·论著·

血清LncRNA GAS5水平与老年冠心病PCI后支架内再狭窄的关系探讨

尹鲁平[1]，张洪明[2]，谈红[2]，李宁[1]，王涛[1]，任昌振[1]，刘科卫[1]

【摘要】**目的** 探讨血清长链非编码RNA生长停滞特异基因5（LncRNA GAS5）水平与老年冠状动脉粥样硬化性心脏病（冠心病）在接受经皮冠状动脉介入治疗（PCI）后出现支架内再狭窄的关系，并采用受试者工作曲线（ROC）评估血清LncRNA GAS5水平对老年冠心病PCI后支架内再狭窄的诊断价值。**方法** 选取2016年4月至2018年10月于解放军联勤保障部队第九六〇医院干部病房进行PCI的164例老年冠心病患者为研究对象，依据术后12个月冠状动脉（冠脉）造影复查结果分为两组，支架内、5 mm范围内血管内径狭窄＜50%的无再狭窄组（91例），支架内、5 mm范围内血管内径狭窄≥50%的为再狭窄组（73例），再狭窄组根据再狭窄支数分为单支再狭窄组（28例），双支再狭窄组（32例），三支再狭窄组（13例）。研究对象均采用实时荧光定量聚合酶链反应（RT-PCR）检测血清LncRNA GAS5水平。**结果** 与无再狭窄组相比，再狭窄组血清LncRNA GAS5水平较低（$P<0.05$）；单支再狭窄组、双支再狭窄组、三支再狭窄组相比，血清LncRNA GAS5水平依次降低（$P<0.05$）；Spearman相关分析显示，再狭窄组血清LncRNA GAS5水平与老年冠心病PCI后再狭窄支数呈负相关（$P<0.05$）；ROC结果显示，血清LncRNA GAS5诊断老年冠心病患者PCI后支架内再狭窄的曲线下面积为0.866，截断值为1.099，对应的敏感度为86.30%，特异度为73.60%。**结论** 老年冠心病PCI后支架内再狭窄患者血清LncRNA GAS5水平较未发生再狭窄患者低，且与再狭窄支数呈负相关，对老年冠心病PCI后发生支架内再狭窄有一定诊断价值，可能为老年冠心病患者PCI后支架内再狭窄的治疗靶点提供新思路。

【关键词】长链非编码RNA生长停滞特异基因5；老年冠心病；经皮冠状动脉介入术；支架内再狭窄

【中图分类号】R541.4

【文献标志码】A 开放科学（源服务）标识码（OSID）

Relationship between serum LncRNA GAS5 level and post-PCI in-stent restenosis in elderly patients with coronary heart disease

Yin Luping, Zhang Hongming, Tan Hong, Li Ning, Wang Tao, Ren Changzhen, Liu Kewei. *Cadre Ward, 960th Hospital, Chinese PLA Central Military Commission, Jinan, 250000, China.*

Corresponding author: Zhang Hongming, E-mail: wwtt0211@163.com

[**Abstract**] **Objective** To investigate the relationship between level of serum long non-coding RNA growth arrest-specific gene 5 (LncRNA GAS5) and in-stent restenosis (ISR) and review the diagnostic value of LncRNA GAS5 level to ISR in elderly patients with coronary heart disease (CHD) after PCI. **Methods** The patients (n=164) undergone PCI were chosen from Cadre Ward in the 960th Hospital of Chinese PLA Central Military Commission from Apr. 2016 to Oct. 2018. All patients were divided, according to results of coronary angiography reexamination after PCI for 12 months, into non-ISR (n=91, ISR<50% with vessel diameter within 5 mm) and ISR group (n=73, ISR≥50% with vessel diameter within 5 mm). ISR group was divided further into 1-vessel ISR group (n=28), 2-vessel ISR group (n=32) and 3-vessel ISR group (n=13). The level of serum LncRNA GAS5 was detected by using RT-PCR in all groups. **Results** The level of serum LncRNA GAS5 was lower in ISR group than that in non-ISR group ($P<0.05$), and decreased in turn in 1-vessel ISR group, 2-vessel ISR group and 3-vessel ISR group ($P<0.05$). The results of Spearman correlation analysis showed that LncRNA GAS5 level was negatively correlated to ISR vessel numbers ($P<0.05$). The results of ROC analysis showed that the area under ROC curve was 0.866, cutoff value was 1.099, sensitivity was 86.30% and specificity was 73.60% of LncRNA GAS5 level in ISR diagnosis in elderly patients with CHD after PCI. **Conclusion** The level of serum LncRNA GAS5 is lower in elderly CHD patients with ISR after PCI, and it is negatively correlated to ISR vessel numbers. The level of serum LncRNA GAS5 has a certain diagnostic value to ISR, and may provide a new idea for therapeutic target in elderly CHD patients with ISR after PCI.

