论 著

miRNA-499预测心脏术后新发心房颤动的研究

徐志伟，钱　龙，黄　苏
淮安市第一人民医院，南京医科大学附属淮安第一医院 心脏外科（淮安 223300）

【摘　要】**目的** 研究心脏术后病人外周血miRNA-499的表达对心脏手术后新发心房颤动(postoperative atrial fibrillation，POAF)的预测作用及对胺碘酮治疗的反应。**方法** 采用实时定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测109例POAF病人和96例非POAF病人外周血miRNA-499及其靶mRNA的表达，同时结合胺碘酮治疗分析其预后。**结果** miRNA-499在POAF病人中呈明显高表达（1.86 ± 0.35 vs. 2.77 ± 0.51，4.23 ± 1.37，$P<0.05$）。与非POAF组相比，胺碘酮治疗阴性组[胺碘酮(-)组]与胺碘酮治疗阳性组[胺碘酮(+)组]miRNA-499表达量均上调，且miR-499在胺碘酮(-)组上调明显高于胺碘酮(+)组患者(2.77 ± 0.51 vs. 4.23 ± 1.37，$P=0.005$)。ROC曲线分析显示miRNA-499可作为潜在的POAF胺碘酮治疗反应生物标志物 (AUC = 0.72，$P=0.006$)。**结论** miRNA-499表达量增加可能有助于临床判断心脏术后POAF的发生，同时还可以预测POAF对胺碘酮治疗的转归及预后。

【关键词】心脏手术；心房颤动；microRNA-499
【中图分类号】R57　　文献标志码 A　　DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2022.04.011

Prediction of new on-set postoperative atrial fibrillation after cardiac surgery by MiRNA-499

XU Zhiwei，QIAN Long，HUANG Su
Department of Cardiac Surgery，Huai'an First People's Hospital，The Affiliated Huai'an No. 1 People's Hospital of Nanjing Medical University，Huai'an 223300，China

【**Abstract**】**Objective** To investigate the expression of miRNA-499 in peripheral blood of patients after cardiac surgery，and to confirm its predictive role on postoperative atrial fibrillation (POAF) and the response to amiodarone treatment. **Methods** Real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the expression of miRNA-499 and its target mRNA in peripheral blood of 109 POAF patients and 96 non-POAF patients. At the same time，combined with amiodarone treatment，the prognosis was analyzed. **Results** miRNA-499 was significantly overexpressed in POAF patients (1.86 ± 0.35 vs. 2.77 ± 0.51，4.23 ± 1.37，$P<0.05$). Compared to non-POAF group，the expression of miRNA-499 was up-regulated in the amiodarone (-) group and the amiodarone (+) group，and the up-regulation of miR499 in the amiodarone (-) group was significantly higher than that in the amiodarone (+) group (2.77 ± 0.51 vs. 4.23 ± 1.37，$P=0.005$). ROC curve analysis showed that miRNA-499 could be used as a potential biomarker of POAF amiodarone treatment response (AUC = 0.72，$P=0.006$). **Conclusion** The increased expression of miRNA-499 may contribute to the clinical judgment of the occurrence of POAF after cardiac surgery，as well as predict the outcome and prognosis of amiodarone treatment on POAF patients.

【**Key words**】Cardiac Surgery；Atrial Fibrillation；MicroRNA-499

心脏手术后新发心房颤动(postoperative atrial fibrillation，POAF)的比例较高，尤其是心脏瓣膜手术[1-2]。据报道，POAF的发生率为20%～50%。POAF与多种因素有关，包括体重指数[3]、性别、慢性阻塞性肺疾病、瓣膜心脏病[4]、心外膜脂肪组织[5]，以及阻塞性睡眠呼吸暂停[6]等，但确切机制目前仍不清楚。

MicroRNAs(miRNAs)是一类短小非编码RNA，在细胞增殖、分化、信息和凋亡等生物学过程中发挥着重要作用[7-8]。人类基因组编码1 000多个miRNAs，其中30%在心血管系统中可以检测到[9-10]。多种miRNAs参与调节心房收缩力、离子通道性能和自律性[11-12]。

