

不同剂量瑞舒伐他汀对于急性脑梗死患者血清相关 miRNAs 水平的影响

扬州大学附属医院 陈婧 张亚芬 陆奎英*, 扬州 225009

摘要 目的:探讨急性脑梗死(ACI)患者接受不同剂量瑞舒伐他汀治疗后血清脑梗死相关 miRNAs 水平波动情况。方法:90 例 ACI 患者,随机分为低剂量组(10 mg/d, $n=30$)、高剂量组(20 mg/d, $n=30$)和对照组(未加用他汀药物, $n=30$)。所有患者于入组前(T0)和治疗后 3 个月(T1)检测血清 miR-182 和 miR-497 水平,评价神经功能缺损评分(NIH-SS)和日常生活能力评分(Barthel)。结果:T1 时,低剂量组和高剂量组患者血清 miR-182 水平明显高于对照组[低剂量组: (266.4 ± 25.4) fmol/L, 高剂量组: (302.4 ± 31.9) fmol/L vs 对照组: (156.9 ± 11.7) fmol/L, $P < 0.05$], 而 miR-497 水平明显低于对照组[低剂量组: (311.7 ± 34.5) fmol/L, 高剂量组: (190.8 ± 26.1) fmol/L vs 对照组: (412.5 ± 54.1) fmol/L, $P < 0.05$], 同时高剂量组患者 T1 时 miR-182 升高和 miR-497 降低幅度均明显大于低剂量组($P < 0.05$)。 $\Delta = T1 - T0$, 瑞舒伐他汀干预治疗与 Δ miR-182 呈正相关($r = 0.622, P < 0.05$), 与 Δ miR-497 呈负相关($r = -0.630, P < 0.05$), 而高剂量瑞舒伐他汀干预治疗的相关性更加密切($r_{\Delta\text{miR-182}} = 0.668, r_{\Delta\text{miR-497}} = -0.675, P < 0.05$)。结论:瑞舒伐他汀干预治疗可调节 ACI 患者 miR-182 和 miR-497 水平,且调节幅度呈剂量依赖性,神经恢复相关 miR-182 和 miR-497 可能参与他汀的神经保护作用。

关键词 急性脑梗死; 瑞舒伐他汀; 不同剂量; 微小 RNA

中图分类号 R743.33 **文献标识码** A **DOI** 10.11768/nkjwzzzz20180110

Correlation between different dosage of rosuvastatin and related miRNAs in patients with acute cerebral infarction

CHEN Jing, ZHANG Ya-fen, LU Kui-ying*. The Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

Abstract Objective: To evaluate the influence of rosuvastatin with different dosage on related miRNAs in patients with acute cerebral infarction (ACI). Methods: Ninety ACI patients were enrolled in this study and divided into three groups equally and randomly: control group, low-dosage rosuvastatin group and high-dosage rosuvastatin group. The levels of miR-182 and miR-497 were measured before and 3 months after treatment. The scores of neurologic deficit and daily living activity were assessed by NIHSS and Barthel, respectively. Results: The levels of miR-182 in both low-dosage and high-dosage rosuvastatin groups were higher than those in control group [(266.4 ± 25.4) fmol/L, (302.4 ± 31.9) fmol/L vs (156.9 ± 11.7) fmol/L, $P < 0.05$], while those of miR-497 were lower in both low-dosage and high-dosage rosuvastatin groups than those in control group [(311.7 ± 34.5) fmol/L, (190.8 ± 26.1) fmol/L vs (412.5 ± 54.1) fmol/L, $P < 0.05$]. The fluctuation of both miR-182 and miR-497 in high-dosage rosuvastatin group was larger than that in low-dosage rosuvastatin group. Correlation analysis showed that rosuvastatin was negatively related with Δ miR-497 and positively with Δ miR-182. Conclusion: Rosuvastatin may dose-dependently regulate miR-182 and miR-497 in ACI patients, which contributed to the neuroprotection mechanism of statin.

