doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.06.030

急性心肌梗死患者血清外连素、MEG3、HSP-70 水平与心肌损伤标志物及心血管不良事件的关系研究 *

许子度 [1] 张海峰 [1△] 张博晴 [2] 丁 红 [1] 杨 昀 [1]

（1 南京医科大学第二附属医院急诊科 江苏 南京 210000；2 南京医科大学第二附属医院心血管中心 江苏 南京 210000）

摘要 目的：研究急性心肌梗死（AMI）患者血清外连素、母系表达基因 3（MEG3）、热休克蛋白 70（HSP-70）水平与心肌损伤标志物及心血管不良事件的关系。**方法：**选取 2015 年 1 月 -2020 年 1 月期间我院接受治疗的 AMI 患者 200 例作为 AMI 组，另选取同期在我院健康体检的人群 100 例作为对照组，对比对照组、AMI 组心肌型肌酸激酶同工酶（CK-MB）、肌红蛋白（Myo）、心肌肌钙蛋白 Ⅰ（cTnI）、外连素、MEG3 RNA、HSP-70。对比心血管不良事件与非心血管不良事件患者的 CK-MB、Myo、cTnI、外连素、MEG3 RNA、HSP-70 水平。采用 Pearson 相关性分析 AMI 患者血清外连素、MEG3 RNA、HSP-70 水平与心肌损伤标志物的关系。**结果：**AMI 组 CK-MB、Myo、cTnI、外连素、MEG3 RNA、HSP-70 均高于对照组（$P<0.05$）。随访过程中，有 59 例发生心血管不良事件纳为心血管不良事件组，剩余 141 例未发生心血管不良事件纳为非心血管不良事件组。心血管不良事件组患者的 CK-MB、Myo、cTnI、外连素、MEG3 RNA、HSP-70 均高于非心血管不良事件组（$P<0.05$）。AMI 患者外连素、MEG3 RNA、HSP-70 水平与 CK-MB、Myo、cTnI 均呈正相关（$P<0.05$）。**结论：**AMI 患者中外连素、MEG3 RNA、HSP-70 均呈现异常高表达，且与心肌损伤标志物密切相关，可考虑作为 AMI 患者早期确诊的新型标志物。

关键词：急性心肌梗死；外连素；MEG3；HSP-70；心肌损伤标志物；心血管不良事件；关系

中图分类号：R542.22 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2021)06-1134-04

Study the Relationship between Serum Exonectin, MEG3, HSP-70 Levels and Myocardial Injury Markers and Cardiovascular Adverse Events in Patients with Acute Myocardial Infarction*

XU Zi-du[1], ZHANG Hai-feng[1△], ZHANG Bo-qing[2], DING Hong[1], YANG Yun[1]

(1 Department of Emergency, The Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 210000, China; 2 Cardiovascular Center, The Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 210000, China)

ABSTRACT Objective: To study the relationship between the serum exonectin, matrilineal expression gene 3 (MEG3), heat shock protein 70 (HSP-70) levels and myocardial injury markers and cardiovascular adverse events in patients with acute myocardial infarction (AMI). **Methods:** 200 patients with AMI who were treated in our hospital from January 2015 to January 2020 were selected as AMI group, and another 100 cases of healthy people undergoing physical examination in our hospital during the same period were selected as the control group. The myocardial creatine kinase isoenzyme (CK-MB), myoglobin (Myo), cardiac troponin I (cTnI), exonectin, MEG3 RNA and HSP-70 were compared between control group and AMI group. CK-MB, Myo, cTnI, exonectin, MEG3 RNA and HSP-70 levels in patients with and without cardiovascular adverse events were compared. Pearson correlation was used to analyze the relationship between serum exonectin, MEG3 RNA, HSP-70 levels and myocardial injury markers in patients with AMI. **Results:** CK-MB, Myo, cTnI, exonectin, MEG3 RNA and HSP-70 in AMI group were higher than those in control group ($P<0.05$). During the follow-up, 59 cases with cardiovascular adverse events were included in the cardiovascular adverse events group, and the remaining 141 cases without cardiovascular adverse events were included in the non cardiovascular adverse events group. The CK-MB, Myo, cTnI, exonectin, MEG3 RNA and HSP-70 in cardiovascular adverse event group were higher than those in non cardiovascular adverse event group ($P<0.05$). The exonectin, MEG3 RNA and HSP-70 in AMI patients were positively correlated with CK-MB, Myo and cTnI ($P<0.05$). **Conclusion:** The expression of exonectin, MEG3 RNA and HSP-70 in patients with AMI are abnormally high, and they are closely related to myocardial injury markers, which can be considered as a new marker for early diagnosis of AMI.

