

• 论 著 •

# 血清外泌体 miR-24 水平与老年进展性腔隙性脑梗死、 颈动脉硬化的关系\*

张选琴, 罗 丹<sup>△</sup>

重庆医科大学附属第一医院大足医院/重庆市大足区人民医院神经内科, 重庆 402360

**摘 要:**目的 探究血清外泌体 miR-24 与老年进展性腔隙性脑梗死和颈动脉硬化的相关性。方法 选取 2018 年 5 月至 2020 年 6 月该院收治的急性腔隙性脑梗死老年患者 120 例, 根据病情是否进展将患者分为进展组(32 例)和非进展组(88 例), 检测所有患者血清外泌体 miR-24 水平。根据颈动脉超声检查结果评估颈动脉硬化斑块形成数量、斑块性质和斑块 Crouse 积分。采用 Pearson 相关分析血清外泌体 miR-24 与颈动脉斑块 Crouse 积分之间的相关性。采用多因素 Logistic 回归和受试者工作特征(ROC)曲线评估血清 miR-24 水平对进展性腔隙性脑梗死的预测价值。结果 入院时, 进展组血清外泌体 miR-24 水平明显低于非进展组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 经多因素 Logistic 回归分析, 血清外泌体 miR-24 降低是腔隙性脑梗死患者发生进展的独立危险因素( $P < 0.05$ ), 且血清外泌体 miR-24 预测进展性腔隙性脑梗死发生的 ROC 曲线下面积为 0.793 (95%CI: 0.650~0.861); 与非进展组比较, 进展组颈动脉硬化斑块检出率, 尤其是易损斑块检出率更高, 同时进展组颈动脉硬化 Crouse 积分明显高于非进展组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。经 Pearson 相关分析, miR-24 水平与颈动脉斑块 Crouse 积分呈负相关( $r = -0.793, P < 0.001$ )。结论 miR-24 水平降低是急性腔隙性脑梗死发生疾病进展的独立危险因素, miR-24 可以反映腔隙性脑梗死患者颈动脉斑块硬化严重程度, 对预测老年患者进展性腔隙性脑梗死的发生具有较高的价值。

**关键词:**急性腔隙性脑梗死; 进展性腔隙性脑梗死; 颈动脉硬化; 外泌体; miR-24

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2021.24.009

**中图法分类号:**R473,R741

**文章编号:**1673-4130(2021)24-2981-06

**文献标志码:**A

## Relationships between expression of serum exosome miR-24 and progressive lacunar infarction, carotid atherosclerosis in elderly patients\*

ZHANG Xuanqin, LUO Dan<sup>△</sup>

Internal Medicine-Neurology, Dazu Hospital, the First Affiliated Hospital of  
Chongqing Medical University/People's Hospital of Dazu District,  
Chongqing 402360, China

**Abstract:** **Objective** To investigate the relationships between expression of serum exosome miR-24 and disease progression, carotid atherosclerosis in elderly patients with acute lacunar infarction. **Methods** A total of 120 elderly patients with acute lacunar infarction in Dazu Hospital, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University/People's Hospital of Dazu District from May 2018 to June 2020 were selected and divided into progressive group ( $n = 32$ ) and non-progressive group ( $n = 88$ ) according to disease status. The level of serum exosome miR-24 was detected, and the number of carotid atherosclerotic plaque formation, plaque nature and plaque Crouse score were evaluated according to the results of carotid ultrasound examination. Pearson correlation was used to analyze the correlation between serum exosome miR-24 and carotid plaque Crouse score. Multivariate Logistic regression analysis and receiver operating characteristic (ROC) curve were used to evaluate the predictive value of serum miR-24 level for progressive lacunar infarction. **Results** On admission, the level of serum exosome miR-24 in progressive group was significantly lower than that in non-progressive group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Multivariate Logistic regression analysis showed that the low expression of serum exosome miR-24 was an independent risk factor for progressive lacunar cerebral infarction ( $P < 0.05$ ). Moreover, the area under ROC curve of serum exosome

\* 基金项目: 重庆市科技计划科研项目(2016SJ932)。

作者简介: 张选琴, 女, 医师, 主要从事脑血管、脑梗死溶栓的诊治研究。 <sup>△</sup> 通信作者, E-mail: luodandazu@126.com。

本文引用格式: 张选琴, 罗丹. 血清外泌体 miR-24 水平与老年进展性腔隙性脑梗死、颈动脉硬化的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42 (24): 2981-2985.

miR-24 in predicting the occurrence of progressive lacunar cerebral infarction was 0.793 (95% CI: 0.650–0.861). Compared with those in non-progressive group, the plaque detection rate, especially the vulnerable plaque detection rate were higher in progressive group, and the plaque Crouse score in progressive group was significantly higher than that in non-progressive group, with statistical significance ( $P < 0.05$ ). Pearson correlation analysis showed that miR-24 level negatively correlated with carotid plaque Crouse score ( $r = -0.793$ ,  $P < 0.001$ ). **Conclusion** Decreased miR-24 level is an independent risk factor for the progression of acute lacunar cerebral infarction, which could reflect the severity of carotid plaque in patients with lacunar cerebral infarction and has high value to predict the occurrence of progressive lacunar cerebral infarction in elderly patients.

