

血清微小 RNA-124 和微小 RNA-199a 水平有助于评估急性缺血性脑卒中病情和预后

曹爱萍 周小燕

南通大学附属海安医院神经内科,江苏海安 226600

摘要 目的:探讨血清微小 RNA(miR)-124 和 miR-199a 水平与急性缺血性脑卒中(AIS)患者病情及预后的关系。方法:选取 84 例 AIS 患者,为观察组,选择同期行健康体检者 45 例,为对照组;观察组根据美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)对不同病情患者进行分组,轻度组 34 例(<5 分)、中度组 27 例(5~15 分)、重度组 23 例(>15 分)。观察组根据随访 6 个月的改良 Rankin 量表(mRS)评分,又分为预后良好组 39 例(≤ 2 分)和预后不良组 45 例(>2 分)。比较不同病情程度和不同预后 AIS 患者血清 miR-124 和 miR-199a 水平,分析其在 AIS 病情演变和预后评估中的价值。结果:观察组入院时的血清 miR-124 水平低于对照组,miR-199a 水平高于对照组(P 均 < 0.05)。AIS 患者入院后血清 miR-124 水平呈下降趋势,miR-199a 水平呈升高趋势,分别在入院 24 h 达到谷底和峰顶,入院 48 h 后逐渐恢复;不同时点内重度组的变化幅度高于轻度组和中度组,预后不良组的变化幅度高于预后良好组(P 均 < 0.05);入院 24~48 h 的血清水平对疾病预后评估的价值较强。结论:血清 miR-124 和 miR-199a 水平可帮助评估 AIS 患者的病情和预后。

关键词 AIS; miR-124; miR-199a; 病情程度; 预后评估

中图分类号 R743.33

文献标识码 A

DOI 10.11768/nkjwzzzz20240118

急性缺血性脑卒中(acute ischemic stroke, AIS)的早期诊断、早期干预和病情监测对提高临床救治率和减少致残率密切相关,临床上多采用影像学检查和相关的卒中量表进行评估和检测^[1]。微小 RNA(miR)能通过其 3'UTR 区结合,阻断靶基因的蛋白编码表达,介导机体氧化应激、细胞凋亡、血管生成等生理活动,可作为恶性肿瘤增殖迁移和心血管主要不良事件生物学标志物^[2]。本研究探讨 AIS 患者血清 miR-124 和 miR-199a 水平对病情和预后的评估价值,报道如下。

资料与方法

1. 一般资料:选取南通大学附属海安医院神经内科 2019 年 1 月 1 日-2020 年 3 月 31 日收治的 84 例 AIS 患者,列入观察组,根据 AIS 病因学(TOAST)分类为小动脉闭塞 26 例(30.95%),大动脉粥样硬化性血栓形成 12 例(14.29%),心源性脑栓塞 17 例(20.24%),其他原因 8 例(9.52%),不明原因 21 例(25.0%)。纳入标准:急性神经功能缺损症状,经头颅 CT 和/或 MRI 检查符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》中的诊断标准^[3]。排除标准:脑出血、脑外伤、脑肿瘤,既往神经系统、免疫系

统和血液系统疾病,恶性肿瘤;中途死亡或失访等。选择同期行健康体检者 45 例列入对照组。本研究经医院医学伦理委员会审批(海人医伦理号:20190059),患者或家属知情并签署同意书。

2. 临床分组^[4]:①病情严重程度分组:观察组患者根据美国国立卫生研究院卒中量表(National Institutes of Health stroke scale,NIHSS)评分,分成轻度组 34 例(<5 分)、中度组 27 例(5~15 分)、重度组 23 例(>15 分)。②疾病预后分组:观察组患者根据随访 6 个月的改良 Rankin 量表(modified Rankin scale,mRS)评分,分为预后良好组 39 例(≤ 2 分)和预后不良组 45 例(>2 分)。

3. 方法:观察组患者分别于入院时、入院 12、24、48、72 h 时,采集上肢浅静脉血液 5 mL,以 3 000 转/min 离心 10 min 预处理后备用。对照组于体检时采集血液标本。根据 Trizol 试剂盒的要求提取血清总 RNA,采用 Superscript-III 反转录酶试剂盒反转录合成 cDNA;再使用 Real Master Mix 试剂盒,以及 SYBR Green-I 染料进行实时荧光定量的 PCR 方法进行检测,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算出血清 miR-124 和 miR-199a 的表达水平。

