

引用本文:汪化文,申仑,张绍义,等.长链非编码RNA母系表达基因3、微小RNA-21表达与冠状动脉钙化的相关性分析[J].安徽医药,2022,26(10):2053-2057.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.10.034.

◇临床医学◇



## 长链非编码RNA母系表达基因3、微小RNA-21表达与冠状动脉钙化的相关性分析

汪化文<sup>1</sup>,申仑<sup>2</sup>,张绍义<sup>1</sup>,郭淑娟<sup>1</sup>

作者单位:<sup>1</sup>邯郸市中心医院老年医学科一科,河北 邯郸 056000;

<sup>2</sup>邯郸市第一医院神经外科,河北 邯郸 056000

**摘要:** 目的 探究长链非编码RNA母系表达基因3(LncRNA MEG3)、微小RNA-21(miR-21)与冠状动脉钙化的相关性。方法 选取2018年6月至2019年6月在邯郸市中心医院行冠状动脉造影及CT检查确诊为冠状动脉钙化病人189例作为钙化组,另选取同期在该院行冠状动脉造影及CT检查显示无冠状动脉钙化者183例作为未钙化组。采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测血清LncRNA MEG3、miR-21表达水平,采用Pearson法分析病人血清LncRNA MEG3、miR-21水平及与糖化血红蛋白(HbA1c)、高敏C反应蛋白(hs-CRP)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )水平相关性,采用logistic回归模型分析冠状动脉钙化发生的影响因素,采用ROC曲线评估血清LncRNA MEG3、miR-21表达水平对冠状动脉钙化的预测价值。结果 与未钙化组相比,钙化组血清miR-21 [2.87 $\pm$ 0.93比1.02 $\pm$ 0.29]、HbA1c [(6.95 $\pm$ 1.31)%比(5.41 $\pm$ 1.26)%]、hs-CRP [(5.13 $\pm$ 1.74)mg/L比(3.02 $\pm$ 1.01)mg/L]、TNF- $\alpha$  [(11.72 $\pm$ 3.92)ng/L比(9.82 $\pm$ 4.13)ng/L]、IL-1 $\beta$ 水平[(4.96 $\pm$ 0.95)ng/L比(2.32 $\pm$ 0.74)ng/L]及冠心病(80.95%比15.85%)、高血压比例(53.97%比22.40%)较高( $P$ <0.05),血清LncRNA MEG3表达水平[0.62 $\pm$ 0.17比1.01 $\pm$ 0.31]较低( $P$ <0.05)。冠状动脉钙化病人血清LncRNA MEG3与miR-21、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平呈负相关,miR-21与hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平呈正相关( $P$ <0.05)。冠心病、LncRNA MEG3、miR-21水平是影响冠状动脉钙化发生的危险因素( $P$ <0.05)。血清LncRNA MEG3、miR-21联合检测预测冠状动脉钙化的曲线下面积为0.88[95%CI:(0.84, 0.91)],灵敏度为84.13%,特异度为85.79%。结论 冠状动脉钙化病人血清LncRNA MEG3表达水平明显降低,miR-21表达水平明显升高,二者可能作为生物标志物,共同预示冠状动脉钙化发生。

**关键词:** 冠状动脉疾病; 血管钙化; 长链非编码RNA母系表达基因3; 微小RNA-21; 冠状动脉钙化; 相关性

### Analysis of the correlation between the expressions of LncRNA MEG3 and miR-21 and coronary artery calcification

WANG Huawen<sup>1</sup>, SHEN Lun<sup>2</sup>, ZHANG Shaoyi<sup>1</sup>, GUO Shujuan<sup>1</sup>

Author Affiliations:<sup>1</sup>Department 1 of Geriatric Medicine, Handan Central Hospital, Handan, Hebei 056000, China;

<sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Handan First Hospital, Handan, Hebei 056000, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the relationships between long non-coding RNA maternally expressed gene 3 (LncRNA MEG3), microRNA-21 (miR-21) and coronary artery calcification. **Methods** From June 2018 to June 2019, 189 patients with coronary artery calcification confirmed by coronary angiography and CT in Handan Central Hospital were selected as calcification group, in addition, 183 patients who underwent coronary angiography and CT examination in the same period and showed no coronary artery calcification were selected as non-calcified group. The expression levels of serum LncRNA MEG3 and miR-21 were detected by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR), Pearson's method was used to analyze the levels of serum LncRNA MEG3 and miR-21, and their correlation with glycosylated hemoglobin (HbA1c), high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ). Logistic regression model was used to analyze the influencing factors of coronary artery calcification, and ROC curve was used to evaluate the predictive value of serum expression levels of LncRNA MEG3 and miR-21 for coronary artery calcification. **Results** Compared with the non-calcified group, the serum miR-21 [(2.87 $\pm$ 0.93 vs. (1.02 $\pm$ 0.29)], HbA1c [(6.95 $\pm$ 1.31) % vs. (5.41 $\pm$ 1.26) %], hs-CRP [(5.13 $\pm$ 1.74) mg/L vs. (3.02 $\pm$ 1.01) mg/L], TNF- $\alpha$  [(11.72 $\pm$ 3.92) ng/L vs. (9.82 $\pm$ 4.13) ng/L], IL-1 $\beta$  [(4.96 $\pm$ 0.95) ng/L vs. (2.32 $\pm$ 0.74) ng/L] and the proportions of coronary heart disease [(80.95 % vs. (15.85 %)] and hypertension [(53.97 % vs. (22.40 %)] in the calcified group were higher ( $P$ <0.05), and the expression level of serum LncRNA MEG3 [0.62 $\pm$ 0.17 vs. 1.01 $\pm$ 0.31] was lower ( $P$ <0.05). Serum LncRNA MEG3 was negatively correlated with miR-21, hs-CRP, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  levels in patients with coronary artery calcification, and miR-21 was positively correlated with hs-CRP, TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  ( $P$ <0.05). Coronary heart disease, LncRNA MEG3 and miR-21 were the risk factors for coronary artery calcification ( $P$ <0.05). The area under the curve of the combined detection of se-

rum LncRNA MEG3 and miR-21 in predicting coronary artery calcification was 0.88 (95 % CI: 0.84-0.91), the sensitivity was 84.13 %, and the specificity was 85.79 %.

**Conclusion** The expression level of serum LncRNA MEG3 in patients with coronary artery calcification is significantly decreased, and the expression level of miR-21 is significantly increased, both of which may serve as biomarkers to commonly predict the occurrence of coronary artery calcification.

**Key words:** Coronary artery disease; Vascular calcification; Long non-coding RNA maternally expressed gene 3; MicroRNA-21; Coronary artery calcification; Correlation