**Key words:** acute lacunar infarction; progressive lacunar infarction; carotid atherosclerosis; exosome; miR-24

腔隙性脑梗死属于缺血性脑梗死的一种亚型,部分呈亚急性或进展性。腔隙性脑梗死患者因穿支动脉供血区闭塞、急性坏死而缺血,在大脑半球深部或脑干形成病灶,其特点是易形成圆形或卵圆形、直径为 3~15 mm、充满液体的腔隙。根据病变部位不同,腔隙性脑梗死可出现多种并发症,如血管性认知功能障碍。多数腔隙性脑梗死患者病情较轻,预后良好,但仍有部分患者,尤其是老年患者,由于合并多种危险因素,易在发病数小时至 1 周内发生神经功能进一步损伤加重,即发展为进展性腔隙性脑梗死,而国内外尚缺乏有效的治疗手段阻止这一疾病进展<sup>[1]</sup>。颈动脉粥样硬化斑块是引起脑梗死的可能原因之一,在狭窄部位下游的血管区域易引起腔隙性血管病变,而且颈动脉硬化对进展性腔隙性脑梗死也有一定的预测价值。JIANG 等<sup>[2]</sup>学者通过建立大鼠大脑中动脉闭塞模型,发现 miR-24 在大鼠大脑中动脉闭塞模型中表达降低,且该模型的脑梗死面积百分比和血清总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平也升高。故本研究通过分析血清外泌体 miR-24 水平与老年进展性腔隙性脑梗死、颈动脉硬化的关系,为腔隙性脑梗死进展机制和预防治疗提供循证医学证据。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择本院 2018 年 5 月至 2020 年 6 月收治的急性腔隙性脑梗死患者 120 例为研究对象,其中男 75 例,女 45 例;年龄 65~89 岁,平均(73.40±6.85)岁;根据病情是否进展将患者分为进展组 32 例,非进展组 88 例。纳入标准:(1)首次发病;(2)经头颅 MRI 弥散加权序列技术确诊,符合第四届脑血管学术会议制定的腔隙性脑梗死诊断标准;(3)完善头颅三维时间飞跃磁共振血管成像(3D TOF-MRA)和(或)头颅电子计算机断层扫描(CT)检查,证实有与症状、体征相符的出血病灶;(4)发病至入院时间≤48 h;(5)患者年龄≥65 岁。排除标准:(1)心源性梗死、大动脉炎引发的脑梗死或再发脑梗死;(2)合并脑外伤、脑出血或颅内占位性病变;(3)合并感染性疾病、恶性肿瘤或心、肝、肾功能障碍。所有

研究对象均自愿参与本研究,并签署知情同意书,本研究经本院医学伦理委员会批准,且遵循《赫尔辛基宣言》。

## 1.2 方法

**1.2.1 收集基础资料** 收集所有患者的基线资料,包括年龄、性别、美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分(入院当天及入院后 7 d)、脑血管疾病危险因素(包括吸烟史、饮酒史、糖尿病史、高血压史、高脂血症史);入院 1 d 内进行体格检查;采用全自动血细胞计数仪(日本希森美康 XS-900i 型)进行血常规检测,包括白细胞计数(WBC)、血小板计数(PLT)、中性粒细胞绝对值(NEU#)、淋巴细胞绝对值(LYM#)等;采用全自动生化分析仪(日本日立 3100 型)检测 TC、TG、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、HDL-C 和空腹血糖(FBG)。

**1.2.2 病情进展判断** 患者入院后 7 d 复查 NIHSS 评分相较入院时增加≥2 分,视作病情进展。

**1.2.3 颈动脉超声检查** 所有患者入院时,使用高分辨率的 Philips ie33 彩色多普勒超声仪评估双侧颈总动脉(CCA)、颈总动脉分叉部(BIF)、颈内动脉颅外段(ICA)的颈内动脉中层厚度(IMT),每组 3 次,平均 IMT 取左右两侧 CCA 远端 1 cm 处的平均值。以局限性内膜增厚≥1.2 mm 或≥50%周围 IMT,且局部隆起,向管内突出,定义为斑块形成。根据超声检查结果显示的回声性质确定斑块的稳定性:易损斑块(局部低回声、等回声或混合回声)、稳定斑块(高、强回声)。根据 Crouse 积分法评估斑块严重程度,评分为双侧颈动脉 CCA、BIF、ICA 部分的近端、远端分数总和(0~12 分)。

