

◇临床医学◇

# 微小 RNA-133 在慢性心力衰竭患者血清中表达 及与心肌重构和心功能的相关性

张雪莲<sup>1</sup>, 原芳<sup>2</sup>

(1. 衡水市第二人民医院, 河北 衡水 053000; 2. 河南省人民医院心内科, 河南 郑州 450003)

**摘要:**目的 探讨微小 RNA-133 在慢性心力衰竭(CHF)患者血清中表达及与心肌重构和心功能相关性。方法 选取 CHF 患者 136 例, 根据美国 NYHA 分级标准分为: I ~ II 级 45 例、III 级 53 例、IV 级 38 例; 同期, 从体检中心选取健康者 50 例作为对照组。所有研究对象均行超声心动图检查, 检测血清中 N 末端 B 型钠肽原(NT-proBNP)水平和血清中 miR-133 表达。结果 CHF 患者血清 NT-proBNP 水平、miR-133a 和 miR-133b 表达量均高于对照组, IV 级患者血清 NT-proBNP 水平、miR-133a 和 miR-133b 表达量均高于 III 级和 I ~ II 级, 且 III 级均高于 I ~ II 级, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); CHF 患者左室舒张末内径(LVEDD)、左心房内径(LAP)、左心室后壁厚度(LVPW)和左室质量指数(LVMI)均较对照组增加, 而左室重构指数(LVRI)、心输出量(CO)和左室射血分数(LVEF)均较对照组减少, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), I ~ II 级患者 LAP、LVPW 和 LVMI 均低于 III 级和 IV 级, 且 III 级均低于 IV 级, LVRI、CO 和 LVEF 均高于 III 级和 IV 级, 且 III 级均高于 IV 级, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); Pearson 相关分析显示, CHF 患者血清中 miR-133a 表达量与 NT-proBNP、LAP、LVPW 和 LVMI 呈正相关( $r = 0.801, 0.620, 0.346$  和  $0.313, P < 0.05$ ), 而与 CO 和 LVEF 呈负相关( $r = -0.335$  和  $-0.523, P < 0.05$ ), 血清中 miR-133b 表达量与 NT-proBNP、LAP、LVPW 和 LVMI 呈正相关( $r = 0.732, 0.593, 0.371$  和  $0.266, P < 0.05$ ), 而与 LVRI、CO 和 LVEF 呈负相关( $r = -0.194, -0.260$  和  $-0.543, P < 0.05$ )。结论 miR-133a 和 miR-133b 在 CHF 患者血清中表达量升高, 与心肌重构和心脏功能密切相关。

**关键词:**心力衰竭; 微 RNAs; 心室重构; 心脏功能试验; 超声心动描记术; 聚合酶链反应

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2016.10.017

## Expression of miR-133 in the serum of patients with chronic heart failure and its correlation with myocardial remodeling and cardiac function

ZHANG Xuelian<sup>1</sup>, YUAN Fang<sup>2</sup>

(1. The Second Renmin Hospital, Hengshui, Hebei 053000, China;

2. Department of Cardiology, Henan Renmin Hospital, Zhengzhou, Henan 450003, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the expression of miR-133 in the serum of patients with chronic heart failure(CHF) and its correlation with myocardial remodeling and cardiac function. **Methods** A hundred and thirty-six cases of patients with CHF were selected, and were assigned into different groups according to American NYHA classification standards: I ~ II grade 45 cases, III grade 53 cases and IV grade 38 cases. During the same period, 50 cases of health were selected as the control group. All subjects took echocardiographic examination. The levels of N-terminal B-type natriuretic peptide(NT-proBNP) and miR-133 were detected. **Results** The serum levels of NT-proBNP and expression levels of miR-133a and miR-133b in patients with CHF were higher than the control group; the serum levels of NT-proBNP and expression levels of miR-133a and miR-133b in IV grade patients were higher than III grade and I ~ II grade, and III grade were higher than I ~ II grade. The differences were statistically significant( $P < 0.05$ ). The LVEDD, LAP, LVPW and LVMI in patients with CHF were increased, while LVRI, CO and LVEF were decreased compared with the control group. The differences were statistically significant( $P < 0.05$ ). The LAP, LVPW and LVMI in I ~ II grade patients were lower than III grade and IV grade, and III grade were lower than IV grade; LVRI, CO and LVEF were higher than III grade and IV grade, and III grade were higher than IV grade. The differences were statistically significant( $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis showed that the expression levels of miR-133a in patients with CHF were positively correlated with NT-proBNP, LAP, LVPW and LVMI( $r = 0.801, 0.620, 0.346$  and  $0.313, P < 0.05$ ), while were negatively correlated with CO and LVEF( $r = -0.335$  and  $-0.523, P < 0.05$ ); the expression levels of miR-133b in patients with CHF were positively correlated with NT-proBNP, LAP, LVPW and LVMI( $r = 0.732, 0.593, 0.371$  and  $0.266, P < 0.05$ ), while were negatively correlated with LVRI, CO and LVEF( $r = -0.194, -0.260$  and  $-0.543, P < 0.05$ ). **Conclusions** The expression levels of miR-133a and miR-133b in serum of patients with CHF were increased, which were closely related with myocardial remodeling and cardiac function.

