DOI:10.16016/j.2097-0927.202409107

外周血piR-hsa-2700592在房颤患者预后中的预测研究

杨 蕾[1,2],邬 娜[2],杨岚清[2],陈彦秀[3],陈兴华[3],袁志权[2],李成英[2],吴 龙[2],曾雨虹[2],王 煜[1,2],钟 理[4],杨敬源[1],李亚斐[2] [1]贵州医科大学公共卫生与健康学院,环境污染与疾病监控教育部重点实验室,贵阳;[2]陆军军医大学(第三军医大学)军事预防医学系军队流行病学教研室,重庆;[3]陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院心内科,重庆;[4]重庆医科大学附属第三医院心血管疾病中心,重庆

[**摘要**] **目的** 探究外周血piR-hsa-2700592与房颤患者全因死亡和卒中结局的关联,确定piR-hsa-2700592是否具有作为房颤生物标志物的潜力。**方法** 纳入127名非瓣膜性房颤患者,检测血浆piR-hsa-2700592相对表达水平,运用Cox比例风险回归分析外周血piR-hsa-2700592的相对表达水平与房颤患者全因死亡和卒中结局的关联。比较分析在CHA_2DS_2-VASc评分及ABC卒中(或死亡)评分中分别加入血浆piR-hsa-2700592表达水平后,其新预测模型对2种结局预测能力的改善情况。应用受试者工作特征曲线下面积(area under the curve,AUC)、净重新分类指数(net reclassification improvement,NRI)、综合判别改善指数(integrated discrimination improvement,IDI)评估预测能力,通过决策曲线分析(decision curve analysis,DCA)比较临床净收益情况。**结果** 多因素Cox回归分析显示,外周血piR-hsa-2700592高表达水平的患者发生卒中的风险更高(*HR*:2.203;95%*CI*:1.120~4.332;*P*=0.022)。在卒中结局中,将血浆piR-hsa-2700592表达水平分别纳入CHA_2DS_2-VASc评分及ABC卒中评分相较原评分AUC有显著增加,其新模型AUC分别为0.70(95%*CI*:0.55~0.85,*P*<0.001)和0.84(95%*CI*:0.73~0.96,*P*=0.02);高血浆piR-hsa-2700592水平与房颤患者全因死亡无显著关联(HR:1.997;95%*CI*:0.884~4.509;*P*=0.096)。新模型的重分类能力得到显著改善,与CHA_2DS_2-VASc评分相比其NRI和IDI分别为44.20%(95%*CI*:3.40~59.90,*P*<0.001)和8.20%(95%*CI*:0.60~15.40,*P*<0.001);与ABC卒中评分相比,NRI和IDI分别为44.20%(95%*CI*:9.80~58.90,*P*<0.001)和10.40%(95%*CI*:0.70~21.40,*P*<0.001);DCA曲线显示其新预测模型均有更好的净临床获益。**结论** 外周血高表达的piR-hsa-2700592是房颤患者发生卒中的独立危险因素,并且对房颤患者的预后有较好的预测价值,提示piR-hsa-2700592可作为潜在生物标志物,为其在心血管疾病诊断和防治中的应用提供依据。

[**关键词**] 心房颤动;CHA2DS2-VASc评分;piRNA;预后

[**中图法分类号**] R181.23;R446.119;R541.75 [**文献标志码**] A

[**基金项目**] 国家自然科学基金面上项目(82073649)

[**通信作者**] 李亚斐,Email:liyafei2008@hotmail.com

杨敬源,Email:yangjingyuan@gmc.edu.cn

2097-0927/Copyright © 2025,陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循CC BY许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

引用格式:杨蕾,邬娜,杨岚清,等. 外周血piR-hsa-2700592在房颤患者预后中的预测研究[J]. 陆军军医大学学报,2025,47(06):551-560. DOI:10.16016/j.2097-0927.202409107.

Citation:YANG L,WU N,YANG L Q,*et al*. Predictive value of peripheral blood piR-hsa-2700592 for prognosis of atrial fibrillation patients[J]. J Army Med Univ,2025,47(06):551-560. DOI:10.16016/j.2097-0927.202409107.

Predictive value of peripheral blood piR-hsa-2700592 for prognosis of atrial fibrillation patients

YANG Lei[1,2], WU Na[2], YANG Lanqing[2], CHEN Yanxiu[3], CHEN Xinghua[3], YUAN Zhiquan[2], LI Chengying[2], WU Long[2], ZENG Yuhong[2], WANG Yu[1,2], ZHONG Li[4], YANG Jingyuan[1], LI Yafei[2] [1]School of Public Health, Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control of Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou; [2]Department of Epidemiology, Faculty of Military Preventive Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing; [3]Department of Cardiology, First Affiliated Hospital, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing; [4]Center for Cardiovascular Diseases, the Third Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, China

