

· 临床论著 ·

循环 microRNA 在急性冠脉综合征血瘀证轻重判别及预后评估中的意义

贾敏¹ 蒋跃绒¹ 苗阳¹ 赵福海¹ 王韶屏² 许振业² 马彩云³ 史大卓¹ 陈可冀¹

摘要 目的 研究循环 microRNA 在急性冠脉综合征(ACS)血瘀证轻重判别、预后评估中的作用和意义。
方法 将 60 例 ACS 患者按血瘀证计分标准分为 ACS 血瘀轻证组(31 例)和血瘀重证组(29 例),另选 30 例健康志愿者为健康对照组。采用荧光定量 qRT-PCR 技术,比较各组 4 种循环 microRNA(miR-208a-3p、miR-222-3p、miR-16、miR-198)表达水平及患者全球急性冠脉事件注册(GRACE)危险分层有无差异,并对 microRNA 表达水平、血瘀证计分与患者全因死亡 GRACE 预测积分进行相关性分析。**结果** 与健康对照组比较,血瘀轻证组和血瘀重证组 miR-208a-3p 相对表达量上调,血瘀重证组 miR-222-3p 相对表达量下调、miR-198 相对表达量上调(均 $P < 0.05$);与血瘀轻证组比较,血瘀重证组 miR-222-3p 相对表达量下调($P < 0.05$)。血瘀轻证和重证组 6 个月全因死亡 GRACE 危险分层比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。4 种循环 microRNA 的表达水平与患者全因死亡 GRACE 预测积分无明显相关性;在院全因死亡 GRACE 预测积分、6 个月全因死亡 GRACE 预测积分与血瘀证计分呈正相关($r = 0.31, 0.33, P < 0.05$)。**结论** miR-208a-3p 可作为 ACS 血瘀证与健康志愿者的判别,但不能用于判别血瘀证轻重。miR-222-3p、miR-198 可能在协助判别血瘀证轻重方面具有一定意义。血瘀证计分越高,则 GRACE 预测积分越高,预后越差。

关键词 急性冠脉综合征;血瘀轻证;血瘀重证;微小 RNA;预后评估

Significance of Circulating microRNAs in the Severity Discrimination and Prognosis Evaluation of Acute Coronary Syndrome Patients with Blood Stasis Syndrome JIA Min¹, JIANG Yue-rong¹, MIAO Yang¹, ZHAO Fu-hai¹, WANG Shao-ping², XU Zhen-ye², MA Cai-yun³, SHI Da-zhuo¹, and CHEN Ke-ji¹ 1 Cardiovascular Disease Center, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing(100091); 2 Cardiology Department, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing(100029); 3 Cardiology Department, Beijing Aviation General Hospital, Beijing(100016)

ABSTRACT Objective To study the role of circulating microRNAs in discriminating the severity of blood stasis syndrome (BSS) and evaluating prognosis in acute coronary syndrome(ACS) patients. **Methods** Totally sixty patients with ACS were assigned to the mild BSS group (31 cases) and the severe BSS group (29 cases) according to the BSS scoring standard, and 30 subjects were recruited in a healthy control group. The expression of four kinds of microRNAs (miR-208a-3p, miR-222-3p, miR-16, miR-198) were determined by Fluorescent quantitative PCR. Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE) risk stratification was assessed. The correlation analysis of microRNA expression level, BSS scoring and GRACE score were performed. **Results** Compared with the healthy control group, the relative expression of miR-208a-3p in both mild and severe BSS groups were up-regulated, the relative expression of miR-222-3p in the severe BSS group was down-regulated, while the relative expression of miR-198 in the severe BSS group was up-regulated (all $P < 0.05$). Compared with the mild BSS group,

基金项目:国家自然科学基金面上项目(No. 81373822);中国中医科学院院本级项目(No. ZZ0708096);国家重点基础研究发展计划(973 计划)(No. 2015CB554404)

作者单位:1.中国中医科学院西苑医院心血管中心(北京 100091);2.首都医科大学附属北京安贞医院心内科(北京 100029);3.北京航空总医院心内科(北京 100016)

通讯作者:蒋跃绒, Tel: 010-62835342, E-mail: jiang_yuerong@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20171115.366

the relative expression of miR-222-3p in severe BSS group was down-regulated ($P < 0.05$). There was significant difference at GRACE risk stratification for 6 months all-cause mortality between the mild and severe BSS group ($P < 0.05$). There was no significant correlation between 4 kinds of microRNAs expression and GRACE score. While the blood stasis score was significantly relevant with the GRACE score for in-hospital all-cause mortality and 6 months all-cause mortality respectively ($r = 0.31, 0.33, P < 0.05$).
Conclusions MiR-208a-3p could be used as the distinction between ACS patients with BSS and healthy volunteers, but fail to distinguish the severity of BSS. MiR-222-3p and miR-198 might help to distinguish the severity of BSS. The higher blood stasis score, the higher GRACE score, and the poorer prognosis.