部分miRNAs的异常表达可能与POAF有关，并在其发病过程中起关键作用[13-14]。既往研究证实心脏术后POAF病人和正常对照组病人(非POAF)外周血miRNAs表达量的差异[15]。本研究通过外周血miRNA-499的表达差异证实其对POAF的预测作用，此外，还评价

基金项目：江苏省双创博士项目（202031100）；淮安市卫生健康科研项目(HAWJ202009)；南京医科大学科研发展基金(NMUB2019352)
第一作者简介：徐志伟，博士研究生。
通信作者：黄　苏，主任医师。E-mail: 18610081078@163.com
引用本文：徐志伟，钱龙，黄苏，等 . miRNA-499预测心脏术后新发心房颤动的研究[J]. 西南医科大学学报，2022，45(4)：337-339，350.DOI：10.3969/j.issn.2096-3351.2022.04.011

了miRNA-499作为生物标志物监测POAF病人使用胺碘酮进行治疗的有效性。

1 对象和方法

1.1 研究对象

本研究由江苏省淮安市第一人民医院伦理委员会批准，所有纳入本研究的病人均征得知情同意。纳入2020年1月至9月接受心脏瓣膜手术的POAF病人109例。通过匹配相关的临床变量(如年龄、性别)以及临床特征(如高血压、体重指数、心肌梗死、吸烟、左心室射血分数和体外循环)，选择既往96名非POAF心脏瓣膜手术病人为正常对照组。POAF定义为从心脏手术后即刻开始至出院心电监护记录到房颤持续时间 > 30 min。所有病人均通过术前12导联心电图或者动态心电图及病史排除既往房颤病史。其他排除标准包括有严重呼吸系统疾病史、神经系统疾病史、凝血障碍史、肾或肝功能不全史、目前除β-受体阻滞剂外的抗心律失常药物治疗、左心室射血分数 < 35%或急诊手术。

POAF组用胺碘酮按常规方案治疗术后新发POAF。出院前恢复窦性心律纳入胺碘酮治疗阳性组[胺碘酮(+)]，仍为房颤心律纳入胺碘酮治疗阴性组[胺碘酮(-)]。胺碘酮按推荐剂量给药(静脉负荷量150 mg，然后0.5 ~ 2 mg/min静脉维持，口服后静脉用药逐渐减量，口服200 mg，3次/d，共5 d，然后改为1次/d至术后1月。

1.2 临床样本收集

非POAF病人于术后24 h及出院前留取2次外周静脉血标本，POAF病人于发生心房颤动30 min后及出院前留取2次外周静脉血标本，其中出院前恢复窦性心律纳入胺碘酮治疗阳性组[胺碘酮(+)]，仍为房颤心律纳入胺碘酮治疗阴性组[胺碘酮(-)]。上述标本均留取外周静脉血5 mL，枸橼酸钠抗凝，使用miRNeasy Serum/Plasma kit (Qiagen，Redwood City，CA，USA)提取包括miRNA在内的总RNA。所有步骤均在生物安全柜中进行，并在冰上进行操作，以预防RNA降解导致提取的RNA总量降低。参照既往文献报道方法[8]，通过在每个血清样本中添加25 fmol的cel-miRNA-39 (Applied Biosystems，CA，USA)试剂进行均一化，以降低RNA提取过程中样品变异问题对最终检测结果的影响。上述具体操作参照说明书进行。

1.3 实时聚合酶链反应

RT-PCR进一步检测miRNA-499的表达水平。参照试剂盒(Bioteke，Beijing，China)说明进行。加入SYBR Green PCR Master Mix (Applied BiStudioystems，USA)，进行PCR扩增。RT-PCR反应条件为：95 ℃，10 min预变性；95 ℃，15 s变性；60 ℃，1 min退火延伸，45个循环进行扩增，每个样品重复3次。

1.4 统计学分析

采用SPSS 22.0软件进行统计学分析。计量资料采用$\bar{x} \pm s$表示，多个样本均数比较采用单因素方差分析(one way-ANOVA)，两两比较采用LSD法，两个样本均数比较采用t检验；为探讨miRNA-499作为预测标志物的潜力，绘制了受试者工作特征(the receiver operating characteristic，ROC)曲线，并通过灵敏度和特异度计算曲线下面积(AUC)。$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料对比

