

尘肺患者血浆 miR-222 和纤维蛋白原水平检测的临床意义

刘其才*, 闫 凯

(安全监管总局职业安全卫生研究中心 石龙医院 北京 102308)

摘要: **目的** 探讨尘肺患者血浆 miR-222、纤维蛋白原检测的临床意义。**方法** 选择尘肺患者 91 例(I 期 42 例, II 期 24 例, III 期 25 例;其中合并肺心病 23 例)和同期门诊无尘肺健康体检者 40 例。检测其血浆 miR-222、纤维蛋白原表达水平,比较尘肺不同分期之间以及尘肺患者与健康体检者血浆 miR-222、纤维蛋白原水平的差异。**结果** 尘肺患者血浆 miR-222、纤维蛋白原水平明显高于健康体检者(P 均 <0.05);并发肺心病的尘肺患者血浆 miR-222、纤维蛋白原水平高于单纯尘肺患者(均 $P < 0.05$);在 91 例尘肺患者中,II 期、III 期尘肺患者中血浆 miR-222、纤维蛋白原水平明显高于 I 期尘肺(P 均 <0.05),两者的表达水平随着病情进展而表达增高;相关分析发现在尘肺患者中 miR-222 表达与纤维蛋白原的表达呈显著正相关($P < 0.01$)。**结论** miR-222、纤维蛋白原在尘肺患者血浆中表达增高,在尘肺合并肺心病患者中表达更高,并且随着病情进展表达增高,且两者在尘肺患者中的表达呈正相关,监测血浆 miR-222、纤维蛋白原水平对尘肺患者凝血状态、抗凝治疗以及并发症的防治具有一定指导意义。

关键词: 尘肺; 血浆 miR-222; 纤维蛋白原**中图分类号:** R135.2 **文献标识码:** A

尘肺病目前是在中国发病率最高、危害最为严重的职业病^[1]。肺细小动脉血栓形成以及栓塞是导致慢性肺源性心脏病的重要原因,静脉血栓栓塞症是尘肺病最严重的急性并发症之一^[2]。循环 miRNA,也被称为无细胞 miRNA,极有希望成为新型的一类可靠的微创疾病生物标志物,能够检测出疾病的发病早期,因为它们在与疾病状态相关的血清/血浆中是高度稳定的,且敏感性和特异性的测量也相对简单。此外,经证实,miRNA 在其他体液(如尿液,唾液,乳液和细胞培养上清液)中也是稳定的^[3]。研究表明在 74 例尘肺患者中血清 miR-16 表达相对较高,而血清 miR-204 表达相对较低^[4]。最近研究发现在煤炭引起的尘肺患者中通过全基因组检测发现 miR-222, miR-18a*, miR-149 以及 miR-671-3p 存在较大差异^[5]。目前研究者发现的血浆 miRNAs 已有上百种,其中 miR-222 是一个重要的 miRNA 分子。研究显示,miR-222 在多种疾病和肿瘤中表达增高,包括有乳腺癌、膀胱癌、结肠癌、胶质母细胞瘤以及肺癌^[6-9],提示 miR-222 可能是一个潜在的致病因子。纤维蛋白原是一种由肝脏合成的具

有凝血功能的蛋白质。纤维蛋白原可特异性反映体内血浆高凝状态的重要指标。本研究对尘肺患者血浆 miR-222、纤维蛋白原的水平进行了检测。探讨其与尘肺发展的关系,以便找出更好的诊治与预后指标。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择本院在 2012 年 1 月~2014 年 12 月期间住院治疗的尘肺病患者 91 例(尘肺组),年龄 35~74(53.1 ± 7.6)岁。根据患者是否合并慢性肺源性心脏病分为尘肺合并肺心病组以及单纯尘肺组。尘肺合并肺心病组 33 例,单纯尘肺组 58 例。其中 I 期 42 例,II 期 24 例,III 期 25 例。另取门诊或体检无尘肺健康体检者 38 例为对照组,其年龄、性别与尘肺组比较差异无统计学意义,具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 血浆纤维蛋白原水平检测 所有患者在入院后次日清晨抽取空腹静脉血 5 mL,置于 EDTA 抗凝管中轻轻摇晃数下,然后室温下 1 000 rpm 离心 10 min,按说明书检测血浆纤维蛋白原水平。

1.2.2 血浆 miR-222 水平检测 血浆 miR-222 抽

提试剂盒:mirVana PARIS Kit(美国 Applied Biosystems 公司):血清样品与等体积裂解液,震荡混匀,冰上孵育 5 min;加等量三氯甲烷,震荡 60 s 离心,吸取上层水相至一新试管;将上层水相吸至新试管,加入无水乙醇并充分混匀;将滤筒放置收集管之上,吸取上述样品与乙醇的混合液至滤筒,不超过 700 μ L,将滤筒和收集管同时离心过滤,倒掉收集管中的滤液,用相同的方法将同一个样品剩余的液体过滤;加 700 μ L miRNA 至已结合样品的滤筒,离心,倒去收集管内的滤液;加入 500 μ L miRNA 至滤筒,离心,倒去收集管内的滤液;重复步骤 1 次;离心甩干滤筒内残余液体;在滤筒下接一新收集管,在滤筒加入 95 $^{\circ}$ C 预热的无酶水 60 μ L,立即盖上盖,静置 2 min 将滤筒和收集管同时离心(8 000 g,室温,2 min),离心后收集管内总 RNA 溶液,立即保存于 -80° C。然后采用实时定量 PCR 进行检测。