KEYWORDS acute coronary syndrome; mild blood stasis syndrome; severe blood stasis syndrome; microRNA; prognosis evaluation

现代中医学将急性冠脉综合征(acute coronary syndrome, ACS)归属“胸痹”、“真心痛”等病的范畴,心脉痹阻是该病的主要病机,血瘀贯穿于疾病发生发展的整个过程。基于此,陈可冀院士首先倡导活血化瘀治疗冠心病等疾病,提高了临床疗效^[1]。临证将活血化瘀药物按作用强弱分为 3 类:和血药、活血药及破血药。血瘀轻者,用破血逐瘀之品,容易耗伤人体正气,有伤血动血之弊。血瘀重者,单用和血、活血之品,恐药力不足,瘀血除之不尽^[2]。故临床用药时当先辨别血瘀轻重,但临床中医师在四诊合参基础上,根据理论知识及个人经验进行轻重鉴别,具有一定的主观性和不可重复性,因此进行血瘀轻重证的客观化研究尤为重要。

microRNAs 是一种小片段(大小约 19~24 个碱基)、内源性、进化上高度保守的单链小分子 RNA^[3],主要功能是通过碱基配对的方式识别靶基因(mRNA),干预其翻译过程,从而阻止或改变蛋白质产物的产生,导致靶基因水平的下降。microRNA 作为系统生物学中功能基因组学一部分,具有时效性、整体性等特点,与中医学的整体观念、恒动观不谋而合。近年来,关于 microRNA 与血瘀证的相关性研究已有初步探索,何铃等^[4]采用高通量测序法筛选出了与高血压病血瘀证相关的特异性 microRNA。Wang J 等^[5]采用基因芯片技术研究冠心病不稳定性心绞痛血瘀证和非血瘀证患者差异性基因表达谱,也发现了差异性表达的 microRNA。本研究以 ACS 血瘀证患者为研究对象,结合文献报道,进一步研究循环血浆 miR-208a、miR-222、miR-16、miR-198 在 ACS 血瘀证轻重判别及预后评估中的潜在价值。

资料与方法

1 诊断标准

1.1 ACS 诊断标准 参照 2012 年公布的《非 ST

段抬高急性冠脉综合征诊断和治疗指南》^[6]及 2015 年公布的《急性 ST 段抬高型心肌梗死诊断与治疗指南》^[7]。

1.2 血瘀证诊断及轻重量化标准 冠心病血瘀证辨证标准参照《冠心病血瘀证诊断标准》^[8]。血瘀证轻重计分标准参照《实用血瘀证学》^[9],按纳入指标的比例计算后,32 分及以上者为血瘀重证,13~31 分者为血瘀轻证。

2 纳入标准 (1)符合不稳定性心绞痛或急性心肌梗死诊断标准;(2)近期冠状动脉造影证实冠状动脉有显著狭窄($\geq 50\%$);(3)中医辨证属血瘀证(包括气虚血瘀等复合证型);(4)年龄 35~75 岁;(5)签署知情同意书。

3 排除标准 严重感染者;自身免疫性疾病者;心功能不全者($EF < 35\%$)、未控制的 3 级高血压患者、严重瓣膜性心脏病者;1 型糖尿病患者;合并严重肝、肾、造血系统、神经系统等原发性疾病及精神疾病、恶性肿瘤患者;参加其他临床试验的患者;妊娠期或哺乳期女性。健康志愿者的排除标准:正在参加临床药物试验者。

