

冠心病患者外周血 *HOXA4* 基因表达及心血管病危险因素与冠心病病变特点的分析*

莫睿¹ 吴强¹ 周瑜¹ 龙向淑¹

[摘要] 目的:分析冠心病(CHD)患者外周血中同源框 A4 基因(*HOXA4*)表达及心血管病危险因素与 CHD 病变特点的相关性。方法:纳入 2021 年 11 月 1 日—2022 年 1 月 31 日连续在我院心脏介入中心行冠状动脉造影(CAG)的患者 395 例,其中确诊 CHD 295 例(A 组),排除 CHD 100 例(B 组)。据 CAG 结果将 A 组分为 2 个亚组,即中度狭窄组(A1 亚组)和重度狭窄组(A2 亚组)。CAG 前收集外周动脉血 3 mL 检测 *HOXA4* mRNA 表达并记录患者血糖、血压及血脂等心血管病危险因素。比较组间 *HOXA4* 表达差异,逻辑回归分析 *HOXA4*、心血管病危险因素与 CHD 病变特点的相关性。结果:*HOXA4* 在 A 组和 A2 亚组的表达低于 B 组($P < 0.05$)。*HOXA4* 及高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)与 CHD 呈负相关(Adjusted $OR < 1, P < 0.05$),年龄、吸烟、高血压及糖尿病与 CHD 呈正相关(Adjusted $OR > 1, P < 0.05$)。以 B 组为对照,*HOXA4* 表达、HDL-C 水平与冠脉中、重度狭窄呈负相关(Adjusted $OR < 1, P < 0.05$);增龄与冠脉中、重度狭窄呈正相关(Adjusted $OR > 1, P < 0.05$);吸烟、糖尿病与冠脉重度狭窄呈正相关(Adjusted $OR > 1, P < 0.05$);高血压与冠脉中度狭窄呈正相关(Adjusted $OR > 1, P < 0.05$)。结论:*HOXA4* 低表达、低水平 HDL-C、增龄、吸烟、高血压及糖尿病是 CHD 的危险因素,其中 *HOXA4* 低表达、低水平 HDL-C 及增龄与冠脉中、重度狭窄相关,吸烟、糖尿病与冠脉重度狭窄相关,而高血压与冠脉中度狭窄相关。

[关键词] 同源框 A4 基因;心血管病危险因素;冠心病;冠状动脉狭窄

DOI:10.13201/j.issn.1001-1439.2024.04.008

[中图分类号] R541.4 **[文献标志码]** A

Correlation between *HOXA4* gene expression in peripheral blood in patients with coronary heart disease and cardiovascular risk factors and characteristics of coronary artery lesions

MO Rui WU Qiang ZHOU Yu LONG Xiangshu

(Department of Cardiology, Guizhou Province People's Hospital, Guiyang, 550002, China)

Corresponding author: LONG Xiangshu, E-mail: 928602548@qq.com

Abstract Objective: To analyze the expression of homeobox A4 gene(*HOXA4*) in peripheral blood of patients with coronary heart disease(CHD) and the correlation between cardiovascular risk factors and characteristics of coronary artery lesions. **Methods:** The 395 patients who underwent continuous coronary angiography in the Cardiac Intervention Center in our Hospital from November 01, 2021 to January 31, 2022 were selected. Among them, 295 patients were diagnosed definitely with CHD by CAG(Group A), and 100 patients without CHD(Group B). According to the results of CAG, Group A were divided into two subgroups: moderate stenosis group(Subgroup A1) and severe stenosis group(Subgroup A2). The 3 mL arterial blood was extracted from peripheral arteries before CAG to detect the mRNA expression of *HOXA4* and recording clinical risk factors such as blood glucose, blood pressure, and lipids of the patient. The difference of *HOXA4* expression between each groups was compared by non-parametric test, and the correlation between *HOXA4*, cardiovascular risk factors and characteristics of coronary artery lesions was analyzed by logistic regression. **Results:** The expression of *HOXA4* in Group A and Subgroup A2 were lower than that in Group B($P < 0.05$). *HOXA4* and HDL-C were negatively correlated with CHD(Adjusted $OR < 1, P < 0.05$), age, smoking, hypertension and diabetes were positively correlated with CHD(Adjusted $OR > 1, P < 0.05$). Compared with Group B, the expression of *HOXA4* and HDL-C level were negatively correlated with moderate and severe coronary artery stenosis(Adjusted $OR < 1, P < 0.05$). There was a positive correlation between aging and moderate and severe coronary artery stenosis(Adjusted $OR > 1, P < 0.05$). Smoking and diabetes were positively correlated with severe coronary artery stenosis(Adjusted $OR > 1, P < 0.05$).

