

中图分类号: R446; R542.2+2 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2023)19-0114-05
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2023.19.024



急性心肌梗死患者血清 GRP78, HSP47, miR-126 表达与心功能的相关性*

赵丽, 高彦霞, 柏玲, 时雨, 杨妮, 李浴静

(西安交通大学第二附属医院, 陕西 西安 710004)

摘要:目的 探讨急性心肌梗死患者血清葡萄糖调节蛋白 78(GRP78)、热休克蛋白 47(HSP47)、微小 RNA-126(miR-126)表达与心功能的相关性。方法 选取医院 2021 年 6 月至 2022 年 6 月收治的急性心肌梗死患者 80 例为观察组,另选取同期健康体检者 50 例为对照组。采用酶联免疫吸附试验检测血清 GRP78 和 HSP47 水平及心肌肌钙蛋白 I(cTnI)、肌酸激酶 MB 型同工酶(CK-MB)水平,采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测 miR-126 表达水平,采用超声心动图测定左心室射血分数(LVEF)。采用 Pearson 相关系数法进行相关性分析,根据全球急性冠状动脉事件注册研究(GRACE)评分将观察组患者分为高危组(12 例)、中危组(31 例)、低危组(37 例),建立受试者操作特征(ROC)曲线,评价 GRP78, HSP47, miR-126 鉴别高危分层的诊断价值。结果 观察组患者血清 cTnI 和 CK-MB 水平均显著高于对照组($P < 0.05$),LVEF 显著低于对照组($P < 0.05$)。观察组患者血清 GRP78 和 HSP47 水平均显著高于对照组($P < 0.05$),且低危组、中危组、高危组呈持续上升趋势($P < 0.05$);miR-126 相对表达显著低于对照组($P < 0.05$),且低危组、中危组、高危组呈持续下降趋势($P < 0.05$)。GRP78, HSP47 与 cTnI, CK-MB 均呈正相关($P < 0.05$),与 LVEF 均呈负相关($P < 0.05$);miR-126 与 cTnI, CK-MB 均呈负相关($P < 0.05$),与 LVEF 呈正相关($P < 0.05$)。GRP78 诊断急性心肌梗死灵敏度为 50.00%,特异度为 98.50%;HSP47 灵敏度为 91.70%,特异度为 64.70%;miR-126 灵敏度为 75.00%,特异度为 89.70%;GRP78, HSP47, miR-126 3 项联合预测的曲线下面积为 0.928($P < 0.05$)。结论 急性心肌梗死患者血清 GRP78 和 HSP47 存在异常高表达,miR-126 存在异常低表达,且 3 项指标与心功能有一定相关性,单独或联合分析时对临床鉴别患者的风险层级均有参考价值。

关键词:急性心肌梗死;葡萄糖调节蛋白 78;热休克蛋白 47;微小 RNA-126;心功能

Correlation Between the Expression of Serum GRP78, HSP47, miR-126 and Cardiac Function in Patients with Acute Myocardial Infarction

ZHAO Li, GAO Yanxia, BAI Ling, SHI Yu, YANG Ni, LI Yujing

(The Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, China 710004)

Abstract: Objective To investigate the correlation between the expression of serum glucose regulatory protein 78 (GRP78), heat shock protein 47 (HSP47), microRNA-126 (miR-126) and cardiac function in patients with acute myocardial infarction. **Methods** A total of 80 patients with acute myocardial infarction admitted to the hospital from June 2021 to June 2022 were selected as the observation group, and 50 healthy subjects during the same period were selected as the control group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect serum levels of GRP78 and HSP47, and the levels of cardiac troponin I (cTnI) and creatine kinase isoenzyme MB type (CK-MB). Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the expression level of miR-126, and echocardiography was used to measure left ventricular ejection fraction (LVEF). The Pearson correlation coefficient method was used for correlation analysis. Patients in the observation group were divided into high-risk group (12 cases), medium-risk group (31 cases), and low-risk group (37 cases) based on the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE) score. The receiver operating characteristic (ROC) curve was established and the diagnostic value of GRP78, HSP47, and miR-126 in distinguishing high-risk stratification was evaluated. **Results** The serum cTnI and CK-MB levels in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$), while the LVEF in the observation group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). The levels of serum GRP78 and HSP47 in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$), and those in the low-risk, medium-risk, and high-risk groups showed a continuous upward trend ($P < 0.05$). The relative expression of miR-126 in the observation group was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$), and those in the low-risk, medium-risk, and high-risk groups showed a continuous downward trend ($P < 0.05$). GRP78 and HSP47 were positively correlated with cTnI and CK-MB ($P < 0.05$), but negatively correlated with LVEF ($P < 0.05$). miR-126 was negatively correlated with cTnI and CK-MB ($P < 0.05$), but positively correlated with LVEF ($P < 0.05$). In diagnosing acute myocardial infarction, the sensitivity and

