



(OSID码)

· 论著 ·

血液循环中微小 RNA-140-3p 和 Toll 样受体 4 表达与冠心病患者经皮冠状动脉介入术后支架内再狭窄的关系研究

冯六六, 白艳艳, 史骏, 刘天华, 刘新兵, 单蓉

【摘要】 背景 支架内再狭窄是影响经皮冠状动脉介入术 (PCI) 患者远期预后的主要不良事件之一。Toll 样受体 (TLR) 介导的炎症反应和血管内皮损伤在 PCI 后支架内再狭窄机制中发挥着重要作用, 故围绕该机制筛选生物标志物对 PCI 后患者管理具有重要意义。**目的** 分析血液循环中微小 RNA-140-3p (miR-140-3p) 和 TLR4 表达与冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的关系。**方法** 选取上海市杨浦区市东医院 2016 年 7 月—2017 年 12 月收治的行 PCI 的 285 例冠心病患者作为病例组, 根据有无发生支架内再狭窄将冠心病患者分为再狭窄亚组 ($n=44$) 和无再狭窄亚组 ($n=241$)。另选取同期在上海市杨浦区市东医院进行健康体检的 300 例中老年 (45~75 岁) 健康志愿者作为对照组。比较病例组与对照组 miR-140-3p、TLR4 相对表达量, 再狭窄亚组与无再狭窄亚组患者人口学特征、合并症、生活习惯、实验室检查指标、影像学资料及 PCI 情况; miR-140-3p、TLR4 相对表达量与冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的关系分析采用多因素 Logistic 回归分析及 ROC 曲线。**结果** 病例组患者 miR-140-3p 相对表达量低于对照组, TLR4 相对表达量高于对照组 ($P<0.05$)。再狭窄亚组患者糖尿病发生率、空腹血糖、超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、降钙素原 (PCT)、TLR4 相对表达量、冠状动脉狭窄率高于无再狭窄亚组, miR-140-3p 相对表达量及左心室射血分数 (LVEF) 低于无再狭窄亚组, 支架内径小于无再狭窄亚组 ($P<0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示, 糖尿病、PCT 及 TLR4 相对表达量是冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的危险因素, 而 miR-140-3p 相对表达量、LVEF 及支架内径是冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的保护因素 ($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示, miR-140-3p、TLR4 相对表达量预测冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.866、0.798, 与 PCT 的 0.862 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$), 但高于 LVEF 的 0.531 ($P<0.05$)。**结论** 血液循环中 miR-140-3p 和 TLR4 表达是冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的影响因素, 且二者对冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的预测价值较高, 可作为预测冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的生物标志物。

【关键词】 冠心病; 经皮冠状动脉介入术; 支架内再狭窄; Toll 样受体 4; 微小 RNA-140-3p

【中图分类号】 R 541.4 **【文献标识码】** A DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2020.12.005

冯六六, 白艳艳, 史骏, 等. 血液循环中微小 RNA-140-3p 和 Toll 样受体 4 表达与冠心病患者经皮冠状动脉介入术后支架内再狭窄的关系研究 [J]. 实用心脑血管病杂志, 2020, 28 (12): 21-26. [www.syxnf.net]

FENG L L, BAI Y Y, SHI J, et al. Relations between the expression of microRNA-140-3p and TLR4 in blood circulation and in-stent restenosis after percutaneous coronary intervention in patients with coronary heart disease [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2020, 28 (12): 21-26.

Relations between the Expression of MicroRNA-140-3p and TLR4 in Blood Circulation and In-stent Restenosis after Percutaneous Coronary Intervention in Patients with Coronary Heart Disease FENG Liuliu, BAI Yanyan, SHI Jun, LIU Tianhua, LIU Xinbing, SHAN Rong

Shidong Hospital of Yangpu District, Shanghai, Shanghai 200438, China

Corresponding author: BAI Yanyan, E-mail: 13764109302@163.com

【Abstracts】 Background In-stent restenosis is one of the major adverse events affecting the long-term prognosis of patients after percutaneous coronary intervention (PCI). Inflammatory response and vascular endothelial injury mediated by Toll-like receptor (TLR) play an important role in the mechanism of in-stent restenosis after PCI, therefore, screening biomarkers around this mechanism is of great significance to the management of patients after PCI. **Objective** To analyze the relationship between the expression of microRNA-140-3p (miR-140-3p) and TLR4 in blood circulation and in-stent restenosis after PCI in patients with coronary heart disease. **Methods** A total of 285 patients with coronary heart disease who