*基金项目:贵州省卫生健康委科学技术基金项目(No:gzwkj2021-113)

¹贵州省人民医院心内科(贵阳,550002)

通信作者:龙向淑,E-mail:928602548@qq.com

0.05)。Hypertension was positively correlated with moderate coronary artery stenosis (Adjusted OR > 1, $P < 0.05$)。 **Conclusion:** Low expression of *HOXA4*, low level of HDL-C, aging, smoking, hypertension and diabetes were the risk factors of CHD, among which low expression of *HOXA4*, low level of HDL-C and aging were related to moderate and severe coronary artery stenosis, smoking and diabetes were related to severe coronary artery stenosis, while hypertension was related to moderate coronary artery stenosis.

Key words homeobox A4; cardiovascular risk factors; coronary heart disease; coronary artery stenosis

动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 是冠心病 (coronary heart disease, CHD) 的重要病理基础。高血压、糖尿病、高脂血症、吸烟及增龄是公认的心血管病危险因素,其诱发的慢性炎症贯穿于 AS 发生发展的过程^[1]。血管内皮细胞、平滑肌细胞以及 M2 型巨噬细胞^[2] 的生物学行为异常,是 AS 斑块形成的细胞学基础。然而,迄今鲜有报道特定分子表达与 CHD 病变特点相关性的研究。

同源框基因 (homeobox, *HOX*) 属同源盒转录基因家族, *HOXA4* 是 *HOX* 基因家族中的一员,其表达异常不仅与主动脉瘤发病、血管重构有关^[3-4],还可能影响内皮表型的异质性^[5]。此外, *HOXA4* 是小鼠心肌梗死后参与调控心脏重构相关心肌梗死转录本-miR-150 轴的下游靶点^[6]。提示 *HOXA4* 可能参与调控 AS 的发生发展。本研究旨在探讨 CHD 患者外周血中 *HOXA4* 表达及心血管病危险因素与 CHD 病变特点的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

2021 年 11 月 1 日—2022 年 1 月 31 日连续在我院心脏介入中心行冠状动脉 (冠脉) 造影 (CAG) 的患者 395 例。其中明确诊断 CHD 的患者 295 例设为 A 组,排除 CHD 的患者 100 例设为 B 组。进一步将 A 组分为 2 个亚组,即冠脉狭窄 $\geq 50\%$ 而 $< 75\%$ 的 89 例设为中度狭窄组 (A1 亚组),冠脉狭窄 $\geq 75\%$ 的 206 例设为重度狭窄组 (A2 亚组)。据 CAG 所示病变累及左主干或左前降支、左旋支、右冠脉的情况,分为单支病变 (110 例)、双支病变 (101 例) 及 3 支病变 (84 例) 组,若累及左主干则归属双支病变组 (无论是否累计左前降支或左旋支)。排除标准为合并严重肝肾疾病、恶性肿瘤及先天性心脏病。本研究通过贵州省人民医院伦理委员会审批 [No: 伦审 (科研) 2021-75 号]。

1.2 方法

所有患者在 CAG 前采集 3 mL 动脉血, Trizol 法提取外周血总 RNA, 根据两步法反转录试剂盒说明书将 RNA 转录为 cDNA, 按照实时荧光定量聚合酶链式反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, qPCR) 试剂盒说明书检测外周血中 *HOXA4* mRNA 表达。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (*GAPDH*) 为内参基因, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算样本中 *HOXA4* 基因的相对表达量。

同时记录每份血样对应患者心血管病危险因

素及 CAG 所示冠脉狭窄程度,前者包括吸烟、年龄、高血压、糖尿病、甘油三酯 (triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、总胆固醇 (total cholesterol, TC) 及血肌酐 (serum creatinine, Scr)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 26.0 软件进行分析,所有计量资料经 Shapiro-Wilk 检验正态性, $P > 0.05$ 者符合正态分布。非正态分布计量资料用 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,2 组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验,3 组间比较应用 Kruskal-Wallis (*K-W* 检验)。计数资料用构成比表示,采用卡方检验。当结局变量为二分类变量时采用二元 logistic 回归分析,结局变量为多分类变量时先行平行性检验,不能通过则采用多元无序 logistic 回归,首先进行单因素 logistic 回归,并根据结果将 $P < 0.05$ 的指标行多因素回归分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *HOXA4* mRNA 表达情况

