

循环微小 RNA-92a 对经皮冠状动脉介入术致血管内皮损伤的评价作用

王虹 王琳 刘伶 林英忠 李友琼 陆红梅 龚国平

【摘要】 目的 探讨循环微小 RNA-92a(miR-92a)对介入治疗致血管内皮损伤的评价作用。方法 采用前瞻性病例对照研究,选择 58 例 ST 段抬高型急性心肌梗死(STEMI)接受经皮冠状动脉介入术(PCI)患者,在介入治疗后次日取血测定循环 miR-92a 表达(逆转录-聚合酶链反应)。分析球囊扩张压力、球囊扩张时间、冠状动脉(冠脉)病变长度与循环 miR-92a 表达的关系。结果 最大球囊扩张压力为 11~19 atm (1 atm=101.325 kPa)者(43 例)循环 miR-92a 表达[均值 -0.36, 95%可信区间(95%CI)为(-0.60, -0.12)]显著低于扩张压力 ≤ 10 atm 者[11 例,均值 1.16, 95%CI(0.80, 1.52), $P<0.01$],也低于 ≥ 20 atm 者[4 例,均值 0.26, 95%CI(0.26, 0.26), $P=0.1$]。最长球囊扩张时间 6~7 s 者(24 例)循环 miR-92a 表达[均值 -0.42, 95%CI(-0.83, -0.01)]显著低于扩张时间 ≤ 5 s 者[9 例,均值 0.63, 95%CI(0.49, 0.78), $P=0.03$]和 ≥ 8 s 者[25 例,均值 0.45, 95%CI(0.10, 0.80), $P<0.001$]。植入支架长度 ≤ 30 mm 者(31 例)循环 miR-92a 表达[均值 -0.48, 95%CI(-0.80, -0.16)]显著低于 >30 mm 者[27 例,均值 0.16, 95%CI(0.01, 0.32), $P<0.01$]。球囊扩张压力与扩张时间呈显著负相关($r=-0.48$, $P<0.001$)。结论 循环 miR-92a 表达与介入治疗的球囊扩张压力和扩张时间是否适当相关,其具有评价介入治疗所致血管内皮损伤的作用,可能成为血运重建后血管内皮损伤治疗及预防的新靶标。

【关键词】 微小 RNA-92a; 心肌梗死, 急性; 经皮冠状动脉介入术; 内皮损伤; 球囊扩张压力; 球囊扩张时间

Evaluation of circulating microRNA -92a for endothelial damage induced by percutaneous coronary intervention WANG Hong*, WANG Lin, LIU Ling, LIN Ying-zhong, LI You-qiong, LU Hong-mei, GONG Guo-ping. *Department of Cardiovascular Disease, Guangxi People's Hospital, Nanning 530021, Guangxi, China Corresponding author: LIN Ying-zhong, Email: yingzhonglin@126.com

【Abstract】 Objective To explore the role of microRNA-92a (miR-92a) in evaluating endothelium damage induced by percutaneous coronary intervention (PCI). **Methods** A case control study was prospectively conducted. Fifty-eight patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction (STEMI) received PCI were enrolled. MiR-92a expression in circulation was determined on the next day after PCI (reverse transcription-polymerase chain reaction). The correlation between miR-92a expression in circulation and PCI influence factors, such as inflation pressure, duration of balloon inflation and length of culprit atheromatous plaque were explored. **Results** MiR-92a was lower in inflation pressure 11-19 atm (1 atm=101.325 kPa) group [$n=43$, mean -0.36, 95% confidence interval (95%CI) -0.60 to -0.12] than inflation pressure ≤ 10 atm group ($n=11$, mean 1.16, 95%CI 0.80 to 1.52, $P<0.01$) and ≥ 20 atm group ($n=4$, mean 0.26, 95%CI 0.26 to 0.26, $P=0.1$); and also lower in duration of balloon inflation 6-7 seconds group ($n=24$, mean -0.42, 95%CI -0.83 to -0.01) than in duration of balloon inflation ≤ 5 seconds group ($n=9$, mean 0.63, 95%CI 0.49 to 0.78, $P=0.03$) and ≥ 8 seconds group ($n=25$, mean 0.45, 95%CI 0.10 to 0.80, $P<0.001$); lower in implanted stent length ≤ 30 mm ($n=31$, mean -0.48, 95%CI -0.80 to -0.16) than those >30 mm ($n=27$, mean 0.16, 95%CI 0.01 to 0.32, $P<0.01$). A significantly negative correlation was found between inflation pressure and duration of balloon inflation. ($r=-0.48$, $P<0.001$). **Conclusions** There is a relationship between circulating miR-92a, inflation pressure and duration of balloon inflation. Circulating miR-92a could be used to evaluate the endothelium injury induced by PCI, and be used as a new target of prevention and treatment of endothelial dysfunction following revascularization.

