

微小 RNA-1266 在房颤及心力衰竭患者中的表达*

白云鹤

(中国航天科工集团七三一医院 心内科, 北京 100072)

[摘要] 目的: 探究微小 RNA-1266 在房颤(AF)及心力衰竭(HF)患者中的表达及意义。方法: 选取 41 例 AF 患者作为 AF 组, 38 例 HF 患者作为 HF 组, 41 例 HF 并发 AF 患者作为 HF + AF 组, 同时选取同期体检健康者 30 例作为对照组; 收集 4 组受试者年龄、性别、高血压史、糖尿病史及吸烟情况, 记录 3 组患者 β 受体阻滞剂的使用情况; 比较入院时或体检时 4 组受试者收缩压(mmHg)、舒张压(mmHg)、体质量指数(kg/m^2)、肌酐、血糖、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、N 端前脑钠素(NT-proBNP)、左心室射血分数(LVEF)、左心房直径(LAD)及心胸比; 采用 Real-time PCR 检测入院或体检时 4 组受试者血清 miR-1266 水平, 使用 Pearson 检验和多元线性回归分析评价患者上述各指标与血清 miR-1266 表达的相关性。结果: 与对照组比较, 3 组患者 NT-proBNP 水平显著升高($P < 0.05$), HF 组和 HF + AF 组又显著高于 AF 组($P < 0.05$); 对照组 LVEF 明显高于 3 组患者, AF 组的 LVEF 又显著高于 HF 及 HF-AF 组($P < 0.05$); 3 组患者的 LAD 均显著大于对照组($P < 0.05$); miR-1266 在 AF、HF、HF + AF 组患者血清表达较对照组显著升高($P < 0.05$), HF + AF 组又显著高于 AF 组及 HF 组($P < 0.05$); Pearson 检验结果显示, 血清 miR-1266 表达与 AF + HF 组 LVEF 呈负相关($r = -0.360, P = 0.019$), 与 Ig(NT-proBNP)、LAD、心胸比正相关($r = 0.779, 0.510, 0.588, P < 0.001$), 血清 miR-1266 水平与 HF-AF 患者的年龄呈正相关($r = 0.321, P < 0.001$); 多元线性回归分析发现血清 miR-1266 的表达与 Ig(NT-proBNP)、心胸比呈正相关($P < 0.05$), 与 LVEF 呈负相关($P < 0.05$)。结论: miR-1266 血清水平可以作为评估 AF 和 HF 严重程度的潜在生物标志物。

[关键词] miR-1266; 房颤; 心力衰竭; 心功能; 肝功能; 血脂; 相关分析

[中图分类号] R541.4; R541.61; R541.75 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)03-0360-05

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.03.025

Expression and Significance of microRNA-1266 in Patients with Atrial Fibrillation and Heart Failure

BAI Yunhe

(Department of Cardiology, China Aerospace Science and Industry Corporation 731 Hospital, Beijing 100072, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the expression and significance of microRNA-1266 in patients with atrial fibrillation and heart failure. **Methods:** 41 Patients with atrial fibrillation (AF) as AF group, 38 patients with heart failure (HF) as HF group, and 41 HF complicated with AF (HF + AF) patients as HF + AF group; 30 healthy people on physical check purpose were chosen as control group. Following data were collected from all groups: gender, age, hyper-blood pressure history, diabetes history and smoking conditions; recording β blockers usage condition of patients groups; comparing following value from all groups when they were hospitalized or from physical check: SBP (mmHg), DBP (mmHg), BMI (kg/m^2), CRE, glucose, total cholesterol, TG, LDL, HDL, NT-proBNP, LVEF, LAD and CTR. Real-time PCR was adopted to detect serum miR-1266 levels when all groups subjects were hospitalized. Pearson test and multiple linear regression analysis were used to evaluate the correlation between clinical pathological parameters and serum miR-1266 expression. **Results:** Comparing with con-

*[基金项目] 山西省科学技术厅重点研发计划项目(201803D31154)