基金项目: 上海市医学重点专科建设项目 (ZK2015B23)

200438 上海市杨浦区市东医院

通信作者: 白艳艳, E-mail: 13764109302@163.com

underwent PCI in Shidong Hospital of Yangpu District, Shanghai from July 2016 to December 2017 were selected as the case group, and they were divided into restenosis subgroup ($n=44$) and no-restenosis subgroup ($n=241$) according to the occurrence of in-stent restenosis. Meanwhile 300 cases middle-aged and elderly (45–75 years old) healthy volunteers who had physical examination in East City Hospital of Yangpu District, Shanghai were selected as control group. The relative expression levels of miR-140-3p and TLR4 were compared between the case group and the control group. The demographic characteristics, complications, living habits, laboratory examination indexes, imaging data and PCI circumstances were compared between restenosis subgroup and no-restenosis subgroup. The relationship between the relative expression levels of miR-140-3p and TLR4 and in-stent restenosis after PCI in patients with coronary heart disease was analyzed by multivariate Logistic regression analysis and ROC curve. **Results** The relative expression level of miR-140-3p in the case group was lower than that in the control group, while the relative expression level of TLR4 was higher than that in the control group ($P<0.05$). The incidence of diabetes mellitus, fasting blood glucose, high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), procalcitonin (PCT), relative expression level of TLR4, coronary artery stenosis rate in the restenosis subgroup were higher than those in the no-restenosis subgroup, relative expression level of miR-140-3p and left ventricular ejection fraction (LVEF) were higher than those in the no-restenosis subgroup, while the stent diameter was smaller than that in the no-restenosis subgroup ($P<0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that, diabetes mellitus, PCT, relative expression level of TLR4 were the risk factors of in-stent restenosis after PCI in patients with coronary heart disease, while the relative expression level of miR-140-3p, LVEF and stent diameter were the protective factors of in-stent restenosis after PCI in patients with coronary heart disease ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that, the AUC of relative expression levels of miR-140-3p and TLR4 in predicting in-stent restenosis after PCI in patients with coronary heart disease was 0.866 and 0.798, respectively, which was similar to the PCT of 0.862 ($P>0.05$), but was higher than that of LVEF of 0.531 ($P<0.05$). **Conclusion** The expression of miR-140-3p and TLR4 in blood circulation are the influencing factors of in-stent restenosis after PCI in patients with coronary heart disease, and they have relatively high predictive value on in-stent restenosis after PCI in patients with coronary heart disease, which can be biomarkers for predicting in-stent restenosis after PCI in patients with coronary heart disease.

【Key words】 Coronary heart disease; Percutaneous coronary intervention; In-stent restenosis; Toll-like receptor 4; MicroRNA-140-3p

经皮冠状动脉介入术(percutaneous coronary intervention, PCI)能够在紧急情况下快速开通梗死血管,缓解心肌损伤,是冠心病患者的主要血运重建方法,但术后支架内再狭窄的发生在很大程度上影响了患者的预后^[1-2]。近年有学者提出支架内新生动脉粥样硬化(in-stent neoatherosclerosis, ISNA)的概念,并认为ISNA是PCI后支架内再狭窄的主要原因^[3]。病理学研究发现,在ISNA中存在大量富含脂质的巨噬细胞及局部浸润的淋巴细胞、嗜酸粒细胞,这一发现揭示了免疫炎症反应在ISNA发生、发展过程中发挥着重要作用。Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)是参与冠心病循环系统炎症反应和内皮功能损伤的经典标志物,其与斑块产生及破裂密切相关^[4]。本研究旨在分析血液循环中TLR4、微小RNA(miR)-140-3p表达与冠心病患者PCI后支架内再狭窄的关系,并发现调控TLR4的上游miR-140-3p也是冠心病的潜在生物标志物,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取上海市杨浦区市东医院2016年7月—2017年12月收治的行PCI的285例冠心病患者作为病例组,均符合《临床冠心病诊断与治疗指南》^[5]

本研究价值:

近年在心血管疾病的病理机制和靶点研究中,微小RNA(miRNAs)因具有高度保守性和表达时序性,在循环系统中表达相对稳定,而颇受研究者关注,是一种理想的分子标志物。目前研究已证实,多种miRNAs对冠心病具有一定诊断价值,但与经皮冠状动脉介入术(PCI)后支架内再狭窄的关系研究较少。本研究发现血液循环中miR-140-3p和Toll样受体4(TLR4)表达对冠心病患者PCI后支架内再狭窄的预测价值较高,可作为预测冠心病患者PCI后支架内再狭窄的生物标志物。