POAF组病人109例(男40例，女69例)，平均年龄(62.6 ± 7.7)岁；非POAF组病人96例(男39例，女57例)，平均年龄(60.3 ± 5.1)岁。对两组病人的性别、年龄、体重指数、吸烟、高血压、心肌梗死、左心室射血分数等参数进行比较，均无统计学差异($P > 0.05$，见表1)。POAF组根据出院时心电图分为胺碘酮(+)组($n = 76$)和胺碘酮(-)组($n = 33$)。在推荐剂量下未观察到胺碘酮的不良反应。

表1 POAF组与非POAF组两组基本临床资料分析

Table 1 Analysis of basic clinical data of POAF group and non-POAF group

指标	POAF组 ($n = 109$)	非POAF组 ($n = 96$)	t/χ^2	P
男性	40(36.7)	39(40.6)	0.550	0.534
年龄 (y)	62.6 ± 7.7	60.3 ± 5.1	2.761	0.081
体重指数	25.9 ± 3.1	26.2 ± 2.3	1.087	0.329
高血压病史	77(70.6)	71(74.0)	1.054	0.202
空腹血糖(mmol/L)	6.4 ± 2.7	6.1 ± 1.7	1.718	0.195
LVEF (%)	54.6 ± 8.5	57.2 ± 7.9	1.077	0.238
LVDd (mm)	50.5 ± 6.3	48.2 ± 5.8	2.135	0.106
LADs (mm)	39.3 ± 4.4	37.5 ± 6.3	2.362	0.096
NYHA心功能分级	2.5 ± 0.7	2.3 ± 1.1	0.042	0.835
手术				
MVR (%)	67(61.5)	58(60.4)	0.342	0.672
AVR (%)	26(23.8)	25(26.0)	1.432	0.259
DVR (%)	16(14.7)	13(13.6)	1.190	0.316
CPB (min)	97.7 ± 16.2	89.6 ± 21.4	1.803	0.074
呼吸机应用时间 (h)	17.5 ± 2.1	15.9 ± 3.3	2.551	0.117
B受体阻滞剂应用	82(81.7)	73(76.1)	1.714	0.081

注：所有参数以数量 (%，百分比)，平均数 ± 标准差，或中位数表示，LVEF：左室射血分数；LVDd：左室舒张末期内径；LADs：左房舒张末期内径；CPB：体外循环；NYHA：New York Heart Association；MVR：二尖瓣置换；AVR：主动脉瓣置换；DVR：双瓣膜置换

2.2 miRNA-499在两组病人中的比较

在非POAF组病人中，术后24 h及出院前miRNA-499表达量差异无统计学意义($P > 0.05$)；在POAF组病人中，无论AF发生后30 min还是出院前miRNA-499

表达量均较非POAF组病人术后24 h有明显上调，差异有统计学意义（$P<0.05$）；而胺碘酮（+）组在出院前较AF发生后30 min的miRNA-499表达量下降，差异有统计学意义（$P<0.05$）；胺碘酮（−）组在AF发生后30min及出院前miRNA-499表达量的差异无统计学意义（$P>0.05$）。和胺碘酮（−）组相比，出院前胺碘酮（+）组miRNA-499表达量明显下调，差异有统计学意义（$P<0.05$，见表2）。

表2　各组病人外周血miRNA-499表达的比较（$\bar{x}\pm s$）

Table 2　Comparison of the expression of miRNA-499 in peripheral blood of patients in each group（$\bar{x}\pm s$）

时点	非POAF组	POAF组 胺碘酮（+）组	POAF组 胺碘酮（−）组	*t*/*F*	*P*
术后24 h	1.92 ± 0.27	−	−	—	—
AF发生30 min	−	4.17 ± 1.68	4.35 ± 1.92	0.005	0.905
出院前	1.86 ± 0.35	2.77 ± 0.51	4.23 ± 1.37	2.819[a]	0.005
t	0.997	2.636	0.363		
P	0.320	0.009	0.717		