[**Abstract**] Objectives To explore the association of peripheral blood PIWI-interacting RNA, piR-hsa-2700592, with all-cause mortality and stroke outcomes in patients with atrial fibrillation (AF), and to determine whether piR-hsa-2700592 has the potential to be an AF biomarker. Methods A total of 127 patients with non-valvular AF were enrolled, and the relative expression level of plasma piR-hsa-2700592 was detected. Cox proportional hazard regression was used to analyze the correlation between the expression of piR-hsa-2700592 and all-cause death as well as stroke outcome in the patients. Then the molecule expression level was combined with CHA_2DS_2-VASc score and ABC stroke (or death) score to establish 2 new prediction models, the improvement of the predictive performance was compared and analyzed. Receiver operating characteristic (ROC) curve analysis (area under the curve, AUC), net reclassification index (NRI), and comprehensive discriminant improvement index (IDI) were used to evaluate the predictive performance, and decision curve analysis (DCA) was employed to assess the clinical benefit. Results Multivariate Cox regression analysis showed that the patients with higher expression level of piR-hsa-2700592 in peripheral blood had a higher risk of stroke (*HR*: 2.203, 95%CI: 1.120~4.332; *P*=0.022). In the stroke outcome, combination of plasma piR-hsa-2700592 expression level with CHA_2DS_2-VASc score and ABC stroke score obtained an AUC of 0.70 (95%*CI*: 0.55~0.85, *P*<0.001) and 0.84 (95%*CI*: 0.73~0.96, *P*=0.02), respectively. But, no significant association was observed between high plasma piR-hsa-2700592 level and all-cause mortality in the AF patients (*HR*: 1.997; 95%*CI*: 0.884~4.509; *P*=0.096). Combination of plasma piR-hsa-2700592 level improved the discriminative capability than the single CHA_2DS_2-VASc score and ABC stroke score models, with an NRI and IDI value of 44.20% (95%*CI*: 3.40~59.90, *P*<0.001) and 8.20% (95%*CI*: 0.60~15.40, *P*<0.001), respectively for the new CHA_2DS_2-VASc score model, and an NRI and IDI value of 44.20% (95%*CI*: 9.80~58.90, *P*<0.001) and 10.40% (95%*CI*: 0.70~21.40, *P*<0.001), respectively for the new ABC stroke score model. The DCA curve showed that both new prediction models obtained better net clinical benefits. Conclusion High peripheral blood expression of piR-hsa-2700592 is an independent risk factor for stroke in the AF patients, and the indicator has a good predictive value for prognosis of the patients. piR-hsa-2700592 might be used as a potential biomarker in the diagnosis and prevention of cardiovascular diseases.

[**Key words**] atrial fibrillation; CHA_2DS_2-VASc score; piRNA; prognosis

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (82073649). Corresponding authors: LI Yafei, E-mail: liyafei2008@hotmail.com; YANG Jingyuan, E-mail: yangjingyuan@gmc.edu.cn

心房颤动(atrial fibrillation,AF)简称房颤,是目前临床上最常见的一种心律失常,可导致多种不良事件的发生。研究表明,它与中风和全因死亡风险增加有关,给患者和社会带来严重负担[1-2]。因此,能够更加准确地对房颤患者的风险进行评估及分层具有重要意义。CHA_2DS_2-VASc评分在2010年被LIP等[3]提出,主要用于房颤患者发生脑卒中风险分层的评估,该评分同样可用于评估患者的其它不良结局,如死亡等[4]。

但随着临床实践,发现其有一定的局限性,该评分主要基于临床危险因素构建,忽略了与房颤进展相关的潜在生物标志物信息,导致评分的过于简化可能降低了其预测高风险患者的精确性[5]。

近年来,探讨循环生物标志物对房颤患者卒中和死亡等不良预后的风险预测成为新的研究热点。HIJAZI等[6-7]通过Aristotle试验的大规模队列建立了ABC评分系统,该评分系统提出了结合年龄(age)、生物标志物(biomarker)和临床病史(clinical history),能较好地评估房颤患者卒中和死亡事件的发生风险,但国外ABC卒中评分系统的建立和验证均基于临床试验,其研究对象在纳入排除标准和随访上都相对严格,而真实世界的房颤患者情况可能更为复杂。与PIWI作用的RNA(PIWI-interacting RNA, piRNA)作为小非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)之一,已经被发现可以在表观遗传水平、转录及转录后调节水平等多个层面调节基因表达,并且在心血管疾病中发挥重要的作用,可作为心血管疾病的潜在新危险标志物[8-11]。然而,目前piRNA在房颤发生发展中潜在作用的研究处于空白阶段,其对房颤预后的影响仍不清楚。

基于本课题组前期的研究结果筛选出piR-hsa-2700592,本研究旨在探索外周血piR-hsa-2700592与房颤患者全因死亡和卒中结局的关联,并确定piR-hsa-2700592是否具有作为生物标志物的潜力,为其在心血管疾病诊断和防治策略中提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

连续性纳入2014年1月至2017年12月在陆军军医大学第一附属医院心内科住院的房颤患者。房颤的诊断参考2010年欧洲心脏病学会心房颤动诊断和管理指南标准[12],即心电图上显示RR间期"绝对"不等;无明显P波;两相邻心房激活间隔可变且<200 ms(>300 bpm)。

纳入标准:18岁以上的非瓣膜性房颤患者。排除标准:合并除房颤以外的需要临床干预的心律失常、自身免疫性疾病、严重感染性疾病、心脏瓣膜病、凝血功能异常、恶性肿瘤、精神病、神经系统疾病患者。本研究经陆军军医大学第一附属医院伦理委员会批准(KY2020231),所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 资料收集 在患者入院后被确诊,并获得本人知情同意后将其纳入研究。调查人员将向患者本人询问房颤患者调查表,主要收集的信息有:①人口学资料(年龄、性别、教育程度、家庭人均年收入等);②生活方式(吸烟情况、饮酒情况);③既往病史(是否患有高血压、糖尿病、冠心病、心肌病、心衰、血管病、高血脂等);④既往用药史[是否服用过血管紧张素转化酶抑制剂(angiotensin-converting enzyme inhibitors, ACEI)、血管紧张素转换酶受体抑制剂(angtotensin Ⅱ receptor blocker, ARB)、β受体阻断剂、华法林、阿司匹林等药物]。

1.2.2 研究终点 随访时间:对纳入研究的房颤病人,由经过专业培训的工作人员在出院后每年以电话的形式随访1次,直到发生死亡。随访内容:包括问卷调查、病历提取、外周血标本采集。随访表内容包括:随访研究对象是否发生脑卒中,是否死亡;若死亡,其直接死亡原因;房颤症状、房颤治疗情况、运动耐量、生活方式、生活质量等。

研究终点:卒中和全因死亡为本研究随访的主要终点事件。卒中:纳入对象在纳入研究的本次就诊结束后发生脑卒中,伴有局灶性神经功能丧失。通过医院的就诊记录发现神经功能障碍等临床症状存在24 h以上,并经CT或核磁共振检查确诊。全因死亡:若纳入对象发生死亡的终点事件,需经过亲属确认,并通过查询相关医疗记录收集死亡原因与具体时间。

