

## 血清 miR-126 在先天性心脏病患儿中的变化及临床意义

夏曦

(南京医科大学附属南京儿童医院心内科,江苏 南京 210008)

**[摘要]** 目的:探讨血清 miR-126 的水平变化在先天性心脏病(CHD)患儿中的检测价值。方法:选取 2013 年 1~6 月本院心内科 CHD 患儿 54 例,其中左向右分流型先心病组(非发绀组)40 例(心衰组 20 例,无心衰组 20 例),右向左分流型先心病组(发绀组)14 例,正常对照组 20 例。测定各组患儿血清中 miR-126 的水平,分析新生儿 CHD 血清 miR-126 与心力衰竭的相关性。结果:相比正常对照组,非发绀组和发绀组患儿血清 miR-126 表达水平显著降低( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),且发绀组患儿血清 miR-126 表达水平低于非发绀组( $P < 0.01$ )。在非发绀组患儿中,心衰组 miR-126 表达水平低于无心衰组( $P < 0.001$ )。结论:CHD 患儿血清 miR-126 显著降低,且病情越重降低越明显,提示 miR-126 可能参与了 CHD 的病变过程,可作为预测 CHD 风险的独立评价指标。

**[关键词]** 先天性心脏病;血清小 RNA;miR-126

**[中图分类号]** R725.4

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2014)07-965-03

**doi:**10.7655/NYDXBNS20140722

## The changes of serum miR-126 in children with congenital heart disease and its clinical significance

Xia Xi

(Department of Cardiology, Nanjing Children's Hospital Affiliated to NJMU, Nanjing 210008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To determine miR-126 serum levels in children with congenital heart disease(CHD). **Methods:** A total of 54 children with CHD who received treatment in Department of Cardiology from January 2013 to June 2013 were enrolled. There were 40 children with left-right shunt acyanotic CHD (the ACHD group), including 15 children with heart failure (ACHD I) and 25 children without heart failure(ACHD II). There were 14 children with right-left shunt cyanotic CHD(the CCHD group) and 20 healthy children (the control group). The serum miR-126 expression level was measured to analyze the correlation between the serum miR-126 of neonates with CHD and heart failure. **Results:** Compared with normal controls, the expression levels of miR-126 in the ACHD group and the CCHD group were significantly down-regulated ( $P < 0.001$ ). The expression levels of miR-126 in the CCHD group were significantly lower than those in the ACHD group( $P < 0.05$  and  $P < 0.001$ , respectively). MiR-126 expression levels were lower in the ACHD I group than those in the ACHD II group( $P < 0.001$ ). **Conclusion:** The expression levels of serum miR-126 in children with CHD were significantly decreased and correlated with the severity and degree of impaired cardiac function, indicating that miR-126 may be involved in the pathological process of CHD, and it may serve as an independent evaluation indicator for the diagnosis of CHD.

**[Key words]** congenital heart disease; serum microRNA; miR-126

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(07):965-967]

先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)是由于在胎儿期心脏血管发育异常而致的心脏血管畸形,是小儿时期最常见的心脏病,发病率占新生儿的0.6%~0.8%。早期诊断和及时治疗对改善患儿的预后具有积极的作用。小RNA(miRNA)是一类长度为18~25个核苷酸的非编码小RNA,其可通过序列特异性的方式来调节特异基因的表达,参与了细胞生

长、分化、凋亡、代谢等几乎所有的生物过程<sup>[1]</sup>。最近研究表明,miRNA可以稳定存在于外周血中,并且可以作为疾病的生物标志物<sup>[2]</sup>。有研究报道 miR-126 在稳定型心绞痛患者血清中低表达<sup>[3]</sup>,但是对于 miR-126 在 CHD 患儿中的研究则甚少。本研究采用荧光定量 PCR 法检测 miR-126 在非发绀组先天性心脏病(ACHD)和发绀组先天性心脏病(CCHD)患儿血清中