Key words Acute cerebral infarction; Rosuvastatin; Dosage; miRNA

急性脑梗死(acute cerebral infarction, ACI)是我国中老年患者主要的死亡原因和致残原因^[1]。ACI 后的脑保护治疗是降低病死率和减少后遗症的重要手段^[2]。瑞舒伐他汀作为传统的调脂药物,可以通过抑制 HMG-CoA 还原酶,减少胆固醇的合成,增加 LDL 的代谢清除。同时,瑞舒伐他汀也可以抑制炎症反应,降低氧化应激损伤等作用,是临床上常用的脑梗死后脑保护药物^[3]。微小 RNA(miRNA)属于非编码

RNA,长度约 22 nt,结构上高度保守,主要通过结合 mRNA 非翻译区的特定位点,在转录后水平抑制蛋白的表达^[4]。无论是生长发育、细胞增殖与分化、免疫应答和激素分泌等生理过程^[5],还是肿瘤发生、氧化应激、缺血再灌注损伤和糖尿病等病理生理过程^[6],均受到 miRNA 的重要调节。研究报道 miR-182 和 miR-497 等多个 miRNAs 参与到 ACI 后神经功能恢复,属于神经保护的关键 miRNAs^[7]。本研究观察 ACI 患者接受不同剂量瑞舒伐他汀干预治疗后,血清 miR-182 和 miR-497 水平的变化。

* 通信作者:陆奎英, E-mail: lukuiy@126.com

资料与方法

一般资料 2015年2月~2016年12月在扬州大学附属医院住院治疗的ACI患者90例,采用电脑随机排列码表将患者分为3组:低剂量组($n=30$)、高剂量组($n=30$)和对照组($n=30$)。纳入标准:①符合2010版中国急性缺血性脑卒中诊治指南^[8];②诊断为急性脑梗死,并且在48 h之内至医院就诊,行头颅CT或MRI检查排除脑出血,并显示与功能定位相对应的责任梗死灶。排除标准:①无法排除脑出血;②既往有脑梗死病史,30 d内曾行溶栓治疗;③伴有多脏器功能衰竭;④存在他汀类药物禁忌证;④治疗3个月内死亡。所有入选患者均签署知情同意书,本研究方案经医院伦理委员会审批通过。

3组ACI患者均给予低分子肝素抗凝,阿司匹林抗血小板,依达拉奉清除氧自由基,神经节苷脂脑保护,醒脑静活血化瘀等常规治疗。其中,低剂量组加用瑞舒伐他汀10 mg/d(可定,阿斯利康公司);高剂量组加用瑞舒伐他汀20 mg/d(可定,阿斯利康公司),持续服用3个月。

脑梗死程度和预后的评价量表 根据Adams分类法,脑梗死分为大面积脑梗死(梗死面积 $>3.0\text{ cm}^2$ 累及2个以上解剖部位),中面积梗死(梗死面积 $>1.5\sim3.0\text{ cm}^2$ 累及1个以上解剖部位)和腔隙性梗死(梗死面积 $<1.5\text{ cm}^2$)^[9]。于入组前(T0)和治疗后3个月(T1)进行美国国立卫生院神经功能缺损评分(NIHSS)^[10]和日常生活能力评分(Barthel)^[11],Barthel评分越低和NIHSS评分分值越高表示患者神经功能恢复越差。

miRNA检测 所有患者于入组前(T0)和治疗后3个月(T1)抽取患者空腹肘静脉血约15 mL,于4℃3 000 r/min条件下离心30 min(离心机为美国Koehler,型号:K60092),提取上清液,置于-80℃冻存待检。通过Trizol法提取总RNA。通过逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)合成cDNA。使用7600型序列检测系统(ABI公司产品)建立反应体系,以U6

作为内参,通过miR-16建立标准曲线,参照相关文献描述绝对表达量计算方法^[12],计算血清miRNA的绝对含量。

统计学处理 数据采用SPSS 22.0统计软件。正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以百分数(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。通过Pearson和Spearman相关性分析比较瑞舒伐他汀与神经恢复相关miRNAs水平的相关性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一般资料 3组患者在平均年龄、性别分布、脑梗死程度、体重指数(BMI)、吸烟史、慢性病分布(糖尿病、高血压和高脂血症)方面均未见明显统计学差异(均 $P>0.05$),见表1。

miRNA水平波动和神经功能评分 T0时3组患者血清神经功能相关miRNA(miR-182和miR-497)和神经功能评分(NIHSS评分和Barthel评分)均无明显统计学差异(均 $P>0.05$)。经过3个月治疗后(T1时),3组患者血清miR-497水平、NIHSS评分均有所下降,而miR-182水平和Barthel评分均有所上升($P<0.05$)。T1时低剂量组和高剂量组患者血清miR-182明显高于对照组($P<0.05$),而miR-497明显低于对照组($P<0.05$),同时高剂量组患者T1时miR-182升高和miR-497降低幅度均明显高于低剂量组($P<0.05$)。T1时低剂量组和高剂量组患者Barthel评分明显高于对照组,NIHSS评分明显低于对照组,同时高剂量组Barthel评分明显高于低剂量组患者(均 $P<0.05$),而NIHSS评分在2种剂量瑞舒伐他汀治疗组间未见明显差异($P>0.05$),见表2。

