

sociated with prosthetic joints [J]. N Engl J Med, 2009, 361(8):787-794.

- [28] BJARNSHOLT T, TOLKER-NIELSEN T, GIVSKOV M, et al. Detection of bacteria by fluorescence in situ hybridization in culture-negative soft tissue filler lesions [J]. Dermatol Surg, 2009, 35 Suppl 2: S1620-1624.
- [29] 张德刚, 于腾波. 人工关节置换术后假体感染的诊断和治疗研究进展[J]. 青岛大学医学院学报, 2010, 46(1): 92-94.
- [30] TRAMPUZ A, OSMON D R, HANSSEN A D, et al. Mo-

lecular and antibiofilm approaches to prosthetic joint infection[J]. Clin Orthop Relat Res, 2003(414): 69-88.

- [31] 段高飞, 韩峰, 李京宝, 等. 细菌生物膜相关感染的防治方法研究进展[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2010, 40(5): 107-111.
- [32] 陈波曼. 机械通气新生儿气管导管表面细菌生物膜形成及体外模型结构定量分析[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2006.

(收稿日期: 2017-10-25 修回日期: 2018-01-06)

• 综 述 •

miRNA 在早期心肌梗死表达新进展

马如超¹, 朱晓芸^{2#} 综述, 闫波^{3△} 审校

(1. 山东大学齐鲁医学部, 济南 250012; 2. 武汉大学人民医院, 武汉 430060; 3. 济宁医学院附属医院, 山东济宁 272000)

摘要: 心肌梗死(MI)是由冠状动脉被完全阻塞, 该部分心肌因无血液供氧而坏死, 是冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)的表现类型之一。对 MI 的早期诊断可影响病情发展, 甚至可逆转预后。近年研究发现, 微小核糖核酸(miRNA)可作为一种特殊的生物分子标志物, 在早期 MI 患者血液中检出。本文复习相关文献, 对 miRNA 在早期 MI 表达的研究作一综述。

关键词: 心肌梗死; 小核糖核酸; 生物学标志物; 诊断

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.09.027

中图法分类号: R446.19

文章编号: 1673-4130(2018)09-1116-04

文献标识码: A

据统计, 我国每年死于心血管病的人数约 350 万, 占居民总死亡人数的 41%^[1]。若能早期诊断并积极干预则可能会降低病死率, 诊断学的任务之一是不断探索、发现和验证疾病的有关规律^[2]。因此, 寻找一种稳定特异的生物学标志物来早期诊断尤为重要。研究发现微小核糖核酸(miRNA)与心血管系统疾病的发生发展有关^[3], 且多种 miRNA 分子在冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)中具有一定的特异性。心肌梗死(MI)是由冠状动脉被完全阻塞, 该部分心肌因无血液供氧而坏死, 是冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)的表现类型之一。本文对 miRNA 在早期 MI 表达的研究作一综述, 为临床对心血管病尤其是 MI 的早期诊断提供依据。

1 miRNA 的生物学特点

1993 年有学者首次发现 miRNA lin-4^[4-5], 且发现丧失后可能会引起动物结构异常、不孕及表达信号调控丧失等^[6]。miRNA 是一类长为 19~25 个核苷酸, 广布于人体的内源性非编码 RNA。它主要通过调控 mRNA 发挥功能, 其主要有两种形式: (1) 当两者不完全互补时, mRNA 翻译受限; (2) 当两者完全互补时, 引起 mRNA 降解^[7]。现有研究发现, miRNA 稳定的存在于血液中, 且不受内源性核糖核酸酶的影响^[8], 因而其可能作为疾病诊断的一类特殊的生物学标志物。随着对 miRNA 的深入研究, 现已发现 1 000

多种 miRNA, 可作为多种疾病如心血管疾病、糖尿病、自身免疫性疾病等^[9-11] 诊断的一类标志物^[12]。通过检测 miRNA 的水平, 可能为某些疾病的早期诊治带来福音。

