

# 血液微小 RNA-499 对早期诊断急性心肌梗死价值的 Meta 分析

肖蕾, 沈飞燕, 洪斌, 姚康

(复旦大学附属中山医院青浦分院心内科, 上海 201700)

**摘要:**目的 评估病人血液微小 RNA-499 诊断早期急性心肌梗死的应用价值。方法 通过数据库 PubMed、Embase、Medline、Cochrane Library 检索已经发表的英文文献, 经文献质量评价后提取研究所需数据, 利用 Stata 14.0 软件进行 Meta 分析。结果 初步检索出 113 篇英文文献, 经纳入与排除标准筛选后, 最终纳入研究的文献共 9 篇。参与病例数 1 091 例, 合并研究间的异质性  $I^2 = 23.3\%$ , 敏感性 0.83, 特异性 0.88, 诊断优势比 36, 受试者工作特征曲线下面积 0.84。结论 血液中微小 RNA-499 在急性心肌梗死患者是升高的, 可以作为早期诊断的分子生物学标志。

**关键词:**微小 RNA-499; 急性心肌梗死; Meta 分析; 早期诊断

**doi:** 10.3969/j.issn.1009-6469.2018.01.012

## The value of microRNA-499 in blood for early diagnosis of acute myocardial infarction: a Meta-analysis

XIAO Lei, SHEN Feiyan, HONG Bin, YAO Kang

(Department of Cardiology, Shanghai Qingpu Branch, Zhongshan Hospital

Affiliated to Fudan University, Shanghai 201700, China)

**Abstract: Objective** To evaluate the value of microRNA-499 in blood of patients for early diagnosis of acute myocardial infarction. **Methods** We searched the English literatures through the database, PubMed, Embase, Medline, Cochrane Library to retrieve the published literature, and conducted quality assessment before extracting the required data. Statistical software Stata 14.0 was used to conduct the Meta-analysis. **Results** Primary literature retrieved 113 English documents, screening with the inclusion and exclusion criteria, a total of nine documents finally included in this study. The number of involved cases was 1 091, combined heterogeneity between studies was  $I^2 = 23.3\%$ , sensitivity was 0.83, specificity was 0.88, diagnostic odds ratio was 36, the area under the receiver operating characteristic curve was 0.84. **Conclusions** Blood microRNA-499 in patients with acute myocardial infarction is increased, so it can be used as molecular biomarkers for early diagnosis.

**Keywords:** microRNA-499; acute myocardial infarction; Meta-analysis; early diagnosis

急性心肌梗死(AMI)是慢性心脏病中常见的疾病形式,也是一种导致病人死亡的主要原因。在过去的十年里,国内 AMI 增长迅速,致残率和病死率也都处于相当高的水平<sup>[1]</sup>。许多研究报道了 AMI 的标志物,包括心肌型肌酸激酶同工酶(CK-MB)、心肌钙调蛋白 I(cTnI)等<sup>[2-3]</sup>,都是诊断早期 AMI 特异性较高的血清分子学标志。然而,敏感性较高的 cTnI 也缺少十足的把握能早期诊断 AMI 的发生,一系列的临床检查结果发现,cTnI 的阳性在非心源性胸部疼痛的病人和 AMI 引起的疼痛区分仍然不是很明显<sup>[4-5]</sup>。

最近研究发现,源于心肌产生的微小 RNA 在外周血中表达丰富,可以作为 AMI 诊断的新型分子生物学标志<sup>[6-8]</sup>。自从 1993 年首次发现微小 RNA 后,超过 2 000 种源于人类的微小 RNA 被克隆或编译<sup>[9]</sup>。微小 RNA 的衍化比较保守,是一类短链、非

编码蛋白的单链基因序列,大约由 22 个核苷酸组成,主要在转录后调控基因的表达<sup>[6]</sup>。据估计,微小 RNA 调控人类将近 50% 以上的基因编码,尽管它对信使 RNA(mRNA)的调控机制目前还不清楚,但公认的作用机制是:微小 RNA 可以通过特殊的方式对 mRNA 特定靶点的沉默作用<sup>[10]</sup>,在组织和细胞中调控基因的表达<sup>[11-12]</sup>。此外,微小 RNA 在血液中的稳定作用足以抵抗 RNA 酶的消化作用,即使在比较恶劣的环境下也能保持其自身的特异性调控作用<sup>[13-14]</sup>。微小 RNA 的释放不仅被认为是细胞凋亡的产物,还可参与细胞缺血性损伤的应激反应,因此微小 RNA 被认为是临床早期诊断 AMI 的分子生物学标志<sup>[15-16]</sup>。本研究的目的是评估微小 RNA-499 对 AMI 早期诊断价值。