扩增曲线和熔解解曲线图提示 *GAPDH*、*HOXA4* 的扩增为有效、特异性扩增 (图 1)。与 B 组比较, A 组及 A2 亚组中 *HOXA4* 表达减低 ($P < 0.05$), A1 亚组与 B 组间、A1 亚组与 A2 亚组间 *HOXA4* 表达的差异无统计学意义 (图 2)。此外,单支病变、双支病变、3 支病变 3 组间 *HOXA4* 表达的差异无统计学意义 ($P = 0.076$)。

2.2 心血管病危险因素差异性比较结果

心血管病危险因素中性别、年龄、吸烟、高血压、糖尿病、HDL-C、Scr 在 A 组和 B 组间存在差异 ($P < 0.05$), 余指标的差异无统计学意义, 见表 1。

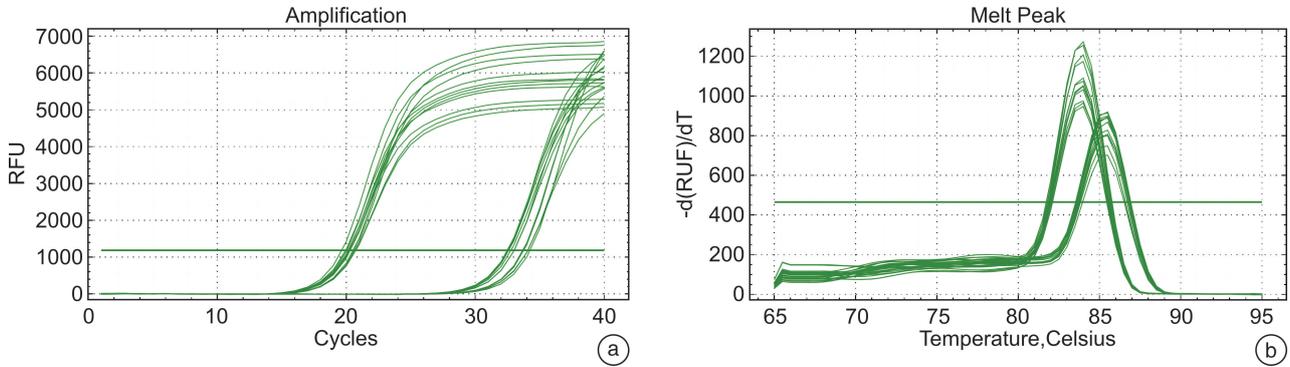
2.3 CHD 与 *HOXA4* 及心血管病危险因素的二元 logistic 回归分析

将 *HOXA4*、心血管病危险因素分别与 CHD 进行单因素 logistic 及二元 logistic 回归, 结果示总体模型经霍斯默-莱梅肖检验 $P > 0.05$, 模型预测准确率为 80.8%, 伪 $R^2 = 0.310$ (表 2)。

将与 CHD 有关的危险因素进行分层, 并依次进行二元 logistic 回归分析, 在总体样本中依次将 *HOXA4* 与上述因素做相乘交互作用检测 (表 3)。将 *HOXA4* × 性别和 *HOXA4* × HDL-C 两交互项加入二元 logistic 回归后发现 *HOXA4* × HDL-C

(OR: 0.476, 95% CI: 1.480~1.532, $P > 0.05$) 在该回归模型中与 CHD 无相关性, 调整 *HOXA4* × 性别 (OR: 2.103, 95% CI: 1.165~3.798, $P < 0.05$) 混杂因素后发现性别 (OR: 1.375, 95% CI: 0.565~3.348, $P > 0.05$) 与 CHD 的关系无统计学

