

• 短篇论著 •

缺血性脑卒中患者血清 circSHOC2 的表达与其认知功能变化的相关性分析*

苏小田¹, 欧阳葵¹, 黄茂乙², 王桂瑜¹

1. 海南省老年病医院老年科, 海南海口 571100; 2. 海南医学院

第二附属医院热带病与肝病科, 海南海口 570000

摘要:目的 检测缺血性脑卒中(IS)患者血清环状 RNA SHOC2(circSHOC2)的表达,并分析其与认知功能变化的相关性。方法 选取海南省老年病医院 2020 年 5 月至 2022 年 6 月收治的 IS 患者 100 例,依据蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分分为认知正常组(42 例)和认知障碍组(58 例);另选取同期体检的健康志愿者 100 例为对照组。采用荧光定量 PCR 检测血清中 circSHOC2 表达情况;采用 Pearson 法分析血清 circSHOC2 相对表达水平与 MoCA 评分、简易智能状态评估量表(MMSE)评分的相关性;采用多因素 Logistic 回归分析 IS 患者认知功能障碍的影响因素。结果 IS 组血清 circSHOC2 相对表达水平低于对照组,且认知障碍组血清 circSHOC2 相对表达水平低于认知正常组($P < 0.05$)。认知正常组、认知障碍组 IS 患者的颈动脉粥样硬化比例、梗死灶位置、MMSE 评分比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。血清中 circSHOC2 相对表达水平与 MMSE 评分、MoCA 评分呈正相关($r = 0.516, 0.493, P < 0.05$)。多因素 Logistic 回归分析结果显示,颈动脉粥样硬化、梗死灶位置、circSHOC2 为 IS 患者认知功能障碍的独立危险因素($P < 0.05$)。结论 IS 患者血清 circSHOC2 相对表达水平较低,与 IS 患者的认知功能密切相关,且是 IS 患者认知功能障碍的独立危险因素。

关键词:缺血性脑卒中; 环状 RNA SHOC2; 认知功能障碍; 蒙特利尔认知评估量表评分; 简易智能状态评估量表评分

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.04.025

文章编号:1673-4130(2024)04-0509-04

中图法分类号:R743.3

文献标志码:A

缺血性脑卒中(IS)是由于脑供血不足导致正常神经功能受损的疾病,其病理基础为脑动脉氧气和能量供应中断导致的不可逆神经元损伤等^[1-2]。认知障碍为 IS 的主要并发症之一,包括从轻度认知障碍到痴呆一系列综合征^[3]。在中国,IS 一直是导致死亡和残疾的首要原因,超过缺血性心脏病和肺癌,给社会带来巨大负担^[4]。环状 RNA(circRNA)属于一类新型非编码 RNA,由基因外显子通过替代 mRNA 剪接产生,可通过调节神经炎症、细胞凋亡等参与 IS 的病理生理过程^[5]。据报道,circSHOC2 在调节神经元凋亡中发挥着重要的作用^[6]。但目前关于 circSHOC2 与 IS 患者认知功能变化的关系的研究鲜见报道。因此本文对 circSHOC2 在 IS 患者血清中的表达水平进行检测,并探究其与认知功能变化的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集海南省老年病医院 2020 年 5 月至 2022 年 6 月收治的 IS 患者 100 例为 IS 组,依据北京版蒙特利尔认知评估量表(MoCA)评分将 IS 患者分为认知障碍组 58 例(梗死灶位置:左侧半球 23 例,右侧半球 35 例)和认知正常组 42 例(梗死灶位置:左侧半球 20 例,右侧半球 22 例),另外选取健康志愿者 100 例为对照组。

纳入标准:(1)符合中华医学会 IS 的相关诊断标准^[7],经 MRI 及其他影像学手段确诊;(2)意识清楚,生命体征稳定;(3)心、肝、肾、肺无异常;(4)临床资料完整。排除标准:(1)由心脏病或动脉夹层等引发的脑卒中;(2)既往有认知功能障碍病史;(3)伴有抑郁、精神分裂等精神疾病;(4)脑梗死本身(如失语等)对认知评估有影响。本研究经海南省老年病医院医学伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 临床资料的采集 收集并记录两组患者的性别、年龄、饮酒史、吸烟史、受教育程度、高血压、糖尿病、高血脂、梗死灶位置、梗死体积大小、颈动脉粥样硬化程度、心源性血栓等基本临床资料。颈动脉粥样硬化指标的检查方式为多普勒超声检查;梗死灶位置、梗死体积大小、心源性栓塞指标的检查方式为核磁共振(MRI)。