### 1 资料与方法

**1.1 文献检索** 关键词检索 PubMed、Embase、

Medline、Cochrane Library 数据库,主要检索关键词有: microRNA-499、miR-499、acutemyocardial infarction、diagnosis,并通过参考纳入文献的相关文献,网页搜索有关本研究目的其他文献。

**1.2 文献纳入与排除** 纳入文献标准:(1)病人经临床确诊为首发的急性心肌梗死;(2)试验设计方案为急性心肌梗死组和对照组的方法;(3)文献为近几年公开发表的英文原著;(4)文献信息真实可靠;(5)文献经质量评价为高质量文献。文献排除标准:(1)有先天性或器质性心脏病患者;(2)文献为综述、会议及信件类;(3)试验设计类型为动物模型的文献;(4)标本来源为组织或分泌物或排泄物类的文献。

**1.3 文献质量评价标准** 根据 Cochrane 协作网系统制作的 QUADAS 评分条目对纳入文献进行质量评价,共对 11 个条目回答“是”、“否”、或“不清楚”,回答“是”的加 1 分,回答“否”的减 1 分,回答“不清楚”的加 0 分,最后得分不低于 6 分的文献均可纳入被研究的范围。

**1.4 数据提取及统计学方法** 提取纳入文献研究目的所需的相关数据,包含的主要信息有:纳入文献的第一作者,发表年份,文献来源,病例-对照组各组的病例数,微小 RNA-499 的检测方法及标本种类。成功提取数据后,应用 Stata 软件对提取的数据进行 Meta 分析。分析主要步骤:(1)纳入文献发表偏倚及异质性检验;(2)纳入文献的合并效应量;(3)获取纳入文献的总体敏感性(SENS)、特异性(SPEC)、阳性似然比(PLR)、阴性似然比(NLR)、诊断优势比(DOR);(4)敏感性分析。

