

• 论 著 •

血清 miR-124、CD146 及 Angptl2 水平与急性脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块稳定性的关系研究*

李霞¹, 王景梅², 李军华¹, 胡艳艳¹, 王闪闪¹, 毛亚娟¹, 武一平^{1△}

邯郸市中心医院: 1. 神经内科; 2. 重症医学科, 河北邯郸 056000

摘要:目的 探讨血清微小 RNA-124(miR-124)、CD146、血管生成素样蛋白 2(Angptl2)与急性脑梗死(ACI)患者颈动脉粥样硬化(CAS)斑块稳定性的关系,为 ACI 患者的早期防治提供参考依据。方法 选择 2020 年 1 月至 2023 年 2 月在邯郸市中心医院就诊的 ACI 患者 191 例作为 ACI 组,另选取同期在该院体检的健康志愿者 61 例作为对照组。根据颈动脉彩色多普勒超声结果将 ACI 患者分为不稳定斑块组(56 例)、稳定斑块组(71 例)、无斑块组(64 例)。采用实时荧光定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)技术检测所有对象血清 miR-124 表达水平,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 CD146、Angptl2 水平,采用单因素及多因素 Logistic 回归分析 ACI 患者 CAS 斑块不稳定的影响因素;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-124、CD146 联合 Angptl2 对 ACI 患者 CAS 斑块不稳定的预测价值。结果 ACI 组血清 CD146、Angptl2 水平高于对照组,miR-124 表达水平低于对照组($P < 0.05$)。单因素分析结果显示,ACI 患者 CAS 斑块的稳定性与患者年龄、合并高血压、合并高脂血症、纤维蛋白原(FIB)、血清 C 反应蛋白(CRP)、血清胱抑素 C(CyC)、CD146、Angptl2、miR-124 有关($P < 0.05$);多因素 Logistic 回归分析结果显示,血清 miR-124 下降、CD146 升高、Angptl2 升高、合并高脂血症是 ACI 患者 CAS 斑块稳定性的危险因素($P < 0.05$)。血清 miR-124、CD146、Angptl2 及三项指标联合应用预测 ACI 患者 CAS 斑块不稳定的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.741、0.719、0.781 和 0.834。结论 血清 miR-124 表达水平及 CD146、Angptl2 水平是 ACI 患者 CAS 斑块不稳定的影响因素,可能参与 ACI 患者 CAS 斑块形成及发展过程,三者联合检测对 ACI 患者 CAS 斑块不稳定具有较好的预测效能。

关键词:急性脑梗死; 颈动脉粥样硬化; 微小 RNA-124; CD146; 血管生成素样蛋白 2; 斑块稳定性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.17.015

中图法分类号:R743.3

文章编号:1673-4130(2024)17-2121-07

文献标志码:A

Relationship between serum levels of miR-124, CD146 and Angptl2 and the stability of carotid atherosclerotic plaque in patients with acute cerebral infarction*

LI Xia¹, WANG Jingmei², LI Junhua¹, HU Yanyan¹, WANG Shanshan¹,
MAO Yajuan¹, WU Yiping^{1△}1. Department of Internal Medicine Neurology; 2. Department of Intensive Care Medicine,
Handan Central Hospital, Handan, Hebei 056000, China

Abstract: Objective To explore the relationship between serum microRNA-124 (miR-124), CD146, angiotensin-like protein 2 (Angptl2) and the stability of carotid atherosclerosis (CAS) plaque in patients with acute cerebral infarction (ACI), and to provide reference for early prevention and treatment of patients with ACI. **Methods** A total of 191 patients with ACI admitted in Handan Central Hospital from January 2020 to February 2023 were selected as ACI group, and another 61 healthy volunteers who were underwent physical examination during the same period were selected as control group. The patients with ACI were divided into unstable plaque group (56 cases), stable plaque group (71 cases), and non plaque group (64 cases) based on carotid color doppler ultrasound results. The serum miR-124 expression levels of all subjects were detected by real time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR), and the serum CD146 and Angptl2 levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The influencing factors of the instability of CAS plaque in patients with ACI was analyzed by univariate and multivariate Logistic regression. The predictive value of serum miR-124, CD146 combined with Angptl2 for the instability of CAS plaque in patients