1.2.3 统计学方法 采用 SPSS16.0 统计软件;计量资料用均数 $\pm$ 标准差表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 尘肺合并肺心病组、单纯尘肺组与对照组血浆 miR-222、纤维蛋白原水平变化 结果显示,总的尘肺组血浆 miR-222 为 (2.94 ± 0.34) 较对照组 (1.08 ± 0.17) 水平均显著升高($P < 0.05$),尘肺合并肺心病组血浆 miR-222 (3.97 ± 0.39) 较单纯尘肺组 (2.11 ± 0.26) 水平明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。总的尘肺组血浆纤维蛋白原表达值 (3.33 ± 0.41) 较对照组 (2.33 ± 0.24) 水平显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$),尘肺合并肺心病组血浆纤维蛋白原表达值 (4.99 ± 0.53) 较单纯尘肺组 (2.77 ± 0.31) 水平明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 尘肺各组与对照组血浆 miR-222、纤维蛋白原水平比较

组别	<i>n</i>	miR-222	纤维蛋白原
总尘肺组	91	2.94 ± 0.34^a	3.33 ± 0.41^a
对照组	40	1.08 ± 0.17	2.33 ± 0.24
尘肺合并肺心病组	33	3.97 ± 0.39^{ab}	4.99 ± 0.53^{ab}
单纯尘肺组	58	2.11 ± 0.26	2.77 ± 0.31

与对照组比较,a; $P < 0.05$;与单纯尘肺组比较,b; $P < 0.05$

2.2 尘肺组不同分期血浆 miR-222、纤维蛋白原水平 II 期、III 期尘肺血浆 miR-222 水平分别为 (2.07 ± 0.24) 、 (3.75 ± 0.47) ,与 I 期 (1.52 ± 0.17) 比较,差异均有显著性(均 $P < 0.05$)。II 期、III 期尘肺血浆纤维蛋白原水平分别为 (3.77 ± 0.34) 、 (4.92 ± 0.61) ,与 I 期 (2.85 ± 0.21) 比较,差异均有显著性(均 $P < 0.05$)。见表 2。尘肺患者中血浆 miR-222、纤维蛋白原水平随着病情进展而表达增高。

表 2 不同分期尘肺患者血浆 miR-222 和纤维蛋白原水平比较

分期	<i>n</i>	miR-222	纤维蛋白原(mg/L)
I 期	42	1.52 ± 0.17	2.85 ± 0.21
II 期	24	2.07 ± 0.24^a	3.77 ± 0.34^a
III 期	25	3.75 ± 0.47^b	4.92 ± 0.61^a

与 I 期组比较,a; $P < 0.05$,b; $P < 0.01$

2.3 尘肺组中 miR-222 和纤维蛋白原表达成正相关 经 Spearman 相关分析 miR-222 表达和纤维蛋白原呈显著正相关($r = 0.775$, $P = 0.000$),见图 1。

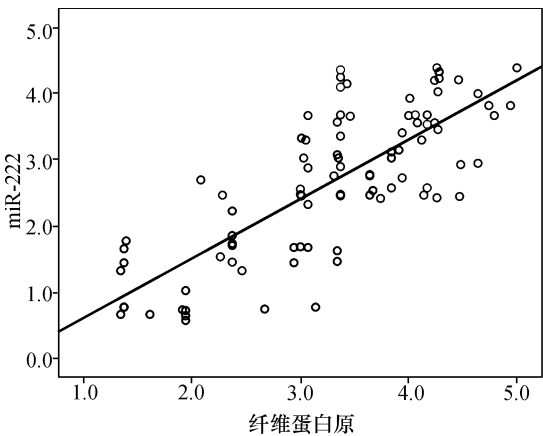


图 1 Spearman 相关分析 miR-222 表达和纤维蛋白原呈显著正相关

3 讨 论

尘肺病是目前我国常见职业病之一,具有发病率高、危害性大的特点^[1]。肺内长期大量存在的煤尘刺激机体产生免疫反应,释放大量的炎症细胞、炎症因子。持续的慢性炎症反应、血液黏稠度的增高及血流速度减慢是血管内皮损伤的重要因素,而血