## 2 结果

**2.1 文献检索结果** 文献检索流程如图 1 所示,初步文献检索共有 113 篇有关微小 RNA-499 和 AMI 的英文文献,排除重复性文献 22 篇,需简要浏览摘要的文献共 91 篇,去除综述信件和动物类试验

等文献,待提取数据的文献共 11 篇,最终经纳入与排除标准筛选后,符合纳入标准的文献共 9 篇<sup>[1,17-24]</sup>。

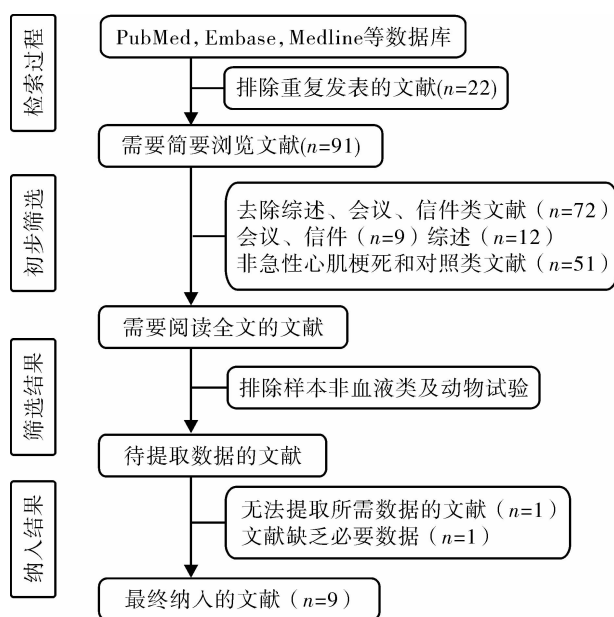


图 1 文献纳入流程图

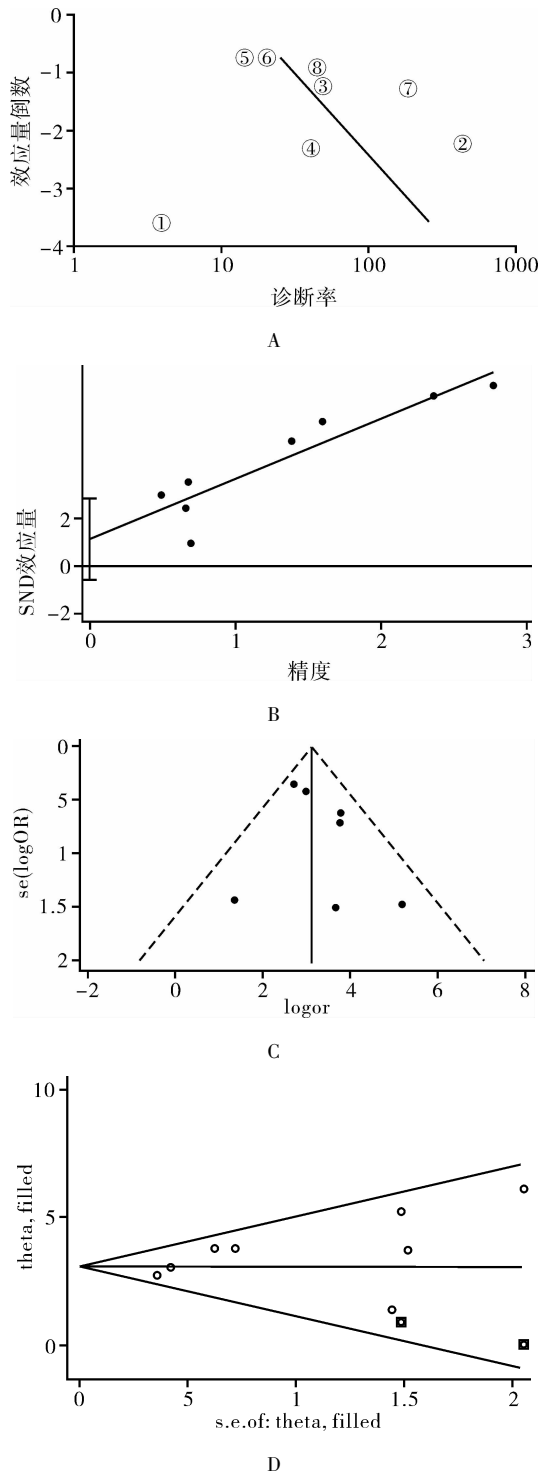
**2.2 纳入文献基本信息** 如表 1 所示,纳入本次研究的 QUADAS 文献质量评分均不低于 6 分。本研究共纳入 AMI 患者 821 例,对照组病例 270 例,文献主要来源于亚洲和欧洲。

**2.3 发表偏倚** 偏倚是影响研究结果是否可靠的主要因素,部分研究可能过分夸大治疗效果或危险因素的关联强度,导致临床个体治疗或治疗方案的制定失误,因此,发表偏倚检验是 Meta 分析结果质量评价的主要根据之一。对纳入文献齐性检验结果( $t = 1.15, P = 0.26$ ) (图 2A), Begg 秩相关检验结果( $Z = 1.73, P = 0.083$ ), Egger 线性回归分析结果( $t = 1.63, P = 0.155$ ) (图 2B), 以及纳入文献的漏斗图结果(图 2C), 均显示纳入文献存在低度的发表偏倚,通过剪补图分析结果(图 2D)发现,纳入研

表 1 纳入文献基本信息

编号	第一作者	年份	国家	样本	病例数	对照数	敏感性	特异性	曲线下面积	方法
1	Ji <sup>[1]</sup>	2015	中国	全血	77	21	0.82	0.83	0.791	SYBR 法
2	Devaux <sup>[17]</sup>	2015	卢森堡	全血	45	179	0.358	0.906	0.65	SYBR 法
3	Zhang <sup>[18]</sup>	2015	中国	血浆	142	85	0.8	0.803	0.86	TaqMan 探针
4	Gidl <sup>[19]</sup>	2013	瑞典	血浆	319	88	0.836	0.896	0.79	SYBR 法
5	Li <sup>[20]</sup>	2013	中国	血浆	67	18	0.796	0.936	0.884	SYBR 法
6	Olivieri <sup>[21]</sup>	2013	意大利	血浆	92	81	0.88	0.75	0.88	TaqMan 探针
7	Devaux <sup>[22]</sup>	2012	卢森堡	全血	31	32	0.767	0.822	0.86	TaqMan 探针
8	Gidl <sup>[23]</sup>	2011	瑞典	血浆	9	11	0.993	0.909	0.989	SYBR 法
9	Corsten <sup>[24]</sup>	2010	荷兰	血浆	32	36	0.847	0.941	0.918	SYBR 法

