

血清 lncRNA-ENST00000414355 与原发性高血压病的关联性研究

周志衡, 黄志杰, 陈宝欣, 张雪姣, 陈文如

基金项目: 国家自然科学基金项目(编号:81473001); 广东省普通高校重点项目(编号:2019GZDXM017); 广东省医学科研基金项目(编号:A2019128); 深圳市科创委项目(编号:JCYJ20180306140801775)

作者单位: 518049 广东,深圳市福田区第二人民医院心血管内科(周志衡,陈文如); 511325 广东,广州华立科技职业学院(黄志杰); 519020 澳门,澳门理工学院(陈宝欣); 518048 广东,深圳市福田区慢性病防治院(张雪姣)

作者简介: 周志衡(1978-),男,医学博士,副教授,研究方向:全科医学与慢性病管理。E-mail:zhizhengz@163.com

通信作者: 陈文如(1969-),男,大学本科,医学学士,主任医师,研究方向:慢性病的防治。E-mail:415657702@qq.com

[摘要] **目的** 探讨血清 lncRNA-ENST00000414355 与原发性高血压病的关联性。**方法** 选择 2019 年 7 月至 2019 年 11 月深圳市福田区第二人民医院收治的原发性高血压患者 360 例(观察组),按照 1:1 配对原则选择同期于深圳市福田区第二人民医院接受体检的健康者 360 名(对照组)。应用实时定量逆转录聚合酶链反应(RT-qPCR)法检测研究对象血清 lncRNA-ENST00000414355 的表达水平。比较两组的临床资料,分析 lncRNA-ENST00000414355 水平与原发性高血压病的关联性。**结果** 两组饮酒、定期锻炼、糖尿病史情况,以及空腹血糖、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL)水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。观察组吸烟人数比例,以及体质指数(BMI)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、lncRNA-ENST00000414355 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。logistic 回归分析结果显示,有吸烟行为($OR = 2.231$)、较高水平的 BMI($OR = 1.994$)、TC($OR = 1.278$)和 lncRNA-ENST00000414355($OR = 2.057$)是促进原发性高血压发生的危险因素($P < 0.05$)。Pearson 相关分析结果显示,血清 lncRNA-ENST00000414355 水平与收缩压、舒张压、BMI、TC 及 LDL 呈正相关($P < 0.05$)。**结论** 原发性高血压患者血清 lncRNA-ENST00000414355 呈高表达,并与血压和血脂呈正相关性。lncRNA-ENST00000414355 具有作为原发性高血压病标志物的应用前景。

[关键词] 原发性高血压病; 长链非编码 RNA; 危险因素

[中图分类号] R 544.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2021)10-1000-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2021.10.10

A study on the relationship between serum lncRNA-ENST00000414355 and essential hypertension ZHOU Zhi-heng, HUANG Zhi-jie, CHEN Bao-xin, et al. Department of Cardiovascular Medicine, the Second People's Hospital of Futian District Shenzhen City, Guangdong 518049, China

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between serum lncRNA-ENST00000414355 and essential hypertension. **Methods** Three hundred and sixty patients with essential hypertension(the observation group) who were admitted to the Second People's Hospital of Futian District Shenzhen City from July 2019 to November 2019 were selected. According to the 1:1 matching principle, three hundred and sixty healthy subjects receiving physical examination at the Second People's Hospital of Futian District Shenzhen City during the same period were selected as the control group. Real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction(RT-qPCR) was used to detect the expression level of lncRNA-ENST00000414355 in the subjects' serum. The clinical data were compared between the two groups, and the relationship between the level of lncRNA-ENST00000414355 and essential hypertension was analyzed. **Results** There were no significant differences in alcohol consumption, regular exercise, history of diabetes, and fasting blood glucose, triglyceride(TG) and high-density lipoprotein(HDL) levels between the two groups($P > 0.05$). The proportion of smokers, and the levels of Body Mass Index(BMI), total cholesterol(TC), low-density lipoprotein(LDL), and lncRNA-ENST00000414355 in the observation group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant($P < 0.05$). The results of logistic regression analysis showed that smoking behavior

($OR=2.231$), higher levels of BMI($OR=1.994$), TC($OR=1.278$), and lncRNA-ENST00000414355($OR=2.057$) were the risk factors promoting the occurrence of essential hypertension($P<0.05$). The results of Pearson correlation analysis showed that the level of serum lncRNA-ENST00000414355 was positively correlated with systolic blood pressure, diastolic blood pressure, BMI, TC and LDL($P<0.05$). **Conclusion** Serum lncRNA-ENST00000414355 is highly expressed in patients with essential hypertension, and is positively related to blood pressure and blood lipids. lncRNA-ENST00000414355 has an application prospect as a marker for essential hypertension.