相关性分析 瑞舒伐他汀干预治疗与 $\Delta\text{miR}-182$ 呈正相关($r=0.622, P<0.05$),与 $\Delta\text{miR}-497$ 呈负相关($r=-0.630, P<0.05$),而高剂量瑞舒伐他汀干预治疗的相关性更加密切($r_{\Delta\text{miR}-182}=0.668, r_{\Delta\text{miR}-497}=-0.675, P<0.05$),见表3。

表1 3组患者一般资料比较

组别	例	年龄 (岁)	男/女 (例)	脑梗死程度[例(%)]			MI (kg/m^2)	吸烟 [例(%)]	糖尿病 [例(%)]	高血压 [例(%)]	高脂血症 [例(%)]
				腔隙性	中等面积	大面积					
对照组	30	61.2 $\pm$ 6.3	18/12	9(30.0)	11(36.7)	10(33.3)	24.9 $\pm$ 2.1	21(70.0)	7(23.3)	11(36.7)	13(43.3)
低剂量组	30	59.7 $\pm$ 7.3	17/13	10(33.3)	11(36.7)	9(30.0)	25.3 $\pm$ 1.6	22(73.3)	10(33.3)	9(30.0)	10(33.3)
高剂量组	30	62.6 $\pm$ 4.6	18/12	12(40.0)	10(33.3)	8(26.7)	25.1 $\pm$ 1.2	18(60.0)	9(30.0)	12(40.0)	11(36.7)

表 2 3 组患者 miRNA 水平变化和神经功能评分比较

($\bar{x} \pm s$)

组别	例	miR-182 (fmol/L)		miR-497 (fmol/L)		NIHSS 评分(分)		Barthel 评分(分)	
		T0	T1	T0	T1	T0	T1	T0	T1
对照组	30	110.8 ± 12.5	156.9 ± 11.7	446.8 ± 39.7	412.5 ± 54.1	21.2 ± 2.1	16.1 ± 2.3	32.4 ± 5.1	50.4 ± 7.2
低剂量组	30	98.1 ± 16.4	266.4 ± 25.4 *	491.6 ± 50.4	311.7 ± 34.5 *	22.4 ± 1.9	13.9 ± 1.3 *	34.1 ± 6.2	66.4 ± 8.2 *
高剂量组	30	112.8 ± 18.7	302.4 ± 31.9 **	522.4 ± 44.3	190.8 ± 26.1 **	21.0 ± 2.5	12.8 ± 2.2 *	33.5 ± 4.4	78.4 ± 7.7 **

注:与对照组比较,* $P < 0.05$;与低剂量组比较,** $P < 0.05$ 表 3 相关性分析(相关系数 r)

	miR-182			miR-497		
	T0	T1	Δ	T0	T1	Δ
NIHSS 评分						
T0	-0.144	-0.003	0.035	0.119	0.005	0.012
T1	-0.233 *	-0.523 *	-0.593 *	0.259	0.335 *	0.552 *
Δ	-0.182 *	-0.161	-0.669 *	0.221	0.287 *	0.588 *
Barthel 评分						
T0	0.109	0.134	0.008	-0.155	-0.139	0.055
T1	0.125	0.612 *	0.168	-0.377 *	-0.623 *	0.440 *
Δ	0.081	0.115	0.663 *	-0.481 *	-0.552 *	-0.681 *
瑞舒伐他汀治疗(低剂量+高剂量)	0.001	0.501 *	0.622 *	-0.002	-0.559 *	-0.630 *
高剂量瑞舒伐他汀	0.012	0.587 *	0.668 *	-0.005	-0.571 *	-0.675