冠状动脉钙化是钙盐在冠状动脉壁上沉积的病理改变<sup>[1]</sup>。研究表明,钙化是冠状动脉粥样硬化、高血压等疾病的共同的标志性病理表现<sup>[2-3]</sup>。钙化在一定程度上可预示冠心病的发生和严重程度,也是病人发生心肌梗死等急性心血管事件的重要预测因素<sup>[4]</sup>。因此早期筛查冠状动脉钙化对预防心血管疾病发生有重要意义。研究认为,炎症反应增加是冠状动脉钙化发生的重要影响因素。有研究表明,长链非编码 RNA 母系表达基因 3 (LncRNA MEG3) 在动脉粥样硬化病人血浆中表达下调,与肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 等炎性因子分泌增加有关,可能通过影响炎症反应参与疾病进展调节<sup>[5]</sup>。心肌梗死模型小鼠心肌组织中微小 RNA-21 (miR-21) 表达显著升高,与单核细胞/巨噬细胞产生的 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等炎性因子表达水平升高密切相关,可调控小鼠心脏功能障碍<sup>[6]</sup>。由于 LncRNA MEG3、miR-21 在冠状动脉钙化进展中研究较少,且 LncRNA MEG3 与 miR-21 在其他疾病中已被证实有相互作用机制<sup>[7]</sup>,本研究拟通过检测血清 LncRNA MEG3、miR-21 表达水平,分析二者与冠状动脉钙化发生关系,并探究二者对冠状动脉钙化发生的评估价值,以期为临床早期准确评估冠状动脉钙化发生发展提供一定帮助。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2018 年 6 月至 2019 年 6 月在邯郸市中心医院行冠状动脉造影及 CT 检查确诊为冠状动脉钙化病人 189 例作为研究对象 (钙化组),其中男性 104 例,女性 85 例,年龄 (61.58 $\pm$ 8.13) 岁,范围 51~73 岁。另选取同期在该院行冠状动脉造影及 CT 检查显示无冠状动脉钙化者 183 例作为未钙化组,其中男性 94 例,女性 89 例,年龄 (60.69 $\pm$ 7.82) 岁,范围 49~72 岁。纳入标准:①钙化组 Agatston 积分 > 0 分<sup>[8]</sup>;②未钙化组 Agatston 积分 = 0<sup>[8]</sup>;③临床资料完整。排除标准:①合并患有心肌梗死、严重心力衰竭者;②肝、肾功能严重不足者;③合并患有感染性疾病、甲状腺疾病、恶性肿瘤者。本研究获邯郸市中心医院伦理委员会批准 (批号 20180425),病人或其近亲属对研究方案签署知情同意书。

**1.2 主要仪器和试剂** 实时荧光定量 PCR (qRT-

PCR) 仪 (美国 ABI 公司,型号 7500)、RNA 提取试剂盒 (北京百泰克生物技术有限公司,货号 RP2401)、反转录试剂盒 (美国 Qiagen 公司,货号 205311)、qRT-PCR 试剂盒 (美国 Qiagen 公司,货号 208152)、TNF- $\alpha$  酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒 (德国 IBL 公司,货号 JK-00018)、IL-1 $\beta$  ELISA 试剂盒 (德国 IBL 公司,货号 BE45111)。

## 1.3 方法

**1.3.1 样本采集** 所有受试者于入院检查时清晨空腹采集外周静脉血 5 mL,在 4 °C、3 000 r/min (离心半径 14.5 cm) 条件下离心 10 min,收集上清液 (即血清) 于无菌 EP 管中,在 -80 °C 环境下保存。

**1.3.2 一般资料收集** 所有受试者于入院检查时收集年龄、体质量指数 (BMI)、血钙、血磷、血肌酐 (SCr)、总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、糖化血红蛋白 (HbA1c)、高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 等一般资料。

**1.3.3 血清 LncRNA MEG3、miR-21 表达水平检测** 采用 qRT-PCR 法检测血清 LncRNA MEG3、miR-21 表达水平。采用 Trizol 法提取总 RNA 后,使用反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA,用于 qRT-PCR。qRT-PCR 20  $\mu$ L 反应体系如下: cDNA 2  $\mu$ L, 正向、反向引物各 2  $\mu$ L, SYBR<sup>®</sup> Primix Ex Taq<sup>™</sup> 10  $\mu$ L, ROX 0.4  $\mu$ L, DEPC 水 3.6  $\mu$ L。反应步骤如下: 95 °C、8 min, 1 个循环; 95 °C、15 s, 62 °C、38 s, 73 °C、15 s, 40 个循环, 一个样品设置三个重复。采用 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 法计算 LncRNA MEG3、miR-21 相对表达水平。实验所用引物序列如表 1 所示。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物 5'-3'
LncRNA MEG3	正向: CTGCCCATCTACACCTCAGG 反向: CTCTCCGCCCTGCGCTAGGGGCT
miR-21	正向: ACGTTGTGTAGCTTATTTCAGACTG 反向: AATGGTTGTTTCTCCCACTCTC
GAPDH	正向: GAAGGTGAAGGTGGGACTCA 反向: GAAGATGGTGATGGGATTTT
U6	正向: ATTGGAACGATACAGAGAAGATT 反向: GGAACACTTCACGAATTTG

