

文章编号:1003-2754(2019)11-0977-05

急性腦出血患者血漿微小 RNA-130a 表達水平 對早期神經功能惡化的預測價值

馬劉佳, 鄭雲鋒, 康平, 胡國良

摘要: **目的** 探討急性腦出血患者(AICH)患者血漿微小 RNA-130a(miR-130a)水平與早期神經功能惡化(END)的關係。**方法** 選擇2017年1月~2019年6月在延安大學附屬醫院神經外科治療的145例AICH患者納入研究,以入院3d內美國國立衛生研究院腦卒中量表(NIHSS)運動評分項增加 ≥ 1 分或NIHSS總分增加 ≥ 2 分為標準將AICH患者分為END組和非END組,另選擇50例健康體檢者作為對照組,採用實時熒光定量PCR(RT-qPCR)法檢測所有研究對象血漿miR-130a表達水平。**結果** END組和非END組血漿miR-130a表達水平均高於對照組,END組高於非END組,差異均具有統計學意義(均 $P < 0.001$)。Logistic回歸分析結果顯示高血漿miR-130a表達水平是AICH患者發生END的獨立危險因素($OR = 1.566; 95\% CI 1.228 \sim 1.997; P = 0.002$)。ROC曲線分析結果顯示:血漿miR-130a預測END的曲線下面積(AUC)為0.884(0.815,0.953),對應的靈敏度和特異度分別為75.8%和88.4%。**結論** 血漿miR-130a水平是AICH患者發生END的獨立預測因子。

關鍵詞: 急性腦出血; 微小核糖核酸-130a; 早期神經功能惡化

中圖分類號:R743.34

文獻標識碼:A

開放科學(資源服務)標識碼(OSID):



Correlation of plasma microRNA-130a and early neurological deterioration in patients with acute intracerebral hemorrhage MA Liuja, ZHENG Yunfeng, KANG Ping, et al. (Department of Neurosurgery, Affiliated Hospital of Yan'an University, Shaanxi Yan'an, 716000)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between plasma microRNA-130a (miR-130a) and early neurological deterioration (END) in patients with acute intracerebral hemorrhage (AICH). **Methods** 145 patients with AICH in our hospital from January 2017 to June 2019 were recruited in this study. These patients were divided into END group and non-END group according to with or without END. Meanwhile, 50 healthy volunteers also were selected as control. Plasma miR-130a level was detected by real time quantitative PCR. **Results** Plasma miR-130a levels in END group and non-END group were significantly higher than that in control group, and plasma miR-130a level in END group was significantly higher than that in non-END group (all $P < 0.05$). The results of multivariate logistic regression analysis showed that high plasma miR-130a level was independent risk factor for END ($OR = 1.566, 95\% CI 1.228 \sim 1.997, P = 0.002$). Based on the ROC curve, the area under the ROC curve was 0.884 (0.815, 0.953) of plasma miR-130a in prediction of END. The sensitivity and specificity of plasma miR-130a in prediction of END in patients with AICH were 75.8% and 88.4%, respectively. **Conclusion** Plasma miR-130a is an independent predictor of END in patients with AICH.

Key words: Acute intracerebral hemorrhage; MicroRNA-130a; Early neurological deterioration

急性腦出血(acute intracerebral hemorrhage, AICH)是神經外科最常見的急危重症之一,起病快,病程不穩定,臨床致殘率和死亡率較高。早期神經功能惡化(early neurological deterioration, END)是腦出血早期常見的併發症,是指部分患者即使接受積極治療,但神經功能持續惡化。越來越多研究證據證實腦出血患者END與預後不良密切相關^[1~3]。因此,尋找準確性高的END早期預測因子,及時採取針對性治療,降低END發病率,對改善腦出血患者生活質量,減少家庭社會負擔具有重要意義。微