[**Key words**] Long non-coding RNA growth arrest-specific gene 5; Senile coronary heart disease; Percutaneous coronary intervention; In-stent restenosis

冠状动粥样硬化性心脏病（冠心病）是对人类健康造成严重威胁的常见心血管系统疾病，发生率与死亡率快速增长[1]。经皮冠状动脉介入治疗（PCI）是临床治疗冠心病的有效技术，

基金项目：军委后勤保障局卫生局面上项目(16BJZ51)

作者单位：1 250000 济南,解放军联勤保障部队第九六〇医院干部病房;2 250000 济南,解放军联勤保障部队第九六〇医院心内科

通讯作者：张洪明,E-mail:wwtt0211@163.com

doi：10.3969/j.issn.1674-4055.2020.10.06

大大提高了冠心病患者生存率，但术后支架内再狭窄问题严重影响PCI效果，依然困扰着临床工作者[2,3]。人类基因组中98%以上为非蛋白编码RNA，核苷酸数量在200以上的非编码RNA为长链非编码RNA（LncRNA），LncRNA对心肌肥厚、心肌纤维化、心肌细胞凋亡具有调控作用[4,5]。生长停滞特异基因5（GAS5）在胚胎及成人机体中广泛分布，具有在生长停滞细胞中优先表达的特点，能够抑制心机成纤维细胞分化、增殖[6]，影响心血管疾病发展[7]。LncRNA GAS5与冠心病PCI后支架内再狭窄的研究较少，本文旨在探讨血清LncRNA GAS5水平与老年冠心病PCI后支架内再狭窄的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象与分组 选取2016年4月至2018年10月于解放军联勤保障部队第九六〇医院干部病房进行PCI的164例老年冠心病患者为研究对象，其中男性98例，女性66例，年龄61~83（68.90±7.32）岁。纳入标准：年龄60~85岁；首次行PCI者。排除标准：合并感染性疾病者；合并免疫性疾病者；合并糖尿病患者；合并肿瘤者；合并肾脏等器官功能不全者。依据术后12个月冠状动脉（冠脉）造影复查结果分为两组：支架内血管内径狭窄＜50%无再狭窄组（91例），支架内血管内径狭窄≥50%的为再狭窄组（73例）；根据再狭窄支数分为三个亚组：单支再狭窄组（28例），双支再狭窄组（32例），三支再狭窄组（13例）。本研究经医院伦理委员会批准，所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 血清LncRNA GAS5水平检测 研究对象均于清晨抽取5 ml静脉血置于无抗凝剂的标本管中，室温静置1 h使凝固，离心（3000 r/min，10 min），上层血清采用Trizol法提取总RNA，反转录为cDNA，采用实时荧光定量聚合酶链反应（RT-PCR）方法检测血清LncRNA GAS5水平（仪器：Roche Light Cycler 480Ⅱ型），反应条件：95℃预变性30 s，95℃ 5 s，60℃ 30 s，95℃ 10 s，40个循环，LncRNA GAS5正向引物：5'-CTTCTGGGCTCAAGTGATCCT-3'，反向引物：5'-TTGTGCCATGAGACTCCATCAG-3'，

内参GAPDH正向引物：5'-CATGAGCAGTAAACAGCCATGAT-3'，反向引物：5'-AGTACACCCATCGAATTCCAGT-3'引物及试剂盒均购于上海生工生物工程有限公司，操作严格按照说明书进行，数据用2-ΔΔCt法计算。

1.2.2 冠脉造影检查 研究对象均于接受PCI后12个月采用Judkins法行冠脉造影检查（Philips H 5000F型心血管造影仪），右冠、左前降支、左回旋支、左主干中任一支在支架内、5 mm范围内血管内径狭窄≥50%为发生PCI后支架内再狭窄，单一或伴左前降支和（或）左回旋支再狭窄的左主干发生再狭窄计为双支再狭窄，与此同时合并右冠再狭窄计为三支再狭窄。