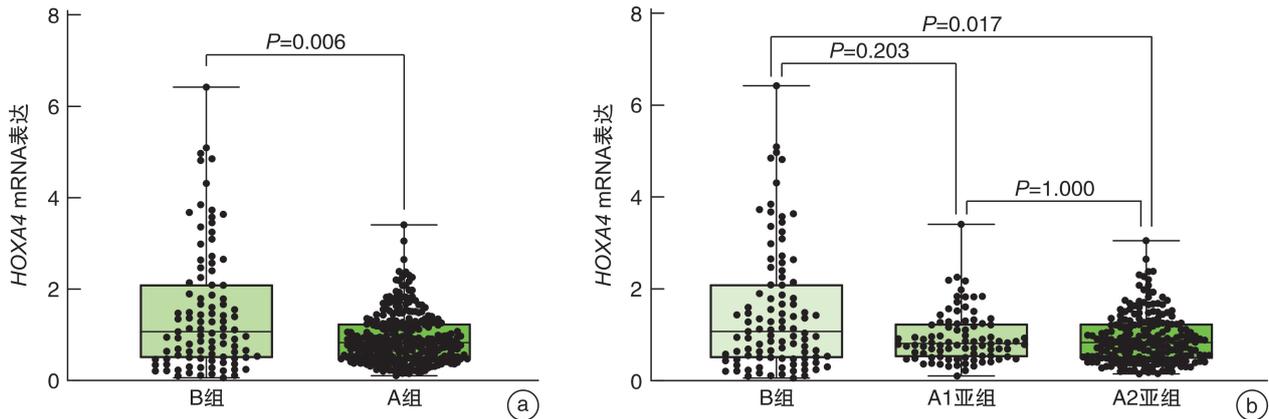
意义, 去除性别后高水平 *HOXA4* (OR: 0.383, 95% CI: 0.226~0.651, $P < 0.05$) 仍与 CHD 呈负相关, 最终 CHD 与心血管因素二元回归模型经霍斯默-莱梅肖检验 $P > 0.05$, 模型预测准确率为 82.3%, 伪 $R^2 = 0.331$ (图 3)。



a: 扩增曲线; b: 熔解曲线。

图 1 *GAPDH*、*HOXA4* 扩增曲线和熔解曲线

Figure 1 Amplification curve and melt curve of *GAPDH* and *HOXA4* gene



a: 有无 CHD 组间 *HOXA4* 表达差异; b: 不同冠脉狭窄程度和非 CHD 组间 *HOXA4* 表达差异。

图 2 不同组间 *HOXA4* mRNA 表达差异

Figure 2 Differences in the mRNA expression of *HOXA4* between different groups

表 1 A 组和 B 组间心血管病危险因素比较

Table 1 Comparison of cardiovascular risk factors between Group A and Group B

变量	A 组 (295 例)	B 组 (100 例)	例 (%), $M(P_{25}, P_{75})$	P
男性	223(75.60)	49(49.00)		< 0.001
年龄/岁	65.00(56.00, 72.00)	57.00(50.00, 66.75)		< 0.001
吸烟	145(49.15)	37(37.00)		0.035
高血压	189(64.07)	44(44.00)		< 0.001
糖尿病	79(26.78)	12(12.00)		0.002
TG/(mmol/L)	1.53(1.09, 2.54)	1.43(1.01, 2.27)		0.405
LDL-C/(mmol/L)	2.42(1.80, 3.08)	2.40(1.88, 2.97)		0.724
HDL-C/(mmol/L)	0.93(0.80, 1.07)	1.01(0.86, 1.20)		0.002
TC/(mmol/L)	3.86(3.03, 4.54)	3.83(3.13, 4.46)		0.748
Scr/(mmol/L)	78.8(65.00, 91.00)	72(57.00, 85.75)		0.008

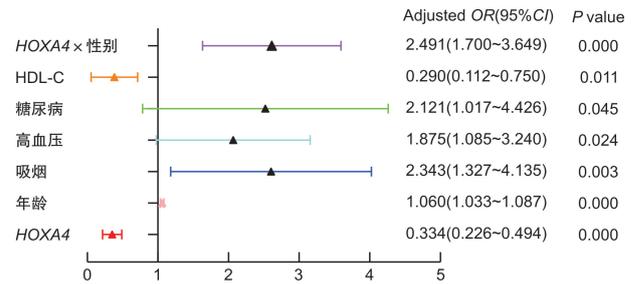
表 2 CHD 危险因素的 logistic 回归分析
 Table 2 Logistic regression analysis of cardiovascular risk factors in coronary heart disease

变量	P	Crude OR(95%CI)	Adjusted OR(95%CI)	P
<i>HOXA4</i>	0.001	0.634(0.491~0.820)	0.651(0.511~0.830)	0.001
男性	<0.001	3.244(2.008~5.176)	3.390(1.964~5.850)	<0.001
年龄	<0.001	1.066(1.036~1.098)	1.060(1.034~1.087)	<0.001
吸烟	0.006	2.454(1.297~4.642)	2.206(1.262~3.857)	0.006
高血压	0.010	2.208(1.206~4.043)	1.756(1.024~3.011)	0.041
糖尿病	0.041	2.233(1.034~4.821)	2.183(1.044~4.568)	0.038
HDL-C	0.003	0.165(0.051~0.536)	0.283(0.109~0.734)	0.005

