

血塞通对冠心病不稳定型心绞痛血瘀证患者 microRNA 的干预作用

王阶¹, 滕菲^{2*}, 刘咏梅¹, 陈光^{1,3}

(1. 中国中医科学院广安门医院, 北京 100053; 2. 首都医科大学附属北京中医医院, 北京 100010; 3. 北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] **目的:**观察血塞通(XST)治疗及干预冠心病不稳定型心绞痛血瘀证临床疗效及患者外周血 hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p, KIR3DS1, HLA-DPB1, TP53, SESN2, NCR1, PRF1 表达的影响, 阐述 XST 治疗冠心病血瘀证可能的分子机制。**方法:**选取心绞痛分级 I ~ III 级的冠心病不稳定型心绞痛血瘀证患者 80 例, 随机分为对照组和治疗组, 各 40 例。对照组给予常规西药治疗 + 安慰剂, 治疗组在常规西药治疗基础上加用血塞通软胶囊, 治疗 4 周。观察治疗前后患者缺血总负荷、西雅图心绞痛质量评分, 血流动力学和血脂指标变化, 评估 XST 治疗冠心病血瘀证的临床疗效。实时荧光定量聚合酶链反应(Real-time polymerase chain reaction, Real-time PCR)检测外周血 hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p, KIR3DS1, HLA-DPB1, TP53, SESN2, NCR1, PRF1 等基因表达变化。**结果:**治疗后与对照组比较, 治疗组缺血总负荷降低($P < 0.05$); 治疗后与对照组比较, 治疗组全血黏度、血浆黏度和红细胞刚性指数下降($P < 0.05$); 治疗后与对照组比较, 治疗组甘油三酯(TG), 总胆固醇(TC), 低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)降低($P < 0.05$); 治疗后与对照组比较, 治疗组 KIR3DS1, TP53, SESN2, PRF1 上调, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p 下调($P < 0.05$)**结论:**XST 可有效改善冠心病不稳定型心绞痛血瘀证患者症状, 其机制可能与调控 hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p 相关。

[关键词] 冠心病; 不稳定型心绞痛; 血瘀证; 微小 RNA

[中图分类号] R287; R759 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)19-0011-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017190011

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170711.1407.052.html>

[网络出版时间] 2017-07-11 14:07

Invention Effect of Xuesaitong for Coronary Heart Disease Unstable Angina with Blood Stasis and Relevant microRNA

WANG Jie¹, TENG Fei^{2*}, LIU Yong-mei¹, CHEN Guang^{1,3}

(1. Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China;
2. Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100010, China;
3. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the clinical efficacy of xuesaitong (XST) for coronary heart disease unstable angina with blood stasis, and investigate its effects on expression levels of hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p, KIR3DS1, HLA-DPB1, TP53, SESN2, NCR1, and PRF1 in peripheral blood and to elucidate the molecular mechanism of XST for the coronary heart disease with blood stasis. **Method:** The 80 patients with coronary heart disease unstable angina grade I - III with blood stasis were enrolled and randomly divided into

[收稿日期] 20170426(016)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81473561, 81673847)

[第一作者] 王阶, 博士, 主任医师, 教授, 博士生导师, 从事中西医结合心血管病防治研究, Tel: 010-88001229, E-mail: wangjie0103@126.com

[通讯作者] *滕菲, 博士, 主治医师, 从事中西医结合心血管病防治研究, Tel: 010-88001229, E-mail: echo-teng@126.com

treatment group and control group (40 cases in each group). The patients in control group received routine western medicine and placebo, while the patients in treatment group also received XST capsules on the basis of routine western medicine therapy. The treatment duration was 4 weeks for both groups. The levels of total ischemic burden, seattle quality score for angina pectoris, haemo-dynamics and blood lipid were observed before and after treatment to evaluate the clinical of XST capsules for coronary heart disease unstable angina with blood stasis. Besides, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p, KIR3DS1, HLA-DPB1, TP53, SESN2, NCR1, and PRF1 were validated by Real-time PCR. **Result:** As compared with control group, total ischemic burden, whole blood viscosity, plasma viscosity, red blood cell rigidity index, cholesterol (TC), triglyceride (TG), and low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) were decreased in treatment group ($P < 0.05$) after treatment; KIR3DS1, TP53, SESN2, PRF1 genes were up-regulated significantly while hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p levels were down-regulated in treatment group ($P < 0.05$). **Conclusion:** XST could ease the symptoms of patients with coronary heart disease unstable angina with blood stasis and the underlying mechanism might be associated with hsa-miR-199a-5p and hsa-miR-146b-5p.