【Key words】 MicroRNA-92a; Acute myocardial infarction; Percutaneous coronary intervention; Endothelial dysfunction; Inflation pressure; Duration of balloon inflation

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.12.006

基金项目:广西医疗卫生重点课题(2010026);广西科学基金项目(桂科青 0728038)

作者单位:530021 南宁,广西壮族自治区人民医院心内科(王虹、刘伶、林英忠、陆红梅、龚国平),妇产科(王琳),中心实验室(李友琼)

通信作者:林英忠, Email: yingzhonglin@126.com

及时而规范的经皮冠状动脉介入术(PCI)是恢复急性心肌梗死(AMI)患者梗死区心肌血流、挽救濒死心肌和患者生命行之有效的治疗技术。PCI治疗依赖于球囊扩张挤压冠状动脉(冠脉),球囊的挤压和动脉壁的扩张、缺血、缺氧及血流的机械性损伤等因素可使内皮细胞功能受损。开通血流的同时,亦造成冠脉血管内皮的急性损伤,而药物支架植入的机械性损伤及药物涂层使内皮处在持续的损伤及修复的过程中^[1]。内皮是动态、功能多样的组织器官,具有重要的分泌、合成、代谢和免疫功能,内皮细胞层的完整性及正常的功能在预防血栓形成中起到关键的作用^[2]。

研究介入治疗伴随的血管内皮损伤评价指标,有助于评价、预防、治疗这种损伤。但目前未见有关介入治疗致血管内皮细胞功能损伤评价指标的临床研究报道。微小RNA(microRNAs, miRs)是基因表达的重要调节器。近年来研究发现,miRs与内皮完整性^[3]、动脉粥样硬化所致的巨噬细胞炎症反应^[4]、血管平滑肌细胞增殖^[5]及脂蛋白的合成^[6]有关。本课题组前期研究显示,循环miR-92a表达与血管内皮损伤相关^[7]。本研究旨在了解影响介入治疗后循环miR-92a表达的因素,探讨循环miR-92a对介入治疗致血管内皮损伤的评价作用。

1 对象和方法

1.1 病例选择:本研究采用前瞻性病例对照研究方法,经医院伦理委员会审议后同意实施,患者均签署知情同意书。顺序纳入2010年3月至2011年3月入住广西壮族自治区人民医院心内科、并同意入组本试验的ST段抬高型急性心肌梗死(STEAMI)接受介入治疗的患者58例。STEAMI诊断依据文献^[8]标准。入选患者须同时具备:①缺血性胸痛发作<12h;②冠脉造影能确定梗死相关动脉闭塞或高度狭窄,PCI能处理;③无抗凝、抗血小板治疗禁忌证。58例患者均在发病12h内接受PCI治疗,其中14例行血栓抽吸术之后行旁路移植术。入组病例介入治疗后次日晨取血样测定循环miR-92a。

1.2 介入治疗方法:按照美国心脏病学会/美国心脏病协会(ACC/AHA)的冠脉造影指南^[9],采用荷兰PHILIPS公司H5000-FD10全数字减影心血管造影机和Judkin法多体位投影。患者均采用经股动脉途径行PCI,如进行急诊PCI时只处理梗死相关血管。支架球囊扩张的时间、压力及支架长度的选择均由术者根据造影的结果决定。