[**Key words**] Essential hypertension; Long non-coding ribonucleic acid(lncRNA); Risk factor

目前,我国居民原发性高血压病的发病率有逐年增高的趋势。流行病学调查数据显示,我国 18 岁及以上居民原发性高血压患病率从 1980 年的 7.7% 上升至 2018 年的 25.2%,现存患者数超过 2.7 亿^[1-2]。高血压病已经成为主要公共卫生问题之一^[3],国内外学者对高血压的发生、发展机制进行了广泛而深入的研究。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是近年来在慢性病领域研究的热点,其与许多疾病的发生、发展及预后具有关联。有研究显示,lncRNA TUG1、lncRNA H19、lncRNA AK098656 和 lncRNA MALAT1 等在血管重构、诱发血管外周压力增大、调节血管生成和血管疾病神经网络方面具有重要的调节作用^[4-7]。本课题组既往研究发现,lncRNA-

ENST00000414355 具有调控细胞的 DNA 损伤与修复的功能^[8],但其在高血压中的作用还未有报道。鉴此,本研究旨在探讨人血清 lncRNA-ENST00000414355 与原发性高血压病的关联性,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择 2019 年 7 月至 2019 年 11 月深圳市福田区第二人民医院收治的原发性高血压患者 360 例(观察组)。根据观察组性别、年龄、籍贯、经济收入情况,按照 1:1 配对原则选取同期于深圳市福田区第二人民医院接受体检的健康者 360 名(对照组)。两组一般情况比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表 1。所有研究对象的血液标本及信息收集均获得患者的知情同意。

表 1 两组一般情况比较[($\bar{x}\pm s$), n]

组别	例数	性别		年龄 (岁)	民族		职业					月收入 (元)
		男	女		汉族	少数民族	干部	工人	个体工商人员	其他	退休	
观察组	360	196	164	47.27±7.14	354	6	41	122	32	34	131	8900.00±745.00
对照组	360	196	164	46.98±7.02	354	6	39	123	32	35	131	8921.00±810.00
ν/χ^2	-	0.000		0.550	0.000		0.069					0.362
P	-	1.000		0.583	1.000		0.999					0.717

1.2 纳入与排除标准

1.2.1 观察组纳入与排除标准 纳入标准:(1)符合《中国高血压防治指南(2018 年修订版)》^[9]中关于原发性高血压病的诊断标准;(2)新发高血压患者,未服用过降压药;(3)年龄≥18 岁。排除标准:(1)继发性高血压患者;(2)未能完成问卷调查和本次体检相关项目者。

1.2.2 对照组纳入与排除标准 纳入标准:(1)年龄≥18 岁;(2)既往无高血压病史,且经双臂 3 次测量血压值均符合收缩压<140 mmHg 和舒张压<90 mmHg。排除标准:(1)合并恶性肿瘤、内分泌系统疾病或自身免疫性疾病者;(2)合并精神病史或有精神病家族史者;(3)合并严重的心、肝、肾脏疾病者;(4)近期有感染或其他重大疾病史者。

1.3 资料收集及相关判断标准 通过问卷方式收集研究对象的年龄、性别、职业、既往病史、服药史、

吸烟、饮酒等情况。测量研究对象的血压值、体质量指数(Body Mass Index, BMI)等一般指标。以截止至受调查当天,在调查前 30 d 内吸过烟,而且连续或累积吸烟 6 个月或以上者,则定义为有吸烟行为。以每周至少饮酒 1 次定义为有饮酒行为。以每周运动 3 次及以上,平均每次运动超过 30 min 定义为定期锻炼。