1.3 统计学方法 所有数据均采用SPSS 17.0统计学软件分析。计量资料采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，两组间均数的比较采用t检验，计数资料采用例数（构成比）表示，组间比较采用χ^2检验。采用Spearman分析再狭窄组血清LncRNA GAS5水平与PCI后支架内再狭窄支数的相关性。绘制受试者工作曲线（ROC），探讨血清LncRNA GAS5水平对老年冠心病PCI后支架内再狭窄的诊断价值。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较 无再狭窄组、再狭窄组性别构成比、年龄、体质指数、吸烟史、饮酒史比例相比，差异无统计学意义（P均＞0.05）（表1）。

2.2 血清LncRNA GAS5水平比较 与无再狭窄组相比，再狭窄组血清LncRNA GAS5水平较低（$P<0.05$）（表2）。

表1 无再狭窄组、再狭窄组一般资料比较

项目	无再狭窄组（n=91）	再狭窄组（n=73）	P值
男性（n，%）	53（58.24）	45（61.64）	0.659
年龄（岁）	68.76±7.01	69.08±7.26	0.775
体质指数（kg/m^2）	23.75±3.35	23.63±3.97	0.834
吸烟史（n，%）	43（47.25）	35（47.95）	0.930
饮酒史（n，%）	39（42.86）	33（45.21）	0.763

表2 无再狭窄组、再狭窄组血清LncRNA GAS5水平比较

指标	无再狭窄组（n=91）	再狭窄组（n=73）	P值
LncRNA GAS5	1.35±0.41	0.86±0.23	＜0.001

2.3 再狭窄组三个亚组血清LncRNA GAS5水平比较 单支再狭窄组、双支再狭窄组、三支再狭窄组相比，血清LncRNA GAS5水平依次降低（$P<0.05$）（表3）。

2.4 再狭窄组血清LncRNA GAS5水平与PCI后再狭窄支数相关性分析 Spearman分析结果显示，再狭窄组血清LncRNA GAS5水平与PCI术后再狭窄支数呈负相关（r=-0.492，$P<0.001$）（图1）。

2.5 血清LncRNA GAS5水平对老年冠心病PCI后支架内再狭窄的诊断价值 ROC结果显示，血清LncRNA GAS5诊断老年冠心病患者PCI后发生支架内再狭窄的曲线下面积（AUC）为0.866

表3 再狭窄组三个亚组血清LncRNA GAS5水平比较

指标	单支再狭窄组（n=28）	双支再狭窄组（n=32）	三支再狭窄组（n=13）	P值
LncRNA GAS5	0.98±0.23	0.84±0.19^a	0.68±0.21^{ab}	＜0.001

注：与单支再狭窄组相比，$^aP<0.05$；与双支再狭窄组相比，$^bP<0.05$

（95%CI：0.811~0.920），截断值为1.099，对应的敏感度为86.30%，特异度为73.60%（图2）。

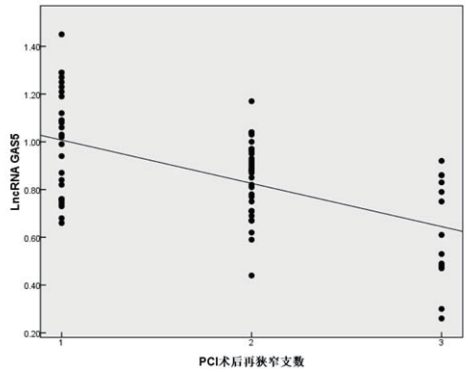

图1 再狭窄组血清LncRNA GAS5、PCI术后再狭窄支数散点图

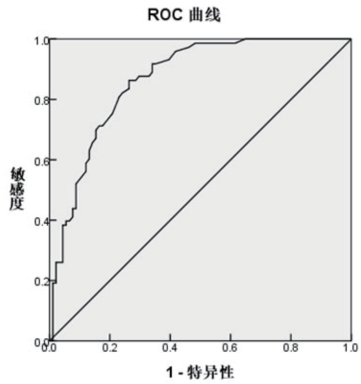

图2 血清LncRNA GAS5诊断老年冠心病PCI术后支架内再狭窄的ROC曲线

3 讨论

PCI是冠心病临床广泛应用治疗方式，但PCI后支架内再狭窄极大影响远期治疗效果，新生内膜增生、血管重塑是PCI后支架内再狭窄的重要生理机制[8]。PCI会对血管内皮造成损伤，血管对损伤进行炎症及修复的病理反应，致使PCI后数周或数月发生支架内再狭窄。血管内皮损伤促进血管内皮细胞增殖，再形成的血管内皮细胞连接差，抗血栓分子减少，另一方面，支架置入操作致使冠脉内皮剥脱，暴露的内膜下胶原纤维、纤维连接蛋白等与血小板黏附形成血栓，同时，炎症因子水平升高，对新生动脉粥样硬化的形成产生促进作用[9-12]。

