

分类号: R54  
学号: 20212114041

密级: 公开  
单位代码: 10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### AMI 患者外周血 EMPs 中的 miR-126 与 P、E 选择素表达水平及预后的相关研究

学位申请人	马清玉
指导教师	穆叶赛·尼加提教授
申请学位类别	专业硕士
专业名称	内科学
研究领域	心血管疾病
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子  
2024年5月



分类号: R54  
学号: 20212114041

密级: 公开  
单位代码: 10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### AMI 患者外周血 EMPs 中的 miR-126 与 P、E 选择素表达水平及预后的相关研究

学位申请人	马清玉
指导教师	穆叶赛·尼加提教授
申请学位类别	专业硕士
专业名称	内科学
研究领域	心血管疾病
所在学院	医学院

中国·新疆·石河子

2024年 5 月



**The expression levels of miR-126, P and E-selectin in peripheral blood  
EMPs of AMI patients and their correlation with prognosis**

A Dissertation Submitted to  
**Shihezi University**  
In Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of  
**Master of Medicine**

By

**Ma Qing -Yu**  
**(Internal Medicine Cardiology)**

Dissertation Supervisor: Prof. Muyesai • Nijiati

June, 2024



# 石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

## 学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：  时间： 2024 年 05 月 12 日

## 使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：  时间： 2024 年 05 月 12 日

导师签名：  时间： 2024 年 05 月 12 日



## 摘要

**目的:** 探讨急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 患者外周血内皮细胞源微粒 (Endothelial microparticles, EMPs) 中miR-126、P-选择素及E-选择素的表达水平及其与AMI预后的关系。

**方法:** 选取100名患者, 通过冠脉造影结果分为AMI组 (n=50例), 稳定型冠心病 (Stable coronary artery diseases, Scad) 组 (n=50例), 另取50例健康患者作为对照组。收集上述患者外周血, 利用流式细胞仪检测EMPs, 用qRT-PCR法检测其中的miR-126表达水平, 用ELISA法测定其中的P-选择素、E-选择素的表达水平, 比较不同组间EMPs中miR-126、P-选择素、E-选择素水平, 并分析与AMI预后的关系。

**结果:** 组间比较结果显示, 外周血EMPs中miR-126在AMI组中的表达低于Scad组和健康组, P-选择素和E-选择素在AMI组和Scad组中表达水平高于健康组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。单因素方差分析显示, EMPs中miR-126的水平在单支血管病变组中高于双支和三支病变组。同时, EMPs中P-选择素的水平在单支和双支血管病变组中低于三支病变组, 差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

Logistic回归分析结果显示, 相对于Scad组, 外周血EMPs中miR-126 (OR(95%CI (0.119(0.042~0.337),  $P < 0.001$ ) 是AMI的保护因素, 血糖水平 (OR(95%CI (2.697(1.237~5.880),  $P = 0.013$ ) 是AMI的危险因素。相对于健康组, 外周血EMPs中P-选择素 (OR(95%CI (1.105(1.052~1.161),  $P < 0.001$ )、外周血EMPs中E-选择素 (OR(95%CI (1.094(1.078~1.175),  $P = 0.014$ ) 是AMI的危险因素, 外周血EMPs中miR-126 (OR(95%CI (0.110(0.023~0.526),  $P = 0.006$ ) 是AMI的保护因素。对所有入组的50名AMI患者进行随访, 根据是否发生不良心血管事件 (Major adverse cardiovascular events, MACEs) 分为MACEs组 (14例), 非MACEs组 (36例), 组间比较结果显示: 外周血EMPs中miR-126的表达水平在MACEs组明显低于非MACEs组, 外周血EMPs中P-选择素表达水平在MACEs组明显高于非MACEs组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 外周血EMPs中E-选择素表达水平在两组间无明显差异 ( $P > 0.05$ )。多因素logistic回归分析结果显示外周血EMPs中miR-126 (OR(95%CI (0.029 (0.001~0.818),  $P = 0.038$ ) 是AMI患者发生MACEs的保护因素, 外周血EMPs中P-选择素 (OR(95%CI (1.087 (1.021~1.157),  $P = 0.009$ ) 是AMI患者发生MACEs的危险因素。

**结论:** 1.AMI患者外周血内皮细胞微粒中的miR-126、P-选择素及E-选择素水平与AMI发生发展有关。2.外周血EMPs中的miR-126是AMI的保护因素, P-选择素和E-选择素是AMI的危险因素。3.外周血EMPs中的miR-126是AMI患者发生MACEs的保护因素, 外周血EMPs中的P-选择素是AMI患者发生MACEs的危险因素。

**关键词:** 急性心肌梗死; 内皮细胞微粒; miR-126; E-选择素; P-选择素



## Abstract

**Object:** Exploring the expression levels of miR-126, P-selectin, and E-selectin in peripheral blood endothelial cell-derived microparticles (EMPs) in patients with acute myocardial infarction (AMI) and their relationship with AMI prognosis.

**Method:** Select 100 patients and divide them into AMI group (n=50 cases), stable coronary heart disease (Scad) group (n=50 cases) based on coronary angiography results, and another 50 healthy patients as the control group. Collect peripheral blood from the aforementioned patients, detect EMPs using flow cytometry, measure miR-126 expression levels using qRT PCR, and measure P-selectin and E-selectin expression levels in EMPs using ELISA. Compare miR-126, P-selectin, and E-selectin levels in EMPs between different groups and analyze their relationship with AMI prognosis.

**Result:** The level of miR-126 in peripheral blood EMPs of the AMI group was lower than that of the Scad group and the healthy group ( $P<0.05$ ), while the expression level of P-selectin in peripheral blood EMPs of the AMI group was higher than that of the Scad group and the healthy group ( $P<0.05$ ). There was no significant difference in the expression level of E-selectin peripheral blood EMPs among the three groups ( $P>0.05$ ). Univariate analysis of variance showed that the more coronary vascular lesions there were, the lower the miR-126 level in peripheral blood EMPs, and the higher the P-selectin level, with statistical significance ( $P<0.05$ ). The results of logistic regression analysis showed that compared to the Scad group, miR-126 (OR (95% CI (0.119 (0.042-0.337),  $P<0.001$ ) in peripheral blood EMPs was a protective factor for AMI, while blood glucose level (OR (95% CI (2.697 (1.237-5.880),  $P=0.013$ ) was a risk factor for AMI. Compared to the healthy group, P-selectin (OR (95% CI (1.105 (1.052-1.161),  $P<0.001$ ) and E-selectin (OR (95% CI (1.094 (1.078-1.175),  $P=0.014$ ) in peripheral blood EMPs are risk factors for AMI. miR-126 (OR (95% CI (0.110 (0.023-0.526),  $P=0.006$ ) in peripheral blood EMPs is a protective factor for AMI. Follow up was conducted on all 50 AMI patients enrolled, and they were divided into two groups based on the occurrence of major adverse cardiovascular events (MACEs): the MACEs group (14 cases) and the non MACEs group (36 cases). The inter group comparison results showed that the expression level of miR-126 in peripheral blood EMPs was significantly lower in the MACEs group than in the non MACEs group, and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The expression level of P-selectin in peripheral blood EMPs was significantly higher in the MACEs group than in the non MACEs group, and the difference was statistically significant ( $P<0.01$ ). The expression level of E-selectin in peripheral blood EMPs showed no significant difference between the two groups ( $P>0.05$ ). The results of multivariate logistic regression analysis showed that miR-126 (OR (95% C I 0.029 (0.001~0.81 8),  $P=0.038$ ) in peripheral blood EMPs was a protective factor for the occurrence of MACEs in AMI patients, while P-selectin (OR (95% CI (1.087 (1.021~1.157),  $P=0.009$ ) in peripheral blood EMPs was a risk factor for the occurrence of MACEs in AMI patients.

Conclusion: 1. The levels of miR-126, P-selectin, and E-selectin in peripheral blood endothelial cell microparticles in AMI patients are related to the occurrence and development of AMI. 2. miR-126 in peripheral blood EMPs is a protective factor for AMI, while P-selectin and E-selectin are risk factors for AMI. 3. The miR-126 in peripheral EMPs is a protective factor for MACEs in patients with AMI, and P-selectin in peripheral EMPs is a risk factor for MACEs in patients with AMI patients.

**Key words:** Acute myocardial infarction; Endothelial cell microparticles; miR-126; E-selectin; P-selection

# 目录

摘要.....	I
Abstract.....	II
目录.....	IV
英文缩略词语表.....	VI
第 1 章 引言.....	1
第 2 章 研究材料与方法.....	3
2.1 一般材料.....	3
2.1.1 研究对象.....	3
2.1.2 纳入标准.....	4
2.1.3 排除标准.....	4
2.1.4 实验试剂与仪器.....	4
2.2 研究方法.....	5
2.2.1 标本收集.....	5
2.2.2 一般资料收集.....	6
2.2.3 AMI 患者临床结局事件及分组.....	6
2.2.4 外周血MPs提取.....	6
2.2.5 流式细胞学检测MPs.....	6
2.2.6 流式细胞学检测EMPs.....	7
2.2.7 PCR测定EMPs中的miR-126.....	7
2.2.8 ELISA检测EMPs中选择素的表达.....	9
2.3 统计学分析.....	10
第 3 章 结果.....	11
3.1 AMI组、Scad组及健康组患者基线资料及实验室检查比较.....	11
3.1.1 AMI组、Scad组及健康组患者基线比较.....	11
3.1.2 AMI组、Scad组及健康组患者实验室指标比较.....	11
3.2 三组患者外周血MPs透射电镜下表现.....	13
3.3 三组MPs的鉴定.....	13
3.4 EMPs的鉴定.....	13
3.5 三组患者EMPs中miR-126、选择素水平比较.....	14
3.6 AMI组各指标.....	15
3.6.1 AMI亚组内皮细胞微粒中miR-126、选择素水平比较.....	15

3.6.2 评估急性心肌梗死的危险因素 .....	15
3.7 AMI组预后相关指标比较 .....	18
3.7.1 MACEs组与非MACEs组一般资料比较 .....	18
3.7.2 MACEs组与非MACEs组EMP <sub>s</sub> 中miR-126、选择素水平比较 .....	18
3.7.3 影响 AMI 患者预后相关临床变量的多因素分析 .....	18
第 4 章 讨论 .....	21
第 5 章 结论 .....	25
第6章 综述 .....	26
6.1 miRNA概述 .....	27
6.2 miRNA与疾病 .....	27
6.2.1 miRNA与糖尿病 .....	27
6.2.2 miRNA与肿瘤 .....	28
6.3 miRNA与心肌梗死 .....	29
6.3.1 参与血管炎症 .....	30
6.3.2 促进血管生成 .....	30
6.3.3 影响脂质代谢 .....	31
6.3.4 心肌梗死标志物 .....	32
6.4 总结与展望 .....	32
参考文献 .....	33
致谢 .....	40
作者简介 .....	41
石河子大学硕士研究生学位论文 .....	42
导师评阅表 .....	42

## 英文缩略词语表

英文缩写	英文全称	中文名称
AMI	Acute myocardial infarction	急性心肌梗死
Scad	Stable coronary artery diseases	稳定型冠心病
CVD	Cardiovascular diseases	心血管疾病
BMI	Body Mass Index	身体质量指数
WBC	White blood cell	白细胞
RBC	Red blood cell	红细胞
PLT	Blood platelet	血小板
HGB	Haemoglobin	血红蛋白
CRP	C Reactive protein	C-反应蛋白
PA	Prothrombin activity	凝血酶原活动度
FIB	Fibrinogen	纤维蛋白原
DDmier	D2 polymers	D-二聚体
LDH	Lactate dehydrogenase	乳酸脱氢酶
AST	Aspartate aminotransferase	谷草转氨酶
ALT	Alanine transaminase	谷丙转氨酶
Cr	Creatinine	肌酐
BUN	Blood Urea Nitrogen	尿素氮
CK	Creatine Kinase	肌酸激酶
CK-MB	Creatine Kinase-MB	肌酸激酶同工酶
TC	Total Cholesterol	总胆固醇
TG	Triglyceride	甘油三酯
HDL	High Density Lipoprotein	高密度脂蛋白胆固醇
LDL	Low Density Lipoprotein	低密度脂蛋白胆固醇
GLU	Glucose	葡萄糖
MPs	Micrparticles	微粒

EMPs	Endothelial microparticles	内皮细胞微粒
miRNA	MicroRNA	微小RNA
MACEs	Major adverse cardiovascular events	主要不良心血管事件
qRT-PCR	Real-time quantitative polymerase chain reaction	实时荧光定量PCR
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay	酶联免疫吸附

---

## 第 1 章 引言

心血管疾病(cardiovascular diseases, CVD) 仍然是世界范围内发病率、死亡率、致残率较高的疾病之一, 给医疗卫生事业带来了巨大的负担。面对生活水平提高带来的不良生活方式导致心血管风险因素增加、人口老龄化等问题日益严重, 心血管疾病的发病率仍然较高<sup>[1]</sup>。影响人类生命健康的同时对社会经济发展造成了困扰<sup>[2]</sup>。据报道, 2020 年中国城市居民冠心病死亡率为 126.91/10 万, 农村为135.88/10 万, 同时我国的AMI死亡率总体呈上升态势<sup>[3]</sup>。我国心血管疾病是一个突出的公共卫生问题, 严重危害国民的健康。AMI是CVD中最严重的类型, 其发病隐匿迅速, 不仅具有严重的并发症, 同时也为患者带来了巨大的经济负担。故而寻找新的诊疗策略一直是心血管疾病领域的研究目标。

AMI是由于冠脉血管堵塞导致心脏供血中断而引起一系列严重后果的临床急症, 由冠状动脉粥样硬化发展而来。随着人们在细胞分子水平的研究逐渐增多, 发现微粒在动脉粥样硬化过程中发挥着重要作用。其中EMPs因其在心血管疾病中的关键作用而受到广泛关注。相关研究表明在EMPs高表达于ST段抬高型心肌梗死和不稳定型心绞痛患者的循环中<sup>[4]</sup>。我们前期的研究也证明了AMI患者循环EMPs水平升高, 且EMPs水平与冠心病程度及预后风险相关<sup>[5]</sup>。EMPs是生物信号交换中重要的跨细胞递送系统, 通常含有miRNA、P-选择素及E-选择素等生物学分子, miRNA是一种短小的长度为21-25个核苷酸的内源性、保守的单链非编码RNA, miRNA在不同类型的组织和细胞中都有表达<sup>[6]</sup>。最近的相关研究表明, miRNA在心血管疾病中高度表达, 它们在调控心血管的发育和疾病的发生过程中具有重要的意义。miR-126是miRNA家族中的一员, 来源于EGFL7基因。miR-126在内皮细胞中高度表达, 其可通过调节内皮细胞功能来影响动脉粥样硬化的过程。载有miRNA-126的EMPs具有显着促进血栓消退的作用<sup>[7]</sup>。同时miR-126参与脂质代谢、血管炎症、心肌损伤修复等过程, 在心肌梗死的诊断和治疗中具有较大的潜力。