* 基金项目:河北省科技厅卫生健康创新专项(21377780D);河北省卫生健康委 2022 年度河北省医学科学研究课题(20220564)。

作者简介:李霞,女,副主任医师,主要从事脑血管疾病防治方向研究。△ 通信作者,E-mail:17713032119@163.com。

with ACI was analyzed by the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The serum CD146 and Angptl2 levels in ACI group were higher than those in control group ($P<0.05$), and the miR-124 expression level was lower than that in control group ($P<0.05$). Univariate analysis showed that the stability of CAS plaques in ACI patients was correlated with age, hypertension, hyperlipidemia, fibrinogen (FIB), serum C-reactive protein (CRP), serum cystatin C (CyC), CD146, Angptl2 and miR-124 ($P<0.05$). Multivariate Logistic regression analysis showed that the decrease of serum miR-124, the increase of CD146, the increase of Angptl2 and the combination of hyperlipidemia were risk factors for CAS plaque stability in ACI patients ($P<0.05$). The area under ROC curve (AUC) of serum miR-124, CD146, Angptl2 and the combination of the three indicators to predict CAS plaque instability in ACI patients were 0.741, 0.719, 0.781 and 0.834, respectively. **Conclusion** The serum miR-124 expression level, CD146 and Angptl2 levels are the influencing factors of CAS plaque instability in ACI patients, which may be involved in the formation and development of CAS plaque in ACI patients. The combined detection of the three factors has a good predictive effect on CAS plaque instability in ACI patients.

Key words: acute cerebral infarct; carotid atherosclerosis; microRNA-124; CD146; angiopoietin-like protein 2; plaque stability

急性脑梗死(ACI)是指脑供血突然中断导致的脑组织坏死^[1-2]。近年来 ACI 发病率呈升高趋势,该病的致残率及致死率高,严重威胁着患者的生命安全,也严重影响了患者的生活质量^[3]。ACI 发病机制复杂,其中颈动脉粥样硬化(CAS)斑块不稳定引起斑块破裂堵塞动脉,影响脑部供血,是 ACI 发病的重要危险因素之一^[4-5]。因此,及时准确评估 ACI 患者 CAS 斑块稳定性,采取针对性治疗措施对改善 ACI 预后具有重要意义。血清学指标检测便捷且检测成本低,重复性良好,是预测 CAS 斑块性质的重要手段之一^[6-7]。微小 RNA-124 (miR-124) 首次被 LAGOS-QUINTANA 等发现高表达于损伤的小鼠脑组织,具有高度保守性,是一种脑特异性 miRNA,参与脑梗死的发病及病理进展过程^[8]。有研究证实,miR-124 在血管完整性、血管平滑肌细胞增殖和胆固醇代谢中具有重要作用,与颈动脉粥样硬化的发生和发展有关^[9]。CD146 也称为黑色素瘤细胞黏附分子,表达于人类各种内皮细胞,其生物学作用主要包括介导细胞间黏附、调节细胞渗透性、参与血管生成和内皮细胞增殖过程,其中血管内皮细胞受损或出现功能障碍时,将导致一系列血管性疾病发生^[10],而血管生成障碍也可以导致脑部区域供血不足,进而引起脑组织损伤^[11]。有研究显示,高可溶性 CD146 的糖尿病肾病患者更容易发生 CAS 斑块^[12]。血管生成素样蛋白 2 (Angptl2) 属于血管生成素样蛋白家族成员,是一种新发现的血管生成相关因子,可诱导单核/巨噬细胞趋化,启动并加重炎症反应,促进动脉粥样硬化,参与 ACI 进展^[13]。本研究探讨血清 miR-124、CD146、Angptl2 与 ACI 患者 CAS 斑块稳定性的关系,为 ACI 患者的早期防治提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2020 年 1 月至 2023 年 2 月在本院就诊的 ACI 患者 191 例作为 ACI 组,年龄 48~

79 岁,平均(63.98±8.31)岁;男 107 例,女 84 例;吸烟 99 例;饮酒 86 例;体重指数(BMI)17.36~26.43 kg/m²,平均(21.96±2.05)kg/m²。纳入标准:(1)符合 ACI 的临床诊断标准^[14-15];(2)符合颈动脉彩超适应证,患者经溶栓治疗后脱离生命危险,完成颈动脉彩超检查;(3)首次发病,发病 6 h 内入院;(4)能配合完成本研究中所有检查项目;(5)临床资料完整。排除标准:(1)合并夹层动脉瘤、动静脉畸形、烟雾病及动脉炎者;(2)合并免疫性疾病、恶性肿瘤者;(3)合并严重心、肝、肾功能障碍者;(4)近期有免疫抑制剂治疗史者。另选择同期在本院体检的健康志愿者 61 例作为对照组,年龄 46~78 岁,平均(62.28±9.37)岁;男 34 岁,女 27 例;吸烟 29 例;饮酒 26 例;BMI 17.36~26.43 kg/m²,平均(21.57±1.88)kg/m²。两组一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。本研究方案经邯郸市中心医院伦理委员会审核批准(批准号:ZJK20191210022),所有受试者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 资料收集 收集 ACI 患者年龄、性别、BMI、是否吸烟、是否饮酒、是否合并高血压、是否合并高脂血症、血糖、甘油三酯(TG)、纤维蛋白原(FIB)、血清 C 反应蛋白(CRP)、血清胱抑素 C(CyC)、尿酸、总胆固醇(TC)、尿素氮(BUN)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、血肌酐(Scr)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)等基线资料。