1.2.1 PCI手术过程:术前常规静脉注射普通肝素

8~10kU。PCI术后至少与术前相同角度重复投照2次。采用标准的药物洗脱支架置入技术^[9]。上述患者均使用雷帕霉素药物涂层支架[EXCEL™(山东威海吉威医疗)、FIREBIRD 2™(上海微创公司)或CYPHER(美国强生Cordis公司)]。

1.2.2 病变支数:以直径狭窄≥50%的病变累及主要冠脉的支数为病变支数。如累及左主干(LM)时按同时累及左前降支(LAD)和左回旋支(LCX)计算;如仅为LM的局限病变而未累及LAD或LCX开口,则单独归为LM病变。

1.2.3 抗血小板及其他药物治疗:术前顿服阿司匹林300mg、氯吡格雷300mg;术后长期服用阿司匹林100mg/d、氯吡格雷75mg/d,连用12个月。其他药物如他汀类、血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)、β受体阻滞剂及硝酸酯类等均由医生根据患者临床情况选择应用。

1.3 循环miR-92a测定:于患者介入治疗后次日晨取外周血,分离单个核细胞,用TRIzol一步法抽提总RNA。逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测miR-92a。实验由经验丰富的PCR技师专人操作,采用双盲法,测定miR-92a及内参基因snRNA U6荧光定量RT-PCR的Ct值,取2次重复测定的平均值,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算的miR-92a表达量经Johnson正态转换后数值表示^[10]。

1.4 统计学处理:循环miR-92a的集中及离散程度用均值及95%可信区间(95%CI)表示。使用SPSS 17.0进行统计分析,计量资料用F检验;如方差齐性检验 $P<0.05$,用非参数两个独立样本检验。方差分析用单因变量多因素方差分析,计算Ⅲ型偏差平方和,显著性水平定为 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 影响循环miR-92a表达的单因素方差分析(表1):年龄、合并高血压、吸烟、最大球囊扩张压力、最长球囊扩张时间、最长支架长度、冠脉病变支数可影响PCI治疗患者循环miR-92a表达($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

2.2 影响PCI治疗患者循环miR-92a表达的多因素方差分析:球囊扩张压力($F=6.602, P=0.014$)、球囊扩张时间($F=7.107, P=0.001$)、支架长度($F=24.446, P=0.001$)影响PCI治疗患者的循环miR-92a表达;而年龄($F=1.770, P=0.191$)、合并高血压($F=0.075, P=0.786$)、吸烟($F=0.189, P=0.179$)、冠脉病变支数($F=0.170, P=0.683$)对PCI治疗患者循环miR-92a表达无影响。

2.3 不同球囊扩张压力、扩张时间对循环 miR-92a 表达的影响(表 1):球囊扩张压力 11~19 atm 者循环 miR-92a 表达显著低于扩张压力 ≤10 atm 者 ($P<0.01$) 和 ≥20 atm 者 ($P=0.1$); 球囊扩张时间 6~7 s 者循环 miR-92a 表达显著低于扩张时间 ≤5 s 者 ($P=0.03$) 和 ≥8 s 者 ($P<0.001$)。说明球囊扩张压力 ≤10 atm 或 ≥20 atm、扩张时间 ≤5 s 或 ≥8 s 时, 循环 miR-92a 表达均上调。球囊扩张压力为 11~19 atm、扩张时间为 6~7 s 的 18 例介入治疗患者术后 24 h 内循环 miR-92a 表达 [均值 -0.45, 95% CI(-0.68, -0.22)] 显著低于 40 例球囊扩张压力 ≤10 atm 或者 ≥20 atm、扩张时间 ≤5 s 或者 ≥8 s 者 [均值 0.36, 95% CI(0.07, 0.65), $F=5.888, P=0.018$]。说明介入治疗时, 当球囊扩张压力 ≤10 atm 或 ≥20 atm、扩张时间 ≤5 s 或 ≥8 s, 介入治疗术后患者循环 miR-92a 表达均明显上调。

