

DOI:10.3724/SP.J.1008.2012.01365

• 综述 •

## 循环血 miRNAs 作为心血管疾病诊断标志物的研究

安丽娜,董斐斐,王国坤,荆清\*

第二军医大学长海医院心血管内科,上海 200433

**[摘要]** MicroRNAs(miRNAs)是一类内源性非编码小分子 RNAs,在转录后水平可与靶基因 mRNAs 的 3'非翻译区结合而抑制基因表达,其表达具有组织特异性。功能学研究发现,细胞内 miRNAs 参与多种病理生理过程。近期发现 miRNAs 在循环血中以微泡、外核体、微粒以及凋亡小体等形式稳定存在,其水平可作为肿瘤等多种疾病诊断和预后的标志物。目前有关 miRNAs 可能作为心血管疾病诊断生物标志物的研究相继报道,本文将就循环血 miRNAs 作为急性心肌梗死、心力衰竭、冠状动脉疾病、糖尿病等心血管系统常见疾病的生物标志物的研究进展作一综述。

**[关键词]** 循环血微 RNAs;心肌梗死;心力衰竭;冠状动脉疾病;糖尿病;生物标志物

**[中图分类号]** R 540.4 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2012)12-1365-03

### Circulating miRNAs as diagnosis biomarkers for cardiovascular diseases

AN Li-na, DONG Fei-fei, WANG Guo-kun, JING Qing\*

Department of Cardiology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

**[Abstract]** MicroRNAs (miRNAs) are a group of endogenous small non-coding RNAs, which play important gene regulatory roles at the post-transcriptional level by binding to the 3' untranslated region of the targeted mRNAs. MiRNAs possess tissue-specific signatures and have been found involved in various pathophysiological processes. Recent reports have demonstrated that miRNAs are stably present in blood circulation in the form of microvesicles, exosome, microparticle, and apoptotic bodies; and the plasma levels of specific miRNAs have been proven as potential biomarkers for diagnosis and prognosis of cancers. Many articles have also reported that miRNAs can serve as important diagnostic biomarkers for cardiovascular diseases. Here we reviewed the roles of circulating miRNAs as potential biomarkers for cardiovascular diseases, including acute myocardial infarction, heart failure, coronary artery disease, and diabetes mellitus.

**[Key words]** circulating microRNAs; myocardial infarction; heart failure; coronary artery disease; diabetes mellitus; biomarkers  
[Acad J Sec Mil Med Univ, 2012, 33(12):1365-1367]

MiRNAs 是一类由约 22 个核苷酸组成的内源性非编码小分子 RNA,通过抑制转录后基因表达或促进靶基因 mRNAs 降解而发挥重要的调节作用<sup>[1]</sup>。每个 miRNA 都可以调控上百个基因的表达,据推测,人类基因组中约有 1/3 基因的表达都受到 miRNAs 的调控<sup>[2]</sup>。对 miRNAs 的功能研究发现,在多种疾病的发生、发展中,细胞内 miRNAs 的表达会发生变化。最近的研究发现 miRNAs 也稳定存在于循环血中,以微泡、外核体、凋亡小体及 RNA-蛋白结合的形式逃脱血液中 RNA 酶的消化<sup>[3-6]</sup>。在肿瘤等多种疾病的发生、发展中,血浆中特定 miRNAs 的水平出现了明显的变化,可作为疾病诊断和预后的生物标志物<sup>[7]</sup>。2008 年, Mitchell 等<sup>[8]</sup>首次报道了成熟 miRNAs 在血浆中稳定存在,并发现前列腺癌患者的血浆中 miR-141 的水平高于健康对照者,可作为前列腺癌诊断的生物标志物。随后,循环血 miRNAs 作为多种疾

病的诊断标志物的报道相继出现。

在疾病早期给予明确诊断,并积极治疗,对于延缓疾病进展、防止心血管终点事件的发生具有重要意义。临床上心血管系统疾病的诊断主要依靠临床症状体征、循环血生物标志物、心电图、冠状动脉造影等,循环血生物标志物因检测的无创、简便等优点在临床具有重要的应用价值,目前临床上常用的循环血生物标志物主要有肌红蛋白、心肌肌钙蛋白 I (cardiac troponin-I, cTnI)、肌酸激酶-MB (creatinase-MB, CK-MB) 及 B 型钠尿肽 (B-type natriuretic peptide, BNP)<sup>[9-10]</sup>。近年来研究发现循环血 miRNAs 在心血管疾病中的含量会发生变化(表 1),也可作为心血管疾病诊断的生物标志物,本文就其对心血管疾病诊断方面的研究进展作一综述。