网络出版时间: 2019-03-23 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190323.1455.025.html>

trol group, NT-proBNP level of three experiment groups significantly increased ($P < 0.05$), the data of HF group and HF + AF group was obviously higher than that of AF group ($P < 0.05$); LVEF of control group was also significantly higher than the other 3 groups, LVEF of AF group was obviously higher than HF and HF + AF group ($P < 0.05$); LAD of 3 experiment groups was obviously higher than that of control group ($P < 0.05$). The serum expression of miR-1266 in AF, HF and HF + AF patients was significantly higher than that of control group ($P < 0.05$); the expression of miR-1266 in HF + AF group was significantly higher than that of AF group and HF group ($P < 0.05$). Pearson test indicated that serum miR-1266 expression and LVEF of AF + HF group was negatively correlated ($r = -0.360, P = 0.019$), and positively related with Ig (NT-proBNP), LAD and CTR ($r = 0.779, 0.510, 0.588, P < 0.001$); serum miR-1266 level was positively correlated with the age of HF-AF patients ($r = 0.321, P < 0.001$). Multiple linear regression analysis showed that the expression level of serum miR-1266 was positively correlated with Ig (NT-proBNP) and cardiothoracic ratio ($P < 0.05$).

Conclusion: miR-1266 serum level can be used as potential biomarkers for assessing the severity of AF and HF.

[**Key words**] miR-1266; atrial fibrillation; heart failure; heart function; liver function; blood lipid; correlation analysis

微小 RNA (microRNA, miRNA) 是长约 22 核苷酸的非编码 RNA, 广泛存在于从病毒到人类的各种生物中, 能与 mRNA 结合, 从而阻断蛋白编码基因的表达; miRNA 通过控制细胞分化、细胞死亡、心脏重塑、纤维化、血管化及心肌细胞收缩来调节心血管疾病的病理进展^[1-2], 有研究发现, 差异表达的 miRNA 可能参与房颤 (atrial fibrillation, AF) 及心力衰竭 (heart failure, HF) 过程^[3]。近年来, 我国 AF 的患病率随年龄增长而增加^[4], 与 HF 相关的死亡率逐渐增加^[2]。有研究发现, AF 可加剧 HF 的发生^[5], 年龄增长、糖尿病、高血压、心肌梗塞是 AF 及 HF 的共同危险因素, 遗传因素也是 AF 及 HF 发生的内源性原因^[6], AF 患者常出现 miR-1266 的表达异常, 部分离子通道基因可能受 miR-1266 调控, 在缺乏 miR-1266 靶向的钙通道基因 1E (CACNA1E) 基因的大鼠中发生心律失常^[7], miR-1266 也被认为与核因子- κ B (Nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号途径的激活有关, miR-1266 的异常表达可能还与 HF 存在一定的相关性^[8]。本研究通过分析 AF 或 (和) HF 患者血清 miR-1266 表达水平与 AF 或 (和) 的临床病理参数及生化指标的关系, 探讨 miR-1266 在 AF 或 (和) HF 发生中的作用。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2014 年 8 月 ~ 2017 年 1 月期间收治的

41 例 AF 患者作为 AF 组、38 例 HF 患者作为 HF 组、41 例 HF 并发 AF 患者作为 HF + AF 组, 同时选取同期体检健康者 30 例作为对照组; AF 和 HF 的诊断参考文献[9]确诊。AF 组阵发性 11 例、持续性 16 例、永久性 14 例, 男 21 例、女 20 例, 平均 (65.10 ± 11.73) 岁。HF 组 NYHA Ⅲ级 20 例、NYHA Ⅳ级 18 例, 男 1 例、女 19 例, 平均 (63.41 ± 14.32) 岁。HF + AF 组 NYHA Ⅲ级的 HF 患者 21 名、NYHA Ⅳ级 20 例, 男 22 例、女 19 例, 平均 (64.54 ± 12.16) 岁; 3 个疾病组排除合并脑血管意外、急性感染、慢性炎症、严重心律失常、化疗恶性肿瘤、肝肾功能衰竭及精神障碍或怀孕的患者。对照组男 15 例、女 15 例, 平均 (60.13 ± 12.46) 岁。本研究经医院机构审查委员会批准, 研究方案符合 1975 年赫尔辛基宣言的伦理准则, 并获得每位患者的知情同意。4 组受检者性别、年龄比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 血液样本 于入院或体检时采集患者或被检者空腹静脉血, 收集在无 RNA 酶的真空干燥管中, 在室温下以 3 000 r/min 离心 10 min 分离血清, 将血清转移至无核酸酶的 Eppendorf 管中, -80°C 储存。

