

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.02.020  
文章编号: 1005-8982(2020)02-0104-05

## 冠状动脉粥样硬化性心脏病慢性心力衰竭患者 血清 microRNA-499 水平及与心功能 和心肌重构的相关性

徐宝华, 李楠, 朱家庭

(大连市第三人民医院 心内科, 辽宁 大连 116033)

**摘要: 目的** 探究冠状动脉粥样硬化性心脏病(以下简称冠心病)慢性心力衰竭(CHF)患者血清 microRNA-499(miR-499)水平及与心功能和心肌重构的关系,探讨其在CHF中的临床价值。**方法** 选择2016年1月—2018年12月在大连市第三人民医院心内科就诊的冠心病CHF患者90例作为CHF组,同期该院健康体检者90例为对照组。测定血清miR-499水平。测定研究对象心功能指标:左室射血分数(LVEF)、心输出量(CO),以及心肌重构指标:左心房内径(LAP)、左室舒张末内径(LVEDD)、左室后壁厚度(LVPW)、左室重构指数(LVRI)、左室质量指数(LVMI)。**结果** CHF组血清miR-499水平高于对照组( $P < 0.05$ ),LVEF、CO、LVRI低于对照组( $P < 0.05$ ),LAP、LVEDD、LVPW、LVMI高于对照组( $P < 0.05$ )。不同心功能分级患者的血清miR-499水平及LVEF、CO、LAP、LVPW、LVRI、LVMI比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),随心功能分级升高,血清miR-499水平升高,LVEF、CO、LVRI降低,LAP、LVPW、LVMI升高。CHF患者血清miR-499水平与LVEF、CO、LVRI呈负相关( $P < 0.05$ ),与LAP、LVPW、LVMI呈正相关( $P < 0.05$ )。**结论** miR-499在冠心病CHF患者血清中升高,与患者病情严重程度、心功能和心肌重构关系密切。

**关键词:** 冠状动脉粥样硬化性心脏病/冠状动脉疾病;心力衰竭;microRNA-499/microRNAs;心房功能;心室功能;心室重构

中图分类号: R541.4

文献标识码: A

## Serum microRNA-499 level in patients with coronary atherosclerotic heart disease and its relationship with cardiac function and myocardial remodeling

Bao-hua Xu, Nan Li, Jia-ting Zhu

(Department of Cardiology, Third People's Hospital of Dalian, Dalian 116033, China)

**Abstract: Objective** To investigate the serum miR-499 level in patients with coronary heart disease Chronic heart failure(CH) and its relationship with cardiac function and myocardial remodeling in order to explore its clinical value in CHF. **Methods** From January 2016 to December 2018, 90 patients with coronary heart disease CHF were enrolled as the CHF group, and 90 healthy subjects were selected as the control group (C group) in the Department of Cardiology of Third People's Hospital of Dalian. The serum miR-499 levels were determined. The cardiac function indexes, containing left ventricular ejection fraction (LVEF) and cardiac output (CO), and myocardial remodeling indexes including left atrial inner diameter (LAP), left ventricular end diastolic diameter (LVEDD), left ventricular posterior wall thickness (LVPW), left ventricular remodeling index (LVRI) and left ventricular mass index (LVMI) were determined. **Results** The levels of serum miR-499 in CHF group were higher than those in C group ( $P < 0.05$ );

收稿日期: 2019-08-30

LVEF, CO and LVRI were lower than those in group C ( $P < 0.05$ ); LAP, LVEDD, LVPW and LVMI were higher than those in C group ( $P < 0.05$ ). Comparing serum miR-499 levels and LVEF, CO, LAP, LVPW, LVRI, LVMI in patients with different cardiac function grading between the two groups, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). With the increase of cardiac function classification, serum miR-499 levels increased, LVEF, CO and LVRI decreased, and LAP, LVPW and LVMI increased. Serum miR-499 levels were negatively correlated with LVEF, CO and LVRI in CHF patients ( $P < 0.05$ ), and positively correlated with LAP, LVPW and LVMI ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** MiR-499 is elevated in the serum of coronary heart disease patients with CHF, and is closely related to the severity of the disease, cardiac function and myocardial remodeling.