**1.2.4 血清外泌体提取及鉴定** 所有患者入院时采集清晨空腹外周静脉血 5 mL,3 000 r/min 离心 10 min,分离血清,在-80℃低温冰箱中储存待测。外泌体根据外泌体分离试剂盒(Invitrogen Life Technologies 公司)说明书分离,将血清离心(30 min,8 000 r/min)去除细胞和碎片,然后将获得的上清液与外泌体分离试剂充分混合,在 4℃下孵育 30 min,再在室温下离心(10 min,10 000 r/min)去除上清液,

试管底部的外泌体用磷酸盐缓冲液重悬。将提取的血清外泌体置于透射电子显微镜下观察。采用 Western blot 法检测 CD61、CD9、TSG101、CYC1 和 GRP94 蛋白表达情况。方法如下:利用 RIPA 蛋白酶裂解液(上海联迈生物科技有限公司)提取外泌体总蛋白,使用二喹啉甲酸标准曲线法定量蛋白水平,取蛋白 30  $\mu\text{g}$  进行十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(8%)分离并转移至聚偏二氟乙烯膜上。应用含 5%脱脂奶粉的洗膜缓冲液室温封闭 1 h 后,加入 CD61(1 : 1 000)、CD9(1 : 1 000)、TSG101(1 : 1 500)、CYC1(1 : 1 000)和 GRP94(1 : 2 000)一级抗体(英国 Abcam 公司),4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜,然后用 TBST 冲洗 3 次,每次 10 min。再加入二级抗体抗孵育 1 h,用 TBST 冲洗 3 次,每次 10 min。利用 Odyssey 双色红外荧光成像系统(美国 LI-COR 公司)分析蛋白电泳条带的灰度值,计算蛋白表达量,使用甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参。所有试验均重复 3 次,取平均值。

**1.2.5 血清外泌体 miR-24 水平检测** 将外泌体标本与 TRIzol 试剂(赛默飞世尔科技公司)混合,裂解提取总 RNA。采用 Agilent 2100 生物分析仪检测 RNA 标本的完整性和水平。用 PrimeScript<sup>TM</sup>RT 试剂盒(大连 Takara Biotechnology 公司)和 5  $\mu\text{L}$  RNA 标本配制 15  $\mu\text{L}$  反转录反应体系,反应条件:16  $^{\circ}\text{C}$  30 min,42  $^{\circ}\text{C}$  30 min 和 85  $^{\circ}\text{C}$  5 min。将获得的 cDNA 标本储存在-20  $^{\circ}\text{C}$  低温冰箱中。miR-24 引物片段扩增使用 SYBR PrimeScript miRNA RT-PCR 试剂盒(大连 Takara Biotechnology 公司),选择小分子 U6

作为内源性参考基因。PCR 扩增条件:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 10 min,1 个循环;95  $^{\circ}\text{C}$  变性 15 s,60  $^{\circ}\text{C}$  退火 1 min,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s,共 40 个热循环。所有反应均平行进行 3 次,取均值表示。测定 Ct 值,以  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  法计算结果,用参考基因 U6 mRNA 作为血清表达的内部标准化控制。miR-24 引物序列:正向 5'-TGTTCTGCT-GAACTGAGCC-3',反向 5'-CTCTGCCTCCCGT-GCCTA-3';U6 mRNA 引物序列:正向 5'-CGCT-TCGGCAGCACATATAC-3',反向 5'-CAGGGC-CATGCTAATCTT-3'。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理及统计分析。计数资料以例数或百分率表示,两组间比较采用  $\chi^2$  检验;计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用独立样本  $t$  检验;采用 Pearson 相关分析血清外泌体 miR-24 与颈动脉斑块 Crouse 积分之间的相关性;采用多因素 Logistic 回归分析法筛选进展性腔隙性脑梗死的影响因素,并计算比值比(OR);采用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清 miR-24 水平预测患者进展性腔隙性脑梗死的曲线下面积、灵敏度和特异度。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 非进展组与进展组基线资料比较** 非进展组与进展组的年龄、性别、体质量指数、危险因素(吸烟史、饮酒史、糖尿病史、高血压史、高脂血症史)、入院时 NIHSS 评分、PLT、LYM#、TG、HDL-C 等指标比较,差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。进展组 WBC、NEU#、TC、LDL-C、FBG 水平均明显高于非进展组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组患者基线资料比较

