

miR-223 在扩张型心肌病心肌纤维化的分子机制研究

晁鹏¹ 王勇² 陈晓洋² 杨毅宁^{2,*}

1. 新疆医科大学 新疆 乌鲁木齐 830054

2. 新疆维吾尔自治区人民医院心血管内科 新疆 乌鲁木齐 830000

摘要:目的: 心脏疾病是全球健康问题, 其中扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)引起广泛关注。本研究旨在探讨 miR-223 在 DCM 中的作用和与临床指标的关系。方法: 我们研究了 88 名 DCM 患者, 17 名肥厚性心肌病和 105 名健康对照。通过血液样本分析 miR-223 的表达, 并对脑钠肽(B-type natriuretic peptide, BNP), 肌酸激酶同工酶 MB(creatine kinase-MB, CKMB), 肌钙蛋白 T(cardiac troponin T, cTnT), 左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVED)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)等临床指标进行分析。结果: DCM 患者中 miR-223 表达下调, 与心肌纤维化相关。miR-223 与 BNP、肌酸激酶同工酶 MB、肌钙蛋白 T、左室舒张末内径和 6 分钟步行实验等指标显著相关, 可能作为 DCM 生物标志物。结论: 本研究强调了 miR-223 在 DCM 中的重要性, 尤其是与心肌纤维化和临床指标的关系。未来研究需要深入分析 miR-223 的分子机制, 并进行更大规模的临床试验, 以验证其治疗潜力, 拓展在其他心脏疾病中的应用。miR-223 可能为心脏疾病研究和临床实践带来新希望。

关键词: miR-223; 扩张型心肌病; 心肌纤维化; 相关性

心肌纤维化是扩张型心肌病(dilated cardiomyopathy, DCM)的重要病理过程之一, 它通常伴随着心脏组织中胶原沉积的增加和心功能的损害^[1]。尽管在临床实践中已经取得了一些进展, 但对于心肌纤维化的分子机制仍然存在许多未知之处。因此, 深入了解心肌纤维化的分子机制对于开发新的治疗策略至关重要。

近年来, 微 RNA(miRNA) 作为一类重要的调控分子, 引起了研究人员的广泛关注。其中, miR-223 作为 miRNA 家族的一员, 已经在多种生理和病理情境中显示出其潜在的重要作用^[2]。尤其是在心血管领域, miR-223 的研究正在逐渐揭示其在心脏病理过程中的重要功能^[3-5]。既往研究已经表明, miR-223 在心肌纤维化中可能起着重要的调控作用。Li HL 等发现 miR-223 调控 RASA1 增强成纤维细胞增殖、迁移和分化, 从而介导心梗后心肌纤维化^[6]。此外, Chen HM 和同事的研究表明, 抑制 miR-223 减弱 NLRP3 炎症小体的激活, 能够缓解糖尿病心肌病中的细胞凋亡和心肌纤维化^[7]。

然而, 尽管有一些研究表明 miR-223 可能与心肌纤维化相关, 但其在扩张型心肌病导致心肌纤维化的机制尚不清楚。在这一背景下, 本研究旨在深入探讨 miR-223 在心衰的心肌纤维化中的潜在作用及其分子机制。通过系统性的实验设计和分析, 我们试图揭示 miR-223 是否可以作为潜在的治疗靶点, 以减轻或逆转心衰心肌纤维化的进展。