Key words: Acute myocardial infarction; Exonectin; MEG3; HSP-70; Myocardial injury markers; Cardiovascular adverse events; Relationship

Chinese Library Classification(CLC): R542.22 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2021)06-1134-04

* 基金项目：江苏省卫生和计划生育委员会医学科研项目（H201779）

作者简介：许子度（1987-），男，本科，主治医师，研究方向：急危重症，心血管疾病，E-mail: xuzidu198711@163.com

△ 通讯作者：张海峰（1976-），男，本科，主治医师，研究方向：心血管疾病，E-mail: ruirui1220@163.com

（收稿日期：2020-09-06 接受日期：2020-09-28）

前言

急性心肌梗死(Acute myocardial infarction,AMI)是冠心病的严重类型,多发生在冠状动脉粥样硬化狭窄基础上,由多种原因如血栓形成及血管痉挛等导致冠状动脉管腔阻塞,最终诱导 AMI[1]。AMI 发病急骤、进展迅速,早确诊、早治疗可有效改善 AMI 患者的预后。以往 AMI 的常用检测手段为心电图、超声检查等实验室检查,因具有一定的误差,故临床多以心肌型肌酸激酶同工酶(Myocardial creatine kinase isoenzyme,CK-MB)、肌红蛋白(Myoglobin,Myo)、心肌肌钙蛋白Ⅰ(Cardiac troponin I,cTnI)等心肌损伤标志物水平动态改变来判断 AMI 的病情进展[2]。但近几年也有研究表明[3],在 AMI 的发病早期,CK-MB、cTnI 的早期诊断灵敏度不高,漏诊率及误诊率较高,存在临床局限性。因此,有必要寻找新的 AMI 诊断生物标志物。外连素是一种糖蛋白,通过促进血栓形成、平滑肌细胞增殖、对巨噬细胞黏附等作用参与多种心血管疾病的发生、发展[4]。热休克蛋白 70(Heat shock protein 70,HSP-70)是一组分子结构、生化性质、部分甚至免疫结构中高度保守的蛋白[5]。现有的研究证实[6],AMI 患者外周血 HSP-70 明显异常。长链非编码 RNA 是现代临床心血管疾病的研究热点,母系表达基因 3(Matrilineal expression gene 3,MEG3)是具有肿瘤抑制作用的长链非编码 RNA[7],但其对 AMI 的影响少有报道。基于此,本研究通过分析 AMI 患者外连素、MEG3、HSP-70 水平与心肌损伤标志物及心血管不良事件的关系,探讨其临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 1 月 -2020 年 1 月期间我院接受治疗的 AMI 患者 200 例作为 AMI 组,纳入标准:(1)符合《急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南》中关于 AMI 的相关诊断标准[8];(2)结合患者临床表现、动态心电图、心电图、心彩超确诊;(3)患者对本次研究均知情同意,并签署知情同意书;(4)均为初次发作。排除标准:(1)孕妇及哺乳期女性;(2)自身免疫性疾病、外周血管疾病者;(3)合并有精神疾病,不能配合本研究者;(4)甲状腺疾病、恶性肿瘤、严重肝肾功能异常者;(5)入组前即使用药物从而影响心肌损伤标志物水平者;(6)有房颤、心力衰竭等心脏病史者。AMI 组患者中男 103 例,女 97 例,年龄 45~80(62.86± 5.37)岁;发病至入院时间 2~12(5.38± 0.91)h;阻塞血管:左前降支 87 例,回旋支 69 例,右冠状动脉 44 例。另选取同期 100 例在我院健康体检的人群作为对照组,其中女 41 例,男 58 例;年龄 47~79 岁,平均(62.09± 6.37)岁。既往均无胸痛胸闷等表现,动态心电图、心电图、心彩超、心肌酶学等检查未见异常。两组研究对象男女比例、年龄对比无差异(P>0.05),临床资料均衡可比。本次研究经我院伦理委员会的批准。