**Keywords:** coronary disease; heart failure; microRNA-499/microRNAs; atrial function; ventricular function; ventricular remodeling

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF) 是各种心脏疾病的终末阶段, 为临床常见疾病之一。随着人口老龄化, CHF 的发病率逐年上升。CHF 具有致残率和病死率高的特点, 对患者的健康和生活质量造成严重影响, 给家庭和社会带来沉重负担。心肌重塑和神经内分泌过度激活是 CHF 发生的重要作用机制。microRNA (miRNA) 参与多种疾病的病理生理过程, 在心肌梗死、冠状动脉粥样硬化性心脏病 (以下简称冠心病) 等心血管疾病的发生、发展过程中发挥重要作用<sup>[1-2]</sup>。miR-499 与心肌损害关系密切<sup>[3]</sup>, 在心肌梗死、冠心病等心血管疾病中也发挥重要作用<sup>[4-5]</sup>。本文对冠心病 CHF 患者血清 miR-499 水平进行研究, 探讨其在心功能和心肌重构中的意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取 2016 年 1 月—2018 年 12 月在大连市第三人民医院心内科就诊的冠心病 CHF 患者 90 例作为 CHF 组, 同期本院健康体检者 90 例为对照组。CHF 组年龄 ( $59.38 \pm 11.24$ ) 岁; 男性 49 例, 女性 41 例; 美国纽约心脏病学会 (NYHA) 分级: II 级 29 例, III 级 34 例, IV 级 27 例。对照组年龄 ( $60.02 \pm 9.58$ ) 岁; 男性 46 例, 女性 44 例。两组年龄、性别方面比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。CHF 患者根据左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF) 分为 LVEF 降低 CHF 31 例, LVEF 中间 CHF 19 例, LVEF 保留 CHF 40 例。CHF 符合《中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018》<sup>[6]</sup> 的诊断标准。冠心病符合《稳定性冠心病诊断与治疗指南》<sup>[7]</sup> 的诊断标准。本研究通过医院伦理委员会审批。

### 1.2 纳入与排除标准

**1.2.1 纳入标准** CHF 患者均有冠心病病史、NYHA

分级 II 级~IV 级、CHF 病史 >6 个月; 两组病例资料完整, 患者均签署知情同意书。

**1.2.2 排除标准** 对照组排除急性心肌梗死、急性心肌炎、不稳定心绞痛病史。CHF 组排除近期行经皮冠状动脉介入术、非冠心病所致心力衰竭。两组均排除恶性肿瘤, 严重肝肾功能异常, 肺动脉栓塞及阻塞性肺部疾病, 合并急性心包炎、心脏瓣膜病, 哺乳期及妊娠期女性, 感染性疾病。

### 1.3 研究方法

**1.3.1 标本采集** CHF 患者于入院第 2 天, 对照组体检当天采集空腹外周静脉血, 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清备用。

**1.3.2 血清 miR-499 水平测定** 取各研究对象血清, 加入 Trizol 提取总 RNA, 逆转录为 cDNA, 采用实时荧光定量聚合酶链反应, 反应条件为: 95℃ 预变性 10 min, 95℃ 变性 15 s、58℃ 退火 60 s, 共 42 个循环。以 U6 为内参, 用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算血清 miR-499 水平。PCR 仪 (ABI 7500 型) 及配套试剂均购自美国 ABI 公司。

**1.3.3 心功能和心肌重构测定** 采用 Philips iE33 超声仪 (荷兰飞利浦公司) 测定心功能和心肌重构, 利用二维平面法测定心功能指标: LVEF、心输出量 (CO); 采用二维和三维超声心动图测定心肌重构指标: 左心房内径 (LAP)、左室舒张末内径 (LVEDD)、左室后壁厚度 (LVPW)、左室重构指数 (LVRI)、左室质量指数 (LVMI)。

### 1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用  $t$  检验或方差分析, 两两比较用 LSD- $t$  检验, 相关分析用 Pearson 法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组血清 miR-499 水平比较

对照组和 CHF 组血清 miR-499 水平分别为  $(1.00 \pm 0.07)$  和  $(1.57 \pm 0.11)$ , 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $t=41.474, P=0.000$ ), CHF 组高于对照组。

### 2.2 不同心功能分级患者血清 miR-499 水平比较

心功能 II、III、IV 级患者血清 miR-499 水平分别为  $(1.32 \pm 0.10)$ 、 $(1.53 \pm 0.09)$  和  $(1.71 \pm 0.12)$ , 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F=100.851, P=0.000$ ), 进一步两两比较经 LSD- $t$  检验, 随心功能分级升高, 血清 miR-499 水平升高 ( $P<0.05$ )。