[Key words] coronary heart disease; unstable angina; blood stasis; microRNA

冠心病是多因素、多靶点、多通路的复杂疾病,其发病机制涵盖多层次生物网络调控过程。血瘀证作为冠心病临床辨证中最常见的证型,前期已证实 hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p 是其特异性生物标志物,通过对抗原呈递和处理通路, p53 信号通路和 NK 细胞介导的细胞毒性作用通路进行调控从而实现对冠心病血瘀证的治疗作用^[1]。血塞通是临床治疗冠心病不稳定型心绞痛的常用活血化瘀中成药,具有成分确切,疗效显著等特点,其主要成分三七皂苷已被大量研究证实具有清除脂质过氧化物和氧自由基,扩张血管,改善血管内皮及抑制血小板聚集等功能,但其分子层面作用机制尚不明确,尤其是基因方面研究十分稀少。既往研究表明,血塞通可影响局灶性脑梗死模型 Nogo-A, B 淋巴细胞瘤-2 (Bcl-2), Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 的表达^[2-3], 也可影响痛风炎症因子细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 的表达^[4], 而血塞通在冠心病分子基因层面的研究仅涉及血塞通可调控急性心肌梗死后心肌重塑及转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)/Smads 通路^[5]。因此,从本团队既往研究基因转录后层面阐明冠心病血瘀证病证结合治疗理论的物质基础角度,通过血塞通干预观察临床疗效的同时检测其相应生物标志物的变化,探索血塞通分子基因层面的作用机制,从而进一步探索和寻找更精确的治疗靶点,以指导临床预测药物敏感性,实现基因分型论治,提高临床疗效。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 1 月—2013 年 7 月中国中医科学院广安门医院心血管内科住院患者,共纳入观察病例 86 例,采用简单随机法,计算机随机

化,将入选患者随机分为治疗组 and 对照组,各 43 例。研究过程中脱落及剔除患者 6 例,其中对照组 3 例,治疗组 3 例,实际 80 例完成临床观察。本研究经中国中医科学院广安门医院伦理委员会批准,批号 NCT01615003。两组治疗前年龄、性别、体重、身高、婚姻状况、心率、呼吸频率、和血压的比较无统计学意义,具有可比性。见表 1。

表 1 两组患者一般情况比较

Table 1 Comparison of general data of both groups

性别 组别 (男/女) /例	年龄 ($\bar{x} \pm s$) /岁	体重 ($\bar{x} \pm s$) /kg	收缩压 ($\bar{x} \pm s$) /mmHg	舒张压 ($\bar{x} \pm s$) /mmHg
对照 21/19	71.65 \pm 4.32	70.32 \pm 11.76	133.6 \pm 12.9	76.9 \pm 10.5
治疗 17/23	70.68 \pm 6.87	71.39 \pm 10.25	132.8 \pm 17.1	75.8 \pm 11.7

注:1 mmHg = 0.133 kPa。

1.2 诊断标准 西医诊断标准,符合冠心病西医诊断标准;不稳定型心绞痛西医诊断依据 2011 年美国心脏病学会 (ACC)/美国心脏协会 (AHA) 制定的《2007 年不稳定型心绞痛、非 ST 段抬高心肌梗死诊疗指南的更新》^[6] (经冠脉造影证实 1 支或 1 支以上冠脉支直径狭窄 $\geq 50\%$ 。常见的临床表现有以下 3 种情况,①静息时或夜间发生心绞痛常持续 20 min 以上;②新近发生的心绞痛 (病程在 2 个月以内) 且程度严重;③近期心绞痛逐渐加重 (包括发作的频度、持续时间、严重程度和疼痛放射到新的部位)。发作时原来可以缓解心绞痛的措施此时变得无效或不完全有效。伴有心电图 ST 段偏移和 (或) T 波倒置。心脏标志物一般无异常增高。入选患者在 24 h 之内有过心绞痛发作。