的表达水平,探讨 miR-126 在临床诊疗中的意义。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

选择 2013 年 1~6 月本院心内科住院的新生儿 CHD 患儿 54 例,左向右分流型 CHD 患儿 40 例(非发绀组,ACHD),其中男 22 例,女 18 例,年龄 6 个月~8 岁,平均为(3.8 ± 1.2)岁。非发绀组按有无心功能不全分为心力衰竭组(心衰组,ACHD I)和无心力衰竭组(无心衰组,ACHD II)2 个亚组,其中心衰组 20 例,非心衰组 20 例。右向左分流型 CHD 患儿 14 例(发绀组,CCHD),其中男 8 例,女 6 例,年龄 10 个月~7 岁,平均(4.2 ± 1.8)岁。正常对照组 20 例,其中男 10 例,女 10 例,年龄 2~9 岁,平均(5.8 ± 2.6)岁,均为门诊体检的健康儿童,与 CHD 各组比较性别及年龄差异无显著性。

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 标本采集

清晨空腹采静脉血 2 ml,3 500 r/min 离心 10 min,将血清与血细胞分离,-70℃保存,实验时取出。

##### 1.2.2 RNA 提取和荧光实时定量 PCR

从样本血清中提取富含 miRNA 的总 RNA,提取采用 miRNA easy Mini Kit(Qiagen)试剂盒,具体操作参见试剂盒说明书。

##### 1.2.3 反转录与实时荧光定量 PCR

miR-126 的反转录和扩增采用美国 ABI 公司 TaqMan 检测试剂盒,在荧光定量 PCR 仪 ABI 7500 上检测。因到目前为止没有已知的 miRNA 作为内参以消除样品间 RNA 含量的差异,故根据文献报道选择在样品中额外加入 5 nmol/L 的 cel-miR-39 作为内参<sup>[3]</sup>。

#### 1.3 统计学方法

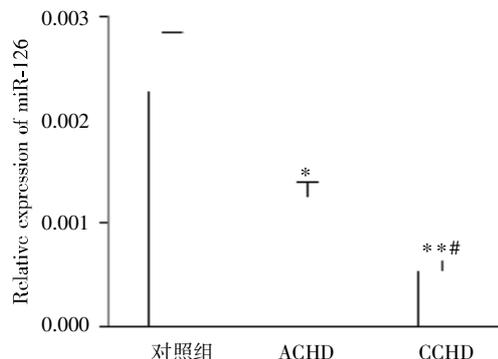
miR-126 的相对表达量采用 2<sup>-ΔCt</sup> 方法计算求得,其中 ΔCt=Ct<sub>miRNA</sub>-Ct<sub>cel-miR-39</sub>。实验数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较及两组间比较分别采用方差分析和 *q* 检验,用 Graphpad Prism 5 软件进行统计学处理,*P* ≤ 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 对照组、ACHD 和 CCHD 组血清 miR-126 水平

对 ACHD、CCHD 和对照组中的血清 miR-126 表达水平进行检测,发现 ACHD 和 CCHD 组患儿血清 miR-126 的表达水平显著低于正常对照组 (*P* < 0.05, *P* < 0.01),且 CCHD 组 miR-126 的表达水平低

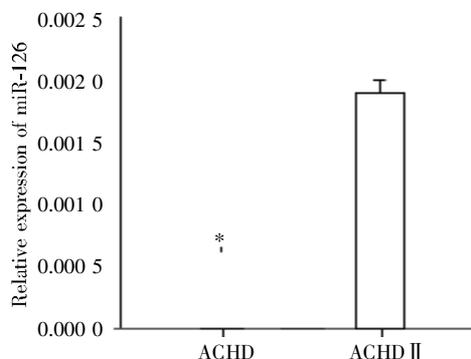
于 ACHD 组(*P* < 0.01,图 1)。



与对照组相比,\**P* < 0.05,\*\**P* < 0.01;与 ACHD 组比较,\**P* < 0.01。  
图 1 miR-126 在 ACHD、CCHD 和对照组患儿血清中的表达  
Figure 1 The expressions of miR-126 in the serum of the ACHD,CCHD and control groups

### 2.2 心力衰竭组和无心力衰竭组 miR-126 表达水平

按有无心功能不全将非发绀组分为心力衰竭组(心衰组,ACHD I)和无心力衰竭组(无心衰组,ACHD II)2 个亚组,分析心功能衰竭与 miR-126 表达水平的关系。结果表明,ACHD I 组 miR-126 的表达水平显著低于 ACHD II 组(*P* < 0.001,图 2)。



与 ACHD II 组比较,\**P* < 0.001。  
图 2 miR-126 在不同心功能分组中的表达水平  
Figure 2 The expression levels of miR-126 in different heart function groups