*基金项目:陕西省科技厅重点研发计划项目[2020SF-261]。

第一作者:赵丽,女,大学本科,主管护师,研究方向为临床护理学,(电子信箱)10835497@qq.com。

specificity of GRP78 were 50.00% and 98.50%, respectively; the sensitivity and specificity of HSP47 were 91.70% and 64.70%, respectively; the sensitivity and specificity of miR-126 were 75.00% and 89.70%, respectively. The area under the curve predicted by the combination of GRP78, HSP47, and miR-126 was 0.928 ($P < 0.05$). **Conclusion** Patients with acute myocardial infarction have abnormally high expression of serum GRP78 and HSP47, and abnormally low expression of miR-126. These three indicators have a certain correlation with cardiac function, and have a certain reference value for clinical differentiation of patient risk levels when analyzed separately or in combination.

Key words: acute myocardial infarction; glucose regulatory protein 78; heat shock protein 47; micro RNA-126; cardiac function

急性心肌梗死是一种冠状动脉急性阻塞导致心肌缺血坏死、心功能受损的病症^[1],致死率、致残率均较高。急性心肌梗死患者主要表现为超过30 min的心前区压榨性疼痛、憋闷,发病前数日多数患者会有乏力、胸部不适等症状,严重威胁患者的生命健康^[2]。故急性心肌梗死的早期诊断、评估与预测病前严重程度,以及实施风险分层对选择后续治疗方式十分重要。目前,临床评估急性心肌梗死病情与风险常用心肌肌钙蛋白I(cTnI),但结果多为假阳性。为保障临床诊断、治疗效果,需继续寻找与急性心肌梗死相关的生物标志物^[3-4]。有研究证实,内质网应激可介导心肌细胞、心肌组织的凋亡,加速心室重构。葡萄糖调节蛋白78(GRP78)、热休克蛋白47(HSP47)是急性心肌梗死导致的内质网应激相关蛋白,GRP78和HSP47可体现患者心肌梗死后内质网的应激情况^[5]。微小RNA(miRNA)是22nt左右的非编码RNA,在血管新生、损伤修复中有重要作用。微小RNA-126(miR-126)能靶向调控血管再生,促进血管成熟,可在急性心肌梗死发生、发展中起到一定作用^[6]。本研究中探讨了急性心肌梗死患者血清GRP78, HSP47, miR-126与心功能的相关性,以及对鉴别患者风险层级的诊断价值,以期为后续疾病的诊断与治疗提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

纳入标准:符合《急性心肌梗死诊断和治疗指南》中急性心肌梗死的诊断标准^[7];年龄大于18岁;入院后24 h内完成体征、心电图、实验室指标等检查,且检查结果清晰;含ST段抬高型心肌梗死、非ST段抬高型心肌梗死。本研究方案已获医院医学伦理委员会批准(伦理审批件号为2021035),患者及家属均签署知情同意书。

排除标准:合并恶性肿瘤、肝肾功能异常;合并免疫功能疾病,多器官衰竭;存在脑血管疾病;合并全身感染性疾病;急性心肌梗死发病史;入组前1个月内有开放性手术史或严重外伤史。

研究对象选择与分组:选取我院2021年6月至2022年6月收治的急性心肌梗死患者80例为观察组,同时选取参加医院体检的健康者50例为对照组。两组

研究对象一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。详见表1。

表1 两组研究对象一般资料比较

Tab. 1 Comparison of the subjects' general data between the two groups

组别	性别 (男/女,例)	年龄 ($\bar{X} \pm s$,岁)	并发症(例)		饮酒 (例)	吸烟 (例)
			糖尿病	高血压		
观察组($n=80$)	47/33	63.05 \pm 8.97	14	17	19	21
对照组($n=50$)	30/20	63.98 \pm 8.65	7	10	11	13
χ^2/t 值	0.020	-0.583	0.278	0.029	0.053	0.001
P 值	0.888	0.561	0.598	0.864	0.818	0.975