| 组别         | <i>n</i> | 男               | 年龄                    | 体质量指数                                        | 危险因素[ <i>n</i> (%)] |           |          |           |           | 入院时 NIHSS 评分( $\bar{x} \pm s$ ,分) |
|------------|----------|-----------------|-----------------------|----------------------------------------------|---------------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------------------------------|
|            |          | [ <i>n</i> (%)] | ( $\bar{x} \pm s$ ,岁) | ( $\bar{x} \pm s$ , $\text{kg}/\text{m}^2$ ) | 吸烟史                 | 饮酒史       | 糖尿病史     | 高血压史      | 高脂血症史     |                                   |
| 进展组        | 32       | 22(68.75)       | 74.13 $\pm$ 7.15      | 22.96 $\pm$ 2.85                             | 9(28.13)            | 10(31.25) | 5(15.63) | 25(78.13) | 16(50.0)  | 3.19 $\pm$ 0.69                   |
| 非进展组       | 88       | 53(60.23)       | 73.14 $\pm$ 6.93      | 23.15 $\pm$ 2.20                             | 14(15.91)           | 19(21.59) | 7(7.95)  | 52(59.09) | 34(38.64) | 2.97 $\pm$ 0.50                   |
| $\chi^2/t$ |          | 0.727           | 0.686                 | 0.385                                        | 2.260               | 1.195     | 1.534    | 2.968     | 1.247     | 1.916                             |
| <i>P</i>   |          | 0.394           | 0.494                 | 0.701                                        | 0.133               | 0.274     | 0.216    | 0.085     | 0.264     | 0.058                             |

| 组别         | <i>n</i> | 血常规检查( $\bar{x} \pm s$ , $\times 10^9/\text{L}$ ) |                    |                 |                 | 实验室检查( $\bar{x} \pm s$ ,mmol/L) |                 |                 |                 |                 |
|------------|----------|---------------------------------------------------|--------------------|-----------------|-----------------|---------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|            |          | WBC                                               | PLT                | NEU#            | LYM#            | TC                              | TG              | HDL-C           | LDL-C           | FBG             |
| 进展组        | 32       | 7.95 $\pm$ 1.13                                   | 207.53 $\pm$ 33.10 | 5.52 $\pm$ 0.89 | 1.55 $\pm$ 0.37 | 5.07 $\pm$ 1.45                 | 1.47 $\pm$ 0.35 | 1.19 $\pm$ 0.22 | 3.22 $\pm$ 1.12 | 8.33 $\pm$ 3.17 |
| 非进展组       | 88       | 7.18 $\pm$ 1.04                                   | 198.94 $\pm$ 24.56 | 5.10 $\pm$ 0.74 | 1.67 $\pm$ 0.40 | 4.48 $\pm$ 1.03                 | 1.41 $\pm$ 0.32 | 1.10 $\pm$ 0.27 | 2.68 $\pm$ 0.95 | 7.14 $\pm$ 2.43 |
| $\chi^2/t$ |          | 3.504                                             | 1.537              | 2.601           | 1.482           | 2.474                           | 0.886           | 1.691           | 2.623           | 2.180           |
| <i>P</i>   |          | 0.001                                             | 0.127              | 0.010           | 0.141           | 0.015                           | 0.378           | 0.094           | 0.010           | 0.031           |

**2.2 血清外泌体提取及鉴定结果** 将提取的血清外泌体置于透射电子显微镜下观察,典型的显微照片显示囊泡呈圆形或椭圆形,直径为 30~150 nm,见图 1。经 Western blot 法检测,在分离出的外泌体颗粒标本中出现外泌体蛋白标记 CD61、CD9、TSG101 蛋白特

异性条带,而在外泌体缺失的上清液中没有特异性条带;此外,CYC1 和 GRP94 蛋白呈阴性表达。见图 2。

**2.3 非进展组与进展组血清外泌体 miR-24 水平比较** 入院时非进展组和进展组血清外泌体 miR-24 水平分别为 1.00 $\pm$ 0.09 和 0.76 $\pm$ 0.21,进展组血清外



泌体 miR-24 水平明显低于非进展组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

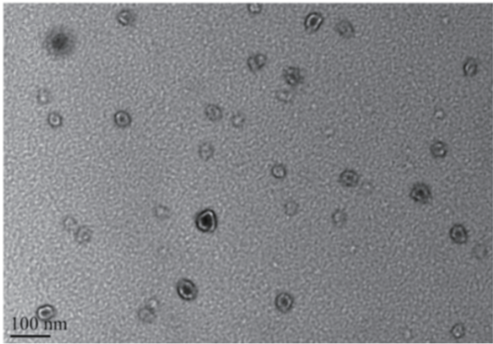


图 1 血清外泌体透射电镜下观察囊泡形态( $\times 12\,000$ )