1.2 方法

(1)检测方法:所有入选对象均在空腹采肘静脉血(对照组体检当天、AMI 组入院次日)测定下列指标:CK-MB、Myo、cTnI、外连素、MEG3、HSP-70。以上各指标均由检验科专人质控在控前提下进行检测。采肘静脉血 4 mL,分离血清、血浆于冰箱中(-80 ℃)保存待测,离心方案为:3600 r/min 离心 10 分钟,离心半径 8 cm。采用酶联免疫吸附法中的双抗体夹心法测定 HSP70、外连素、Myo、cTnI 水平,采用荧光免疫法测定 CK-MB。采用实时聚合酶链式反应法检测纳入研究对象血浆 RNA 中的 MEG3 表达。检测过程中所用仪器:湘仪 TDZ5-W5 离心机购自湖南省湘仪实验公司,检测试剂盒购自深圳市汇松科技有限公司。(2)心血管不良事件:记录随访期间心血管不良事件发生情况,包括再发心肌梗死、血运重建、心力衰竭等。

1.3 统计学方法

采用 SPSS20.0 软件进行数据分析,计量资料均符合正态分布,以均值± 标准差表示,组间比较采用 t 检验。以率或绝对数的形式表示计数资料,进行卡方检验。采用 Pearson 相关性分析 AMI 患者外连素、MEG3 RNA、HSP-70 水平与心肌损伤标志物的关系。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组、AMI 组 CK-MB、Myo、cTnI、外连素、MEG3 RNA、HSP-70 对比

AMI 组 CK-MB、Myo、cTnI、外连素、MEG3 RNA、HSP-70 均高于对照组,差异有统计学意义(P<0.05),详见表 1。

表 1 对照组、AMI 组血清 CK-MB、Myo、cTnI、外连素、MEG3 RNA、HSP-70 水平对比($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of serum CK-MB, Myo, cTnI, exonectin, MEG3 RNA and HSP-70 levels between control group and AMI group($\bar{x}\pm s$)

Indexes	Control group(n=100)	AMI group(n=200)	t	P
CK-MB(ng/mL)	4.83± 0.91	41.36± 7.29	49.875	0.000
Myo(ng/mL)	24.04± 3.62	79.22± 6.41	59.906	0.000
cTnI(ng/mL)	0.05± 0.01	10.37± 1.15	89.662	0.000
Exonectin(mg/mL)	173.69± 16.81	375.41± 27.57	67.158	0.000
MEG3 RNA	0.007± 0.001	0.019± 0.003	38.906	0.000
HSP-70(ng/mL)	2.13± 0.65	22.16± 3.38	58.673	0.000

2.2 心血管不良事件组与非心血管不良事件组的 CK-MB、Myo、cTnI、外连素、MEG3 RNA、HSP-70 对比

随访过程中,有 59 例发生心血管不良事件纳为心血管不良事件组(包括再发心肌梗死 29 例、血运重建 17 例、心力衰竭 13 例),剩余 141 例未发生心血管不良事件纳为非心血管不良事件组。心血管不良事件组患者的 CK-MB、Myo、cTnI、外连素、MEG3 RNA、HSP-70 均高于非心血管不良事件组(P<0.05),详见表 2。

表 2 心血管不良事件组与非心血管不良事件组的 CK-MB、Myo、cTnI、外连素、MEG3 RNA、HSP-70 对比($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of CK-MB, Myo, cTnI, exonectin, MEG3 RNA and HSP-70 between cardiovascular adverse event group and non cardiovascular adverse event group($\bar{x}\pm s$)