相关研究表明, 与健康组相比, 冠心病患者外周血P-选择素表达水平显著增高, 多支血管病变的患者外周血P-选择素水平更高<sup>[8]</sup>, 选择素是一种多细胞来源的通过钙离子介导白细胞滚动的黏附分子。P-选择素是一种由人类SELP基因编码的1型跨膜蛋白<sup>[9]</sup>。其通过与配体结合, 介导信号转导和炎症细胞黏附, 在病理炎症和血栓形成、动脉粥样硬化、缺血-再灌注损伤等过程中发挥重要作用<sup>[10]</sup>。心肌细胞受到缺氧、炎性因子等有害刺激时, 血小板和内皮细胞迅速表达大量P-选择素, 进而导致心肌损伤和血栓形成<sup>[11]</sup>。Maximilian等人的研究表明, P-选择素水平升高与AMI患者PCI术后发生MACEs相关<sup>[12]</sup>。

E-选择素是一种内皮细胞来源的糖蛋白，是血栓形成的调节因子。它具有将白细胞募集到炎症部位、调节中性粒细胞和单核细胞活性、促进血栓形成等功能<sup>[13]</sup>。众所周知，炎症在AMI的过程中扮演着重要的角色，炎症反应也会导致AMI后心肌的进一步损伤<sup>[14]</sup>。E-选择素在炎症初始阶段介导炎性细胞的黏附、趋化等活动，因此，E-选择素在AMI过程中具有重要作用。探索选择素与AMI的关系可能会为AMI的诊断和治疗提供帮助。

基于我们前期的研究和国内外的文献报道，我们推测外周血EMPs中miR-126、P-选择素、E-选择素与AMI的发生发展相关。故本研究旨在通过检测AMI患者外周血EMPs中所含的miR-126、P-选择素、E-选择素表达水平，分析、探讨这些指标与AMI及其预后的关系，试图为AMI的诊断和预后评估提供新的理论依据。

## 第 2 章 研究材料与方法

### 2.1 一般材料

#### 2.1.1 研究对象

本研究选择2021年9月至2022年9月期间因胸痛就诊于某人民医院心内科，并经冠脉造影术确诊的AMI患者和Scad患者各50例，分为AMI组和Scad组。AMI组中男性患者36例，吸烟患者20例，饮酒8例；Scad组中男性患者32例，吸烟16例，饮酒7例。另外从体检中心选择50例年龄、性别、种族匹配的正常人作为对照组。其中男性25例，饮酒3例，吸烟4例。所有选择的患者入院后详细记录既往史、个人史、家族史等信息。告知并自愿参与本研究，均签署知情同意书。具体流程见图2-1。

样本量计算：本研究为多组病例对照研究，采用PASS15.0软件，根据三组样本均数比较的样本量计算，依据前期观察结果显示三组EMP<sub>s</sub>中miR-126的均数和标准差分别为 $0.19 \pm 0.16$ ， $0.34 \pm 0.20$ ， $0.48 \pm 0.22$ 。设定假设检验的I类错误 $\alpha$ 为0.05，采用双侧检验，II类错误 $\beta$ 为0.1，设AMI组、Scad组和健康组为 1:1:1；得到每组最小样本量为 $n=48$ 人。本研究根据纳排入标准反复筛选最终每组入选50例研究对象。

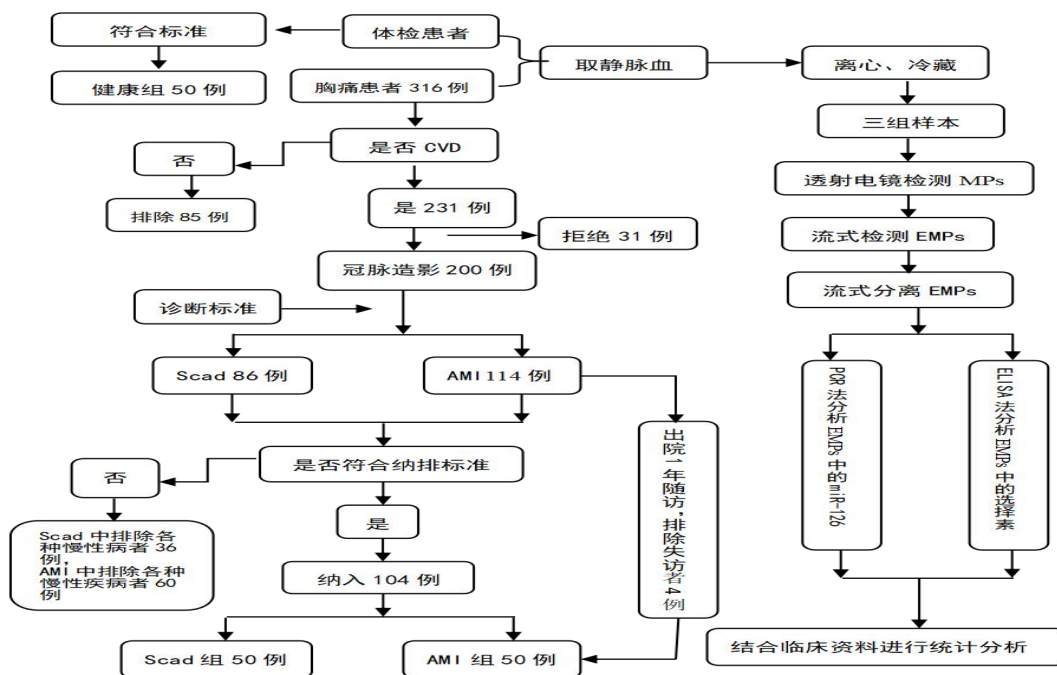


图2-1 实验流程图

### 2.1.2 纳入标准

纳入标准：AMI组:①AMI为测量升高或降低的心脏生物标志物（首选肌钙蛋白），心脏标志物至少有一项超过参考上限值99%，同时包含下列至少一项：有心肌缺血的体征、心电图新出现的ST段明显改变或左束支传导阻滞、病理性Q波、新出现的影像证据如存活心肌丢失或局部室壁运动异常、冠脉造影发现冠脉内血栓<sup>[15]</sup>；

Scad组：Scad是冠脉固定狭窄的基础上因心肌负荷增加引起短暂性缺血缺氧引发的临床症状。选用冠脉造影术中诊断冠心病（具体参考2018年中华心血管病杂志《稳定型冠心病诊断和治疗指南》）<sup>[16]</sup>；

健康组：选取同期年龄、性别、种族与AMI组相匹配的在自治区人民医院体检未见明显异常者。

所有入组人员皆已告知自愿无偿参与研究并签署知情同意书，同时经医院伦理道德委员会批准同意(项目号：KY2020041046)。

### 2.1.3 排除标准

排除合并严重肝肾功能不全、肿瘤、血液系统疾病、风湿免疫性疾病如类风湿、系统性红斑狼疮和干燥综合征等、脑梗塞和肺栓塞的患者。

另外，为了控制高脂血症、高尿酸血症等对miR-126表达的影响，我们在纳入研究对象时排除了高脂血症、高尿酸血症及高胆固醇的患者。

### 2.1.4 实验试剂与仪器

-80°C冰箱（Haier, DW-86L338）

离心机（Eppendorf, 5430）

高速离心机（eppendorf, 1612-1）

高速冷冻离心机（eppendorf, 5418）

离心管（Biofil, CFT411150）

移液器（Eppendorf）

1ml吸头（Bioland, AT-1250B）

200μL吸头（Bioland, AT-200Y）

10μL吸头（Bioland, AT-S10）

EP管（Biofil, CFT-000-015）

流式细胞仪（BD, FACSAccuriC6）

移液器（Eppendorf）

超净工作台（苏净安泰, SW-CJ-2F）

紫外分光光度计 (Thermo fisher, Nanodrop one)  
定量 PCR 管 (Applied Biosystems, 4358293)  
定量 PCR 盖 (Applied Biosystems, 4323032)  
荧光定量 PCR 仪 (Applied Biosystems, StepOne plus)  
PCR 仪 (Bio-rad, T100)  
透射电镜仪 (飞利浦, TECNAI 10型)  
电热恒温培养箱 (常州智博瑞, SHZ-82)  
酶标仪 (Thermo fisher, Multiskan FC)  
6孔板 (Biofil, TCP011006)  
PBS (南京生兴, SN331)  
CD31-FITC (eBioscience, 11-0319-42)  
CD42b-PE (eBioscience, 12-0429-42)  
RNAiso Plus (Takara, 9108, 即 Trizol)  
氯仿 (Alladin, C128130)  
异丙醇 (上海沪试, 80109218)  
无水乙醇 (国药集团化学试剂, 100092683)  
丙酮 (国药集团化学试剂, 10000418)  
戊二醛 (国药集团化学试剂, 30092436)  
四氧化钨 (国药集团化学试剂, L01210302)  
钨酸 (AIKE reagent, 115354)  
醋酸铀 (翁江试剂, PA39584)  
柠檬酸铅 (Aladdin reagent, L303843)  
环氧树脂 (Sigma, 45346)  
DEPC (Alladin, D105557)  
miRcute 增强型 miRNA cDNA 第一链合成试剂盒 (Tiagen, KR211)  
SYBR green (Mei5bio, MF013-01)  
RIPA 蛋白裂解液 (Solarbio, R0010)  
BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (Beyotime, P0012S)

## 2.2 研究方法

### 2.2.1 标本收集

(1) AMI组及Scad组患者在冠脉造影术前在肘静脉采集血样5ml。

(2) 健康组患者在体检时留取肘静脉血样5ml。

(3) 用含EDTA的抗凝管采集静脉血并混匀充分。在2000g/分，室温离心15分钟后取上清液，分装后放置在-80℃冰箱备用，用于后续实验。

### 2.2.2 一般资料收集

(1) 采集性别、年龄、身高、体重、体质指数(BMI)、血压、吸烟饮酒史、有无高血压、糖尿病等一般资料。(BMI=体重(kg)/身高(m<sup>2</sup>))。

(2) 采集的肘静脉血标本统一在我院检验中心检测，检测内容包括血常规、肝肾功能、血脂、心肌酶谱等指标等。

### 2.2.3 AMI患者临床结局事件及分组

自病人出院后1年开始随访，随访时长为1周，采用电话、微信等方式记录AMI患者1年内出现的复发心绞痛、心肌梗死、再次血运重建、死亡等不良事件发生情况。根据其是否发生不良心血管事件(MACEs)分为MACEs组，非MACEs组。

### 2.2.4 外周血MPs提取

(1) 从-80℃冰箱取出冻存的血浆样本，室温下解冻，再将样本置于1550g，常温，离心15min，将离心后的血浆上清转移至新的离心管中，继续置于18800g，常温，离心30分钟，去除上清；

(2) 加入PBS重悬沉淀，18800g，常温，离心30min，沉淀即为MPs。

(3) 取5-10μLMPs溶液加到Formvar-carbon载样铜网上；

(4) 取100μLPBS加到封口膜上，用镊子将铜网(Formvar膜面朝下)放在PBS液滴上清洗。注意：在所有步骤中，都应保持Formvar膜面湿润，而另一面干燥；

(5) 将铜网放在50μL1%戊二醛液滴上5min；

(6) 将铜网放在100μLddH<sub>2</sub>O洗2min，总共洗8次；

(7) 将铜网放在50μL草酸双氧铀液滴上(pH7.0)5min；

(8) 将铜网放在50μL甲基纤维素液滴上10min，冰上操作；

(9) 铜网放到样品台顶端的不锈钢环上，在滤纸上吸去多余液体；

(10) 空气干燥5-10min；

(11) 将铜网放在样品盒里，TECNAI10透射电子显微镜下拍摄电镜照片。

### 2.2.5 流式细胞学检测MPs

(1) 用2.2.4步骤中的方法分离MPs；

(2) MPs沉淀加入400  $\mu\text{L}$  PBS-1% BSA溶液重悬, 分离20  $\mu\text{L}$ 的样本至新的EP管中, 并加入80  $\mu\text{L}$ 的PBS缓冲液, 根据分组分布加入CD63抗体以及同型对照, 抗体按照1:100的比例稀释, 分别加入抗体及对应的IgG抗体, 室温避光孵育1h;

(3) 孵育结束后18800g, 常温离心30min, 去除上清沉淀中加入400  $\mu\text{L}$  PBS混匀, 立刻用流式细胞仪检测; (CD63样本离心后, 去除上清, 加入荧光二抗室温避光孵育30min, 孵育结束后18800g, 常温离心30min, 去除上清, 沉淀中加入PBS重悬后进行检测)

(4) 流式细胞仪检测时, 使用FSC和SSC观察MPs的大小及复杂性分布, 圈取MPs的散点簇, 再分别使用FL1和FL2进行分析, 分析各组样本MPs蛋白表达情况。

## 2.2.6 流式细胞学检测EMPs

(1) 将血浆样本从-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出, 室温静置10min使其溶化, 待血浆溶化成液体后, 上下轻轻颠倒混匀, 取400  $\mu\text{L}$ 血浆样本转移至新的EP管中, 1550g常温离心15min;

将上清转移至新的EP管中, 18800g离心30min, 去除上清, 加入500  $\mu\text{L}$  PBS缓冲液重悬沉淀, 18800g, 常温离心30min, 沉淀为分离的MPs;

(2) MPs沉淀加入400  $\mu\text{L}$  PBS-1%BSA溶液重悬, 分离100 $\mu\text{L}$ 的样本至新的EP管中, 分别加入FITC-CD31和PE-CD42b抗体, 按照1:100的比例加入。抗体轻轻混匀后室温避光孵育1h;

(3) 抗体避光孵育后, 将样本置于离心机中, 18800g常温离心30min, 沉淀中加入400 $\mu\text{L}$  PBS缓冲液混匀, 立刻用流式细胞仪检测;

(4) 流式细胞仪检测时, 使用FSC和SSC观察MPs的大小及复杂性分布, 圈取MPs的散点簇, 再使用FL1 (CD31) 和FL2 (CD42b) 进行分析, 分析CD31-CD42b-、CD31+CD42b-、CD31+CD42b+所占全部MPs细胞的比例。

## 2.2.7 PCR测定EMPs中的miR-126

(1) EMPs分离: 取200 $\mu\text{L}$ 血浆样本1550g常温离心15min, 将血浆上清转移至新的离心管中, 18800g离心30min, 将上清去除, 加入PBS重悬沉淀, 18800g, 离心30min, 沉淀即为MPs, 加入0.5 ml RNAisoplus, 充分裂解后转移至EP管中;

