI and HF are related to myocardial injury and left ventricular function. Combined detection of the three can help to predict early AMI complicated with HF.

**【Key words】** Acute myocardial infarction; Heart failure; miR-31; miR-132; miR-133a

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是在冠心病的基础上,因血栓形成、斑块破裂导致的局部心肌缺血、缺氧性坏死,随之出现胸闷胸痛、心跳加快、呼吸困难、恶心呕吐等临床症状的综合征,是威胁我国民众的常见心血管疾病<sup>[1]</sup>。AMI

患者由于心脏泵血功能下降,交感神经系统和肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)过度激活,普遍处于神经体液调节紊乱失衡状态,易发生急性血流动力学障碍,导致组织灌注不足,心功能下降,出现心力衰竭(heart failure, HF)<sup>[2]</sup>。一项调查研究<sup>[3]</sup>显

示,心肌梗死患者住院期间 HF 发生率为 13.6% ~ 14.8%,其 1 年后合并 HF 者可达 25%。目前一致认为,在缺血发生的早期积极使用药物抑制 HF 进程,逆转心肌重构是抑制 AMI 合并 HF 患者病程恶化、治疗成功的关键。因此,探索预测 AMI 合并 HF 的生物标记物,是临床的研究热点。近几年随着研究的深入,微小 RNA(miRNA)在众多心血管疾病的机制中表现出很强的相关性。miR-31 参与细胞 DNA 的复制、增殖。miR-132 可抑制心血管内皮细胞增殖和集落形成。田焕平等<sup>[4]</sup>研究指出,miR-31、miR-132 在 AMI 合并 HF 患者的血清中呈高表达。徐振宇等<sup>[5]</sup>研究发现,miR-133a 与慢性心力衰竭(CHF)患者心室重构、心功能改变有关。本研究通过观察 AMI 合并 HF 患者血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 水平,以了解其临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2019 年 1 月至 2022 年 1 月成都市核工业四一六医院收治的 90 例 AMI 合并 HF 患者(观察组)和 50 例 AMI 未合并 HF 的患者(对照组)。本研究获得医院伦理委员会批准同意,纳入对象均签订知情同意书。纳入标准:(1)对照组符合《急性心肌梗死诊断和治疗指南》中<sup>[6]</sup>AMI 诊断要求,并经影像学检查证实,(2)观察组在明确诊断 AMI 的基础上符合 HF 诊断<sup>[7]</sup>:患者有高血压、冠心病等病史,休息或运动时伴呼吸困难、乏力、下肢水肿临床症状,伴心动过速、呼吸急促、肺部啰音、胸腔积液、颈静脉压力增高、外周水肿、肝脏肿大体征,伴心腔扩大、第三心音、心脏杂音、超声心动图异常、利钠肽(BNP/NT-proBNP)水平升高等心脏结构或功能异常,伴收缩性心力衰竭或舒张性心力衰竭特征;(3)Killip 分级<sup>[8]</sup>为 II ~ IV 级;(4)临床资料齐全。排除标准:(1)自身免疫性疾病;(2)肝肾严重障碍;(3)恶性肿瘤;(4)严重感染性疾病;(5)意识障碍或严重精神疾病;(6)近 1 周内使用过可能影响血脂功能及炎症反映者。

### 1.2 方法

抽取两组患者入院时肘静脉血,行常规生化检验。肌钙蛋白 I(cTn I)、肌酸激酶(CK-MB)、N 末端脑钠肽前体(NT-proBNP)采用 MQ60 全自动化学发光免疫分析仪测定(北京热景生物技术股份有限公司,试剂盒与厂家配套)。左室射血分数(LVEF)采用 Philips IE33 超声检测仪(上海涵飞医疗器械有限公司)检测。用 EDTA 抗凝管采集患者外周血 2 mL,上下颠倒混匀,3 000 rpm 离心 10min,抽取上

清液至无酶离心管 -80 °C 保存待测。待冻存的血浆样本融化后,按 1:1 比例抽取全血血浆加入红细胞裂解剂混匀,12 000 rpm 离心 1 min,弃上清液,采用 TRIzol 法提取血浆总 RNA,测定总 RNA 浓度、纯度及完整性,将含 RNA 的脱洗液收集后进行分装, -80 °C 保存备用。通过查找 miRNA 数据库,针对每种 miRNA 设计相同茎环结构的基因特异性反向引物,使用 TapMan miRNA 逆转录试剂盒(购自美国 Thermo Fisher 公司)将 DNA 逆转录为 cDNA,样本置 -20 °C 保存。采用基于 TaqMan 探针(购自美国 ABI 公司)的 qRT-PCR 方法(试剂盒反应系统购自 TaKaRa 公司)检测血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 表达,仪器使用 ABI 7500 PCR 仪,PCR 循环参数:95 °C 5min,95 °C 15s,60 °C 1min 共 40 个循环,以 U6 作为内参照,3 个 miRNA 及内参  $\beta$ -actin 引物序列见表 1。采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算 miRNA 的相对表达量。