1.2.3 检测外周血中piRNA的表达量 将所有受试者的外周血样本抽取到含有EDTA的采血管中,立即离心取血浆500 μL分装于冻存管中,保存至-80 ℃冰箱中备用。使用miRNeasy血清/血浆试剂盒(Qiagen, Redwood City, CA, USA)提取血浆总RNA。RNA提取的所有步骤均采用RNase-free材料。提取的RNA样品保存在-80 ℃。cDNA合成及qRT-PCR分析使用miRNA第一链cDNA合成(生工Sangon Biotech)将分离的总RNA逆转录为cDNA。使用S1000TM热循环器(BIO-RAD, CA, USA)进行反转录,最终的cDNA样品保存在-20 ℃。qRT-PCR使用TB Green™ Premix Ex Taq™ II (TaKaRa-Bio),严格遵照说明书进行所有实验操作。将人成纤维细胞作为板间对照,最后将结果归一化计算得出其相对表达量。

1.2.4 生物标志物检测方法 血浆样本同上,采用电化学发光免疫分析法检测血浆基线血浆N末端B型利钠肽原(N-terminal pro B-type natriuretic pep-tide, NT-proBNP)和高敏肌钙蛋白T(high-sensitivity cardiac troponin T, hs-cTnT)浓度,在罗氏分析仪cobas e601(罗氏诊断)上进行,试剂盒为罗氏NT-proBNP试剂盒(检测范围5~35 000 pg/L)和hs-cTnT试剂盒(检测范

围3~10 000 ng/mL);采用酶联免疫吸附(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(Raybiotech, 美国)检测血浆生长分化因子15(growth differentiation factor-15, GDF-15)浓度,检测范围2~800 pg/mL,严格遵照说明书进行所有检测操作。

1.2.5 评分系统 CHA_2DS_2-VASc评分:①心力衰竭、高血压、糖尿病、血管性疾病(外周血管性疾病/心肌梗死/主动脉斑块形成)、年龄65~74岁、女性各占1分;②年龄≥75岁、既往卒中/短暂性脑缺血发作(transient ischemic attack, TIA)/血栓栓塞史各占2分;③总分0~9分,评分≥2分为高危,评分1分为中危,评分0分为低危。国外ABC卒中评分:年龄、卒中史/TIA病史、生物标志物(hs-cTnT/I, NT-proBNP),根据公式计算个人1年卒中风险发生率,具体公式参见HIJAZI等[6]的研究。评分中1年卒中风险发生率>2%为高危,1%~2%为中危,<1%为低危[6]。国外ABC死亡评分:年龄、心衰史、生物标志物(GDF-15, hs-cTnT/I, NT-proBNP),根据公式计算个人1年死亡风险发生率,参见HIJAZI等[7]研究。评分中1年死亡风险发生率>10%为超高危,5%~10%为高危,2%~5%为中危,<2%为低危[7]。

1.3 统计学分析

统计分析采用SPSS 19.0和R 3.5.2软件完成,利用SPSS软件对数据进行清理,连续变量若为正态分布用$\bar{x}\pm s$表示,若是非正态分布则用$M(P_{25},P_{75})$表示,分类变量以频数(构成比)表示。采用t检验或Mann-Whitney U检验检验组间差异。生存分析采用Kaplan-Meier法,生存曲线采用Log-Rank检验。采用单因素Cox比例风险模型评价临床变量与疗效结局的关系,将单因素分析中P<0.10的临床变量纳入多因素Cox回归分析(Enter输入法)。运用X-tile软件3.6.1确定piR-hsa-2700592表达水平的二分类最佳截断值,X-tile软件将待分类变量、终点事件发生情况和生存时间纳入分析,该软件根据可视化全局评估待分类变量的分组水平,并通过最佳P值确定待分类变量的最佳截断值[13]。从区分、重新分类方面对模型的性能进行评估,利用R软件,绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC),并计算受试者工作特征曲线下面积(area under the curve, AUC),比较各预测模型的区分能力,AUC越大,则判别区分的准确度越高。对于重分类,通过计算综合判别改善指数(integrated discrimination improvement, IDI)和净重新分类指数(net reclassification improvement, NRI)来评估预测能力的提高。通过决策曲线分析(decision curve analysis, DCA)以图形形式评估各预测模型的临床可用性和净收益[14]。均采用双侧检验,检验水准α=0.05。

2 结果

2.1 一般资料

本研究共纳入非瓣膜性房颤患者133例,其中6例患者失访,失访率为4.5%,失访数据作为删失值处理,最终纳入127例进行统计分析。其中女性60名,占47.2%,年龄中位数69(62, 75)岁。中位随访时间为89(63, 93)个月,随访过程中卒中终点发生率为4.92/100人年,全因死亡终点发生率为6.12/100人年。在纳入的对象中,血浆NT-proBNP,hs-cTnT和GDF-15的浓度中位数分别为1 016.00(605.30, 1 482.40)pg/mL,10.00(7.00, 18.00)ng/L和793.25(588.21, 1 004.36)pg/mL。CHA_2DS_2-VASc评分中位数为3(1, 4)分,ABC卒中评分中位数为1.1(0.8, 1.3)%,ABC死亡评分中位数为1.4(0.8, 2.4)%。纳入对象的其他人口统计学资料和临床特征见表1。

2.2 血浆中piR-hsa-2700592与房颤患者预后的关联分析

Kaplan-Meier曲线,结果显示,血浆中高水平的piR-hsa-2700592与卒中结局显著相关(P=0.040);血浆中高表达piR-hsa-2700592的房颤患者与高死亡率无显著相关(P=0.140,图1)。检验方法采用Log-rank检验。

进行单因素Cox回归分析,结果如表2显示,与全因死亡风险相关的危险因素为年龄、教育程度、心衰史等;与房颤患者卒中风险相关的危险因素为年龄、TIA或卒中史、ACEI药物史等。

分别将2种结局单因素Cox回归中P<0.10的变量作为混杂因素纳入多因素Cox回归分析中,多因素Cox回归结果如表3显示,在调整了协变量之后,高血浆piR-hsa-2700592水平是房颤患者卒中风险的独立危险因素(HR:2.203;95%CI:1.120~4.332;P=0.022)。高血浆piR-hsa-2700592水平与房颤患者全因死亡无显著关联(HR:1.997;95%CI:0.884~4.509;P=0.096)。