小核糖核酸(micro ribonucleic acids, miRNAs)是一類廣泛存在於真核生物體內的非編碼小RNA,一般長約22 nt,與神經系統發育及功能均密切相關^[4,5]。近年來,大量研究發現多種miRNAs可能參與腦出血發生及病情進展過程,miR-130a即是其中之一^[6~8]。然而關於AICH患者血漿miR-130a表

收稿日期:2019-09-11; 修訂日期:2019-10-13

基金項目:陝西省社會發展科技攻關項目(No. 2016SF-306)

作者單位:(延安大學附屬醫院神經外科,陝西延安716000)

通訊作者:胡國良, E-mail: sherosily@163.com

达水平与 END 关系的研究鲜有报道。本研究拟通过检测 AICH 患者血浆 miR-130a 表达水平,分析其与 END 的关系,旨在为临床工作中 END 的早期预测和干预治疗提供帮助。

1 对象与方法

1.1 研究对象 本研究通过延安大学附属医院伦理委员会审核批准,连续性选择 2017 年 1 月 ~ 2019 年 6 月在本院神经外科住院治疗的自发性基底节区 AICH 患者纳入研究。入组标准:①年龄 > 18 岁;②AICH 系首次发病,诊断符合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制定的《中国脑出血诊治指南(2014)》^[9],并经头颅 CT 检查确诊为基底节区脑出血;③发病到入院时间 < 12 h;④入院时无昏迷症状。排除标准:①继发性脑出血患者,包括外伤,动脉瘤,动静脉畸形,动静脉瘘,烟雾病等导致的脑出血;②住院不满 72 h 出院的患者;③发病 72 h 内行手术治疗的,包括颅内血肿清除术、侧脑室引流术、脑脊液引流术等;④ 1 m 内诊断颅内感染的患者;⑤伴有其他系统严重疾病,如严重肝肾疾病,恶性肿瘤,内分泌系统疾病,血液系统疾病,风湿免疫系统疾病等;⑥妊娠期女性。本研究纳入 AICH 患者共 145 例,包括男 82 例,女 63 例,平均年龄(57.15 ± 9.80)岁。另外,随机选择同期在我院体检的 50 例健康志愿者作为对照组,其中包括男 30 例,女 20 例,平均年龄(56.44 ± 10.05)岁。

1.2 方法

1.2.1 END 的定义及分组 所有 AICH 患者于入院时采用美国国立卫生研究院脑卒中量表(national institutes of health stroke scale,NIHSS)进行评分,并在入院 3 d 内根据病情变化至少再次行 NIHSS 评分 1 次。本研究定义 END 为与入院时 NIHSS 基线评分相比,入院 3 d 内 NIHSS 运动评分项增加 ≥ 1 分或 NIHSS 总分增加 ≥ 2 分,并以此将 AICH 患者分为 END 组和非 END 组。

1.2.2 血浆 miR-130a 检测 采用含 EDTA 的离心管采集外周静脉血,1600 r/min 离心 15 min 后使用含 EDTA 的离心管留取上清液,再 4℃ 条件下 15000 r/min 离心 15 min,使用无 RNA 酶的冻存管

收集上清液,置于 -80℃ 冰箱保存备用。采用普洛麦格(北京)生物技术有限公司的 Eastep™ 总 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,采用实时荧光定量 PCR(real time fluorescence quantitative polymerase chain reaction,qRT-PCR)法检测血浆 miR-130 按照使用说明书进行。