表 1 58 例 STEAMI 行 PCI 治疗患者的一般资料及循环 miR-92a 表达

指标	例数	miR-92a		检验值	P 值
		均值	95%CI		
性别 男性	41	0.06	-0.22, 0.34	$F=1.426$	0.237
女性	17	-0.26	-0.78, 0.26		
年龄 ≥60 岁	36	0.16	-0.19, 0.50	$F=4.185$	0.045
<60 岁	22	-0.34	-0.62, -0.06		
高血压 有	36	0.24	-0.04, 0.53	$F=9.472$	0.003
无	22	-0.48	-0.88, -0.08		
糖尿病 有	22	0.02	-0.55, 0.58	$F=0.091$	0.765
无	36	-0.06	-0.28, 0.16		
吸烟 吸	12	0.59	-0.15, 1.34	$F=7.737$	0.007
不吸	46	-0.19	-0.43, 0.04		
最大球囊扩张压力					
≤10 atm	11	1.16	0.80, 1.52	$F=20.168$	0.001
11~19 atm	43	-0.36 ^a	-0.60, -0.12		
≥20 atm	4	0.26	0.26, 0.26		
最长球囊扩张时间					
≤5 s	9	0.63	0.49, 0.78	$F=10.325$	0.001
6~7 s	24	-0.42 ^{bc}	-0.83, -0.01		
≥8 s	25	0.45	0.10, 0.80		
支架数量					
单个	27	-0.26	-0.56, 0.04	$F=0.083$	0.774
多个	31	-0.20	-0.51, 0.12		
最长支架长度					
≤30 mm	31	-0.48	-0.80, -0.16	$F=10.464$	0.002
>30 mm	27	0.16	0.01, 0.32		
冠脉病变支数					
单支	18	-0.31	-0.61, -0.03	$Z=-2.071$	0.038
多支	40	0.10	-0.23, 0.42		

注: STEAMI: ST 段抬高型急性心肌梗死, PCI: 经皮冠状动脉介入术, miR-92a: 微小 RNA-92a, 95% CI: 95% 可信区间; 与最大球囊扩张压力 ≤10 atm 比较, ^a $P<0.01$; 与最长球囊扩张时间 ≤5 s 比较, ^b $P<0.05$; 与最长球囊扩张时间 ≥8 s 比较, ^c $P<0.01$; 1 atm=101.325 kPa

2.4 58 例患者球囊扩张压力与球囊扩张时间比较(表 2):最大球囊扩张压力 ≤10 atm 者的球囊扩张时间较扩张压力 11~19 atm 者显著延长 ($P<0.01$), 也长于扩张压力 ≥20 atm 者 ($P=0.108$)。最长球囊扩张时间 ≥8 s 者的球囊扩张压力显著低于扩张时间 ≤5 s 和 6~7 s 者 (均 $P<0.05$)。Spearman 相关分析显示, 球囊扩张时间与扩张压力呈显著负相关 ($r=-0.48, P<0.001$)。说明球囊扩张压力越小, 扩张时间越长; 扩张时间越长, 压力越小。最长支架长度不同时, 球囊扩张压力 ($F=0.174, P=0.678$) 和扩张时间 ($F=0.044, P=0.835$) 差异均无统计学意义。

表 2 58 例 STEAMI 行 PCI 治疗患者的球囊扩张时间与扩张压力比较

指标	例数	球囊扩张时间(s)		球囊扩张压力(atm)	
		均值	95%CI	均值	95%CI
最大球囊扩张压力					
≤10 atm	11	14.00 ^a	10.14, 17.86		
11~19 atm	43	7.26	6.06, 8.45		
≥20 atm	4	10.00	8.80, 10.00		
最长球囊扩张时间					
≤5 s	9			14.33	13.95, 14.72
6~7 s	24			14.25	13.37, 15.13
≥8 s	25			8.80 ^{bc}	8.58, 13.02
最长支架长度					
≤30 mm	31	7.45	5.78, 9.12	13.65	13.11, 14.18
>30 mm	27	7.67	7.02, 8.32	14.00	11.99, 16.01