管内皮损伤是血栓形成的重要诱因。miRNA 是一类长约 22~25 nt 的非编码单链小分子 RNA。miRNA 能够调控癌基因和肿瘤抑制基因的转译,这提示着他们参与癌变的过程。研究表明^[3],人类血清及血浆中也存在 miRNA,并且在其他体液(如唾液、尿液、乳液和细胞培养基上清液)中也是稳定存在。循环 miRNA 目前作为一种具有前景的新型非侵入性生物标志物,在不同疾病中的表达具有重要的临床意义。miR-222 是特异性反应体内高凝状态及纤溶亢进的一种生物标志物。血浆纤维蛋白原升高能引起机体红细胞聚集,进而血小板活化而致血栓形成,常规用来判定血栓前状态、气道进行性炎症及肺组织损伤的指标^[10-12]。

本文研究证实了尘肺患者血浆 miR-222、纤维蛋白原水平明显升高,具有统计学意义,提示尘肺患者可能存在高凝状态并伴有纤溶亢进;在尘肺患者中,I、II、III 期之间 miR-222、纤维蛋白原水平均有统计学意义,尘肺患者中血浆 miR-222、纤维蛋白原水平随着分期进展表达增高。提示尘肺患者的高凝状态可能与尘肺分期相关,随分期的越高而加重;在并发肺心病的尘肺患者血浆 miR-222、纤维蛋白原水平明显高于单纯尘肺患者,提示两者的表达增高可能与肺心病相关,肺心病发生了血管重构、肺动脉高压及慢性肺细动脉、小动脉原位血栓形成,引起通气/血流比例失调,红细胞代偿性增生,导致血液黏稠、血流速度减慢,导致血管内皮细胞损伤,激活机体凝血系统,使得机体处于高凝状态及纤溶亢进^[13]。另外结果发现 miR-222 和纤维蛋白原成显著正相关,联合检测二者将更有意义,因此结合 miR-222、纤维蛋白原相关研究,尘肺患者血液存在高凝状态,通过监测血浆 miR-222、纤维蛋白原水平对尘肺抗凝治疗及预防肺微小动脉原位血栓形成有指导意义。

综上所述,临床工作中应该注意检测 miR-222、纤维蛋白原的水平,有利于把握尘肺患者的凝血状态,尤其在尘肺并发肺心病时,高凝状态明显加重,提示可能存在栓塞或血栓形成,积极检测患者 miR-222、纤维蛋白原的水平,可以及时予以抗凝治疗,预防肺血栓栓塞症的形成,可降低肺动脉高压,减少肺血管重塑,减慢肺心病的进展,提高患者的生存期及生活质量。因此,研究 miR-222、纤维蛋白原水平的临床价值对尘肺患者具有重要意义。

参考文献:

- [1] 徐希娴,赵赞梅.尘肺病例的发病特点分析[J].中华劳动卫生职业病杂志,2011,29(4):303-305.
- [2] 陈亮,李怡,焦志红.煤工尘肺合并静脉血栓栓塞症的临床分析[J].中国工业医学杂志,2012,25(5):350-351.
- [3] Park NJ,Zhou H,Elashoff D. Salivary microRNA: discovery, characterization, and clinical utility for oral cancer detection [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15 (17): 5473-5477.
- [4] Zhang M,Wang Y,Yang D,et al. Effect of smoking on the microRNAs expression in pneumoconiosis patients [J]. Zhonghua Lao Dong Wei Sheng Zhi Ye Bing Za Zhi, 2014,32(9):686-688.
- [5] Guo L, Ji X, Yang S, et al. Genome-wide analysis of aberrantly expressed circulating miRNAs in patients with coal workers' pneumoconiosis [J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(5): 3739-3747.
- [6] Hwang MS, Yu N, Stinson SY, et al. miR-221/222 targets adiponectin receptor 1 to promote the epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer [J]. PLoS One, 2013, 8 (6): e66502.
- [7] Lee C, He H, Jiang Y. Elevated expression of tumor miR-222 in pancreatic cancer is associated with Ki67 and poor prognosis [J]. Med Oncol, 2013, 30(4): 700.
- [8] Zhang DQ, Zhou CK, Jiang XW, et al. Increased expression of miR-222 is associated with poor prognosis in bladder cancer [J]. World J Surg Oncol, 2014, 12: 241.
- [9] Xu K, Liang X, Shen K, et al. MiR-222 modulates multi-drug resistance in human colorectal carcinoma by down-regulating ADAM-17 [J]. Exp Cell Res, 2012, 318(17): 2168-2177.
- [10] 孙峰,魏燃.矽肺患者血流变学指标临床分析[J].中外医学研究,2011,9(3):34.
- [11] 周洋,龚建化,黄河,张家洪. COPD 患者 D-二聚体和纤维蛋白原检测的临床价值 [J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(1): 16-17.
- [12] 杨琳红,王璐,孔令敏,等.尘肺患者 T 细胞亚群的改变与肺功能的关系 [J]. 山东医药, 2009, 49 (49): 86-87.
- [13] 宋丽红,程兆忠.尘肺患者血浆 D-二聚体和纤维蛋白原水平检测的临床意义 [J]. 山东医药, 2014, 54(37): 38-39.

(本文编辑:蒋湘莲)