4. 观察指标:比较 2 组的性别、年龄、体质指数

基金项目:2018 年度南通市市级科技计划项目(MSZ18227)

通信作者:曹爱萍,E-mail:3501692914@qq.com,江苏省海安市中坝中路 17 号

(body mass index, BMI)、白细胞计数(WBC)、超敏C-反应蛋白(hs-CRP)、白介素(IL)-6、总胆固醇(TC)、高血压、糖尿病和吸烟史等一般资料。比较观察组入院时和对照组体检时的血清 miR-124 和 miR-199a 水平。比较观察组不同病情程度、不同预后分组在入院时、入院 12、24、48、72 h 时血清 miR-124 和 miR-199a 水平变化。分析血清 miR-124 和 miR-199a 水平对 AIS 患者预后的评估价值。

5. 统计学分析:采用 SPSS 22.0 统计学软件。

计量指标以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差(F)分析,组内两两比较采用 Dunnett-t 检验。计数资料以 n(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 一般资料:2 组的性别、年龄、BMI、WBC、hs-CRP、IL-6、TC、既往史等比较,差异无统计学意义(P 均 > 0.05),见表 1。

表 1 2 组一般资料比较

组别	例	男性 [例(%)]	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	BMI (kg/m^2 , $\bar{x} \pm s$)	WBC ($\times 10^9$, $\bar{x} \pm s$)	hs-CRP (mg/L , $\bar{x} \pm s$)	IL-6 ($\mu\text{g}/\text{L}$, $\bar{x} \pm s$)	TC (mmol/L , $\bar{x} \pm s$)
观察组	84	53(63.09)	68.37 \pm 5.14	23.06 \pm 1.25	7.53 \pm 1.06	6.25 \pm 1.37	125.83 \pm 17.26	5.01 \pm 0.49
对照组	45	28(62.22)	68.25 \pm 5.17	23.02 \pm 1.23	7.46 \pm 1.09	6.14 \pm 1.32	124.79 \pm 17.08	4.95 \pm 0.46
χ^2/t 值		0.264	0.187	0.173	0.161	0.154	0.197	0.146
P 值		0.475	0.274	0.315	0.342	0.359	0.216	0.375

组别	例	既往史[例(%)]				吸烟史 [例(%)]	饮酒史 [例(%)]	家族史 [例(%)]
		高血压	糖尿病	高脂血症	房颤			
观察组	84	34(40.48)	15(17.86)	55(65.48)	6(7.14)	23(27.38)	31(36.90)	10(11.90)
对照组	45	19(42.22)	8(17.78)	29(64.44)	3(6.67)	12(26.67)	16(35.56)	5(11.11)
χ^2/t 值		0.263	0.219	0.275	0.328	0.264	0.238	0.259
P 值		0.394	0.407	0.381	0.365	0.419	0.451	0.384

2. 血清 miR-124 和 miR-199a 水平:观察组患者入院时血清 miR-124 水平低于对照组,miR-199a 水平高于对照组(P 均 < 0.05),见表 2。

表 2 2 组血清 miR-124 和 miR-199a 水平比较

组别	例	miR-124	miR-199a
观察组	84	2.71 \pm 0.53	3.58 \pm 0.69
对照组	45	3.84 \pm 0.75	1.17 \pm 0.32
t 值		11.926	18.593
P 值		0.000	0.000

3. 观察组不同病情程度患者血清 miR-124 和 miR-199a 水平:观察组中,重度组入院时血清 miR-124 水平显著低于中轻度组($P < 0.05$);入院后呈逐渐下降趋势,于入院 24 h 达到谷值,入院 48 h 逐渐回升($P < 0.05$)。重度组入院时 miR-199a 水平显著高于中、轻度组($P < 0.05$);入院后呈逐渐升高趋势,于入院 24 h 达到峰值,入院 48 h 逐渐回落。重度组两指标的变化幅度均大于中轻度组(P 均 < 0.05),见表 3、4。