### 2.3 不同 LVEF 患者血清 miR-499 水平比较

LVEF 降低、中间、保留 CHF 患者血清 miR-499 水平分别为  $(1.68 \pm 0.07)$ 、 $(1.55 \pm 0.08)$  和  $(1.43 \pm 0.10)$ , 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $F=72.921, P=0.000$ ), 进一步两两比较经 LSD- $t$  检验, 随 LVEF 降低, 血清 miR-499 水平升高 ( $P<0.05$ )。

### 2.4 两组心功能和心肌重构指标比较

两组 LVEF、CO、LAP、LVEDD、LVPW、LVRI、LVMI 比较, 经  $t$  检验, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), CHF 组 LVEF、CO、LVRI 低于对照组, LAP、LVEDD、LVPW、LVMI 高于对照组。见表 1。

### 2.5 不同心功能分级患者心功能和心肌重构指标比较

不同心功能分级患者 LVEF、CO、LAP、LVPW、LVRI、LVMI 比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 进一步两两比较经 LSD- $t$  检验, 随心功能分级升高, LVEF、CO、LVRI 降低 ( $P<0.05$ ), LAP、LVPW、LVMI 升高 ( $P<0.05$ )。见表 2。

### 2.6 CHF 患者血清 miR-499 水平与其他的指标相关性

CHF 患者血清 miR-499 水平与 LVEF、CO、LVRI 呈负相关 ( $P<0.05$ ), 与 LAP、LVPW、LVMI 呈正相关 ( $P<0.05$ )。见表 3。

表 1 两组心功能和心肌重构指标比较 ( $n=90, \bar{x} \pm s$ )

| 组别    | LVEF/%       | CO/(ml/min) | LAP/mm       | LVEDD/mm     | LVPW/mm     | LVRI/(g/ml) | LVMI/(g/m <sup>2</sup> ) |
|-------|--------------|-------------|--------------|--------------|-------------|-------------|--------------------------|
| 对照组   | 55.37 ± 6.28 | 7.34 ± 1.76 | 35.67 ± 7.68 | 47.31 ± 6.02 | 7.95 ± 1.24 | 1.21 ± 0.19 | 102.16 ± 41.35           |
| CHF 组 | 45.16 ± 6.02 | 5.57 ± 1.68 | 49.32 ± 8.14 | 73.26 ± 9.61 | 9.67 ± 1.38 | 1.02 ± 0.16 | 132.14 ± 37.58           |
| $t$ 值 | 11.134       | 6.901       | 11.571       | 21.710       | 8.975       | 7.257       | 5.090                    |
| $P$ 值 | 0.000        | 0.000       | 0.000        | 0.000        | 0.000       | 0.000       | 0.000                    |

表 2 不同心功能分级患者心功能和心肌重构指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 心功能分级 | $n$ | LVEF/%       | CO/(ml/min) | LAP/mm        | LVEDD/mm      | LVPW/mm      | LVRI/(g/ml) | LVMI/(g/m <sup>2</sup> ) |
|-------|-----|--------------|-------------|---------------|---------------|--------------|-------------|--------------------------|
| II 级  | 29  | 49.21 ± 5.76 | 6.35 ± 1.24 | 42.78 ± 8.59  | 72.67 ± 10.32 | 8.94 ± 1.27  | 1.09 ± 0.15 | 117.58 ± 11.62           |
| III 级 | 34  | 45.34 ± 5.91 | 5.42 ± 1.33 | 48.79 ± 8.51  | 73.37 ± 9.54  | 9.81 ± 1.42  | 0.98 ± 0.14 | 130.16 ± 16.28           |
| IV 级  | 27  | 41.06 ± 5.73 | 4.85 ± 1.27 | 54.73 ± 11.02 | 74.04 ± 10.51 | 10.63 ± 1.19 | 0.90 ± 0.12 | 140.02 ± 15.69           |
| $F$ 值 |     | 13.765       | 9.820       | 11.416        | 0.129         | 11.715       | 13.486      | 16.332                   |
| $P$ 值 |     | 0.000        | 0.000       | 0.000         | 0.879         | 0.000        | 0.000       | 0.000                    |