2.3 外周血piR-hsa-2700592对房颤预后的预测价值

对于卒中的预测,CHA_2DS_2-VASc评分的AUC为0.59(95%CI:0.42~0.76),在CHA_2DS_2-VASc评分中加入piR-hsa-2700592相对表达水平后AUC显著增加

表1 房颤患者队列的基线信息 [n=127,$M(P_{25},P_{75})$,例(%)]

变量	例数	变量	例数
年龄/岁		药物治疗情况	
<65	41(32.3)	ACEI	26(20.5)
65~<75	51(40.2)	ARB	14(11.0)
≥75	35(27.6)	β受体阻滞剂	37(29.1)
性别		华法林	10(7.9)
男性	67(52.8)	他汀类	36(28.3)
女性	60(47.2)	风险评分/分	
教育程度		CHA_2DS_2-VASc 评分	3(1,4)
初中及以下	113(89.0)	ABC卒中评分	1.1(0.8,1.3)
高中及以上	14(11.0)	ABC死亡评分	1.4(0.8,2.4)
家庭人均年收入/(万元/年)		生物标志物	
<2.5	69(54.3)	NT-proBNP/(pg/mL)	1 016.00(605.30,1482.40)
≥2.5	58(45.7)	hs-cTnT/(ng/L)	10.00(7.00,18.00)
吸烟史	45(35.4)	GDF-15/(pg/mL)	793.25(588.21,1004.36)
饮酒史	32(25.2)	piR-hsa-2700592	0.86(0.24,2.34)
BMI(kg/m^2)		随访时间/月	89(63,93)
<18.5	6(4.7)	随访人年	
18.5~<24	58(45.7)	卒中	731.58
≥24	63(49.6)	全因死亡	816.92
合并症		终点事件发生率/100人年	
高血压	72(56.7)	卒中	4.92
糖尿病	21(16.5)	全因死亡	6.12
冠心病	59(46.5)		
心肌病	14(11.0)		
心衰	42(33.1)		
TIA或卒中	8(6.3)		
血管性疾病	7(5.5)		

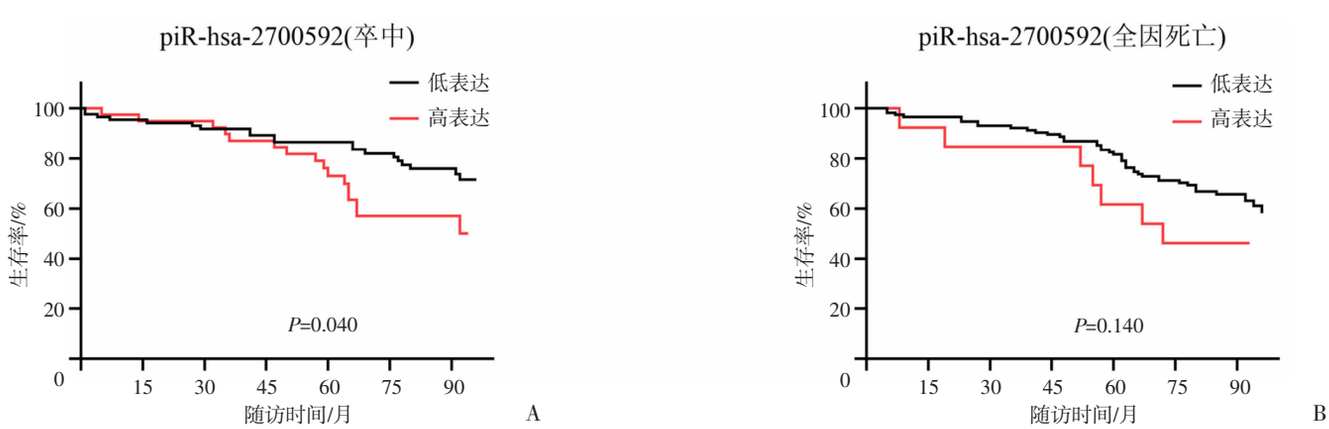


图1 生存曲线分析房颤患者卒中(A)和全因死亡(B)的生存率

[0.70(95%*CI*:0.55~0.85,*P*<0.001)];在CHA_2DS_2-VASc评分中加入piR-hsa-2700592后,该模型的重分类能力显著提高NRI和IDI分别为44.20%(95%*CI*:3.40~59.90,*P*<0.001)和8.20%(95%*CI*:0.60~15.40,*P*<0.001)。在ABC卒中评分中加入piR-hsa-2700592相对表达水平后,AUC显著增加[(AUC=0.75,95%*CI*:0.61~0.90)

表2 房颤患者的临床变量与结局之间的关联性分析 [n=127,$M(P_{25},P_{75})$]