中医诊断标准,中医证候诊断符合血瘀证者,诊

断标准参考 1988 年制定的《血瘀证诊断标准的研究》^[7]中血瘀证诊断量表。见表 2。

表 2 血瘀证诊断标准积分

Table 2 Scale of blood stasis syndrome diagnosis

诊断条目	积分/分	诊断条目	积分/分
舌质紫暗	轻 8, 重 10	脘黏膜征阳性	轻 4, 重 5
少腹部抵抗压痛	轻 8, 重 10	肢体偏瘫	轻 5, 重 7
脉涩	10	精神异常	烦躁 4, 狂躁 8
黑便	10	皮肤粗糙	轻 4, 重 5
病理性肿块	10	全血黏度升高	10
舌下静脉曲张	轻 8, 重 10	血浆黏度升高	10
脉结代	8	体外血栓试验干重增加	10
无脉	10	体外血栓试验湿重增加	8
腹壁静脉曲张	10	血小板聚集性增高	10
皮下瘀血斑	轻 8, 重 10	血栓弹力异常	8
月经色黑有块	轻 8, 重 10	微循环障碍	10
持续心绞痛	10	血液动力学障碍	10
一般固定疼痛	8	纤溶活性降低	10
口唇齿龈暗红	6	血小板释放功能亢进	10
脉细	5	病理切片示血瘀	10
手足麻木	5	新显示血管阻塞	10
手术史	5		

注:判断标准 20 分以下为非瘀血症;20~49 分为轻度瘀血症;50 分以上为重度瘀血症。

1.3 纳入标准 符合冠心病不稳定型心绞痛西医诊断标准;中医证候诊断符合血瘀证者;年龄 30~75 岁;近 2 周内未使用溶栓、扩冠及活血化瘀药物;签署知情同意书。

1.4 排除标准 严重瓣膜性心脏病者;胰岛素依赖性糖尿病者;神经系统等原发性疾病及精神病者;合并严重呼吸系统、消化系统、泌尿系统、血液系统、脑血管或周围血管病变,自身免疫性疾病,肿瘤,2 周内严重创伤或感染性疾病者;合并严重肝、肾功能障碍者;近 1 个月内参加其他药物临床试验者;妊娠期或哺乳期妇女;对药物成分过敏者。

1.5 治疗方法 对照组给予西医常规治疗加服血塞通软胶囊安慰剂[昆明圣火药业(集团)有限公司,0.33 g/粒],0.66 g/次,2 次/d。治疗组在西药常规治疗基础上予血塞通软胶囊[昆明圣火药业(集团)有限公司,国药准字 Z19990022,0.33 g/粒],0.66 g/次,2 次/d。两组均观察 4 周,治疗期间心绞痛发作均可临时含服硝酸甘油片。

1.6 疗效评定标准 治疗前后检测缺血总负荷,评

定生活质量采用《西雅图心绞痛量表》^[8]行自测式或问答式评分。

1.7 观察指标及基因检测 实验室指标,治疗前后均检查血液流变学指标和血脂指标。冠心病血瘀证相关微小 RNA(micro ribonucleic acid, microRNA)的实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)标本检测,所有病例分别在收入 24 h 内及治疗 28 d 后,于清晨空腹抽取静脉血 5 mL,置于抗凝剂分离胶真空采集管中,将血液先保存于 4 ℃,6 h 之内分离外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),Real-time PCR 引物序列根据美国基因生物库提供基因核酸序列,选取 G+C 含量约 50% 的无发卡结构,相互间无同源序列两段特异性保守序列,由 primer premier 5.0 设计软件设计,由北京赛百盛公司合成。引物序列①hsa-miR-146b-5p(22 nt):上游 5'-ACACTCCAGCTGGGTGAGAAGTGAATTCCA-3';下游 5'-TGGTGTCTGGAGTCG-3';②has-miR-199a-5p(23 nt):上游 5'-ACACTCCAGCTGGGCCAGTGTTCAGACTAC-3';下游 5'-TGGTGTCTGGAGTCG-3';③U6(133 nt):上游 5'-CTCGCTTCGGCAGCACAC-3';下游 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3';④KIR3DS1(14 698 bp):上游 5'-ACACGTGACTCTTCGGTGTGTC-3';下游 5'-GCTCATGTTGAAGCCCTCCT-3';⑤HLA-DPB1(13 771 bp):上游 5'-TGATGCTGGAAATGACCC-3';下游 5'-CCAGCTCCCGTCAATGTCTT-3';⑥TP53(25 772 bp):上游 5'-TGTGACTTGCACGTACTCCC-3';下游 5'-ACCATCGCTATCTGAGCAGC-3';⑦SES2(23 040 bp):上游 5'-ATCCAGGCCTTGCTGAAGAC-3';下游 5'-GCCAAACACGAAGGAGGAGA-3';⑧NCR1(32 217 bp):上游 5'-CTAGGCCGGCAGAAATCTGAG-3';下游 5'-CGGTTTTGGGAGAGTCTGCT-3';⑨PRF1(5 428 bp):上游 5'-ACCTTCATCCAAGCATGGGG-3';下游 5'-TATTGTCCCACACGGTGCTC-3';⑩GAPDH(4 449 bp):上游 5'-CACCATCTTCCAGGAGCCGAG-3';下游 5'-AAATGAGCCCCAGCCTTCTC-3'。Real-time PCR 结果由荧光定量分析仪自动采集给出目的基因和内参基因的 C_t 值,参照文献将 C_t 转化为相对倍数,基因表达量采用试验组/对照组 = $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 进行计算其中 $\Delta\Delta C_t = (C_t \text{ 目的} - C_t \text{ 内参})_{\text{治疗组}} - (C_t \text{ 目的} - C_t \text{ 内参})_{\text{对照组}}$ 。