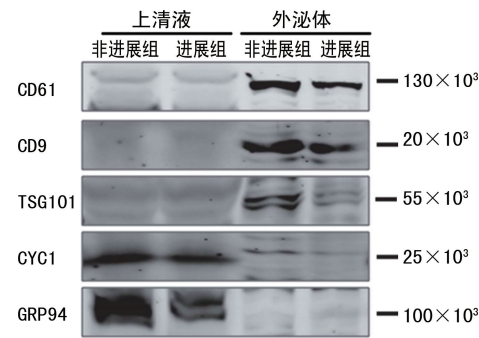


图 2 外泌体标志蛋白表达情况

**2.4 进展性腔隙性脑梗死发生的影响因素分析** 以进展性腔隙性脑梗死(进展=1,未发生进展=0)作为因变量,将 WBC、NEU#、TC、LDL-C、FBG、血清外泌体 miR-24 作为自变量,对进展性腔隙性脑梗死的影响因素进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示血清外泌体 miR-24 降低,NEU# 和 LDL-C 水平升高是急性腔隙性脑梗死患者发生进展的独立危险因素( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 多因素 Logistic 回归分析进展性腔隙性脑梗死的影响因素

| 变量     | $\beta$ | SE    | Walds  | P      | OR(95%CI)          |
|--------|---------|-------|--------|--------|--------------------|
| miR-24 | -0.152  | 0.017 | 19.857 | <0.001 | 0.643(0.426~0.779) |
| NEU#   | 0.963   | 0.214 | 3.961  | 0.018  | 1.852(1.047~3.280) |
| LDL-C  | 0.477   | 0.036 | 2.746  | 0.022  | 1.653(1.022~1.979) |

**2.5 入院时血清外泌体 miR-24 水平对进展性腔隙性脑梗死的预测价值** ROC 曲线分析结果显示,入院时血清外泌体 miR-24 预测进展性腔隙性脑梗死的 AUC 为 0.793(95%CI:0.650~0.861),cut-off 值为

0.805,在该阈值下,特异度和灵敏度分别为 92.5%和 58.6%。见图 3。

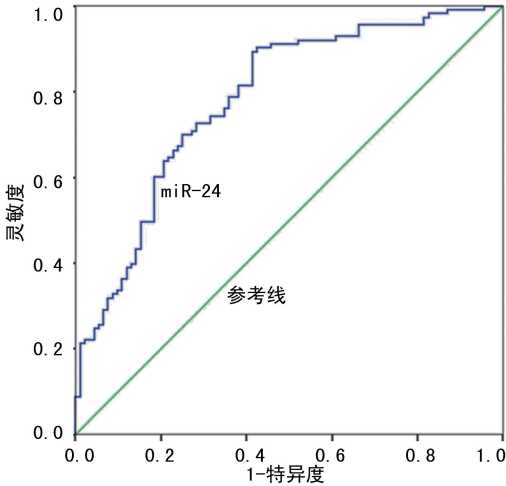


图 3 血清外泌体 miR-24 预测进展性腔隙性脑梗死的 ROC 曲线

**2.6 两组颈动脉斑块检出情况、IMT、Crouse 积分比较** 进展组和非进展组患者分别检出 65 块和 123 块颈动脉斑块,进展组斑块检出率高于非进展组,且易损斑块检出率更高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );另外,进展组 Crouse 积分高于非进展组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 3。