Indexes	Non cardiovascular adverse events group(n=141)	Cardiovascular adverse events group(n=59)	t	*P*
CK-MB(ng/mL)	36.52± 3.40	52.93± 7.11	22.077	0.000
Myo(ng/mL)	68.43± 9.38	105.00± 10.94	23.194	0.000
cTnI(ng/mL)	8.46± 1.05	14.93± 2.53	25.611	0.000
Exonectin(mg/mL)	338.71± 19.32	463.12± 25.71	37.511	0.000
MEG3 RNA	0.015± 0.001	0.029± 0.002	65.873	0.000
HSP-70(ng/mL)	18.61± 3.24	30.64± 6.50	17.437	0.000

2.3 AMI 患者血清外连素、MEG3 RNA、HSP-70 水平与心肌损伤标志物的相关性分析

Pearson 相关性分析结果显示，AMI 患者外连素、MEG3 RNA、HSP-70 水平与 CK-MB、Myo、cTnI 均呈正相关($P<0.05$)，如表 3 所示。

表 3 AMI 患者外连素、MEG3 RNA、HSP-70 与心肌损伤标志物的相关性分析

Table 3 Correlation analysis of exonectin, MEG3 RNA, HSP-70 and myocardial injury markers in patients with AMI

Indexes	CK-MB		Myo		cTnI	
	r	*P*	r	*P*	r	*P*
Exonectin	0.396	0.015	0.518	0.000	0.465	0.000
MEG3 RNA	0.414	0.009	0.422	0.007	0.412	0.010
HSP-70	0.457	0.000	0.468	0.000	0.478	0.000

3 讨论

AMI 患者的主要发病机制在于冠状动脉内血栓形成，血栓大量形成可刺激血小板活化，活化的血小板又可激活凝血酶，同时损害人体内皮细胞，损伤的内皮释放组织因子加速血栓形成，形成恶性循环[9-11]。早期诊断 AMI 并及时进行相关治疗，患者常可获得良好的预后。CK-MB、Myo、cTnI 是常见的心肌酶指标，其中 CK-MB 可反映心肌损伤程度以及判断 AMI 的溶栓治疗效果[12]。Myo 是一种含氧结合蛋白，主要存在于骨骼肌和心肌中，正常人血清中 Myo 含量极少，当心肌和骨骼肌损伤时，其水平迅速升高，故而临床常将其用于骨骼肌、心肌损害的检测中[13]。cTnI 主要存在于细肌丝上，是调节横纹肌收缩偶联的调节蛋白，当心肌细胞受损时，cTnI 被释放入血，且高水平的 cTnI 可持续存在，灵敏度较好[14]。本次研究结果中，AMI 组患者的 CK-MB、Myo、cTnI 水平均高于对照组，且发生心血管不良事件的患者其水平更高，可见心肌损伤标志物在 AMI 的诊断中具有一定的作用，可在一定程度上判断 AMI 的疾病进展，但通常情况下，AMI 发病后 3 h 患者 CK-MB、Myo、cTnI 水平才会升高，且这种改变需在 AMI 发病 7 h 后才会比较显著，早期诊断中的价值仍不十分理想[15]。