表 3 CHF 患者血清 miR-499 水平与其他指标的相关性

| 指标   | $r$ 值  | $P$ 值 |
|------|--------|-------|
| LVEF | -0.468 | 0.000 |
| CO   | -0.445 | 0.000 |
| LAP  | 0.469  | 0.000 |
| LVPW | 0.512  | 0.000 |
| LVRI | -0.493 | 0.000 |
| LVMI | 0.501  | 0.000 |

## 3 讨论

miRNA 为单链、小分子、非编码 RNA, 转录后对细胞生长发挥调控作用<sup>[8]</sup>。miRNA 除在细胞生长、分化、凋亡及集体生长发育中发挥重要作用外, 在心律失常、冠心病、心力衰竭等心血管疾病的发生、发展中也发挥重要作用<sup>[9-10]</sup>。研究表明, miRNA 在血清中表达稳定, 与组织来源的 miRNA 比较, 血清

miRNA 敏感性高、稳定性好、可连续监测,故近年来血清 miRNA 在心血管疾病中的意义越来越受到大家关注<sup>[11-12]</sup>。

miR-499 为 miRNA 家族成员之一,为具有心脏特异性的代表成员,与多种心肌细胞的特异性基因关系密切,可通过多种信号通路对心肌细胞的生理功能进行调控<sup>[13-14]</sup>。miR-499 在急性心肌梗死等心血管疾病中扮演重要角色,如在急性心肌梗死患者血清中升高<sup>[15]</sup>。miR-499 是急性心肌梗死的新颖敏感生物标志物<sup>[16]</sup>。血清 miR-499 在急性冠脉综合征早期诊断中具有重要价值<sup>[17]</sup>,血清 miR-499 与急性冠脉综合征患者冠状动脉病变程度关系密切<sup>[18]</sup>。本文对冠心病慢性心力衰竭患者血清 miR-499 水平进行研究,发现患者血清 miR-499 水平升高,且随 CHF 心功能分级升高,血清 miR-499 水平升高,表明 miR-499 可能参与 CHF 的发生、发展过程。

LVEF 和 CO 为反映心功能的指标,值越高表明心功能越好<sup>[19]</sup>。心肌重构是 CHF 发生、发展的重要病理机制,心肌细胞间质胶原沉积、心室壁增厚、心脏变形能力降低等为心肌重构的主要体现<sup>[20]</sup>,LAP、LVPW、LVRI、LVMI 为反映心肌重构的指标<sup>[21]</sup>。本研究结果发现,CHF 患者 LVEF、CO、LVRI 降低,LAP、LVPW、LVMI 升高,血清 miR-499 与 LVEF、CO、LVRI 呈负相关,与 LAP、LVPW、LVMI 呈正相关,表明冠心病 CHF 患者存在心功能异常和心肌重构,心功能分级越高,心功能异常及心肌重构越严重,血清 miR-499 在一定程度上可反映 CHF 患者的心功能和心肌重构程度。miR-499 的编码基因位于人类 20 号染色体 *Myh7b* 基因内,miR-499 与 *Myh7b* 可协同在骨骼肌纤维及心肌纤维中表达,在其他组织中只有少量表达。miR-499 具有促进心肌增殖和分化功能,高表达 miR-499 可通过促进梗死区心肌细胞再生和分化,改善心功能;miR-499 可抑制心肌细胞凋亡,沉默 miR-499 可通过促进心肌细胞凋亡,增加心肌肥厚和心功能不全<sup>[22]</sup>。由此可见,miR-499 可能通过影响心肌细胞增殖和凋亡,影响心功能和心肌重构。

综上所述,冠心病 CHF 患者血清 miR-499 水平升高,检测血清 miR-499 水平在其病情评估、心功能和心肌重构判断上具有一定指导价值。

#### 参 考 文 献:

[1] MASSON S, BATKAI S, BEERMANN J, et al. Circulating microRNA-132 levels improve risk prediction for heart

failure hospitalization in patients with chronic heart failure[J]. *Eur J Heart Fail*, 2018, 20(1): 78-85.