4 一般资料 60 例患者均来源于 2015 年 6 月—2016 年 2 月因 ACS 就诊于首都医科大学安贞医院心血管科住院的患者。其中血瘀轻证 31 例,血瘀重证 29 例。招募 30 名同期于中国中医科学院西苑医院经体检确定为健康的志愿者为对照组,年龄 35~75 岁,否认高血压病、糖尿病、冠心病等病史,无精神或重大躯体疾病,血、尿、便常规,肝肾功、血脂、血糖、心电图等各项理化指标检查正常。健康对照组与 ACS 血瘀轻证和重证组在年龄、性别、体重指数(body mass index, BMI)方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。ACS 血瘀轻证和重证两组在冠心病病程、合并病(高血压病、糖尿病、血脂代谢异常)、吸烟史、饮酒史、ACS 类型方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。本研究经中国中医科学院西苑医院医学伦理委员会批准,批件号:2015XL032-2。

表 1 各组一般资料比较

项目	ACS 血瘀轻证组 (31 例)	ACS 血瘀重证组 (29 例)	健康对照组 (30 例)
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	58.45 \pm 7.89	59.62 \pm 8.71	56.73 \pm 6.00
男女(例)	20/11	16/13	12/18
BMI(kg/m ²)	25.59 \pm 2.56	26.90 \pm 2.90	26.07 \pm 2.62
冠心病病程[月, M(IQR)]	12.00(34.00)	12.00(52.50)	—
合并病[例(%)]			
高血压病	21(67.74)	20(68.96)	—
糖尿病	9(29.03)	13(44.82)	—
血脂代谢异常	13(41.93)	15(51.72)	—
不良嗜好[例(%)]			
吸烟	19(61.29)	25(86.20)	—
饮酒	18(58.06)	21(72.41)	—
ACS 类型(例)			
不稳定性心绞痛	29	27	
非 ST 段抬高型心肌梗死	1	1	
ST 段抬高型心肌梗死	1	1	

5 标本的采集与保存 患者在入组后次日清晨空腹抽取肘静脉血 2 mL, 置于真空采血管(EDTA-K3 抗凝管)中。健康志愿者于无菌条件下采集清晨空腹血 5 mL, 其中 3 mL 用于肝肾功能、血糖、血脂、血常规检测, 2 mL 置于上述的真空采血管中。样品经 4 °C, 3 000 r/min 离心 15 min, 取血浆, 每 500 μ L 分装至无核糖核酸酶的 EP 管中, -80 °C 冰箱储存, 用于 microRNA 检测。

6 循环 miR-208a-3p、miR-222-3p、miR-16、miR-198 的检测 采用荧光定量 qRT-PCR 技术进行检测, 具体过程为: 依据 miRBASE (<http://www.mirbase.org/>) 数据库 4 种 microRNA 的序列, 设计特异性 PCR 扩增引物; 采用 Qiagen 公司的血清试剂盒, 对血浆总 RNA 进行提取; 利用 NanoDrop 2 000 分光光度计(Thermo Scientific, USA) 测定浓度及 OD260/OD280; 配制逆转录反应体系, 利用 miScript II Reverse Transcription Kit 将待测 RNA 逆转录成 cDNA。利用 SYBR Green I Master 试剂盒在 LightCycler 480 II 型荧光定量 PCR 仪上进行荧光定量 PCR 检测。具体过程: 配制 PCR 反应体系; 预变性: 95 °C 10 min; 高温变性: 95 °C 下 10 s; 低温退火与延伸: 60 °C 下 30 s; 高温变性、低温退火与延伸进行 40 个循环; 从 60 °C 缓慢升温至 97 °C, 每摄氏度

采集 5 次荧光信号。记录测定达到所设定的阈值时所经历的循环数即 ct 值; 利用熔解曲线检测引物的特异性。表达量的计算采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法^[10]。 $\Delta Ct = Ct_{目的基因} - Ct_{内参基因}$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{实验组样品} - \Delta Ct_{对照组样品}$, 相对表达量 = $2^{-\Delta\Delta Ct} = 2^{-(\Delta Ct_{实验组样品} - \Delta Ct_{对照组样品})} = 2^{-\Delta Ct_{实验组样品}} / 2^{-\Delta Ct_{对照组样品}}$ 。具体计算时以对照组表达量为 1, 则比值即为实验组的相对表达量。

7 GRACE 预测积分 使用全球急性冠脉事件注册(Global Registry of Acute Coronary Events, GRACE)^[11] ACS Risk Model 计算器计算患者在院全因死亡 GRACE 预测积分、6 个月全因死亡 GRACE 预测积分, 将所得积分参照 GRACE 危险分层得出患者所属的危险级别。