随着分子生物学的发展，人们逐渐意识到血液中其他敏感分子在 AMI 疾病进展中的重要性，外连素由一条单链组成，参与调节纤维蛋白溶解和血栓形成。以往的研究证实，外连素在心血管[4]的发生、发展中发挥作用，但有关 AMI 患者外连素水平及意义尚不清楚。本次研究结果显示，AMI 患者外连素异常升高，且随着病情的增加而升高，提示外连素参与着 AMI 的疾病进展。可能是因为外连素可抑制凝血酶的激活，通过调节凝血酶控制血栓的形成，从而参与 AMI 的发生、发展[4]。HSP-70 可通过降解维持蛋白质、蛋白质折叠，这两种相反的机制保护细胞和器官免受损伤，从而维持机体细胞在应激过程中的稳态[16,17]。现有的研究证实[18-20]，通过缓解 HSP-70 的高水平状态，可减少心肌梗死面积，改善缺血再灌注损伤的恢复，同时还可防止脂多糖诱导的功能障碍。尽管如此，HSP-70 是否可以作为 AMI 新的诊断标志物，还有待证实。本次研究结果中，AMI 患者 HSP-70 水平升高，且心血管不良事件组患者的 HSP-70 水平更高，表明 HSP-70 也参与者 AMI 的疾病进展。其机制可能是：一方面，HSP-70 可阻止钙离子内流来缓解缺血再灌注损伤，产生心脏保护效果[21]。同时，HSP-70 还可降低心肌细胞中的活性氧簇含量，从而保护心肌细胞免受损伤[22]。除此之外，HSP-70 通过减弱 JNK 的激活来抑制细胞凋亡，减轻和延缓心肌损伤[23]。伴随着深入的研究，有学者发现长链非编码 RNA 与不少疾病均有着较为密切的关系，MEG3 RNA 参与多种疾病中如胃癌[24]、慢性髓系白血病[25]等的进展。以往早期动物实验指出长链 RNA 作为核受体信号转导的共激活因子，引发心室肌收缩功能障碍，猜测长链 RNA 可能参与着 AMI 发病进程[26]。本次研究中 AMI 患者 MEG3 RNA 高表达，且发生心血管不良事件的患者水平也呈现高表达，初步证实了 MEG3 RNA 可较好地预示心肌损伤程度，但有关其具体的作用机制仍有待进一步的分子试验证实。相关性结果显示，AMI 患者外连素、MEG3 RNA、HSP-70 水平与心肌损伤标志物均呈正相关，表明外连

素、MEG3 RNA、HSP-70 在 AMI 疾病进展恶化中发挥一定作用,可以作为 AMI 患者病情评估、治疗及预后的新标志物。

综上所述,AMI 患者中外连素、MEG3 RNA、HSP-70 均呈现异常高表达,且与心肌损伤标志物有良好的相关性,有望成为 AMI 患者早期确诊的新型标志物。

参 考 文 献(References)

[1] Tibaut M, Mekis D, Petrovic D. Pathophysiology of Myocardial Infarction and Acute Management Strategies[J]. Cardiovasc Hematol Agents Med Chem, 2017, 14(3): 150-159

[2] Fan J, Ma J, Xia N, et al. Clinical Value of Combined Detection of CK-MB, MYO, cTnI and Plasma NT-proBNP in Diagnosis of Acute Myocardial Infarction[J]. Clin Lab, 2017, 63(3): 427-433

[3] 赵红梅, 罗曼, 沈蕾蕾. 急诊床旁快速检测心脏型脂肪酸结合蛋白在急性心肌梗死早期诊断中的应用研究[J].中国急救医学, 2015, 35(z2): 62-64

[4] 柴东剑, 俎德玲, 诸葛毅, 等. 急性心肌梗死患者血清外连素水平及临床意义[J].中国现代医学杂志, 2019, 29(12): 78-82

[5] Song YJ, Zhong CB, Wang XB. Heat shock protein 70: A promising therapeutic target for myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(2): 1190-120

[6] 左立平, 梁艳冰, 唐皓, 等. 急性心肌梗死猝死患者心肌热休克蛋白 70 和血红素氧合酶 1 的改变及其意义 [J]. 中国危重病急救医学, 2010, 22(2): 93-96

[7] Zhou Y, Li X, Zhao D, et al. Long non-coding RNA MEG3 knockdown alleviates hypoxia-induced injury in rat cardiomyocytes via the miR-325-3p/TRPV4 axis[J]. Mol Med Rep, 2021, 23(1): 18

[8] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断和治疗指南 [J]. 中华心血管病杂志, 2010, 38(8): 675-690

[9] Edupuganti MM, Ganga V. Acute myocardial infarction in pregnancy: Current diagnosis and management approaches [J]. Indian Heart J, 2019, 71(5): 367-374