注:* $P < 0.05$

讨 论

他汀类药物可以稳定血管斑块、抑制炎症反应、改善氧化应激,促进 ACI 患者神经功能的恢复^[13]。本研究发现瑞舒伐他汀可以明显升高 miR-182 和降低 miR-497 血清浓度,并且这种作用呈剂量依赖性。

miRNA 是一种重要的非编码 RNA,已发现数个参与脑梗死后神经功能恢复相关的 miRNA。本研究选择 miR-182 和 miR-497 作为研究点,发现 ACI 患者经过治疗后 miR-182 水平呈上升趋势,而 miR-497 呈下降趋势,加用瑞舒伐他汀治疗后波动幅度更加明显,且具有剂量依赖性。miR-182 是一种具有神经保护性的 miRNA,在大鼠缺血缺氧动物模型中可见 miR-182 水平明显下降,miR-182 可以在转录后水平抑制 CLOCK 基因相关蛋白的翻译^[14]。miR-182 靶向沉默丝切蛋白 1 的翻译,进而影响神经细胞电信号传导^[15]。本研究发现瑞舒伐他汀可以明显降低 ACI 患者 miR-182 水平,而 miR-182 水平波动趋势与神经功能评分(NIHSS 和 Barthel)密切相关,其中的机制可能与他汀类药物调控 miR-182 对于 CLOCK 基因和丝切蛋白 1 的基因沉默作用有关。

miR-497 在大脑内特异性表达,可以通过抑制 Bcl-2 等凋亡相关基因,促进缺血的神经元死亡。通过转基因技术敲除大鼠体内编码 miR-497 的基因后

可明显改善 ACI 的脑损伤和神经功能缺失情况^[16]。临床研究发现患者血清 miR-497 可作为诊断缺血性脑卒中的分子标志物,miR-497 在缺血性脑卒中的发生发展过程中可能具有协同调控作用^[17]。本研究发现他汀类药物可以呈剂量依赖性的降低 ACI 患者血清 miR-497 水平,相关性分析提示瑞舒伐他汀与神经功能指数和 miR-497 改变密切相关。

miRNA 被认为是新的治疗靶点,一些药物被证实具有调控 miRNA 的作用^[18]。他汀调控 miRNA 的具体机制尚未明确,可能通过上调人体内 miR-33 水平,进而抑制胆固醇结合蛋白(SREBP)的表达,促进高密度脂蛋白对于胆固醇的转运,减少斑块和炎症反应^[19]。本研究证实 miR-182 和 miR-497 参与到他汀的神经保护药理机制中。

综上所述,本研究从神经恢复相关 miRNA 角度出发,发现 ACI 患者接受瑞舒伐他汀治疗后,miR-182 明显升高和 miR-497 水平降低,且呈剂量依赖性改变,推测神经恢复相关 miR-182 和 miR-497 可能参与他汀的神经保护作用,该内容可能进一步丰富了他汀类药物神经保护作用的药理机制。

参 考 文 献

- 1 朱春丽,彭一鹏,欧阳存,等.远端缺血后适应处理对急性脑梗死患者血清促炎因子和抗炎因子的影响及其临床意义[J].疑难病杂志,2016,15(3):241-244.

(下转第 45 页)

- 6 狄红彦,陈欣,卢成志,等.血栓抽吸联合冠状动脉内替罗非班对急性ST段抬高型心肌梗死患者的疗效分析[J].心脏杂志,2015,43(4):758-761.
- 7 李莉利,金光.急诊经皮冠状动脉介入术与替罗非班联合治疗急性心肌梗死的临床观察[J].内科急危重症杂志,2017,23(4):315-317.
- 8 李勇.急性ST段抬高型心肌梗死患者直接经皮冠状动脉介入术后发生无复流的危险因素[J].中国医药,2016,11(9):1269-1273.
- 9 周东晖,金元哲,王琦,等.急性心肌梗死介入治疗中血栓抽吸及替罗非班联合应用疗效观察[J].山东医药,2012,52(5):44-45.
- 10 贺立新,廖昆,黄芳菲,等.血栓抽吸导管在急性心肌梗死介入治疗中的应用[J].医学临床研究,2015,39(5):1029-1030.
- 11 陈春望,程勇,张荣林,等.替罗非班联合血栓抽吸对接受经皮冠状动脉介入治疗的急性ST段抬高型心肌梗死患者的梗死相关动脉血流和心功能的影响[J].中国循环杂志,2013,28(8):595-598.
- 12 邢造颖,董平栓,王红雷,等.血栓抽吸联合替罗非班在急性心肌梗死择期PCI中应用的临床研究[J].现代预防医学,2012,39(19):5168-5169,5172.
- 13 张鹏,解强,程颖,等.血栓抽吸及替罗非班预处理罪犯血管后延迟支架植入术治疗急性心肌梗死30例[J].医药导报,2015,34(12):1606-1609.
- 14 肖志超,邹克勇,蔡绍乾,等.急性ST段抬高型心肌梗死患者溶栓后经皮冠状动脉介入治疗时机的选择[J].内科急危重症杂志,2013,19(3):147-148.
- 15 于海侠,陈治国.ST段抬高型心肌梗死再灌注治疗方式与血清脑钠肽水平的变化[J].内科急危重症杂志,2013,19(3):173,178.