8 主要不良心脏事件 于入组后 3、6 个月进行门诊或电话随访, 记录有无主要不良心脏事件(major adverse cardiovascular events, MACE), 包括非致死性心肌梗死、再次血运重建、全因性死亡及不稳定性心绞痛的发生。

9 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。计量资料符合正态分布者, 采用 $\bar{x} \pm s$ 描述; 两组间比较采用 *t* 检验; 多组间比较采用方差分析。不符合正态分布者, 多组间的比较采用非参数 *K-W* 检验; 两组间的比较采用秩和检验。计数资料的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。两组计量资料进行相关性分析时, 符合正态分布者, 采用 *Pearson* 秩相关系数 *r* 来说明两者相关程度及相关方向; 不满足正态分布者, 采用 *Spearman* 秩相关系数说明两者相关的密切程度及相关方向。

结 果

1 各组人群循环 miR-208a-3p、miR-222-3p、miR-16 及 miR-198 相对表达水平比较(表 2, 图 1) 与健康对照组比较, 血瘀轻证组和血瘀重证组 miR-208a-3p 相对表达量上调, 血瘀重证组 miR-222-3p 相对表达量下调和 miR-198 相对表达量上调(均 $P < 0.05$); 与血瘀轻证组比较, 血瘀重证组 miR-222-3p 相对表达量下调($P < 0.05$), 血瘀重证组 miR-198 有进一步上调趋势($P = 0.07$)。

表 2 各组人群 miR-208a-3p、miR-222-3p、miR-16 及 miR-198 相对表达水平比较 ($2^{-\Delta Ct}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	miR-208a-3p	miR-222-3p	miR-16	miR-198
健康对照	30	1.00 \pm 0.03	1.00 \pm 0.49	1.00 \pm 0.05	1.00 \pm 0.10
血瘀轻证	31	11.72 \pm 0.17*	0.54 \pm 0.34	0.98 \pm 0.10	1.54 \pm 0.06
血瘀重证	29	11.25 \pm 0.28*	0.38 \pm 0.09 [△]	0.85 \pm 0.11	2.19 \pm 0.31*

注: 与健康对照组比较, * $P < 0.05$; 与血瘀轻证组比较, $\Delta P < 0.05$

2 ACS 血瘀轻证和血瘀重证组 GRACE 危险分层比较(表 3) 与血瘀轻证组比较,血瘀重证组在院全因死亡 GRACE 危险分层方面差异无统计学意义($P=0.144$),6 个月全因死亡 GRACE 危险分层方面,差异有统计学意义($P=0.023$)。血瘀轻证组低危所占比例最高为 80.65% (25/31),中危为 16.12% (5/31);血瘀重证组低危和中危所占比例分别为 51.72% (15/29) 和 44.83% (13/29)。

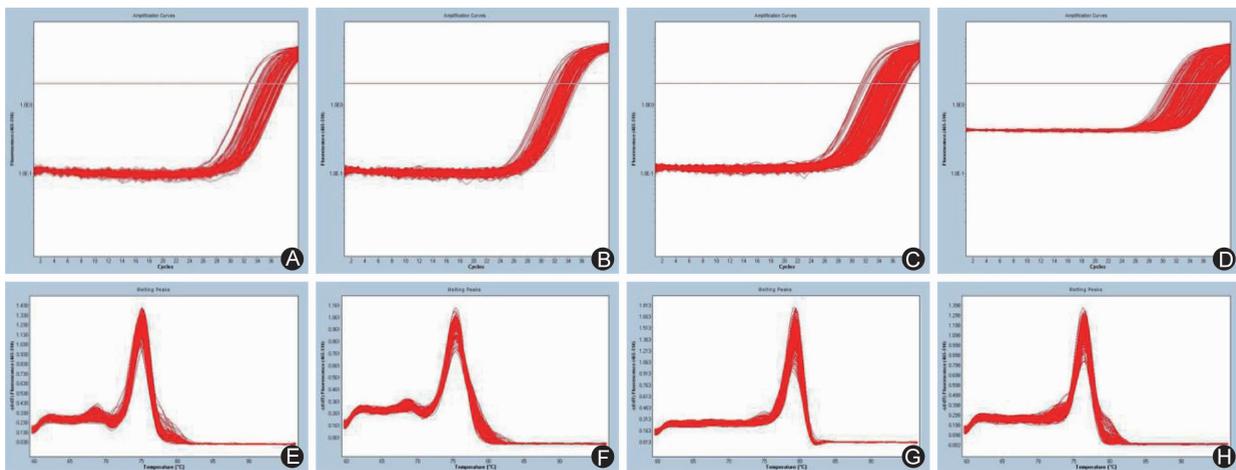
表 3 GRACE 危险分层比较 (例)