1.2.2 血标本采集 采集 ACI 组患者当日静脉血 6 mL,对照组在体检中心于体检当日采集空腹静脉血 6 mL,血液标本采集后置于无菌带塞凝试管,采用中科中佳 HC-3018R 型高速离心机(广州瑞丰实验设备有限公司)以 3 000 r/min 离心 15 min(离心半径 8.5 cm),常规分离留取血清保存于-80℃低温冰箱待测。

1.2.3 血清 miR-124 表达水平检测 采用实时荧光

定量 PCR(RT-qPCR)技术检测血清 miR-124 表达水平。采用 Trizol 试剂盒(武汉普美克生物技术有限公司)提取总 RNA,主要步骤:自备核糖核酸酶(RNase)、无水乙醇、氯仿、异丙醇及焦碳酸二乙酯(DEPC)水等;取 1 mL 血清样本加入 1 mL Trizol 振荡充分混匀,完全分离核蛋白与核酸,加入 0.2 mL 氯仿/1 mL Trizol,激烈振荡 15 s,室温静置 3 min,于 4 ℃离心机 12 000×g 离心 10 min,吸取上层水相转移至无 RNase 离心管,加入等体积异丙醇,混匀后在室温放置 15 min,于 4 ℃离心机 12 000×g 离心 10 min,弃上清,加入 1 mL 的 DEPC 水,配制 75%乙醇/1 mL Trizol 洗涤沉淀,室温放置 5 min,4 ℃离心机 7 500×g 离心 5 min,弃上清后室温干燥 5 min,加入 40 μL RNase-free ddH₂O 充分溶解 RNA,保存于-70 ℃冰箱用于后续待测;测定样品在 260 nm 和 280 nm 的吸光度(A)值确定 RNA 的质量,以 A₂₆₀/A₂₈₀ 在 1.8~2.0 视为抽提 RNA 纯度较好。用 TaqMan miRNA 逆转录试剂盒(上海冠泰生物科技有限公司)将 RNA 逆转录成 cDNA,miR-124 上游引物为 5'-GCTAAGGCACGCGGTG-3',下游引物为 5'-GTGCAGGTCCGAGGT-3',内参 U6 上游引物为 5'-CTCGCTTCGGCAGCACACA-3',下游引物为 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。反应体系:血清 miRNA 10 μL,5×TaqMan miRNA RT Solution A 2.5 μL,在美国罗氏 LightCycler480 II 型 PCR 仪(上海艾研生物科技有限公司)进行第一步反应(37 ℃ 30 min,85 ℃ 5 min),反应完成后加入 10×PS TaqMan miRNA RT Primer 2.5 μL,10×TaqMan miRNA RT Solution B 2.5 μL,ddH₂O 7.5 μL,在 PCR 仪上进行逆转录反应(30 ℃ 5 min;55 ℃ 60 min,95 ℃ 5 min)。PCR 扩增:TaqMan miRNA 检测试剂 3.3 μL,RT 反应产物 4.4 μL,TaqMan Universal PCR Master Mix II 3.3 μL,无核酸酶水 25.3 μL,95 ℃ 10 min,95 ℃ 15 s,60 ℃ 60 s 40 个循环,将扩增产物进行电泳,在图像处理系统计算,以 2^{-ΔΔC_t} 计算 miR-124 的相对表达水平。

1.2.4 血清 CD146、Angptl2 水平检测 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 CD146、Angptl2 水平。人 Angptl2 试剂盒(ELISA)购于上海蓝基生物科技有限公司,人 CD146 试剂盒(ELISA)购于上海远慕生物科技有限公司。检测样本在室温条件下平衡 20 min,设置标准品孔和样本孔,样本孔加入待测样本(CD146、Angptl2)50 μL,标准品孔各加入不同浓度的标准品 50 μL,标准品孔和样本孔每孔加入辣根过氧化物酶标记的检测抗体 100 μL,空白孔不加,封板膜封住反应孔,37 ℃温育 60 min,弃去液体,每孔加满洗涤液静置 1 min,吸水拍干,重复洗涤 5 次,每孔加入底物 A、B 各 50 μL,37 ℃避光孵育 15 min,每孔加入终止液 50 μL,15 min 内在 450 nm 波长处测量