2 各种 miRNA 在 MI 时水平的变化

在早期 MI 患者中, 大部分 miRNA 的水平是升高的, 如 miRNA-1、RNA-10、miRNA-30d、miRNA-93-5p、miRNA-103a、miRNA-122-5p、miRNA-125、miRNA-133、miRNA-208、miRNA-210、miRNA-221-3p、miRNA-423-5p、miRNA-499、miRNA-486-3p 等, 也有部分可能会降低, 如 miRNA-126、miRNA-145 等。下面对不同 miRNA 的研究进行详述。

2.1 miRNA-1 miRNA-1 在心肌中特异性表达, 可能作为 MI 诊断的特异性标志物之一。研究发现 MI 患者血浆中 miRNA-1 水平明显增高, 且在不同时间段也发生变化, 一般在 MI 发生后逐渐增加, (8.0 ± 0.5)h 时达高峰, 后渐下降, 1 周左右接近正常^[13]。这与随机对照实验结论类似, miRNA-1 在 MI 患者中水平明显高于对照组, 与年龄、性别等无相关性^[14]。同样, 体外实验中也发现了这一现象^[15]。在 Triton X-100 体外诱导的心肌细胞坏死模型中, 心脏 miRNA-1 可以释放到培养基中并至少稳定存在 24 h; 在兔的 MI 模型中 miRNA-1 在 MI 后 6 h 达到高峰(超过正常值 200 倍), 3 d 后恢复正常水平。而系统评价也证

共同第一作者。 △ 通信作者, E-mail: yanbo@mail.jnmc.edu.cn.

本文引用格式: 马如超, 朱晓芸, 闫波. miRNA 在早期心肌梗死表达新进展[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(9): 1116-1119.

实了 miRNA-1 在急性 MI 中具有高度敏感性^[16]。

2.2 miRNA-499 目前已有大量研究表明,miRNA-499 与急性 MI 存在相关性。CHEN 等^[17]收集了 73 例急性冠状动脉综合征患者(包括 53 例急性 MI,20 例不稳定性心绞痛)在不同时段的血清样本,通过定量 PCR 技术检测各样本 miRNA-499 含量。他们发现 53 例急性 MI 患者血清中 miRNA-499 水平明显高于 20 例不稳定心绞痛患者,且发现其在胸痛发生 24 h 内 miRNA 水平明显升高,7 d 后表达降至基线水平,并推测 miRNA-499 可作为诊断急性 MI 的一项新的生物学标志物。SHALABY 等^[18]的观点也与上述不谋而合,他们纳入了 110 例样本(包括 37 例不稳定性心绞痛,48 例非 ST 段抬高性 MI,25 例无胸痛患者),通过检测发现不稳定性心绞痛和非 ST 段抬高性 MI 患者的 miRNA-499 水平明显高于无胸痛患者。而 DEDDENS 等^[19]也发现在急性 MI 的早期 miRNA-499 的水平较基线水平升高约 780 倍,并认为在急性 MI 早期可通过检测 miRNA-499 表达水平及早做出诊断。同样地,O'SULLIVAN 等^[20]发现 miRNA-499-5p 在 ST 段抬高型 MI 患者中水平明显增加。此外,近期一项研究通过比较 miRNA-499 与传统的 MI 标志物[如心肌肌钙蛋白 I(cTnI)、心肌肌钙蛋白 T(cTnT)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)]发现,在血浆中 miRNA-499 的表达较传统的 MI 标志物可更早地被检出,可用于急性 MI 的早期诊断^[21]。

2.3 miRNA-208 miRNA-208 是 MI 早期诊断的又一标记物。一项心肌缺血再灌注损伤研究发现,心肌缺血后 miRNA-208 水平较基础升高^[22]。这一结论最初在动物(小鼠)模型中被发现,MI 小鼠血浆 miRNA-208 水平升高^[23]。后 D'ALESSANDRA^[24]也发现急性 MI 患者血清 miRNA-208b 的水平较基础水平升高大约 1 000 倍。最新的研究也证实了这一结论,并推断其可作为 MI 诊断的一项新的生物学标志物^[25]。