注: STEAMI: ST 段抬高型急性心肌梗死, PCI: 经皮冠状动脉介入术, 95% CI: 95% 可信区间; 与最大球囊扩张压力 11~19 atm 比较, ^a $P<0.01$; 与最长球囊扩张时间 ≤5 s 比较, ^b $P<0.05$; 与最长球囊扩张时间 6~7 s 比较, ^c $P<0.05$; 1 atm=101.325 kPa; 空白代表无此项

3 讨论

本研究结果显示, STEAMI 患者如果支架长度 >30 mm, 其循环 miR-92a 表达较 ≤30 mm 者明显增高, 且二者球囊扩张压力、扩张时间无显著差异, 说明血管内皮损伤大, 循环 miR-92a 表达上调, 再次表明循环 miR-92a 表达与血管内皮损伤相关。

本研究结果还显示, STEAMI 患者介入治疗后循环 miR-92a 表达与球囊扩张压力、扩张时间相关。扩张压力偏低或偏高, 扩张时间偏短或偏长, 循环 miR-92a 表达均较扩张压力、扩张时间适中者上调。这与球囊压力过高、时间过长引发较重的血管内皮损伤, 以及球囊扩张压力与扩张时间呈负相关, 扩张压力低则扩张时间长, 扩张时间短则扩张压力高引发较重的血管内皮损伤是一致的; 也与本课题组前期研究结果显示血管内皮损伤时循环 miR-92a 表达上调^[11-13]一致。表明循环 miR-92a 表

达具有评价介入治疗致血管内皮损伤的作用。

内皮细胞损伤时丧失了其生理状态下的凝血活性,使一氧化氮合成或释放减少^[14],内皮素合成或释放增加,导致血管舒缩异常,张力增加,血小板黏附、聚集,血栓形成,发挥促凝活性^[15];受损的内皮细胞还能释放细胞间黏附分子,使白细胞附壁,形成血栓,促进炎症反应,引发平滑肌细胞的异常增殖及迁移,成为动脉硬化的病理基础^[15];内皮功能异常还可导致内皮下富含脂质的脂蛋白蓄积,血管舒张功能受限,内皮细胞、白细胞和血小板之间及与血管内皮基质间相互黏附,继而促进炎症反应及血栓形成^[16]。有可能导致晚期介入术后支架内血栓形成,以及远期的临床不良事件。最近 Wu 等^[17]在人脐静脉内皮细胞体外实验中发现,miR-92a 过表达可减少抗动脉粥样硬化 Krüppel 样转录因子 2 (KLF2) 的表达。KLF2 是内皮系统形成及血管功能稳定的关键调控因子^[18-20],在 mRNA 及蛋白质水平调控内皮型一氧化氮合酶及血栓调节蛋白^[18]。但目前关于支架球囊扩张的压力及时间对内皮功能不全的影响尚无相关研究。

综上,本研究结果提示,调控 miR-92a 对减少介入治疗后的血管内皮损伤可能具有临床意义,可能成为冠心病血运重建后血管内皮损伤治疗及预防的新靶标,值得深入研究。

参考文献

[1] van Beusekom HM, Whelan DM, Hofma SH, et al. Long-term endothelial dysfunction is more pronounced after stenting than after balloon angioplasty in porcine coronary arteries. *J Am Coll Cardiol*, 1998, 32: 1109-1117.

[2] Esmon CT, Esmon NL. The link between vascular features and thrombosis. *Annu Rev Physiol*, 2011, 73: 503-514.

[3] Bonauer A, Carmona G, Iwasaki M, et al. MicroRNA-92a controls angiogenesis and functional recovery of ischemic tissues in mice. *Science*, 2009, 324: 1710-1713.