表 3 CHD 危险因素的 分层研究及交互作用检测

Table 3 Stratified study and interaction detection of risk factors of coronary heart disease

变量	OR(95%CI)	P	交互 P
性别			0.014
男性	0.792(0.600~1.044)	0.098	
女性	0.400(0.293~0.671)	0.001	
吸烟			0.079
无	0.724(0.569~0.921)	0.009	
有	0.438(0.254~0.756)	0.003	
高血压			0.889
无	0.695(0.468~1.033)	0.072	
有	0.661(0.488~0.895)	0.007	
糖尿病			0.091
无	0.539(0.391~0.744)	<0.001	
有	0.852(0.570~1.273)	0.435	
年龄			0.557
青中年	0.647(0.414~1.013)	0.057	
老年	0.639(0.460~0.886)	0.007	
HDL-C			0.043
正常	0.657(0.505~0.853)	0.002	
异常	0.334(0.082~1.362)	0.126	



注:以女性为对照。

图 3 CHD 多因素 logistic 回归

Figure 3 Multivariate logistic regression of coronary heart disease

2.4 *HOXA4* 及心血管病危险因素与冠脉狭窄程度的关系

应用单因素 logistic 回归筛选出与冠脉狭窄程度有关的因素 ($P < 0.05$), 因有序 logistic 回归模型平行性检验不通过, 故选用无序 logistic 回归 (表 4)。

表 4 *HOXA4* 及心血管病危险因素与冠脉狭窄程度

Table 4 Correlation between *HOXA4*, cardiovascular risk factors and degree of coronary artery stenosis

组别	变量	P	Crude OR(95%CI)	Adjusted OR(95%CI)	P
A1 亚组	<i>HOXA4</i>	0.036	0.731(0.546~0.980)	0.751(0.585~0.963)	0.024
	HDL-C	0.010	0.228(0.074~0.700)	0.152(0.042~0.559)	0.005
	年龄	<0.001	1.068(1.038~1.098)	1.076(1.042~1.111)	<0.001
	男性	<0.001	4.749(2.434~9.263)	5.292(2.536~11.044)	<0.001
	吸烟	0.520	1.212(0.675~2.175)	1.464(0.755~2.836)	0.259
	高血压	<0.001	3.876(2.079~7.225)	3.045(1.547~5.992)	0.001
	糖尿病	0.004	3.026(1.420~6.450)	2.127(0.936~4.833)	0.072
A2 亚组	<i>HOXA4</i>	<0.001	0.537(0.400~0.722)	0.570(0.424~0.767)	<0.001
	HDL-C	0.007	0.318(0.138~0.736)	0.301(0.114~0.797)	0.016
	年龄	<0.001	1.040(1.017~1.064)	1.054(1.027~1.082)	<0.001
	男性	<0.001	2.788(1.694~4.587)	3.412(1.979~5.884)	<0.001
	吸烟	0.012	1.876(1.150~3.061)	2.064(1.187~3.590)	0.010
	高血压	0.013	1.848(1.141~2.996)	1.611(0.934~2.780)	0.087
	糖尿病	0.007	2.540(1.288~5.010)	2.176(1.041~4.550)	0.039

HOXA4 及心血管危险因素与冠脉病变支数的多元无序 logistic 回归结果显示,以冠脉单支病变为对照, *HOXA4* 的表达在双支病变 ($P = 0.187$) 及 3 支病变 ($P = 0.727$) 中无显著相关性。心血管病危险因素中, Scr 在双支病变 ($OR\ 1.018, 95\%CI\ 1.006 \sim 1.031, P = 0.003$) 及 3 支病变 ($OR\ 1.013, 95\%CI\ 1.001 \sim 1.026, P = 0.037$) 中有显著相关性,余临床危险因素与冠脉病变支数无显著相关性。

3 讨论

不同研究者对吸烟、高血压、糖尿病及性别等心血管病危险因素与 CHD 相关性研究的结论并非完全一致,提示 CHD 可能是多基因遗传背景联合这些危险因素共同作用所致。本研究以 *HOXA4* 在 CHD 人群的表达为契机,结合心血管病危险因素分析其与冠脉病变特点的相关性。