注: LncRNA MEG3 为长链非编码 RNA 母系表达基因 3, miR-21 为微小 RNA-21, GAPDH 为甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

**1.3.4 血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达水平检测** 采用ELISA法检测血清TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达水平,严格按照试剂盒说明书进行操作。

**1.4 统计学方法** 使用SPSS 19.0软件对本文中数据进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 $t$ 检验;计数资料用例(%)表示,用 $\chi^2$ 检验;采用Pearson法分析冠状动脉钙化病人血清LncRNA MEG3、miR-21表达水平及与HbA1c、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平相关性;采用logistic回归模型分析冠状动脉钙化发生的影响因素;采用受试者工作特征曲线(ROC)评估血清LncRNA MEG3、miR-21表达水平对冠状动脉钙化的预测价值。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 钙化组与未钙化组一般资料比较** 钙化组与未钙化组年龄、BMI、血钙、血磷、SCr、TC、TG、HDL-C、LDL-C水平及性别、糖尿病、高血脂症比例比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。钙化组血清HbA1c、hs-CRP水平及冠心病、高血压比例均明显高于未钙化组( $P < 0.05$ )。见表2。

**2.2 钙化组与未钙化组血清LncRNA MEG3、miR-21、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达水平** 钙化组病人血清LncRNA MEG3表达水平明显低于未钙化组,血清miR-21、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达水平明显高于未钙化组( $P < 0.05$ ),见表3。

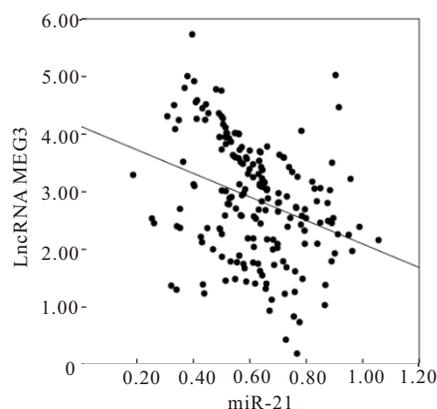
**2.3 冠状动脉钙化病人血清LncRNA MEG3与miR-21表达水平相关性** 冠状动脉钙化病人血清LncRNA MEG3与miR-21表达水平呈负相关( $r = -0.32, P < 0.001$ )。见图1。

**2.4 冠状动脉钙化病人血清LncRNA MEG3、miR-21表达水平与HbA1c、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平相关性** 冠状动脉钙化病人血清LncRNA

**表3** 冠状动脉钙化189例与无冠状动脉钙化183例血清LncRNA MEG3、miR-21、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 表达水平比较 $\bar{x} \pm s$

组别	例数	LncRNA MEG3	miR-21	TNF- $\alpha$ /(ng/L)	IL-1 $\beta$ /(ng/L)
钙化组	189	0.62 $\pm$ 0.17	2.87 $\pm$ 0.93	11.72 $\pm$ 3.92	4.96 $\pm$ 0.95
未钙化组	183	1.01 $\pm$ 0.31	1.02 $\pm$ 0.29	9.82 $\pm$ 4.13	2.32 $\pm$ 0.74
$t$ 值		15.11	25.73	4.55	29.84
$P$ 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:LncRNA MEG3为长链非编码RNA母系表达基因3,miR-21为微小RNA-21,TNF- $\alpha$ 为肿瘤坏死因子- $\alpha$ ,IL-1 $\beta$ 为白细胞介素-1 $\beta$ 。



**图1** 冠状动脉钙化病人血清长链非编码RNA母系表达基因3(LncRNA MEG3)与微小RNA-21(miR-21)表达水平相关性

MEG3与hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平呈负相关,血清miR-21与hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平呈正相关( $P < 0.05$ ),见表4。