[10] DeFilippis AP, Chapman AR, Mills NL, et al. Assessment and Treatment of Patients With Type 2 MyocardialInfarction and Acute Nonischemic Myocardial Injury[J]. Circulation, 2019, 140(20): 1661-1678

[11] Castro-Dominguez Y, Dharmarajan K, McNamara RL. Predicting death after acute myocardial infarction [J]. Trends Cardiovasc Med, 2018, 28(2): 102-109

[12] Pöyhönen P, Kylmälä M, Vesterinen P, et al. Peak CK-MB has a strong association with chronic scar size and wall motion abnormalities after revascularized non-transmural myocardialinfarction-a prospective CMR study[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2018, 18(1): 27

[13] Pu J, Ding S, Ge H, et al. Efficacy and Safety of a Pharmaco-Invasive Strategy With Half-Dose Alteplase Versus Primary Angioplasty in ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction: EARLY-MYO Trial (Early Routine Catheterization After Alteplase Fibrinolysis Versus Primary PCI in Acute ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction) [J]. Circulation, 2017, 136(16): 1462-1473

[14] van der Linden N, Wildi K, Twerenbold R, et al. Combining High-Sensitivity Cardiac Troponin I and Cardiac Troponin T in the Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction[J]. Circulation, 2018, 138(10): 989-999

[15] 胡义忠. CK-MB、cTnI、Myo 和 NT-proBNP 联合检测在诊断急性心肌梗死中的应用 [J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(9): 4213-4217

[16] Konstantinova EV, Chipigina NS, Shurdumova MH, et al. Heat Shock Protein 70 kDa as a Target for Diagnostics and Therapy of Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases [J]. Curr Pharm Des, 2019, 25(6): 710-714

[17] Shevtsov MA, Nikolaev BP, Ryzhov VA, et al. Detection of experimental myocardium infarction in rats by MRI using heat shock protein 70 conjugated superparamagnetic iron oxide nanoparticle [J]. Nanomedicine, 2016, 12(3): 611-621

[18] Suzuki H, Kosuge Y, Kobayashi K, et al. Heat-shock protein 72 promotes platelet aggregation induced by various platelet activators in rats[J]. Biomed Res, 2017, 38(3): 175-182

[19] Carra S, Alberti S, Arrigo PA, et al. The growing world of small heat shock proteins: from structure to functions[J]. Cell Stress Chaperones, 2017, 22(4): 601-611

[20] Lubkowska A, Bryczkowska I, Szygula Z, et al. The effect of repeated whole-body cryostimulation on the HSP-70and lipid metabolisms in healthy subjects[J]. Physiol Res, 2019, 68(3): 419-429

[21] Mehramiz M, Hassanian SM, Mardan-Nik M, et al. The interaction between a HSP-70 gene variant with dietary calories in determining serum markers of inflammation and cardiovascularrisk [J]. Clin Nutr, 2018, 37(6 Pt A): 2122-2126

[22] Konstantinova EV, Chipigina NS, Shurdumova MH, et al. Heat Shock Protein 70 kDa as a Target for Diagnostics and Therapy of Cardiovascular and Cerebrovascular Diseases [J]. Curr Pharm Des, 2019, 25(6): 710-714

[23] Ali A, Qureshi SF, Medikare V, et al. Heat shock protein 70 gene polymorphisms' influence on the electrophysiology of long QT syndrome[J]. J Interv Card Electrophysiol, 2016, 45(2): 119-130

[24] Wei GH, Wang X. lncRNA MEG3 inhibit proliferation and metastasis of gastric cancervia p53 signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(17): 3850-3856

[25] Zhou X, Yuan P, Liu Q, et al. LncRNA MEG3 Regulates Imatinib Resistance in Chronic MyeloidLeukemia via Suppressing MicroRNA-21[J]. Biomol Ther (Seoul), 2017, 25(5): 490-496

[26] 潘洪川, 刘海燕, 张月超, 等. 长链非编码 RNA MEG3 在心肌梗死患者血清中的表达及意义 [J]. 中国心血管病研究, 2016, 14(11): 985-989