(2) 加入氯仿100 $\mu\text{L}$ , 用力振摇15s, 室温静置15min, 离心(4 $^{\circ}\text{C}$ , 12000g, 15min);

(3) 离心后液体分为三层, 小心吸取上层无色液体移入一新的EP管中;

(4) 加入等体积异丙醇, 上下颠倒混匀, 室温静置5min, 离心(4 $^{\circ}\text{C}$ , 12000g, 10min);

- (5) 去上清，沉淀加入75%乙醇1ml，轻微振荡15s，离心（4℃，7500g，5min）；
- (6) 小心去上清，管内沉淀在超净台中鼓风静置干燥3-5min，最好是用枪头吸取上清，尽量除去；
- (7) 加入50  $\mu$ L DEPC水溶解，紫外分光光度计检测浓度，-80℃冰箱保存；
- (8) 进行逆转录

逆转录实验过程按照miRcute增强型miRNACDNA第一链合成试剂盒说明书进行，具体反应体系如下：

表2-1 PCR反应体系

试剂	体积
Total RNA	1 $\mu$ g
2 $\times$ miRNA RT Reaction Buffer	5 $\mu$ L
miRNA RT Enzyme Mix	1 $\mu$ L
DEPC 水	补至 10 $\mu$ L

注：以上述方法混合均匀后置于42℃ 60min，95℃ 3min的条件下 PCR 仪中进行反转录。

### (9) 定量PCR

表2-2 荧光定量PCR

试剂	体积 ( $\mu$ L)
cDNA	2
PCR 上游引物 (10 $\mu$ M)	0.4
PCR 下游引物 (10 $\mu$ M)	0.4
SYBR Green solution	10
灭菌双蒸水	7.2
总量	20

表2-3反应条件

温度 (℃)	时间 (秒)	
95	120	
95	3	40 cycles
60	30	
95	15	
60	60	melt curve
95	15	

在上述反应体系中加入对应的试剂，混合好的SYBR green试剂中包括Taq polymerase, dNTP, Sybr green 染液及反应缓冲液。这些试剂的制作均在冰上进行，配

置好以上反应体系后微微摇匀，然后将8连管的盖子改好，利用瞬时离心将紧贴管壁的溶液沉淀到试管底部。随后在前述反应体系中放入8连管进行定量 PCR 检测。等到反应完成后，丢弃8连管，按照仪器显示的数值对数据进行分析。

### 2.2.8 ELISA检测EMP<sub>s</sub>中选择素的表达

(1) 取出保存于-80℃冰箱的各组微粒，加入适量RIPA蛋白裂解液冰上裂解30min后检测蛋白浓度，样本做ELISA检测。

(2) 稀释液配置：

Biotin 标记的抗体稀释：在990μL的抗体稀释液中加入10μL抗体，轻微摇匀后放在冰上静置。

HRP 标记的抗生物素蛋白稀释：在990μL 抗生物素蛋白稀释液中加入10μL 抗生物素蛋白溶液，轻微摇匀后放在冰上静置。

清洗缓冲液：在24mL去离子水中加入清洗缓冲液11mL，轻微摇匀后放在冰上静置。

标准品蛋白稀释：在6个EP管中分别加入标准品稀释液250μL，将标准品管中抽取的250μL 标准品蛋白加入第一管中混匀，然后再吸取 250μL 转移至第二管中，以此类推，完成标准品蛋白的倍比稀释。

(3) 把标准品和样本分别加入提前包被好的96 孔板中，贴膜封口后放置在37℃培养箱中孵育。

(4) 孵育2小时后去除溶液，将生物素标记的抗体100μL加入每个孔中，贴膜封口后放置在37℃培养箱中孵育。

(5) 孵育1小时后去除溶液，反复加入清洗缓冲液洗200μL清洗5次，清洗时间为2min/次。

(6) 把100 μL HRP 标记的抗生物素蛋白分别加入每个孔中，贴膜封口后放置在37℃培养箱中孵育。

(7) 孵育1小时后去除溶液，反复加入清洗缓冲液洗200μL清洗5次，清洗时间为2min/次。

(8) 把90 μL TMB 反应底物分别加入每个孔中，贴膜封口后放置在37℃培养箱中孵育。

(9) 把 50μL 终止缓冲液分别加入每个孔中，轻微摇晃至均匀。

(10) 在酶标仪的450nm波长处检测吸光度，根据吸光度分析选择素的表达。

## 2.3 统计学分析

应用SPSS 26.0 统计软件对所有实验数据进行统计分析。正态分布的资料用均数±标准差表示，非正态的资料用中位数及四分位数表示。正态且方差齐时，两组资料用t 检验，多组资料用单因素方差分析，方差不齐时采用非参数秩和检验。非正态资料利用非参数秩和检验分析。计数资料用频数和所占病例的百分比表示，组间比较用卡方检验。相关指标与疾病的相关性用Logistic回归分析。 $P < 0.05$  定义为有统计学意义。相关图示利用 Graphpad prism 10.6 软件进行绘制。

## 第 3 章 结果

### 3.1 AMI组、Scad组及健康组患者基线资料及实验室检查比较

#### 3.1.1 AMI组、Scad组及健康组患者基线比较

三组患者各50例，比较三组的基线资料：AMI组、Scad组和健康组中男性患者分别占各组人数的54%、50%和42%，三组间性别、年龄、体重指数（BMI）、饮酒史无明显差异（ $P>0.05$ ），合并高血压、糖尿病及吸烟人数AMI和Scad组明显多于健康组，差异有统计学意义（ $P<0.05$ ）。结果详见表3-1。

表3-1 三组患者一般资料比较结果

变量	AMI组(n=50)	Scad组(n=50)	健康组(n=50)	F/ $\chi^2$ 值	P值
性别				5.263	0.072
男性(n(%))	36(72)	32(64)	25(50)		
女性 (n(%))	14(28)	18(36)	25(50)		
年龄(年)	59.26±14.28	58.94±8.81	54.78±8.77	2.613	0.077
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	25.77±3.03	25.64±3.27	24.61±3.27	2.001	0.139
心率(次/分)	84.22±16.76	77.32±9.23	78.99±11.16	3.966	0.021
高血压史(n(%))	20(40)	27(54)	0(0)	36.501	<0.001
糖尿病史(n(%))	12(24)	21(42)	0(0)	25.874	<0.001
饮酒史(n(%))	8(16%)	7(14)	2(4)	4.113	0.128
吸烟史(n(%))	20(40)	16(32)	5(10)	12.150	0.002

注：BMI：体重指数，AMI:急性心肌梗死，Scad：稳定型冠心病。P<0.05，差异具有统计学意义。

#### 3.1.2 AMI组、Scad组及健康组患者实验室指标比较

WBC、RBC、HGB、DDmier、LDH、AST、Cr、GLU、CK、CK-MB、收缩压等指标在三组间的差异有统计学意义（ $P<0.05$ ），PLT、CRP、PA、FIB、ALT、BUN、TC、TG、HDL、LDL等指标方面无显著差异（ $P>0.05$ ）。详见表3-2。

表3-2 三组实验室指标比较

变量	AMI组(n=50)	Scad组(n=50)	健康组(n=50)	F/Z/ $\chi^2$ 值	P值
WBC( $10^9/L$ )	10.02(8.26,11.75)	7.03(5.92,8.24)	5.81 (4.90,7.07)	56.674	<0.001
RBC( $10^9/L$ )	4.81 $\pm$ 0.54	4.75 $\pm$ 0.54	4.45 $\pm$ 0.48	7.025	0.001
PLT( $10^9/L$ )	237.06 $\pm$ 57.26	230.14 $\pm$ 64.93	239.00 $\pm$ 49.37	0.328	0.721
HGB(g/L)	151.62 $\pm$ 15.51	144.16 $\pm$ 17.63	136.22 $\pm$ 16.03	11.006	<0.001
CRP(mg/L)	1.71(0.95,4.96)	1.22(0.22,2.70)	1.47(0.69,3.34)	4.654	0.098
PA(%)	105(94.75,112.00)	102.35(95.75,106.25)	105.50(93.20,114.25)	2.972	0.226
FIB(g/L)	3.32(2.77,3.74)	3.10(2.74,3.58)	2.95(2.65,3.36)	5.704	0.058
DDmier(mg/L)	0.31(0.24,0.67)	0.25(0.14,0.49)	0.10(0.08,0.15)	43.775	<0.001
LDH(U/L)	210.32(177.82,265.48)	189.85(157.25,224.45)	186.50(170.75,212.50)	7.453	0.027
AST(U/L)	30.50(22.50,65.25)	22.45(16.13,28.00)	25.00(21.00,27.00)	19.931	<0.001
ALT(U/L)	24.00(17.00,33.00)	20.10(16.40,28.48)	23.00(19.00,30.00)	2.041	0.360
Cr( $\mu$ mol/L)	73.65(65.24,83.93)	73.80(65.09,82.53)	57.40(48.70,70.13)	29.459	<0.001
BUN(mmol/L)	5.90(4.55,6.66)	6.08(4.53,7.12)	5.30(4.31,6.51)	2.012	0.366
CK(U/L)	175.00(92.25,579.75)	76.31(58.75,104.54)	72.50(47.50,85.75)	36.185	<0.001
CK-MB(ng/mL)	11.30(3.27,66.95)	2.04(0.84,12.62)	1.21(0.70,1.97)	44.342	<0.001
TC(mmol/L)	4.49(3.78,5.45)	4.23(3.26,5.13)	4.28(3.77,4.96)	2.386	0.303
TG(mmol/L)	1.18(0.96,1.74)	1.51(1.04,2.07)	1.37(1.10,1.53)	4.494	0.106
HDL(mmol/L)	0.99(0.82,1.18)	0.95(0.85,1.17)	1.03(0.88,1.18)	1.110	0.574
LDL(mmol/L)	2.84(2.18,3.67)	2.69(1.97,3.35)	2.49(2.12,3.15)	1.877	0.391
收缩压(mmHg)	125.20 $\pm$ 20.66	132.72 $\pm$ 19.15	116.64 $\pm$ 16.13	9.213	<0.001
GLU(mmol/L)	6.16(5.20,7.76)	5.12(4.39,6.00)	4.55(4.22,5.10)	41.377	<0.001

注：BMI：身体质量指数、WBC：白细胞计数、RBC：红细胞计数、PLT：血小板计数、CRP：C反应蛋白、FIB：纤维蛋白原、TC：总胆固醇、TG：甘油三酯、HDL：高密度脂蛋白胆固醇、LDL：低密度脂蛋白胆固醇、ALT：谷丙转氨酶、AST：谷草转氨酶、LDH：乳酸脱氢酶、CK-MB：肌酸激酶同工酶、GLU：葡萄糖、Cr：肌酐， $P<0.05$ ，差异具有统计学意义。

### 3.2 三组患者外周血MPs透射电镜下表现

我们在透射电镜下观察到，分离的MPs膜结构完整，轮廓清晰，大小不一，直径约100nm-400nm，形态上呈圆盘状均一的类球形，如图3-1。

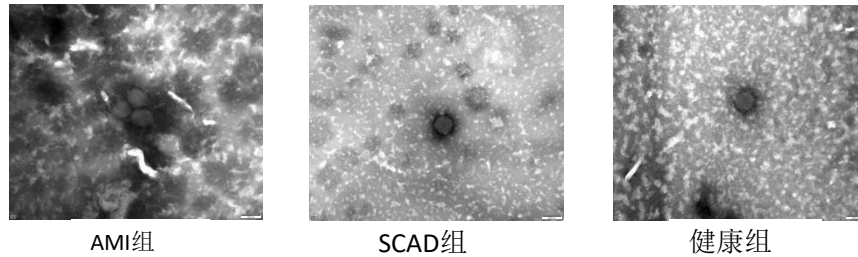


图3-1 三组患者外周血MPs透射电镜图片

### 3.3 三组MPs的鉴定

我们通过流式细胞仪进行MPs的鉴定，从下图可以发现，分离的MPs表面CD63蛋白阳性，说明分离的样本为MPs，见图3-2。

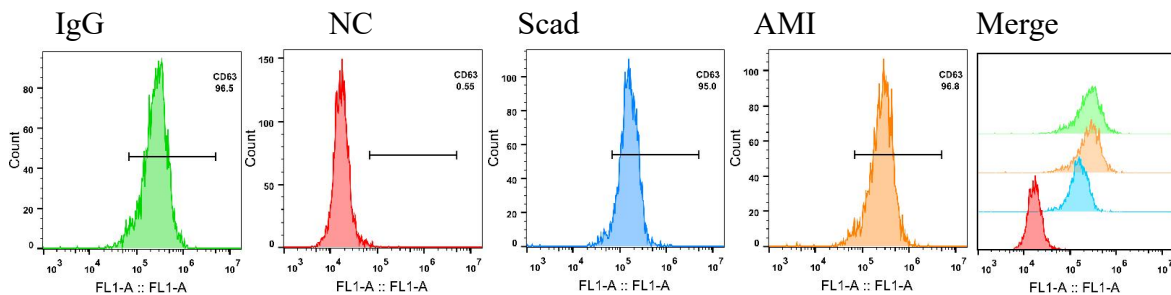


图3-2 MPs流式鉴定图

### 3.4 EMPs的鉴定

流式检测结果显示，AMI组患者外周血血浆中CD31+CD42b-的EMPs的水平高于健康组和Scad组，结果如图3-3。

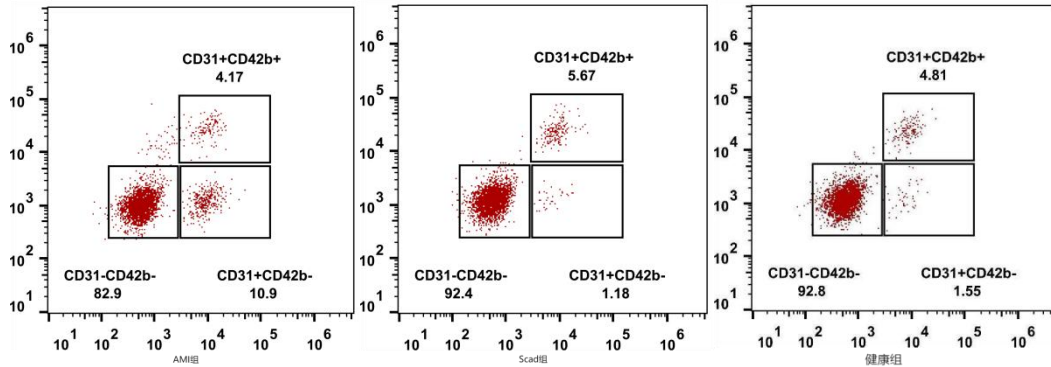


图3-3 EMPs流式图

### 3.5 三组患者EMPs中miR-126、选择素水平比较

组间比较结果显示，外周血EMPs中miR-126在AMI中表达低于Scad组和健康组，P-选择素和E-选择素在AMI组和Scad组中表达水平高于健康组，差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结果见表3-3，图3-4。