1.8 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计软件建立数据库进行统计。计量资料进行正态检验,对于符合正态分布或近似正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$

表示,不符合正态分布的计量资料采用四分位数表示。自身治疗前后比较时,行组内的配对 *t* 检验;两组组间比较时,行两个独立样本的 *t* 检验或 *t'* 检验。一般计数资料采用卡方检验,等级计数资料进行 *R* × *C* 表格的非参数检验。*P* < 0.05 为有统计学差异。

2 结果

2.1 两组患者治疗前后病例缺血总负荷比较 与治疗前比较,两组缺血总负荷均降低 (*P* < 0.05);治疗后与对照组比较,治疗组缺血总负荷降低 (*P* < 0.05)。见表 3。

表 3 两组患者缺血总负荷比较 ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

Table 3 Comparison of total ischemic burden between two groups ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

组别	时间	缺血总负荷		
		缺血总时间 /min	缺血发作次数 /次	缺血总负荷 /mm·min
对照	治疗前	26.43 ± 8.06	4.26 ± 1.02	61.12 ± 14.33
	治疗后	16.98 ± 3.64	2.23 ± 0.94	31.26 ± 12.64 ¹⁾
治疗	治疗前	25.78 ± 8.49	4.08 ± 0.97	59.49 ± 12.21
	治疗后	12.16 ± 2.78	1.52 ± 0.61	23.99 ± 10.07 ^{1,2)}

注:与本组治疗前比较¹⁾ *P* < 0.05;与对照组治疗后比较²⁾ *P* < 0.05(表 4~7 同)。

表 4 两组患者血液流变学变化比较 ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

Table 4 Comparison of haemo-dynamics between two groups ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

组别	时间	全血黏度/mPa·s		纤维蛋白原/g·L ⁻¹	血沉 /mm·h ⁻¹	红细胞刚性指数	红细胞聚集指数	红细胞压积/%	
		低切	高切						
对照	治疗前	18.21 ± 3.64	7.29 ± 2.01	1.93 ± 0.32	3.67 ± 0.58	17.96 ± 7.81	6.32 ± 1.21	3.67 ± 0.89	48.26 ± 10.01
	治疗后	16.08 ± 2.45 ¹⁾	6.53 ± 1.31 ¹⁾	1.72 ± 0.28 ¹⁾	3.54 ± 0.21	11.69 ± 5.03 ¹⁾	5.44 ± 1.01	2.54 ± 0.68 ¹⁾	43.95 ± 6.14
治疗	治疗前	18.39 ± 3.16	7.42 ± 1.97	1.89 ± 0.24	3.65 ± 0.49	18.10 ± 7.55	5.78 ± 1.18	3.45 ± 0.79	47.96 ± 9.88
	治疗后	12.98 ± 2.07 ^{1,2)}	5.89 ± 1.08 ^{1,2)}	1.55 ± 0.26 ^{1,2)}	3.32 ± 0.27	10.89 ± 4.88 ¹⁾	4.03 ± 0.79 ^{1,2)}	2.10 ± 0.71 ¹⁾	41.62 ± 5.91