证型	例数	在院全因死亡 GRACE 危险分层			6 个月全因死亡 GRACE 危险分层		
		低危	中危	高危	低危	中危	高危
血瘀轻证	31	22	8	1	25	5	1
血瘀重证	29	15	13	1	15*	13*	1

注:与血瘀轻证组比较,* $P < 0.05$

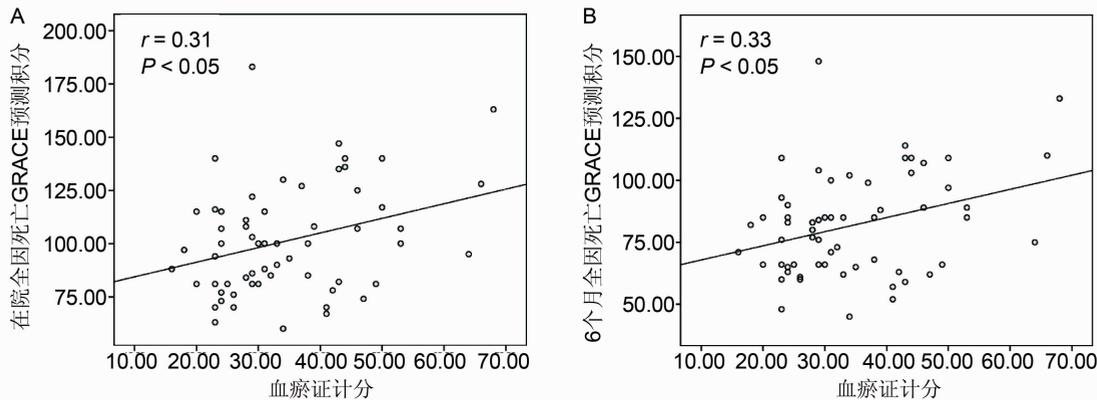
3 相关性分析(图 2) 在院全因死亡和 6 个月全因死亡 GRACE 预测积分与 4 种 microRNA 的相关性分析显示:在院全因死亡和 6 个月全因死亡 GRACE 预测积分与 4 种 microRNA 相对表达量均无明显相关性($r = 0.11、0.14、-0.09、-0.05、-0.04、0.09、-0.17、-0.07,P > 0.05$)。血瘀证计分与 GRACE 预测积分的相关性分析显示:在院全因死亡 GRACE 预测积分、6 个月全因死亡 GRACE 预测积分与血瘀证计分呈正相关($r = 0.31、0.33, P < 0.05$)。

4 MACE 的发生情况 两组均无失访病例,3 个月随访时,血瘀轻证组和重证组均各有 1 例患者行再次血运重建,1 例患者因不稳定性心绞痛入院,两组比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.00, P = 1.00$)。6 个月随访时,血瘀轻证组有 1 例患者,重证组有 3 例患者因不稳定性心绞痛入院,两组比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.34, P = 0.35$)。



注:A 为 miR-208a-3p 的扩增曲线;B 为 miR-222-3p 的扩增曲线;C 为 miR-16 扩增曲线;D 为 miR-198 的扩增曲线;E 为 miR-208a-3p 的熔解曲线;F 为 miR-222-3p 的熔解曲线;G 为 miR-16 的熔解曲线;H 为 miR-198 熔解曲线