表3-3 三组患者EMPs中miR-126、选择素水平比较

变量	AMI组 (n=50)	Scad组 (n=50)	健康组 (n=50)	F/Z值	P值
miR-126	0.45(0.32,0.73)	1.23(0.63,2.12)	0.97(0.67,1.53)	40.459	<.001
P-选择素	46.09(37.33,64.67)	41.09(23.74,57.36)	17.80(11.46,32.60)	46.278	<0.001
E-选择素	22.31±11.31	23.39±9.90	16.65±7.22	13.251	0.001

注:  $P < 0.05$ ，差异具有统计学意义。

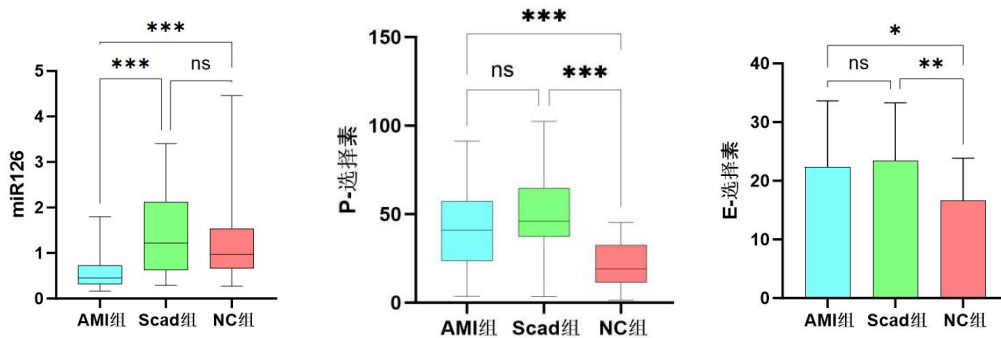


图3-4 三组患者EMPs中miR-126、选择素水平比较

### 3.6 AMI组各指标

#### 3.6.1 AMI亚组内皮细胞微粒中miR-126、选择素水平比较

我们根据冠状动脉造影结果，以病变累及的血管支数为依据将AMI患者分为单支、双支和三支血管病变3个亚组。并采用单因素方差分析对这些亚组间的差异进行了比较。结果显示，EMPs中miR-126的水平在单支血管病变组中高于双支和三支病变组。同时，EMPs中P-选择素的水平在单支和双支血管病变组中低于三支病变组，差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )，E-选择素的表达水平在不同亚组间没有显著差异。E-选择素表达水平组间无显著差异。结果见表3-4、图 3-5。

表3-4 AMI亚组EMPS中miR-126、选择素水平比较

变量	单支病变	双支病变	三支病变	F值	P值
N=50	7	12	31		
miR-126	1.11±0.47	31.99±21.24	28.19±14.15	19.411	<0.001
P-选择素	0.71±0.36	39.40±17.82	20.83±6.27	7.376	0.02
E-选择素	0.42±0.17	56.96±18.29	21.56±12.03	1.124	0.334

注： $P < 0.05$ ，差异具有统计学意义。

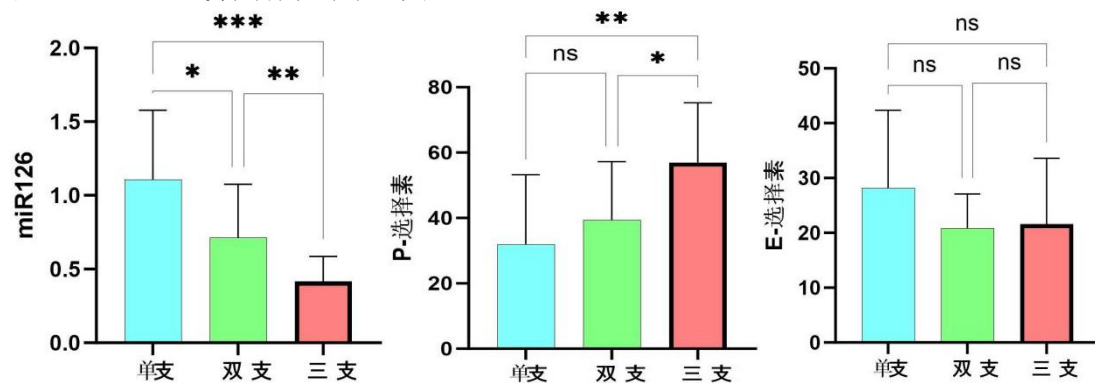


图3-5 AMI亚组EMPS中miR-126、选择素水平比较

#### 3.6.2 评估急性心肌梗死的危险因素

以是否发生AMI为因变量（赋值：是=1，否=0），在AMI组与Scad组、AMI组与健康组中是使用Logistic回归分析，将EMPs中miR-126、P-选择素、E-选择素分别纳入单因素Logistic回归分析，同时将BMI、年龄、性别（赋值：男=1，女=0）、吸烟史（赋值：是=1，否=0）、收缩压、血糖、甘油三酯、胆固醇等与AMI发生相关的指标纳入单因素Logistic回归分析。结果表明，在AMI组与Scad组，EMPs中miR-126、收缩压水平、血糖水平水平与AMI的发生有相关性，将单因素Logistic回归分析中 $P < 0.1$ 的指标纳入多

因素Logistic回归分析, 结果表明相对于Scad, miR-126是AMI的保护因素, 血糖水平是AMI的危险因素。同样在AMI组与健康组间使用单因素Logistic回归分析显示EMPs中miR-126、P-选择素、E-选择素、性别、收缩压水平、血糖、吸烟与AMI的发生相关, 多因素Logistic回归分析表明, 相对于健康人群, EMPs中P-选择素、E选择素、性别、收缩压水平、血糖是AMI的危险因素, EMPs中miR-126是AMI的保护因素。结果见表3-5, 表3-6, 表3-7, 表3-8。

表3-5 AMI组与Scad组间Logistic回归结果

变量	单因素		多因素	
	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值
miR-126	0.101(0.036~0.284)	<0.001	0.119(0.042~0.337)	<0.001
吸烟	1.417(0.624~3.218)	0.405		
P-选择素	1.016(0.977~1.036)	0.106		
E-选择素	0.990(0.954~1.028)	0.609		
性别	0.691(0.279~1.610)	0.392		
年龄	1.002(0.969~1.036)	0.892		
BMI	1.014(0.894~1.150)	0.831		
收缩压	0.981(0.961~1.001)	0.065	1.316(1.000~1.732)	0.05
TC(mmol/L)	1.287(0.937~1.768)	0.119		
TG(mmol/L)	0.899(0.680~1.189)	0.454		
GLU(mmol/L)	1.322(1.059~1.650)	0.014	2.697(1.237~5.880)	0.013

注:  $P < 0.05$ , 差异具有统计学意义。

表3-6 miR-126在AMI组与健康组组间logistic回归分析结果

变量	单因素		多因素	
	OR (95%CI)	P值	OR (95%CI)	P值
miR-126	0.078(0.024~0.262)	<0.001	0.110(0.023~0.526)	0.006
性别	0.389(0.170~0.892)	0.026	0.853(0.179~3.689)	0.832
年龄 (岁)	1.033(0.998~1.069)	0.065	1.035(0.985~1.088)	0.174
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	1.127(0.990~1.284)	0.071	1.149(0.915~1.443)	0.231
收缩压(mmHg)	1.026(1.003~1.049)	0.027	1.026(0.983~1.069)	0.239
吸烟史	6.000(2.031~17.728)	0.001	3.133(0.633~15.507)	0.162
TC(mmol/L)	1.253(0.889~1.766)	0.198		
TG(mmol/L)	1.307(0.838~2.037)	0.238		
GLU(mmol/L)	3.670(2.094~6.430)	<0.001	2.721(1.553~4.767)	<0.001
HDL-C(mmol/L)	0.784(0.176~3.492)	0.749		

LDL-C(mmol/L) 1.327(0.849~2.073) 0.214

注:  $P < 0.05$ , 差异具有统计学意义。

表3-7 P-选择素在AMI组与健康组间logistic回归分析结果

变量	单因素	P值	多因素	P值
	OR (95%CI)		OR (95%CI)	
P-选择素	1.096(1.058~1.135)	<0.001	1.105(1.052~1.161)	<0.001
性别	0.389(0.170~0.892)	0.026	1.306(0.255~6.685)	0.748
年龄 (岁)	1.033(0.998~1.069)	0.065	1.087(1.016~1.162)	0.015
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	1.127(0.990~1.284)	0.071	1.184(0.911~1.539)	0.207
收缩压(mmHg)	1.026(1.003~1.049)	0.027	0.988(0.944~1.033)	0.588
吸烟史	6.000(2.031~17.728)	0.001	6.215(0.903~42.782)	0.063
TC(mmol/L)	1.253(0.889~1.766)	0.198		
TG(mmol/L)	1.307(0.838~2.037)	0.238		
GLU(mmol/L)	3.670(2.094~6.430)	<0.001	3.361(1.649~6.849)	0.001
HDL-C(mmol/L)	0.784(0.176~3.492)	0.749		
LDL-C(mmol/L)	1.327(0.849~2.073)	0.214		

注:  $P < 0.05$ , 差异具有统计学意义。

表3-8 E-选择素在AMI组与健康组间logistic回归分析结果

变量	单因素	P值	多因素	P值
	OR (95%CI)		OR (95%CI)	0.014
E-选择素	1.068(1.019~1.118)	0.006	1.094(1.078~1.175)	
性别	0.389(0.170~0.892)	0.026	0.698(0.177~2.753)	0.607
年龄 (岁)	1.033(0.998~1.069)	0.065	1.033(0.980~1.090)	0.224
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	1.127(0.990~1.284)	0.071	1.063(0.861~1.314)	0.569
收缩压(mmHg)	1.026(1.003~1.049)	0.027	1.021(0.983~1.060)	0.285
吸烟史	6.000(2.031~17.728)	0.001	3.635(0.800~16.503)	0.095
TC(mmol/L)	1.253(0.889~1.766)	0.198		
TG(mmol/L)	1.307(0.838~2.037)	0.238		
GLU(mmol/L)	3.670(2.094~6.430)	<0.001	3.081(1.792~5.298)	<0.001
HDL-C(mmol/L)	0.784(0.176~3.492)	0.749		
LDL-C(mmol/L)	1.327(0.849~2.073)	0.214		

注:  $P < 0.05$ , 差异具有统计学意义。

### 3.7 AMI组预后相关指标比较

#### 3.7.1 MACEs组与非MACEs组一般资料比较

对所有入组的50名AMI患者进行随访，根据是否发生MACEs事件分为MACEs组（14例），非MACEs组（36例）。主要结局事件为全因死亡（1例），次要结局为：复发心梗（3例），复发心绞痛（7例），急性心力衰竭（3例），脑出血（0例），脑梗（0例），比较两组见一般资料，比较结果显示，两组间年龄、性别、BMI、吸烟史、饮酒史无明显差异（ $P>0.05$ ）。结果详见表3-9。

表3-9 MACEs组与非MACEs组一般资料比较结果

变量	MACEs组(n=14)	非MACEs组(n=36)	F/T/ $\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)	55.93±10.894	60.56±15.34	1.029	0.309
性别(男(%))	12(85.71%)	24(66.67%)	1.814	0.178
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	26.31±2.94	25.56±3.07	-0.783	0.437
吸烟(n(%))	7(50.0%)	13(36.1%)	0.810	0.368
饮酒(n(%))	3(21.4%)	5(13.9%)	0.426	0.514

注：P<0.05，差异具有统计学意义。

#### 3.7.2 MACEs组与非MACEs组EMP中miR-126、选择素水平比较

比较两组EMP中miR-126、P-选择素、E-选择素水平结果显示：miR-126在MACEs组中的表达水平明显低于非MACEs组，P-选择素在MACEs组中的表达水平明显高于非MACEs组，差异有统计学意义（ $P<0.01$ ）。E-选择素表达水平在两组间无明显差异（ $P>0.05$ ）。结果详见表3-10。

表3-10 两组间EMP中miR-126、选择素水平比较比较结果

变量	MACEs组(n=14)	非MACEs组(n=36)	T/Z值	P值
miR-126	0.36(0.27,0.45)	0.54(0.32,0.92)	-2.355	0.019
P-选择素	64.25±18.43	43.42±18.93	-3.518	0.001
E-选择素	23.51±10.90	24.85±11.58	-0.464	0.644

注：P<0.05，差异具有统计学意义。

#### 3.7.3 影响AMI患者预后相关临床变量的多因素分析

以AMI患者是否发生MACEs事件为因变量（赋值：是=1，否=0），将EMP中miR-126、P-选择素、E-选择素分别纳入单因素Logistic回归分析，同时将BMI、年龄、性别（赋值：

男=1, 女=0)、吸烟史(赋值: 是=1, 否=0)、收缩压、血糖、甘油三酯、胆固醇等与AMI发生相关的指标纳入单因素Logistic回归分析。单因素logistic回归分析结果显示: miR-126、P-选择素及HDL-C与AMI患者发生MACEs相关, 多因素logistic回归分析结果显示EMPs中miR-126是AMI患者发生MACEs的保护因素, EMPs中P-选择素是AMI患者发生MACEs的危险因素。结果详见表3-11, 表3-12。

表3-11 miR-126在MACEs组与非MACEs组间logistic回归分析结果

变量	单因素		多因素	
	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值
miR-126	0.017 (0.001~0.640)	0.028	0.029 (0.001~0.818)	0.038
年龄(岁)	0.976 (0.933~1.022)	0.303		
性别	0.333 (0.064~1.735)	0.192		
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	1.087 (0.884~1.336)	0.43		
吸烟	1.769 (0.507~6.169)	0.371		
收缩压(mmHg)	0.994 (0.963~1.025)	0.680		
TC(mmol/L)	1.308 (0.866~1.975)	0.201		
TG(mmol/L)	1.519 (0.940~2.454)	0.088	1.532 (0.762~3.080)	0.232
GLU(mmol/L)	1.079 (0.852~1.365)	0.529		
HDL-C(mmol/L)	0.018 (0.001~0.509)	0.018	0.023 (0.001~1.156)	0.059
LDL-C(mmol/L)	0.712 (0.385~1.319)	0.280		