**2.7 血清外泌体 miR-24 水平与颈动脉斑块 Crouse 积分的关系** 经 Pearson 相关分析,miR-24 水平与颈动脉斑块 Crouse 积分呈负相关( $r=-0.793$ , $P<0.001$ )。见图 4。

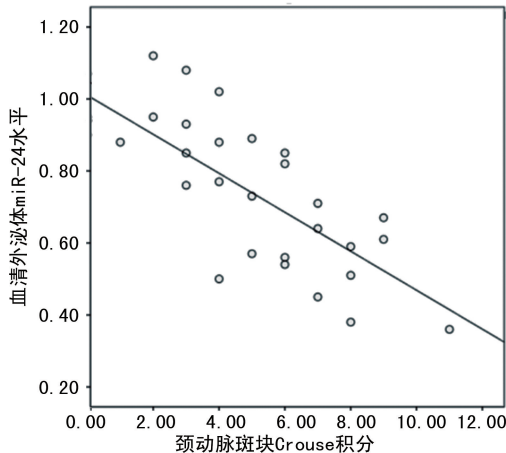


图 4 血清外泌体 miR-24 水平与颈动脉斑块 Crouse 积分的相关性

表 3 两组颈动脉斑块检出情况、IMT、Crouse 积分比较

| 组别         | n  | 斑块检出情况    |                | IMT( $\bar{x}\pm s$ ,mm) |                 | Crouse 积分( $\bar{x}\pm s$ ,分) |
|------------|----|-----------|----------------|--------------------------|-----------------|-------------------------------|
|            |    | 检出率[n(%)] | 易损斑块/稳定斑块(n/n) | 颈总动脉                     | 颈内动脉            |                               |
| 进展组        | 32 | 27(84.38) | 41/24          | 1.37 $\pm$ 0.35          | 1.02 $\pm$ 0.23 | 4.56 $\pm$ 3.03               |
| 非进展组       | 88 | 53(60.23) | 46/77          | 1.24 $\pm$ 0.31          | 0.95 $\pm$ 0.17 | 2.44 $\pm$ 2.15               |
| $\chi^2/t$ |    | 6.158     | 11.278         | 1.962                    | 1.807           | 4.257                         |
| P          |    | 0.013     | <0.001         | 0.052                    | 0.073           | <0.001                        |

### 3 讨 论

本研究分析了急性腔隙性脑梗死患者血清外泌体中 miR-24 水平与疾病进展之间的关系,结果表明发生腔隙性脑梗死且症状出现 7 d 内发生疾病进展的患者入院时血清外泌体 miR-24 水平低于未发生进展的腔隙性脑梗死患者,经多因素 Logistic 回归分析,发现 miR-24 水平降低是进展性腔隙性脑梗死发生的独立危险因素,说明 miR-24 可能与急性腔隙性脑梗死的疾病进展有关。既往研究证实,颈动脉硬化和斑块形成是急性脑梗死疾病进展的独立危险因素,但是单纯的颈动脉彩超检测往往不能准确预测腔隙性脑梗死的进展,并发现检测急性腔隙性脑梗死患者入院时血清外泌体 miR-24 水平对腔隙性脑梗死患者的病情进展有一定的预测价值,且外泌体中的 miRNA 可有效避免被血清中的 RNA 酶降解,因此,检测血清外泌体中的 miR-24 水平预测进展性腔隙性脑梗死更加准确<sup>[1-2]</sup>。

在我国,脑梗死具有很高的发病率、病死率和致残率,且目前尚缺乏十分有效的治疗手段和控制神经功能恶化的有效措施。因此,明确与脑梗死发生、进展相关的危险因素具有重要的医学价值。动脉粥样硬化被认为是脑梗死最重要的病理性基础<sup>[3-4]</sup>。LORENZ 等<sup>[5]</sup>的前瞻性研究发现,颈动脉 IMT 可以独立预测未来的脑血管事件。因此,颈动脉粥样硬化斑块的形成及引起的颈动脉狭窄已被广泛用作预测脑梗死疾病发生的指标,并且也是疾病治疗中控制的关键因素。除此以外,颈动脉粥样硬化斑块与脑梗死神经功能恶化的相关性及其临床意义也逐渐被证实。神经系统恶化是急性腔隙性脑梗死患者最严重的并发症之一<sup>[6]</sup>。多种因素被认为会导致急性腔隙性脑梗死神经系统恶化,包括大血管闭塞、颈动脉粥样硬化斑块的形成、斑块易损性、出血转化、颅内压升高、感染等。潘维花等<sup>[7]</sup>证实,24 h 收缩压标准差、颈动脉硬化 Crouse 积分与脑梗死密切相关,是腔隙性脑梗死发生、进展的有效预测指标。作为一种廉价、无创、非电离的成像技术,颈动脉超声检查斑块是目前唯一能实时观察动脉壁形态、血流动力学和弹性特征的成像方法,但是对于无急性症状发作的腔隙性脑梗死患者或疾病进展评估,其灵敏度和临床应用范围有限。

本研究通过多因素 Logistic 回归分析证实,miR-24 水平降低是腔隙性脑梗死发生疾病进展的独立危险因素,且 ROC 曲线分析结果显示,检测血清外泌体 miR-24 水平对于预测进展性腔隙性脑梗死的发生具有较高的灵敏度。miR-24 在眼、肾、脑、心、肺等多种组织中均有表达,特别是在血管组织中。有研究表明,miR-24 可以通过抑制 Importin- $\alpha$ 3 表达,调节内皮细胞的增殖、迁移、凋亡及炎症反应来抑制动脉粥样硬化<sup>[8-12]</sup>。方丹等<sup>[13]</sup>证实在不稳定性动脉斑块中存在高水平的 YKL-40 及低水平的 miR-24。目前,进