图 1 4 种循环 microRNAs 的扩增曲线和熔解曲线



注:A 为血瘀证计分与在院全因死亡 GRACE 预测积分的相关性分析;B 为血瘀证计分与 6 个月全因死亡 GRACE 预测积分的相关性分析

图 2 血瘀证计分与全因死亡 GRACE 预测积分的相关性分析图

讨 论

miR-208a-3p 是心肌富集的 microRNA 之一, 仅存于心肌细胞中, 故有高度的特异性^[12]。cTnI 是目前诊断心肌梗死的最特异最敏感的标志物之一^[13]。近年来研究发现, ACS 患者中 miR-208a-3p 表达水平明显升高, 且与 cTnI 比较, 能更早期快速的诊断 ACS^[14]。Widera C 等^[15]证实 ACS 患者包括心肌梗死患者或不稳定心绞痛患者均会出现因心肌损伤导致的 miR-208a-3p 表达水平增加, 且两者表达水平无明显差异, 可用于鉴别心源性胸痛和非心源性胸痛。本研究亦证实, ACS 患者存在该基因表达水平的明显上调。虽然轻证和重证组的相对表达量无差异, 但血瘀轻证组和重证组 miR-208a-3p 较之健康志愿者均出现表达水平的明显升高, 该指标今后可能用于指导鉴别 ACS 血瘀证与健康者。

有研究发现 miR-222-3p 参与了动脉粥样硬化进程, 其靶基因为 PGC-1, 它们通过抑制该因子 mRNA 的表达来减少体内过氧化物酶增殖物激活受体 γ 激活蛋白-1 α (PGC-1 α) 的产生, 而 PGC-1 α 是心血管系统重要的保护因子, 可以增加抗氧化系统对血管内膜的保护^[16-18]。本研究结果发现血瘀重证组 miR-222-3p 表达较健康对照组和血瘀轻证组明显下调, 提示该指标可能用于协助判别血瘀轻证和重证, 也提示血瘀轻证和重证可能存在动脉粥样硬化严重程度的区别。

microRNA 在调节斑块稳定性中有重要作用。如有研究发现, 较之钙化斑块组, 非钙化斑块组 miR-16 表达上调。RECR (reversion-inducing-cysteine-rich protein with kazal motifs) 是 miR-16 的靶点, RECK 是 MMPs 的抑制剂。MMPs 分泌增加可以使纤维帽变薄, 进而导致斑块破裂出血^[19-21]。miR-16 过表达通过抑制巨噬细胞中的 RECK 基因来促进 MMPs 的分泌, 导致斑块的破裂及出血^[22]。本研究中血瘀轻证与血瘀重证组 miR-16 表达与健康对照组比较, 差异无统计学意义, 提示该指标尚不能用于血瘀证轻重的判别。

关于 miR-198 在心血管领域中的作用, 目前的研究比较少, 仅 Hoekstra M 等^[23]在外周血单核细胞中进行检测时, 发现不稳定性心绞痛患者组 miR-198 相对表达量为稳定性心绞痛患者组 12 倍。指出该指标可用于心绞痛的分型。本研究发现血瘀重证组 miR-198 较血瘀轻证组和健康对照组上调, 提示 miR-198 可用于血瘀轻重证的判别。

GRACE 评分是 ACS 患者住院死亡率及出院后

6 个月死亡率的强预测因子^[11]。本研究发现, ACS 血瘀轻证患者 6 个月全因死亡 GRACE 危险分层以低危为主, 重证患者较之轻证患者, 低危组比例明显下降, 而中危组比例明显增加。提示重证患者预后更差。相关性分析显示 GRACE 预测积分与 4 种 microRNA 相对表达量无明显相关性, 提示单凭单一某种 microRNA 相对表达量尚不能评估 ACS 患者预后的评估。但本研究发现血瘀证积分与 GRACE 预测积分呈正相关, 随着血瘀证积分的增高, 患者在院全因死亡 GRACE 预测积分、6 个月全因死亡 GRACE 预测积分亦增高。这与中医学的疾病预后观一致。既往研究亦指出血瘀证积分越高, 预后越差, 出现心血管事件的可能性越大。如焦阳等^[24]采用前瞻性队列研究设计对稳定性心绞痛患者进行 1 年的随访, 发现血瘀证积分方面, 再发事件组较未发事件组高。说明血瘀程度越重, 再发心血管事件的可能性越大。

综上, 本研究发现循环 miR-222-3p、miR-198 等 microRNAs 可能用于 ACS 患者血瘀轻重的识别, 同时发现血瘀程度越重, 预后越差。该研究对识别参与 ACS 血瘀证发病过程的候选 MicroRNA, 发现新的可能的诊断标识和预后评估指标, 指导血瘀证这一复杂病理状态的防治等均具有一定的探索意义。需要指出的是, 本研究存在样本量偏少的不足, 今后研究中将进一步扩大样本量, 以增强论证强度。