2.4 miRNA-125 尽管 miRNA-125 可在许多癌症患者中被检出^[26],但在心血管疾病中关于 miRNA-125 研究甚少,JIA 等^[27]发现急性 MI 患者的 miRNA-125 的水平高于正常对照组,且灵敏度较 cTnI 高。因此推断可通过检测患者血清 miRNA-125b-5p 水平早期诊断急性 MI。另通过 Kaplan Meier 生存分析显示 miR-125b-5p 水平与 6 个月的心血管事件相关。

2.5 miRNA-133 现已证实 miRNA-133 在心肌肥厚患者中水平升高^[28],而在 MI 患者中水平研究甚少。有文献称在急性 MI 缺血再灌注损伤中 miRNA-133 水平升高,随访也发现 miRNA-133 水平增高患者心血管不良事件发生率增加,由此可通过检测 miRNA-133 的水平评价疾病的预后^[29]。近期也有文献报道在急性 MI 患者中血浆 miRNA-133 水平增高^[9]。对于 miRNA-133 在 MI 患者中的水平变化仍

需大量数据来佐证。

2.6 miRNA-145 目前研究发现大部分 MI 患者中 miRNA 升高,但也有报道称其可能会降低。GAO 等^[30]发现在急性冠状动脉综合征患者血浆中 miRNA-145 水平降低,这种表现在 ST 段抬高性 MI 患者中尤为突出。而 ZHAO 等^[31]也指出在心血管疾病中 miRNA-145 的水平会发生变化,并推断它可能是一种潜在的 MI 诊断的生物学标志物。

2.7 其他 miRNA 随着研究的不断深入,大量的 miRNA 被随之发现。除上述所列举外,还有如 miRNA-210^[18]、miRNA-221-3p^[32]、miRNA-10^[33]、miRNA-30d^[34]、miRNA-423-5p^[34]、miRNA-93-5p^[20]、miRNA-103a^[35]、miRNA-122-5p^[29,36]、miRNA-486-3p^[37]等在 MI 中水平升高,miRNA-126^[38]在 MI 中水平出现降低。但具体关联尚不明确,仍需大量研究来证实。

3 讨 论

miRNA 在 MI 的诊断中可能具有独特的优势,但有部分 miRNA 的水平不仅在 MI 后水平发生变化,在其他疾病中也会发生变化,例如恶性肿瘤等疾病^[38],缺乏一定的特异性。另目前对 MI 后 miRNA 表达的研究所纳入的样本有限,缺乏循证医学证据,还需要大量的临床实验研究来佐证。

MI 的诊断依赖于血液学检查、心电图、冠状动脉造影和冠状动脉 CT,但往往由于这些辅助检查只能在 MI 发生后一段时间才能被检测,可能会使患者错过最佳治疗时间窗。借助于科学技术的高速发展和应用,现代医学诊断技术有了显著的进步,对传统检查手段形成了前所未有的冲击^[39]。而 miRNA 在 MI 的早期表达,具有细胞外稳定表达,灵敏度较传统的心肌酶学标志物高等优点,因此可通过检测血浆 miRNA 的水平早期诊断并及时干预。现有研究表明 miRNA-1、miRNA-499 等可能会作为 MI 的早期诊断指标。但 miRNA 的检测若在临床中开展可能会受到以下几方面的限制:(1)检测需行 RT-PCR,需有 PCR 仪以及一些特殊的化学试剂,可能会使一些经济欠发达地区受限制;(2)PCR 仪需要有专业人员的操作,部分医院不具备这样的人员;(3)miRNA 的整个检测过程较传统的心肌酶检测耗费时间长;(4)miRNA 检测需要的费用较传统方法高。

由于不同原因致使 miRNA 的检测在临床应用中受限,在今后的研究中应该从以下两方面进行:(1)寻找灵敏度与特异度高的 miRNA,便于早期诊断;(2)简化检测操作,开发程序化的检测系统。