展性腔隙性脑梗死的可能发病机制有穿支血管动脉硬化性疾病、血流动力学变化、兴奋性氨基酸毒性和炎症反应等,此外,大血管病变也极有可能引起动脉-动脉栓塞或穿支动脉入口被斑块阻塞,从而引发腔隙性脑梗死。OHIRA 等<sup>[14]</sup>和靳宗伟等<sup>[15]</sup>均通过研究证实 CCA-IMT、Crouse 积分升高与缺血性脑梗死的相关性相较于其他型脑梗死更大,尤其与腔隙性脑梗死关系密切。本研究中患者入院时进展组斑块检出率高于非进展组,且易损斑块检出率更高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );另外,进展组 Crouse 积分明显高于非进展组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明颈动脉斑块硬化程度越严重,腔隙性脑梗死患者发生疾病进展的风险越高。相关分析发现,血清外泌体 miR-24 水平与颈动脉斑块 Crouse 积分呈负相关,提示 miR-24 与颈动脉斑块的形成机制有关,检测 miR-24 水平可反映颈动脉粥样硬化的严重程度。

综上所述,miR-24 水平可以反映腔隙性脑梗死患者颈动脉斑块硬化严重程度,而且其降低是急性腔隙性脑梗死发生疾病进展的独立危险因素,检测血清外泌体 miR-24 水平对预测老年进展性腔隙性脑梗死的发生具有较高的价值。

### 参考文献

- [1] 李鹏燕,朱雨岚.进展性腔隙性脑梗死的发病机制研究进展[J].神经损伤与功能重建,2016,36(5):429-431.
- [2] JIANG Q, SHEN D, WANG Y, et al. miR-24 reduces serum lipid levels and inhibits brain tissue cells apoptosis of rats with cerebral infarction[J]. Turk Neurosurg, 2018, 30(4):483-490.
- [3] REGENHARDT R W, DAS A S, LO E H, et al. Advances in understanding the pathophysiology of lacunar stroke: a review[J]. JAMA Neurol, 2018, 75(10):1273-1281.
- [4] 李春霞,卜星彭,赵晓芳.不同剂量叶酸联合普伐他汀对老年高血压合并腔隙性脑梗死病人 Hcy、颈动脉硬化及脑缺血的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(10):1563-1566.
- [5] LORENZ M W, GAO L, ZIEGELBAUER K, et al. Predictive value for cardiovascular events of common carotid intima media thickness and its rate of change in individuals at high cardiovascular risk-results from the PROG-IMT collaboration[J]. PLoS One, 2018, 13(4):e0191172.
- [6] 范佳,查俊杰,钱丽娜,等.远程缺血后适应干预对急性脑梗死患者血清 miR-21、miR-24 水平和神经功能的影响[J].疑难病杂志,2017,16(11):1085-1088.
- [7] 潘维花,李杰,谢秀娟.腔隙性脑梗死与血压变异性、颈动脉粥样硬化相关性研究[J].脑与神经疾病杂志,2015,23(4):292-295.
- [8] ZHU X, SHAN Z, MA J, et al. Investigating the role of the post-transcriptional gene regulator miR-24-3p in the proliferation, migration and apoptosis of human arterial smooth muscle cells in arteriosclerosis obliterans[J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 36(4):1359-1370.