1.2.2 RNA 提取及血清 miR-1266 表达水平测定 使用 miRNA easy 试剂盒 (北京艾德莱生物科技有限公司) 并遵循制造商的说明分离来自冷冻血清样品的总 RNA, 用紫外分光光度计检测 RNA 含

量和纯度,使用 GoScript™ 逆转录系统逆转录 5 μg总 RNA 以合成 cDNA,反应条件为 25 ℃ 5 min、42 ℃ 60 min、70 ℃ 5 min;采用实时定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)测定血清 miR-1266 水平,反应条件为 95 ℃ 2 min,95 ℃ 15 s、60 ℃ 60 s,共 40 个循环,PCR 引物由上海吉玛制药技术有限公司设计,miR-1266 上游引物序列 5'-CAATTAT-TCAAAAGATGCTTGGG-3'、下游引物序列 5'-GG-TATGGCCCTCCAGGTTAA-3';内参照 U6 上游引物序列 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3'、下游引物序列 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3'。用 2^{-ΔΔCt}方法计算血清 miR-1266 表达水平,设置 3 个复孔,重复 3 次取平均值。

1.3 观察指标

收集 4 组受试者年龄、性别、高血压史、糖尿病史及吸烟情况,记录 3 组患者药物使用情况;比较入院时或体检时 4 组受试者收缩压、舒张压、体质指数、肌酐、血糖、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白、N 端前脑钠素(NT-proBNP)、左心室射血分数(LVEF)、左心房直径(LAD)及心胸比;使用 Pearson 检验和多元线性回归分析评价患者上述各指标与血清 miR-1266 表达的相关性。

表 1 4 组受试者一般临床资料、部分生化指标及 3 组患者药物使用情况

Tab. 1 General information of all groups, partial bio-indicators and usage of beta-blocker in 3 patient groups				
项目	AF 组(n=41)	HF 组(n=38)	HF + AF 组(n=41)	对照组(n=30)
年龄(岁)	65.10 ± 11.73	63.41 ± 14.32	64.54 ± 12.16	60.13 ± 12.46
性别(男/女)	21/20	19/19	22/19	15/15
高血压史(n,%)	16(39.0)	21(55.3)	23(56.0)	13(43.3)
糖尿病史(n,%)	9(22.0)	8(21.1)	10(24.4)	7(23.3)
吸烟者(n,%)	9(22.0)	10(26.3)	11(26.8)	6(20.0)
收缩压(mmHg)	125.6 ± 11.9	133.4 ± 12.7	129.1 ± 13.9	124.1 ± 12.5
舒张压(mmHg)	78.3 ± 8.2	77.2 ± 9.6	74.9 ± 8.1	75.2 ± 9.6
体重指数(kg/m ²)	22.41 ± 1.96	22.93 ± 2.00	22.90 ± 1.73	21.90 ± 1.69
肌酐(μmol/L)	107.61 ± 19.60	120.69 ± 26.39	127.93 ± 25.34	112.52 ± 29.80
血糖(mmol/L)	5.83 ± 1.92	5.61 ± 1.69	6.10 ± 2.00	5.51 ± 1.61
总胆固醇(mmol/L)	4.55 ± 0.90	4.50 ± 1.20	4.60 ± 1.19	4.47 ± 0.99
甘油三酯(mmol/L)	1.33 ± 0.60	1.65 ± 0.72	1.58 ± 0.71	1.32 ± 0.55
低密度脂蛋白(mmol/L)	2.31 ± 0.55	2.21 ± 0.51	2.34 ± 0.56	2.33 ± 0.40
高密度脂蛋白(mmol/L)	1.13 ± 0.23	1.09 ± 0.30	1.09 ± 0.26	1.20 ± 0.15
药物使用(n,%)				
β受体阻滞剂	24(58.5)	27(71.1)	20(48.8)	
地高辛	18(43.9)	17(44.8)	22(53.7)	
普利类/沙坦类	26(63.4)	18(47.4)	22(53.6)	
袢利尿剂	32(78.0)	29(76.3)	34(82.9)	