LncRNA能够在转录及转录后水平调控基因表达，参与机体生长、发育生命过程，并维持在相对稳定的水平，在恶性肿瘤、心血管、神经系统等疾病中均表达异常，作为诊断标志物及治疗靶点的研究已有报道[13-16]。LncRNA与动脉粥样硬化的关系越来越受到关注，新近研究发现，冠心病患者血浆中45个LncRNA水平异常升高，29个LncRNA水平异常降低[17]，LncRNA可能通过调控血管平滑肌细胞的增殖、凋亡参与动脉粥样硬化进程，同时可能是冠心病遗传易感性的机制之一，可对冠心病的早期筛选提供依据[18,19]。本研究发现，再狭窄组血清LncRNA GAS5水平较无再狭窄组低，提示LncRNA GAS5与PCI后支架内再狭窄的发生有关。进一步分析发现，单支再狭窄组、双支再狭窄组、三支再狭窄组血清LncRNA GAS5水平依次降低，Spearman相关分析显示，再狭窄组血清LncRNA GAS5水平与老年冠心病PCI后支架内再狭窄支数呈负相关，提示LncRNA GAS5水平能够反映PCI后支架内再狭窄程度，可能成为评估PCI后支架内再狭窄程度的生物学指标，发生原因可能是LncRNA GAS5对平滑肌细胞、血管内皮细胞有调控作用，参与PCI后支架内再狭窄的发生[20,21]。发生机制可能是LncRNA GAS5通过降低miR-21的表达，对成纤维细胞的增殖产生抑制作用，减轻增殖性血管疾病PCI后支架内再狭窄程度[22,23]。另有研究提出不同的作用机制[24]，冠心病患者血浆中LncRNA GAS5为低表达，基因敲除LncRNA GAS5可使人原代冠状动脉内皮细胞的磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白表达升高，相应地，LncRNA GAS5过表达可使磷酸化哺乳动物雷帕霉素靶蛋白表达降低，与此同时LncRNA GAS5对哺乳动物雷帕霉素靶蛋白无明显影响，LncRNA GAS5可能作为哺乳动物雷帕霉素靶蛋白通路的上游调节因子参与血管狭窄的发生与演变。ROC结果显示，血清LncRNA GAS5诊断老年冠心病患者PCI后发生支架内再狭窄的AUC为0.866，截断值为1.099，此时对应的敏感度为86.30%，特异度为73.60%，提示LncRNA GAS5对PCI后支架内再狭窄有一定诊断价值，可能为临床工作提供参考依据。

综上所述，PCI后支架内再狭窄的老年冠心病患者血清LncRNA GAS5水平与无支架内再狭窄患者相比为低表达，与再狭窄支数呈负相关，可以反映再狭窄程度，对老年冠心病PCI后支架内再狭窄有一定诊断价值，LncRNA GAS5可能成为老年冠心病患者PCI后支架内再狭窄的无创伤生物标志物及治疗靶点，具体作用机制尚需进一步研究。

参考文献

[1] Inaguma D,Koide S,Takahashi K,et al. Relationship between history of coronary heart disease at dialysis initiation and onset of events associated with heart disease:a propensity-matched analysis of a prospective cohort study[J]. BMC Nephrol,2017,18(1):79-86.

[2] Hee L,Terluk A,Thomas L,*et al*. Late clinical outcomes for SeQuent please paclitaxel-coated balloons in PCI of instent restenosis and de novo lesions:A single-center, real world registry[J]. Catheter Cardiovasc Interv,2017,89(3):375-82.

[3] 刘浙波,夏豪,杨洋,等. CYP2C19正常代谢型冠心病患者PCI术后发生支架内再狭窄的危险因素分析[J]. 实用医学杂志,2016,32(7):1088-92.

（下转1184页）