**2.5 冠状动脉钙化发生的影响因素分析** 以本研究资料为样本,以是否发生冠状动脉钙化为因变量(发生=1,未发生=0),以表2,表3中两组差异有统计学意义( $P < 0.05$ )的冠心病、高血压及HbA1c、hs-CRP、LncRNA MEG3、miR-21、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 水平等8个指标为自变量建立logistic回归模型,通过采用方差膨胀因子分析自变量之间的多重共线性分析显示,本

**表2** 冠状动脉钙化189例与无冠状动脉钙化183例一般资料比较

组别	例数	性别(男/女)/例	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$ )	BMI/(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x} \pm s$ )	冠心病/例	高血压/例	糖尿病/例	高血脂症/例	血钙/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )
钙化组	189	104/85	61.58 $\pm$ 8.13	22.61 $\pm$ 2.42	153(80.95)	102(53.97)	39(20.63)	65(34.39)	2.34 $\pm$ 0.06
未钙化组	183	94/89	60.69 $\pm$ 7.82	22.39 $\pm$ 2.38	29(15.85)	41(22.40)	35(19.13)	57(31.15)	2.35 $\pm$ 0.08
$t(\chi^2)$ 值		(0.50)	1.08	0.88	(157.71)	(39.14)	(0.13)	(0.44)	1.37
$P$ 值		0.479	0.283	0.377	<0.001	<0.001	0.715	0.505	0.173

组别	血磷/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	SCr/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	TC/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	TG/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	HDL-C/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	LDL-C/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	HbA1c/(%, $\bar{x} \pm s$ )	hs-CRP/(mg/L, $\bar{x} \pm s$ )
钙化组	1.21 $\pm$ 0.23	72.03 $\pm$ 21.76	4.69 $\pm$ 0.94	1.58 $\pm$ 0.62	1.21 $\pm$ 0.39	2.65 $\pm$ 0.72	6.95 $\pm$ 1.31	5.13 $\pm$ 1.74
未钙化组	1.24 $\pm$ 0.19	69.15 $\pm$ 19.34	4.72 $\pm$ 0.97	1.64 $\pm$ 0.65	1.23 $\pm$ 0.36	2.78 $\pm$ 0.81	5.41 $\pm$ 1.26	3.02 $\pm$ 1.01
$t(\chi^2)$ 值	1.37	1.35	0.30	0.91	0.51	1.64	11.55	14.24
$P$ 值	0.172	0.179	0.762	0.363	0.608	0.102	<0.001	<0.001

注:BMI为体质量指数,SCr为血肌酐,TC为总胆固醇,TG为三酰甘油,HDL-C为高密度脂蛋白胆固醇,LDL-C为低密度脂蛋白胆固醇,HbA1c为糖化血红蛋白,hs-CRP为高敏C反应蛋白。

**表4** 冠状动脉钙化病人血清 LncRNA MEG3、miR-21 表达水平与 HbA1c、hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平相关性

指标		HbA1c	hs-CRP	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$
LncRNA MEG3	r 值	-0.21	-0.39	-0.39	-0.39
	P 值	0.138	<0.001	<0.001	<0.001
miR-21	r 值	0.21	0.40	0.39	0.34
	P 值	0.137	<0.001	<0.001	0.002

注: LncRNA MEG3 为长链非编码 RNA 母系表达基因 3, miR-21 为微小 RNA-21, HbA1c 为糖化血红蛋白, hs-CRP 为高敏 C 反应蛋白, TNF- $\alpha$  为肿瘤坏死因子- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  为白细胞介素-1 $\beta$ 。

研究所纳入的自变量方差膨胀因子均<10, 所以不存在多重共线性, 可进行 logistic 回归分析。经二元 logistic 回归分析显示, 冠心病、LncRNA MEG3 水平、miR-21 水平是影响冠状动脉钙化发生的危险因素 ( $P<0.05$ )。见表 5。