1.2.3 其他参数采集 收集所有入组研究对象的相关临床资料,主要包括患者性别,年龄,体重指数(body mass index,BMI),吸烟史,既往高血压、糖尿病、高脂血症、症状性脑梗死、冠心病、心房颤动等疾病史及用药史,入院时体温、收缩压(systolic blood pressure,SBP)、舒张压(diastolic blood pressure,DBP)、随机血糖,以及白细胞计数、血小板计数、血红蛋白、凝血酶原时间(prothrombin time,PT)、活化部分凝血酶原时间(activated partial thromboplastin time,APTT)及纤维蛋白原等血液化验指标。所有 AICH 患者入院后即刻完成头颅 CT 检查(美国 GE 公司 64 排螺旋 CT),并于发病 48 h 内至少复查 1 次头颅 CT,血肿体积计算、血肿破入脑室及血肿扩大判定均由至少 2 名医师独立评估。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件分析处理,符合正态分布和方差齐性检验的计量资料结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用方差分析,组间两两均数比较用 SNK-q 检验,两组均数比较采用 *t* 检验;不符合正态分布或方差齐性检验的计量资料结果以四分位数法表示,多组间均数比较采用 Kruskal-Wallis 检验,两组均数比较采用 Wilcoxon 检验。计数资料结果以构成百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验。多因素分析采用 Logistic 回归分析法。特异性和敏感性分析采用 ROC 分析法。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般临床指标比较 如表 1, AICH 患者(END 组和非 END 组)与对照组患者比较,在高血压,降压药使用,入院时收缩压、舒张压等方面差异具有统计学意义(均 *P* < 0.05);END 组和非 END 组比较,END 组入院时 NIHSS 评分,血肿体积,出血破入脑室及血肿扩大比率均大于非 END 组(均 *P* < 0.05)。

2.2 各组血浆 miR-130a 表达水平比较 END 组,非 END 组和对照组血浆 miR-130a 表达水平分别为 4.82(4.05,6.93),3.22(2.75,5.08)和 1.02(0.85,1.40),END 组和非 END 组均高于对照组,END 组高于非 END 组,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.001$)。

2.3 END 的危险因素分析 见表 2,以是否发

生 END 为因变量,以单因素分析 $P < 0.05$ 的变量,包括入院时 NIHSS 评分,血肿体积,出血破入脑室,血肿扩大及血浆 miR-130a 等为自变量,采用 Logistic 回归分析结果显示高血浆 miR-130a 表达水平 ($OR = 1.566; 95\% CI 1.228 \sim 1.997; P = 0.002$)和血肿扩大 ($OR = 2.581; 95\% CI 2.056 \sim 3.242; P = 0.000$)均是 AICH 患者发生 END 的独立危险因素。

表 1 各组一般临床指标比较

项目	END 组 (n = 33)	非 END 组 (n = 112)	对照组 (n = 50)	F/t/ χ^2	P
年龄(岁)	57.82 ± 10.16	56.95 ± 9.71	56.44 ± 10.05	0.194	0.823
男性[n(%)]	20(60.61)	62(55.36)	30(60.00)	0.468	0.791
BMI(kg/m ²)	25.16 ± 3.07	24.89 ± 2.94	24.84 ± 2.99	0.132	0.877
吸烟史[n(%)]	11(33.33)	30(26.79)	11(22.00)	1.308	0.520
高血压[n(%)]	24(72.73)	82(73.21)	25(50.00)ab	9.003	0.011
糖尿病[n(%)]	6(18.18)	13(11.61)	5(10.00)	1.353	0.508
高脂血症[n(%)]	13(39.39)	43(38.39)	15(30.00)	1.204	0.548
症状性脑梗死[n(%)]	3(9.09)	8(7.14)	2(4.00)	0.924	0.630
冠心病[n(%)]	4(12.12)	13(11.61)	4(8.00)	0.544	0.762
心房颤动[n(%)]	3(9.09)	9(8.04)	1(2.00)	2.399	0.301
既往用药史[n(%)]					
降压药	21(63.64)	72(64.29)	21(42.00) ^b	7.508	0.023
降糖药	6(18.18)	12(10.71)	4(8.00)	2.144	0.342
降血脂药	13(39.39)	27(24.11)	17(34.00)	3.619	0.164
抗血小板药	11(33.33)	23(20.54)	14(28.00)	2.665	0.264
抗凝药	1(3.03)	3(2.68)	0.000	1.424	0.491
入院时体温(℃)	36.77 ± 0.44	36.79 ± 0.39	36.81 ± 0.45	0.095	0.909
入院时 SBP(mmHg)	150.70 ± 22.08	154.29 ± 17.93	142.74 ± 18.52 ^b	6.509	0.002
入院时 DBP(mmHg)	93.67 ± 12.72	92.80 ± 10.74	84.55 ± 10.18ab	11.130	0.000
入院时随机血糖(mmol/L)	7.62 ± 3.20	6.49 ± 2.91	6.29 ± 3.05	2.256	0.108
入院时 NIHSS 评分(分)	14.50(8.50,20.00)	8.50(4.00,17.50) ^a	-	3.967	0
血红蛋白(g/L)	137.25 ± 18.89	134.87 ± 17.87	134.11 ± 19.70	0.306	0.739
白细胞计数(×10 ⁹ /L)	10.23 ± 3.38	9.28 ± 3.10	8.38 ± 3.27 ^a	3.403	0.035
血小板计数(×10 ⁹ /L)	244.57 ± 41.02	235.40 ± 38.81	240.45 ± 40.78	0.781	0.458
PT(s)	12.32 ± 0.74	12.03 ± 0.66	12.15 ± 0.71	2.419	0.092
APTT(s)	27.72 ± 6.20	28.19 ± 5.57	27.05 ± 7.22	0.609	0.548
纤维蛋白原(g/L)	3.32 ± 1.08	3.14 ± 0.90	3.19 ± 1.15	0.413	0.661
血肿体积(ml)	23.60(14.30,36.50)	15.50(4.60,20.80) ^a	-	3.094	0.002
破入脑室[n(%)]	20(60.61)	34(30.36) ^a	-	9.979	0.002
血肿扩大[n(%)]	18(54.55)	23(20.54) ^a	-	14.537	0.000