(2017-03-08 收稿 2017-06-29 修回)

(上接第33页)

- 2 南毛球,宫丽,匡良洪,等.急性脑梗死患者尿酸水平与脑微出血的相关性研究[J].华南国防医学杂志,2016,19(12):773-776.
- 3 谢坚,张虹桥,章成国,等.瑞舒伐他汀与阿托伐他汀对急性脑梗死患者血脂、血清超敏C反应蛋白及颈动脉粥样硬化斑块作用的比较[J].临床神经病学杂志,2015,28(1):37-41.
- 4 李智鑫,茅尧生.浅谈miRNA与脓毒症[J].内科急危重症杂志,2013,19(2):116-118.
- 5 Yu Y,Chai J. The function of miRNAs and their potential as therapeutic targets in burn-induced insulin resistance (review)[J]. Int J Mol Med,2015,35(2):305-310.
- 6 Gambari R,Brogna E,Spandidos DA,et al. Targeting oncomiRNAs and mimicking tumor suppressor miRNAs: New trends in the development of miRNA therapeutic strategies in oncology (Review)[J]. Int J Oncol,2016,49(1):5.
- 7 Ding X,Sun B,Huang J,et al. The role of miR-182 in regulating pineal CLOCK expression after hypoxia-ischemia brain injury in neonatal rats. [J]. Neurosci Lett,2015,59(1):75.
- 8 中华医学会神经病学分会脑血管病学组急性缺血性脑卒中诊治指南撰写组.中国急性缺血性脑卒中诊治指南2010[J].中国医学前沿杂志电子版,2010,14(4):4013-4017.
- 9 孙丽君,邱峰.急性脑梗死OCSP分型与TOAST分型关系的临床研究[J].北京医学,2016,38(11):1230-1232.
- 10 Fischer U,Arnold M,Nedeltchev K,et al. NIHSS score and arteriographic findings in acute ischemic stroke[J]. Stroke,2005,36(10):2121.
- 11 Lam SC, Lee DT, Yu DS. Establishing CUTOFF values for the Simplified Barthel Index in elderly adults in residential care homes [J]. J Am Geriatr Soc,2014,62(3):575-577.
- 12 裴颖皓,王俊,钟勇,等.血清同型半胱氨酸和miR水平与非典型性绞痛病变程度的相关性分析[J].微循环学杂志,2016,18(1):34-37.
- 13 宋燕峰,吴朝霞,刘红,等.H型高血压与急性脑梗死的相关性研究[J].内科急危重症杂志,2016,22(1):17-18.
- 14 Ding X,Sun B,Huang J,et al. The role of miR-182 in regulating pineal CLOCK expression after hypoxia-ischemia brain injury in neonatal rats. [J]. Neurosci Lett,2015,591:75-80.
- 15 Bellon A, Iyer A, Bridi S, et al. miR-182 Regulates Slit2-Mediated axon guidance by modulating the local translation of a specific mRNA [J]. Cell Rep,2017,18(5):1171.
- 16 Yin KJ,Deng Z,Huang H,et al. miR-497 regulates neuronal death in mouse brain after transient focal cerebral ischemia [J]. Neurobiol Dis,2010,38(1):17.
- 17 罗振钊,孔曼,卢忠心,等.缺血性脑卒中患者血清中miR-145、miR-497表达变化及其与Hs-CRP、MMP-9的相关性[J].中华神经医学杂志,2015,14(8):770-774.
- 18 Alieva AK,Filatova EV,Karabanov AV,et al. miRNA expression is highly sensitive to a drug therapy in Parkinson's disease[J]. Parkinsonism Relat Disord,2015,21(1):72-74.
- 19 Niesor EJ,Schwartz GG,Perez A,et al. Statin-Induced decrease in ATP-Binding cassette transporter A1 expression via microRNA33 induction may counteract cholesterol efflux to high-density lipoprotein [J]. Cardiovasc Drugs Ther,2015,29(1):7-14.

(2017-03-26 收稿 2017-12-19 修回)