中的冠心病诊断标准,并具备PCI指征。根据有无发生支架内再狭窄将冠心病患者分为再狭窄亚组($n=44$)和无再狭窄亚组($n=241$)。另选取同期在上海市杨浦区市东医院进行健康体检的300例中老年(45~75岁)健康志愿者作为对照组。本研究经上海市杨浦区市东医院伦理委员会审核批准(伦理号:2016-012-01),所有患者对本研究知情并签署知情同意书。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:(1)临床病理资料完整;(2)随访资料完整,且随访时间 ≥ 2 年。排除标准:(1)合并传染性疾病者;(2)合并免疫系统疾病者;

(3) 合并肿瘤者; (4) 合并任何原因引发的感染者;
(5) 合并哮喘或过敏体质者。

1.3 观察指标

1.3.1 临床资料 详细统计患者的临床资料, 主要包括人口学特征、合并症、生活习惯、实验室检查指标、影像学资料。其中人口学特征包括年龄、性别、身高、体重, 并计算体质指数 (BMI)。合并症包括高血压、糖尿病发生情况。生活习惯包括吸烟、饮酒及熬夜情况, 吸烟定义为吸烟指数 (平均每日吸烟支数 $\times$ 吸烟年数) ≥ 50 支年; 饮酒定义为平均乙醇摄入量 >25 g/d; 熬夜定义为平均超过 24:00 入睡 ≥ 3 d/周。实验室检查指标包括血脂四项 [总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)]、空腹血糖、心肌酶谱 [肌酸激酶 (CK)、肌酸激酶同工酶 (CK-MB)]、炎症标志物 [超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP)、降钙素原 (PCT)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白介素 6 (IL-6)] 及外周血 miR-140-3p、TLR4 表达情况, 其中血脂四项、空腹血糖、心肌酶谱及炎症标志物均采用罗氏诊断产品 (上海) 有限公司提供的 cobas ®c 311 全自动生化分析仪及其配套试剂或试剂盒进行检测。采用荧光定量聚合酶链式反应 (RT-PCR) 检测两组受试者外周血 miR-140-3p、TLR4 相对表达量, 主要步骤如下: (1) 冠心病患者于 PCI 前、健康志愿者于体检当天抽取血样本, -80°C 超低温环境下存储血样, 且未经过反复冻融。(2) 取出血样并于无菌操作台上处理, 先在冰上自然溶解, 然后采用 miRNAs 提取试剂盒 (检测 miR-140-3p) 或总 RNA 提取试剂盒 (检测 TLR4) 提取全血样本的 miRNAs 或总 RNA, 鉴定 RNA 质量是否合格。(3) 采用通用的 RT-PCR 试剂盒进行反转录, 根据说明书要求配置常规反转录体系, 置入 PCR 管, 37°C 15 min, 85°C 30 s, 4°C 存贮, 准备扩增。(4) 根据试剂盒要求配置扩增体系, 引物如下: miR-140-3p 正向引物 5'-ACACTCCAGCTGGGAGGCGGGCGCCGCGG A-3', 反向引物 5'-CTCAACTGGTGTCTGGA-3'; U6 正向引物 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 反向引物 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。TLR4 正向引物 5'-AGACCTGTCCCTGAACCCTAT-3', 反向引物 5'-CGATGGACTTCTAAACCAGCCA-3'; GAPDH 正向引物 5'-GGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3', 反向引物 5'-CAAAGTTGTCATGGATGHACC-3'。(5) 扩增完成后, 根据公式 ($2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$) 分别计算 miR-140-3p、TLR4 相对表达量。影像学资料主要包括冠状动脉狭窄支数、冠状动脉狭窄率及左心室射血分数 (LVEF)。

1.3.2 PCI 情况 记录患者支架植入情况 (包括支架长度、内径)、随访期间支架内再狭窄发生情况。支架内

再狭窄判断标准: PCI 后出现血管介入部位心肌梗死、心绞痛, 或复查冠状动脉造影显示支架内、近端及远端 5 mm 范围的管腔直径狭窄率 $\geq 50\%$, 参考血管为支架远端 5 mm 外的正常血管^[6]。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计学软件和 MedCalc v19.0.7 分析数据。符合正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用成组 t 检验; 不符合正态分布的计量资料以 $M(QR)$ 表示, 组间比较采用 Mann-Whitney U 检验; 计数资料以相对数表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 等级资料比较采用秩和检验; 冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的影响因素分析采用多因素 Logistic 回归分析; 绘制 ROC 曲线以评价 PCT、miR-140-3p 相对表达量、TLR4 相对表达量及 LVEF 对冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的预测价值, 并采用 Hanley-McNeil 非参数法比较曲线下面积 (AUC)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病例组与对照组外周血 miR-140-3p、TLR4 相对表达量比较 病例组患者 miR-140-3p 相对表达量低于对照组, TLR4 相对表达量高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 见表 1)。