各孔 A 值,以标准品的浓度为纵坐标绘制标准曲线,标准品 A 值为横坐标,得出直线回归方程,将样品的 A 值代入方程得出样品质量浓度。

1.2.5 斑块不稳定性评估及分组 采用 GE 彩色多普勒超声诊断仪(型号:VIVID E9,由美国 GE 公司)进行颈动脉超声检查,探头频率 7.5~12.0 MHz,充分暴露颈部,观察有无斑块及斑块的情况。颈动脉超声检查确认有斑块的患者根据超声灰阶图回声特点判断斑块的稳定性,将异质回声斑块评定为易损斑块即不稳定斑块,其他回声的评价为稳定斑块^[15]。根据颈动脉超声检测结果,将入选的 191 例 ACI 患者分为稳定斑块组 71 例,无斑块组 64 例,不稳定斑块组 56 例。

1.3 统计学处理 采用 SPSS26.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述,多组比较采用方差分析(*F* 检验),两两比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较用 χ^2 检验。采用 Logistic 回归模型分析 CAS 斑块不稳定的影响因素,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析预测价值。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 对照组与 ACI 组血清 miR-124、CD146、Angptl2 水平比较 ACI 组血清 miR-124 表达水平低于对照组(*P*<0.05),CD146、Angptl2 水平高于对照组(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 对照组与 ACI 组血清 miR-124 表达水平及 CD146、Angptl2 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	miR-124	CD146 (ng/mL)	Angptl2 (ng/mL)
对照组	61	3.73±0.73	161.08±10.85	1.66±0.35
ACI 组	191	2.87±0.92	189.20±23.32	2.72±0.89
<i>t</i>		7.495	12.866	13.511
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 ACI 患者各亚组基线资料比较 不稳定斑块组年龄,合并高血压、高脂血症患者占比,以及 FIB、CRP、CyC、CD146、Angptl2 水平高于稳定斑块组、无斑块组,不稳定斑块组 miR-124 表达水平低于稳定斑块组、无斑块组,差异均有统计学意义(*P*<0.05);3 组性别、BMI、是否吸烟、是否饮酒,以及血糖、尿酸、BUN、Scr、TG、TC、HDL-C 及 LDL-C 水平比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 2。

2.3 影响 ACI 患者 CAS 斑块稳定性的 Logistic 回归分析 以斑块稳定性为因变量(稳定斑块=0,不稳定斑块=1),以血清 miR-124、CD146、Angptl2、年龄、FIB、CRP、CyC 为自变量(原值录入)及是否合并高血压(否=0,是=1)、是否合并高脂血症(否=0,是=1)进行多因素 Logistic 回归模型进行分析,并采用逐步

后退法($\alpha_{\text{进}}=0.05, \alpha_{\text{退}}=0.10$),结果显示,血清 miR-124 下降、CD146 升高、Angptl2 升高、合并高脂血症是 ACI 患者 CAS 斑块稳定性的危险因素($P<0.05$)。见表 3。

表 2 ACI 患者各亚组基线资料比较[$n(\%)$ 或 $\bar{x}\pm s$]

基线资料	无斑块组($n=64$)	稳定斑块组($n=71$)	不稳定斑块组($n=56$)	χ^2/F	P
性别				2.479	0.290
男	40(62.50)	40(56.34)	27(48.21)		
女	24(37.50)	31(43.66)	29(51.79)		
年龄(岁)	61.61 $\pm$ 7.48	63.41 $\pm$ 5.79	67.41 $\pm$ 10.03 ^{ab}	5.111	0.007
BMI(kg/m ²)	21.90 $\pm$ 2.37	21.76 $\pm$ 1.60	22.28 $\pm$ 1.63	0.886	0.415
吸烟				3.625	0.163
是	30(46.88)	34(47.89)	35(62.50)		
否	34(53.12)	37(52.11)	21(37.50)		
饮酒				2.362	0.307
是	27(42.19)	29(40.85)	30(53.57)		
否	37(57.81)	42(59.15)	26(46.43)		
合并高血压				9.167	0.010
是	28(43.75)	34(47.89)	39(69.64) ^{ab}		
否	36(56.25)	37(52.11)	17(30.36)		
合并高脂血症				12.757	0.002
是	19(29.69)	21(29.58)	32(57.14) ^{ab}		
否	45(70.31)	50(70.42)	24(42.86)		
血糖(mmol/L)	5.03 $\pm$ 1.12	5.17 $\pm$ 1.17	5.24 $\pm$ 1.35	0.857	0.426
FIB(g/L)	3.08 $\pm$ 0.53	3.50 $\pm$ 0.76 ^a	4.06 $\pm$ 1.17 ^{ab}	6.135	0.002
CRP(mg/L)	6.79 $\pm$ 2.04	7.54 $\pm$ 2.11 ^a	8.51 $\pm$ 2.51 ^{ab}	7.222	0.001
CyC(mg/L)	1.07 $\pm$ 0.51	1.28 $\pm$ 0.54 ^a	1.52 $\pm$ 0.61 ^{ab}	8.029	<0.001
尿酸(μ mol/L)	375.42 $\pm$ 36.47	378.76 $\pm$ 38.43	388.52 $\pm$ 43.47	2.016	0.137
BUN(mmol/L)	7.33 $\pm$ 1.66	7.26 $\pm$ 1.75	7.46 $\pm$ 1.28	1.366	0.259
Scr(μ mol/L)	79.36 $\pm$ 11.24	78.52 $\pm$ 12.36	75.37 $\pm$ 11.39	2.321	0.103
TG(mmol/L)	1.51 $\pm$ 0.33	1.52 $\pm$ 0.31	1.64 $\pm$ 0.48	2.132	0.124
TC(mmol/L)	3.58 $\pm$ 0.46	3.61 $\pm$ 0.49	3.72 $\pm$ 0.53	1.681	0.191
HDL-C(mmol/L)	1.66 $\pm$ 0.32	1.63 $\pm$ 0.29	1.57 $\pm$ 0.33	0.549	0.579
LDL-C(mmol/L)	2.08 $\pm$ 0.41	2.13 $\pm$ 0.43	2.21 $\pm$ 0.51	2.436	0.092
miR-124	3.64 $\pm$ 0.54	2.96 $\pm$ 0.66 ^a	1.85 $\pm$ 0.60 ^{ab}	38.491	<0.001
CD146(ng/mL)	175.33 $\pm$ 15.45	190.64 $\pm$ 23.13 ^a	202.21 $\pm$ 21.74 ^{ab}	133.892	<0.001
Angptl2(ng/mL)	2.15 $\pm$ 0.58	2.53 $\pm$ 0.67 ^a	3.61 $\pm$ 0.77 ^{ab}	26.267	<0.001