1.2 方法

HSP47和GRP78水平检测:于患者入院24 h内取静脉血4 mL,离心(转速为3 000 r/min)10 min,置-20℃环境中待测,采用酶联免疫吸附试验检测HSP47和GRP78水平。使用345-90328型酶标仪(北京平利洋医疗设备有限公司)进行检测,试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司,操作步骤按说明书进行。

miR-126检测:采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qRT-PCR)检测miR-126水平,取患者血清标本提取RNA,浓缩、洗涤、干燥后测RNA纯度、完整度,逆转录得到互补脱氧核糖核酸(cDNA),实施qRT-PCR,正、反引物由上海恒斐生物科技有限公司设计合成,采用2^{- $\Delta\Delta C_t$} 法计算血清中miR-126的相对表达。

心功能指标检测:于患者入院后12 h内完成超声心动图检查,获得左室射血分数(LVEF);采用酶联免疫吸附试验检测血清cTnI、肌酸激酶MB型同工酶(CK-MB)水平。使用345-90328型酶标仪(北京平利洋医疗设备有限公司)进行检测,试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司,操作步骤按说明书进行。

心肌梗死患者危险分层:于患者入院24 h内,采用全球急性冠状动脉事件注册研究(GRACE)评分^[8]对观察组患者进行危险分层,GRACE评分>140分、109~140分、 ≤ 108 分别对应高危组(12例)、中危组(31例)、低危组(37例)。

1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件分析。计数资料以率(%)表示,行 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,行 t 检验。采用

Pearson 相关系数法进行相关性分析,建立受试者操作特征曲线(简称 ROC 曲线),评估血清 HSP47, GRP78, miR - 126 水平鉴别急性心肌梗死患者高危分层的价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 GRP78, HSP47, miR - 126

与对照组比较,观察组患者的 GRP78 和 HSP47 水平均显著升高($P < 0.05$), miR - 126 相对表达显著降低($P < 0.05$)。详见表 2。

表 2 两组研究对象血清 GRP78, HSP47, miR - 126 比较($\bar{X} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of serum GRP78, HSP47, and miR - 126 between the two groups ($\bar{X} \pm s$)

组别	GRP78(ng / mL)	HSP47(ng / mL)	miR - 126
观察组($n = 80$)	1.95 ± 0.65	146.50 ± 24.14	20.05 ± 2.78
对照组($n = 50$)	0.45 ± 0.19	67.45 ± 18.64	35.64 ± 0.83
<i>t</i> 值	16.004	19.754	-38.519
<i>P</i> 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.2 LVEF, cTnI, CK - MB 水平

与对照组比较,观察组患者的 LVEF 显著降低($P < 0.05$),血清 cTnI 和 CK - MB 水平均显著升高($P < 0.05$)。详见表 3。

表 3 两组研究对象 LVEF, cTnI, CK - MB 水平比较($\bar{X} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of LVEF, cTnI, and CK - MB levels between the two groups ($\bar{X} \pm s$)

组别	LVEF(%)	cTnI($\mu\text{g} / \text{L}$)	CK - MB($\mu\text{g} / \text{L}$)
观察组($n = 80$)	37.32 ± 8.94	1.40 ± 0.69	6.80 ± 1.24
对照组($n = 50$)	62.31 ± 5.48	0.04 ± 0.01	2.06 ± 0.54
<i>t</i> 值	-17.775	13.917	25.537
<i>P</i> 值	< 0.001	< 0.001	< 0.001

2.3 LVEF, cTnI, CK - MB 与血清 GRP78, HSP47, miR - 126 的相关性分析

相关性分析结果显示,GRP78 与 cTnI 和 CK - MB 均呈正相关($P < 0.05$),与 LVEF 呈负相关($P < 0.05$); HSP47 与 cTnI 和 CK - MB 均呈正相关($P < 0.05$),与 LVEF 呈负相关($P < 0.05$); miR - 126 与 cTnI 和 CK - MB 均呈负相关($P < 0.05$),与 LVEF 呈正相关($P < 0.05$)。详见表 4。

表 6 GRP78, HSP47, miR - 126 诊断急性心肌梗死高危患者的预测价值

Tab. 6 Predictive value of GRP78, HSP47, and miR - 126 in the diagnosis of high - risk patients with acute myocardial infarction

变量	AUC	SE	<i>P</i> 值	渐近 95% CI		敏感度	特异度	临界值
				下限	上限			
GRP78	0.743	0.081	0.007	0.585	0.901	0.500	0.985	2.855
HSP47	0.808	0.080	0.001	0.651	0.964	0.917	0.647	145.000
miR - 126	0.897	0.044	0.000	0.811	0.983	0.750	0.897	17.935
联合	0.928	0.031	0.000	0.866	0.989	0.917	0.809	0.147