1.2.2 荧光定量 PCR 测定血清 circSHOC2 表达水平 于入院次日清晨采集认知正常组和认知障碍组患者空腹肘静脉全血 5 mL,4 °C 自然凝固后离心分离血清,而后置于冰箱待测。使用 QIAamp RNA Blood Mini Kit(德国 Qiagen 公司)提取研究对象血清中的总 RNA,使用 QuantiTect PCR Kits(德国 Qiagen 公

司)和 circSHOC2 特异性引物(中国上海生工生物工程有限公司)配制荧光定量 PCR 反应体系,在 7500 荧光定量仪(美国 ABI 公司)上完成扩增。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)为内参,通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算血清 circSHOC2 相对表达水平。circSHOC2 引物序列正向:5'-AAACTTCACCTTCAACAC-3',反向:5'-CTGTGTGAAAGGGACTCC-3'。GAPDH 引物序列正向:5'-GTCGGTGTGAACGGATTTGG-3',反向:5'-TCCCGTTGATGACCAGCTTC-3'。

1.2.3 认知功能障碍评定 本研究利用 MoCA 评分对研究对象进行认知功能评定,包含计算、定向力、语言、记忆、抽象思维等项目,MoCA 评分满分为 30 分,若 MoCA 评分>26 分为认知功能正常,MoCA 评分≤26 分为认知功能障碍。同时使用简易智能状态评估量表(MMSE)评分对研究对象进行认知功能评估,包含视空间、计算力、注意力、延迟记忆、即刻记忆力、定向力等项目,该量表满分为 30 分,评分越低,提示认知功能越差。发病时间距离就诊或入院在 7 d 内,认知功能评估时间均是入院当天。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件进行数据处理及统计分析。符合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;计数资料采用频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Pearson 相关性分析血清 circSHOC2 相对表达水平与 IS 患者 MoCA 评分、MMSE 评分的关系;采用多因素 Logistic 回归分析 IS 患者认知功能障碍的影响因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 IS 组、对照组血清中 circSHOC2 相对表达水平比较 IS 组血清 circSHOC2 相对表达水平为 0.71 ± 0.23 ,对照组血清 circSHOC2 相对表达水平为 1.02 ± 0.16 ,IS 组血清 circSHOC2 相对表达水平低于对照组($P<0.05$)。

2.2 不同认知功能 IS 患者血清中 circSHOC2 相对表达水平比较 认知障碍组血清 circSHOC2 相对表达水平为 0.62 ± 0.20 ,认知正常组血清 circSHOC2 相对表达水平为 1.01 ± 0.18 ,认知障碍组血清 circSHOC2 相对表达水平低于认知正常组($P<0.05$)。

2.3 不同认知功能 IS 患者一般资料比较 认知障碍组与认知正常组一般资料比较结果表明,两组性别、年龄、病程、饮酒史、吸烟史、糖尿病、高血压、高血脂、心源性血栓比例及梗死体积大小、受教育程度比较差异无统计学意义($P>0.05$),两组颈动脉粥样硬化比例、梗死灶位置、MMSE 评分比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.4 认知障碍组血清中 circSHOC2 相对表达水平与 MMSE 评分、MoCA 评分的相关性分析 血清中 circSHOC2 相对表达水平与 MMSE 评分、MoCA 评分

正相关($r=0.516,0.493,P<0.05$)。

表 1 不同认知功能 IS 患者一般资料比较
[*n*(%)或 $\bar{x}\pm s$]