注：a表示出院前非POAE组与胺碘酮（−）组比较

2.3 POAF对胺碘酮治疗的反应

POAF组病人中，胺碘酮（+）组miRNA-499表达水平出院前明显低于胺碘酮（−）组，差异有统计学意义（$t=2.636$，$P=0.009$）。此外，ROC曲线分析显示，以miRNA-499的相对表达量作为区分胺碘酮（+）组和胺碘酮（−）组的最佳界值为0.3，其特异度为62%，敏感度为79%（AUC = 0.72，$P=0.006$，见图1）。

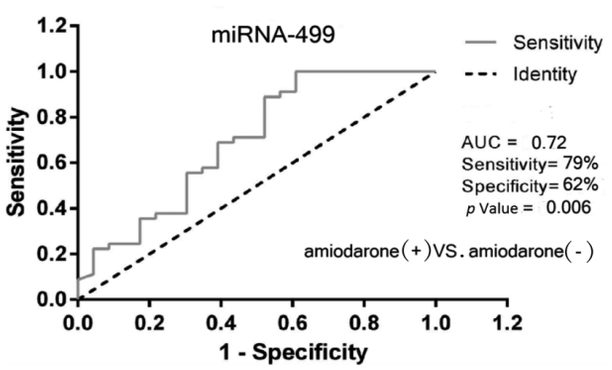


图1　ROC曲线显示miRNA-499表达水平预测POAF病人对胺碘酮的治疗效果

Figure 1　ROC curve showed that the expression level of miRNA-499 predicted the treatment effect of amiodarone in POAF patients

3 讨论

microRNA是一类长度为18～25个核苷酸的内源性非编码RNA，广泛存在于真核生物中，参与调控细胞生长、分化和凋亡等各个环节[16-17]，在生物血浆中高度稳定，是一种简单、有效的新兴生物学标志物[18]。既往研究也证实阵发性房颤和持续性房颤病人表现出不同的miRNA表达谱[19-20]，能够对心房电重构产生影响，如miRNA-133、miRNA-1通过对钾通道基因表达进行调节，可能对心脏电活动传导及节律产生影响，miRNA-21等参与钙通道的调节[21-23]。

在本研究中，我们比较了POAF病人与非POAF病人外周血中miRNA-499的表达，结果表明POAF组病人中，无论胺碘酮（+）组和胺碘酮（−）组miRNA-499的表达均显著高于非POAF组病人。说明外周血miRNA-499表达的上调与心脏瓣膜术后POAF的发生显著相关，可能与钾通道功能丧失有关，进一步研究或许可以通过miRNA-499的表达预测术后POAF的发生。

心脏电生理功能恶化，通过丧失部分离子通道功能来促进心房重构，是维持心房颤动的基础[24-25]，也导致部分持续性心房颤动用胺碘酮治疗效果不佳。本研究，评估了胺碘酮治疗的反应性，胺碘酮（−）组病人无论AF发生后30 min还是出院前miRNA-499表达量无明显变化，与胺碘酮（+）组病人相比，胺碘酮（−）组出院前miRNA-499表达量仍明显升高。ROC曲线分析表明，miRNA-499预测胺碘酮治疗反应的特异性为62%，敏感性为79%（AUC = 0.72），验证了miRNA-499可以预测胺碘酮对心脏瓣膜术后POAF病人的治疗效果。

4 结论

miRNA-499表达量增加可能有助于临床判断心脏术后POAF的发生，同时还可以预测胺碘酮对心脏瓣膜术后POAF病人的治疗效果。

（利益冲突：无）

参 考 文 献

[1] NAIR SG. Atrial fibrillation after cardiac surgery[J]. Ann Card Anaesth，2010，13(3): 196-205.

[2] GIRERD N，PIBAROT P，FOURNIER D，*et al*. Middle-aged men with increased waist circumference and elevated C-reactive protein level are at higher risk for postoperative atrial fibrillation following coronary artery bypass grafting surgery[J]. Eur Heart J，2009，30(10): 1270-1278.

[3] ARANKI SF，SHAW DP，ADAMS DH，*et al*. Predictors of atrial fibrillation after coronary artery surgery. Current trends and impact on hospital resources[J]. Circulation，1996，94(3): 390-397.

[4] MATHEW JP，FONTES ML，TUDOR IC，*et al*. A multicenter risk index for atrial fibrillation after cardiac surgery[J]. JAMA，2004，291(14): 1720-1729.