变量	全因死亡			卒中		
	系数	*HR*(95%*CI*)	*P*	系数	*HR*(95%*CI*)	*P*
年龄/岁						
<65						
65~<75	0.889	2.433(1.135,5.216)	0.022	0.908	2.479(0.968,6.347)	0.058
≥75	0.756	2.131(0.941,4.824)	0.070	1.105	3.018(1.159,7.862)	0.024
性别						
男性						
女性	−0.037	0.963(0.551,1.684)	0.895	−0.447	0.640(0.327,1.254)	0.193
教育程度						
初中及以下						
高中及以上	0.871	2.389(1.151,4.958)	0.019	0.151	1.163(0.410,3.304)	0.777
年收入						
<2.5						
≥2.5	0.166	1.180(0.677,2.056)	0.559	0.397	1.488(0.770,2.875)	0.237
吸烟史						
不吸烟						
吸烟	0.171	1.186(0.670,2.102)	0.558	0.169	1.184(0.599,2.339)	0.627
饮酒史						
不饮酒						
饮酒	0.050	1.051(0.559,1.978)	0.877	−0.325	0.723(0.317,1.650)	0.441
合并症						
高血压	0.353	1.423(0.798,2.537)	0.232	0.555	1.742(0.870,3.489)	0.117
糖尿病史	0.188	1.207(0.586,2.486)	0.609	0.099	1.104(0.459,2.654)	0.826
冠心病史	0.434	1.543(0.883,2.698)	0.128	0.283	1.327(0.690,2.555)	0.397
心肌病	0.163	1.177(0.501,2.764)	0.708	−0.684	0.505(0.121,2.103)	0.348
心衰史	0.589	1.801(1.028,3.156)	0.040	0.329	1.390(0.703,2.748)	0.343
TIA 或卒中史	0.556	1.744(0.691,4.402)	0.239	1.838	6.284(2.821,13.999)	<0.001
血管性疾病史	0.066	1.068(0.332,3.433)	0.912	−0.159	0.853(0.205,3.551)	0.827
药物治疗情况						
ACEI 药物史	0.482	1.620(0.873,3.004)	0.126	0.670	1.955(0.960,3.981)	0.065
ARB 药物史	0.481	1.618(0.727,3.604)	0.239	−0.261	0.770(0.236,2.514)	0.665
β 受体阻滞剂史	0.096	1.101(0.601,2.016)	0.756	0.482	1.619(0.819,3.200)	0.166
华法林史	0.166	1.181(0.424,3.284)	0.751	−0.240	0.787(0.189,3.276)	0.742
他汀类药物史	−0.263	0.769(0.402,1.471)	0.427	0.235	1.265(0.633,2.530)	0.506

vs(AUC=0.84,95%*CI*:0.73~0.96),*P*=0.02],该模型与CHA_2DS_2-VASc评分相比较,其AUC也显著增加(*P*=0.01);在ABC卒中评分中加入piR-hsa-2700592后,与CHA_2DS_2-VASc评分相比,重分类能力显著提高,NRI和IDI分别为35.2%(95%*CI*:0.50~46.30,*P*<0.001)和19.6%(95%*CI*:1.50~29.90,*P*<0.001);与ABC卒中评分相比,NRI和IDI分别为44.2%(95%*CI*:9.80~58.90,*P*<0.001)和10.4%(95%*CI*:0.70~21.40,*P*<0.001),见表4。

针对死亡终点,CHA_2DS_2-VASc添加piR-hsa-2700592相对表达水平后的预测模型的AUC虽较CHA_2DS_2-VASc评分有增加,但差异无统计学意义[(AUC=0.57,95%*CI*:0.43~0.71)*vs*(AUC=0.52,95%*CI*:0.43~0.60),*P*=0.38];ABC全因死亡评分添加piR-hsa-2700592后与ABC全因死亡评分相比有提高,AUC分别为0.66(95%*CI*:0.53~0.80)和0.61(95%*CI*:0.49~0.74),但差异无统计学意义(*P*=0.13),见表4。

按不同结局绘制上述4种评分系统的ROC曲线,对于卒中,在CHA_2DS_2-VASc及ABC卒中评分中分

表3 血浆中piR-hsa-2700592水平与房颤患者卒中和全因死亡的关联 [n=127,$M(P_{25},P_{75})$,例(%)]

变量	发生终点事件例数	单因素Cox回归			多因素Cox回归		
		系数	*HR*(95%*CI*)	*P*	系数	*HR*(95%*CI*)	*P*
卒中							
piR-hsa-2700592							
低	87(20)						
高	40(16)	0.678	1.970(1.017,3.812)	0.044	0.790	2.203(1.120,4.332)	0.022
全因死亡							
piR-hsa-2700592							
低	114(43)						
高	13(7)	0.593	1.810(0.811,4.037)	0.147	0.691	1.997(0.884,4.509)	0.096

采用多因素Cox比例风险模型评估piR-hsa-2700592与结局之间的关系。在分析卒中结局时,调整的协变量为年龄、TIA或卒中史、ACEI药物史;在分析全因死亡结局时,调整的协变量为年龄、教育程度、心衰史