注:  $P < 0.05$ , 差异具有统计学意义。

表3-12 P-选择素在MACEs组与非MACEs组间logistic回归分析结果

变量	单因素		多因素	
	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值
P-选择素	1.068 (1.020~1.117)	0.005	1.087 (1.021~1.157)	0.009
年龄(岁)	0.976 (0.933~1.022)	0.303		
性别	0.333 (0.064~1.735)	0.192		
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	1.087 (0.884~1.336)	0.43		
吸烟	1.769 (0.507~6.169)	0.371		
收缩压(mmHg)	0.994 (0.963~1.025)	0.680		
TC(mmol/L)	1.308 (0.866~1.975)	0.201		
TG(mmol/L)	1.519 (0.940~2.454)	0.088	1.085 (0.621~1.896)	0.775
GLU(mmol/L)	1.079 (0.852~1.365)	0.529		
HDL-C(mmol/L)	0.018 (0.001~0.509)	0.018	0.004 (0.001~0.358)	0.016

---

LDL-C(mmol/L)	0.712 (0.385~1.319)	0.280
---------------	---------------------	-------

---

注： $P < 0.05$ ，差异具有统计学意义。

## 第 4 章 讨论

据报道, 心血管疾病 (CVD) 仍然是全球疾病负担和死亡的主要原因, 缺血性心脏病是影响中老年人健康的主要原因之一<sup>[17]</sup>。相关文献报道, 2019年全球范围内CVD的患病人数高达5.23亿, 与CVD相关死亡人数从1990年的1210万增加到1860万, 其中缺血性心脏病就达49%<sup>[18]</sup>, 心血管疾病仍然是公共卫生的主要威胁。随着国民人均收入的增加, 人们生活水平提高的同时伴随着饮食不合理、运动缺乏等问题, 使心血管疾病的高风险因素如糖尿病、肥胖、吸烟、高血压等因素持续存在, 导致心血管疾病的发病率居高不下。本研究深入探讨了在AMI患者中, 外周血EMPs中miR-126、P-选择素及E-选择素的表达水平及其与AMI预后的潜在联系, 提供了关于心血管疾病发展机制的新见解, 并可能对未来的预防和治疗策略产生影响。

我们的研究选取了100名患者, 根据冠脉造影结果分为AMI组、Scad组和健康组, 通过流式细胞仪检测EMPs, 采用qRT-PCR法检测miR-126表达水平, 以及ELISA法测定EMPs中P-选择素、E-选择素的表达水平。同时我们通过透射电镜观察到包膜完整的MPs, 并通过流式提取了MPs中的EMPs, 确保了我们在本研究中的miR-126、P-选择素及E-选择素均来自于外周血EMPs中。最终研究结果显示, AMI患者外周血EMPs中miR-126、P-选择素及E-选择素水平与对照组存在明显差异, 提示这些分子的表达水平与AMI的发生发展密切相关。特别是, 我们发现外周血EMPs中的miR-126是AMI的保护因素, 而P-选择素和E-选择素则是AMI的危险因素。此外, 我们还观察到外周血EMPs中miR-126和P-选择素与AMI患者发生MACEs相关, EMPs中miR-126是预防MACEs的保护因素, 而EMPs中的P-选择素是导致MACEs的危险因素。

近年来, 微粒作为细胞间信号转导的媒介, 被广泛研究。EMPs是由活化或凋亡的内皮细胞释放到血液中的微小膜泡, 其表面表达有内皮细胞的特定标志, 能够反映内皮细胞的功能状态和血管健康状况。内皮细胞是血管结构中重要的组成部分, 内皮细胞的生理状态和功能稳定对血管的正常生理功能显得至关重要, 内皮细胞活化和凋亡是心血管疾病发生的关键因素。当内皮细胞受到相关刺激时, 其细胞内Ca<sup>2+</sup>增加、膜对称性消失, 从而引起膜屈曲形成囊泡并从母细胞以出芽的方式释放到细胞外环境中<sup>[19]</sup>, 从而形成EMPs。EMPs的表达不仅反映了内皮细胞的活化、凋亡或损伤情况, 而且还参与了动脉粥样硬化的进展。它通过减少内皮细胞增殖、促进血栓形成等机制影响疾病的发展。同时EMPs可包裹表达在内皮细胞中的选择素、miR-126等多种生物活性分子, 在心血管疾病的发生发展中发挥重要作用。本研究发现EMPs中的miR-126是AMI的保护因素, 也

是AMI患者发生MACEs的保护因素。Kuosmanen等人通过MicroRNA谱分析发现miR-126是内皮细胞微粒中含量最高的miRNA<sup>[20]</sup>。miR-126通过下调其靶基因如VCAM-1和SPRED1等的表达,抑制内皮细胞的炎症反应和血管新生的负面调控因子,从而发挥其保护作用<sup>[21]</sup>。也有研究发现缺氧处理人脐静脉内皮细胞后通过RT-qPCR检测miR-126-5p的表达显示,与常氧条件下的细胞相比,缺氧处理的细胞中miR-126高表达,进一步通过miR-126抑制剂处理上述细胞发现miR-126-5p抑制剂明显促进缺氧诱导的人脐静脉内皮细胞活力受损,表明miR-126-5p的敲低可能促进缺氧诱导的氧化应激和炎症<sup>[22]</sup>。Li等人的研究表明,miR-126过表达通过激活SIRT1/Nrf2信号通路抑制氧化应激和炎症反应,从而减轻氧-葡萄糖剥夺/再灌注损伤诱导的人脐静脉内皮细胞的损伤<sup>[23]</sup>。以上的研究结合我们的研究结果,我们推测EMPs中miR-126能通过促进血管生成、抑制炎症反应、减轻氧-葡萄糖剥夺/再灌注损伤等机制在心血管疾病中发挥潜在的保护作用。同时我们发现与AMI组相比,Scad组EMPs中miR-126表达升高,这一结果反映出EMPs中miR-126在AMI发生发展阶段会有动态变化。AMI未发生前的代偿阶段,miR-126表达水平明显增加,有助于阻止疾病恶化。但是,当机体发生AMI或出现MACEs时内皮细胞已发生障碍,因此miR-126表达会下降。这进一步说明,EMPs中的miR-126在AMI的发生中具有保护特性。一些研究发现,通过外源性补充miR-126可以缩小动物模型中心肌缺血面积,改善心脏功能<sup>[24]</sup>,这说明miR-126还具有治疗心血管疾病的潜在特性。

同时在本研究中,我们发现外周血EMPs中P-选择素和E-选择素是AMI的危险因素,P-选择素也是AMI患者发生MACEs的危险因素。此外,我们的研究显示,性别、年龄、血糖水平、收缩压水平、HDL水平与AMI的发生相关,血糖、收缩压水平是发生AMI发生的危险因素。这与目前的研究结果及共识一致,虽然我们发现了吸烟与AMI发生相关,但我们的研究并没能显示吸烟是AMI的危险因素,这可能归因于样本量小。选择素是一种钙离子依赖性的凝集素,有三个亚组成员包括P-选择素、E-选择素和L-选择素。每种选择素的表达也存在差异,L-选择素在白细胞上表达,E-选择素在内皮细胞上的表达,P-选择素既可以在内皮细胞上表达,也可以在血小板上表达。通常情况下,只有受到内皮细胞暴露、炎症因子刺激时P-选择素和E-选择素才会表达上调<sup>[25]</sup>。当EMPs产生时可携带包裹P-选择素,在调节血小板与内皮细胞之间的相互作用中起主导作用,并参与急性心血管事件的发生发展<sup>[26]</sup>。当血管损伤时内皮细胞活化,Weibel-Palade小体以胞吐作用的方式将储存的P-选择素释放出来,之后与白细胞膜表面的P-选择素糖蛋白配体-1结合,启动白细胞在内皮细胞上的粘附和滚动以及向炎症部位的趋化<sup>[27]</sup>。P-选择素与配体结合形成的复合物使白细胞在血管内皮滚动的过程发生减速甚至停滞,加快白细胞黏附。P-选择素促进血小板和内皮细胞释放白介素、血小板衍生的生长因子等促炎因子诱导血管平滑肌的迁移和增值,从而促进血管狭窄和病变<sup>[28]</sup>。一项研究通过使用P-选择素类似物竞争性抑制P-选择素与其配体结合,成功抑制了炎症细胞在内皮的黏附,减弱了

动脉粥样硬化的发生和单核细胞浸润<sup>[29]</sup>。综上所述，P-选择素参与动脉粥样硬化的发生是通过介导炎症细胞在血管内皮的黏附、聚集，以及向炎症部位趋化，同时促进促炎因子释放，加剧炎症反应，从而促进血管炎症和病变，这是P-选择素影响AMI的可能机制。一些研究通过特定药物靶向结合动脉粥样硬化斑块中的P-选择素，进而抑制白细胞募集，有效抑制局部氧化应激和炎症，从而阻止动脉粥样硬化的进展<sup>[30]</sup>。这项研究也进一步验证了我们的推测。相关研究表明，P-选择素水平升高与心肌梗死PCI术后发生MACEs风险增加相关<sup>[31]</sup>。David等人进行了一项多中心的随机对照实验结果也表明，高浓度的P-选择素水平与接受PCI术的患者发生MACEs的风险增加有关<sup>[32]</sup>，本研究得出了同样的结论，检测P-选择素水平可能有助于预测PCI患者术后发生MACEs事件。但在这项研究中，入组的50例AMI患者中部分患者并未在出院后1年时进行复查随访，我们的随访数据来源于电话询问的方式，这种方式对于某些MACEs的界限并不明确，患者与医生之间对于疾病的认知存在差异，随访问题的答案可能存在主观性。同时未获得患者复查心电图等检查的支持。此外患者个体间存在依从性的差异，患者出院后服药史也可能对AMI预后产生显著影响，这些因素可能影响了我们随访数据的准确性。虽然E-选择素也具有促进炎症，推动AMI发生发展的作用，但在本研究中，我们仅仅发现其在AMI组和Scad组中的水平高于健康组，但在MACEs和非MACEs组间并未发现表达的差异，这可能归因于样本量、研究设计或疾病阶段的差异。未来的研究需要进一步探索E-选择素在不同AMI发展阶段的动态变化及其潜在作用。

在本研究中我们根据冠脉造影结果提示的病变累及血管支数，将AMI患者分为单支、双支和三支血管病变3个亚组，通过单因素方差分析进行比较，结果显示，单支血管病变组EMP中miR-126水平高于双支病变组和三支病变组，单支血管病变组和双支血管病变组EMP中P-选择素水平低于三支病变组。这说明，EMP中的miR-126、P-选择素的表达可能与AMI患者冠脉的狭窄程度相关，Song等人的研究表明，P-选择素在冠心病中高表达，且与冠心病的严重程度呈正相关，可作为冠心病的生物学标志物<sup>[8]</sup>，这与本研究的结果一致。但我们并未发现E-选择素与冠脉病变数量的关系，这可能与我们的样本量较少，同时，虽然我们严格按照实验操作规范进行了实验，但由于条件限制，标本的冷藏、转运等过程可能对标本有一定的影响。因此，还需要扩大样本量，多中心的研究以及更加优化的实验设计和实验方法去验证。

本研究通过分析AMI患者中EMP中miR-126、P-选择素及E-选择素的表达，揭示了它们与AMI及预后之间的潜在联系，为深入理解AMI的发病机制提供了新的视角。但还有一些问题亟需解决，在未来研究中还需要进一步探索EMP中miR-126、P-选择素和E-选择素在AMI中发挥作用的具体机制，包括它们如何影响内皮细胞功能、炎症反应和血栓形成。同时尝试评估这些分子路径的治疗策略，如miR-126的增强或P-选择素抑制剂在预防AMI进展和改善预后方面的有效性和安全性。同时深入研究并探索如何将

miR-126、P-选择素和E-选择素的测定整合到AMI的诊断和预后评估流程中，以及它们在个体化治疗方案中的潜在作用。

本研究存在一些局限性：此研究的入组对象均来自单中心，且样本量较少，可能存在一定的偏倚，同时此次研究仅采用外周血进行检测分析，缺少冠脉血作为对照。同时在随访过程中采用患者主观回答作为预后的参考，未能量化，这可能对我们的结果产生影响。未来的研究需要进行更广泛的多中心、大样本以及更加优化的实验设计进一步研究，以验证这些生物标志物的通用性和预测价值，确保研究结果的广泛适用性和准确性。

## 第 5 章 结论

- 1.外周血EMPs中miR-126、P-选择素及E-选择素水平与AMI发生发展有关。
- 2.外周血EMPs中的miR-126是AMI的保护因素，P-选择素和E-选择素是AMI的危险因素。
- 3.外周血EMPs中的miR-126是AMI患者发生MACEs的保护因素，外周血EMPs中的P-选择素是AMI患者发生MACEs的危险因素。

## 第6章 综述

### miRNA与急性心肌梗死的相关研究进展

**摘要:** miRNA (microRNA, miRNA) 是一种相对保守的单链非编码小RNA, 它可通过与靶基因结合来调节细胞活动, 参与生命体的多个过程。随着人们对miRNA的研究, 其与许多疾病的关系逐渐被揭示, 许多研究发现miRNA在冠心病的发生发展中扮演着重要的角色。其包括参与脂质代谢、血管生成、血管炎症等过程。本文就miRNA家族在急性心肌梗死起病过程中的作用进行综述, 旨在为临床预防、诊断及治疗心肌梗死提供新的思路。

**关键词:** miRNA; 心肌梗死; 血管炎症; 脂质代谢

### Research progress on the correlation between miRNA and acute myocardial infarction

**Abstract:** miRNA (microRNA, miRNA) is a relatively conserved single stranded non coding small RNA that can regulate cellular activity by binding to target genes and participate in multiple processes in living organisms. With the research on miRNA, its relationship with many diseases has gradually been revealed, and many studies have found that miRNA plays an important role in the occurrence and development of coronary heart disease. It includes involvement in processes such as lipid metabolism, angiogenesis, and vasculitis. This article reviews the role of miRNA family in the pathogenesis of acute myocardial infarction, aiming to provide new ideas for clinical prevention, diagnosis, and treatment of myocardial infarction.