[5] OPOLSKI MP，STARUCH AD，KUSMIERCZYK M，*et al*. Computed tomography angiography for prediction of atrial fibrillation after coronary artery bypass grafting: proof of concept[J]. J Cardiol，2015，65(4): 285-292.

[6] QADDOURA A，BARANCHUK A. Risk factors for post coronary artery bypass graft atrial fibrillation: role of obstructive sleep apnea[J]. Medwave，2016，16(Suppl4): e6810.

[7] RAHIMIAN N，RAZAVI ZS，ASLANBEIGI F，*et al*. Non-coding RNAs related to angiogenesis in gynecological cancer[J]. Gynecol Oncol，2021，161(3): 896-912.

（下转第350页）

agement of aromatase inhibitor-associated joint symptoms in women with early-stage breast cancer. J Clin Oncol. 2010;28(7): 1154-1160. doi:10.1200/JCO.2009.23.4708.
[13] MAO JJ, XIE SX, FARRAR JT, *et al*. A randomised trial of electro-acupuncture for arthralgia related to aromatase inhibitor use[J]. Eur J Cancer,2014,50(2): 267-276.
[14] OH B, KIMBLE B, COSTA DSJ, *et al*. Acupuncture for treatment of arthralgia secondary to aromatase inhibitor therapy in women with early breast cancer: pilot study[J]. Acupunct Med, 2013,31(3): 264-271.
[15] HERSHMAN DL, UNGER JM, GREENLEE H, *et al*. Effect of acupuncture vs sham acupuncture or waitlist control on joint pain related to aromatase inhibitors among women with early-stage breast cancer: a randomized clinical trial[J]. JAMA, 2018, 320(2): 167-176.
[16] 叶荆,王蓓,吕晓皑,等. 耳针干预乳腺癌芳香化酶抑制剂所致肌肉骨关节疼痛的临床研究[J]. 上海针灸杂志,2015,34(7): 642-646.
[17] 李军,黄梅,林曼迪,等. 苍龟探穴法针刺阿是穴治疗乳腺癌芳香化酶抑制剂所致肌肉骨关节疼痛的临床效果[J]. 中国医药导报,2019,16(13): 132-135.
[18] National Cancer Institute. Cancer stat facts: female breast cancer [EB/OL]. [2020-03-05]. https://seer. cancer. gov/statfacts/html/breast.html.
[19] BIG 1-98 Collaborative Group, MOURIDSEN H, GIOBBIE-HURDER A, *et al*. Letrozole therapy alone or in sequence with tamoxifen in women with breast cancer[J]. N Engl J Med, 2009, 361(8): 766-776.
[20] PARTRIDGE AH, LAFOUNTAIN A, MAYER E, *et al*. Adherence to initial adjuvant anastrozole therapy among women with early-stage breast cancer[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(4): 556-562.
[21] WILLIAMS VF, CLARK LL, MCNELLIS MG. Use of complementary health approaches at military treatment facilities, active component, U.S. Armed Forces, 2010-2015[J]. MSMR, 2016, 23 (7): 9-22.
[22] YIN C, BUCHHEIT TE, PARK JJ. Acupuncture for chronic pain: an update and critical overview[J]. Curr Opin Anaesthesiol, 2017,30(5): 583-592.
[23] WU MS, CHEN KH, CHEN IF, *et al*. The efficacy of acupuncture in post-operative pain management: a systematic review and meta-analysis[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150367.
[24] 潘道友,钱伶敏,王小琴. 针灸推拿联合西药治疗腰椎间盘突出症临床效果观察[J]. 西南医科大学学报,2020,43(1): 54-57.
[25] MACPHERSON H, VERTOSICK EA, FOSTER NE, *et al*. The persistence of the effects of acupuncture after a course of treatment: a meta-analysis of patients with chronic pain[J]. Pain, 2017,158(5): 784-793.
[26] GERRITS MMJG, VAN MARWIJK HWJ, VAN OPPEN P, *et al*. Longitudinal association between pain, and depression and anxiety over four years[J]. J Psychosom Res, 2015, 78(1): 64-70.
[27] YIN X, GOU MH, XU J, *et al*. Efficacy and safety of acupuncture treatment on primary insomnia: a randomized controlled trial[J]. Sleep Med, 2017, 37: 193-200.