表 5 两组患者血脂水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

Table 5 Comparison of blood lipid between two groups ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

组别	时间	血脂水平			
		TC	TG	HDL-C	LDL-C
对照	治疗前	5.12 ± 1.36	2.81 ± 0.99	1.89 ± 0.23	3.29 ± 1.22
	治疗后	4.75 ± 1.21 ¹⁾	2.64 ± 0.72 ¹⁾	1.98 ± 0.21 ¹⁾	2.69 ± 1.08 ¹⁾
治疗	治疗前	5.03 ± 1.26	2.79 ± 0.86	1.81 ± 0.26	3.31 ± 1.08
	治疗后	4.31 ± 1.19 ^{1,2)}	2.34 ± 0.67 ^{1,2)}	2.04 ± 0.30 ¹⁾	2.16 ± 1.01 ^{1,2)}

表 6 两组患者治疗前后西雅图心绞痛量表评分比较 ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

Table 6 Comparison of Seattle Angina Questionnaire between two groups ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

组别	治疗前	治疗后
对照	46.63 ± 8.79	50.16 ± 5.29 ¹⁾
治疗	47.01 ± 8.47	52.36 ± 6.17 ^{1,2)}

2.2 两组患者治疗前后血液流变学指标和血脂比较 与治疗前比较,治疗组和对照组全血黏度、血浆黏度、血沉、红细胞刚性指数和红细胞聚集指数均下降 (*P* < 0.05);与治疗前比较,治疗组和对照组纤维蛋白原和红细胞压积均没有统计学变化;治疗后与对照组比较,治疗组全血黏度、血浆黏度和红细胞刚性指数下降 (*P* < 0.05);治疗后纤维蛋白原、血沉、红细胞聚集指数和红细胞压积两组中比较无统计学差异。见表 4。

与治疗前比较,治疗组与对照组血脂均降低 (*P* < 0.05);治疗后与对照组比较,治疗组 TC, TG, LDL-C 降低 (*P* < 0.05)。见表 5。

2.3 两组患者生活质量比较 与治疗前比较,治疗组与对照组西雅图心绞痛量表评分均提高 (*P* < 0.05);治疗后与对照组比较,治疗组西雅图心绞痛量表评分提高 (*P* < 0.05)。见表 6。

2.4 两组患者 microRNA 及相关基因比较 总体角度,hsa-miR-199a-5p 和 hsa-miR-146b-5p 在对照组和治疗组疗后比疗前均有降低趋势;KIR3DS1, HLA-DPB1, TP53, SESN2, NCR1 和 PRF1 在对照组和治疗组疗后比疗前均有升高趋势。与治疗前比较,治疗组

与对照组 TP53 均上调,hsa-miR-146b-5p 均下调 (*P* < 0.05)。与治疗前比较,治疗组 KIR3DS1, SESN2, PRF1 上调,hsa-miR-199a-5p 下调 (*P* < 0.05),对照组差异无统计学意义。治疗后与对照组比较,治疗组 KIR3DS1, TP53, SESN2, PRF1 上调,hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p 下调 (*P* < 0.05)。见表 7。

表 7 两组患者 microRNA 及相关基因相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

Table 7 Comparison of microRNA and relevant gene between two groups ($\bar{x} \pm s, n = 40$)

组别	时间	KIR3DS1	HLA-DPB1	TP53	SES2	NCR1	PRF1	hsa-miR-199a-5p	hsa-miR-146b-5p
对照	治疗前	0.968 ± 0.21	0.998 ± 0.12	1.181 ± 0.21	1.266 ± 0.16	0.726 ± 0.12	0.281 ± 0.91	1.089 ± 0.28	0.292 ± 0.09
	治疗后	1.016 ± 0.23	1.073 ± 0.17	1.306 ± 0.24 ¹⁾	1.289 ± 0.18	0.741 ± 0.16	0.292 ± 0.94	1.061 ± 0.26	0.198 ± 0.12 ¹⁾
治疗	治疗前	0.979 ± 0.25	1.069 ± 0.16	0.951 ± 0.07	1.053 ± 0.18	0.719 ± 0.16	0.295 ± 0.69	1.093 ± 0.28	2.831 ± 0.16
	治疗后	1.213 ± 0.26 ^{1,2)}	1.086 ± 0.27	1.695 ± 0.26 ^{1,2)}	1.501 ± 1.01 ^{1,2)}	0.785 ± 0.17	2.831 ± 0.69 ^{1,2)}	1.021 ± 0.21 ^{1,2)}	0.289 ± 0.17 ^{1,2)}