**Key words:** Heart failure; MicroRNAs; Ventricular remodeling; Heart function tests; Echocardiography; Polymerase chain reaction

慢性心力衰竭(chronic heart failure, CHF)作为临床上常见疾病,是各种心脏疾病的终末阶段,随着我国老龄化加速,该病发病率逐年增加<sup>[1]</sup>,具有较高的致死、致残率,严重影响患者生存质量,给社会和家庭带来沉重负担。研究证实,神经内分泌过度激活和心脏重塑是 CHF 发生的重要机制<sup>[2]</sup>。微小 RNA (microRNA, miRNA) 作为高度保守的非编码短小单链 RNA,参与机体多种生物学功能,且表达具有较严格的细胞、组织和发育阶段特异性<sup>[3]</sup>,研究表明,miRNA 参与了冠状动脉粥样硬化、冠心病、心肌梗死等多种心血管疾病发病过程<sup>[4]</sup>。有研究<sup>[5]</sup>指出,微小 RNA-133 (miR-133) 特异性表达于心脏组织,且与心脏细胞发育、凋亡、心肌重构等过程密切相关。本研究拟对 miR-133 在 CHF 患者血清中表达变化进行研究,探讨其与心肌重构和心功能的相关性,以期为临床早期评估 CHF 提供参考指标。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2014 年 2 月至 2015 年 8 月在衡水市第二人民医院内科住院治疗的 CHF 患者 136 例,其中,男性 77 例,女性 59 例,年龄 35 ~ 74 岁,平均年龄(60.8 ± 10.2)岁,均符合 CHF 诊断标准。原发疾病:高血压性心脏病 41 例,冠心病 42 例,风湿性心脏病 22 例,扩张型心肌病 31 例。病例纳入标准:CHF 病史 > 6 个月,心力衰竭症状持续 > 6 个月,左室射血分数 < 45%,左室舒张末内径:男性 > 55 mm,女性 > 50 mm。排除标准:合并有心脏瓣膜病、急性心包炎、阻塞性肺部疾病及肺动脉栓塞者,肝肾等重要脏器功能障碍者,近 1 月内行经皮冠脉介入(PCI)治疗者及有过不稳定心绞痛、急性心肌炎和急性心肌梗死者。根据美国 NYHA 分级标准分为:I ~ II 级 45 例、III 级 53 例、IV 级 38 例。同期,从体检中心选取健康者 50 例作为对照组,其中,男性 28 例,女性 22 例,年龄 35 ~ 74 岁,平均年龄(58.6 ± 9.7)岁。本研究通过衡水市第二人民医院伦理委员会批准,所有患者均知情同意。

## 1.2 方法

**1.2.1 超声心动图检查** 利用 Philips iE33 超声检测仪对所有研究对象进行二维和三维超声心动图检查,根据美国超声心动图学会推荐的方法对反映研究对象心肌重构指标进行检测,包括左室舒张末内径(LVEDD)、左心房内径(LAP)、左心室后壁厚度(LVPW)、左室质量指数(LVMI)、左室重构指数(LVRI);利用二维上平面法对反映心功能指标进行检测,包括心输出量(CO)和左室射血分数

(LVEF)。

**1.2.2 检测血清中 N 末端 B 型钠肽原(NT-proBNP)水平** 所有研究对象于入院次日抽取晨起空腹静脉血 6 mL,离心后,保存于 -70 °C 冰箱以备检。利用电化学发光免疫全自动分析仪(购自瑞士 Roche 公司)检测血清中 NT-proBNP 水平,试剂盒购自上海超研生物科技有限公司。