注:与无斑块组比较,^a $P<0.05$;与稳定斑块组比较,^b $P<0.05$ 。

表 3 影响 ACI 患者 CAS 斑块不稳定性因素的 Logistic 回归分析结果

因素	β	SE	$Wald\ \chi^2$	P	OR	95% CI
常量	-0.039	0.017	5.326	0.021	—	—
miR-124 下降	2.577	0.682	14.267	<0.001	1.157	1.055~2.115
CD146 升高	0.021	0.005	18.922	<0.001	1.021	1.012~1.031
Angptl2 升高	0.275	0.098	7.819	0.005	1.316	1.086~1.596
合并高脂血症	0.853	0.264	10.417	0.001	2.346	1.398~3.939

注:—表示此项无数据。

2.4 血清 miR-124、CD146、Angptl2 预测 ACI 患者 CAS 斑块不稳定的价值 血清 miR-124、CD146、Angptl2 单独预测 ACI 患者 CAS 斑块不稳定的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.741、0.719、0.781,灵敏度分别为 0.714、0.696、0.804,特异度分别为 0.746、

0.718、0.775。血清 miR-124、CD146、Angptl2 等联合预测采用 Log *P* 模型,即基于上述 Logistic 回归所得结果构建预测模型,结果显示,联合应用的 AUC 为 0.834,较血清 miR-124、CD146、Angptl2 单独应用的预测效能明显提高。见表 4。

表 4 血清 miR-124、CD146、Angptl2 预测 ACI 患者 CAS 斑块不稳定的价值

指标	AUC(95%CI)	cut-off 值	灵敏度	特异度	约登指数	准确度
miR-124	0.741(0.560~0.917)	2.5	0.714	0.746	0.460	0.732
CD146	0.719(0.483~0.939)	195 ng/mL	0.696	0.718	0.414	0.709
Angptl2	0.781(0.651~0.917)	3.9 ng/mL	0.804	0.775	0.579	0.787
联合检测	0.834(0.727~0.942)	4.2	0.839	0.831	0.670	0.835

注:联合检测 cut-off 值由 $\text{Ln}[P/(1-P)]$ 计算所得。

3 讨 论

相关研究显示,多数 ACI 患者存在 CAS,而 CAS 斑块破裂后易导致血栓形成和血管堵塞,是 ACI 的重要病理基础^[16-17]。准确判断 CAS 斑块的稳定性对采取精准的治疗措施有重要意义。目前,随着血清学标志物的研究进展,诸多血清学指标在疾病预测、诊断及预后评估中凸显出独有的优势,因其便捷性及检测成本低廉性受到广大医疗工作者的青睐。miRNA 是近年来发现的一类由内源基因编码长度 18~24 个核苷酸的非编码单链 RNA,在体内 miRNA 数目庞大,调控着人类 60% 以上的基因^[18-19]。有研究表明,miR-124 通过下调 PTEN 促进脑缺血小鼠神经元轴突生长,发挥神经功能保护作用^[20]。赵丽等^[21] 研究显示,miR-124 可能在 Hcy 致动脉粥样硬化过程中发挥重要作用。