1.4 统计学方法

数据报告用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,使用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,使用独立样本 *t* 检验进行两组之间的比较,通过方差分析评估多组比较,然后进行 Bonferroni 或 Fisher's LSD 事后检验。Pearson 进行了不同指数之间的相关性分析,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。在调整年龄、糖尿病、药物使用及其他混杂因素的差异后,使用多元线性回归分析来评估 miR-1266 与心脏功能指数参数的独立关联。

2 结果

2.1 一般临床资料、部分生化指标及患者 β 受体阻滞剂使用情况

4 组受试者年龄、性别、高血压史、糖尿病史及吸烟情况,入院时或体检时收缩压、舒张压、体重指数,血清肌酐、血糖、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白水平分别比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05);3 组患者药物的使用情况比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05);见表 1。

2.2 血清 miR-1266 表达水平

结果显示, AF、HF 及 HF + AF 组患者血清 miR-1266 表达水平显著高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), HF + AF 组又显著高于 AF 组及 HF 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 4 组受试者血清 miR-1266 的表达水平
Tab. 2 Expression level of serum miR-1266 of all groups

组别	血清 miR-1266
AF 组($n = 41$)	1. 51 ± 0. 22 ⁽¹⁾
HF 组($n = 38$)	2. 84 ± 0. 41 ⁽¹⁾
HF + AF 组($n = 41$)	4. 21 ± 0. 59 ⁽¹⁾⁽²⁾⁽³⁾
对照组($n = 30$)	0. 99 ± 0. 23

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.01$; ⁽²⁾与 AF 组比较, $P < 0.05$;
⁽³⁾与 HF 组比较, $P < 0.05$

2.3 心功能指标

结果显示, 3 组患者的 NT-proBNP 水平显著高于对照组($P < 0.05$), HF 组及 HF + AF 组患者又显著高于 AF 组($P < 0.05$); 3 组患者的 LVEF 显著低于对照组, HF 组及 HF-AF 组显著低于 AF 组($P < 0.05$); 3 组患者的 LAD 显著大于对照组($P < 0.05$), HF 组及 HF-AF 组显著大于 AF 组($P < 0.05$); 3 组患者的心胸比显著大于对照组($P < 0.05$), 但 3 组患者者心胸比比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

2.4 血清 miR-1266 表达与 AF + HF 组心功能指标及患者病理资料的相关性

结果显示, 血清 miR-1266 表达与 AF + HF 组患者 LVEF 呈负相关($r = -0.360, P = 0.019$), 与 Ig(NT-proBNP)、LAD、心胸比及年龄正相关($r = 0.779、0.510、0.588、0.321, P < 0.001$), 见表 4。

表 3 4 组受试者心脏功能指标比较
Tab. 3 Cardiac function index of all groups

因素	AF 组($n = 41$)	FH 组($n = 38$)	AF + HF 组($n = 41$)	对照组($n = 30$)
Ig(NT-proBNP)	3. 35 ± 0. 55 ⁽¹⁾	4. 10 ± 0. 49 ⁽¹⁾⁽²⁾	4. 12 ± 0. 39 ⁽¹⁾⁽²⁾	2. 32 ± 0. 88
LVEF(%)	56. 78 ± 6. 12 ⁽¹⁾	50. 12 ± 6. 31 ⁽¹⁾⁽²⁾	49. 64 ± 5. 43 ⁽¹⁾⁽²⁾	60. 64 ± 4. 68
LAD(mm)	43. 47 ± 5. 62 ⁽¹⁾	47. 19 ± 6. 43 ⁽¹⁾⁽²⁾	46. 94 ± 5. 12 ⁽¹⁾⁽²⁾	37. 20 ± 4. 97
心胸比	0. 61 ± 0. 08 ⁽¹⁾	0. 63 ± 0. 09 ⁽¹⁾	0. 66 ± 0. 07 ⁽¹⁾	0. 50 ± 0. 01