## 3 讨论

CHD 是胎儿时期心脏血管发育异常所致的心血管畸形,是小儿最常见的心脏病。国外文献报道 CHD 发生率为 9/1 000,大多数为轻或中度 CHD,不需要治疗或只需要婴幼儿期后治疗;其中约 1/4 的儿童有 CCHD,需要在婴幼儿期内需尽快进行外科手术或导管介入手术治疗<sup>[4]</sup>。因此,早期筛查新生儿 CHD 并针对其严重程度进行早期干预治疗,可明显减少严重不良后果的发生。

CHD 患儿因长期体肺循环分流可致肺血管病

变,因此 CHD 在发展到一定程度时,必然导致患儿外周血中一些活性物质发生变化,并且可以通过一些技术手段进行检测。血清 microRNA 作为诊断和预后的分子标志物具有创伤小、便捷准确和重复性好的优势,已经越来越受到人们的重视。一些血清 microRNA 已经被证明可以作为心血管疾病的分子标志物,比如 miR-1、miR-133a 和 miR-208a 可以作为急性期 AMI 患者的诊断标志物<sup>[5]</sup>。有研究报告 miR-126 在稳定型心绞痛患者血清中低表达<sup>[3]</sup>。在本研究中发现,相比正常对照组,非发绀组和发绀组患儿血清 miR-126 表达水平显著降低,且发绀组患儿血清 miR-126 表达水平低于非发绀组。在非发绀组患儿中,心衰组 miR-126 表达水平低于无心衰组。这些结果表明 miR-126 可能参与了 CHD 的病变过程,血清 miR-126 的表达水平可作为评价 CHD 病情发展严重程度的辅助指标,有利于患儿病情的监测。一般认为血液循环中的 miRNA 主要来源于凋亡或坏死的细胞、细胞的主动释放以及循环细胞的裂解等。近来研究认为血液循环中的 miRNA 是由体细胞选择性分泌的<sup>[6]</sup>。血清中的 miR-126 极有可能来自于心脏细胞的主动分泌,并通过血液循环进入别的细胞或者器官,作用于其靶基因,从而对机体的功能进行调节。利用 TargetScan 软件显示 miR-126 下游有 25 个可能的靶基因,但是 miR-126 具体作用于哪个基因以及怎样作用还有待进一步研究。有研究表明 miR-126 发挥其心脏保护功能是通过 AKT/ERK 途径,然而相关研究仍然较少<sup>[7]</sup>。因此,血清中 miR-126 的表达水平可以用来提示心血管病风险高低的原因目前尚无定论,在 CHD 中的研究则更是匮

乏。此外,由于本研究采用病例数偏少,需要在更大的样本中对本研究结果进行验证。

综上所述,CHD 患儿血清 miR-126 显著降低,且病情越重降低越明显,检测血清 miR-126 的水平,可更好地了解病情指导治疗及判断预后。

#### [参考文献]

- [1] Bartel DP. MicroRNAs:genomics,biogenesis,mechanism, and function[J]. Cell,2004,116(2):281-297
- [2] Mitchell PS,Parkin RK,Kroh EM,et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2008,105(30):10513-10518
- [3] Fichtlscherer,S,De Rosa S,Fox H,et al. Circulating microRNAs in patients with coronary artery disease[J]. Circulation Research,2010,107(5):677-684
- [4] Botto LD,Correa A,Erickson JD. Racial and temporal variations in the prevalence of heart defects [J]. Pediatrics,2001,107(3):E32
- [5] Wang GK,Zhu JQ,Zhang JT,et al. Circulating microRNA;a novel potential biomarker for early diagnosis of acute myocardial infarction in humans [J]. Eur Heart J, 2010,31(6):659-666
- [6] Pigati L,Yaddanapudi SC,Iyengar R,et al. Selective release of microRNA species from normal and malignant mammary epithelial cells[J]. PLoS One,2010,5 (10): e13515
- [7] Chen JJ,Zhou SH. Mesenchymal stem cells overexpressing MiR-126 enhance ischemic angiogenesis via the AKT/ERK-related pathway [J]. Cardiol J,2011,18 (6): 675-681

[收稿日期] 2013-11-05

本刊现已启用网上稿件管理系统,作者登陆  
<http://jnmn.njmu.edu.cn/>即可在线投稿并查询稿件  
审理情况。