本研究结果显示,ACI 患者血清 miR-124 水平呈低表达状态,其表达水平与有无 CAS 斑块及与斑块的稳定性有关,提示血清 miR-124 可能对 ACI 患者 CAS 斑块稳定性具有一定的作用。miR-124 作为一类被发现在 ACI 后发挥神经保护作用的小分子 RNA 物质,可通过影响脯氨酸-4-羟化酶 α 多肽 I (P4Ha1) 的表达,从而影响平滑肌细胞胶原合成^[22],miR-124 水平降低导致斑块内胶原水平降低,而 CAS 斑块的不稳定性与斑块内胶原减少密切相关,斑块内胶原减少易导致 CAS 斑块不稳定性增加;炎症是斑块脆弱性和不稳定的重要因素,而 miR-124 的表达可以抑制促炎细胞因子胞肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 1β 的分泌^[23]。由此推测,miR-124 可能通过调控炎症因子的表达进而影响斑块的稳定性。

CD146 是一种新型的具有跨膜结构的细胞黏附分子,参与机体血管内皮功能^[24]。血管内皮细胞是脑血管疾病的重要靶器官,其活跃的内分泌代谢功能的正常与否,与脑血管损伤相关^[25]。本研究显示,血清 CD146 水平与 ACI 患者有无 CAS 斑块及其斑块不稳

定性有关,研究表明,在 ACI 发生时,血管内皮细胞的形态和功能将受到破坏^[26]。在缺血的情况下,毛细血管原来致密的结构变得疏松,致使大量的液体及血管内容物分子如 CD146 等通过毛细血管壁进入周围的组织中,导致血清中 CD146 水平升高。CD146 能通过与单核细胞、内皮细胞上特异性配体结合,促进单核细胞、内皮细胞活性,从而促进单核细胞向斑块迁移,增加了斑块的不稳定性。此外,CD146 可能直接或间接促进了斑块新生血管的生成^[27]。因此,血清 CD146 水平升高可增加内皮细胞活性,加剧单核细胞向斑块聚集,促进斑块新生血管生成,从而增加斑块的不稳定性。

Angptl2 是一种新发现的血管生成相关因子,属于 Angptl 家族成员,是近年来新发现的一种血管生成相关因子,具有促进新生血管形成和诱导细胞迁徙的生物学功能^[28-29],有研究发现,血清 Angptl2 可能通过脂代谢、糖代谢、影响血管生成等参与着 ACS 的发生^[30]。另有研究表明,高水平 Angptl2 会明显增加动脉粥样硬化斑块面积,高血压伴颈动脉粥样硬化患者血清 Angptl2 的表达与患者血压、血脂水平具有一定的相关性,可一定程度反映颈动脉粥样硬化斑块的发生发展过程^[31-32]。本研究显示,ACI 患者血清 Angptl2 水平异常升高,其水平升高与斑块的稳定性有关,血清 Angptl2 水平越高,CAS 斑块更容易不稳定。ACI 患者血清 Angptl2 水平升高的原因可能是缺氧状态刺激了血管内皮细胞及脂肪组织等过度表达 Angptl2^[33],释放入血后导致血清 Angptl2 水平升高。Angptl2 影响 CAS 斑块稳定性的机制可能是纤维帽变薄及新生血管生成是导致 CAS 斑块易损性的重要因素,Angptl2 表达水平升高可增加斑块内血管的生成,同时可通过影响整合素 $\alpha 5\beta 1$ 信号途径增加基质金属蛋白酶等促炎因子的表达及活性,加速了细胞外基质蛋白酶的降解而引起斑块纤维帽的分解,削弱了斑块纤维帽的覆盖作用,从而增加了斑块的不稳

定性^[34]。

本研究中,单因素分析结果显示,稳定斑块组年龄,合并高血压、合并高脂血症患者占比,以及 FIB、CRP、CyC 水平低于不稳定斑块组,提示年龄、高血压、高脂血症、FIB、CRP、CyC 可能与 ACI 患者 CAS 斑块不稳定性有关。多因素 Logistic 回归分析结果显示,血清 miR-124 下降、CD146 升高、Angptl2 升高、合并高脂血症是 ACI 患者 CAS 斑块不稳定性的危险因素。此外,ROC 曲线分析显示,以血清 miR-124、CD146、Angptl2 对 ACI 患者 CAS 斑块不稳定均具有一定的预测价值,三项联合预测 ACI 患者 CAS 斑块不稳定的 AUC 为 0.834,大于各指标单独检测。

综上所述,ACI 患者血清 miR-124 表达水平下降,CD146、Angptl2 水平异常升高,其是 ACI 患者 CAS 斑块不稳定的影响因素,可能参与 ACI 患者 CAS 斑块形成及发展过程。血清 miR-124、CD146、Angptl2 联合检测对 ACI 患者 CAS 斑块不稳定具有较好的预测效能。目前对 CAS 斑块的诊断及斑块性质评价的金标准仍是超声检查,而血清学具有成本低廉、检测方便的优点,因此血清 miR-124、CD146、Angptl2 有望成为早期识别 ACI 患者 CAS 斑块形成的辅助血清标志物,但其在临床上推广和应用还需更大样本的研究验证。

参考文献

[1] EDWARDS M D, HUGHES T A T. Managing blood pressure in acute cerebral infarction[J]. J Neurol, 2021, 268(6):2294-2296.