**表5** 冠状动脉钙化发生的影响因素的 logistic 回归分析

自变量	$\beta$ 值	SE 值	Wald $\chi^2$ 值	P 值	OR 值	95% CI
冠心病	0.88	0.45	3.87	0.049	2.42	(1.00, 5.83)
LncRNA MEG3	2.39	0.70	11.68	0.001	10.93	(2.77, 43.09)
miR-21	-2.21	0.34	41.71	<0.001	0.11	(0.06, 0.21)
常量	2.19	1.03	4.53	0.033	8.90	—

注: 1.“—”表示无相关数据。

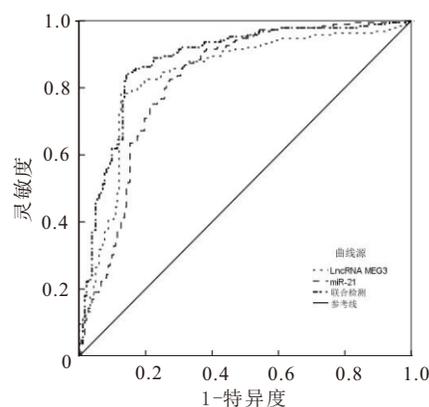
2.LncRNA MEG3 为长链非编码 RNA 母系表达基因 3, miR-21 为微小 RNA-21。

**2.6 血清 LncRNA MEG3、miR-21 表达水平对冠状动脉钙化的预测价值分析** 血清 LncRNA MEG3 预测冠状动脉钙化的曲线下面积为 0.84 [95% CI: (0.79, 0.87)], 当血清 LncRNA MEG3 取截断值 0.83 时, 其诊断灵敏度为 78.19%, 特异度为 87.43%。血清 miR-21 预测冠状动脉钙化的曲线下面积为 0.82 [95% CI: (0.78, 0.86)], 当血清 miR-21 取截断值 1.81 时, 其诊断灵敏度为 81.48%, 特异度为 73.77%。血清 LncRNA MEG3、miR-21 联合检测预测冠状动脉钙化的曲线下面积为 0.88 [95% CI: (0.84, 0.91)], 灵敏度为 84.13%, 特异度为 85.79%。见图 2。

### 3 讨论

血管平滑肌细胞表型转化是血管钙化发生的重要机制, 在炎症反应刺激下, 来源于间充质干细胞的血管平滑肌细胞可转化为成骨细胞, 通过产生骨基质蛋白促进矿化进程并沉积于血管<sup>[9]</sup>。表明炎症反应增加和血管平滑肌细胞表型转化是冠状动脉钙化发生的重要影响因素。

LncRNA MEG3 是一种长度大于 200 nt 的长链非编码 RNA, 已被证实可通过调控相关通路在肿瘤进展中起抑制作用<sup>[10]</sup>。Bai 等<sup>[11]</sup>研究发现, 冠心病



**图2** 血清 LncRNA MEG3、miR-21 表达水平对冠状动脉钙化的预测价值的 ROC 曲线

病人动脉组织中 LncRNA MEG3 表达水平下调, 过表达 LncRNA MEG3 可通过抑制血管平滑肌细胞增殖、促进细胞凋亡参与动脉粥样硬化进展调控。本研究结果显示, 钙化组病人血清 LncRNA MEG3 表达水平明显低于未钙化组, 提示 LncRNA MEG3 在冠状动脉钙化发生时呈低表达, 可能与血管平滑肌细胞代谢异常有关。有研究报道, LncRNA MEG3 在肺部细菌感染小鼠模型中下调, 过表达时可靶向抑制 IL-1 $\beta$  等炎症因子表达减缓小鼠的肺部炎症反应<sup>[12]</sup>。强直性脊柱炎病人血清中 LncRNA MEG3 低表达, 可靶向 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  发挥抗炎作用<sup>[13]</sup>。本研究中, 冠状动脉钙化病人血清 LncRNA MEG3 与 hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平呈负相关, 提示 LncRNA MEG3 可能通过调控 hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等炎症因子表达促进炎症反应进展, 进而影响血管平滑肌细胞转化等促进冠状动脉钙化发生。