表 1 miRNA 引物序列

基因	引物序列	退火温度 (°C)	产物大小 (kb)
$\beta$ -actin	上游 5'-CCTAAAGACCTCTATGCCAACA-3'	65	260
	下游 5'-CGGACTCATGCTACTCTGCT-3'		
miR-31	上游 5'-TGTCCATGAGAGCTCAGCA-3'	62	259
	下游 5'-TCGTACAGCATGTGCAATGCC-3'		
miR-132	上游 5'-GCCAAGCTGCTAAAAATGGAA-3'	62	262
	下游 5'-CCAGCAGCATGTGCAAGATC-3'		
miR-133a	上游 5'-GCCAAGCTGCTAAAAATGGAA-3'	65	255
	下游 5'-TATGCTTTTACGACTGTGTAT-3'		

### 1.3 观察指标

(1)两组基线资料,包括:性别、年龄、体质指数(BMI)、个人史(吸烟、饮酒)、合并症(高血压、高脂血症、糖尿病)。(2)两组 cTn I、CK-MB、NT-proBNP、LVEF 比较。(3)各组 miR-31、miR-132、miR-133a 比较。(4)血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 与各病理参数的关系。(5)血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 对 AMI 合并 HF 的早期预测价值。

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,组间比较使用  $t$  检验;计数资料以  $[n(\%)]$  表示,组间比较使用  $\chi^2$  检验;血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 表达与病理参数的关系行 Pearson 分析;绘制受试者工作特征(ROC)曲线描述血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 表达对 AMI 合并 HF 患者早期预测价值。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者一般资料比较

两组患者性别、年龄、BMI、饮酒情况、高血压、高脂血症及糖尿病合并症比较,差异无统计学意义

( $P > 0.05$ );观察组吸烟比例高于对照组( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 两组患者一般资料比较[ $\bar{x} \pm s, n(\%)$ ]

组别	男	女	年龄(岁)	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	吸烟	饮酒	合并症		
							高血压	高脂血症	糖尿病
观察组( $n=90$ )	47(52.22)	43(47.78)	72.19 ± 9.56	24.25 ± 2.13	49(54.44)	38(42.22)	26(28.89)	32(35.56)	15(16.67)
对照组( $n=50$ )	28(56.00)	22(44.00)	73.01 ± 10.47	24.70 ± 2.49	18(36.00)	22(44.00)	14(28.00)	19(38.00)	7(14.00)
$\chi^2/t$ 值	0.184		0.470	1.127	4.382	0.042	0.373	0.082	0.173
$P$ 值	0.668		0.639	0.262	0.036	0.839	0.541	0.773	0.678

## 2.2 两组 cTn I、CK-MB、NT-proBNP、LVEF 比较

与对照组相比,观察组 cTn I、CK-MB、NT-proBNP 水平更高,LVEF 水平更低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 两组 cTn I、CK-MB、NT-proBNP、LVEF 比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	cTn I (ng/mL)	CK-MB(U/L)	NT-proBNP(pg/mL)	LVEF (%)
观察组( $n=90$ )	0.28 ± 0.09	29.35 ± 4.61	1092.23 ± 158.54	0.40 ± 0.08
对照组( $n=50$ )	0.16 ± 0.05	21.37 ± 3.15	826.35 ± 100.07	0.49 ± 0.10
$t$ 值	8.703	10.900	10.722	5.823
$P$ 值	<0.001	<0.001	<0.001	0.001

## 2.3 两组血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 表达比较

与对照组相比,观察组血浆 miR-31、miR-133a 表达更高,miR-132 表达更低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 两组血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 表达比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	miR-31	miR-132	miR-133a
观察组( $n=90$ )	9.37 ± 2.10	0.95 ± 0.24	1.56 ± 0.20
对照组( $n=50$ )	5.35 ± 1.69	1.23 ± 0.41	1.31 ± 0.12
$t$ 值	11.603	5.101	8.062
$P$ 值	<0.001	<0.001	<0.001