1.4 生化指标检测 于清晨采集受试者空腹肘部静脉血约 3 ml。采用全自动生化分析仪(型号:7600-020, ISE),血脂生化检测试剂盒(博奥生物)检测总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)、血糖。

1.5 lncRNA-ENST00000414355 水平检测 采用含抗凝剂的紫色采血管采集 5 ml 静脉血,4℃静置 30 min,室温下 3 000 r/min 离心 15 min,取上层血清,-80℃

保存备用。检测时,解冻样本,以 Trizol 法提取样本总 RNA,应用逆转录试剂盒(Fermentas K1622,Thermo Scientific 公司)将其逆转录为 cDNA。应用实时定量逆转录聚合酶链反应(real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction,RT-qPCR)法检测 lncRNA-ENST00000414355 水平,操作方法严格按照 RT-qPCR 试剂盒(Promega,美国)说明书进行。所用引物由上海生工公司合成,序列见表 2。以 β -actin 为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算其相对表达水平。

表 2 引物序列	
引物名	序列
lncRNA-ENST00000414355	Forward:5'-CAGAAAGAAGCCAAACAAGGAG-3'
	Reverse:5'-AACCAACAAACACTCAGCAG-3'
β -actin	Forward:5'-ACAGAGCCTCGCCTTTCGCGAT-3'
	Reverse:5'-CTTGCACATGCCGAGCCGCTT-3'

表 3 两组生活行为及临床生化指标比较[($\bar{x} \pm s$), $n(\%)$]											
组别	例数	吸烟	饮酒	定期锻炼	BMI (kg/m^2)	糖尿病史	空腹血糖 (mmol/L)	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL (mmol/L)	LDL (mmol/L)
观察组	360	158(43.89)	169(46.94)	184(51.11)	26.81 $\pm$ 5.61	57(15.83)	5.28 $\pm$ 0.84	4.80 $\pm$ 0.51	1.55 $\pm$ 0.21	1.08 $\pm$ 0.21	2.98 $\pm$ 0.35
对照组	360	114(31.67)	151(41.94)	189(53)	24.75 $\pm$ 5.97	52(14.44)	5.19 $\pm$ 0.76	4.76 $\pm$ 0.45	1.25 $\pm$ 0.18	1.01 $\pm$ 0.18	2.14 $\pm$ 0.31
t/χ^2	-	11.439	1.823	0.139	4.771	0.270	1.507	1.116	20.580	1.801	34.088
P	-	0.000	0.177	0.709	0.000	0.600	0.066	0.245	0.000	0.124	0.000

2.2 两组血清 lncRNA-ENST00000414355 的表达水平比较 RT-qPCR 检测结果显示,观察组血清 lncRNA-ENST00000414355 的相对表达量高于对照组,差异有统计学意义[(7.15 $\pm$ 0.87) vs (1.15 $\pm$ 0.45); $t = 116.518, P = 0.000$]。

2.3 影响原发性高血压发生的多因素 logistic 回归分析结果 以是否患有原发性高血压病为因变量(1 = 是,0 = 否),将上述有统计学意义的指标[吸烟(1 = 有,0 = 无)、BMI、TC、LDL、lncRNA-ENST00000414355]作为自变量进行 logistic 回归分析,结果显示,有吸烟行为、较高水平的 BMI、TC 和 lncRNA-ENST00000414355 是促进原发性高血压发生的危险因素($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 影响原发性高血压发生的多因素 logistic 回归分析结果					
因素	B	$S.E.$	$Wald$	P	$OR(95\%CI)$
吸烟	0.794	0.225	2.462	0.000	2.231 (1.421 ~ 3.427)
BMI	0.659	0.302	4.914	0.021	1.994 (1.091 ~ 3.583)
TC	0.246	0.066	3.646	0.000	1.278 (1.122 ~ 1.456)
lncRNA-ENST00000414355	0.721	0.209	11.958	0.001	2.057 (1.367 ~ 3.095)

2.4 血清 lncRNA-ENST00000414355 与相关指标的相关性分析结果 Pearson 相关分析结果显示,血清 lncRNA-ENST00000414355 水平与收缩压、舒张压、BMI、TC 及 LDL 呈正相关($P < 0.05$)。见表 5。