表 4 LVEF, cTnI, CK - MB 与血清 GRP78, HSP47, miR - 126 相关性分析

Tab. 4 Correlation analysis of LVEF, cTnI and CK - MB with serum GRP78, HSP47 and miR - 126

指标	LVEF		cTnI		CK - MB	
	<i>r</i>	<i>P</i> 值	<i>r</i>	<i>P</i> 值	<i>r</i>	<i>P</i> 值
GRP78	-0.620	0.000	0.646	0.000	0.782	0.000
HSP47	-0.692	0.000	0.656	0.000	0.809	0.000
miR - 126	0.825	0.000	-0.743	0.000	-0.867	0.000

2.4 不同危险分层患者 GRP78, HSP47, miR - 126

GRP78 和 HSP47 水平由低到高依次为低危组 < 中危组 < 高危组, miR - 126 相对表达由高到低依次为低危组 > 中危组 > 高危组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。详见表 5。

表 5 3 组患者血清 GRP78, HSP47, miR - 126 比较($\bar{X} \pm s$)

Tab. 5 Comparison of serum GRP78, HSP47, and miR - 126 among the three groups ($\bar{X} \pm s$)

组别	GRP78(ng / mL)	HSP47(ng / mL)	miR - 126
低危组($n = 37$)	1.70 ± 0.52	132.45 ± 17.04	22.41 ± 1.31
中危组($n = 31$)	2.07 ± 0.60 ^a	154.13 ± 20.46 ^a	18.57 ± 1.72 ^a
高危组($n = 12$)	2.44 ± 0.79 ^{ab}	170.14 ± 25.63 ^{ab}	16.59 ± 2.00 ^{ab}
<i>F</i> 值	7.922	20.135	82.786
<i>P</i> 值	0.001	< 0.001	< 0.001

注:与低危组比较,^a $P < 0.05$;与中危组比较,^b $P < 0.05$ 。

Note: Compared with those in the low - risk group, ^a $P < 0.05$; Compared with those in the medium - risk group, ^b $P < 0.05$.

2.5 ROC 曲线分析 GRP78, HSP47, miR - 126 在急性心肌梗死高危患者中的诊断价值

GRP78, HSP47, miR - 126 鉴别急性心肌梗死高危患者曲线下面积(AUC)分别为 0.743, 0.808, 0.897 ($P < 0.05$)。详见表 6 和图 1。采用 Logistic 回归分析,通过回归系数拟合上述 3 项指标联合数据的计算模型,ROC 曲线显示,3 项联合预测的 AUC 为 0.928,高于各指标单项检测结果,预测价值较高。

3 讨论

我国每 10 万城市人口急性心肌梗死病死人数为 58.69 人,略低于农村的 74.72 人^[9]。急性心肌梗死患者发病较急、预后较差,目前临床常用心肌肌钙蛋白等标

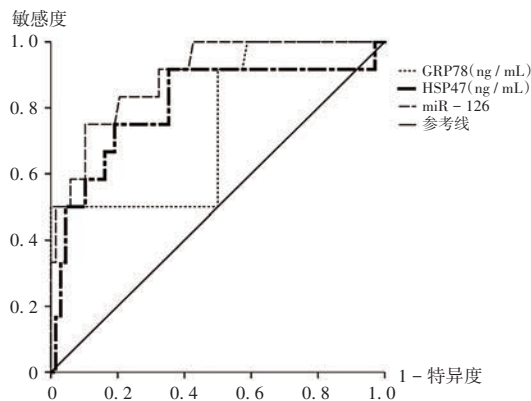


图1 GRP78,HSP47,miR-126诊断急性心肌梗死高危患者的ROC曲线

Fig. 1 ROC curves of GRP78,HSP47,and miR-126 in the diagnosis of high-risk patients with acute myocardial infarction