究的结果过分偏向于阳性结果。因此,此 Meta 分析结果的可靠性仍需更多的相关研究加以证实。



注: A. 纳入文献的齐性检验; B. 纳入文献的线性回归分析; C. 纳入文献的漏斗图; D. 剪补法分析结果, 方框代表缺失的研究对象。

图2 发表偏倚检验与异质性检验图

**2.4 异质性检验** 异质性是评价纳入研究结果间是否同质的主要参考指标, 异质性越大, 说明研究对象的临床方法学或统计学方法之间的差异越大, 直接合并分析的结果就不能充分说明问题。因此,

在对异质性较大的研究对象分析时, 越要慎重对待得出的结论。异质性的检验通常有 Q 统计量法、H 统计量法和 I<sup>2</sup> 统计量法, 本研究采用 I<sup>2</sup> 的统计量法和图示法分析纳入研究对象的异质性, 采用固定效应模型对纳入对象进行合并统计量 I<sup>2</sup> = 23.3%; P = 0.244 (I<sup>2</sup> < 25%, P > 0.05), 图示法结果可以看出研究间存在的异质性非常低, 线性拟合度比较高 (图3)。

**2.5 Meta 分析结果** 受试者工作特征曲线面积 (AUROC) 是评价诊断性试验的诊断效果的参考指标之一, 结果越接近于 1, 说明诊断效果越好。本研究获得的 AUROC 为 0.84 [95% CI: 0.80 ~ 0.87], 敏感性 0.83 [95% CI: 0.80 ~ 0.85], 特异性 0.88 [95% CI: 0.86 ~ 0.90], 阳性似然比 7.1 [95% CI: 6.8 ~ 7.3], 阴性似然比 0.20 [95% CI: 0.18 ~ 0.22], 诊断优势比 36 [95% CI: 34 ~ 37], 合并效应量为 25.08 (95% CI: 16.30 ~ 38.60)。对纳入研究按微小 RNA 检测方法进行亚组分析, 发现 TaqMan 法检测微小 RNA 表达水平的研究间异质性为 30.3%, P = 0.238; 而 SYBR 检测方法的异质性为 0.7%, P = 0.402。说明临床方法学异质性因素比较低, 此 Meta 分析的结果比较可靠。此外, 微小 RNA-499 作为 AMI 早期诊断的分子生物学标志, 获得了较高的诊断优势比, 敏感性和特异性也都比较高。

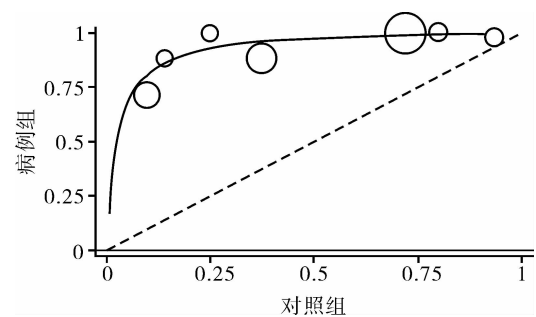


图3 拉贝法检验纳入研究的异质性

### 3 讨论

许多研究结果表明, 微小 RNA 可以调控细胞的许多功能, 包括细胞分化、增殖、凋亡及坏死等<sup>[25]</sup>。微小 RNA 在组织和血液中的表达水平的变化和各种心血管疾病是显著关联的, 动物和人类外周血检测结果表明微小 RNA 可以稳定的存在于血液中。此项分析结果表明, 微小 RNA-499 在早期 AMI 后血液中的表达是明显升高的, 并证实了微小 RNA-499 在 AMI 过程中的标志作用。这项发现对临床上早期 AMI 的治疗具有重要的临床意义。通过多

项病例对照研究结果,我们综合分析了AMI病人和非AMI病人血液中微小RNA-499的表达,结果显示微小RNA-499在AMI病人血液中表达升高的趋势较一致。累计性Meta分析趋势和敏感性分析结果提示微小RNA-499可以用来诊断早期急性心肌梗死病人。

最近,有许多与微小RNA相关的研究结果表明,外周血液中的微小RNA的表达变化影响AMI病人的病死率<sup>[26-27]</sup>,而且其浓度的改变会影响病人预后的一年生存率<sup>[28-29]</sup>。除此之外,也有研究表明,微小RNA和心肌重塑有关<sup>[30-31]</sup>。根据这些报道结果,尽管微小RNA具体的分子机制目前很大程度上不是很明确,微小RNA仍然可能作为早期诊断急性心肌梗死的分子生物学标志。而且,分层综合受试者工作特征曲线(HSROC)分析结果也表现出与Meta分析结果较一致,表明了此Meta分析的可靠性。

此外,本研究也存在着其自身的局限性,首先,纳入文献的血液中微小RNA检测结果仅仅是某一时时间点的相对表达水平,没有连续检测多个指标,缺少动态的变化过程,因此降低了分析结果的科学性。此外,我们的分析研究样本相对较小的,研究群体间也存在着区域差异和个体差异,需要更多的临床病例对照数据验证此分析结果的可靠性。总之,为获得准确可靠的统计学分析结果,仍需进一步的探究和分析。

