

• 论 著 •

非心源性脑梗死的发生、发展与血清 miRNA-145、miRNA-210 水平的相关性

徐 亮¹, 石 瑜², 王广军^{2△}

江苏省徐州市肿瘤医院:1. 重症医学科;2. 神经内科, 江苏徐州 221000

摘 要:目的 研究非心源性脑梗死的发生和发展与血清 miRNA-145、miRNA-21 水平的相关性。方法 选取 2019 年 3 月至 2021 年 10 月该院收治的 106 例非心源性脑梗死患者作为研究组,采用美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分分为轻度卒中组($n=32$)、中度卒中组($n=45$)、重度卒中组($n=29$);同期选取 40 例体检健康者作为对照组。采用酶联免疫吸附试验检测各组人群血清白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,并采用实时荧光定量 PCR 检测血清 miRNA-145、miRNA-210 水平。通过受试者工作特征(ROC)曲线分析 miRNA-145、miRNA-210 对非心源性脑梗死的诊断效能,采用 Spearman 法分析 miRNA-145、miRNA-210 与病情发展的相关性。结果 轻、中、重度卒中组 IL-10、TNF- α 水平均高于对照组($P<0.05$);重度卒中组 IL-10、TNF- α 水平均高于轻、中度卒中组($P<0.05$)。轻、中、重度卒中组血清 miRNA-145、miRNA-210 水平均高于对照组($P<0.05$);重度卒中组 miRNA-145、miRNA-210 水平均高于轻、中度卒中组($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,miRNA-145 诊断非心源性脑梗死的曲线下面积为 0.764,灵敏度、特异度分别为 79.2%、62.5%;miRNA-210 诊断非心源性脑梗死的曲线下面积为 0.784,灵敏度、特异度分别为 69.8%、75.0%。经 Spearman 相关分析显示,血清 miRNA-145、miRNA-210 水平与患者 NIHSS 评分均呈正相关($r=0.457, 0.362, P<0.001$)。结论 非心源性脑梗死的发生和发展与患者血清 miRNA-145、miRNA-210 水平密切相关,临床可通过检测其血清 miRNA-145、miRNA-210 水平以评估患者病情。

关键词:非心源性脑梗死; miRNA-145; miRNA-210

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.24.018

中图法分类号:R743.3

文章编号:1673-4130(2022)24-3028-04

文献标志码:A

Correlation between occurrence and development of non-cardiogenic cerebral infarction with serum miRNA-145 and miRNA-210 levels

XU Liang¹, SHI Yu², WANG Guangjun^{2△}

1. Department of Critical Care Medicine; 2. Department of Neurology, Xuzhou Municipal Tumor Hospital, Xuzhou, Jiangsu 221000, China

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between the occurrence and development of non-cardiogenic cerebral infarction with the serum miRNA-145 and miRNA-210 levels. **Methods** A total of 106 patients with non-cardiogenic cerebral infarction treated in this hospital from March 2019 to October 2021 were selected as the study group and divided into the mild stroke group ($n=32$), moderate stroke group ($n=45$) and severe stroke group ($n=29$) by adopting the National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) score; contemporaneous 40 healthy individuals undergoing physical examination were selected as the control group. The serum interleukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) levels were detected by the enzyme-linked immunosorbent assay, and the serum miRNA-145 and miRNA-210 expression levels were detected by the real-time quantitative PCR. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnostic efficiency of miRNA-145 and miRNA-210 in non-cardiogenic cerebral infarction, and the Spearman method was used to analyze the correlation between miRNA-145 and miRNA-210 with the disease progress. **Results** The levels of IL-10 and TNF- α in the mild, moderate and severe groups were higher than those in the control group ($P<0.05$). The IL-10 and TNF- α levels in the severe stroke group were higher than those of the moderate stroke and mild stroke groups ($P<0.05$). The levels of serum miRNA-145 and miRNA-210 in the mild, moderate and severe groups were higher than those in the control group ($P<0.05$). The miRNA-145 and miRNA-210 levels in the severe stroke group were higher than those in the moderate and mild stroke groups ($P<0.05$). The ROC curve analysis showed that the area under the curve for miRNA-145 in diagno-

sing non-cardiogenic cerebral infarction was 0.764, with the sensitivity and specificity of 79.2% and 62.5%, respectively; the area under the curve for miRNA-210 in diagnosing non-cardiogenic cerebral infarction was 0.784, with the sensitivity and specificity of 69.8% and 75.0%, respectively. The Spearman correlation showed that serum miRNA-145 and miRNA-210 levels were positively correlated with the NIHSS scores ($r=0.457, 0.362, P<0.001$). **Conclusion** The occurrence and development of non-cardiogenic cerebral infarction are closely related to the serum miRNA-145 and miRNA-210 levels in the patients, so detecting serum miRNA-145 and miRNA-210 levels in clinic could be used to evaluate the disease condition of the patients.