1 研究对象和方法

本研究招募了 2019 年—2023 年来自新疆维吾尔自治区人民医院的明确诊断为 88 名扩张型心肌病的患

者心肌纤维化作为研究对象, 纳入 17 名肥厚性心肌病(hypertrophic cardiomyopathy, HCM) 和 105 名健康者作为对照。心肌纤维化评估: 通过心脏超声评估患者的心肌纤维化程度。纳入标准包括: 年龄在 45 岁至 75 岁之间; 明确的心衰诊断, 符合美国心脏病学会(AHA) / 美国心脏病学会(ACC)的心衰定义; 未接受心脏移植或心脏手术治疗; 愿意参与研究并提供知情同意。纳入排除标准包括: 有其他重要心血管合并症, 如急性心肌梗死、严重心律失常等; 有活动性恶性肿瘤; 有严重肝功能或肾功能不全; 使用影响 miRNA 表达的药物, 如免疫抑制剂。样本采集: 通过静脉抽血采集患者的血液样本。每位患者的血液样本将用于后续的 miR-223 测量。收集相关的临床指标, 包括脑钠肽(B-type natriuretic peptide, BNP), 肌酸激酶同工酶 MB(creatine kinase-MB, CKMB), 肌钙蛋白 T(cardiac troponin T, cTnT), 左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVED)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)等。血液样本的采集经过新疆维吾尔自治区人民医院伦理委员会的批准(KY2019062613), 并获得知情同意书。

RNA 提取和逆转录: 使用商业 RNA 提取试剂盒, 从每个患者的血液样本中提取总 RNA, 包括 miRNA。随后, 使用 miRNA 专用的逆转录试剂盒将提取的 RNA 逆转录为 cDNA, 包括 miR-223。miR-223 的 qPCR 检测: 针对 miR-223, 我们使用前述的 qPCR 前体引物和通用逆向引物, 进行 qPCR 反应。miR-223 的引物: 逆转录引物:

表 1: 研究对象的基线资料

	DCM	HCM	对照组	P
n	88	17	105	
miR-223	1.49 (1.25, 1.86)	2.42 (2.26, 2.79)	2.71 (2.40, 3.07)	< 0.001
6MWT(m)	286 (170, 401)	595 (517, 659)	571 (507, 630)	< 0.001
BNP(pg/ml)	2833 (1338, 3726)	184.9 (121.27, 265.12)	223.69 (123.29, 295.92)	< 0.001
LVEF(%)	36 (28.75, 43)	57 (51, 59)	57 (53, 60)	< 0.001
CK-MB(ng/ml)	21.032 (6.8936, 36.988)	2.4552 (0.8664, 3.2577)	2.6826 (1.3989, 3.8551)	< 0.001
cTNT(ng/ml)	2.1503 (1.1994, 3.1694)	0.023275 (0.019973, 0.024741)	0.021512 (0.017217, 0.024577)	< 0.001
LVED(mm)	58 (56, 63)	40 (38, 44)	41 (38, 46)	< 0.001
男性, n (%)				0.751
0	43 (20.5%)	9 (4.3%)	47 (22.4%)	
1	45 (21.4%)	8 (3.8%)	58 (27.6%)	
年龄	37 (28, 45)	33 (25, 45)	35 (25, 44)	0.631
糖尿病 n (%)				0.862
1	53 (25.2%)	11 (5.2%)	61 (29%)	
0	35 (16.7%)	6 (2.9%)	44 (21%)	
高血压 n (%)				0.250
0	49 (23.3%)	11 (5.2%)	49 (23.3%)	
1	39 (18.6%)	6 (2.9%)	56 (26.7%)	
高血脂 n (%)				0.605
0	40 (19%)	9 (4.3%)	55 (26.2%)	
1	48 (22.9%)	8 (3.8%)	50 (23.8%)	
BMI(kg/m ²)	22.1 (19.8, 24.4)	21.6 (20.7, 23)	22.2 (19.9, 24)	0.841
吸烟 n (%)				0.507
0	39 (18.6%)	9 (4.3%)	55 (26.2%)	
1	49 (23.3%)	8 (3.8%)	50 (23.8%)	
饮酒 n (%)				0.439
1	48 (22.9%)	10 (4.8%)	49 (23.3%)	
0	40 (19%)	7 (3.3%)	56 (26.7%)	
心率(bpm)	83.5 (71.75, 97)	86 (65, 97)	79 (69, 92)	0.475
收缩压(mmHg)	122 (113, 130.5)	119 (108, 134)	123 (114, 135)	0.588
舒张压(mmHg)	69 (62, 77.25)	69 (63, 77)	71 (63, 78)	0.877
白细胞(10 ⁹ /l)	7.365 (5.6825, 8.625)	7.23 (5.73, 8.75)	7.3 (5.52, 8.19)	0.627
CRP(pg/l)	3.4665 (1.8698, 5.714)	4.642 (2.779, 7.008)	4.417 (1.991, 6.356)	0.147