**Keyword:** miRNA; Myocardial infarction; vascular inflammation; lipid metabolism

急性心肌梗死(acute myocardial infarction, AMI)是由多种原因引起的以冠状动脉狭窄或闭塞, 导致心脏血流中断而引发严重后果的一种疾病, 具有起病急, 发展快的特点, 对患者生命健康构成严重威胁<sup>[33]</sup>。随着医疗技术的发展, 介入治疗提升了AMI治愈率, 但目前急性心肌梗死的预防仍然是一个紧迫且严峻的问题, 亟需解决。相关数据表明, 我国的AMI死亡率仍居高不下, 2020年我国CVD农村和城市的心血管疾病死亡率分别为336.13/10万和291.04/10万<sup>[3]</sup>。尽管我国的医疗技术手段不断进步, AMI治愈率提高, 但生活水平的提高导致肥胖、高血压、糖尿病等一些难以消除的冠心病风险因素增加, 使冠心病的发病率仍处于较高水平。此外AMI发病不易察觉且发展较迅速, 且常常伴随着

严重的并发症及不良预后，不仅给临床医生的诊疗带来考验，也对患者的经济带来巨大的负担。因此探索新的诊疗方法一直是广大研究者热衷于心血管疾病领域的关键动力。经过许多研究者不断地探索，人们发现miRNA在AMI等疾病发展中发挥作用，这些发现有望应用于临床诊断和治疗心肌梗死。本文综述了miRNA在AMI研究中的进展。

## 6.1 miRNA概述

miRNA是一种小型、保守的内源性单链非编码RNA，由21-25个核苷酸组成<sup>[6]</sup>，它通过调控基因表达影响疾病的发生与发展<sup>[34]</sup>。miRNA与靶mRNA通过碱基互补配对的方式发挥调控作用，因此一个miRNA可以影响多个不同的mRNA，而一个mRNA也可能受多个miRNA的调控。miRNA的生成过程复杂，包括转录、加工、剪接、转移到细胞质、成熟及靶标结合等步骤<sup>[35]</sup>。加工合成后的miRNA被外泌体、微粒、脂质囊泡等载体包装，并分泌到血液循环中，随后与相关蛋白结合形成复合物，这些复合物有助于防止miRNA降解，增强其稳定性<sup>[36]</sup>。迄今为止，人体中已发现超过2500种miRNA，它们在生命过程中扮演重要角色。一些miRNA在心血管系统中的潜在作用也被逐渐发掘，特别是血管生成、心肌细胞的收缩力、脂质代谢的控制、斑块的形成、心肌细胞的生长等面的潜在作用<sup>[37]</sup>。这些发现为心血管系统疾病的诊治带来了新的变革机会。

## 6.2 miRNA与疾病

随着科学技术的发展，分子生物学的相关检测手段不断完善，世界范围内对于miRNA作为相关疾病的研究越来越广泛。随着人们对miRNA的不断研究，越来越多的证据表明miRNA与许多疾病的发生发展密切相关，诸如糖尿病、心血管疾病和肿瘤等重大疾病与miRNA有显著关联。这些发现使miRNA成为生命科学领域的研究热点，有望为许多重大难治性疾病的治疗提供新的可能性。

### 6.2.1 miRNA与糖尿病

糖尿病（Diabetes mellitus, DM）是一类由胰岛素分泌不足或胰岛功能缺陷等多种原因引起的累及多系统的代谢性疾病。随着人们饮食结构发生变化，糖尿病在世界范围内的发病率越来越高，严重威胁人类的生命健康。目前对于糖尿病的治疗手段有限，仍然无法完全至于糖尿病。而糖尿病伴随心血管疾病等多种严重并发症，是医学领域的重大挑战。随着miRNA与众多疾病的关系逐渐明晰，发现miRNA在糖尿病的发病机制、诊断和治疗过程中发挥着重要作用。越来越多的研究发现在糖尿患者中miRNA呈现高表

达<sup>[38]</sup>, 这些高表达的miRAN通过参与氧化应激、胰腺β细胞损伤等过程诱发或进一步加重糖尿病。相关研究表明mir-195通过靶向调节Mfn2以及破坏Pi3k/Akt信号传导通路促进胰腺β细胞去分化<sup>[39]</sup>。一些miRAN的高表达则有益于糖尿病的治疗, 例如song等人研究发现结论 mir-494靶向调节相关信号通路来促进胰岛β细胞增殖, 同时抑制其凋亡, 从而可以增加胰岛素的分泌<sup>[40]</sup>。也有一些miRNA对胰岛功能有保护作用, Li等人的研究表明, mir-150-3p过表达可以抑制PDX1信号转导进一步减轻胰腺β细胞的功能障碍<sup>[41]</sup>。Liu等人通过动物实验研究发现, mir-17-5p通过抑制TXNIP/NLRP3炎症小体通路, 进而抑制NLRP3炎症小体的表达, 从而降低胰腺β细胞凋亡<sup>[42]</sup>。Gao等人的研究发现miRNA-16-5p通过靶向调节CXC趋化因子配体10的表达从而可以抑制高糖诱导的胰腺β细胞凋亡<sup>[43]</sup>。在I型糖尿病动物模型中发现, mir-203a在胰腺β细胞中高表达, 过表达的mir-203调控胰岛素受体底2的表达下调, 从而抗胰腺β细胞增殖而加重凋亡<sup>[44]</sup>。葡萄糖稳态因β细胞的破坏而受到影响, 进而会诱发酮症酸中毒、高渗性昏迷、心血管疾病等并发症<sup>[45]</sup>, 而通过mir-203抑制剂治疗可以使I型糖尿病小鼠的血糖得到控制<sup>[44]</sup>。这可能是一种潜在的治疗I型糖尿病的策略。Xu等人的研究发现, miR-26a在糖尿病中非常关键, 其表达下调会降低胰岛功能, 从而引起糖耐量受损<sup>[46]</sup>。也有相关文献报道, 糖尿病神经病变患者血清中miR-590-3P表达降低, 这可能成为诊断糖尿病肾病的生物标志物<sup>[47]</sup>。相关研究表明, miR-146在糖尿病的发生发展中发挥着作用, miR-146表达失调与糖尿病的一系列并发症的进展相关。Huang等人研究发现miR-146可以调节lncRNA SRA的表达, 从而抑制β细胞凋亡, 对I型糖尿病的发生具有一定的抵制作用<sup>[48]</sup>, 也有相关研究发现, miR-122、miR-126-3P、miR-146a在糖尿病患者组与对照组间的表达存在差异, 这些miRNA可能与胰岛素抵抗相关<sup>[49]</sup>。虽然目前miRNA在糖尿病的临床应用中还处于探索阶段, 但随着基因检测手段的发展以及越来越多的作用机制被发现, miRAN将为未来糖尿病的诊断、治疗及并发症治疗提供新的理论基础。

### 6.2.2 miRNA与肿瘤

miRNA已经被认为是细胞生命活动的主要调节因子, 其在肿瘤的发生、进展和转移中发挥着重要的作用, 是未来临床治疗肿瘤相关疾病的着手点, 值得我们深入去研究。在上皮细胞性肿瘤中, 上皮细胞失去极性, 失去与基底膜的联系并产生异质性是关键步骤, 在上皮细胞向肿瘤细胞转化过程中获得迁移及侵袭能力以及免疫逃逸的能力, 这种过程被称为上皮-间充质转化<sup>[50]</sup>。相关文献报道, mir-375通过相关信号通路的调节参与上皮-间充质转化过程, 从而在前列腺癌、乳腺癌、肺癌、胃癌等上皮肿瘤的发生中发挥重要作用<sup>[51,52]</sup>。一些miRNA在肿瘤转移过程中发挥作用, 例如, Guo等人发现mir-569可通过对核仁和纺锤体相关蛋白1的靶向调节, 从而影响ZEB表达并抑制胰腺癌的转移, 同时mir-569高表达的胰腺癌患者生存时间更长<sup>[53]</sup>。相关文献报道, 一些miRNA在早期

癌症的诊断中具有良好的特异度和敏感度,例如在早期胃癌的诊断中miR-378和miR-199a具有潜在价值<sup>[54,55]</sup>。日本的学者通过对miRNA谱结合计算机技术创建了适用于癌症组织分类的诊断工具,并通过癌症患者和肺癌患者血清中的miRNA进行验证,最终发现这种工具对预测癌症起源组织有巨大的潜力,更有优势的是可以对早期癌症的诊断也有帮助<sup>[56]</sup>。Monika等人的研究表明,miR-17在非小细胞肺癌中高度表达,可能是通过调节PI3K/Akt/mTOR途径增强细胞增殖,从而参与致癌过程。miR-29b和miR-142-3p在肺腺癌早期患者血清中显著表达,并且与患者术后2年的复发相关<sup>[57]</sup>。李新吉等人在膀胱癌与miRNA的研究中发现miR-181b-5p和miR-183-5p在膀胱癌患者的血清中上调,而miR-199a-5p和miR-221-3p在该研究中下调,将这四种miRNA组合可以作为诊断膀胱癌的生物标志物<sup>[58]</sup>。miR-146b-5p改变慢性淋巴细胞白血病细胞对IL-23的敏感性以此抑制慢性淋巴细胞白血病细胞生长,因此miR-146b-5p是治疗慢性淋巴细胞白血病的一个潜在靶标<sup>[59]</sup>。调控基因表达的miRNA异常可能会导致肿瘤的发生,同时也会影响药物的疗效。寻找影响免疫逃避、化疗耐药的miRNA并加以抑制是一种潜在的治疗方法<sup>[60]</sup>,mir-93可能是癌症进展的重要因素,同时该miRNA通过调控相关信号通路影响癌症对药物的反应,例如,其抑制PTEN/Akt信号通路从而影响卵巢癌细胞对顺铂化疗的敏感性<sup>[61]</sup>。Mir-93在乳腺癌可加强上皮-间充质转化过程从而影响肿瘤对阿奇霉素的耐药性<sup>[62]</sup>。相关研究表明miR-21与肿瘤细胞的增殖、侵袭和转移性增加,以及细胞凋亡减少和血管生成增加有关<sup>[63,64]</sup>。

miRNA在癌基因的表达调控,癌细胞的产生分化、侵袭转移及抗肿瘤药物的作用过程中发挥着一定的作用,深入研究这些过程中的机制,阐明miRNA在肿瘤发生发展过程中的作用,可为未来肿瘤的诊断及治疗提供新的策略。

### 6.3 miRNA与心肌梗死

心肌梗死的发生是一个多因素共同作用的复杂的病理生理过程,不健康的生活方式,不合理的饮食结构,导致脂质代谢紊乱引发动脉粥样硬化,加之伴随血管炎症的催化最终形成冠脉狭窄而导致心肌血流中断进而引起心肌细胞损伤坏死。近几年,随着人们对miRNA的不断研究,逐渐证明其在人体心脏和血管的发育和功能中具有重要作用,这些作用包括促进或抑制心脏细胞增殖和分化、参与心脏细胞再生、血管生成、血管炎症等。miRNA通过参与心脏和心血管发育或影响某些功能进而参与AMI的发生发展,这为我们理解心血管疾病的发生提供了新的视角,也为寻找心血管疾病的治疗新靶点提供了理论依据。

### 6.3.1 参与血管炎症

随着miRNA研究的深入,越来越多的数据显示,多种miRNA在心肌梗死发展的不同阶段发挥作用。众所周知,心肌梗死是由动脉粥样硬化引发的,其特征为内皮细胞受损引发免疫应答,包括白细胞黏附聚集等一系列过程,属于慢性炎症。

目前已经明确miRNA参与血管炎症,因此我们有理由相信它们在炎症介导的心血管疾病中扮演角色。相关研究发现,miR-181a-5p和miR-181a-3p能抑制血管炎症,减缓动脉粥样硬化进程<sup>[65]</sup>,应用miR-181a-5p和miR-181a-3p可能是未来临床中治疗动脉粥样硬化的一种新方法。也有动物实验研究发现,内皮细胞表达mir-181a2b2 缺陷参与调节内皮细胞炎症、细胞黏附等多个通路引发内皮活化和血管炎症,从而推动动脉粥样硬化的发展,因此试图增加内皮细胞中mir-181b的表达是抑制动脉粥样硬化的一种潜在疗法<sup>[66]</sup>。有关文献报道,在心肌梗死患者中mir-146b可以减轻血管炎症同时也可以抑制细胞凋亡,这种作用可能是通过靶向调节PI3K/AKT通路来发挥作用<sup>[67]</sup>。炎症细胞的黏附聚集是内皮细胞损伤过程中炎症反应的必经阶段,有研究发现,miR-302a可以通过抑制粘附因子的分泌从而减少单核细胞与内皮细胞的粘附,进而抑制内皮炎症<sup>[68]</sup>。之前的许多研究表明心肌梗死后的氧化应激反应是心肌损伤的主要原因。相关研究表明,内皮细胞的氧化应激反应可以使miR-200家族的表达上调,其中以mir-200b-3p上调最为显著,它可通过靶向抑制HDAC4来促进内皮细胞凋亡<sup>[69]</sup>。也有相关文献报道,miRNA不仅可以抑制血管炎症,还具有抗炎作用。前期的一些研究表明,Smad7具有抗炎作用,而miR-216a通过下调Smad7表达促进内皮炎症,这可能是动脉粥样硬化的关键因素<sup>[70]</sup>。miR-34a通过增强血管细胞粘附分子-1和细胞间粘附分子-1的表达,进一步加剧内皮细胞炎症<sup>[71]</sup>。在急性冠脉综合征的大鼠模型中检测到促炎因子高表达,但在敲低mir-3646后促炎因子表达水平降低,由此说明mir-3646通过调节炎症反应参与急性冠脉综合征的进展<sup>[72]</sup>。在一项纳入了80名动脉粥样硬化的病例对照研究中发现,与健康组相比,miR-218-5p在动脉粥样硬化组表达明显降低,且其与炎性指标呈负相关,上调miR-218-5p的表达后可以逆转ox-LDL介导的细胞凋亡和炎症因子表达,这种作用可能有赖于mir-218-5p靶向TLR4的调节<sup>[73]</sup>。miRNA是一个庞大家族,随着研究的深入,越来越多的成员及其作用被发掘,miRNA的不同成员在血管炎症中扮演着不同角色,不断验证探索这些miRNA的特性,验证它们在血管炎症中发挥作用的机制,开发它们在动脉粥样硬化治疗中的新靶点,为未来针对性地预防和治疗心肌梗死的新方向。