表 1 病例组与对照组 miR-140-3p、TLR4 相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Comparison of relative expression levels of miR-140-3p and TLR4 between case group and control group

组别	例数	miR-140-3p	TLR4
对照组	300	0.852 ± 0.165	0.301 ± 0.127
病例组	285	0.660 ± 0.198	0.523 ± 0.164
t 值		12.766	18.358
P 值		<0.001	<0.001

注: miR-140-3p= 微小 RNA-140-3p, TLR4= Toll 样受体 4

2.2 再狭窄亚组与无再狭窄亚组患者临床资料及支架植入情况比较 再狭窄亚组与无再狭窄亚组患者年龄、性别、BMI、高血压发生率、吸烟率、饮酒率、熬夜者所占比例、TC、TG、LDL-C、HDL-C、CK、CK-MB、TNF- α 、IL-6 及冠状动脉狭窄支数、支架长度比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 再狭窄亚组患者糖尿病发生率、空腹血糖、hs-CRP、PCT、TLR4 相对表达量及冠状动脉狭窄率高于无再狭窄亚组, miR-140-3p 相对表达量及 LVEF 低于无再狭窄亚组, 支架内径小于无再狭窄亚组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 见表 2~3)。

2.3 冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的影响因素 将表 2~3 中有统计学差异的指标作为自变量 (其中空腹血糖与糖尿病存在明显共线性, 剔除检验统计量值较小的空腹血糖, 仅保留糖尿病), 将支架内再狭窄作为因变量 (赋值: 无 = 0, 有 = 1), 进行多因素 Logistic 回归分析,

表2 再狭窄亚组与无再狭窄亚组患者人口学特征、合并症、生活习惯及实验室检查指标比较

Table 2 Comparison of demographic characteristics, complications, living habits, laboratory examination indexes between restenosis subgroup and non-restenosis subgroup

组别	例数	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别 (男/女)	BMI ($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	高血压 [n (%)]	糖尿病 [n (%)]	吸烟 [n (%)]	饮酒 [n (%)]	熬夜 [n (%)]	TC ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	TG ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	LDL-C ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)
再狭窄亚组	44	63.2 ± 5.1	25/19	22.7 ± 3.6	14 (31.8)	12 (27.3)	20 (45.5)	14 (31.8)	20 (45.5)	4.41 ± 0.67	0.85 ± 0.18	2.55 ± 0.46
无再狭窄亚组	241	64.1 ± 5.9	144/97	23.2 ± 3.3	55 (22.8)	46 (19.1)	95 (43.2)	76 (31.5)	104 (43.2)	4.39 ± 0.52	0.91 ± 0.21	2.62 ± 0.51
检验统计量值		0.549 ^a	0.133 ^b	0.849 ^a	1.641 ^b	4.979 ^b	0.563 ^b	0.001 ^b	0.080 ^b	0.224 ^a	1.779 ^a	0.849 ^a
P 值		0.343	0.716	0.396	0.200	0.026	0.453	0.970	0.777	0.823	0.076	0.396

组别	HDL-C ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	空腹血糖 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	CK [M (QR), U/L]	CK-MB [M (QR), U/L]	hs-CRP [M (QR), g/L]	PCT [M (QR), g/L]	TNF- α [M (QR), μ g/L]	IL-6 [M (QR), μ g/L]	miR-140-3p 相对 表达量 ($\bar{x} \pm s$)	TLR4 相对表 达量 ($\bar{x} \pm s$)
再狭窄亚组	1.47 ± 0.35	7.01 ± 0.85	65.5 (163.8)	24.1 (21.3)	42.3 (333.8)	6.5 (26.2)	85.6 (131.1)	105.5 (168.0)	0.532 ± 0.152	0.625 ± 0.152
无再狭窄亚组	1.35 ± 0.41	6.46 ± 0.96	55.4 (138.8)	21.0 (15.7)	38.6 (314.7)	5.5 (21.5)	80.5 (124.7)	101.0 (51.4)	0.685 ± 0.188	0.495 ± 0.142
检验统计量值	1.823 ^a	3.553 ^a	0.622 ^c	1.506 ^c	2.167 ^c	2.470 ^c	0.229 ^c	0.514 ^c	4.941 ^a	5.364 ^a
P 值	0.069	0.004	0.534	0.132	0.030	0.013	0.819	0.607	<0.001	<0.001