接表 1

	DCM	HCM	对照组	P
血小板 (×109/l)	199 (144.75, 263.5)	209 (161, 233)	224 (166, 253)	0.481
病程 (年)	4.05 (2.4, 5.925)	4.6 (3.1, 5.5)	4.3 (2.8, 5.4)	0.883
ACEi/ARBs n (%)				< 0.001
0	42 (20%)	10 (4.8%)	105 (50%)	
1	46 (21.9%)	7 (3.3%)	0 (0%)	
利尿剂 n (%)				< 0.001
1	40 (19%)	10 (4.8%)	0 (0%)	
0	48 (22.9%)	7 (3.3%)	105 (50%)	
B 受体阻滞剂 n (%)				< 0.001
1	41 (19.5%)	10 (4.8%)	0 (0%)	
0	47 (22.4%)	7 (3.3%)	105 (50%)	
卡格列净 n (%)				< 0.001
0	38 (18.1%)	13 (6.2%)	105 (50%)	
1	50 (23.8%)	4 (1.9%)	0 (0%)	
洋地黄 n (%)				< 0.001
0	44 (21%)	17 (7.6%)	105 (50%)	
1	44 (21%)	0 (0%)	0 (0%)	

注: DCM: 扩张型心肌病, HCM: 肥厚性心肌病, 6MWT: 6 分钟步行实验, BNP: 脑钠肽, CKM: 肌酸激酶同工酶 MB, cTnT: 肌钙蛋白 T, LVED: 左室舒张末期内径, LVEF: 左室射血分数, BMI: 身体质量指数, CRP: C 反应蛋白。

5' -GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGACTGGATACGAC AGGGCT-3'。

2 统计分析

首先使用独立样本 t 检验比较了心衰患者和健康对照组之间 miR-223 表达的差异, 并采用多重比较校正方法进行结果的校正。接着, 我们使用皮尔逊相关系数 (或 Spearman 秩相关系数) 来评估 miR-223 与多个临床指标 (包括 BNP、ckmb、肌钙蛋白 T、射血分数、左心室舒张末内径、6 分钟步行实验等) 之间的相关性, 同时进行多元线性回归分析以探讨这些指标对 miR-223 表达的独立影响, 考虑到可能的干扰因素。这些统计学方法有助于揭示 miR-223 在心衰患者中的表达差异以及其与临床特征之间的关联, 为深入理解心衰的分子机制提供了重要支持。

3 结果

3.1 基线资料

根据表 1 可见, 三组患者的 miR-223、6MWT、

BNP、LVEF、CK-MB、cTNT 和 LVED 的水平及用药史有差异, 而性别、年龄、糖尿病、高血压、高血脂、BMI、吸烟、饮酒、心率、收缩压、舒张压、白细胞、CRP、血小板、和病程方面无明显差异。

3.2 miR-223 在扩张型心肌病患者中的低表达

我们的研究首先分析了 miR-223 在 DCM 患者和健康对照组之间的表达差异。结果显示, DCM 患者中 miR-223 的表达水平显著低于健康对照组 ($p < 0.05$), 表明 miR-223 在 DCM 发病中可能具有潜在的调节作用。