**1.2.3 利用实时荧光定量 PCR 技术检测研究对象血清中 miR-133 表达** 取血清,用 TRIzol 总 RNA 提取试剂盒(购自北京雷根生物技术有限公司)对血清中总 RNA 进行提取,并用紫外分光光度计检测样品纯度,以  $A_{260}/A_{280} \geq 1.80$  作为合格样品。用逆转录试剂盒(购自宝生物公司)进行逆转录获得模板 cDNA,以 cDNA 为模板用 PCR 试剂盒(购自宝生物公司)进行 PCR。miR-133 及内参引物均由上海生工公司设计合成,引物序列分别为:miR-133a:上游:5'-GCCAAGCTGCTAAAATGGAA-3',下游:5'-TATGGTTTTGACGACTGTGTGAT-3'; miR-133b:上游:5'-TTTGCTCCCCTTCAACCAGCTA-3',下游:5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3', U6:上游:5'-CGCAAGGATGACACGCAAATTC-3',下游:5'-GTGCAGGCTCCGA-3'。PCR 反应条件:92 °C 60 s, 92 °C 60 s, 56 °C 30 s, 74 °C 30 s,连续进行 36 次循环。每个样品均设置三个平行反应复孔。用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法获得样品中 miR-133a 和 miR-133b 表达量。

**1.3 统计学方法** 利用 SPSS 21.0 统计分析软件进行统计学处理,计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,利用 Pearson 相关分析对变量间相关关系进行分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同研究对象血清 NT-proBNP 水平和 miR-133a、miR-133b 表达比较** CHF 患者血清 NT-proBNP 水平、miR-133a 和 miR-133b 表达量均高于对照组,IV 级患者血清 NT-proBNP 水平、miR-133a 和 miR-133b 表达量均高于 III 级和 I ~ II 级,且 III 级均高于 I ~ II 级,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

**2.2 不同研究对象心肌重构和心功能指标比较** CHF 患者 LVEDD、LAP、LVPW 和 LVMI 均较对照组增加,而 LVRI、CO 和 LVEF 均较对照组减少,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),I ~ II 级患者 LAP、LVPW 和 LVMI 均低于 III 级和 IV 级,且 III 级均低于 IV 级,LVRI、CO 和 LVEF 均高于 III 级和 IV 级,且 III 级均高于 IV 级,均差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 1 不同研究对象血清 NT-proBNP 水平和 miR-133a、miR-133b 表达比较/ $\bar{x} \pm s$

| 组别       | 例数 | NT-proBNP/ng · L <sup>-1</sup> | miR-133a 表达量               | miR-133b 表达量               |
|----------|----|--------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 对照组      | 50 | 576.5 ± 34.6                   | 1.05 ± 0.09                | 1.09 ± 0.11                |
| CHF 患者   |    |                                |                            |                            |
| I ~ II 级 | 45 | 876.2 ± 48.2 <sup>a</sup>      | 1.18 ± 0.12 <sup>a</sup>   | 1.21 ± 0.13 <sup>a</sup>   |
| Ⅲ级       | 53 | 1257.2 ± 53.7 <sup>ab</sup>    | 1.48 ± 0.11 <sup>ab</sup>  | 1.52 ± 0.12 <sup>ab</sup>  |
| Ⅳ级       | 38 | 1538.4 ± 68.2 <sup>abc</sup>   | 1.62 ± 0.15 <sup>abc</sup> | 1.65 ± 0.16 <sup>abc</sup> |
| F 值      |    | 2918.381                       | 210.261                    | 133.460                    |
| P 值      |    | <0.001                         | <0.001                     | <0.001                     |

注:与对照组相比,<sup>a</sup>*P* < 0.05;与 I ~ II 级相比,<sup>b</sup>*P* < 0.05;与Ⅲ级相比,<sup>c</sup>*P* < 0.05。

表 2 不同研究对象心肌重构和心功能指标比较/ $\bar{x} \pm s$

| 组别       | 例数 | LVEDD/mm                | LAP/mm                    | LVPW/mm                   | LVMI/g · m <sup>-2</sup>    | LVRI/g · mL <sup>-1</sup>  | CO/mL · min <sup>-1</sup> | LVEF/%                    |
|----------|----|-------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|
| 对照组      | 50 | 46.8 ± 5.9              | 36.2 ± 8.2                | 8.1 ± 1.1                 | 103.2 ± 44.2                | 1.18 ± 0.23                | 7.3 ± 1.9                 | 54.9 ± 5.1                |
| CHF 患者   |    |                         |                           |                           |                             |                            |                           |                           |
| I ~ II 级 | 45 | 72.1 ± 7.1 <sup>a</sup> | 43.8 ± 5.1 <sup>a</sup>   | 8.7 ± 1.4 <sup>a</sup>    | 115.6 ± 32.5 <sup>a</sup>   | 1.09 ± 0.27 <sup>a</sup>   | 6.6 ± 1.5 <sup>a</sup>    | 50.2 ± 4.8 <sup>a</sup>   |
| Ⅲ级       | 53 | 73.5 ± 8.2 <sup>a</sup> | 50.2 ± 4.7 <sup>ab</sup>  | 9.7 ± 1.3 <sup>ab</sup>   | 131.5 ± 33.7 <sup>ab</sup>  | 0.97 ± 0.21 <sup>ab</sup>  | 5.8 ± 1.7 <sup>ab</sup>   | 44.6 ± 5.2 <sup>ab</sup>  |
| Ⅳ级       | 38 | 76.1 ± 9.3 <sup>a</sup> | 54.7 ± 3.3 <sup>abc</sup> | 10.5 ± 1.2 <sup>abc</sup> | 139.4 ± 31.4 <sup>abc</sup> | 0.90 ± 0.26 <sup>abc</sup> | 5.2 ± 1.6 <sup>abc</sup>  | 40.3 ± 6.4 <sup>abc</sup> |
| F 值      |    | 134.741                 | 123.234                   | 36.275                    | 15.696                      | 15.811                     | 19.021                    | 90.687                    |
| P 值      |    | <0.001                  | <0.001                    | <0.001                    | <0.001                      | <0.001                     | <0.001                    | <0.001                    |