注:a $P < 0.05$,vs END 组,b $P < 0.05$,vs 非 END 组

表 2 END 的危险因素分析

变量	B	SE	Wals	OR	95% CI	P
miR-130a	0.449	0.124	13.07	1.566	(1.228 ~ 1.997)	0.002
血肿扩大	0.948	0.116	66.56	2.581	(2.056 ~ 3.242)	0.000

2.4 血浆 miR-130a 对 END 的预测价值 如图 1, 绘制血浆 miR-130a 预测 AICH 患者发生 END 的 ROC 曲线, AUC 为 0.884 (0.815, 0.953), 按照约登指数最大原则, cut-off 值为 4.05, 对应的敏感性和特异性分别为 75.8% 和 88.4%。

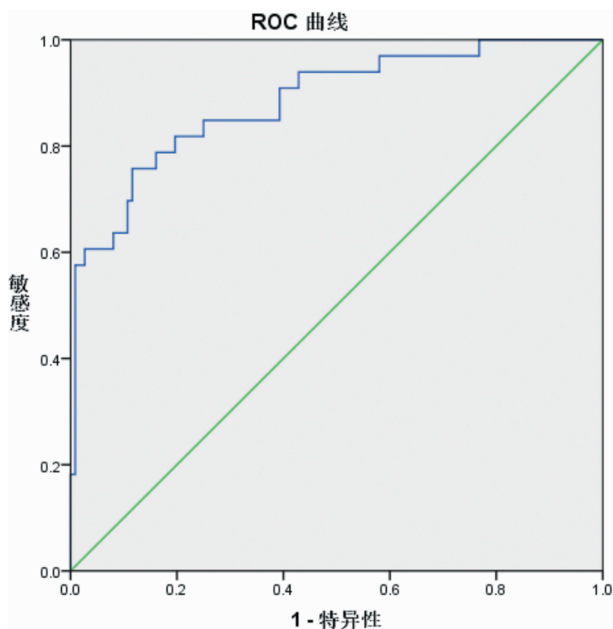


图 1 血浆 miR-130a 对 END 的预测价值

3 讨论

END 是卒中患者早期最常见的并发症之一, 发生率约在 20% ~ 40% 左右, 本研究 145 例 AICH 患者共 33 例发生 END, 发生率为 22.76%, 与既往研究报道一致^[3]。越来越多研究结果证实 END 与 AICH 患者预后密切相关, 早期准确预测, 及时针对性干预, 对降低患者死亡率和致残率具有重要意义^[1-3]。因此, 近年来对于 END 危险因素的研究国内外学者进行了大量报道, 先后发现基质金属蛋白-9、高敏 C-反应蛋白、瘦素、出血破入脑室、血肿扩大等指标对