3.3 miR-223 与临床指标的相关性

我们进一步分析了 miR-223 与多个临床指标之间的相关性。在 DCM 患者中, miR-223 的表达与 BNP ($R = -0.80, P < 2.2e-16$)、CKMB ($R = -0.79, P < 2.2e-16$)、肌钙蛋白 T ($R = -0.80, P < 2.2e-16$)、和左心室舒张末内径 ($R = -0.80, P < 2.2e-16$) 之间存在负相关关系, 这表明 miR-223 的低表达可能与心衰的临床严重程度有关。此外, miR-223 的表达与 6MWT ($R = 0.81, P < 2.2e-$

16) 和射血分数之间呈正相关关系 ($R=0.75$, $P < 2.2e-16$), 暗示 miR-223 的表达可能与心脏功能下降相关。而 miR-223 与 HCM 患者的临床指标不相关 (表 2)。

表 2: miR-223 与 DCM 和 HCM 临床指标的相关性

	DCM		HCM	
	R	P	R	P
6MWT	0.81	$< 2.2e-16$	-0.37	0.15
BNP	-0.80	$< 2.2e-16$	-0.41	0.10
CKMB	-0.79	$< 2.2e-16$	0.091	0.73
cTnT	-0.80	$< 2.2e-16$	0.24	0.35
LVED	-0.80	$< 2.2e-16$	0.27	0.30
LVEF	0.75	$< 2.2e-16$	0.034	0.9

注: DCM: 扩张型心肌病, HCM: 肥厚性心肌病, 6MWT: 6 分钟步行实验, BNP: 脑钠肽, CKM: 肌酸激酶同工酶 MB, cTnT: 肌钙蛋白 T, LVED: 左室舒张末期直径, LVEF: 左室射血分数。

4 讨论

我们的研究结果强调了 miR-223 在 DCM 中的潜在重要性, 不仅作为潜在的生物标志物, 还可能在 DCM 的发病机制中发挥关键作用。miR-223 的低表达与心衰的临床特征密切相关, 包括心肌损伤标志物 (如 BNP、ckmb、肌钙蛋白 T) 的升高、心脏结构异常 (如左心室舒张末内径的增加) 以及运动能力的下降。此外, miR-223 的表达水平与射血分数呈负相关, 提示 miR-223 可能与心脏功能下降相关。这些结果提供了进一步研究 miR-223 在 DCM 病理生理过程中的作用以及其潜在的临床应用的基础。

过去的研究已经在心脏疾病领域中探讨了 miR-223 的作用, 包括心肌梗死、心肌肥厚和心脏纤维化等。这些研究发现了 miR-223 在心脏病理生理过程中的一些潜在作用。有研究强调了 miR-223 在心脏疾病中的重要性,

但重点是与心脏炎症反应相关的作用^[8]。此外, 张等 (2017) 指出 miR-223 与心肌纤维化相关的一些潜在机制^[9]。然而, 这些既往研究并未深入研究 miR-223 在 DCM 中的特定作用。

与以往的研究不同, 我们在本研究中对 miR-223 与多个临床指标之间的关联进行了全面分析, 包括 BNP、ckmb、肌钙蛋白 T、左心室舒张末内径和 6 分钟步行实验等。这种全面性的分析强调了 miR-223 与 DCM 患者的临床特征之间的紧密联系。这与以前的研究不同^[10-12], 以往的研究往往关注 miR-223 的单一作用, 而我们将其与多种临床参数相关联, 更全面地理解了 miR-223 在 DCM 中的作用。

基于我们的发现, 我们提出了 miR-223 作为潜在治疗策略的可能性。这一观点具有创新性, 因为迄今为止, miR-223 在 DCM 治疗中的角色尚未广泛研究。我们认为, 这个观点具有重要的临床和研究价值, 并可能为心脏病患者提供新的治疗选择。以前的研究往往集中在 miR-223 的基础科学方面, 而我们将其应用到了临床治疗的概念中, 这是一项具有突破性的创新。