1.6 统计学方法 应用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用成组 t 检验。计数资料以例数(百分率)[$n(\%)$]表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用多因素 logistic 回归分析探讨影响原发性高血压发生的因素。采用 Pearson 相关分析探讨血清 lncRNA-ENST00000414355 与相关指标的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组生活行为及临床生化指标比较 两组饮酒、定期锻炼、糖尿病史情况,以及空腹血糖、TG、HDL 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。观察组吸烟人数比例,以及 BMI、TC、LDL 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 5 血清 lncRNA-ENST00000414355 与相关指标的 相关性分析结果		
指标	r	P
收缩压(mmHg)	0.547	0.000
舒张压(mmHg)	0.418	0.000
年龄(岁)	0.137	0.415
平均每天吸烟量(支/d)	0.341	0.124
平均每天饮酒量(ml/d)	0.287	0.114
BMI(kg/m^2)	0.517	0.000
空腹血糖(mmol/L)	0.374	0.163
TC(mmol/L)	0.681	0.000
TG(mmol/L)	0.431	0.087
HDL(mmol/L)	0.397	0.105
LDL(mmol/L)	0.714	0.000

3 讨论

3.1 目前,高血压病已经成为我国最常见的慢性病之一,引起了各地医疗机构和学者的重点关注。“健康中国”心血管疾病防治行动明确提出,到 2030 年,我国 30 岁及以上居民的高血压知晓率应不低于 65%,高血压患者的规范管理率不低于 70%,高血压治疗率和控制率应持续提高^[10]。并希望通过全社会的努力,做到人人知晓个人血压、控制高血压危险因素、自我血压管理、注重合理膳食和酌情量力运动等。而“健康中国”行动计划中,有 11 项行动与高血压的防治相关^[11]。

3.2 近年来,国内外学者对与高血压发生、发展及预后相关的生物标志物进行了广泛的研究。其中,

lncRNA 与高血压的关联性研究越来越受到重视^[12]。lncRNA 是一类转录本长度超过 200 nt 的 RNA 分子,可调控多种生物学过程,并与一些疾病的发生、发展具有关联,可作为疾病诊断、治疗和预测预后的标志物^[13-14]。Bayoglu 等^[15]的研究利用微阵列方法对自发性高血压大鼠(spontaneous hypertension rat, SHR)和健康大鼠心脏组织的基因表达情况进行了比较,发现在 991 个 lncRNA 中有 145 个的表达具有显著差异,其中 93 个表达上调,52 个表达下调;而基因富集分析显示 lncRNA CD-KN2B-AS1 多态性可能导致高血压患者的收缩压增高。lncRNA 可能参与了高血压病的发生、发展,但其具体机制还有待阐明^[4,16]。

3.3 lncRNA-ENST00000414355 是在第 9 号染色体上的非编码 RNA,位于第 44021071 位点到第 44021414 位点,全长 343 nt。本课题组既往研究发现,lncRNA-ENST00000414355 在镉毒性中具有多种调控功能,参与了细胞的 DNA 损伤、增殖和凋亡等生物学过程,并具有调控 DNA 损伤基因(ATM、ATR、ATRIP)和修复基因(DDB1、DDB2、OGG1、ERCC1、MSH2、RAD50、XRCC1 和 BARD1)表达水平的功能,这在大鼠动物模型和职业人群中得到了进一步验证^[8]。但其在高血压疾病中的作用仍未明确,鉴此,本研究对 lncRNA-ENST00000414355 与原发性高血压病的关联性进行了探讨。结果显示,较高水平的 lncRNA-ENST00000414355 是促进原发性高血压发生的危险因素,且血清 lncRNA-ENST00000414355 与收缩压、舒张压呈正相关。提示 lncRNA-ENST00000414355 参与了原发性高血压病的发生、发展过程。有研究显示,lncLSTR、lncRNA-DYNLRB2-2、lncRNA Lexis、lncRNA HULC 和 lnc-HC 与血脂代谢相关^[17-20]。本研究结果也显示,血清 lncRNA-ENST00000414355 与 BMI、TC 及 LDL 呈正相关。

综上所述,lncRNA-ENST00000414355 与原发性高血压病的发生具有关联性。但其与原发性高血压病的发展、预后的关系,以及对高血压调控功能的具体机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] 国家卫生健康委员会疾病预防控制局,国家心血管病中心,中国医学科学院阜外医院,等. 中国高血压健康管理规范(2019)[J]. 中华心血管病杂志,2020,48(1):10-46.
- [2] 严小芳,杨静玮,白雪珂,等. 华东地区 64 万成年人高血压知晓、治疗和控制情况[J]. 中华流行病学杂志,2020,41(1):68-73.
- [3] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- [4] 范少玮,杨洁,杨传华.长链非编码 RNA 在高血压发生发展过程中的研究进展[J]. 中华高血压杂志,2020,28(5):480-486.