4. 观察组不同预后患者血清 miR-124 和 miR-199a 水平:观察组中,入院时预后不良组血清 miR-124 水平低于预后良好组($P < 0.05$)。入院后,血清 miR-124 水平均呈逐渐下降趋势,于入院 24 h 达到

谷值,入院 48h 逐渐回升($P < 0.05$);预后不良组血清 miR-199a 水平高于预后良好组,入院后血清 miR-199a 水平呈逐渐上升趋势,于入院 24 h 达到峰值,入院 48 h 逐渐回落。预后不良组两指标的变化幅度大于预后良好组(P 均 < 0.05),见表 5、6。

5. 血清 miR-124 和 miR-199a 水平的预后评估价值:观察组患者入院后各时点的血清 miR-124 和 miR-199a 水平在评估疾病预后中均具有一定的价值,其中入院 24 h 和 48 h 的血清检测水平价值最高,见表 7。

讨论

miR 在心脑血管疾病的发生和发展过程中发挥重要作用,已逐渐成为心脑血管和神经系统疾病的重要生物标志物。有研究证实,miR-124 是中枢神经系统中体液丰度最高的 miRNA,能调控抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-1x 的表达水平,促进小胶质细胞和巨噬细胞转化为 M2 表型,减轻中枢神经系统的炎症应激反应和神经元损伤^[5]。miR-199a 可上调缺氧诱导因子 1 α (hypoxia-inducible factor 1 α , HIF-1 α) 的表达,提高机体的缺氧适应能力,并升高血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)

表3 观察组不同病情程度血清 miR-124 水平的动态变化

组别	例	入院时	入院 12 h	入院 24 h	入院 48 h	入院 72 h	F 值	P 值
轻度组	34	3.18 ± 0.64	2.78 ± 0.56	2.29 ± 0.42	2.61 ± 0.50	2.96 ± 0.54	9.264	0.000
中度组	27	3.67 ± 0.71*	3.92 ± 0.78*	4.48 ± 0.85*	4.26 ± 0.79*	3.95 ± 0.74*	11.714	0.000
重度组	23	3.94 ± 0.78**	4.26 ± 0.85**	4.71 ± 0.93**	4.59 ± 0.87**	4.38 ± 0.82**	12.581	0.000

注:与轻度组比较,*P<0.05;与中度组比较,**P<0.05

表4 观察组不同病情程度血清 miR-199a 水平的动态变化

组别	例	入院时	入院 12 h	入院 24 h	入院 48 h	入院 72 h	F 值	P 值
轻度组	34	3.42 ± 0.63	3.70 ± 0.68	4.06 ± 0.75	3.92 ± 0.71	3.78 ± 0.65	8.523	0.000
中度组	27	3.67 ± 0.71*	3.92 ± 0.78*	4.48 ± 0.85*	4.26 ± 0.79*	3.95 ± 0.74*	9.027	0.000
重度组	23	3.94 ± 0.78**	4.26 ± 0.85**	4.71 ± 0.93**	4.59 ± 0.87**	4.38 ± 0.82**	9.265	0.000

注:与轻度组比较,*P<0.05;与中度组比较,**P<0.05

表5 观察组不同预后血清 miR-124 水平的动态变化

组别	例	入院时	入院 12 h	入院 24 h	入院 48 h	入院 72 h	F 值	P 值
预后良好组	39	2.92 ± 0.57	2.46 ± 0.50	2.12 ± 0.45	2.27 ± 0.49	2.52 ± 0.54	8.362	0.000
预后不良组	45	2.64 ± 0.48*	2.08 ± 0.43*	1.75 ± 0.36*	1.98 ± 0.41*	2.11 ± 0.45*	9.568	0.000

注:与预后良好组比较,*P<0.05

表6 观察组不同预后血清 miR-199a 水平的动态变化

组别	例	入院时	入院 12 h	入院 24 h	入院 48 h	入院 72 h	F 值	P 值
预后良好组	39	3.54 ± 0.65	3.81 ± 0.67	4.12 ± 0.69	3.86 ± 0.65	3.72 ± 0.75	8.428	0.000
预后不良组	45	3.90 ± 0.75*	4.13 ± 0.81*	4.59 ± 0.86*	4.41 ± 0.82*	4.08 ± 0.75*	9.861	0.000