3 讨论

动脉粥样硬化是冠心病不稳定型心绞痛的发病基础,其形成和发展目前普遍认为是基于一种慢性炎症过程。该过程中炎症因子通过刺激巨噬细胞产生白细胞介素-6(IL-6)等细胞因子,从而在肝脏合成 CRP,通过激活补体系统产生大量终末产物,攻击血管内膜造成内膜损伤,进而引起血小板黏附、聚集,形成不稳定斑块^[9-10]。有学者对比冠心病不稳定型心绞痛患者与健康人,发现不稳定型心绞痛患者血清 hs-CRP 和 IL-6 水平明显较正常人显著升高,而他汀类药物、血管紧张素转换酶抑制剂合并血塞通干预后患者血清 hs-CRP 和 IL-6 水平可显著降低^[11],说明血塞通能有效降低血清 hs-CRP 和 IL-6 水平,对冠心病患者的炎症反应有显著抑制作用,其主要成分三七总皂苷已被大量研究证实具有清除脂质过氧化物和氧自由基,扩张血管,改善血管内皮及抑制血小板聚集等功能^[12-15]。

microRNA 已被证实与心血管疾病紧密相关。Hoekstra 等^[16]通过分析 microRNA 表达谱,检测了冠状动脉粥样硬化性心脏病各型病例及健康人外周血单核细胞的 microRNA 表达水平,首次发现冠心病患者外周血单核细胞中的部分 microRNA 表达水平远高于正常人。YANG 等^[17]研究发现 microRNA-1 在冠心病患者外周血以及大鼠心梗模型心肌组织中的表达明显上调。通过沉默或过表达 microRNA-1 再次测定梗死区域内心肌组织 microRNA-1 表达发现,microRNA-1 的过表达可加重心律失常的发生,而沉默 microRNA-1 的表达则可以减轻心梗后心律失常的发生,说明 microRNA 在心血管疾病中的表达变化具有较稳定的特异性。本课题组前期试验已应用 microRNA 芯片技术筛选出与冠心病血瘀证相关的 microRNA,通过与健康对照组、冠心病痰浊证组、脑梗死血瘀证组、脑梗死痰浊证组分别比对,锁定其中 25 个高度相关的 microRNA,包括 23 个表达上调的 microRNA 和 2 个

表达下调的 microRNA,其中以 hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p 的上调表达幅度最为显著。随后对上调 microRNA 进行靶基因预测分析,并整合靶基因富集信号通路后,提示下调基因富集的 6 条通路中,抗原呈递和处理通路,p53 信号通路和 NK 细胞介导的细胞毒性作用通路与不稳定型心绞痛密切相关^[18-19]。同时,富集在 3 条通路上的 KIR3DS1, HLA-DPB1, TP53, SES2, NCR1, PRF1 是 hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p 经 KEGG 通路分析推测出的靶基因。因此推断 hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p 是冠心病血瘀证特异的生物标志物,其对冠心病血瘀证的治疗作用也许是通过对抗原呈递和处理通路,p53 信号通路和 NK 细胞介导的细胞毒性作用通路的调控来实现的。

本研究通过活血化瘀中药血塞通治疗冠心病不稳定型心绞痛血瘀证患者,对比治疗前后治疗组 and 对照组患者各项理化指标及生活质量评定,结合外周血 hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-146b-5p 及靶基因 KIR3DS1, HLA-DPB1, TP53, SES2, NCR1, PRF1 表达的变化。首先证实了血塞通治疗不稳定型心绞痛血瘀证的疗效,其次对 hsa-miR-199a-5p 和 hsa-miR-146b-5p 可以作为冠心病血瘀证特异的生物标志物做了初步验证,同时,靶基因的变化趋势提示 hsa-miR-199a-5p 和 hsa-miR-146b-5p 可以干预抗原呈递和处理通路,p53 信号通路和 NK 细胞介导的细胞毒性作用通路,最后,Real-time PCR 结果显示血塞通对 hsa-miR-199a-5p 和 hsa-miR-146b-5p 及其靶基因的表达有一定的调控作用。综上,本研究从 microRNA 和信号通路层面探讨并阐释血塞通作用机制,以 microRNA 及其靶基因调控网络为切入点,为中医药治疗冠心病机制的研究提供新思路。