## 2.4 观察组血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 表达与其病理参数的关系

观察组患者血浆 miR-31、miR-133a 与 cTn I、CK-MB、NT-proBNP 分别呈正相关,与 LVEF 呈负相关;血浆 miR-132 与 cTn I、CK-MB、NT-proBNP 呈负相关( $P < 0.05$ )。见表 5。

表 5 观察组血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 表达与其病理参数的关系

病理参数	miR-31		miR-132		miR-133a	
	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值	$r$ 值	$P$ 值
cTn I (ng/mL)	0.394	<0.001	-0.176	0.038	0.297	<0.001
CK-MB(U/L)	0.513	<0.001	-0.258	0.002	0.359	<0.001
NT-proBNP(pg/mL)	0.369	<0.001	-0.213	0.012	0.448	<0.001
LVEF (%)	-0.296	<0.001	-0.096	0.262	-0.202	0.017

## 2.5 血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 对 AMI 合并 HF 的早期预测价值

ROC 曲线分析发现,血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 联合预测 AMI 合并 HF 的曲线下面积(AUC)为 0.803,均高于 miR-31、miR-132、miR-133a 单独预测(AUC = 0.681、0.686、0.620)。见图 1、表 6。

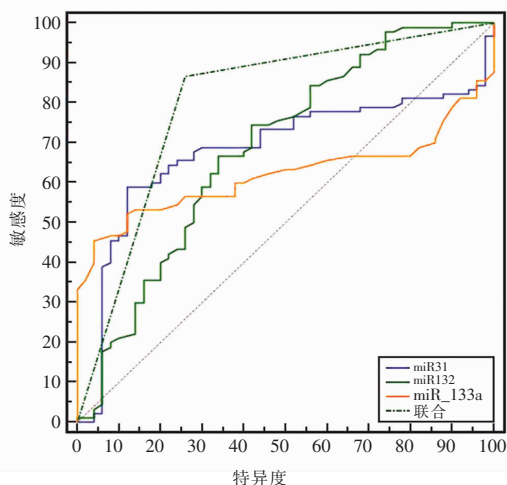


图 1 血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 单独及联合诊断 AMI 合并心衰的 ROC 曲线

表 6 血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 对 AMI 合并 HF 的预测效能

指标	AUC	95% CI	敏感度(%)	特异度(%)	Cut-off 值	Youden 值
miR-31	0.681	0.597 ~ 0.757	58.89	88.00	>6.63	0.469
miR-132	0.686	0.602 ~ 0.761	56.67	76.00	≤1.06	0.327
miR-133a	0.620	0.535 ~ 0.701	45.56	96.00	>1.52	0.416
联合	0.803	0.728 ~ 0.866	86.67	74.00	-	0.607

## 3 讨论

AMI 是心内科常见急症,此时患者由于心脏泵血功能下降,交感神经系统和肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)过度激活,普遍处于神经体液调节紊乱失平衡状态,易发生急性血流动力学障碍,导致组织灌注不足,心功能下降,出现 HF,使得病情更加

危重<sup>[9-10]</sup>。因此,早期预测 AMI 合并 HF,便能及早治疗,对改善患者心功能,抑制心肌重塑有重要意义。近几年,miRNA 在疾病诊断和预后评估中颇受关注。国外大量研究<sup>[11-12]</sup>证实,miRNA 可调控细胞分化、增值、凋亡、坏死等几乎所有的细胞功能,参与肿瘤、过敏性疾病以及炎症等多种疾病。国内相关研究<sup>[13]</sup>也表明,当心肌细胞发生损伤时,心肌细胞会释放出 miRNA,并进入血液循环中,故推测 miRNA 有可能作为心血管病诊治和监测的重要潜在工具。

本研究选取了 miR-31、miR-132、miR-133a 三种特异性 miRNA 进行对比研究,结果发现,观察组血浆 miR-31、miR-133a 表达高于对照组,LVEF 及血浆 miR-132 表达低于对照组,说明 AMI 患者一旦发生 HF,其血浆 miR-31、miR-133a 在外周血中迅速增加,在组织损伤后很早就释放到循环中,而 miR-132 的作用机制与 miR-31、miR-133a 相反,发生 HF 后其水平迅速降低。其原因可能是:AMI 早期病变时,内皮细胞受损,促使线粒体分泌大量活性氧,脂蛋白聚集于血管内膜上,激活炎症反应,造成氧化应激和心肌损伤,导致血浆中 miR-31、miR-133a 表达升高,miR-132 降低,诱导心肌损伤,加重病变严重程度<sup>[14]</sup>。miR-31 可调节包括 Prlr/Stat5、TGFβ、Wnt/β-连环蛋白等多种信号通路。Wu 等<sup>[15]</sup>发现,miR-31 与心肌梗死的病理有关。miR-132 由长度为 66 pb 的前体序列加工而成,参与调控癌症、免疫炎症以及心血管疾病。Su 等<sup>[16]</sup>研究证实,长链非编码 RNA 牛磺酸上调基因 1 (TUG1)/miR-132 可介导缺血性心肌损伤。miR-133a 是心肌梗死的诊断标志物,已有不少的人和动物研究<sup>[17-18]</sup>证明,miR-133a 在心肌梗死中增高,并有重要的调控作用。上述研究均证实了,miR-31、miR-132、miR-133a 在 AMI 合并 HF 的发生、发展中发挥着重要作用。