注:与预后良好组比较,*P<0.05

表7 血清 miR-124 和 miR-199a 水平对 AIS 患者预后的评估价值分析

组别	时间	截断值	AUC	95% 置信区间	P 值	灵敏度	特异性
miR-124	入院时	3.62	0.782	0.536 ~ 0.751	0.013	61.87	68.52
	入院 12h	3.27	0.759	0.653 ~ 0.872	0.000	67.82	82.57
	入院 24h	2.85	0.847	0.762 ~ 0.938	0.000	82.63	79.06
	入院 48h	3.06	0.805	0.734 ~ 0.905	0.000	79.48	86.39
	入院 72h	3.48	0.674	0.551 ~ 0.784	0.003	65.09	75.31
miR-199a	入院时	4.83	0.653	0.576 ~ 0.780	0.009	64.09	73.49
	入院 12h	5.24	0.716	0.659 ~ 0.814	0.000	72.48	71.65
	入院 24h	6.15	0.875	0.783 ~ 0.927	0.000	81.65	93.26
	入院 48h	5.87	0.793	0.716 ~ 0.874	0.000	76.93	78.42
	入院 72h	5.06	0.685	0.625 ~ 0.765	0.000	68.37	82.17

水平来促进内皮血管新生和侧枝循环形成^[6]。本研究显示,AIS 患者血清 miR-124 水平低于健康体检者,miR-199a 水平高于健康体检者(P<0.05),提示这两个血清学指标与 AIS 的疾病发生具有一定的相关性。

研究表明,miR-124 能降解 RE1 沉默转录因子,抑制脑神经系统炎症反应,减少神经元细胞的凋亡,增强神经血管的重塑,减轻脑神经功能缺损程度^[7]。刘丽娇等^[8] 研究报道,AIS 患者的血清 miR-124 水平显著低于健康体检者,重度患者的血清 miR-124 水平低于中、轻度患者,易损斑块患者的血清 miR-124 水平低于稳定斑块患者,与神经功能缺

损程度和颈动脉斑块性质呈负相关。谢尊椿等^[9] 报道,AIS 患者血浆 miR-124 表达水平显著低于无 AIS 病史体检者,梗死体积 > 3cm³ 和 NIHSS > 5 分的 AIS 患者血浆 miR-124 表达水平较低,其表达水平与脑梗死体积及 NIHSS 评分呈负相关。本研究显示,病情重度组 AIS 患者入院时血清 miR-124 水平显著低于中、轻度组,随着疾病的发展呈逐渐降低的趋势,于入院 24 h 时达到谷值,入院 48 h 时表达水平逐渐回升,与以上报告一致。

在脑神经组织持续缺氧状态下,炎症应激和细胞因子水平升高可触发血清 HIF-1α 水平升高,提高机体对缺氧的适应性反应,HIF-1α 在缺氧诱导的细

胞损伤中起保护作用;HIF-1 α 是VEGF的上游基因产物,血清水平升高可促进VEGF表达^[10]。在AIS的急性期能增加脑血管的通透性,可能加重血脑屏障的破坏和脑水肿;在疾病的亚急性期和恢复期,可促进血管内皮细胞的生长,诱导新生血管增生,以促进侧枝循环的建立,有利于局部组织修复^[11]。惠素艳^[12]认为AIS患者的血清miRNA-199a水平显著高于健康人群,与CRP水平呈显著正相关,在疾病的亚急性期和恢复期时呈降低趋势。本研究显示,病情重度组AIS患者血清miR-199a水平显著高于中、轻度组,随着疾病的发展呈逐渐升高的趋势,于入院24h时达到峰值,入院48h时表达水平逐渐回落,变化幅度均高于中、轻度组;预后不良组高于预后良好组($P < 0.05$);说明血清miR-199a水平变化与AIS的病情严重程度显著相关,可帮助预测AIS疾病演变过程和预后。

参考文献

- 1 刘辉均,田小文,刘承春.急救标准流程对脑卒中患者的疗效及其安全性的影响[J].内科急危重症杂志,2020,26(1):55-56,88.
- 2 Zeng ZL,Chen JJ,Wu P,et al. OxLDL induces vascular endothelial cell pyroptosis through miR-125a-5p/TET2 pathway [J]. J Cellul Physiol,2019,234(5):7475-7491.
- 3 彭斌,吴波.中国急性缺血性脑卒中诊治指南2018[J].中华神经

科杂志,2018,51(9):666-682.