### 6.3.2 促进血管生成

血管内皮生长因子是血管生成的必要因子,它可以提高血管通透性并促进内皮细胞的迁移和新血管形成。相关研究表明miR-126的表达可直接靶向抑制PI3K调节亚单位2,

增强血管内皮生长因子的信号转导,从而促进血管生成<sup>[74]</sup>。一些miRNA通过作用于血管生成中的经典信通路——PI3K/mTOR/HIF-1 $\alpha$ /VEGF 通路调节血管生成。例如,miR-29通过负调控靶SPL、PDPK和IGF-1基因来调控该通路,抑制内皮一氧化氮合酶的表达和活性,进而减少内皮细胞的增殖、迁移和新血管形成<sup>[75]</sup>。最近的一项动物实验的研究结果表明,AMI患者外周血清来源的外泌体中的miR-126-3p通过靶向TSC1和激活mTORC1/HIF-1 $\alpha$ 轴来促进内皮细胞的血管生成和缺血后血流的恢复<sup>[76]</sup>。也有动物实验结果表明,miR-21-5p通过靶基因的调控并激活VEGF诱导的ERK-MAPK信号通路来促进血管生成<sup>[77]</sup>。也有文献报道miR-133a-3p通过AKT信号通路抑制心肌细胞凋亡、增强血管生成<sup>[78]</sup>。miR-9通过靶向瞬时受体电位阳离子通道亚家族M成员7(TRPM7)基因来调节PI3K/AKT信号通路,从而促进内皮祖细胞的血管生成,这有利于血栓栓塞后的血管再通<sup>[79]</sup>。也有一些miRNA在血管生成中起相反的作用,相关研究表明,miR-10b表达可以显著抑制血管生成<sup>[80]</sup>。在结肠癌中,已发现miR-524-5p靶向WNK赖氨酸缺陷蛋白激酶-1来抑制细胞表皮生长因子的表达,从而抑制细胞血管生成<sup>[80]</sup>。随着人们对于miRNA的深入研究并不断揭示其在各种疾病中发挥的不同作用,一些依托于miRNA的治疗手段不断出现,在未来临床治疗心肌梗死的过程中,有望根据不同miRNA对于血管生成作用及其不同机制,增强其促进血管生成的作用而减弱其抑制血管生成的作用,这可能时未来治疗心肌梗死的一种潜在方法。

### 6.3.3 影响脂质代谢

目前人们普遍认为循环中血脂水平偏高会增加动脉脂质斑块形成的风险,进而导致心肌梗死的发生。因此脂质代谢正常对于心肌梗死的预防至关重要。虽然目前降脂药物的应用在一定程度上发挥了重要作用,但仍然无法完全阻止冠状动脉脂质斑块形成。近些年的许多研究表明,脂质代谢过程中也有不少miRNA参与,在此过程中发挥重要作用。参与调节血浆TG水平的关键酶之一是脂蛋白脂肪酶(LPL),它负责将富含TG的脂蛋白水解为可被外周组织利用或储存在脂肪细胞中的脂肪酸。一些研究表明miR-181d通过抑制异柠檬酸脱氢酶1来降低细胞TG和胆固醇<sup>[81]</sup>。也有相关研究表明miR21通过降低三酰基甘油、总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇的水平 and 增加高密度脂蛋白胆固醇的水平来改善脂质代谢紊乱<sup>[82]</sup>。有关动物实验结果表明miR-483抑制前蛋白转化酶枯草杆菌蛋白酶/kexin 9型的表达从而增加LDLR的肝细胞表达,外源性使用的miR-483可以显著降低高胆固醇血症小鼠模型中的总胆固醇和LDL-C水平<sup>[83]</sup>,这说明miR-483在治疗动脉粥样硬化方面具有广阔的前景。相关研究表明胆固醇的调节需要miR-33参与,同时还通过调节胆汁酸合成和分泌的相关因子来参与逆向胆固醇转运的最后阶段,从而使胆固醇通过粪便从体内清除<sup>[84]</sup>。相关研究表明miR-126b-5p促进了3T3-L1前脂肪细胞的增殖和分化,还增加了脂肪酸含量并促进了体内和体外的脂质沉积<sup>[85]</sup>。脂质代谢紊乱是动

脉粥样硬化的起点，miRNA在脂质代谢中发挥着重要的作用，未来需要我们更加深入的研究miRNA在血管生成中的作用机制，发掘其在血脂控制中的靶点，为未来心肌梗死的预防提供新的方向。

### 6.3.4 心肌梗死标志物

及早发现并明确诊断急性心肌梗死不仅可以提高患者的生存率，还可以降低并发症的发生。目前临床应用的心肌酶谱等诊断手段对心肌梗死的预防无明显优势。故而近年来研究者们试图寻找新的生物学标志物用于心肌梗死的诊断。近期的一些研究发现miRNA具有作为急性心肌梗死生物学标志物的潜能。相关研究表明miR-133b 和 miR-21可作为急性心肌梗死的标志物，同时这两种miRNA都具有区分和预测动脉粥样硬化不同阶段的能力<sup>[86]</sup>。也有相关研究表明心肌梗死急性期血清miR-492水平显著升高，因此miR-492可作为诊断急性心肌梗死的生物学标志物<sup>[87]</sup>。Su等人的研究表明，miR-1在急性胸痛3h释放，对AMI具有潜在的诊断价值，同时可用于预测AMI预后。而miR-199和miR-208在辅助AMI的临床诊断中发挥与miR-1相似的作用<sup>[88]</sup>。Ling等人的研究表明，冠状动脉狭窄的严重程度与miR-126的表达水平有一定的相关性，因此我们可以通过检测血清中miR-126的表达水平来评估冠状动脉狭窄的程度<sup>[89]</sup>，这种非侵入性的检查更具有推广性，值得我们去研究。目前关于miRNA的研究仍然在不断探索中，其在急性心肌梗死治疗中的诊断及预测价值仍处于理论阶段，还需要进一步探索，为将来临床应用提供理论依据。

## 6.4 总结与展望

miRNA贯穿许多疾病发展的始终，其在心肌梗死中发挥的作用不容忽视。其参与心肌梗死前的脂质代谢以及血管炎症，心肌梗死后的血管生成，心肌损伤与修复等过程。目前的局限是仍不清楚miRNA在冠心病发生、发展中的调控途径，未找到确切与冠心病密切联系的靶基因。相信随着技术手段的不断进步，miRNA能在心肌梗死的预防、早期诊断、治疗等多方面提供新思路。

## 参考文献

- [1] Cortesi P A, Fornari C, Madotto F, et al. Trends in cardiovascular diseases burden and vascular risk factors in Italy: The Global Burden of Disease study 1990-2017[J]. *Eur J Prev Cardiol*, 2021, 28(4): 385-396.
- [2] Liang X, Chou O H I, Cheung B M Y. The Effects of Human Papillomavirus Infection and Vaccination on Cardiovascular Diseases, NHANES 2003-2016[J]. *Am J Med*, 2023, 136(3): 294-301.e2.
- [3] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告2022概要[J]. *心脑血管病防治*, 2023, 23(7): 1-19,24.
- [4] Voukalis C, Shantsila E, Lip G Y H. Microparticles and cardiovascular diseases[J]. *Ann Med*, 2019, 51(3-4): 193-223.
- [5] Landers-Ramos R Q, Addison O A, Beamer B, et al. Circulating microparticle concentrations across acute and chronic cardiovascular disease conditions[J]. *Physiol Rep*, 2020, 8(15): e14534.
- [6] Matsuyama H, Suzuki H I. Systems and Synthetic microRNA Biology: From Biogenesis to Disease Pathogenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21(1): 186-193.
- [7] Sun J, Zhang Z, Ma T, et al. Retraction Note: Endothelial progenitor cell-derived exosomes, loaded with miR-126, promoted deep vein thrombosis resolution and recanalization[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2019, 10(1): 162-170.
- [8] Song C, Wu G, Chang S, et al. Plasma P-selectin level is associated with severity of coronary heart disease in Chinese Han population[J]. *J Int Med Res*, 2020, 48(6): 300060519896437.
- [9] Agrati C, Sacchi A, Tartaglia E, et al. The Role of P-Selectin in COVID-19 Coagulopathy: An Updated Review[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(15): 213-221.
- [10] Mcever R P. Selectins: initiators of leucocyte adhesion and signalling at the vascular wall[J]. *Cardiovasc Res*, 2015, 107(3): 331-339.
- [11] 鲁硕, 郑晓群, 侯凤霞. 重组人尿激酶原对治疗急性心肌梗死发生无复流患者P选择素的影响[J]. *中国医师进修杂志*, 2019, 42(10): 942-946.
- [12] Tscharr M, Vogel B, Tentzeris I, et al. Prognostic Impact of Soluble P-Selectin on Long-Term Adverse Cardiovascular Outcomes in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention[J]. *Thromb Haemost*, 2019, 119(2): 340-347.
- [13] Purdy M, Obi A, Myers D, et al. P- and E- selectin in venous thrombosis and non-venous pathologies[J]. *J Thromb Haemost*, 2022, 20(5): 1056-1066.

- [14] Dehghani T, Thai P N, Sodhi H, et al. Selectin-targeting glycosaminoglycan-peptide conjugate limits neutrophil-mediated cardiac reperfusion injury[J]. *Cardiovasc Res*, 2022, 118(1): 267-281.
- [15] 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(2019)[J]. *中华心血管病杂志*, 2019(10): 766-783.
- [16] 中华医学会心血管病学分会介入心脏病学组, 中华医学会心血管病学分会动脉粥样硬化与冠心病学组, 中国医师协会心血管内科医师分会血栓防治专业委员会, et al. 稳定性冠心病诊断与治疗指南[J]. *中华心血管病杂志*, 2018(9): 680-694.
- [17] Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. *Lancet*, 2020, 396(10258): 1204-1222.
- [18] Roth G A, Mensah G A, Johnson C O, et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 76(25): 2982-3021.
- [19] Curtis A M, Edelberg J, Jonas R, et al. Endothelial microparticles: sophisticated vesicles modulating vascular function[J]. *Vasc Med*, 2013, 18(4): 204-214.
- [20] Kuosmanen S M, Kansanen E, Sihvola V, et al. MicroRNA Profiling Reveals Distinct Profiles for Tissue-Derived and Cultured Endothelial Cells[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 10943.
- [21] Theofilis P, Oikonomou E, Vogiatzi G, et al. The Role of MicroRNA-126 in Atherosclerotic Cardiovascular Diseases[J]. *Curr Med Chem*, 2023, 30(17): 1902-1921.
- [22] Liao Y, Zou Y, Zhang H. MicroRNA-126-5p Facilitates Hypoxia-Induced Vascular Endothelial Cell Injury via HIPK2[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2022, 52(6): 918-926.
- [23] Li J, Yang C, Wang Y. miR-126 overexpression attenuates oxygen-glucose deprivation/reperfusion injury by inhibiting oxidative stress and inflammatory response via the activation of SIRT1/Nrf2 signaling pathway in human umbilical vein endothelial cells[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(2): 169-176.
- [24] Gao S, Gao H, Dai L, et al. miR-126 regulates angiogenesis in myocardial ischemia by targeting HIF-1 $\alpha$ [J]. *Exp Cell Res*, 2021, 409(2): 112925.
- [25] Cappenberg A, Kardell M, Zarbock A. Selectin-Mediated Signaling-Shedding Light on the Regulation of Integrin Activity in Neutrophils[J]. *Cells*, 2022, 11(8): 104-122.
- [26] Shen L, Yang T, Xia K, et al. P-selectin (CD62P) and soluble TREM-like transcript-1 (sTLT-1) are associated with coronary artery disease: a case control study[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2020, 20(1): 387.
- [27] Batko-Szwaczka A, Francuz T, Kosowska A, et al. Predictors of Adverse Outcomes in Healthy Aging Adults: Coronary Artery Disease, Lower Educational Status and Higher P-Selectin Levels[J]. *Clin Interv Aging*, 2022, 17: 1173-1185.

- [28] Massberg S, Vogt F, Dickfeld T, et al. Activated platelets trigger an inflammatory response and enhance migration of aortic smooth muscle cells[J]. *Thromb Res*, 2003, 110(4): 187-194.
- [29] Ye Z, Zhang S, Liu Y, et al. A Peptide Analogue of Selectin Ligands Attenuated Atherosclerosis by Inhibiting Monocyte Activation[J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 2019: 8709583.
- [30] Liu M, Zhang Y, Ma X, et al. Synthesis and Characterization of Fucoidan-Chitosan Nanoparticles Targeting P-Selectin for Effective Atherosclerosis Therapy[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 8006642.
- [31] Tscharré M, Farhan S, Bruno V, et al. Impact of platelet turnover on long-term adverse cardiovascular outcomes in patients undergoing percutaneous coronary intervention[J]. *Eur J Clin Invest*, 2019, 49(9): e13157.
- [32] Berg D D, Yeh R W, Mauri L, et al. Biomarkers of platelet activation and cardiovascular risk in the DAPT trial[J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2021, 51(3): 675-681.
- [33] 赵月妍, 蒋海杰, 刘艳, et al. 老年急性心肌梗死患者血清miRNA-34a和miRNA-126表达与心肌损伤和心功能的相关性[J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(12): 2859-2862.
- [34] Tao J, Xia L, Cai Z, et al. Interaction Between microRNA and DNA Methylation in Atherosclerosis[J]. *DNA Cell Biol*, 2021, 40(1): 101-115.
- [35] Treiber T, Treiber N, Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and its crosstalk with other cellular pathways[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2019, 20(1): 5-20.
- [36] Ho P T B, Clark I M, Le L T T. MicroRNA-Based Diagnosis and Therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 76-88.
- [37] Çakmak H A, Demir M. MicroRNA and Cardiovascular Diseases[J]. *Balkan Med J*, 2020, 37(2): 60-71.
- [38] Shen Z, Yu Y, Yang Y, et al. miR-25 and miR-92b regulate insulin biosynthesis and pancreatic  $\beta$ -cell apoptosis[J]. *Endocrine*, 2022, 76(3): 526-535.
- [39] Xu Y, Tang Z, Dai H, et al. MiR-195 promotes pancreatic  $\beta$ -cell dedifferentiation by targeting Mfn2 and impairing Pi3k/Akt signaling in type 2 diabetes[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2022, 30(2): 447-459.
- [40] Song S, Yang Y, He J, et al. [miR-494 promotes islet  $\beta$  cell proliferation, inhibits apoptosis and increases insulin secretion by activating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway][J]. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi*, 2021, 37(11): 1003-1009.
- [41] Li Y. Gypenoside A attenuates dysfunction of pancreatic  $\beta$  cells by activating PDX1 signal transduction via the inhibition of miR-150-3p both in vivo and in vitro[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2022, 36(4): e23004.