表4 不同评分系统对房颤患者卒中及死亡风险的预测改善能力

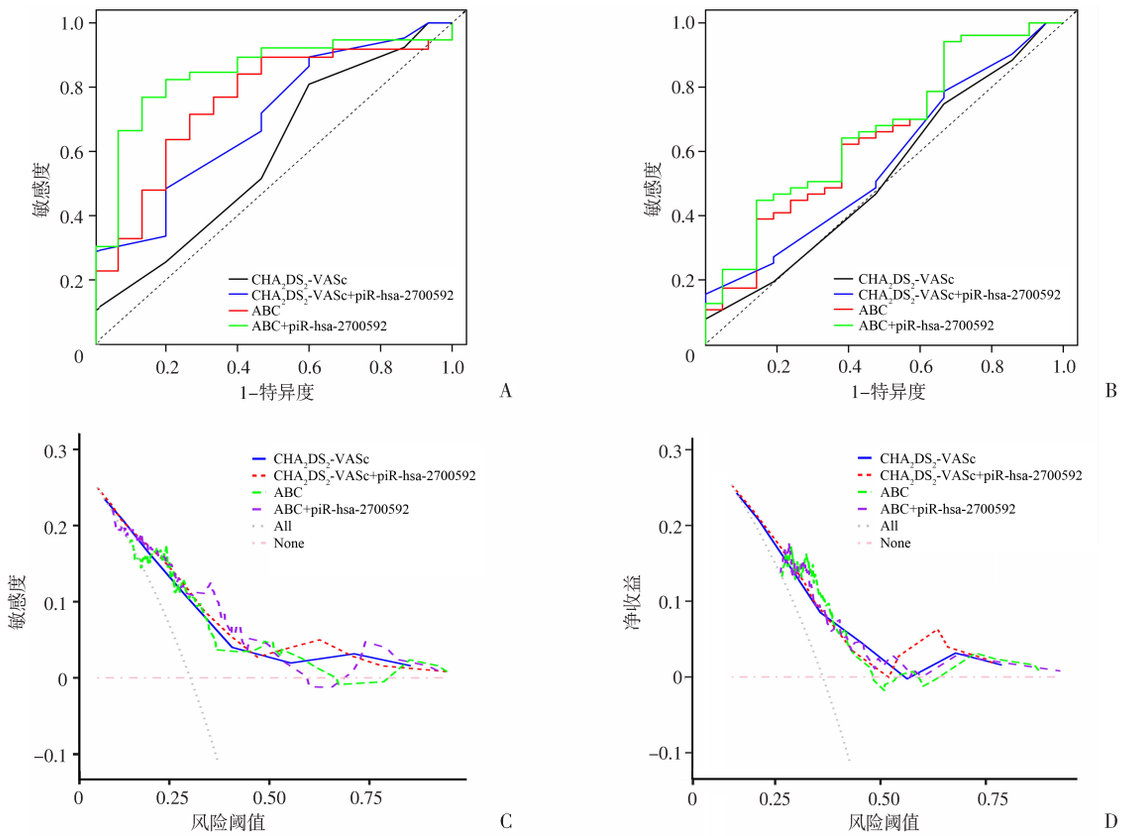
变量	区分度			重分类指标							
	AUC(95%*CI*)	*P*	*P*	NRI(%)(95%*CI*)				IDI(%)(95%*CI*)			
				CHA_2DS_2-VASc	*P*	ABC	*P*	CHA_2DS_2-VASc	*P*	ABC	*P*
卒中											
CHA_2DS_2-VASc评分	0.59(0.42,0.76)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
CHA_2DS_2-VASc评分+piR-hsa-2700592	0.70(0.55,0.85)	<0.001[a]	0.59	44.20(3.40,59.90)	<0.001[c]	14.10(−9.90,36.80)	0.36	8.20(0.60,15.40)	<0.001[e]	−1.00(−14.50,9.00)	0.91
ABC卒中评分	0.75(0.61,0.90)	0.11	–	−9.40(−38.40,31.90)	0.73	–	–	9.20(−2.30,16.3)	0.36	–	–
ABC卒中评分+piR-hsa-2700592	0.84(0.73,0.96)	0.01[a]	0.02[b]	35.20(0.50,46.30)	<0.001[c]	44.20(9.80,58.90)	<0.001[d]	19.60(1.50,29.90)	<0.001[e]	10.40(0.70,21.40)	<0.001[f]
全因死亡											
CHA_2DS_2-VASc评分	0.52(0.43,0.60)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
CHA_2DS_2-VASc评分+piR-hsa-2700592	0.57(0.43,0.71)	0.38	0.35	13.30(−2.90,23.10)	0.18	14.30(−7.00,26.20)	0.73	2.50(−0.70,6.60)	0.18	−1.00(−6.10,4.30)	0.55
ABC全因死亡评分	0.61(0.49,0.74)	0.17	–	−9.50(−32.0,21.30)	0.55	–	–	3.50(−3.80,8.70)	0.55	–	–
ABC全因死亡评分+piR-hsa-2700592	0.66(0.53,0.80)	0.10	0.13	0.90(−22.20,18.60)	0.73	13.30(−10.70,17.7)	0.73	4.70(−4.00,12.00)	0.36	1.20(−1.30,4.30)	0.55

a:P<0.05,与CHA_2DS_2-VASc评分比较;b:P<0.05,与ABC卒中评分比较;c:P<0.05,与CHA_2DS_2-VASc评分比较;d:P<0.05,与ABC卒中评分比较;e:P<0.05,与CHA_2DS_2-VASc评分比较;f:P<0.05,与ABC卒中评分比较

别加入piR-hsa-2700592表达量,均有较高的判别性能,且差异具有统计学意义(图2A);对于全因死亡,piR-hsa-2700592可以提高CHA_2DS_2-VASc及ABC死亡评分的判别性能,但差异无统计学意义(图2B)。采用决策曲线分析比较不同预测模型,结果显示,将piR-hsa-2700592添加至CHA_2DS_2-VASc评分和ABC卒中(或死亡)评分后,在预测房颤患者卒中和死亡风险方面,具有更高的净效益和临床适用性,显示出良好的预测效能(图2C、D)。横坐标表示卒中或全因死亡风险的阈概率,纵坐标表示临床净获益,距离斜线(假设所有患者发生全因死亡或者卒中)和水平线(假设没有患者发生全因死亡或者卒中)更远的曲线有更高的临床净获益。

3 讨论

房颤患者的不良预后受到人们的广泛关注,尤其是卒中和出血。既往研究表明,通过早期筛查控制脑卒中患者危险因素和规范治疗,可有效降低脑卒中的



A:卒中结局的ROC曲线;B:全因死亡的ROC曲线;C:卒中结局的决策曲线;D:全因死亡的决策曲线

图2 各预后结局的ROC曲线及决策曲线图

发病率、致残率及病死率[15]。因此对房颤患者进行更为细致的缺血、出血风险评估尤为重要。研究者们先后开发了用于房颤预后预测的评分[3, 16-18],CHA_2DS_2-VASc评分最早于2010年被欧洲心脏学会指南推荐使用[12],该评分主要基于临床危险因素构建,忽略了与房颤进展相关的潜在生物标志物信息,导致评分过于简化可能降低了其预测高风险患者的精确性[19]。在过去十年里,研究者开始关注生物标志物作为不同的心血管疾病中改善预后的工具[20]。HIJAZI等[6]基于大规模临床试验样本所构建的ABC卒中评分系统,融合了生物标志物,经验证显示其预测效果优于传统的临床评分。然而,现有的国外ABC卒中评分系统的开发与验证过程主要依托于临床试验,这些试验在纳入标准、排除标准及随访方面有较为严格的要求,而在实际应用中,房颤患者的情况往往更加复杂且多样化;其次,ABC评分中包含的3个生物标志物NT-proBNP、hs-cTnT和GDF-15在临床上难以获取,检测成本较高。由于研究人群特点的差异,本研究发现,血浆中piR-hsa-2700592表达水平与房颤患者的预后相关,将其纳入CHA_2DS_2-VASc评分可改善对患者预后的风险评估,其预测能力略低于国外ABC卒中评分;但在国外ABC卒中评分中纳入piR-hsa-2700592表达水平,其新模型预测能力较国外ABC卒中评分得到显著提高,研究结果提示piR-hsa-2700592表达水平是房颤患者卒中风险分层的潜在分子标志物,对后续个体户治疗具有价值。