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与 AF 组比较, $P < 0.05$

表 4 血清 miR-1266 与 AF + HF 组患者
临床病理参数 Pearson 相关分析
Tab. 4 Serum miR-1266 and AF + HF group
pathological parameters Pearson analysis

因素	r
Ig(NT-proBNP)	0. 779 ⁽¹⁾
LVEF	-0. 360 ⁽¹⁾
LAD	0. 510 ⁽¹⁾
心胸比	0. 588 ⁽¹⁾
TC	0. 203
TG	0. 195
肌酐	0. 184
体重指数	0. 095
血糖	0. 182
年龄	0. 321 ⁽¹⁾

注: ⁽¹⁾ $P < 0.05$

2.5 多元线性回归分析

调整混杂因素(性别, 年龄, 糖尿病和吸烟)影响后, 血清 miR-1266 的表达水平与 Ig(NT-proBNP)、心胸比呈正相关($P < 0.05$), 与 LVEF 呈负相关($P < 0.05$), 见表 5。

表 5 多元线性回归分析结果
Tab. 5 Multi-linear regression analysis

自变量	回归系数	标准误	标准回归系数	t	P
LVEF	-0. 163	0. 007	-0. 331	-23. 405	0. 000
Ig(NT-proBNP)	1. 291	0. 084	0. 569	15. 234	0. 000
心胸比	5. 369	0. 510	0. 393	11. 311	0. 000

3 讨论

AF 的患病率与 HF 的严重程度呈正相关, AF 可能诱发或加重 HF, 反之亦然^[10]。近年来, 有证据表明 HF 合并 AF 患者的临床不良事件发生率较高, AF、HF 及 HF 合并 AF 患者的预后较差^[3]。越来越多的证据表明 miRNA 与 AF 和 HF 的进展和预后密切相关, 但其潜在的机制尚不完全清楚。因此, 本研究检查了 AF 和(或)HF 患者的血清 miR-1266 表达, 并研究在 AF 和(或)HF 患者中循环 miR-1266 作为血清生物标志物的潜力, 发现 AF、

HF 及 HF 合并 AF 组患者的血清 miR-1266 水平明显高于健康对照, HF + AF 组在各组患者中 miR-1266 血清水平最高 ($P < 0.05$), 这些结果表明循环血清 miR-1266 水平与 AF 和 HF 的发展、进展和严重程度有关。

到目前为止, 关于 miR-1266 的研究是有限的, 只有少数报道调查它们在癌症中的作用, 但是研究已经证实 miR-1266 可激活 STAT3 和 NF- κ B 途径^[11], NF- κ B 是一种高度可诱导的核转录因子, 可对多种刺激产生反应, 比如肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor- α , TNF- α), 白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) 等信号分子进行调控, 并影响肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS)^[12-14], 而 RAS 系统的过度激活可引起传导异常以及室性心律失常的发生率提高^[13], TNF- α 表达也可因 NF- κ B 激活而增加, 动物实验中发现 TNF- α 心脏限制性过表达小鼠会出现导致心律失常的结构重塑和传导系统疾病^[12], IL-1 β 途径的激活则与心脏细胞成形期间的心律失常风险有关, IL-1 β 受体敲除小鼠在心肌梗塞后炎症和纤维化减少, 表明 IL-1 β 有助于心律失常的基质^[14]。miR-1266 对 NF- κ B 途径的调控可能是解释 miR-1266 参与 AF 和 (或) HF 发生和进展的可能机制之一。