目前,对于 AMI 患者 HF 相关 miRNA 的表达及功能研究多集中于动物实验中,有关临床患者的研究极少。cTn I 是调节肌肉收缩的肌钙蛋白复合物当中的一种组成成分,具有高度的心肌特异性和灵敏度。CK-MB 在骨骼肌、心肌、平滑肌中表达较多,用于评估心肌坏死的特异性较高,二者均是临床常用于评估急性心肌梗死病情进展的常用指标<sup>[19-20]</sup>。NT-proBNP 由完整的心肌细胞合成和分泌,其被发现可能参与心脏自我调节和代偿新功能不全<sup>[21]</sup>。LVEF 可综合反映左心室泵血功能、心肌收缩力,当 LVEF < 50% 时提示左心室收缩功能障碍<sup>[22]</sup>。本研

究显示,观察组血清 cTn I、CK-MB、NT-proBNP 水平高于对照组,而 LVEF 低于对照组,且 Pearson 分析显示,观察组血浆 miR-31、miR-133a 与 cTn I、CK-MB、NT-proBNP 分别呈正相关,与 LVEF 呈负相关;miR-132 与 cTn I、CK-MB、NT-proBNP 呈负相关。这提示着,AMI 合并 HF 患者较单纯 AMI 患者普遍存在心肌受损、心功能下降现象,患者心肌损伤、左心功能障碍越严重,其血浆中 miR-31、miR-133a 表达越高,miR-132 表达越低。进一步绘制 ROC 曲线发现血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 联合预测 AMI 合并 HF 的 AUC 为 0.803,均高于 miR-31、miR-132、miR-133a 单独预测,证实了血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 联合检测在 AMI 合并 HF 的早期预测中具有较高价值,可以作为 AMI 合并 HF 的候选诊断生物学标记物,便于区分 AMI 合并 HF 和未合并 HF 患者。

综上,血浆 miR-31、miR-133a 随 AMI 合并 HF 病情加重而升高,血浆 miR-132 反之。检测患者入院时血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 水平有助于早期预测 AMI 是否合并 HF,具有较高的临床应用价值。但本研究为单中心对照研究,证据强度不足,并且未动态检测伴随时间推移或患者心功能改变状态下的血浆 miR-31、miR-132、miR-133a 表达水平,以上不足有待后期开展多中心随机对照试验进一步验证。

#### 参考文献

- [1] 徐方芳,夏雨,袁伟忠.急性心肌梗死患者血清 CSF2RA、MCP-1、GDF-15 水平变化及其与病情的相关性[J].川北医学院学报,2022,192(3):303-306,311.
- [2] Jering KS, Claggett B, Pfeffer MA, et al. Prospective ARNI vs. ACE inhibitor trial to determine superiority in reducing heart failure events after myocardial infarction (PARADISE-MI): design and baseline characteristics [J]. European Journal of Heart Failure: Journal of the Working Group on Heart Failure of the European Society of Cardiology, 2021, 23(6):1040-1048.
- [3] Bahit MC, Kochar A, Granger CB. Post-myocardial infarction heart failure[J]. JACC Heart Failure, 2018, 6(3):179-186.
- [4] 田焕平,吴海波,刘惠良,等.急性心肌梗死并心力衰竭患者血清 miR-132 和 miR-31 水平及其临床诊断价值研究[J].重庆医学,2019,48(2):248-251.
- [5] 徐振宇,杨立明,李广平,等.慢性心力衰竭患者血清 miR-133a、miR-133b 水平与心功能和心肌重构的关系[J].山东医药,2018,58(4):82-84.
- [6] 高润霖.急性心肌梗死诊断和治疗指南[J].中华心血管病杂志,2001,9(12):9-24.

(下转第 1226 页)