Key words: non-cardiogenic cerebral infarction; miRNA-145; miRNA-210

脑梗死的常见诱因因为动脉粥样硬化。非心源性脑梗死为常见类型,包括粥样硬化斑块脱落、肺静脉血栓或凝块等所引起的脑梗死,对患者生命有严重威胁。早期干预对改善患者预后具有重要价值^[1-2]。微小 RNA(miRNA)为内源性非编码的小 RNA 分子,在真核生物中广泛存在,能调节基因表达。较多临床研究指出,miRNA 可调控中枢神经,在多种脑血管疾病中发挥重要作用,提示 miRNA 可作为脑血管病领域诊疗的新方向^[3-4]。本研究通过检测非心源性脑梗死不同发展程度患者血清 miRNA-145、miRNA-210 水平并探讨其与病情的相关性,旨在为非心源性脑梗死的诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 经本院医学伦理委员会批准,选取

2019 年 3 月至 2021 年 10 月本院收治的 106 例非心源性脑梗死患者作为研究组,选取同期 40 例体检健康者作为对照组。研究组患者住重症监护病房。研究组纳入标准:符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南》^[5]中关于非心源性脑梗死的标准,分型为非心源性脑梗死,且经 MRI 等影像学检查确诊。排除标准:合并其他恶性肿瘤;不配合有关检查;合并其他血管相关疾病;存在精神疾病或意识障碍。采用美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分^[6]对纳入的患者进行分组:NIHSS 评分不足 4 分作为轻度卒中组,共 32 例;4~15 分作为中度卒中组,共 45 例;评分超过 15 分作为重度卒中组,共 29 例。各组性别、年龄、体质质量指数(BMI)、血压等基本资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表 1。

表 1 各组一般资料比较

组别	n	性别(n)		年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	BMI ($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)	血压($\bar{x}\pm s$,mm Hg)	
		男	女			收缩压	舒张压
对照组	40	26	14	66.82±11.14	23.71±3.42	147.02±15.16	82.41±11.63
研究组							
轻度卒中组	32	20	12	68.23±10.10	24.08±3.42	154.16±22.70	86.77±14.40
中度卒中组	45	27	18	72.57±11.65	24.37±3.25	155.68±24.26	85.91±14.16
重度卒中组	29	18	11	70.29±12.42	23.35±2.43	156.47±18.96	87.03±10.30
χ^2 或 F		0.227		2.020	0.690	1.670	1.020
P		0.973		0.114	0.560	0.177	0.386

1.2 方法 采集各组受试者空腹静脉血备用。炎症因子水平检测:使用酶联免疫吸附试验检测患者血清白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,严格按试剂盒说明书进行操作。血清 miRNA-145、miRNA-210 水平检测:采用实时荧光定量 PCR 检测 miRNA-145、miRNA-210 水平。(1)提取血清总 RNA。使用 RNA 提取试剂盒(来源于 QuantoBio)从血清中将 RNA 提取,按试剂盒提供的说明书对血清总 RNA 进行提取并纯化,使用紫外分光光度计检测 260 nm 处吸光度值并计算 RNA 水平。(2)反转录。根据 miScript II 反转录试剂盒说明书操作,反转录合成 cDNA;总反应体系为 20 μ L,反应条件为于 37 $^{\circ}$ C 下反应 1 min,95 $^{\circ}$ C 下反应 5 min;使用无酶水对其稀释并放于冰箱中冷冻保存。(3)实时荧光定量