**[收稿日期]** 2012-06-21 **[接受日期]** 2012-11-02

**[基金项目]** 国家自然科学基金 (31000354, 30971231)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (31000354, 30971231)。

**[作者简介]** 安丽娜,硕士生。E-mail: anlina\_1985@126.com

\* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-31161266, E-mail: qjing325303@yahoo.com.cn

表 1 循环血 miRNAs 在心血管疾病中的表达

Tab 1 Circulating miRNAs in various cardiovascular diseases

Disease	miRNA upregulated	miRNA downregulated	Detection method	No. of ref.
AMI	miR-1, miR-133a, miR-499, miR-208a, miR-21, miR-499-5p		miRNA array, RT-PCR	11-14
HF	miR-423-5p, miR-320a, miR-22, miR-92b	miR-126	miRNA array, RT-PCR	15-17
CAD	miR-133a, miR-208a, miR-499	miR-126, miR-17, miR-92a, miR-155, miR-145	miRNA array, RT-PCR	18-19
DM	miR-28-3p, miR-9, miR-29a, miR-30d, miR-34a, miR-12a, miR-146a, miR-375	miR-20b, miR-21, miR-24, miR-15a, miR-126, miR-191, miR-197, miR-223, miR-320, miR-486	miRNA array, RT-PCR	20-21

AMI; Acute myocardial infarction; HF; Heart failure; CAD; Coronary artery disease; DM; Diabetes mellitus

1 急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI)

2009年, Ji等<sup>[11]</sup>在异丙肾上腺素诱导的大鼠心肌损伤模型中,应用实时定量PCR的方法对循环血中miRNAs进行了研究,首次发现大鼠血浆miR-208的水平在心肌损伤时显著升高,并且同cTnI含量具有相似的时程变化,提示血浆miR-208水平的变化对心肌损伤具有监测作用。2010年, Ai等<sup>[12]</sup>对临床AMI患者血浆中miR-1的水平进行定量检测,发现AMI患者血浆中miR-1的水平明显高于非AMI患者,且与患者的QRS波具有相关性,提示miR-1可作为AMI潜在的诊断标志物。

诊断的灵敏度和特异度是生物标志物的重要特征和要求。Wang等<sup>[13]</sup>从心肌细胞特异表达的miRNAs(miR-1、miR-133a、miR-499和miR-208a)出发,通过miRNAs芯片、实时定量PCR发现这些miRNAs在健康人血浆中的水平很低,分别从AMI动物模型和临床患者两方面入手,发现循环血中miR-1、miR-133a、miR-499和miR-208a的水平在心肌梗死发生后显著升高,ROC曲线分析显示miR-208a具有较高的敏感性及特异性。Olivieri等<sup>[14]</sup>用实时定量PCR检测了急性非ST段抬高性心肌梗死(non ST-elevation myocardial infarction, NSTEMI)患者血浆中的miR-1、miR-21、miR-133a、miR-208a、miR-423-5p、miR-499-5p水平的变化,急性NSTEMI患者中miR-1、miR-21、miR-133a、miR-499-5p的水平升高,其中miR-499-5p的升高最为显著。经ROC曲线分析,miR-499-5p在急性NSTEMI患者中具有较高的敏感性。

2 心力衰竭 (heart failure, HF)

2010年, Tijssen等<sup>[15]</sup>为评估循环血miRNAs在HF患者中的应用价值,应用miRNAs芯片的方法检测了HF患者血浆miRNAs变化,发现在HF患者中有108种miRNAs发生变化,他们从中选择了变化最大的16个miRNAs,应用实时定量PCR对临床上的HF患者、伴有呼吸困难的非HF患者及健康人血浆中的这些miRNAs做进一步研究,发现miR-423-5p水平在HF患者循环血中特异性升高。他们又从miRNAs与病情严重程度的相关性角度研究发现循环血miR-423-5p水平随HF分级(NYHA分级)的加重而增加。

2011年,在miRNAs作为HF标志物的研究中, Fukushima等<sup>[16]</sup>发现循环血miR-126水平同年龄、logBNP呈负相

关,且在NYHA分级IV的HF患者中,随心功能的改善,循环血miR-126水平明显升高。2012年, Goren等<sup>[17]</sup>应用实时定量PCR从稳定性慢性收缩性HF患者中检测了186种miRNAs,其中miR-423-5p、miR-320a、miR-22、miR-92b水平在HF组明显升高,且与血清BNP水平、QRS波的宽度、左房左室舒张功能等预后参数具有相关性。同时,他们应用miRNAs评分对病情的严重程度进行了评价,发现miR-423-5p与HF严重程度的相关性高于Tijssen等<sup>[15]</sup>的研究结果。