END 具有一定预测价值^[10-13], 但由于缺乏统一的 END 诊断标准, 研究对象纳入排除标准亦存在差异, 导致多数研究结果彼此差别较大, 甚至完全相反, 限制其临床推广应用。

MiRNAs 可通过调控基因表达, 广泛参与机体细胞增殖、分化、凋亡、代谢等病理生理过程。长期以来, miRNAs 研究主要集中在肿瘤学领域, 大量研究证据显示 miRNAs 在多种肿瘤疾病的发生发展进程中起到至关重要作用^[14,15]。近年来, 有研究发现 miRNAs 与神经系统发育及功能密切相关, 多种 miRNAs 可能参与脑血管病发病及病情进展, 与早期预后相关^[4,5]。Liu 等^[16]发现脑出血大鼠动物模型脑组织 miRNAs 表达水平较对照组存在显著差异, 且外周血与脑组织呈近乎平行的 miRNAs 表达谱, 提示外周血 miRNAs 水平对脑出血早期病理状态具有一定评估价值。Sepramaniam 等^[17]在脑缺血大鼠模型中发现 miR-320a 可通过抑制水通道蛋白-1, 4 表达以扩大局部脑水肿程度。Tan 等^[18]发现 miR-21 和 miR-181b 可通过调控靶基因基质金属蛋白-9 表达, 促进血脑屏障破坏, 影响早期预后。这些研究结果表明 miRNAs 可能参与脑出血早期病理改变, 与 END 发病密切相关。因此, 继续探索 miRNAs 对 END 的预测作用, 有助于进一步揭示 miRNAs 参与 END 的分子生物学机制。

Wang 等^[6]研究发现 AICH 患者血浆 miR-130a 表达水平显著升高, 与血肿周边水肿体积呈正相关关系, 并对脑深部脑出血患者预后具有一定预测价值。此外, 该研究还在大鼠动物模型中发现血肿周边脑组织和血清中 miR-130a 表达水平均明显上升, 与 Liu 等研究结论相互验证; 并指出 miR-130a 可作用于小凹蛋白-1/基质金属蛋白-2, -9 通路影响血脑屏障通透性, 抑制 miR-130a 表达可明显改善血脑屏

障通透性,减轻脑水肿程度,提高动物行为学评分,为临床治疗提供新思路。本研究结果显示 AICH 患者血浆 miR-130a 表达水平显著高于对照组,与既往文献报道一致,再次提示 miR-130a 可能参与 AICH 患者早期病情变化过程,有充分理由推测血浆 miR-130a 表达水平与 END 发病密切相关。进一步比较 END 组和非 END 组血浆 miR-130a 表达水平,结果显示 END 组表达水平明显高于非 END 组,多因素分析结果也表明血浆 miR-130a 升高是 END 发病的独立危险因素,ROC 曲线分析结果显示血浆 miR-130a 预测 END 的 AUC 为 0.884(0.815,0.953),证实了本研究前期推测,表明血浆 miR-130a 表达水平对 END 具有较高的预测价值。另外,需指出本研究 cut-off 值对应的敏感性和特异性分别为 75.8% 和 88.4%,建议临床预测 END 时仍需参考其他参数,提高预测准确性。

综上所述,本研究发现血浆 miR-130a 表达水平与 AICH 患者 END 密切相关,有可能成为早期预测 AICH 患者发生 END 的新指标。本研究仍存在不足之处:首先,作为单中心小样本研究,本研究所得到的结果可能与真实世界存在偏差,有待进一步研究证实;其次,限于条件本研究未就 AICH 患者急性期及恢复期血浆 miR-130a 水平进行动态监测;最后,miR-130a 参与 END 发病的具体生物学机制尚不明确,期待后续研究继续深入探讨。