心功能指标包括 NT-proBNP 水平, LVEF, LAD 直径和心胸比, 本研究中的另一个发现是与对照组比较, AF、HF 和 HF 合并 AF 患者的 NT-proBNP 水平较高、LVEF 较低、LAD 较大、心胸比较高 ($P < 0.05$), 表明上述心功能指标与 AF 和 HF 的发展和进展密切相关。有研究报道, NT-proBNP 表达可用作 AF 和 (或) HF 的风险参数, 因为其表达与 HF, 卒中和死亡风险增加呈正相关。本研究的 AF 患者 NT-proBNP 水平显著高于对照组, 结合文献, 推测 NT-proBNP 可作为有效评估心脏病心脏功能的有用血清生物学标志物^[15]。为了更好地理解血清 miR-1266 水平与心功能指标之间的相关性, 本研究进行了 Pearson 相关分析以探索其潜在机制, 结果显示 miR-1266 血清水平与 LVEF 呈负相关, 而与 NT-proBNP 的对数、LAD 和心胸比呈正相关, 结合 miR-1266 可能调控 NF- κ B 进而引起 AF 电生理的异常和结构重塑, 推测 miR-1266 表达改变可能是心脏功能指数的变化的基础, 进而诱导 AF 和 HF 的发展。

综上, 本研究表明 AF、HF 和 HF 合并 AF 患者的血清 miR-1266 表达水平明显升高, 尤其是 HF

合并 AF 患者患者。此外, 血清 miR-1266 表达与心脏功能指数密切相关, 包括 NT-proBNP 水平、LVEF、LA 直径及心胸比, 推测 miR-1266 血清水平可作为评估 AF、HF 严重程度的潜在生物学标志物, 但需加大来自其他人群的大量患者进行研究。

4 参考文献

- [1] ZHOU Z, HU D. An epidemiological study on the prevalence of atrial fibrillation in the Chinese population of mainland China[J]. J Epidemiol, 2008, 18(5): 209-216.
- [2] MURPHY S L, XU J, KOCHANKE K D. Deaths: final data for 2010[J]. Natl Vital Stat Rep, 2013, 61(4): 111-117.
- [3] ALEONG R G, SAUER W H, DAVIS G, et al. New-onset atrial fibrillation predicts heart failure progression[J]. Am J Med, 2014, 127(10): 963-971.
- [4] VOGEL B, KELLER A, FRESE K S, et al. Multivariate miRNA signatures as biomarkers for non-ischaemic systolic heart failure[J]. Eur Heart J, 2013, 34(36): 2812-2822.
- [5] FIC P, KOWALCZUK K, GRABARSKA A, et al. MicroRNA-a new diagnostic tool in coronary artery disease and myocardial infarction[J]. Postepy Hig Med Dosw, 2014, 68: 410-418.
- [6] RANA I, VELKOSKA E, PATEL S K, et al. MicroRNAs mediate the cardioprotective effect of angiotensin-converting enzyme inhibition in acute kidney injury[J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2015, 309(11): 943-954.
- [7] XU G, CUI Y, JIA Z, et al. The Values of coronary circulating mirnas in patients with atrial fibrillation[J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0166235.
- [8] ZHANG X, REN D, WU X, et al. miR-1266 Contributes to pancreatic cancer progression and chemoresistance by the stat3 and nf- κ b signaling pathways[J]. Mol Ther Nucleic Acids, 2018, 11: 142-158.
- [9] ZHANG R, MA S, SHANAHAN L, et al. Discovering and identifying New York heart association classification from electronic health records[J]. BMC Med Inform Decis Mak, 2018, 18(Suppl 2): 48.
- [10] DEEDWANIA P C, LARDIZABAL J A. Atrial fibrillation in heart failure: a comprehensive review[J]. Am J Med, 2010, 123(3): 198-204.
- [11] CHEN L, LU M H, ZHANG D, et al. miR-1207-5p and miR-1266 suppress gastric cancer growth and invasion by targeting telomerase reverse transcriptase[J]. Cell Death Dis, 2014, 5: e1034.

(下转第 368 页)