[2] 杨万勇,谭泽锋,辛秀峰,等.伴有无症状性脑梗死的首发急性脑梗死病因分布特征及其影响因素[J]. 中国老年学杂志,2013,33(14):3318-3320.

[3] 梁菊萍,杨旸,董继存.急性脑梗死患者流行病学调查及危险因素[J]. 中国老年学杂志,2021,41(12):2484-2487.

[4] XU M, HE X Y, HUANG P. The relationship between the mean platelet volume and carotid atherosclerosis and prognosis in patients with acute cerebral infarction[J]. Biomed Res Int, 2020, 9(2020):6685740.

[5] 张淑敏,陈淑慧,刘敏,等.颈动脉粥样斑块稳定性及血清超敏 C 反应蛋白与急性脑梗死发病机制关系的研究[J]. 山西医药杂志,2010,39(11):502-503.

[6] MARTINEZ E, MARTORELL J, RIAMBAU V. Review of serum biomarkers in carotid atherosclerosis[J]. J Vasc Surg, 2020, 71(1):329-341.

[7] 柳书可,徐维,刘美英. MicroRNA、Apelin、Galectin-3 和 Endocan 等血清学指标与动脉粥样硬化斑块稳定性关系的研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志,2019, 27(5):451-455.

[8] LIU X, FENG Z, DU L, et al. The potential role of microRNA-124 in cerebral ischemia injury[J]. Int J Mol Sci, 2019, 21(1):120.

[9] 刘丽娇,杨秀丽,徐祥辉,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] WANG Z, XU Q, ZHANG N, et al. CD146, from a melanoma cell adhesion molecule to a signaling receptor[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1):148.

[11] 于洋,朱雨岚.缺血性脑卒中后血管生成研究的进展[J]. 心血管康复医学杂志,2021, 30(1):99-102.

[12] 王漪芸,费杨,范瑛,等.糖尿病肾病患者血浆可溶性 CD146 水平与动脉粥样硬化及其预后的关系[J]. 中华糖尿病杂志,2018, 10(4):274-279.

[13] HORIO E, KADOMATSU T, MIYATA K, et al. Role of endothelial cell-derived angptl2 in vascular inflammation leading to endothelial dysfunction and atherosclerosis progression[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2014, 34(4):790-800.

[14] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.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.

[15] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国头颈部动脉粥样硬化诊治共识[J]. 中华神经科杂志,2017, 50(8):572-578.

[16] ZHANG H, QIN Y, GAO S, et al. Correlation analysis of Trial of Org 10172 in acute stroke treatment classification and National Institutes of Health Stroke Scale score in acute cerebral infarction with risk factors[J]. Rev Assoc Med Bras (1992), 2022, 68(1):44-49.

[17] 段忠效,郝涛.老年脑梗死与颈动脉粥样硬化斑块的相关性及对患者预后的影响[J]. 血栓与止血学,2022, 28(3):587-588.

[18] YE Z, HU J, XU H, et al. Serum exosomal microRNA-27-3p aggravates cerebral injury and inflammation in patients with acute cerebral infarction by targeting PPARγ [J]. Inflammation, 2021, 44(3):1035-1048.

[19] HAMZEI TAJ S, KHO W, ASWENDT M, et al. Dynamic modulation of microglia/macrophage polarization by miR-124 after focal cerebral ischemia[J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2016, 11(4):733-748.

[20] 张敬烜,戴舒惠. MicroRNA-124 通过调控 PTEN 促进脑缺血损伤小鼠神经轴突生长和运动功能恢复[J]. 陆军军医大学学报, 2022, 44(14):1478-1485.

[21] 赵丽,焦运,杨安宁,等. miR-124 及其启动子区 DNA 甲基化在同型半胱氨酸致动脉粥样硬化中的作用[J]. 生理学报, 2015, 67(2):207-213.

[22] 黄晓真. P4Hα1 与动脉粥样硬化斑块的关系及 miR-124 的调节作用[D]. 山东:山东大学,2013.

[23] 朱志远,卢国辉,叶勇义,等. miR-124 通过 p38α 抑制小胶质细胞分泌促炎细胞因子[J]. 中华神经医学杂志, 2016, 15(6):563-568.