本研究作为首个高水平血浆piR-hsa-2700592与房颤患者卒中和全因死亡风险之间关系的研究,进一步揭示了piRNA在心血管疾病中发挥的重要作用,可作为心血管疾病的潜在新危险标志物[8]。有研究发现,piRNA通常结合Piwi蛋白家族成员以发挥细胞通路调控作用。piRNA在多种人类组织中以组织特异性方式表达,其中心脏组织异常表达的piRNA是心血管疾病诊断和治疗的新型生物标志物和靶点[21-24]。

近年来,有研究发现piRNA参与心血管疾病的发生和调控过程。SHANMUGHA等[25]对心肌梗死患者和健康志愿者的样本进行了piRNA测序及分析,结果发现心肌梗死患者的piR-2106027水平显著升高,并且与心肌肌钙蛋白cTnI水平存在相关性。LIPPS等[26]从23例慢性血栓栓塞性肺动脉高压患者和23例对照

者的血清中分离细胞外囊泡,通过测序及验证,该研究结果表明,细胞外囊泡衍生的piRNA DQ593039(piR-hsa-23317)是肺动脉高压的潜在生物标记物。YANG等[27]发现心力衰竭患者血清外泌体中有585种piRNA表达上调,包括piRNA-6426在内的4 623种piRNA表达下调。此项研究结果提示piRNA有望作为潜在的心力衰竭生物标志物。此外,MA等[28]在成年Wistar雄性大鼠中建立了缺氧诱导的肺动脉高压模型,结果发现,缺氧会引起piRNA-63076的表达上升,进而引起酰基辅酶A脱氢酶启动了区域的DNA甲基化,最终引起肺动脉平滑肌细胞增殖。以上研究表明,piRNA参与了心肌梗死、肺动脉高压和心力衰竭的发生发展,因此,本研究可探索探究piRNA在房颤发生中的作用及作为潜在生物标记物的潜力,为今后piRNA在相关心血管疾病的防治提供了新的思路。

在本研究中,血浆中升高的piR-hsa-2700592水平被证明是卒中的一个独立危险因素。使用外周血piR-hsa-2700592的表达水平作为生物标志物的方法,具有方便、无创等优点,与其他研究的发现类似[29]。加入新的循环生物标志物piR-hsa-2700592后,CHA_2DS_2-VASc评分及ABC卒中评分的IDI和NRI显著改善表明,新模型较传统评分对脑卒中的预测和净分类能力有所提高。DCA提供了对模型预测风险范围的洞察,并显示出更高的临床净收益,有利于新模型[30]。本研究数据显示,将piR-hsa-2700592纳入CHA_2DS_2-VASc评分及ABC卒中评分对脑卒中患者有更好的区分鉴别能力,其模型预测能力得到显著提高,更有助于临床识别不同风险人群,具有潜在临床价值。

本研究的局限性包括:首先,为单中心回顾性队列研究,可能存在一定的选择偏倚;其次,样本量较小,结果需要扩大样本量进一步验证;下一步应在细胞水平及动物模型上对该piRNA在房颤中的作用及调控机制进行研究。

综上所述,本研究结果表明外周血piR-hsa-2700592的高表达是房颤患者发生卒中的独立危险因素,并且对房颤患者的预后有较好的预测价值,提示piR-hsa-2700592可作为潜在生物标志物,为其在心血管疾病诊断和防治策略中提供依据。

利益冲突 本文所有作者声明不存在利益冲突

参考文献:

[1] YANG S Y, HUANG M, WANG A L, *et al*. Atrial fibrillation burden and the risk of stroke: a systematic review and dose-response meta-analysis[J]. World J Clin Cases, 2022, 10(3): 939-953. DOI:10.12998/wjcc.v10.i3.939.

[2] BOTTO G L, TORTORA G, CASALE M C, *et al*. Impact of the pattern of atrial fibrillation on stroke risk and mortality[J]. Arrhythm Electrophysiol Rev, 2021, 10(2): 68-76. DOI:10.15420/aer.2021.01.

[3] LIP G Y H, NIEUWLAAT R, PISTERS R, *et al*. Refining clinical risk stratification for predicting stroke and thromboembolism in atrial fibrillation using a novel risk factor-based approach: the Euro Heart Survey on Atrial Fibrillation[J]. Chest, 2010, 137(2): 263-272. DOI: 10.1378/chest.09-1584.

[4] WU Y X, WANG G Y, DONG L S, *et al*. Assessment of the CHA_2DS_2-VASc score for the prediction of death in elderly patients with coronary artery disease and atrial fibrillation[J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 805234. DOI: 10.3389/fcvm.2021.805234.

[5] LIP G Y H, LANE D A. Stroke prevention in atrial fibrillation: a systematic review[J]. JAMA, 2015, 313(19): 1950-1962. DOI:10.1001/jama.2015.4369.

[6] HIJAZI Z, LINDBÄCK J, ALEXANDER J H, *et al*. The ABC (age, biomarkers, clinical history) stroke risk score: a biomarker-based risk score for predicting stroke in atrial fibrillation[J]. Eur Heart J, 2016, 37(20): 1582-1590. DOI:10.1093/eurheartj/ehw054.

[7] HIJAZI Z, OLDGREN J, LINDBÄCK J, *et al*. A biomarker-based risk score to predict death in patients with atrial fibrillation: the ABC (age, biomarkers, clinical history) death risk score[J]. Eur Heart J, 2018, 39(6): 477-485. DOI:10.1093/eurheartj/ehx584.

[8] MUSHTAQ I, ISHTIAQ A, ALI T, *et al*. An overview of non-coding RNAs and cardiovascular system[J]. Adv Exp Med Biol, 2020, 1229: 3-45. DOI: 10.1007/978-981-15-1671-9_1.