项目	<i>n</i>	认知正常组 (<i>n</i> =42)	认知障碍组 (<i>n</i> =58)	χ^2/t	<i>P</i>
性别				1.184	0.276
男	42	19(45.24)	23(39.65)		
女	58	23(54.76)	35(60.35)		
年龄(岁)	100	69.71±2.20	69.22±2.15	1.114	0.268
病程(月)	100	16.50±4.33	15.00±4.59	1.651	0.102
饮酒史				0.948	0.330
有	29	10(23.81)	19(31.03)		
无	71	32(76.19)	39(67.24)		
吸烟史				1.136	0.286
有	37	13(30.95)	24(41.38)		
无	63	29(69.05)	34(58.62)		
糖尿病				2.233	0.135
有	42	14(33.33)	28(48.28)		
无	58	28(66.67)	30(51.72)		
高血压				0.711	0.399
有	43	16(38.10)	27(46.55)		
无	57	26(61.90)	31(53.45)		
高血脂				3.084	0.079
有	46	15(35.71)	31(53.45)		
无	54	27(64.29)	27(46.55)		
颈动脉粥样硬化				8.686	0.003
有	53	15(35.71)	38(65.52)		
无	47	27(64.29)	20(34.48)		
心源性血栓				2.009	0.156
有	25	10(40.00)	15(60.00)		
无	75	32(42.67)	43(57.33)		
梗死灶位置				12.802	0.046
基底节	39	15(35.71)	24(41.38)		
脑室旁	37	18(42.86)	19(32.76)		
半卵圆中心	18	8(19.05)	10(17.24)		
脑干	6	1(2.38)	5(8.62)		
梗死体积大小				0.009	0.995
小体积病灶	24	10(41.67)	14(58.33)		
中等体积病灶	59	25(42.37)	34(57.63)		
大病灶	17	7(41.18)	10(58.82)		
受教育程度				0.090	0.764
初中及以下	53	23(54.76)	30(51.72)		
高中及以下	47	19(45.24)	28(48.28)		
MMSE 评分(分)	100	28.22±2.53	22.67±2.88	10.001	<0.001

2.5 IS 患者认知功能障碍的多因素 Logistic 回归分

析 以 IS 患者认知功能(正常=0,障碍=1)为因变量,以颈动脉粥样硬化情况、梗死灶位置、高血压、糖尿病、高血脂、circSHOC2 为自变量,进行多因素 Lo-

gistic 回归分析,结果显示,颈动脉粥样硬化、梗死灶位置、circSHOC2 为 IS 患者认知功能障碍的独立危险因素($P<0.05$),见表 2。

表 2 IS 患者认知功能障碍的多因素 Logistic 回归分析

变量	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
颈动脉粥样硬化	0.667	0.330	4.077	0.043	1.947	1.020~3.718
梗死灶位置	0.691	0.212	9.612	0.001	1.995	1.317~3.023
高血压	0.070	0.240	0.086	0.770	1.073	0.670~1.717
糖尿病	0.271	0.354	0.585	0.444	1.311	0.655~2.624
高血脂	0.096	0.417	0.053	0.818	1.101	0.486~2.493
circSHOC2	1.066	0.398	7.170	0.007	2.903	1.331~6.333

3 讨 论

在发生 IS 后,大脑皮质的结构和功能受到了直接或间接的损害,造成认知功能损伤,从而出现了认知障碍,目前关于生物标志物的检测在 IS 中的诊断及病情严重程度的评估中研究较多^[9],而其与认知功能变化的相关性研究较少。本研究探究了 IS 后认知功能障碍的发生、发展机制,为临床早期预测评估提供新的思路。

circRNA 在大脑中过量表达,参与脑缺血性损伤、神经变性和神经发育等生理、病理过程的调节^[10]。如 circTLK1 作为 miR-335-3p 的海绵,抑制 miR-335-3p 活性,可导致 TIPARP 表达上调,从而导致神经元损伤恶化^[11]。circ_0025984 充当 miR-143-3p 的海绵,可间接靶向 TET1 并下调其表达,而 TET1 低表达则可能加重神经元细胞凋亡和脑损伤的程度^[12]。有研究发现,神经功能障碍患者外周血中 circUSP36 表达水平与健康体检者相比明显下降,且与 IS 的严重程度呈正相关^[13]。而 circSHOC2 作为 miR-7670-3p 的海绵,被证实可上调 SIRT1 表达,减轻神经元凋亡并改善缺血性脑损伤^[6]。本研究结果显示,IS 组血清 circSHOC2 相对表达水平低于对照组,认知障碍组血清 circSHOC2 相对表达水平低于认知正常组,且 Pearson 相关性分析结果显示,血清中 circSHOC2 相对表达水平与 MMSE 评分、MoCA 评分呈正相关,而 MMSE 评分、MoCA 评分越低,表明认知功能越差,因此提示 IS 患者血清中 circSHOC2 低表达可能促进了神经元细胞凋亡和脑部损伤,从而加重认知功能障碍^[6]。