（2021-04-12 收稿，2022-03-23 修回）

（上接第339页）

[8] 胡锡麟,田凯华. 表观遗传修饰调控微小RNA表达在肺癌中的研究进展[J]. 中国肺癌杂志,2020,23(7): 582-588.
[9] 范吉林,朱婷婷,田晓玲,等. 非编码RNA调节心肌缺血再灌注损伤中自噬的作用及机制[J]. 中国组织工程研究,2022,26 (35): 5716-5723.
[10] BIAN WK, JIANG XX, WANG ZC, *et al*. Comprehensive analysis of the ceRNA network in coronary artery disease[J]. Sci Rep, 2021,11(1): 24279.
[11] CHEN LY, XU YZ. MicroRNAs as biomarkers and therapeutic targets in doxorubicin-induced cardiomyopathy: a review[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 740515.
[12] 赵强,邹月柳,邹筱冬,等. β3肾上腺素能受体通过微小RNA对慢性心力衰竭大鼠左心房肌L型钙离子通道的调控[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2019,21(1): 67-71.
[13] RIZVI F, MIRZA M, OLET S, *et al*. Noninvasive biomarker-based risk stratification for development of new onset atrial fibrillation after coronary artery bypass surgery[J]. Int J Cardiol, 2020, 307: 55-62.
[14] TSOPORIS JN, FAZIO A, RIZOS IK, *et al*. Increased right atrial appendage apoptosis is associated with differential regulation of candidate MicroRNAs 1 and 133A in patients who developed atrial fibrillation after cardiac surgery[J]. J Mol Cell Cardiol, 2018, 121: 25-32.
[15] Ad Niv. MicroRNAs and post-operative atrial fibrillation: a step in the understanding of the mechanism and identifying reliable biomarkers.[J] .Eur J Cardiothorac Surg, 2017, 51(1): 78-79.
[16] AMIN MMJ, TREVELYAN CJ, TURNER NA. MicroRNA-214 in health and disease[J]. Cells, 2021, 10(12): 3274.
[17] 范泽楠,贺朝晖,方丹. 糖尿病血管并发症微小RNA研究进展[J]. 西南医科大学学报,2019,42(2): 199-204.
[18]HUR K, TOIYAMA Y, OKUGAWA Y, *et al*. Circulating microRNA-203 predicts prognosis and metastasis in human colorectal cancer[J]. Gut, 2017, 66(4): 654-665.
[19] MCMANUS DD, LIN HH, TANRIVERDI K, *et al*. Relations between circulating microRNAs and atrial fibrillation: data from the Framingham Offspring Study[J]. Heart Rhythm, 2014, 11(4): 663-669.
[20] LIU Z, ZHOU C, LIU YZ, *et al*. The expression levels of plasma micoRNAs in atrial fibrillation patients[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e44906.
[21] HAN RJ, LIU XQ, ZHENG ML, *et al*. Effect of remote ischemic preconditioning on left atrial remodeling and prothrombotic response after radiofrequency catheter ablation for atrial fibrillation [J]. Pacing Clin Electrophysiol, 2018, 41(3): 246-254.
[22] YUAN KX, ZHAO P, WANG LL. Molecular mechanism of atrial remodeling in patients with aging atrial fibrillation under the expression of microRNA-1 and microRNA-21[J]. Bioengineered, 2021, 12(2): 12905-12916.
[23] CHEN H, ZHANG F, ZHANG YL, *et al*. Relationship between circulating miRNA-21, atrial fibrosis, and atrial fibrillation in patients with atrial enlargement[J]. Ann Palliat Med, 2021, 10(12): 12742-12749.
[24] 齐苗苗,钱玲玲,王如兴. 小电导钙激活钾离子通道对心房颤动的影响[J]. 中国心脏起搏与心电生理杂志,2021,35(3): 262-266.
[25] LY OT, CHEN HN, BROWN GE, *et al*. Mutant ANP induces mitochondrial and ion channel remodeling in a human iPSC-derived atrial fibrillation model[J]. JCI insight, 2022, 7(7): e155640.

（2021-03-21 收稿，2022-05-16 修回）