[9] ZHOU Y L, FANG Y, DAI C L, *et al*. PiRNA pathway in the cardiovascular system: a novel regulator of cardiac differentiation, repair and regeneration[J]. J Mol Med, 2021, 99(12): 1681-1690. DOI: 10.1007/s00109-021-02132-9.

[10] ZHANG K Y, LI Y F, HUANG Y, *et al*. PiRNA in cardiovascular disease: focus on cardiac remodeling and cardiac protection[J]. J Cardiovasc Transl Res, 2023, 16(4): 768-777. DOI:10.1007/s12265-023-10353-1.

[11] LI B, WANG K, CHENG W, *et al*. Recent advances of PIWI-interacting RNA in cardiovascular diseases[J]. Clin Transl Med, 2024, 14(8): e1770. DOI: 10.1002/ctm2.1770.

[12] ASSOCIATION E H R, SURGERY E A F C, JOHN CAMM A,

et al. Guidelines for the management of atrial fibrillation: the task force for the management of atrial fibrillation of the European society of cardiology (ESC)[J]. Eur Heart J, 2010, 31(19): 2369-2429. DOI:10.1093/eurheartj/ehq278.

[13] CAMP R L, DOLLED-FILHART M, RIMM D L. X-tile: a new bio-informatics tool for biomarker assessment and outcome-based cut-point optimization[J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(21): 7252-7259. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-04-0713.

[14] VICKERS A J, CRONIN A M, ELKIN E B, *et al*. Extensions to decision curve analysis, a novel method for evaluating diagnostic tests, prediction models and molecular markers[J]. BMC Med Inform Decis Mak, 2008, 8: 53. DOI:10.1186/1472-6947-8-53.

[15] KURIAKOSE D, XIAO Z C. Pathophysiology and treatment of stroke: present status and future perspectives[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(20): 7609. DOI: 10.3390/ijms21207609.

[16] GAGE B F, WATERMAN A D, SHANNON W, *et al*. Validation of clinical classification schemes for predicting stroke: results from the National Registry of Atrial Fibrillation[J]. JAMA, 2001, 285(22): 2864-2870. DOI: 10.1001/jama.285.22.2864.

[17] PISTERS R, LANE D A, NIEUWLAAT R, *et al*. A novel user-friendly score (HAS-BLED) to assess 1-year risk of major bleeding in patients with atrial fibrillation: the Euro Heart Survey[J]. Chest, 2010, 138(5): 1093-1100. DOI: 10.1378/chest.10-0134.

[18] FLEET H, PILCHER D, BELLOMO R, *et al*. Predicting atrial fibrillation after cardiac surgery: a scoping review of associated factors and systematic review of existing prediction models[J]. Perfusion, 2023, 38(1): 92-108. DOI:10.1177/02676591211037025.

[19] YOSHIMURA H, PROVIDENCIA R, *et al*. Refining the CHA2DS2VASc risk stratification scheme: shall we drop the sex category criterion?[J]. Europace, 2024, 26(11): euae280. DOI: 10.1093/europace/euae280.

[20] ALZAABI M A, ABDELSALAM A, ALHAMMADI M, *et al*. Evaluating biomarkers as tools for early detection and prognosis of heart failure: a comprehensive review[J]. Card Fail Rev, 2024, 10: e06. DOI:10.15420/cfr.2023.24.

[21] WANG X, RAMAT A, SIMONELIG M, *et al*. Emerging roles and functional mechanisms of PIWI-interacting RNAs[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2023, 24(2): 123-141. DOI: 10.1038/s41580-022-00528-0.

[22] BAI X F, NIU R Z, LIU J, *et al*. Roles of noncoding RNAs in the initiation and progression of myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. Epigenomics, 2021, 13(9): 715-743. DOI:10.2217/epi-2020-0359.

[23] GAO X Q, ZHANG Y H, LIU F, *et al*. The PiRNA CHAPIR regulates cardiac hypertrophy by controlling METTL3-dependent N^6-methyladenosine methylation of Parp10 mRNA[J]. Nat Cell Biol, 2020, 22(11): 1319-1331. DOI:10.1038/s41556-020-0576-y.

[24] WANG K, ZHOU L Y, LIU F, *et al*. PIWI-Interacting RNA haapir regulates cardiomyocyte death after myocardial infarction by promoting NAT10-Mediated ac^4 C acetylation of tfec mRNA[J]. Adv Sci, 2022, 9(8): e2106058. DOI: 10.1002/advs.202106058.

[25] SHANMUGHA RAJAN K, VELMURUGAN G, GOPAL P, *et al*. Abundant and altered expression of PIWI-interacting RNAs during cardiac hypertrophy[J]. Heart Lung Circ, 2016, 25(10): 1013-1020. DOI: 10.1016/j. hlc. 2016. 02.015.

[26] LIPPS C, NORTHE P, FIGUEIREDO R, *et al*. Non-invasive approach for evaluation of pulmonary hypertension using extracellular vesicle-associated small non-coding RNA[J]. Biomolecules, 2019, 9(11): 666. DOI: 10.3390/biom9110666.

[27] YANG J, XUE F T, LI Y Y, *et al*. Exosomal PiRNA sequencing reveals differences between heart failure and healthy patients[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(22): 7952-7961. DOI:10.26355/eurrev_201811_16423.

[28] MA C, ZHANG L X, WANG X Y, *et al*. piRNA-63076 contributes to pulmonary arterial smooth muscle cell proliferation through acyl-CoA dehydrogenase[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(9): 5260-5273. DOI:10.1111/jcmm.15179.

[29] SAMAN H, RAZA A, PATIL K, *et al*. Non-invasive biomarkers for early lung cancer detection[J]. Cancers, 2022, 14(23): 5782. DOI:10.3390/cancers14235782.

[30] KATKI H A. Quantifying risk stratification provided by diagnostic tests and risk predictions: comparison to AUC and decision curve analysis[J]. Stat Med, 2019, 38(16): 2943-2955. DOI:10.1002/sim.8163.

(收稿:2024-09-16;修回:2025-02-12)

(编辑 邓强庭)