PCR。由 MRC 基因公司设计合成引物,按说明书配制反应混合物,各反应体系 20 μ L,使用荧光定量 PCR 仪(罗氏,型号:LightCycler480);PCR 反应条件为 95 $^{\circ}$ C 下预变性 30 s,95 $^{\circ}$ C 下反应 5 s,再于 60 $^{\circ}$ C 下反应 30 s,重复 40 个循环后扩增,95 $^{\circ}$ C 下反应 15 s,60 $^{\circ}$ C 下反应 1 min,再于 95 $^{\circ}$ C 下反应 15 s 绘制溶解曲线。各样品设置 3 个复孔,采用 2^{- $\Delta\Delta$ ct} 法计算 miRNA-145、miRNA-210 的相对表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件分析数据。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较用 t 检验,多组数据比较采用 F 检验;计数资料以例数、百分率表示,比较采用 χ^2 检验;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析 miRNA-145、miRNA-210 的诊断效能;采用 Spearman 相关分析 miRNA-145、miRNA-

210 与病情发展的相关性;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组炎症因子水平比较 轻、中、重度卒中组 IL-10、TNF- α 水平均高于对照组 ($P<0.05$);重度卒中组 IL-10、TNF- α 水平均高于轻、中度卒中组 ($P<0.05$)。见表 2。

表 2 各组炎症因子水平比较($\bar{x}\pm s$, ng/L)			
组别	n	IL-10	TNF- α
对照组	40	11.58 $\pm$ 4.41	6.31 $\pm$ 1.73
研究组			
轻度卒中组	32	27.47 $\pm$ 7.02* [#]	68.94 $\pm$ 14.01* [#]
中度卒中组	45	40.19 $\pm$ 8.09* [#]	98.67 $\pm$ 18.11* [#]
重度卒中组	29	62.29 $\pm$ 16.67*	169.74 $\pm$ 36.21*
F		169.650	388.120
P		<0.001	<0.001

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与重度卒中组比较,[#] $P<0.05$ 。

2.2 各组血清 miRNA-145、miRNA-210 水平比较 轻、中、重度卒中组血清 miRNA-145、miRNA-210 水平均高于对照组 ($P<0.05$);重度卒中组 miRNA-145、miRNA-210 水平均高于轻、中度卒中组 ($P<0.05$)。见表 3。

表 3 各组血清 miRNA-145、miRNA-210 水平比较($\bar{x}\pm s$)			
组别	n	miRNA-145	miRNA-210
对照组	40	7.06 $\pm$ 1.90	4.51 $\pm$ 1.69
研究组			
轻度卒中组	32	8.25 $\pm$ 2.10* [#]	6.31 $\pm$ 1.25* [#]
中度卒中组	45	8.34 $\pm$ 1.98* [#]	6.48 $\pm$ 1.36* [#]
重度卒中组	29	9.68 $\pm$ 2.15*	7.53 $\pm$ 2.94*
F		5.850	3.840
P		0.001	0.011

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与重度卒中组比较,[#] $P<0.05$ 。

2.3 血清 miRNA-145、miRNA-210 诊断非心源性脑梗死的效能分析 经 ROC 曲线分析,miRNA-145 诊断非心源性脑梗死的曲线下面积(AUC)为 0.764,灵敏度、特异度分别为 79.2%、62.5%;miRNA-210 诊断非心源性脑梗死的 AUC 为 0.784,灵敏度、特异度分别为 69.8%、75.0%。见表 4 和图 1。

表 4 血清 miRNA-145、miRNA-210 诊断非心源性脑梗死的效能分析					
指标	AUC	AUC 的 95%CI	标准误	灵敏度 (%)	特异度 (%)
miRNA-145	0.764	0.676~0.852	0.045	79.2	62.5
miRNA-210	0.784	0.700~0.868	0.043	69.8	75.0

2.4 患者血清 miRNA-145、miRNA-210 水平与

NIHSS 评分的相关性 经 Spearman 相关分析显示,血清 miRNA-145、miRNA-210 水平与患者 NIHSS 评分均呈正相关($r=0.457、0.362,P<0.001$)。见图 2。