[24] HEIM X, JOSHKON A, BERMUDEZ J, et al. CD146/sCD146 in the pathogenesis and monitoring of angiogenic and inflammatory diseases [J]. Biomedicines, 2020, 8(12):592.

• 论 著 •

血清 BHLHE40 水平与 2 型糖尿病亚临床动脉粥样硬化的关系*

殷兆芳¹, 吕 晴^{1△}, 崔晶刚²

苏州市立医院:1. 全科医学科;2. 呼吸与危重症医学科, 江苏苏州 215001

摘 要:目的 探讨血清基本螺旋-环-螺旋家族成员 E40(BHLHE40)水平与 2 型糖尿病(T2DM)亚临床动脉粥样硬化(SAS)的关系。方法 选取 2021 年 1 月至 2023 年 1 月苏州市立医院全科医学科收治的 145 例 T2DM 患者为研究对象。根据患者是否发生 SAS 分为 SAS 组($n=80$)和未发生 SAS 组($n=65$)。比较两组患者血清 BHLHE40 水平及临床资料,采用 Pearson 相关分析患者血清 BHLHE40 水平与颈动脉内膜中膜厚度(CIMT)的相关性,采用多因素 Logistic 回归分析 T2DM 患者发生 SAS 的危险因素,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 BHLHE40 水平诊断 T2DM 患者发生 SAS 的价值。结果 SAS 组年龄、糖尿病病程、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、CIMT 及血清 BHLHE40 水平高于未发生 SAS 组,差异有统计学意义($P<0.001$)。相关性分析结果显示,血清 BHLHE40 水平与 CIMT 呈正相关($r=0.671, P<0.001$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示,糖尿病病程、年龄、CIMT、LDL-C、血清 BHLHE40 水平均是 T2DM 患者发生 SAS 的危险因素($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,血清 BHLHE40 诊断 T2DM 患者发生 SAS 的曲线下面积(AUC)为 0.742,灵敏度为 75.0%,特异度为 73.9%。结论 血清 BHLHE40 水平与 T2DM 患者发生 SAS 密切相关,对 T2DM 患者发生 SAS 具有诊断价值。

关键词:基本螺旋-环-螺旋家族成员 E40; 2 型糖尿病; 亚临床动脉粥样硬化

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.17.016

中图法分类号:R446.1;R587.1

文章编号:1673-4130(2024)17-2127-05

文献标志码:A

Correlation between serum BHLHE40 levels and subclinical atherosclerosis in type 2 diabetes mellitus*

YIN Zhaofang, LYU Qing[△], CUI Jinggang

1. Department of General Practice; 2. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Suzhou Municipal Hospital, Suzhou, Jiangsu 215001, China

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between serum basic helix-loop-helix transcription factor family member E40 (BHLHE40) levels and subclinical atherosclerosis (SAS) in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods** A total of 145 T2DM patients admitted to the Department of General Practice of Suzhou Municipal Hospital from January 2021 to January 2023 were selected as the study objects. Patients were divided into SAS group ($n=80$) and non-SAS group ($n=65$) according to whether SAS occurred. Serum BHLHE40 level and clinical data of the two groups were compared. The correlation between serum BHLHE40 level and carotid intima media thickness (CIMT) was analyzed by Pearson correlation. The risk factors of SAS in T2DM patients were analyzed by multi-factor Logistic regression. The value of serum BHLHE40 level in the diagnosis of SAS in T2DM patients was analyzed by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The age, duration of diabetes, low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), CIMT and serum BHLHE40 levels in SAS group were significantly higher than those in non-SAS group, with statistical difference ($P<0.001$). Correlation analysis showed that serum BHLHE40 level was positively correlated with CIMT ($r=0.671, P<0.001$). Multivariate Logistic regression analysis showed that duration of diabetes, age, CIMT, LDL-C and serum BHLHE40 level were all risk factors for SAS in T2DM patients ($P<0.05$). ROC curve analysis indicated that the area under the curve (AUC) of serum BHLHE40 for the diagnosis of SAS in T2DM patients was 0.742, the sensitivity was 75.0%, and the specificity was 73.9%. **Conclusion** Serum BHLHE40 expression level is closely related to the occurrence of SAS in T2DM patients, and is of great diagnostic value for the occurrence of SAS in T2DM patients.

* 基金项目:江苏基层卫生发展与全科医学教育研究中心重点项目(2021A01);2022 年度苏州市“科教兴卫”青年科技立项项目(KJXW2022034);2020 年度苏州市临床重点病种诊疗技术专项(LCZX202012)。

作者简介:殷兆芳,女,主治医师,主要从事糖尿病、高血压、慢性阻塞性肺疾病研究。△ 通信作者,E-mail:scholar9065@163.com。