注: BMI= 体质指数, TC= 总胆固醇, TG= 三酰甘油, LDL-C= 低密度脂蛋白胆固醇, HDL-C= 高密度脂蛋白胆固醇, CK= 肌酸激酶, CK-MB= 肌酸激酶同工酶, hs-CRP= 超敏 C 反应蛋白, PCT= 降钙素原, TNF- α = 肿瘤坏死因子 α , IL-6= 白介素 6; ^a 为 t 值, ^b 为 χ^2 值, ^c 为 u 值

表3 再狭窄亚组与无再狭窄亚组患者影像学资料及支架植入情况比较

Table 3 Comparison of imaging data and stent implantation between restenosis subgroup and non-restenosis subgroup

组别	例数	冠状动脉狭窄支数 [n (%)]			冠状动脉狭窄率 ($\bar{x} \pm s$, %)	LVEF ($\bar{x} \pm s$, %)	支架长度 ($\bar{x} \pm s$, mm)	支架内径 ($\bar{x} \pm s$, mm)
		单支	双支	三支				
再狭窄亚组	44	9 (20.5)	17 (38.6)	18 (40.9)	84.4 ± 7.4	55.7 ± 6.1	23.5 ± 2.6	2.6 ± 3.2
无再狭窄亚组	241	56 (23.2)	68 (28.2)	117 (48.6)	82.2 ± 6.5	59.5 ± 7.2	24.2 ± 3.1	2.8 ± 4.1
t (χ^2) 值			0.505 ^a		2.020	3.291	1.409	3.528
P 值			0.613		0.044	0.001	0.160	0.001

注: LVEF= 左心室射血分数; ^a 为 χ^2 值

结果显示, 糖尿病、PCT 及 TLR4 相对表达量是冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的危险因素, 而 miR-140-3p 相对表达量、LVEF 及支架内径是冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的保护因素 ($P < 0.05$, 见表 4)。

表4 冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄影响因素的多因素 Logistic 回归分析

Table 4 Multivariate Logistic regression analysis on influencing factors of in-stent restenosis after PCI in patients with CHD

变量	赋值	β	SE	Wald χ^2 值	P 值	OR 值	95%CI
常数项	-	3.335	0.909	13.461	<0.001	28.076	-
糖尿病	无=0, 有=1	0.785	0.358	4.815	0.028	2.193	(1.087, 4.421)
hs-CRP	实测值	0.009	0.007	1.528	0.216	1.009	(0.995, 1.024)
PCT	实测值	0.023	0.004	28.328	<0.001	1.023	(1.014, 1.032)
miR-140-3p 相对 表达量	实测值	-0.046	0.005	103.520	<0.001	0.955	(0.947, 0.964)
TLR4 相对表达量	实测值	5.395	0.362	222.094	<0.001	220.307	(108.363, 447.893)
冠状动脉狭窄率	实测值	0.005	0.007	0.480	0.488	1.005	(0.991, 1.020)
LVEF	实测值	-0.068	0.007	101.821	<0.001	0.934	(0.922, 0.947)
支架内径	实测值	-0.185	0.014	163.552	<0.001	0.994	(0.993, 0.995)

注: - 为无相关数据

冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的预测价值 PCT 和 LVEF 是冠心病患者的常规监测指标。ROC 曲线分析结果显示, miR-140-3p、TLR4 相对表达量预测冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的 AUC 与 PCT 比较, 差异无统计学意义 (Z 值分别为 0.139、1.307, P 值分别为 0.889、0.121); 但高于 LVEF, 差异有统计学意义 (Z 值分别为 6.634、6.669, P 值均 < 0.001 , 见表 5、图 1)。

表5 PCT 和 miR-140-3p、TLR4 相对表达量及 LVEF 对冠心病患者 PCI 后支架内再狭窄的预测价值

Table 5 Predictive value of PCT, miR-140-3p relative expression level, TLR4 relative expression level and LVEF in predicting in-stent restenosis after PCI in patients with CHD