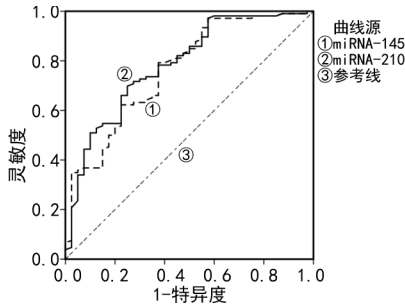


图 1 血清 miRNA-145、miRNA-210 诊断非心源性脑梗死的 ROC 曲线

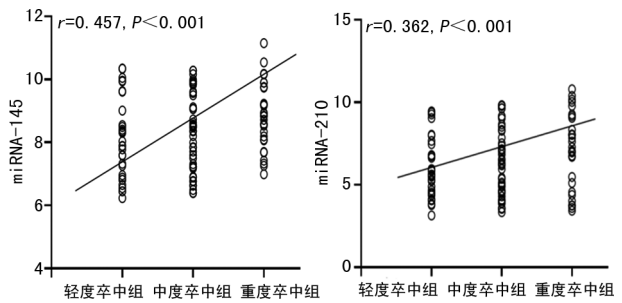


图 2 血清 miRNA-145、miRNA-210 水平与 NIHSS 评分的相关性分析

3 讨 论

脑梗死是由多种原因导致的脑部血液循环障碍,局部脑组织因缺血缺氧而出现坏死,继而表现出相应神经功能缺损。脑梗死为常见的脑血管疾病,其中多数为非心源性脑梗死,非心源性脑梗死发病迅速且进展快,具有较高的发病率、复发率、致残率与病死率^[7-8]。

脑梗死的发生、发展与机体炎症反应、免疫功能紊乱等有关。miRNA 有转录后调节功能,在细胞受刺激后参与激活磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B 等脑梗死相关信号途径与免疫功能调控^[9]。多数 miRNA 为 JAK 激酶/信号转导和转录激活因子途径中的重要调控因子,核因子 κ B 为多数炎症因子的转录因子,激活后生成大量 IL-10、TNF- α 等炎症细胞因子并激发炎症反应,同时产生抗炎因子使抗炎与促炎反应紊乱。IL-10/TNF- α 可反映机体免疫紊乱状态,比值越大提示机体抗炎反应越强烈。本研究中轻、中、重度卒中组患者血清 IL-10、TNF- α 水平均高于对照组,且重度卒中组 IL-10、TNF- α 水平高于轻、中度卒中组,可能是由于本研究纳入的高龄患者免疫功能低下,且部分血标本留取时间点错过了 TNF- α 分泌高峰,患者处于抗炎关键阶段等^[10-11]。轻、中、重度卒中组患者 IL-10、TNF- α 水平高于对照组,说明脑梗死患者体内炎症反应较为严重。

miRNA 广泛分布于真核细胞中,是非编码的小

分子 RNA。目前临床已证实人类基因组中有超过 400 种 miRNA 与癌症有关,miRNA 水平与肿瘤生物学特征关联,可调控基因表达以发挥原癌、抑癌基因作用,在肿瘤发生、发展中具有重要作用^[12-13]。近期有研究者对 miRNA 在脑梗死发生、发展过程中的调控作用进行研究,在与脑梗死相关的循环 miRNA 实验中经基因芯片发现 miRNA 表达有所差异^[14]。miRNA-145 为少数在 5 个时间点上升的 miRNA。目前已证实 miRNA-145 在乳腺癌、食管癌等多种肿瘤中表达异常,可通过调控信号通路以发挥抑癌作用^[15]。miRNA-210 在脑缺血后有一定表达异常,研究显示,miRNA-210 能促进脑缺血后血管新生过程,与脑梗死病情发展有密切关系^[16]。本研究对非心源性脑梗死不同程度患者的血清 miRNA-145、miRNA-210 水平进行研究,结果显示重度卒中组患者 miRNA-145、miRNA-210 水平显著高于轻、中度卒中组患者。提示 miRNA-145、miRNA-210 可作为非心源性脑梗死的有效生物标志物,用于评估病情严重程度^[17-18]。ROC 曲线分析显示,miRNA-145 诊断非心源性脑梗死的 AUC 为 0.764,灵敏度、特异度分别为 79.2%、62.5%;miRNA-210 诊断非心源性脑梗死的 AUC 为 0.784,灵敏度、特异度分别为 69.8%、75.0%,说明血清 miRNA-145、miRNA-210 水平在诊断非心源性脑梗死的灵敏度与特异度方面具有一定优势,提示这 2 项指标可作为判断非心源性脑梗死的无创指标^[19-20]。本研究通过 Spearman 相关性分析,研究组血清 miRNA-145、miRNA-210 水平与 NIHSS 评分呈正相关,说明 miRNA-145、miRNA-210 有助于对脑梗死患者预后及炎症反应状态进行判断。