有研究者发现,颈动脉粥样硬化、梗死灶位置均是影响 IS 后认知功能障碍的独立危险因素^[14]。本研究多因素 Logistic 回归分析结果显示,颈动脉粥样硬化、梗死灶位置、circSHOC2 水平为 IS 后认知障碍的独立危险因素。有研究结果显示,颈动脉狭窄情况与 IS 后认知障碍严重程度呈正相关^[15]。IS 后认知障碍

风险的增加与动脉粥样硬化具有相关性^[16],此外,IS 后认知障碍的发生也与左中动脉区域的梗死位置有关^[17]。circRNA 在局灶性皮质梗死后的继发性丘脑神经变性和重塑中发挥着重要的作用^[18]。有研究发现,糖尿病高血压、糖尿病、高脂血症,冠心病、MoCA 评分是 IS 的独立危险因素,这些因素可以使心脑血管疾病的风险增加 3 倍^[19-21]。

综上所述,IS 患者血清 circSHOC2 相对表达水平较低,与 IS 患者的认知功能密切相关,且是 IS 患者认知功能障碍的独立危险因素,可作为预测 IS 患者认知功能变化的参考指标。

参考文献

[1] PHIPPS M S,CRONIN C A. Management of acute ischemic stroke[J]. BMJ,2020,368(1):16983.

[2] BENJAMIN E J,MUNTNER P,ALONSO A,et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update:a report from the American Heart Association[J]. Circulation,2019,139(10):e56-e528.

[3] ZHANG X,BI X. Post-stroke cognitive impairment:a review focusing on molecular biomarkers[J]. J Mol Neurosci,2020,70(8):1244-1254.

[4] ZHOU M,WANG H,ZENG X,et al. Mortality,morbidity,and risk factors in China and its provinces,1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017[J]. Lancet,2019,394(10204):1145-1158.

[5] LIU X,WANG Q,ZHAO J,et al. Inflammation-related circRNA polymorphism and ischemic stroke prognosis [J]. J Mol Neurosci,2021,71(10):2126-2133.

[6] CHEN W,WANG H,ZHU Z,et al. Exosome-shuttled circSHOC2 from IPASs regulates neuronal autophagy and ameliorates ischemic brain injury via the miR-7670-3p/SIRT1 axis[J]. Mol Ther Nucleic Acids,2020,22: 657-672.

[7] 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,中华医学会神经病学分会神经血管介入协作组,等. 中国急性缺血性脑卒中早期血管内介入诊疗指

南 2018[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 683-691.

[8] GBD 2017 DALYs and HALE Collaborators. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 359 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 [J]. Lancet, 2018, 392 (10159): 1859-1922.

[9] ROST N S, BRODTMANN A, PASE M P, et al. Post-stroke cognitive impairment and dementia[J]. Circ Res, 2022, 130(8): 1252-1271.

[10] WANG S W, LIU Z, SHI Z S. Non-coding RNA in acute ischemic stroke: mechanisms, biomarkers and therapeutic targets[J]. Cell Transplant, 2018, 27(12): 1763-1777.

[11] WU F, HAN B, WU S, et al. Circular RNA TLK1 aggravates neuronal injury and neurological deficits after ischemic stroke via miR-335-3p/TIPARP [J]. J Neurosci, 2019, 39(37): 7369-7393.

[12] ZHOU D, HUANG Z, ZHU X, et al. Circular RNA 0025984 ameliorates ischemic stroke injury and protects astrocytes through miR-143-3p/TET1/ORP150 pathway [J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(11): 5937-5953.