[参考文献]

[1] ZHAO Y, Ransom J F, LI A, et al. Dysregulation of cardiogenesis, cardiac and cell cycle in mice lacking miRNA-1-2 [J]. Cell, 2007, 129(2): 303-317.
[2] 吴建华, 张晓倩, 朱陵群. 血塞通对局灶性脑梗死大

- 鼠海马 Nogo-A 表达的影响[J]. 中国中医急症, 2013, 22(4):521-523.
- [3] 陈锋, 阳生光, 李建军, 等. 血塞通对全脑缺血/再灌注后大鼠海马回中 Bcl-2 及 Bax 的影响[J]. 临床医学工程, 2015, 2(11):1426-1428.
- [4] 杨妍华, 张福康, 陆再华. 血塞通对痛风炎症因子 ICAM-1 表达的影响[J]. 中华中医药学刊, 2012, 31(4):852-854.
- [5] 张秀静, 赵海滨, 王帅, 等. 血塞通对 AMI 后心肌重塑及 TGF- β_1 /Smads 通路的干预研究[J]. 北京中医药大学学报, 2013, 20(12):837-840, 872.
- [6] Wright R S, Anderson J L, Adams C D, et al. 2011 ACCF/AHA Focused Update of the Guidelines for the Management of Patients with Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction (Updating the 2007 Guideline): a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines[J]. Circulation, 2011, 123(18):2022-2060.
- [7] 王阶, 陈可冀, 翁维良, 等. 血瘀证诊断标准的研究[J]. 中西医结合杂志, 1988, 8(10):585-587, 589.
- [8] Spertus J A, Winder J A, Dewhurst T A, et al. Development and evaluation of the Seattle Angina Questionnaire: a new functional status measure for coronary artery disease[J]. J Am Coll Cardiol, 1995, 25(2):333-341.
- [9] 高凤敏, 杨骄霞, 李凤翔. 注射用血塞通对不稳定型心绞痛疗效及血清 C 反应蛋白的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2011, 9(9):1054-1055.
- [10] 姚宝泰, 薛凤英, 周成刚, 等. 长春西汀联合血塞通治疗急性脑梗死观察[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2012, 15(5):8-10.
- [11] 钟桂香, 张英芬, 杨洪亮. 96 例急性脑梗死患者血清超敏 C 反应蛋白的检测及相关性研究[J]. 医学综述, 2009, 15(16):2538-2539.
- [12] 秦南屏, 冯培芳, 王平平. 三七总皂苷对劳累型心绞痛患者左室舒张功能的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 1995, 15(5):304.
- [13] 林曙光. 三七皂苷对高脂血清所致的培养主动脉平滑肌细胞增殖的作用[J]. 中国药理学报, 1993, 14(4):414.
- [14] 孙继红, 李淑梅, 张丹. 三七皂苷对急性冠脉综合征冠脉支架植入术后 P-选择素、组织型纤溶酶原激活物及其抑制物的影响[J]. 吉林医学, 2003, 24(5):398.
- [15] Richmond A L, Kabi A, Homer C R, et al. The nucleotide synthesis enzyme CAD inhibits NOD2 antibacterial function in human intestinal epithelial cells[J]. Gastroenterology, 2012, 142(7):1483-1492.
- [16] Hoekstra M, van der Lans C A, 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.
- [17] YANG B F, LIN H X, XIAO J N, et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2[J]. Nat Med, 2007, 13(4):486-491.
- [18] 虞桂, 王阶. 冠心病不稳定型心绞痛血瘀证的 microRNA 生物标志物研究[D]. 北京: 中国中医科学院, 2013.
- [19] 王阶, 姚魁武, 刘咏梅, 等. 冠心病血瘀证转录组学研究——病证结合生物标志物研究思路与方法[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(19):1-5.

[责任编辑 张丰丰]