- [5] Su H, Xu X, Yan C, et al. LncRNA H19 promotes the proliferation of pulmonary artery smooth muscle cells through AT1R via sponging let-7b in monocrotaline-induced pulmonary arterial hypertension[J]. Respir Res, 2018,19(1):254.
- [6] Kim C, Kang D, Lee EK, et al. Long noncoding RNAs and RNA-binding proteins in oxidative stress,cellular senescence,and age-related diseases[J]. Oxid Med Cell Longev, 2017,2017:2062384.
- [7] Michalik KM, You X, Manavski Y, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates endothelial cell function and vessel growth[J]. Circ Res, 2014,114(9):1389-1397.
- [8] Zhou Z, Liu H, Wang C, et al. Long non-coding RNAs as novel expression signatures modulate DNA damage and repair in cadmium toxicology[J]. Sci Rep, 2015,5:15293.
- [9] 中国高血压防治指南修订委员会,高血压联盟(中国,中华医学会心血管病学分会中国医师协会高血压专业委员会,等. 中国高血压防治指南(2018 年修订版)[J]. 中国心血管杂志,2019,24(1):24-56.
- [10] 王思琦,徐建伟,白雅敏,等. 人群减盐干预措施效果研究进展[J]. 中国慢性病预防与控制,2020,28(6):463-466.
- [11] 王继光. 健康中国 健康血压[J]. 中华心血管病杂志,2019,47(3):169-170.
- [12] Zhou H, Wang B, Yang YX, et al. Long noncoding RNAs in pathological cardiac remodeling: a review of the update literature[J]. Biomed Res Int, 2019,2019:7159592.
- [13] 段军仓,邹楠,王有鹏,等. GAS5 和 PTEN 在老年高血压患者血清中的表达及与内皮功能的关系[J]. 中华全科医学,2020,18(9):1508-1511.
- [14] Lv J, Wang L, Zhang J, et al. Long noncoding RNA H19-derived miR-675 aggravates restenosis by targeting PTEN[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018,497(4):1154-1161.
- [15] Bayoglu B, Yuxsel H, Cakmak HA, et al. Polymorphisms in the long non-coding RNA CDKN2B-AS1 may contribute to higher systolic blood pressure levels in hypertensive patients[J]. Clin Biochem, 2016,49(10-11):821-827.
- [16] Ballantyne MD, Pinel K, Dakin R, et al. Smooth muscle enriched long noncoding RNA(SMILR) regulates cell proliferation[J]. Circulation, 2016,133(21):2050-2065.
- [17] 林振浩,唐敏娜,胡嘉禄,等.非编码 RNA 与血脂代谢的研究进展[J]. 复旦学报(医学版),2020,47(1):122-127.
- [18] 胡镇. 脂肪因子趋化素与心血管疾病关系的研究进展[J]. 中国临床新医学,2019,12(3):329-331.
- [19] Tontonoz P, Wu X, Jones M, et al. Long noncoding RNA facilitated gene therapy reduces atherosclerosis in a murine model of familial hypercholesterolemia[J]. Circulation, 2017,136(8):776-778.
- [20] Zhang Z, Salisbury D, Sallam T. Long noncoding RNAs in atherosclerosis: JACC review topic of the week[J]. J Am Coll Cardiol, 2018,72(19):2380-2390.

[收稿日期 2021-04-04][本文编辑 余军韦颖]

本文引用格式

周志衡,黄志杰,陈宝欣,等. 血清 lncRNA-ENST00000414355 与原发性高血压病的关联性研究[J]. 中国临床新医学,2021,14(10):1000-1003.