[13] YANG J, HE W, GU L, et al. CircUSP36 attenuates ischemic stroke injury through the miR-139-3p/SMAD3/Bcl2 signal axis[J]. Clin Sci (Lond), 2022, 136(12): 953-971.

[14] 何森红. 缺血性脑卒中患者血清 Lp-PLA2 和 Cys-C 的表达与其认知功能变化的相关性分析[J]. 黑龙江医药科学, 2021, 44(4): 156-160.

[15] WANG Y, LI C, DING M, et al. Carotid Atherosclerotic calcification characteristics relate to post-stroke cognitive impairment[J]. Front Aging Neurosci, 2021, 13: 682908.

[16] YANG Z, WANG H, EDWARDS D, et al. Association of blood lipids, atherosclerosis and statin use with dementia and cognitive impairment after stroke: a systematic review and meta-analysis[J]. Ageing Res Rev, 2020, 57: 100962.

[17] WEAVER N A, KANCHEVA A K, LIM J S, et al. Post-stroke cognitive impairment on the Mini-Mental State Examination primarily relates to left middle cerebral artery infarcts[J]. Int J Stroke, 2021, 16(8): 981-989.

[18] LI F, LI C, LI X, et al. Altered circular RNA expression profiles in the non-ischemic thalamus in focal cortical infarction mice[J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(13): 13206-13219.

[19] 黄维, 霍秋玉, 阳世宇. 缺血性脑卒中患者血清 S100 β 及 NSE 水平与神经缺损程度、认知障碍的相关性分析[J]. 浙江医学, 2019, 41(18): 1967-1970.

[20] 朱方方, 许媛媛, 寿广丽, 等. 缺血性脑卒中脑微出血的危险因素及其与认知功能的相关性研究[J]. 蚌埠医学院学报, 2022, 47(6): 726-730.

[21] 张依, 朱娅丽, 严之红, 等. 老年缺血性脑卒中患者 VEGF 及 IMD 水平及与卒中后认知功能的关系[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(11): 1873-1876.

(收稿日期: 2023-04-16 修回日期: 2023-10-09)

(上接第 508 页)

[15] PIZZO F, MAROCCIA Z, HAMMARBERG FERRI I, et al. Role of the microbiota in lung cancer: insights on prevention and treatment[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(11): 6138.

[16] GOPALAKRISHNAN V, SPENCER C N, NEZI L, et al. Gut microbiome modulates response to anti-PD-1 immunotherapy in melanoma patients [J]. Science, 2018, 359 (6371): 97-103.

[17] HAKOZAKI T, RICHARD C, ELKRIEF A, et al. The gut microbiome associates with immune checkpoint inhibition outcomes in patients with advanced non-small cell lung cancer[J]. Cancer Immunol Res, 2020, 8(10): 1243-1250.

[18] SONG P, YANG D, WANG H, et al. Relationship between intestinal flora structure and metabolite analysis and immunotherapy efficacy in Chinese NSCLC patients [J]. Thorac Cancer, 2020, 11(6): 1621-1632.

[19] SIVAN A, CORRALES L, HUBERT N, et al. Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy [J]. Science, 2015, 350 (6264): 1084-1089.

[20] HARATANI K, HAYASHI H, CHIBA Y, et al. Association of immune-related adverse events with nivolumab efficacy in non-small-cell lung cancer [J]. JAMA Oncol, 2018, 4(3): 374-378.

[21] JIN Y, DONG H, XIA L, et al. The diversity of gut microbiome is associated with favorable responses to anti-programmed death 1 immunotherapy in Chinese patients with NSCLC [J]. J Thorac Oncol, 2019, 14(8): 1378-1389.

[22] ANDREWS M C, DUONG C, GOPALAKRISHNAN V, et al. Gut microbiota signatures are associated with toxicity to combined CTLA-4 and PD-1 blockade [J]. Nat Med, 2021, 27(8): 1432-1441.

[23] 程思远, 韩子翰, 郭晓欢, 等. 肠道菌群与肿瘤免疫治疗疗效及不良反应关系的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2022, 36(6): 520-525.

(收稿日期: 2023-05-29 修回日期: 2024-01-06)