- [7] KELSALL A, IQBAL A, NEWELL P J, et al. Adrenal incidentaloma; cardiovascular and metabolic effects of mild cortisol excess[J]. *Gland Surg*, 2020, 9(1): 94-104.
- [8] KDIGO Update Work Group. KDIGO 2017 clinical practice guideline update for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD)[J]. *Kidney Int(Suppl)*, 2017, 7(1): 1-59.
- [9] 胡文涛, 李少敏, 刘佩佳, 等. 血脂水平在不同 CKD 分期患者中与心血管事件和全因死亡预后关系研究[J]. *新医学*, 2020, 51(6): 439-444.
- [10] 杨雄, 尹爱萍. 老年慢性肾脏病不同分期患者血清多项骨代谢指标变化与成纤维细胞生长因子 23 的相关性分析[J]. *现代检验医学杂志*, 2019, 34(4): 58-61.
- [11] 王善志, 朱永俊, 李国铨, 等. 中国成人老年慢性肾脏病患病率的 Meta 分析结果及对比[J]. *中华肾脏病杂志*, 2018, 34(8): 579-586.
- [12] KURO O M. Klotho and endocrine fibroblast growth factors; markers of chronic kidney disease progression and cardiovascular complications? [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2019, 34(1): 15-21.
- [13] 贾媛媛, 金方霞, 杜玄一. 慢性肾脏病贫血患者心血管安全性问题探析[J]. *中国血液净化*, 2020, 19(6): 364-367.
- [14] LIOUFAS N M, PEDAGOGOS E, HAWLEY C M, et al. Aortic calcification and arterial stiffness burden in a chronic kidney disease cohort with high cardiovascular risk: baseline characteristics of the impact of phosphate reduction on vascular end-points in chronic kidney disease trial [J]. *Am J Nephrol*, 2020, 51(3): 201-215.
- [15] 龚淑文, 谢海英, 官继超, 等. 老年慢性肾脏病患者血清中性粒细胞明胶酶相关载脂蛋白与心血管事件相关性分析[J]. *中华内分泌外科杂志*, 2019, 13(2): 154-158.
- [16] OHASHI N, ISOBE S, ISHIGAKI S, et al. Increased heart rate is associated with intrarenal renin-angiotensin system activation in chronic kidney disease patients[J]. *Clin Exp Nephrol*, 2019, 23(9): 1109-1118.
- [17] OHASHI N, ISHIGAKI S, ISOBE S. The pivotal role of melatonin in ameliorating chronic kidney disease by suppression of the renin-angiotensin system in the kidney [J]. *Hypertens Res*, 2019, 42(6): 761-768.
- [18] 王永胜, 杨丽霞, 程涛, 等. 糖尿病肾病的炎症致病机制与中药防治[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2018, 38(2): 200-207.
- [19] MIYAKE T, MIYAKE T, SHIMIZU H, et al. Inhibition of aneurysm progression by direct renin inhibition in a rabbit model[J]. *Hypertension*, 2017, 70(6): 1201-1209.
- [20] JIA G, HILL M A, SOWERS J R, et al. Diabetic cardiomyopathy: an update of mechanisms contributing to this clinical entity[J]. *Circ Res*, 2018, 122(4): 624-638.
- [21] CRAWFORD A A, SODERBERG S, KIRSCHBAUM C, et al. Morning plasma cortisol as a cardiovascular risk factor: findings from prospective cohort and Mendelian randomization studies [J]. *Eur J Endocrinol*, 2019, 181(4): 429-438.
- [22] O'CONNOR D B, BRANLEY B D, GREEN J A, et al. Effects of childhood trauma, daily stress, and emotions on daily cortisol levels in individuals vulnerable to suicide [J]. *J Abnorm Psychol*, 2020, 129(1): 92-107.
- [23] CHIODINI I, GAUDIO A, ELLER-VAINICHER C, et al. Cortisol secretion, sensitivity, and activity are associated with hypertension in postmenopausal eucortisolemic women[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2019, 104(10): 4441-4448.
- [24] 郑梅, 李树仁, 孙明超, 等. 多支血管病变急性非 ST 段抬高型心肌梗死不同手术方式对患者远期预后的比较[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2019, 11(6): 746-749.

(收稿日期: 2021-03-10 修回日期: 2021-10-17)

(上接第 2985 页)

- [9] ZHENG Y, LI Y, LIU G, et al. microRNA-24 inhibits the proliferation and migration of endothelial cells in patients with atherosclerosis by targeting importin- $\alpha$ 3 and regulating inflammatory responses[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(1): 338-344.
- [10] 赵瑜, 岳彩虹, 曹海丽, 等. 上调 miR-24 对急性肺损伤幼龄大鼠炎症反应的影响及作用机制[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2019, 40(5): 684-689.
- [11] MAEGDEFESSEL L, SPIN J M, RAAZ U, et al. miR-24 limits aortic vascular inflammation and murine abdominal aneurysm development[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 5214.
- [12] GUO C, DENG Y, LIU J, et al. Cardiomyocyte-specific role of miR-24 in promoting cell survival[J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(1): 103-112.
- [13] 方丹, 邓鑫, 贺朝晖, 等. 糖尿病合并冠心病患者血清标志物 miR-24 的变化及临床意义[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(5): 491-496.
- [14] OHIRA T, SHAHAR E, ISO H, et al. Carotid artery wall thickness and risk of stroke subtypes: the atherosclerosis risk in communities study[J]. *Stroke*, 2011, 42(2): 397-403.
- [15] 靳宗伟, 党福欣, 代金占, 等. 血清尿酸、颈动脉硬化与脑梗死严重程度的相关性探讨[J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2016, 13(6): 14-16.

(收稿日期: 2021-02-12 修回日期: 2021-07-17)