综上所述,miRNA 在早期 MI 患者中稳定表达,随着分子生物学诊断技术的发展,其可能是一种相对理想的生物学标志物。另外随着精准医学的提出,人们会更加关注 MI 的精准诊断,miRNA 作为一种新的信号分子,揭开两者间的神秘面纱,将是今后研究的重点。

参考文献

- [1] 王文,朱曼璐,王拥军,等.《中国心血管病报告 2012》概要[J]. 中国循环杂志,2013,28(6):408-412.
- [2] 潘祥林,王鸿利. 诊断学的任务与发展方向[J/CD]. 中华诊断学电子杂志,2013,1(1):8-9.
- [3] SMALL E M, OLSON E N. Pervasive roles of microRNAs in cardiovascular biology [J]. *Nature*, 2011, 469(7330):336-342.
- [4] LEE R C, FEINBAUM R L, AMBROS V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with anti-sense complementarity to *lin-14* [J]. *Cell*, 1993, 75(5):843-854.
- [5] WIGHTMAN B, HA I, RUVKUN G. Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans* [J]. *Cell*, 1993, 75(5):855-862.
- [6] JONES BUIE J N, GOODWIN A J, COOK J A, et al. The role of miRNAs in cardiovascular disease risk factors[J]. *Atherosclerosis*, 2016, 254(2):271-281.
- [7] PRATT A J, MACRAE I J. The RNA-induced silencing complex; a versatile gene-silencing machine [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(27):17897-17901.
- [8] PAJIC J, JOVICIC D, PS MILOVANOVIC A. Micronuclei as a marker for medical screening of subjects continuously occupationally exposed to low doses of ionizing radiation[J]. *Biomarkers*, 2016(2):1-7.
- [9] AHLIN F, ARFVIDSSON J, VARGAS K G, et al. MicroRNAs as circulating biomarkers in acute coronary syndromes; a review[J]. *Vascul Pharmacol*, 2016, 81(1):15-21.
- [10] PAN F, YOU J, LIU Y, et al. Differentially expressed microRNAs in the corpus cavernosum from a murine model with type 2 diabetes mellitus-associated erectile dysfunction[J]. *Mol Genet Genomics*, 2016, 291(6):2215-2224.
- [11] CHEN J Q, PAPP G, SZODORAY P, et al. The role of microRNAs in the pathogenesis of autoimmune diseases [J]. *Autoimmun Rev*, 2016, 15(12):1171-1180.
- [12] ZAMPETAKI A, WILLEIT P, DROZDOV I, et al. Profiling of circulating microRNAs; from single biomarkers to re-wired networks[J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93(4):555-562.
- [13] LONG G, WANG F, DUAN Q, et al. Human circulating microRNA-1 and microRNA-126 as potential novel indicators for acute myocardial infarction[J]. *Int J Biol Sci*, 2012, 8(6):811-818.
- [14] AI J, ZHANG R, LI Y, et al. Circulating microRNA-1 as a potential novel biomarker for acute myocardial infarction[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 391(1):73-77.
- [15] CHENG Y, TAN N, YANG J, et al. A translational study of circulating cell-free microRNA-1 in acute myocardial infarction[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2010, 119(2):87-95.
- [16] NAVICKAS R, GAL D, LAUCEVICIUS A A, et al. Identifying circulating microRNAs as biomarkers of cardiovascular disease; a systematic review [J]. *Cardiovasc Res*, 2016, 111(4):322-337.
- [17] CHEN X, ZHANG L, SU T, et al. Kinetics of plasma microRNA-499 expression in acute myocardial infarction [J]. *J Thorac Dis*, 2015, 7(5):890-896.
- [18] SHALABY S M, EL-SHAL A S, SHOUKRY A, et al. Serum miRNA-499 and miRNA-210; A potential role in early diagnosis of acute coronary syndrome[J]. *IUBMB Life*, 2016, 68(8):673-682.
- [19] DEDDENS J, VRIJSEN K, COLIJN J, et al. Circulating extracellular vesicles contain miRNAs and are released as early biomarkers for cardiac injury [J]. *J Cardiovasc Transl Res*, 2016, 9(4):291-301.
- [20] O'SULLIVAN J F, NEYLON A, MCGORRIAN C, et al. MiRNA-93-5p and other miRNAs as predictors of coronary artery disease and STEMI[J]. *Int J Cardiol*, 2016, 224(4):310-316.
- [21] XIN Y, YANG C, HAN Z. Circulating miR-499 as a potential biomarker for acute myocardial infarction[J]. *Ann Transl Med*, 2016, 4(7):135.
- [22] KUKREJA R C, YIN C, SALLOUM F N. MicroRNAs; new players in cardiac injury and protection [J]. *Mol Pharmacol*, 2011, 80(4):558-564.
- [23] ADACHI T, NAKANISHI M, OTSUKA Y, et al. Plasma microRNA 499 as a biomarker of acute myocardial infarction[J]. *Clin Chem*, 2010, 56(7):1183-1185.
- [24] D'ALESSANDRA Y, POMPILIO G, CAPOGROSSI M C. Letter by D'Alessandra et al regarding article, "Circulating microRNA-208b and microRNA-499 reflect myocardial damage in cardiovascular disease"[J]. *Circ Cardiovasc Genet*, 2011, 4(1):7-8.
- [25] HAN Z, ZHANG L, YUAN L, et al. Change of plasma microRNA-208 level in acute myocardial infarction patients and its clinical significance[J]. *Annals of translational medicine*, 2015, 3(20):307.
- [26] YIN H, SUN Y, WANG X, et al. Progress on the relationship between miR-125 family and tumorigenesis[J]. *Exp Cell Res*, 2015, 339(2):252-260.
- [27] JIA K, SHI P, HAN X, et al. Diagnostic value of miR-30d-5p and miR-125b-5p in acute myocardial infarction [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(1):184-194.
- [28] MITCHELSON K R, QIN W Y. Roles of the canonical myomiRs miR-1, -133 and -206 in cell development and disease[J]. *World J Biol Chem*, 2015, 6(3):162-208.
- [29] CORTEZ-DIAS N, COSTA M C, CARRILHO-FERREIRA P, et al. Circulating miR-122-5p/miR-133b ratio is a specific early prognostic biomarker in acute myocardial infarction[J]. *Circ J*, 2016, 80(10):2183-2191.
- [30] GAO H, GUDETTI R R, MATSUZAWA Y, et al. Plasma levels of microRNA-145 are associated with severity of coronary artery disease[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5):e0123477.
- [31] ZHAO W, ZHAO S P, ZHAO Y H. MicroRNA-143/-145 in cardiovascular diseases [J]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015:531740.
- [32] COSKUNPINAR E, CAKMAK H A, KALKAN A K, et al. Circulating miR-221-3p as a novel marker for early