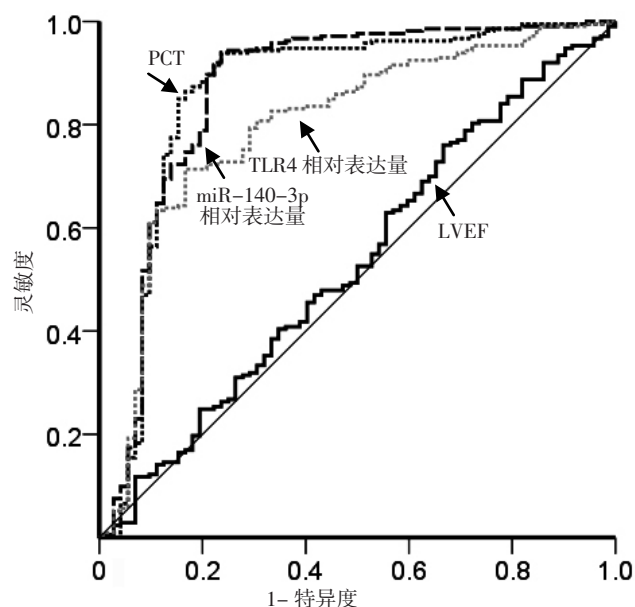
指标	AUC	P 值	95%CI	灵敏度	特异度
PCT	0.862	<0.001	(0.800, 0.925)	0.805	0.874
miR-140-3p 相对表达量	0.866	<0.001	(0.805, 0.927)	0.738	0.905
TLR4 相对表 达量	0.798	<0.001	(0.735, 0.861)	0.867	0.652
LVEF	0.531	0.433	(0.452, 0.610)	0.502	0.685

注: AUC= 曲线下面积

3 讨论

冠心病是临床上最常见的心血管疾病之一, 其病理

2.4 PCT 和 miR-140-3p、TLR4 相对表达量及 LVEF 对



注: PCT=降钙素原, miR-140-3p=微小RNA-140-3p, TLR4=Toll样受体4, LVEF=左心室射血分数

图1 PCT和miR-140-3p、TLR4相对表达量及LVEF预测冠心病患者PCI后支架内再狭窄的ROC曲线

Figure 1 ROC curve for PCT, miR-140-3p relative expression level, TLR4 relative expression level and LVEF in predicting in-stent restenosis after PCI in patients with CHD

基础为冠状动脉粥样硬化导致管腔狭窄或闭塞,进而引起心肌缺氧缺血性损伤。既往研究表明,冠心病的发生、发展受到多方面因素影响,且相关因素之间又存在交互影响,其中炎症反应、斑块破裂及血栓形成是冠心病的三大病理机制,且三者之间紧密联系、相互促进,共同推动病情进展,如炎症反应可促进细胞和血小板黏附,诱导斑块形成并促进斑块破裂,而斑块破裂反过来又促进了栓子形成,并与栓子共同加剧了炎症反应^[7]。近年,ISNA理论的提出进一步揭示了炎症反应在冠心病发生发展中的重要作用,也使免疫炎症反应在PCI后支架内再狭窄中的介导作用受到更多重视。TLR是人体固有免疫应答中的主要成员之一,在免疫防御和炎症应答中发挥着重要作用,其中TLR4与核转录因子 κB (NF- κB)组成的TLR4/NF- κB 信号通路可通过调节炎症反应和细胞凋亡过程而参与冠心病的病理进程^[8-9]。因此,本研究以TLR4为切入点,寻找与冠心病患者PCI后支架内再狭窄相关的生物标志物。

miRNAs是一类含有17~25个核苷酸、高度保守的小分子非编码RNA,其广泛存在于病毒、植物及高等哺乳动物中,是最大的基因家族之一。在功能方面,miRNAs虽然不具有编码蛋白质的作用,但可以通过与靶基因结合而沉默靶基因表达,抑制其下游信号通路活性^[10];此外,miRNAs还可以通过分泌体实现细胞间信号传递,参与细胞间信息交流^[11]。现有研究证实,

部分miRNAs在维持内皮细胞稳定性和保护心肌细胞方面发挥着重要作用,是心血管疾病的潜在生物标志物^[12-13]。与CRP、TNF- α 等炎症递质不同,miRNAs在循环系统中具有高度稳定性,因此其又被认为是一种理想型生物标志物。miR-140-3p是TLR4的上游miRNAs,两者呈负调控关系。刘静等^[14]研究表明,miR-140-3p对冠心病不良心血管事件具有预测价值,提示miR-140-3p与冠心病病理机制有关。