- [2] FAN J, LI H, NIE X, et al. miR-665 aggravates heart failure via suppressing CD34-mediated coronary microvessel angiogenesis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(9): 2459-2479.
- [3] WU J, YUE B, LAN X, et al. miR-499 regulates myoblast proliferation and differentiation by targeting transforming growth factor  $\beta$  receptor 1[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(3): 2523-2536.
- [4] XIN Y, YANG C, HAN Z. Circulating miR-499 as a potential biomarker for acute myocardial infarction[J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(7): 135-138.
- [5] AGIANNITOPOULOS K, PAVLOPOULOU P, TSAMIS K, et al. Expression of miR-208b and miR-499 in Greek Patients with Acute Myocardial Infarction[J]. *In Vivo*, 2018, 32(2): 313-318.
- [6] 中华医学会心血管病学分会介入心脏病学组,中华医学会心血管病学分会动脉粥样硬化与冠心病学组,中国医师协会心血管内科医师分会血栓防治专业委员会,等.稳定性冠心病诊断与治疗指南[J].*中华心血管病杂志*,2018,46(9):680-694.
- [7] 中华医学会心血管病学分会心力衰竭学组,中国医师协会心力衰竭专业委员会,中华心血管病杂志编辑委员会,等.中国心力衰竭诊断和治疗指南 2018[J].*中华心血管病杂志*,2018,46(10):760-789.
- [8] VERJANS R, PETERS T, BEAUMONT FJ, et al. MicroRNA-221/222 family counteracts myocardial fibrosis in pressure overload-induced heart failure[J]. *Hypertension*, 2018, 71(2): 280-288.
- [9] JEONG D, YOO J, LEE P, et al. miR-25 tough decoy enhances cardiac function in heart failure[J]. *Mol Ther*, 2018, 26(3): 718-729.
- [10] RASO A, DIRKX E, PHILIPPEN L E, et al. Therapeutic delivery of mir-148a suppresses ventricular dilation in heart failure[J]. *Mol Ther*, 2019, 27(3): 584-599.
- [11] BAYÉS-GENIS A, LANFEAR D E, de RONDE M W J, et al. Prognostic value of circulating microRNAs on heart failure-related morbidity and mortality in two large diverse cohorts of general heart failure patients[J]. *Eur J Heart Fail*, 2018, 20(1): 67-75.
- [12] WU T, CHEN Y, DU Y, et al. Circulating exosomal miR-92b-5p is a promising diagnostic biomarker of heart failure with reduced ejection fraction patients hospitalized for acute heart failure[J]. *J Thorac Dis*, 2018, 10(11): 6211-6220.
- [13] SHI Y, HAN Y, NIU L, et al. miR-499 inhibited hypoxia/reoxygenation induced cardiomyocytes injury by targeting SOX6[J]. *Biotechnol Lett*. 2019, 41(6/7): 837-847.
- [14] ZHU J, YAO K, WANG Q, et al. Ischemic postconditioning-regulated mir-499 protects the rat heart against ischemia/reperfusion injury by inhibiting apoptosis through PDCD4[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 39(6): 2364-2380.
- [15] 羊子伦,羊壮绵,郑伟民,等.血清 miR-1 及 miR-499 在老年急性心肌梗死患者中的表达及其与左室重构的关系[J].*中国急救医学*,2019,39(3):248-253.
- [16] ZHANG L, CHEN X, SU T, et al. Circulating miR-499 are novel

- and sensitive biomarker of acute myocardial infarction[J]. *J Thorac Dis*, 2015, 7(3): 303-308.
- [17] 曹惠敏, 尤纱纱, 薛雨晨, 等. 血清 miR-499 和 miR-652 用于急性冠脉综合征早期诊断的临床试验 [J]. *上海交通大学学报 (医学版)*, 2017, 37(9): 1225-1230.
- [18] 陈晨, 周刚, 曹丽萍. miR-499、miR-146a 在急性冠脉综合征患者中的表达水平以及与冠脉病变程度的相关性 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2018, 10(6): 694-697.
- [19] MCMURRAY J J V, PONIKOWSKI P, BOLLI G B, et al. Effects of vildagliptin on ventricular function in patients with type 2 diabetes mellitus and heart failure: a randomized placebo-controlled trial[J]. *JACC Heart Fail*, 2018, 6(1): 8-17.
- [20] FAYYAZ A U, EDWARDS W D, MALESZEWSKI J J, et al. Global pulmonary vascular remodeling in pulmonary hypertension associated with heart failure and preserved or reduced ejection fraction[J]. *Circulation*, 2018, 137(17): 1796-1810.
- [21] 张蕾, 李跃, 何立娟, 等. 慢性心力衰竭患者血清 TBA 水平与心室重构及炎症反应的相关性 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2018, 10(12): 1506-1509.
- [22] 陈耽, 李骊华. miR-208 和 miR-499 与心血管病研究进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(8): 2270-2273.

(童颖丹 编辑)