3 冠状动脉疾病 (coronary artery disease, CAD)

2010年, Fichtlscherer等<sup>[18]</sup>应用miRNAs芯片检测了稳定性CAD患者循环血miRNAs的表达谱,进一步应用定量PCR检测了CAD患者血浆中miRNAs的变化,结果显示内皮细胞高表达的miR-126、miR-17、miR-92a,炎症相关的miR-155、平滑肌细胞高表达的miR-145明显降低,相反,心肌细胞高表达的miR-133a、miR-208a则升高。这为稳定性CAD提供了潜在的循环血诊断生物标志物。2011年, De Rosa等<sup>[19]</sup>应用定量PCR检测了CAD患者冠状动脉循环中miRNAs的水平。结果发现CAD患者循环血中,心肌细胞高表达的miR-499、miR-133a在主动脉与冠状静脉窦之间存在梯度变化,并且与心肌损伤的程度密切相关。这为循环血miRNAs可能作为心血管疾病生物标志物提供了有力的证据。

4 糖尿病 (diabetes mellitus, DM)

2010年, Zampetaki等<sup>[20]</sup>用miRNAs芯片的方法检测了DM患者血浆miRNAs的水平,并通过定量PCR验证差异的miRNAs。结果发现相较于健康对照循环血中miRNAs的水平, miR-20b、miR-21、miR-24、miR-15a、miR-126、miR-191、miR-197、miR-223、miR-320、miR-486水平在DM患者血浆中明显降低,而miR-28-3p则明显升高。进一步研究发现miR-126水平的降低与血糖浓度具有负相关性,高浓度葡萄糖(25 mmol/L)影响内皮细胞miR-126的释放功能。此结果说明内皮细胞相关的miRNAs在循环血中的水平对高糖引起的内皮细胞损伤可能具有提示作用。

2011年, Kong等<sup>[21]</sup>应用定量PCR检测发现初次诊断的2型DM患者血清中miR-9、miR-29a、miR-30d、miR-34a、miR-12a、miR-146a、miR-375的水平显著增加,其中miR-34a的变化最明显。同时检测了血糖正常的易感2型DM患者

及空腹血糖受损者血清中 miRNAs 变化,其变化趋势同 2 型糖尿病相似。这些结果说明循环血中这些 miRNAs 的水平可能对 DM 的早期预防及诊断具有重要意义。

## 5 展望

MiRNAs 在循环血中如何逃脱 RNA 消化酶的降解而稳定存在目前还未完全阐明,但有研究显示循环血 miRNAs 的抵抗降解能力可能与脂质和脂蛋白复合物的保护有关,以分泌体或微小泡的形式被包裹在磷脂双分子膜内,从而稳定地存在于外周血液中<sup>[22]</sup>。目前,对于 miRNAs 的分泌机制,其对靶细胞的调节机制还在深入研究中,基于这一细胞间信息传递途径的治疗方法将为心血管疾病的治疗带来新的希望。

MiRNAs 对心血管系统的发育和疾病具有重要意义,某些 miRNAs 对心肌肥厚、心律失常、动脉粥样硬化等病理过程有调控作用。近年来研究证明循环血 miRNAs 具有作为疾病诊断标志物的潜能,不仅如此,miRNAs 在唾液<sup>[23]</sup>、尿液<sup>[24]</sup>等其他体液中的水平变化作为肿瘤等疾病诊断标志物的研究也相继报道。这些发现扩充了对 miRNAs 功能学研究的范围,也加深了对 miRNAs 作用的认识。但目前对于循环血作为心血管疾病诊断标志物的研究还处于初始阶段,只有进行大规模的临床研究,发现相关疾病特异的循环血 miRNAs 表达谱,并在临床试验中得到验证,才能应用于临床实践。随着技术的发展、新的高通量 miRNAs 检测技术的出现,将使检测的灵敏性和特异性提高,成本降低,循环血 miRNAs 的研究终将为心血管疾病的诊断和治疗提供新的方法。