miR-21 是一种短链非编码 RNA, 在乳腺癌、高血压肾损害等疾病中具有调控作用<sup>[14-15]</sup>。有研究发现, miR-21 可通过调控血管平滑肌细胞增殖和迁移影响血管内皮功能<sup>[16]</sup>。Vahed 等<sup>[17]</sup>研究报道, 冠脉狭窄病人外周血单个核细胞中 miR-21 表达水平明显升高, 可能通过影响血管生成、白细胞黏附、炎症反应等生物学过程促进冠脉疾病的发生和进展。本研究结果显示, 与未钙化组相比, 钙化组血清 miR-21 表达水平明显升高, 提示 miR-21 表达水平上调可能预示冠状动脉钙化发生。有研究表明, miR-21 可通过调控骨桥蛋白等表达影响血管平滑肌细胞表型转化, 参与动脉粥样硬化发生发展<sup>[18]</sup>。推测冠状动脉钙化发生时 miR-21 高表达可能与血管平滑肌细胞表型转化有关。又有研究表明, miR-21 定位于心脏组织中的炎性细胞, 是急性心脏损伤大鼠心脏炎症浸润的潜在生物标志物<sup>[19]</sup>。脓毒症病人外周血中 miR-21 表达水平升高, 可能靶向激活 NLRP3 等炎性小体分泌 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  等炎症因子介导

脂多糖诱导的细胞焦亡过程<sup>[20-21]</sup>。本研究结果显示,血清 miR-21 与 hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  水平呈正相关,提示 miR-21 在冠状动脉钙化发生进展中可能通过调节炎症反应增加诱导血管平滑肌细胞转化等。

Zhu 等<sup>[7]</sup>研究发现,LncRNA MEG3 在肺动脉平滑肌细胞中表达下调,正常或缺氧状态下抑制 MEG3 均可通过靶向调控 miR-21/PTEN 表达促进细胞增殖和迁移。本研究结果显示,冠状动脉钙化病人血清 LncRNA MEG3 与 miR-21 表达水平呈负相关,提示 LncRNA MEG3 在参与冠状动脉钙化发生时可能通过影响 miR-21 表达发挥作用,但具体机制尚需进行进一步验证。

进一步研究发现,LncRNA MEG3、miR-21 水平均是影响冠状动脉钙化发生的危险因素,血清 LncRNA MEG3、miR-21 联合检测预测冠状动脉钙化的曲线下面积为 0.88,灵敏度为 84.13%,特异度为 85.79%,提示二者对冠状动脉钙化发生的预测价值较高,临床可关注二者变化,以提高冠状动脉钙化的早期诊出率。

综上所述,冠状动脉钙化病人血清 LncRNA MEG3 表达水平明显降低,miR-21 表达水平明显升高,二者可能作为生物标志物,共同预示冠状动脉钙化发生。但由于本研究仅从表达层面分析二者在冠状动脉钙化中的作用,具体作用机制还需进一步进行动物、细胞等实验进行验证。