志物进行疾病的诊断与评估,但慢性冠状动脉疾病患者常出现假阳性结果。因此,进一步探索与急性心肌梗死病情发生、发展相关指标对后续治疗方式、靶点的选择具有临床意义。

据报道,内质网应激与缺血再灌注损伤有紧密联系,内质网应激介导的细胞凋亡通路可加重心肌再灌注损伤,从而影响急性心肌梗死患者预后^[10]。由于急性心肌梗死患者早期可造成心肌组织缺氧、缺血,产生大量氧自由基,破坏 Ca^{2+} 稳态,均能引发内质网功能障碍,由此导致内质网应激。当机体持续处于内质网应激状态时,细胞会在其影响下出现凋亡、死亡。GRP78是内质网应激过程中较关键的因子。饶兰兰等^[11]在研究前列腺素 E_1 通过抑制内质网应激保护心肌梗死模型大鼠的心脏时发现,心肌梗死模型大鼠GRP78水平显著升高,给予前列腺素 E_1 干预可抑制内质网应激且伴随GRP78下降,实现对胶原的增生与心肌功能的改善。本研究中观察组患者GRP78水平显著高于对照组,与LVEF,cTnI,CK-MB均有一定联系,且不同危险分层患者GRP78水平存在显著差异,表明GRP78可能参与了急性心肌梗死的发生与发展。

HSP47是一个与胶原特异性合成有关的伴侣分子。田倪妮等^[12]研究发现,健康者与急性心肌梗死患者的HSP47表达水平差异显著,且与病变血管数目有一定联系。本研究中观察组患者HSP47表达水平显著高于对照组,且与LVEF,cTnI,CK-MB均有一定联系,表明HSP47也可参与急性心肌梗死的发生与发展。推测原因,HSP47特异性底物为胶原,在胶原蛋白分泌细胞内质网中,HSP47能与胶原结合,参与胶原的装配、折叠等功能,病情越严重,HSP47表达水平越高。

miRNA在多种疾病诊断、评估中发挥了重要作用,尤其是对心血管疾病。miR-126主要在血管内皮细胞中

表达,能调节机体内皮细胞的增殖、迁移,维持功能稳定,抑制急性心肌梗死患者内皮细胞分泌的miR-126^[13-15]。本研究中观察组患者的miR-126相对表达显著低于对照组,且低危组、中危组、高危组患者的miR-126呈持续降低趋势,表明miR-126可通过调控血管稳态参与急性心肌梗死的发生与发展。

本研究结果显示,GRP78,HSP47,miR-126均与心肌梗死相关标志物LVEF,cTnI,CK-MB具有相关性,提示GRP78,HSP47,miR-126与心肌梗死的发生存在联系。ROC曲线分析结果显示,GRP78,HSP47,miR-126鉴别急性心肌梗死高危患者AUC分别为0.743,0.808,0.897,表明三者对临床鉴别疾病危险分层有一定参考价值。将上述3项指标纳入Logistic回归分析,通过回归系数拟合3项指标联合数据的计算模型,ROC曲线显示,3项联合预测的AUC为0.928,高于各指标单项检测结果,预测价值较高。

综上所述,急性心肌梗死患者血清GRP78和HSP47存在异常高表达,miR-126存在异常低表达,且3项指标与心功能均有一定相关性,单独或联合分析时对临床鉴别的患者风险层级有参考价值。

参考文献

- [1] PIZARRO G, IBÁÑEZ B. Post - Myocardial Infarction Risk Prediction: Does Ventricular Shape Matter? [J]. JACC Cardiovasc Imaging, 2022, 15(9): 1575 - 1577.
- [2] MERLO AC, ROSA GM, PORTO I. Pregnancy - related acute myocardial infarction: a review of the recent literature [J]. Clin Res Cardiol, 2022, 111(7): 723 - 731.
- [3] 冯惠平, 赵淑君, 张靖, 等. 和肽素联合高敏心肌钙蛋白I对心肌钙蛋白轻度增高的急性心肌梗死的早期诊断价值[J]. 中国医刊, 2022, 57(5): 502 - 504.
- [4] 杨淑娟, 梁锦荣, 李盘石, 等. 血清cTnI, hs-CRP, NT-pro BNP联合检测对急性心肌梗死的诊断价值[J]. 山东医药, 2020, 60(2): 75 - 77.
- [5] 翟丽, 杨月, 郭秀丽, 等. 内质网应激介导的细胞凋亡途径及新靶点药物[J]. 中国药理学杂志, 2008, 43(18): 1361 - 1364.
- [6] 赵月妍, 蒋海杰, 刘艳, 等. 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.
- [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, 《中国循环杂志》编辑委员会. 急性心肌梗死诊断和治疗指南[J]. 中华心血管病杂志, 2001, 29(12): 710 - 725.
- [8] 谭德敏, 谭孟源, 陈军, 等. 高敏肌钙蛋白I联合GRACE评分评估急性肺栓塞患者预后的价值[J]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27(5): 468 - 472.
- [9] HIOKI H, KOZUMA K, KOBAYASHI Y, et al. Wearable cardioverter - defibrillators after myocardial infarction: a review of