[参考文献]

- [1] Lord AS, Gilmore E, Choi HA, et al. Time course and predictors of neurological deterioration after intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2015,46(3):647-652.
- [2] Rodriguezluna D, Coscojuela P, Rubiera M, et al. Ultraearly hematoma growth in active intracerebral hemorrhage[J]. *Neurology*, 2016, 87(4):357-364.
- [3] 王星辰,杨文松,李 瑞,等. 急性脑出血早期神经功能恶化与预后相关性研究[J]. *第三军医大学学报*,2018(12):1120-1124.
- [4] Fiorenza A, Barco A. Role of Dicer and the miRNA system in neuronal plasticity and brain function[J]. *Neurobiol Learn Mem*,2016, 135(11):3-12.
- [5] 李芳芳,赵海苹,罗玉敏. MicroRNA-494 参与多种神经系统疾病发生发展的分子机制研究进展[J]. *中风与神经疾病杂志*,2018, 35(2):181-183.
- [6] Wang MD, Wang Y, Xia YP, et al. High plasma MiR-130a Levels Are Associated with Severe Perihematomal Edema and Predict Adverse Outcome in Acute ICH[J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(2):1310-1321.
- [7] Yang Z, Zhong L, Xian R, et al. MicroRNA-223 regulates inflammation and brain injury via feedback to NLRP3 inflammasome after intracerebral hemorrhage[J]. *Mol Immunol*, 2015, 65(2):267-276.
- [8] Wang Z, Lu G, Sze J, et al. Plasma miR-124 Is a Promising Candidate Biomarker for Human Intracerebral Hemorrhage Stroke[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(7):5879-5888.
- [9] 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. 中国脑出血诊治指南(2014)[J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(6):435-444.
- [10] Du Q, Yang DB, Shen YF, et al. Plasma leptin level predicts hematoma growth and early neurological deterioration after acute intracerebral hemorrhage[J]. *Peptides*, 2013, 45(7):35-39.
- [11] 张晓浩,马 楠,邱忠明,等. 老年基底节区脑出血早期神经功能恶化与预后的相关因素分析[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2014, 16(11):1178-1181.
- [12] 张晓浩,段作伟,刘德志,等. 血清 C 反应蛋白和基底节区脑出血早期神经功能恶化的相关性分析[J]. *医学研究生学报*, 2014(12):1277-1280.
- [13] 巩法桃,于立萍,李姗姗,等. 超早期强化降压对脑出血血肿扩大、血浆基质金属蛋白酶-9 及神经功能的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2016, 26(6):32-36.
- [14] Li Y, Cai B, Shen L, et al. MiRNA-29b suppresses tumor growth through simultaneously inhibiting angiogenesis and tumorigenesis by targeting Akt3[J]. *Cancer Lett*, 2017, 397(7):111-119.
- [15] Jin X, Chen Y, Chen H, et al. Evaluation of tumor-derived exosomal miRNA as potential diagnostic biomarkers for early stage non-small-cell lung cancer using next-generation sequencing[J]. *Clin Cancer Res*, 2017, 23(17):5311-5319.
- [16] Liu DZ, Tian Y, Ander BP, et al. Brain and blood microRNA expression profiling of ischemic stroke, intracerebral hemorrhage, and kainate seizures[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2010, 30(1):92-101.
- [17] Sepramaniam S, Armugam A, Lim KY, et al. MicroRNA 320a Functions as a Novel Endogenous Modulator of Aquaporins 1 and 4 as Well as a Potential Therapeutic Target in Cerebral Ischemia[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(38):29223-29230.
- [18] Tan JR, Koo YX, Kaur P, et al. microRNAs in stroke pathogenesis[J]. *Curr Mol Med*, 2011, 11(2):76-92.