### 参考文献

- [1] 史雨晨,柳景华.他汀类药物与冠状动脉钙化关系的研究进展[J].中国动脉硬化杂志,2018,26(12):1212-1215.
- [2] GROSSMAN C, LEVIN M, KOREN-MORAG N, et al. Left ventricular hypertrophy predicts cardiovascular events in hypertensive patients with coronary artery calcifications[J]. Am J Hypertens, 2018, 31(3): 313-320.
- [3] 唐文成,潘美玲,郑志燕.颈动脉斑块及主动脉瓣钙化与冠心病的相关性[J].安徽医药,2020,24(8):1610-1612.
- [4] 付金财,于波.冠状动脉钙化评分在冠心病风险分层及预测中的作用[J].心血管康复医学杂志,2018,27(5):603-606.
- [5] YAN L, LIU ZC, YIN HY, et al. Silencing of MEG3 inhibited ox-LDL-induced inflammation and apoptosis in macrophages via modulation of the MEG3/miR-204/CDKN2A regulatory axis[J]. Cell Biol Int, 2019, 43(4): 409-420.
- [6] YANG L, WANG B, ZHOU Q, et al. MicroRNA-21 prevents excessive inflammation and cardiac dysfunction after myocardial infarction through targeting KBTBD7[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(7): 1-14.
- [7] ZHU BQ, GONG YY, YAN GL, et al. Down-regulation of lncRNA MEG3 promotes hypoxia-induced human pulmonary artery smooth muscle cell proliferation and migration via repressing PTEN by sponging miR-21[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 495(3): 2125-2132.
- [8] VAN DER BIJL N, JOEMAI RMS, GELEIJNS J, et al. Assessment of agatston coronary artery calcium score using contrast-enhanced CT coronary angiography[J]. AJR Am J Roentgenol, 2010, 195(6): 1299-1305.
- [9] 王云丹.血管平滑肌细胞参与慢性肾脏病血管钙化的研究进展[J].国际泌尿系统杂志,2018,38(2):329-332.
- [10] WU M, HUANG Y, CHEN T, et al. LncRNA MEG3 inhibits the progression of prostate cancer by modulating miR-9-5p/QKI-5 axis[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(1): 29-38.
- [11] BAI Y, ZHANG Q, SU Y, et al. Modulation of the proliferation/apoptosis balance of vascular smooth muscle cells in atherosclerosis by lncRNA-MEG3 via regulation of miR-26a/Smad1 axis[J]. Int Heart J, 2019, 60(2): 444-450.
- [12] LI R, FANG L, PU Q, et al. MEG3-4 is a miRNA decoy that regulates IL-1 $\beta$  abundance to initiate and then limit inflammation to prevent sepsis during lung infection[J]. Sci Signal, 2018, 11(536): 1-15.
- [13] LI YH, ZHANG SS, ZHANG C, et al. LncRNA MEG3 inhibits the inflammatory response of ankylosing spondylitis by targeting miR-146a[J]. Mol Cell Biochem, 2020, 466(1/2): 17-24.
- [14] KHALIGHFARD S, ALIZADEH AM, IRANI S, et al. Plasma miR-21, miR-155, miR-10b, and Let-7a as the potential biomarkers for the monitoring of breast cancer patients[J]. Sci Rep, 2018, 8:17981. DOI:10.1038/S41598-018-36321-3.
- [15] 韩聪,姜月华,李伟.miRNA-21在高血压肾损害中的作用机制及研究进展[J].中华高血压杂志,2019,27(8):728-733.
- [16] FANG Q, TIAN M, WANG F, et al. Amlodipine induces vasodilation via Akt2/Sp1-activated miR-21 in smooth muscle cells[J]. Br J Pharmacol, 2019, 176(13): 2306-2320.
- [17] VAHED SZ, AGHAEI-BAKHTEIARI SH, DARAEI A, et al. Expression pattern of miR-21, miR-25 and PTEN in peripheral blood mononuclear cells of patients with significant or insignificant coronary stenosis[J]. Gene, 2019, 698(1): 170-178.
- [18] HAN H, YANG S, LIANG Y, et al. Teniposide regulates the phenotype switching of vascular smooth muscle cells in a miR-21-dependent manner[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 506(4): 1040-1046.
- [19] GRYSHKOVA V, FLEMING A, MCGHAN P, et al. miR-21-5p as a potential biomarker of inflammatory infiltration in the heart upon acute drug-induced cardiac injury in rats[J]. Toxicol Lett, 2018, 286: 31-38.
- [20] XUE Z, XI Q, LIU H, et al. miR-21 promotes NLRP3 inflammasome activation to mediate pyroptosis and endotoxin shock[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(6): 1-13.
- [21] 明颖.多项炎症因子联合监测对细菌性脓毒症的辅助诊断作用[J].安徽医药,2019,23(3):491-494.

(收稿日期:2020-10-26,修回日期:2020-12-06)