Kimura 等^[4]在结扎颈动脉的小鼠中发现沉默 *HOXA4* 可促进血管重塑,且 *HOXA4* 可通过与 YES 相关蛋白竞争转录增强子相关域,进而抑制血管平滑肌表型转化。此外,研究发现 *HOXA4* 在心肌梗死后小鼠心脏成纤维细胞表达上调,可能是缺血性心肌病治疗的新方向^[6]。本研究显示 CHD 及冠脉重度狭窄亚组患者外周血中 *HOXA4* 表达减低,而不同冠脉病变支数组间 *HOXA4* 的表达无明显差异。回归分析发现 *HOXA4* 是 CHD 的保护因素,且 *HOXA4* 表达水平越低,冠脉狭窄程度更重,提示 *HOXA4* 低表达与较高的 CHD 患病率和冠脉中、重度狭窄相关,但与冠脉病变范围可能无关。性别与 CHD 患病的相关性存在争议,部分研究认为女性是急性冠脉综合征高死亡率的独立危险因素^[7],而另有研究将女性 CHD 患者的不良预后归因于是否绝经、合并高血压、糖尿病等基础疾病,以及冠脉血运重建及时与否等因素^[8]。本研究单因素 logistic 回归分析中男性是 CHD 的危险因素,性别与 *HOXA4* 的相乘交互作用项与 CHD 呈正相关,而且女性患者中 *HOXA4* 高表达是 CHD 的保护因素。另外, HDL-C 是 CHD 保护因素的结论与既往研究相一致。然而,结果中涉及的其他血脂即 TG、TC 和 LDL-C 与 CHD 无关的结论与已有研究不符,这可能与研究对象在行 CAG 前疑诊 CHD 而服用的他汀类药物影响了上述血脂水平或样本量偏小有关。高血压患者冠脉粥样斑块负荷较重^[9],高血糖与血管内皮细胞功能障碍密切相关^[10],与本研究的结论中高血压者冠脉狭窄倾向于中度、合并糖尿病者冠脉狭窄倾向于重度基本符合。此外,吸烟、高龄者冠脉狭窄更重也与已有研究一致。

综上所述, *HOXA4* 低表达、低水平 HDL-C、

增龄、吸烟、高血压及糖尿病是 CHD 的危险因素,其中 *HOXA4* 低表达、低水平 HDL-C 及增龄与冠脉中、重度狭窄相关,吸烟、糖尿病与冠脉重度狭窄相关,而高血压与冠脉中度狭窄相关。本研究数据来源于单中心,样本量偏小,收集的数据可能存在偏倚,且 *HOXA4* 对 CHD 发挥保护作用的分子机制有待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李建军,杨进刚. “融合”学说:胆固醇、炎症与动脉粥样硬化的新视野[J]. 临床心血管病杂志, 2022, 38(4):265-266.
- [2] 田嘉珉,陈羽斐,沈伟. M2 型巨噬细胞极化及其对动脉粥样硬化的影响[J]. 临床心血管病杂志, 2022, 38(10):838-843.
- [3] Lillvis JH, Erdman R, Schworer CM, et al. Regional expression of *HOXA4* along the aorta and its potential role in human abdominal aortic aneurysms[J]. BMC Physiol, 2011, 11:9.
- [4] Kimura M, Horie T, Baba O, et al. Homeobox A4 suppresses vascular remodeling by repressing YAP/TEAD transcriptional activity[J]. EMBO Rep, 2020, 21(4):e48389.
- [5] Liu NM, Yokota T, Maekawa S, et al. Transcription profiles of endothelial cells in the rat ductus arteriosus during a perinatal period[J]. PLoS One, 2013, 8(9): e73685.
- [6] Aonuma T, Moukette B, Kawaguchi S, et al. MiR-150 attenuates maladaptive cardiac remodeling mediated by long noncoding RNA MIAT and directly represses profibrotic *Hoxa4*[J]. Circ Heart Fail, 2022, 15(4): e008686.
- [7] Milcent C, Dormont B, Durand-Zaleski I, et al. Gender differences in hospital mortality and use of percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction: microsimulation analysis of the 1999 nationwide French hospitals database[J]. Circulation, 2007, 115(7):833-839.
- [8] Hao Y, Liu J, Liu J, et al. Sex differences in in-hospital management and outcomes of patients with acute coronary syndrome[J]. Circulation, 2019, 139(15): 1776-1785.
- [9] Matova EE, Vihert AM. Atherosclerosis and hypertension[J]. Bull World Health Organ, 1976, 53(5-6): 539-546.
- [10] Chen S, Shen Y, Liu YH, et al. Impact of glycemic control on the association of endothelial dysfunction and coronary artery disease in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. Cardiovasc Diabetol, 2021, 20(1): 64.

(收稿日期:2023-11-22)