prediction of acute myocardial infarction[J]. Gene, 2016, 591(1):90-96.

- [33] LUO L, CHEN B, LI S, et al. Plasma miR-10a: A potential biomarker for coronary artery disease[J]. Dis Markers, 2016, 2016:3841927.
- [34] ERYILMAZ U, AKGULLU C, BESER N, et al. Circulating microRNAs in patients with ST-elevation myocardial infarction[J]. Anatol J Cardiol, 2016, 16(6):392-396.
- [35] HUANG L, LI L, CHEN X, et al. MiR-103a targeting Piezo1 is involved in acute myocardial infarction through regulating endothelium function[J]. Cardiol J, 2016, 23(5):556-562.
- [36] YAO X L, LU X L, YAN C Y, et al. Circulating miR-122-

5p as a potential novel biomarker for diagnosis of acute myocardial infarction[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(12):16014-16019.

- [37] WEI T, FOLKERSEN L, EHRENBORG E, et al. MicroRNA 486-3P as a stability marker in acute coronary syndrome[J]. Biosci Rep, 2016, 36(3):e00351.
- [38] Zhang C. Novel functions for small RNA molecules[J]. Curr Opin Mol Ther, 2009, 11(6):641-651.
- [39] 杨志寅. 现代医学科学发展中的缺憾与思考[J/CD]. 中华诊断学电子杂志, 2013, 1(1):1-7.