- 4 沈丽萍,杨江胜,刘东柏,等.高迁移率族蛋白BI水平与急性脑梗死病情严重程度及预后的关联研究[J].中华神经医学杂志,2019,11(18):1131-1135.
- 5 Periyasamy P,Liao K,Kook YH,et al. Cocaine mediated downregulation of miR-124 activates microglia by targeting KLF4 and TLR4 Signaling [J]. Mol Neurobiol,2018,55(4):3196-3210.
- 6 Wu L,Xi YL,Kong QL. Dexmedetomidine protects PC12 cells from oxidative damage through regulation of miR-199a/HIF-1 α [J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol,2020,48(1):506-514.
- 7 Sun M,Hou X,Guang R,et al. Dynamic changes in miR-124 levels in patients with acute cerebral infarction [J]. Int J Neurosci,2019,129(7):649-653.
- 8 谢尊椿,刘彬,周美鸿,等.急性缺血性脑卒中患者血浆miR-124表达变化及其意义[J].实用医学杂志,2019,35(3):343-345.
- 9 谢尊椿,刘彬,周美鸿,等.血清miR-124 miR-145检测对急性缺血性脑卒中的诊断价值[J].中国实用神经疾病杂志,2020,23(4):330-334.
- 10 Afacan B,Öztürk V,PaşalıC,et al. Gingival crevicular fluid and salivary HIF-1 α ,VEGF,and TNF- α levels in periodontal health and disease [J]. J Periodonto,2019,90(7):788-797.
- 11 Sun Y,Xiong X,Wang X. HIF1 α /miR199a/ADM feedback loop modulates the proliferation of human dermal microvascular endothelial cells(HDMECs) under hypoxic condition [J]. Cell Cycle,2019,18(21):2998-3009.
- 12 惠素艳.探讨hsa-miR 199a5p表达或缺缺血性脑卒中的预测作用 [J].神经损伤与功能重建,2017,12(4):294-296.

(2021-01-04 收稿 2023-11-27 修回)

(上接第54页)

- 14 张云,焦黛妍,吴兆华.血清ICAM-1、MMP-9和Cys-C水平可评估急性脑出血患者的病情和预后[J].内科急危重症杂志,2023,29(3):199-202.
- 15 朱家双,杨玉升,黄建华,等.自发性脑出血评分联合凝血参数对自发性脑出血患者预后评估价值[J].内科急危重症杂志,2023,29(1):46-48,80.
- 16 杨华,李致文,曹明善,等.纤维蛋白原、肿瘤坏死因子- α 、D-二聚体可预测急性脑梗死患者溶栓后出血性转化的风险[J].内科急危重症杂志,2023,29(4):293-297.
- 17 Yang R,Pedersen NL,Bao C,et al. Type 2 diabetes in midlife and risk of cerebrovascular disease in late life: a prospective nested case-control study in a nationwide Swedish twin cohort [J]. Diabetologia. 2019;62(8):1403-1411.
- 18 Keep RF,Andjelkovic AV,Xiang J,et al. Brain endothelial cell junctions after cerebral hemorrhage: changes mechanisms and therapeutic

targets [J]. J Cereb Blood Flow Metab,2018,38(8):1255-1275.

- 19 Zhang Z,Guo Q,Wang E. Hyperventilation in neurological patients: from physiology to outcome evidence [J]. Curr Opin Anaesthesiol. 2019;32(5):568-573.
- 20 McAteer A,Hravnak M,Chang Y,et al. The relationships between BNP and neurocardiac injury severity noninvasive cardiac output and outcomes after aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. Biol Res Nurs,2017,19(5):531-537.
- 21 Chen S,Li Q,Wu H,Krafft PR,et al. The harmful effects of subarachnoid hemorrhage on extracerebral organs, Biomed Res Int. 2014,2014:858496.
- 22 杜桂青,孙良,马卫武,等.血清脑钠肽前体联合乳酸清除率评估无创通气治疗心源性肺水肿近期预后的价值[J].内科急危重症杂志,2020,26(5):403-405.

(2021-12-07 收稿 2023-11-21 修回)