注:与对照组相比,<sup>a</sup>*P* < 0.05;与 I ~ II 级相比,<sup>b</sup>*P* < 0.05;与Ⅲ级相比,<sup>c</sup>*P* < 0.05。

**2.3 CHF 患者血清中 miR-133a 和 miR-133b 表达量与 NT-proBNP、心肌重构和心功能指标相关性** Pearson 相关分析显示,CHF 患者血清中 miR-133a 表达量与 NT-proBNP、LAP、LVPW 和 LVMI 呈正相关(*r* = 0.801、0.620、0.346 和 0.313, *P* < 0.05),而与 CO 和 LVEF 呈负相关(*r* = -0.335 和 -0.523, *P* < 0.05);CHF 患者血清中 miR-133b 表达量与 NT-proBNP、LAP、LVPW 和 LVMI 呈正相关(*r* = 0.732、0.593、0.371 和 0.266, *P* < 0.05),而与 LVRI、CO 和 LVEF 呈负相关(*r* = -0.194、-0.260 和 -0.543, *P* < 0.05)。

3 讨论

CHF 作为各类心血管疾病的终末期表现,临床症状群较为复杂,表现为心脏收缩和(或)舒张功能障碍,出现心肌重构而发生一系列病理学改变<sup>[6]</sup>,目前,具体发生机制尚未完全阐明。研究表明<sup>[7]</sup>,miRNA 在多种心血管疾病发生过程中发挥重要作用。有研究指出<sup>[8]</sup>,心肌梗死后发生左室心肌重构的患者血浆 miR-133a 水平升高,且与左室重构有关。动物试验表明<sup>[9]</sup>,miR-133 参与了小鼠心肌重构的调控过程。miR-133 包括 miR-133a 和 miR-133b 两个类型,特异性表达于心脏的心肌细胞,在调控心肌细胞凋亡、心肌发育及纤维化过程中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。本研究显示,CHF 患者血清 miR-133a 和

miR-133b 表达量均高于对照组,Ⅳ级患者血清 miR-133a 和 miR-133b 表达量均高于Ⅲ级和 I ~ II 级,且Ⅲ级均高于 I ~ II 级,说明 CHF 患者血清中 miR-133 出现了表达异常,且随着 CHF 病情进展而表达升高,提示 miR-133 可能参与了 CHF 病程进展。

NT-proBNP 作为心室肌细胞合成物质,与左心室压力密切相关,是心力衰竭的独立预测指标<sup>[11]</sup>,本研究显示,CHF 患者血清 NT-proBNP 水平均高于对照组,Ⅳ级患者血清 NT-proBNP 水平均高于Ⅲ级和 I ~ II 级,且Ⅲ级均高于 I ~ II 级,说明 NT-proBNP 是反映 CHF 病情进展的指标,Pearson 相关分析显示,CHF 患者血清中 miR-133a 和 miR-133b 表达量均与 NT-proBNP 水平呈正相关,提示 miR-133 亦可作为评估 CHF 患者病情的指标。本研究显示,CHF 患者 LVEDD、LAP、LVPW 和 LVMI 均较对照组增加,而 LVRI、CO 和 LVEF 均较对照组减少,I ~ II 级患者 LAP、LVPW 和 LVMI 均低于Ⅲ级和Ⅳ级,且Ⅲ级均低于Ⅳ级,LVRI、CO 和 LVEF 均高于Ⅲ级和Ⅳ级,且Ⅲ级均高于Ⅳ级,说明 CHF 患者心肌发生了重构且心脏功能下降,而且随着患者病情进展,心肌重构越严重、心脏功能越差,Pearson 相关分析显示,CHF 患者血清中 miR-133a 和 miR-133b 表达量均与 LAP、LVPW 和 LVMI 呈正相关,而与 CO 和