利益冲突: 无。

参 考 文 献

- [1] 陈士奎. 我国开创的中西医结合科研及其启示 (一)——著名中西医结合医学家陈可冀院士与血瘀证及活血化瘀研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(9): 1029-1031.
- [2] 陈可冀, 李连达, 翁维良. 血瘀证与活血化瘀研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2005, 3(1): 1-2.
- [3] Bhaskaran M, Mohan M. MicroRNAs: history, biogenesis, and their evolving role in animal development and disease[J]. Vet Pathol, 2014, 51(4): 759-774.
- [4] 何铃, 方梅霞, 陈利国, 等. 高血压病血瘀证相关 microRNA 的筛选[J]. 中国病理生理杂志, 2015, 31(5): 817-822.
- [5] Wang J, Yu G. A systems biology approach to characterize biomarkers for blood stasis syndrome of unstable angina patients by integrating microRNA and messenger RNA expression profiling[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013, 2013: 510208. doi: 10.1155/2013/510208.

- [6] 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. 非 ST 段抬高急性冠状动脉综合征诊断和治疗指南 [J]. 中华心血管病杂志, 2012, 40(5): 353-367.
- [7] 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, 2015, 43(5): 380-393.
- [8] 付长庚, 高铸焯, 王培利, 等. 冠心病血瘀证诊断标准研究 [J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(9): 1285-1286.
- [9] 史载祥, 陈可冀主编. 实用血瘀证学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1999: 17-23.
- [10] Benes V, Castoldi M. Expression profiling of microRNA using real-time quantitative PCR, how to use it and what is available [J]. *Methods*, 2010, 50(4): 244-249.
- [11] Gray HH, Henderson RA. The grace score's performance in predicting in-hospital and 1-year outcome [J]. *Heart*, 2011, 97(18): 1461-1462.
- [12] van Rooij E, Quat D, Johnson BA, et al. A family of microRNAs encoded by myosin genes governs myosin expression and muscle performance [J]. *Dev Cell*, 2009, 17(5): 662-673.
- [13] Vasan RS. Biomarkers of cardiovascular disease: molecular basis and practical considerations [J]. *Circulation*, 2006, 113(19): 2335-2362.
- [14] Oyunbileg O, 李广平, 王兴华, 等. 循环 microRNA208a 和 208b 在急性心肌梗死早期诊断中的价值 [J]. 中国心血管杂志, 2015, 20(1): 13-17.
- [15] Widera C, Gupta SK, Lorenzen JM, et al. Diagnostic and prognostic impact of six circulating microRNAs in acute coronary syndrome [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 51(5): 872-875.
- [16] Szmítko PE, Wang CH, Weisel RD, et al. New markers of inflammation and endothelial cell activation: part I [J]. *Circulation*, 2003, 108(16): 1917-1923.
- [17] Xue Y, Wei Z, Ding H, et al. MicroRNA-19b/221/222 induces endothelial cell dysfunction via suppression of PGC-1 α in the progression of atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 2015, 241(2): 671-681.
- [18] Zhang X, Shao S, Geng H, et al. Expression profiles of six circulating microRNAs critical to atherosclerosis in patients with subclinical hypothyroidism: a clinical study [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014, 99(5): E766-774.
- [19] Galis ZS, Sukhova GK, Lark MW, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques [J]. *J Clin Invest*, 1994, 94(6): 2493-2503.
- [20] Dimmeler S, Zeiher AM. Circulating microRNAs: novel biomarkers for cardiovascular diseases? [J]. *Eur Heart J*, 2010, 31(22): 2705-2707.
- [21] 范雪松. 循环 microRNA 作为冠脉不稳定斑块生物标志物及其机制的研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2015.
- [22] Small EM, Frost RJ, Olson EN. MicroRNAs add a new dimension to cardiovascular disease [J]. *Circulation*, 2010, 121(8): 1022-1032.
- [23] Hoekstra M, van der Lans CA, Halvorsen B, et al. The peripheral blood mononuclear cell microRNA signature of coronary artery disease [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 394(3): 792-797.
- [24] 焦阳. 冠心病稳定期中医证候特点与再发心血管事件相关性研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.

(收稿: 2017-04-13 在线: 2017-12-29)

责任编辑: 白霞