## 6 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

## 【参考文献】

- [1] Bartel D P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116: 281-297.
- [2] Lewis B P, Burge C B, Bartel D P. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets[J]. *Cell*, 2005, 120: 15-20.
- [3] Eldh M, Ekström K, Valadi H, Sjöstrand M, Olsson B, Jernäs M, et al. Exosomes communicate protective messages during oxidative stress; possible role of exosomal shuttle RNA[J]. *PLoS One*, 2010, 5: e15353.
- [4] Prokopi M, Pula G, Mayr U, Devue C, Gallagher J, Xiao Q, et al. Proteomic analysis reveals presence of platelet microparticles in endothelial progenitor cell cultures[J]. *Blood*, 2009, 114: 723-732.
- [5] Zerneck A, Bidzhekov K, Noels H, Shagdarsuren E, Gan L, Dennecke B, et al. Delivery of microRNA-126 by apoptotic bodies induces CXCL12-dependent vascular protection[J]. *Sci Signal*, 2009, 2: ra81.
- [6] Vickers K C, Palmisano B T, Shoucri B M, Shamburek R D, Remaley A T. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins[J]. *Nat Cell Biol*, 2011, 13: 423-433.
- [7] Gupta S K, Bang C, Thum T. Circulating microRNAs as biomarkers and potential paracrine mediators of cardiovascular disease[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2010, 3: 484-488.
- [8] Mitchell P S, Parkin R K, Kroh E M, Fritz B R, Wyman S K,

- Pogosova-Agadjanyan E L, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 10513-10518.
- [9] Tanasijevic M J, Cannon C P, Antman E M, Wybenga D R, Fischer G A, Grudzien C, et al. Myoglobin, creatine-kinase-MB and cardiac troponin-I 60-minute ratios predict infarct-related artery patency after thrombolysis for acute myocardial infarction: results from the Thrombolysis in Myocardial Infarction study (TIMI) 10B[J]. *J Am Coll Cardiol*, 1999, 34: 739-747.
- [10] Horwich T B, Hamilton M A, Fonarow G C. B-type natriuretic peptide levels in obese patients with advanced heart failure[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2006, 47: 85-90.
- [11] Ji X, Takahashi R, Hiura Y, Hirokawa G, Fukushima Y, Iwai N. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury[J]. *Clin Chem*, 2009, 55: 1944-1949.
- [12] Ai J, Zhang R, Li Y, Pu J, Lu Y, Jiao J, et al. Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391: 73-77.
- [13] Wang G K, Zhu J Q, Zhang J T, Li Q, Li Y, He J, et al. Circulating microRNA: a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans[J]. *Eur Heart J*, 2010, 31: 659-666.
- [14] Olivieri F, Antonicelli R, Lorenzi M, D'Alessandra Y, Lazzarini R, Santini G, et al. Diagnostic potential of circulating miR-499-5p in elderly patients with acute non ST-elevation myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol*, 2012 Feb 11. [Epub ahead of print]
- [15] Tijssen A J, Creemers E E, Moerland P D, de Windt L J, van der Wal A C, Kok W E, et al. MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure[J]. *Circ Res*, 2010, 106: 1035-1039.
- [16] Fukushima Y, Nakanishi M, Nonogi H, Goto Y, Iwai N. Assessment of plasma miRNAs in congestive heart failure[J]. *Circ J*, 2011, 75: 336-340.
- [17] Goren Y, Kushnir M, Zafrir B, Tabak S, Lewis B S, Amir O. Serum levels of microRNAs in patients with heart failure[J]. *Eur J Heart Fail*, 2012, 14: 147-154.
- [18] Fichtlscherer S, De Rosa S, Fox H, Schwietz T, Fischer A, Liebetrau C, et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease[J]. *Circ Res*, 2010, 107: 677-684.
- [19] De Rosa S, Fichtlscherer S, Lehmann R, Assmus B, Dimmeler S, Zeiher A M. Transcoronary concentration gradients of circulating microRNAs[J]. *Circulation*, 2011, 124: 1936-1944.
- [20] Zampetaki A, Kiechl S, Drozdov I, Willeit P, Mayr U, Prokopi M, et al. Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial miR-126 and other microRNAs in type 2 diabetes[J]. *Circ Res*, 2010, 107: 810-817.
- [21] Kong L, Zhu J, Han W, Jiang X, Xu M, Zhao Y, et al. Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes; a clinical study[J]. *Acta Diabetol*, 2011, 48: 61-69.
- [22] Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee J J, Lötvall J O. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2007, 9: 654-659.
- [23] Park N J, Zhou H, Elashoff D, Henson B S, Kastratovic D A, Abemayor E, et al. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection[J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15: 5473-5477.
- [24] Hanke M, Hoefig K, Merz H, Feller A C, Kausch I, Jochem D, et al. A robust methodology to study urine microRNA as tumor marker: microRNA-126 and microRNA-182 are related to urinary bladder cancer[J]. *Urol Oncol*, 2010, 28: 655-661.