本研究结果显示,病例组患者miR-140-3p相对表达量低于对照组,TLR4相对表达量高于对照组;再狭窄亚组患者miR-140-3p相对表达量低于无再狭窄亚组,TLR4相对表达量高于无再狭窄亚组,提示血液循环中miR-140-3p、TLR4表达可能与冠心病及ISNA有关;本研究进一步进行多因素Logistic回归分析结果显示,糖尿病、PCT及TLR4相对表达量是冠心病患者PCI后支架内再狭窄的危险因素,而miR-140-3p相对表达量、LVEF及支架内径是冠心病患者PCI后支架内再狭窄的保护因素,与既往研究支持的糖尿病、PCT促进PCI后支架内再狭窄发生,LVEF高、支架内径大利于预防PCI后支架内再狭窄发生的结论一致^[15-16]。既往研究表明,TLR4异常升高增加了PCI后支架内再狭窄发生风险^[17-18]。但目前国内外关于miR-140-3p与PCI后支架内再狭窄关系的研究报道少见。PCT和LVEF是冠心病患者的常规监测指标。本研究ROC曲线分析结果显示,miR-140-3p、TLR4相对表达量预测冠心病患者PCI后支架内再狭窄的AUC分别为0.866、0.798,与PCT(0.862)相当,但高于LVEF(0.531),提示血液循环中miR-140-3p、TLR4表达对冠心病患者PCI后支架内再狭窄具有一定预测价值。

综上所述,血液循环中miR-140-3p和TLR4表达是冠心病患者PCI后支架内再狭窄的影响因素,且二者对冠心病患者PCI后支架内再狭窄的预测价值较高,可作为预测冠心病患者PCI后支架内再狭窄的生物标志物。

作者贡献:冯六六进行文章的构思与设计、研究的实施与可行性分析、结果分析与解释,负责撰写及修订论文;冯六六、史骏、刘天华、刘新兵、单蓉进行数据收集、整理、分析;白艳艳负责文章的质量控制及审核,并对文章整体负责、监督管理。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] WU J M, ZHAO L X, LIN K X, et al. Chinese herbal medicines for restenosis after percutaneous coronary intervention: a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. J Altern Complement Med, 2019, 25 (10): 983-992. DOI: 10.1089/acm.2018.0516.
- [2] 刘恒友, 鲁锦国, 刘小河, 等. 血脂控制水平 RDW 及 ET-1 与