- [42] Liu S, Tang G, Duan F, et al. MiR-17-5p Inhibits TXNIP/NLRP3 Inflammasome Pathway and Suppresses Pancreatic  $\beta$ -Cell Pyroptosis in Diabetic Mice[J]. *Front Cardiovasc Med*, 2021, 8: 768029.
- [43] Gao X, Zhao S. miRNA-16-5p inhibits the apoptosis of high glucose-induced pancreatic  $\beta$  cells via targeting of CXCL10: potential biomarkers in type 1 diabetes mellitus[J]. *Endokrynol Pol*, 2020, 71(5): 404-410.
- [44] Duan X, Zhao L, Jin W, et al. MicroRNA-203a regulates pancreatic  $\beta$  cell proliferation and apoptosis by targeting IRS2[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(10): 7557-7566.
- [45] Vauzelle-Kervroëdan F, Delcourt C, Forhan A, et al. Analysis of mortality in French diabetic patients from death certificates: a comparative study[J]. *Diabetes Metab*, 1999, 25(5): 404-411.
- [46] Xu H, Du X, Xu J, et al. Pancreatic  $\beta$  cell microRNA-26a alleviates type 2 diabetes by improving peripheral insulin sensitivity and preserving  $\beta$  cell function[J]. *PLoS Biol*, 2020, 18(2): e3000603.
- [47] Yun J, Ren J, Liu Y, et al. MicroRNA (miR)-590-3p alleviates high-glucose induced renal tubular epithelial cell damage by targeting C-X3-C motif chemokine ligand 1 (CX3CL1) in diabetic nephropathy[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(1): 634-644.
- [48] Huang Y N, Chiang S L, Lin Y J, et al. Long, Noncoding RNA SRA Induces Apoptosis of  $\beta$ -Cells by Promoting the IRAK1/LDHA/Lactate Pathway[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(4): 3256-3265.
- [49] Zeinali F, Aghaei Zarch S M, Jahan-Mihan A, et al. Circulating microRNA-122, microRNA-126-3p and microRNA-146a are associated with inflammation in patients with pre-diabetes and type 2 diabetes mellitus: A case control study[J]. *PLoS One*, 2021, 16(6): e0251697.
- [50] Gugnoni M, Sancisi V, Gandolfi G, et al. Cadherin-6 promotes EMT and cancer metastasis by restraining autophagy[J]. *Oncogene*, 2017, 36(5): 667-677.
- [51] Liang Z, Li J, Zhao L, et al. miR-375 affects the hedgehog signaling pathway by downregulating RAC1 to inhibit hepatic stellate cell viability and epithelial-mesenchymal transition[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(3): 4041-4046.
- [52] Wei J, Lu Y, Wang R, et al. MicroRNA-375: potential cancer suppressor and therapeutic drug[J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(9): 1213-1220.
- [53] Guo X, Li Y, Che X, et al. microRNA-569 inhibits tumor metastasis in pancreatic cancer by directly targeting NUSAP1[J]. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(8): 3652-3665.
- [54] Li C, Li J F, Cai Q, et al. MiRNA-199a-3p: A potential circulating diagnostic biomarker for early gastric cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2013, 108(2): 89-92.
- [55] Liu H, Zhu L, Liu B, et al. Genome-wide microRNA profiles identify miR-378 as a serum biomarker for early detection of gastric cancer[J]. *Cancer Lett*, 2012, 316(2): 196-203.

- [56] Matsuzaki J, Kato K, Oono K, et al. Prediction of tissue-of-origin of early stage cancers using serum miRNomes[J]. *JNCI Cancer Spectr*, 2023, 7(1): 212-220.
- [57] Kaduthanam S, Gade S, Meister M, et al. Serum miR-142-3p is associated with early relapse in operable lung adenocarcinoma patients[J]. *Lung Cancer*, 2013, 80(2): 223-227.
- [58] Li X, Chen W, Li R, et al. Bladder cancer diagnosis with a four-miRNA panel in serum[J]. *Future Oncol*, 2022, 18(29): 3311-3322.
- [59] Matis S, Grazia Recchia A, Colombo M, et al. MiR-146b-5p regulates IL-23 receptor complex expression in chronic lymphocytic leukemia cells[J]. *Blood Adv*, 2022, 6(20): 5593-5612.
- [60] Chen H. microRNA-Based Cancer Diagnosis and Therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 25(1): 415-425.
- [61] Fu X, Tian J, Zhang L, et al. Involvement of microRNA-93, a new regulator of PTEN/Akt signaling pathway, in regulation of chemotherapeutic drug cisplatin chemosensitivity in ovarian cancer cells[J]. *FEBS Lett*, 2012, 586(9): 1279-1286.
- [62] Chu S, Liu G, Xia P, et al. miR-93 and PTEN: Key regulators of doxorubicin-resistance and EMT in breast cancer[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(4): 2401-2407.
- [63] Tirpe A, Gulei D, Tirpe G R, et al. Beyond Conventional: The New Horizon of Anti-Angiogenic microRNAs in Non-Small Cell Lung Cancer Therapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(21): 321-332.
- [64] Soliman S E, Abdelaleem A H, Alhanafy A M, et al. Circulating miR-21-5p and miR-126-3p: diagnostic, prognostic value, and multivariate analysis in non-small-cell lung cancer[J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(3): 2543-2552.
- [65] Su Y, Yuan J, Zhang F, et al. MicroRNA-181a-5p and microRNA-181a-3p cooperatively restrict vascular inflammation and atherosclerosis[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(5): 365.
- [66] Yang D, Haemmig S, Chen J, et al. Endothelial cell-specific deletion of a microRNA accelerates atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2022, 350: 9-18.
- [67] Zhao L, Yang X R, Han X. MicroRNA-146b induces the PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B signaling pathway to reduce vascular inflammation and apoptosis in myocardial infarction by targeting PTEN[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(2): 1171-1181.
- [68] Yuan J N, Hong Y, Ma Z L, et al. MiR-302a Limits Vascular Inflammation by Suppressing Nuclear Factor- $\kappa$  B Pathway in Endothelial Cells[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 682574.
- [69] Zhang F, Cheng N, Du J, et al. MicroRNA-200b-3p promotes endothelial cell apoptosis by targeting HDAC4 in atherosclerosis[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2021, 21(1): 172.

- [70] Yang S, Chen Y, Mi X, et al. MicroRNA-216a Promotes Endothelial Inflammation by Smad7/I $\kappa$ B $\alpha$  Pathway in Atherosclerosis[J]. *Dis Markers*, 2020, 2020: 8864322.
- [71] Xie M, Wang J, Gong W, et al. NF- $\kappa$ B-driven miR-34a impairs Treg/Th17 balance via targeting Foxp3[J]. *J Autoimmun*, 2019, 102: 96-113.
- [72] Yu J, Li Y, Leng D, et al. microRNA-3646 serves as a diagnostic marker and mediates the inflammatory response induced by acute coronary syndrome[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 5632-5640.
- [73] Chen J, Tang Z, Chen Z, et al. MicroRNA-218-5p regulates inflammation response via targeting TLR4 in atherosclerosis[J]. *BMC Cardiovasc Disord*, 2023, 23(1): 122.
- [74] Zhang Y, Xu Y, Zhou K, et al. MicroRNA-126 and VEGF enhance the function of endothelial progenitor cells in acute myocardial infarction[J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(2): 142.
- [75] Wang X, Liu Y, Hou H, et al. miRNA-29 aggravates myocardial infarction via inhibiting the PI3K/mTOR/HIF1 $\alpha$ /VEGF pathway[J]. *Aging (Albany NY)*, 2022, 14(7): 3129-3142.
- [76] Duan S, Wang C, Xu X, et al. Peripheral Serum Exosomes Isolated from Patients with Acute Myocardial Infarction Promote Endothelial Cell Angiogenesis via the miR-126-3p/TSC1/mTORC1/HIF-1 $\alpha$  Pathway[J]. *Int J Nanomedicine*, 2022, 17: 1577-1592.
- [77] Li Y, Chen X, Jin R, et al. Injectable hydrogel with MSNs/microRNA-21-5p delivery enables both immunomodification and enhanced angiogenesis for myocardial infarction therapy in pigs[J]. *Sci Adv*, 2021, 7(9): 94-103.
- [78] Zhu W, Sun L, Zhao P, et al. Macrophage migration inhibitory factor facilitates the therapeutic efficacy of mesenchymal stem cells derived exosomes in acute myocardial infarction through upregulating miR-133a-3p[J]. *J Nanobiotechnology*, 2021, 19(1): 61.
- [79] Zhou D M, Sun L L, Zhu J, et al. MiR-9 promotes angiogenesis of endothelial progenitor cell to facilitate thrombi recanalization via targeting TRPM7 through PI3K/Akt/autophagy pathway[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(8): 4624-4632.
- [80] Yücel E I, Sahin M. Fenretinide reduces angiogenesis by downregulating CDH5, FOXM1 and eNOS genes and suppressing microRNA-10b[J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(3): 1649-1658.
- [81] Abu-Farha M, Cherian P, Al-Khairi I, et al. Reduced miR-181d level in obesity and its role in lipid metabolism via regulation of ANGPTL3[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 11866.
- [82] Wang Y, Yang L Z, Yang D G, et al. MiR-21 antagomir improves insulin resistance and lipid metabolism disorder in streptozotocin-induced type 2 diabetes mellitus rats[J]. *Ann Palliat Med*, 2020, 9(2): 394-404.
- [83] Dong J, He M, Li J, et al. microRNA-483 ameliorates hypercholesterolemia by inhibiting PCSK9 production[J]. *JCI Insight*, 2020, 5(23): 132-140.

- [84] Zhang X, Price N L, Fernández-Hernando C. Non-coding RNAs in lipid metabolism[J]. *Vascul Pharmacol*, 2019, 114: 93-102.
- [85] Shen L, He J, Zhao Y, et al. MicroRNA-126b-5p Exacerbates Development of Adipose Tissue and Diet-Induced Obesity[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(19): 2141-2145.
- [86] Kumar D, Narang R, Sreenivas V, et al. Circulatory miR-133b and miR-21 as Novel Biomarkers in Early Prediction and Diagnosis of Coronary Artery Disease[J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11(2): 41-45.
- [87] Guo L L, Chen H H, Qu F C, et al. Clinical significance of miR-492 in peripheral blood of acute myocardial infarction[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(17): 9041-9045.
- [88] Su T, Shao X, Zhang X, et al. Value of circulating miRNA-1 detected within 3 h after the onset of acute chest pain in the diagnosis and prognosis of acute myocardial infarction[J]. *Int J Cardiol*, 2020, 307: 146-151.
- [89] Ling H, Guo Z, Shi Y, et al. Serum Exosomal MicroRNA-21, MicroRNA-126, and PTEN Are Novel Biomarkers for Diagnosis of Acute Coronary Syndrome[J]. *Front Physiol*, 2020, 11: 654.

## 致谢

时光的脚步总是那么匆匆，研究生开学那天报道时的场景仿佛就在昨天，眨眼间就要结束这三年的历程。在此即将离开之际，有太多太多不舍，也有许多感谢要说。回首过去三年，有艰辛，有汗水，但也收获满满。在此请允许我对每一位帮助过我的人表以最诚挚的感谢。

在这里，首先要感谢我的导师穆叶赛·尼加提教授，感谢恩师在研究生三年中对我的教导与帮助。您永远是我人生道路上的灯塔，作为科研工作者，您严谨的科研态度，一丝不苟的工作态度为我们树立了榜样，您在我困惑时引导我，在我懈怠时鞭策我，虽严厉但又充满耐心与宽容。我的每一点成长都离不开您无私的心血。您不断创新的求索精神和严谨审慎的治学态度，是我学习的榜样，也是我前行的灯塔。这三年你不仅教会了我如何做科研，更教会了我作为一名医生，如何对待患者，您的倾囊相授、言传身教是我在课本上学不到的，这些是我这三年收获的最大财富，也是我未来行程中最好的盘缠。能成为您的学生，是我这辈子的荣幸，您是我人生的指导者，是我永远的榜样。以后无论何时何地，无论是做科研还是行医，我都必将谨记您的教诲，努力提升自己，紧追您的脚步。

同时还要感谢在轮转期间带教的各位老师，您们毫无保留的言传身教，使我快速成长。感谢马艺萍博士、阿不拉江、尼格热、帕丽达同门及各位师弟师妹在课题设计、病例收集、数据分析等方面给予的无私帮助，能跟大家一起交流探讨学习中的困惑，一起分享生活中的快乐，一起面对课题遇到的困难，使我感觉到团队的重要性，也使我研究生生活平添了一份快乐，少了一份苦恼。

最后，我特别感谢家人在我求学之路上对我无限的支持与鼓励，作为从大山深处走出的孩子，在同龄人都选择踏入社会时，是父亲不遗余力地支持，将家庭得重担挑在自己双肩，再苦再难，还是一如既往的支持我，无论是我选择入职还是选择继续读研。因为有了您们的爱与支持，我才能一路无忧，能追逐自己的职业梦想，感谢一路有你们，我会更加努力成为你们的骄傲！

## 作者简介

马清玉，男，出生于1997年1月，籍贯：甘肃省临夏州。2015年毕业于甘肃中医药大学，获得医学学士学位。2021年9月起在新疆维吾尔自治区人民医院内科基地进行住院医师规范化培训及学习。

在学期间发表的文章

1.马清玉，穆叶赛·尼加提.单核细胞/高密度脂蛋白比值对冠心病患者不良心血管事件预测价值的分析[J].临床医学进展,2023-10（13）：1670-1671.

2.马清玉，穆叶赛·尼加提.纤维蛋白原与红细胞计数比值对经皮冠状动脉介入治疗合并糖尿病的冠心病患者死亡的预测价值[J].新疆医学.

## 石河子大学硕士研究生学位论文 导师评阅表

研究生姓名	马清玉	学制	3年
专业	内科学	研究方向	心血管疾病
<p>学术评语:</p> <p>据统计我国心血管病患病率及死亡率仍处于升高阶段，心血管病的死亡率居于榜首。研究发现来自各种类型细胞的微粒(MPs)在动脉粥样硬化过程中起着重要作用。该论文着眼于研究AMI患者外周血内皮细胞微粒中的miR-126、P-选择素及E-选择素水平与AMI发生发展的关系。证明了AMI患者外周血EMPs中miR-126、P-选择素及E-选择素水平与AMI发生发展有关，并发现外周血EMPs中miR-126和P-选择素与AMI患者发生MACEs相关，外周血EMPs中的miR-126是AMI患者发生MACEs的保护因素，外周血EMPs中的P-选择素是AMI患者发生MACEs的危险因素。</p> <p>该课题有一定的创新性，课题设计选择的研究方法恰当，设计较为新颖，研究步骤和过程符合科学规范，研究内容的有一定的难度和深度。论文取得的结果和结论对临床有具有较好的应用价值，有一定社会效益。论文的论点明确，论据充足，论文结构合理，逻辑性强，表达准确，写作规范。该生在课题实施过程中以认真，钻研，严谨的态度对待，实施过程中遇到问题时积极思考，勤于寻找解决方法，及时吸纳新知识，顺利的完成课题。</p> <p>同意该生进行硕士学位论文答辩和硕士学位申请。</p> <div style="text-align: right; margin-top: 20px;">                 指导教师签字: <i>批阅-批阅</i>                  2024年05月12日             </div>			