(收稿日期:2017-10-22 修回日期:2018-01-03)

• 综 述 •

腹泻病原体检测技术研究进展

王 健¹, 王鑫森², 李青凤^{1△}综述, 年庆功¹审校

(1. 北京军区疾病预防控制中心, 北京 100042; 2. 陆军军医大学军事预防医学院学员 17 营, 重庆 400038)

摘 要:腹泻发病率居高不下, 是全球范围内的重要公共卫生问题。腹泻最常见的原因是肠道病原体感染, 不同病原体引起的腹泻症状相似, 病原体种类繁多且常存在混合感染, 给肠道病原体的快速检测带来了困扰。本文对目前实验室、临床常用的肠道病原体检测方法进行综述, 汇总目前肠道病原体检测最有效、快捷的方法, 旨在为及时发现肠道病原体感染疫情、深入开展肠道病原体研究提供参考。

关键词:肠道病原体; 病原检测; 免疫学; PCR; 细菌培养

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.09.028

中图法分类号:R446.5

文章编号:1673-4130(2018)09-1119-04

文献标识码:A

肠道病原体感染是腹泻发生的重要原因^[1]。腹泻不仅是婴幼儿死亡的主要原因之一, 也是全球范围内重要的公共卫生问题^[2]。全球每年约有多达 20 亿的腹泻病例, 主要集中在发展中国家^[3], 可能与较差的卫生条件有关。因而肠道病原体检测至关重要。目前检测肠道病原体的常见方法有: 显微镜检查、细菌和病毒的分离培养、免疫学方法、聚合酶链反应技术(PCR)、实时荧光定量 PCR 等, 但这些方法在检出率、时效性、成本等诸多方面均存在一定的缺陷。缺乏快速有效的病原体检测方法和体系, 即使对腹泻患者的粪便进行了相应的病原学检查, 其病因也较难明确。本文对目前肠道病原体的检测方法进行归纳对比, 旨在为一线检测工作者选择合适的方法提供参考。

1 检测方法概述

1.1 粪便常规检查 粪便常规检查的内容主要包含粪便的性状、颜色、有无寄生虫、红细胞、白细胞等。通过粪便的颜色和性状可获得一些疾病的信息。正常大便呈软泥样柱状, 棕黄色或黄色。如果呈黑色表示可能为上消化道出血; 呈红色则常见于肠下段出血性疾病, 如结肠或直肠癌、痔出血、痢疾等; 呈果酱色

则有可能是菌痢、阿米巴痢疾急性发作; 呈灰白色常见于阻塞性黄疸、钡餐造影术后。黏液便或脓血便常见于菌痢、肠炎等; 米汤样便则常见于霍乱、副霍乱。粪便常规检查对寄生虫疾病和真菌感染的检出具有重要意义。真菌属条件致病菌, 由真菌感染引起的慢性腹泻其发病率呈逐渐上升趋势, 在医院感染性腹泻中已成为主要病原体^[4]。粪便常规检查操作简便易行, 但获得的信息较为有限, 难以获得病原体的详细信息^[5]。即便如此, 粪便常规检查仍是临床辅助诊断的重要常用手段之一, 在腹泻患者的诊疗过程中发挥重要作用。

1.2 病毒及细菌分离培养

1.2.1 病毒培养 导致腹泻的常见病毒有: 轮状病毒、诺如病毒、札如病毒、星状病毒等。采用病毒分离培养的方法灵敏度较低, 需要特殊的培养条件, 分离时间较长, 且只有部分病毒能进行培养, 因此肠道病毒培养并不作为临床常规检测方法使用^[6]。但在科研机构中, 病毒分离培养是进行相关病毒研究的基础方法, 在未来一定时间内仍将被广泛应用。

1.2.2 细菌培养 肠道细菌培养是将粪便接种于特殊培养基或增菌液中进行培养的方法。常见的选择

△ 通信作者, E-mail: lqfnds69@sina.com。