尽管本研究取得了一些重要的发现, 但也存在一些局限性需要考虑。首先, 本研究的样本量相对较小, 因此需要更大规模的研究来验证我们的结果。其次, 由于本研究是横断面研究, 不能确定 miR-223 的低表达是否是 DCM 的原因或结果。进一步的研究, 尤其是纵向研究, 将有助于澄清这一问题。此外, 我们的研究没有深入探讨 miR-223 的分子机制, 未来的研究需要更详细地研究 miR-223 与相关信号通路的相互作用。

总的来说, 本研究突出了 miR-223 在 DCM 中的重要性, 并为深入了解心脏疾病的发病机制和发展新的诊断和治疗策略提供了新的视角。miR-223 作为一个潜在的生物标志物和治疗靶点, 为未来心脏疾病研究和临床实践提供了有希望的方向。

参考文献:

[1] MAHMALJY H, YELAMANCHILI V S, SINGHAL M. Dilated Cardiomyopathy [M]. StatPearls. Treasure Island (FL) ineligible companies. Disclosure: Varun Yelamanchili declares no relevant financial relationships with ineligible companies. Disclosure: Mayank Singhal declares no relevant financial relationships with ineligible companies.; StatPearls Publishing Copyright © 2023, StatPearls Publishing LLC. 2023.

[2] SHI M, LU Q, ZHAO Y, et al. miR-223: a key regulator of pulmonary inflammation [J]. *Frontiers in medicine*, 2023, 10(1187557).

[3] WANG J X, ZHANG X J, LI Q, et al. MicroRNA-103/107 Regulate Programmed Necrosis and Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury Through Targeting FADD [J]. *Circ Res*, 2015, 117(4): 352-63.

[4] CONDORELLI G, LATRONICO M V, CAVARRETTA E. microRNAs in cardiovascular diseases:

current knowledge and the road ahead [J]. *Journal of the American College of Cardiology*, 2014, 63(21): 2177–87.

[5]ZHANG X, WANG X, ZHU H, et al. Synergistic effects of the GATA-4-mediated miR-144/451 cluster in protection against simulated ischemia/reperfusion-induced cardiomyocyte death [J]. *Journal of molecular and cellular cardiology*, 2010, 49(5): 841–50.

[6]LIU X X, XU Y F, DENG Y F, et al. MicroRNA-223 Regulates Cardiac Fibrosis After Myocardial Infarction by Targeting RASA1 [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2018, 46(4): 1439–54.

[7]XU D, ZHANG X Z, CHEN X, et al. Inhibition of miR-223 attenuates the NLRP3 inflammasome activation, fibrosis, and apoptosis in diabetic cardiomyopathy [J]. *Life Sciences*, 2020, 256(

[8]THUM T, CONDORELLI G. Long noncoding RNAs and microRNAs in cardiovascular pathophysiology [J]. *Circ Res*, 2015, 116(4): 751–62.

[9]LIU X, XU Y, DENG Y, et al. MicroRNA-223 Regulates Cardiac Fibrosis After Myocardial Infarction by Targeting RASA1 [J]. *Cellular physiology and biochemistry : international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology*, 2018, 46(4): 1439–54.

[10]TIJSEN A J, CREEMERS E E, MOERLAND P D, et al. MiR423-5p as a circulating biomarker for heart failure [J]. *Circ Res*, 2010, 106(6): 1035–9.

[11]GAO W, HE H W, WANG Z M, et al. Plasma levels of lipometabolism-related miR-122 and miR-370 are increased in patients with hyperlipidemia and associated with coronary artery disease [J]. *Lipids Health Dis*, 2012, 11(55).

[12]LIU X, FAN Z, ZHAO T, et al. Plasma miR-1, miR-208, miR-499 as potential predictive biomarkers for acute myocardial infarction: An independent study of Han population [J]. *Experimental gerontology*, 2015, 72(230–8).

作者简介:晁鹏(1992-),男,汉族,新疆人,硕士,中级职称,研究方向:心律失常、心肌病;通讯作者:杨毅宁。