[4] Nazari-Jahanigh M, Wei Y, Schober A. The role of microRNAs in arterial remodelling. *Thromb Haemost*, 2012, 107: 611-618.

[5] Robinson HC, Baker AH. How do microRNAs affect vascular smooth muscle cell biology?. *Curr Opin Lipidol*, 2012, 23: 405-411.

[6] Landgraf P, Rusu M, Sheridan R, et al. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing. *Cell*, 2007, 129: 1401-1414.

[7] 王虹, 林英忠, 陆红梅, 等. ST 段抬高型心肌梗死患者循环微 RNA-92a 表达的研究. *中国危重病急救医学*, 2011, 23: 718-722.

[8] Thygesen K, Alpert JS, White HD, et al. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J*, 2007, 28: 2525-2538.

[9] King SB 3rd, Smith SC Jr, Hirshfeld JW Jr, et al. 2007 focused update of the ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice guidelines. *J Am Coll Cardiol*, 2008, 51: 172-209.

[10] 王虹, 林英忠, 刘伶, 等. 冠心病循环 miR-92a 数据的正态变换方法比较. *中国现代医学杂志*, 2012, 22: 36-38.

[11] 王虹, 陆红梅, 阳文辉, 等. 他汀类药物对冠心病患者循环微小 RNA-92a 表达的影响. *中国危重病急救医学*, 2012, 24: 215-218.

[12] 王虹, 林英忠, 周莹, 等. 慢性稳定性心绞痛合并糖尿病患者循环 microRNA-92a 表达研究. *中国现代医学杂志*, 2012, 22: 26-29.

[13] 王虹, 林英忠, 周莹, 等. 老年稳定性心绞痛患者循环微 RNA-92a 表达的影响因素研究. *中华老年心脑血管病杂志*, 2012, 14: 364-366.

[14] 刘亚军, 卢辉和, 张莉, 等. 缬沙坦对兔动脉成形术后血管内膜增生及内皮细胞血管性假血友病因子表达的影响. *中国危重病急救医学*, 2007, 19: 695-696.

[15] 史卫国, 孙学玉, 渠莉, 等. 丹红注射液对经皮冠状动脉介入治疗后心肌炎症反应及冠状动脉血流的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2010, 17: 288-291.

[16] 孔庆福, 王元业, 张令刚, 等. 葛根素注射液对急性冠脉综合征患者血管内皮及炎症免疫功能的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2011, 18: 209-212.

[17] Wu W, Xiao H, Laguna-Fernandez A, et al. Flow-dependent regulation of Krüppel-like factor 2 is mediated by microRNA-92a. *Circulation*, 2011, 124: 633-641.

[18] 房巍, 郭振辉, 张保全, 等. C5a 对内皮细胞表达血栓调节蛋白的影响. *中国危重病急救医学*, 2009, 21: 168-171.

[19] Nayak L, Lin Z, Jain MK. "Go with the flow": how Krüppel-like factor 2 regulates the vasoprotective effects of shear stress. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15: 1449-1461.

[20] Parmar KM, Larman HB, Dai G, et al. Integration of flow-dependent endothelial phenotypes by Krüppel-like factor 2. *J Clin Invest*, 2006, 116: 49-58.

(收稿日期:2012-05-07)

(本文编辑:李银平)

• 广告目次 •

①深圳迈瑞: Bene View T8 病人监护仪 (封二)

②天津红日药业: 血必净注射液 (插页)

③珠海健帆: 血液灌流器 (插页)

④德尔格: V500 呼吸机 (插页)

⑤北京谊安: VT5250 呼吸机 (插页)

⑥天津生化制药: 琥珀氢可 (插页)

⑦广东天普药业: 天普洛安 (插页)

⑧南京臣功: 特苏尼® 托拉塞米注射液 (插页)

⑨罗氏诊断产品(上海)有限公司: 血气分析仪 (插页)

⑩第一制药: 克倍宁 (封三)

⑪江苏新晨: 艾贝宁® 盐酸右美托咪定注射液 (封四)