- 冠心病患者 PCI 术后支架内再狭窄的关系研究 [J]. 河北医学, 2020, 26(4): 545-549. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2020.04.005.
- LIU H Y, LU J G, LIU X H, et al. Relationship between serum lipid levels RDW and ET-1 and in-stent restenosis after PCI in patients with CHD [J]. Hebei Medicine, 2020, 26(4): 545-549. DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2020.04.005.
- [3] 宋萍, 王贺, 司春婴, 等. 冠状动脉支架内新生动脉粥样硬化的发病机制及化痰活血治疗研究进展 [J]. 山东医药, 2019, 59(27): 94-97. DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2019.27.027.
- [4] 李自青, 闫玉清, 张年萍, 等. Toll 样受体信号通路与冠心病关系的生物信息学分析 [J]. 中国全科医学, 2019, 22(17): 2069-2074. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2018.00.404.
- LI Z Q, YAN Y Q, ZHANG N P, et al. Bioinformatic analysis of Toll-like receptor signaling pathway and coronary heart disease [J]. Chinese General Practice, 2019, 22(17): 2069-2074. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2018.00.404.
- [5] 颜红兵, 马长生, 霍勇. 临床冠心病诊断与治疗指南 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010.
- [6] 王杨春. PCI 术后再狭窄 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2006.
- [7] 郭晓鹏, 何平. 几种常见冠状动脉微循环病变的临床特点及机制研究进展 [J]. 微循环学杂志, 2018, 28(3): 71-75. DOI: 10.3969/j.issn.1005-1740.2018.03.014.
- GUO X J, HE P. Progress in clinical characteristics and pathogenesis of several coronary microvascular diseases [J]. Chinese Journal of Microcirculation, 2018, 28(3): 71-75. DOI: 10.3969/j.issn.1005-1740.2018.03.014.
- [8] QI C, SHAO Y, LIU X, et al. The cardioprotective effects of icariin on the isoprenaline-induced takotsubo-like rat model: involvement of reactive oxygen species and the TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. Int Immunopharmacol, 2019, 74: 105733. DOI: 10.1016/j.intimp.2019.105733.
- [9] YANG L, GAO C. MiR-590 inhibits endothelial cell apoptosis by inactivating the TLR4/NF- κ B pathway in atherosclerosis [J]. Yonsei Med J, 2019, 60(3): 298-307. DOI: 10.3349/ymj.2019.60.3.298.
- [10] ZHANG X L, CAI H P, ZHU M Q, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for severe coronary artery disease [J]. Medicine, 2020, 99(17): e19971. DOI: 10.1097/md.00000000000019971.
- [11] 武庆娟, 陈恒文, 高健, 等. 外泌体 miRNA 在心血管疾病中的研究进展 [J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(2): 371-377. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2020.02.027.
- WU Q J, CHEN H W, GAO J, et al. Exosome-derived miRNAs in cardiovascular diseases [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2020, 36(2): 371-377. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2020.02.027.
- [12] 关晶晶, 张颖, 刘玉洁. 血浆 miRNA-1、miRNA-21 对冠心病合并糖尿病患者 PCI 术后支架内再狭窄的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2018, 34(4): 304-308, 384. DOI: 10.12047/j.cjap.5643.2018.070.
- GUAN J J, ZHANG Y, LIU Y J. Effects of miRNA-1, miRNA-21 in plasma on in-stent restenosis in patients with coronary heart disease and diabetes mellitus after percutaneous coronary intervention [J]. Chinese Journal of Applied Physiology, 2018, 34(4): 304-308, 384. DOI: 10.12047/j.cjap.5643.2018.070.
- [13] DÉGANO I R, CAMPS-VILARÓ A, SUBIRANA I, et al. Association of circulating micRNAs with coronary artery disease and usefulness for reclassification of healthy individuals: the REGICOR study [J]. J Clin Med, 2020, 9(5): E1402. DOI: 10.3390/jcm9051402.
- [14] 刘静, 马昕怡. 冠心病患者血清 miR-140-3p 和 miR-142-5p 水平检测及其与患者心血管结局和死亡率的关系 [J]. 中国循证心血管医学杂志, 2019, 11(3): 312-315.
- [15] 蔡晓林, 涂忠宇, 倪荣, 等. 影响冠心病患者 PCI 术后支架内再狭窄的独立危险因素及干预对策分析 [J]. 现代诊断与治疗, 2020, 31(1): 129-131.
- [16] 熊家瑞, 黎明江, 黄亚敏, 等. 冠心病患者 PCI 术后支架内再狭窄的临床特点及危险因素分析 [J]. 疑难病杂志, 2019, 18(8): 760-764. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.08.002.
- XIONG J R, LI M J, HUANG Y M, et al. Clinical characteristics and risk factors of in-stent restenosis in patients with coronary heart disease after PCI [J]. Chinese Journal of Difficult and Complicated Cases, 2019, 18(8): 760-764. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2019.08.002.
- [17] 卫艳宁, 徐晓辉, 耿蓬勃, 等. Toll 样受体 4 在不同类型冠心病患者中的表达及与经皮冠状动脉介入术后支架内再狭窄的危险因素的相关性 [J]. 中国心血管杂志, 2019, 24(5): 419-423. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5410.2019.05.007.
- WEI Y N, XU X H, GENG P B, et al. Expression of Toll like receptors 4 in patients with different types of coronary artery disease and its correlation with risk factors of in-stent restenosis after percutaneous coronary intervention [J]. Chinese Journal of Cardiovascular Medicine, 2019, 24(5): 419-423. DOI: 10.3969/j.issn.1007-5410.2019.05.007.
- [18] 周寒松, 胡有东, 张枫林, 等. Toll 样受体 3~4、果糖胺和糖化血红蛋白对老年陈旧性心肌梗死患者冠脉支架置入后再狭窄和再闭塞的预测 [J]. 中华老年医学杂志, 2017, 36(7): 730-734. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2017.07.004.
- ZHOU H S, HU Y D, ZHANG F L, et al. Serum level changes of Toll-like receptor 3, Toll-like receptor 4, fructosamine and glycosylated hemoglobin and the significance in predicting restenosis and re-occlusion after coronary stenting in aged patients with old myocardial infarction [J]. Chinese Journal of Geriatrics, 2017, 36(7): 730-734. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-9026.2017.07.004.

(收稿日期: 2020-05-25; 修回日期: 2020-08-21)

(本文编辑: 谢武英)