### 参考文献

- [1] JI Q,JIANG Q,YAN W, et al. Expression of circulating microRNAs in patients with ST segment elevation acute myocardial infarction[J]. *Minerva Cardioangiol*,2015,63(5):397-402.
- [2] REICHLIN T,HOCHHOLZER W,BASSETTI S, et al. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays [J]. *N Engl J Med*,2009,361(9):858-867.
- [3] KELLER T,ZELLER T,PEETZ D, et al. Sensitive troponin I assay in early diagnosis of acute myocardial infarction [J]. *N Engl J Med*,2009,361(9):868-877.
- [4] HAAF P,DREXLER B,REICHLIN T, et al. High-sensitivity cardiac troponin in the distinction of acute myocardial infarction from acute cardiac noncoronary artery disease [J]. *Circulation*,2012,126(1):31-40.
- [5] THYGESEN K,MAIR J,KATUS H, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care[J]. *Eur Heart J*,2010,31(18):2197-2204.
- [6] SALIC K,DEWINDT LJ. MicroRNAs as biomarkers for myocardial infarction[J]. *Curr Atheroscler Rep*,2012,14(3):193-200.
- [7] HSU A,CHEN SJ,CHANG YS, et al. Systemic approach to identify serum micrnas as potential biomarkers for acute myocardial infarction[J]. *Biomed Res Inte*,2014,2014:418628.
- [8] D'ALESSANDRA Y,DEVANNA P,LIMANA F, et al. Circulating microRNAs are new and sensitive biomarkers of myocardial infarction[J]. *Eur Heart J*,2010,31(22):2765-2773.
- [9] LEE RC,FEINBAUM RL,AMBROS V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. *Cell*,1993,75(5):843-854.
- [10] LAGOS-QUINTANA M,RAUHUT R,YALCIN A, et al. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse [J]. *Curr Biol*,2002,12(9):735-739.
- [11] GUO H,INGOLIA NT,WEISSMAN JS, et al. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels[J]. *Nature*,2010,466(7308):835-840.
- [12] BARTEL DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*,2004,116(2):281-297.
- [13] LI C,PEI F,ZHU X, et al. Circulating microRNAs as novel and sensitive biomarkers of acute myocardial infarction [J]. *Clin Bio Chem*,2012,45(10/11):727-732.
- [14] TURCHINOVICH A,WEIZ L,LANGHEINZ A, et al. Characterization of extracellular circulating microRNA [J]. *Nucleic Acids Res*,2011,39(16):7223-7233.
- [15] OLIVIERI F,ANTONICELLI R,CAPOGROSSI MC, et al. Circulating microRNAs (miRs) for diagnosing acute myocardial infarction: an exciting challenge [J]. *Int J Cardiol*,2013,167(6):3028-3029.
- [16] CREEMERS EE,TIJSEN AJ,PINTO YM. Circulating microRNAs: novel biomarkers and extracellular communicators in cardiovascular disease[J]. *Circ Res*,2012,110(3):483-495.
- [17] DEVAUX Y,MUELLER M,HAAF P, et al. Diagnostic and prognostic value of circulating microRNAs in patients with acute chest pain [J]. *J Intern Med*,2015,277(2):260-271.
- [18] 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.
- [19] GIDL FO,SMITH JG,MIYAZU K, et al. Circulating cardio-enriched microRNAs are associated with long-term prognosis following myocardial infarction [J]. *BMC Cardiovasc Disord*,2013,13:12.
- [20] LI YQ,ZHANG MF,WEN HY, et al. Comparing the diagnostic values of circulating microRNAs and cardiac troponin T in patients with acute myocardial infarction [J]. *Clinics (Sao Paulo)*,2013,68(1):75-80.
- [21] OLIVIERI F,ANTONICELLI R,LORENZI M, et al. Diagnostic potential of circulating miR-499-5p in elderly patients with acute non ST-elevation myocardial infarction [J]. *Int J Cardiol*,2013,167(2):531-536.
- [22] DEVAUX Y,VAUSORT M,GORETTI E, et al. Use of circulating microRNAs to diagnose acute myocardial infarction [J]. *Clin Chem*,2012,58(3):559-567.
- [23] GIDL FO,ANDERSSON P,VANDERPALS J, et al. Cardiospecific microRNA plasmalevels correlate with troponin and cardiac function in patients with ST elevation myocardial infarction, are selectively dependent on renal elimination, and can be detected in urine samples [J]. *Cardiology*,2011,118(4):217-226.