综上所述,非心源性脑梗死患者血清 miRNA-145、miRNA-210 水平显著上升,可反映机体炎症反应状态,与脑梗死发生、发展密切相关,可为有效预防、诊疗非心源性脑梗死提供参考依据。

参考文献

- [1] 薛晓丹,王德征,张颖,等. 2010—2016 年天津市居民脑梗死发病特征及趋势分析[J]. 疾病监测,2019,34(4):354-358.
- [2] KONG F,HUANG X,SU L,et al. Risk factors for cerebral infarction in Takayasu arteritis:a single-centre case-control study[J]. Rheumatology (Oxford),2021,61(1):281-290.
- [3] 孙振莹,孙京先,杨光. 微小 RNA 在卒中诊治中作用的研究现状[J]. 中华神经外科杂志,2021,37(7):747-750.
- [4] 李华亮,潘平雷,陈佳慧,等. 非心源性脑梗死的发生发展

与患者血清 25-羟基维生素 D、脂蛋白磷脂酶 A2 水平的相关性[J]. 当代医药论丛,2021,19(16):15-17.

- [5] 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.
- [6] 王建民,周冬亮,段莉萍,等. Essen 卒中风险量表评分对短暂性脑缺血发作及非心源性脑梗死复发的评价[J]. 中华老年医学杂志,2015,34(6):662-663.
- [7] 刘帝,冉利梅,聂四平,等. 脑卒中高危个体的危险因素及分布特征[J]. 贵州医药,2019,43(8):1317-1320.
- [8] TAKEDA H,YAMAGUCHI T,YANO H,et al. Microglial metabolic disturbances and neuroinflammation in cerebral infarction[J]. J Pharmacol Sc,2021,145(1):130-139.
- [9] KOBAYASHI Y,OKUMURA G,MORIZUMI T,et al. Scattered cerebral infarction in the corona radiata predicts worse outcomes[J]. Acta Neurol Scand,2022,146(1):70-74.
- [10] 马争飞,钟平. 感染及炎症反应在脑梗死发病中的临床研究[J]. 中华全科医学,2012,10(2):197-198.
- [11] 杨娑娑,王金. 轻度创伤性脑损伤患者血清 microRNA-210 与血小板水平及与认知功能的关系[J]. 血栓与止血学,2020,26(3):78-79.
- [12] 韩杨,蒋知新. microRNA 在动脉粥样硬化中的研究进展[J]. 临床和实验医学杂志,2019,18(4):4.
- [13] 金晶. 血清 miRNA-223 与 miRNA-210 在急性脑梗死中的作用机制及其与炎症因子表达的相关性[J]. 中国卫生检验杂志,2021,31(13):1593-1596.
- [14] 程永红,肖小平. 中重度颅脑损伤并发脑梗死患者血清 miRNA-124 与 miRNA-210 表达的临床意义[J]. 现代检验医学杂志,2018,33(3):83-87.
- [15] 侯丽淳,杨慧,关雪莲,等. miRNA-145 在缺血性脑卒中的表达研究[J]. 黑龙江医药科学,2019,42(1):49-50.
- [16] 王君. miRNA-210 在急性脑梗死中的作用及其相关机制研究[D]. 苏州:苏州大学,2018.
- [17] 魏艳胜,张永春,黄陆力,等. 外周血与尿沉渣 microRNA-145 表达与冠心病患者疾病程度的相关性研究[J]. 实验与检验医学,2021,39(2):354-356.
- [18] 徐慧,张民远,戴勤学. miR-145 通过调节 SOD 活性介导人参皂苷 Rb1 对脑缺血再灌注损伤大鼠的脑保护作用[J]. 中国临床药理学与治疗学,2018,23(11):21-26.
- [19] 王念,戴心怡. 急性脑梗死患者血清中 miRNA-22 的表达水平及临床意义[J]. 中国现代医药杂志,2018,20(11):12-15.
- [20] 陈南耀,余丹. 联合检测血清 miR-124 与 miR-182 的表达水平对急性脑梗死诊断与预后评估的价值[J]. 中国动脉硬化杂志,2019,27(6):51-55.

(收稿日期:2021-12-24 修回日期:2022-10-17)