

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.17.022

血清 miR-219 水平与急性缺血性脑卒中后轻度认知功能障碍的关系

李雪媛,常红,邢惠娟,刘晓琳

辽宁省大连市第三人民医院神经内科一病房,辽宁大连 116033

摘要:**目的** 检测 miR-219 在急性缺血性脑卒中(AIS)患者血清中的水平,探讨 miR-219 与 AIS 后轻度认知功能障碍的关系。**方法** 选择 2018 年 11 月至 2019 年 10 月在该院神经内科住院的 AIS 患者 185 例为研究对象,按照认知功能评价分为轻度认知功能障碍组和无认知功能障碍组。另选取体检健康者 170 例作为对照组,采用实时荧光定量 PCR 检测各组研究对象血清中 miR-219 水平,用二分类 Logistic 回归分析影响 AIS 患者发生轻度认知功能障碍的危险因素,用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-219 水平对 AIS 患者发生轻度认知功能障碍的预测价值。**结果** 185 例 AIS 患者中,有轻度认知功能障碍 95 例,无认知功能障碍 90 例。轻度认知功能障碍组糖尿病比例明显高于无认知功能障碍组,差异有统计学意义($P<0.05$);对照组、无认知功能障碍组、轻度认知功能障碍组 AIS 患者血清 miR-219 水平依次升高,两两比较,差异有统计学意义($P<0.05$);二分类 Logistic 回归分析显示,糖尿病、血清 miR-219 水平高是 AIS 患者发生轻度认知功能障碍的独立危险因素;ROC 曲线分析结果显示,血清 miR-219 水平预测 AIS 患者发生轻度认知功能障碍的 ROC 曲线下面积为 0.818,最佳截断值为 1.34。**结论** miR-219 在 AIS 患者血清中明显高表达,是影响 AIS 后轻度认知功能障碍发生的危险因素,对其有一定预测价值。

关键词:miR-219; 急性缺血性脑卒中; 轻度; 认知功能障碍

中图分类号:R743.33

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)17-2541-04

Relationship between serum miR-219 level and mild cognitive impairment after acute ischemic stroke

LI Xueyuan, CHANG Hong, XING Huijuan, LIU Xiaolin

First Department of Neurology, Dalian Municipal Third People's Hospital, Dalian, Liaoning 116033, China

Abstract:**Objective** To detect the level of miR-219 in the serum of patients with acute ischemic stroke (AIS), and to explore the relationship between miR-219 and mild cognitive impairment after AIS. **Methods** A total of 185 AIS patients admitted to the department of neurological in Dalian Municipal Third People's Hospital from November 2018 to October 2019 were selected and divided into mild cognitive impairment group and non-cognitive impairment group according to the cognitive function evaluation. Other 170 healthy persons undergoing the physical examination were selected as control group. The level of serum miR-219 in all subjects was detected by qRT-PCR. The dualistic Logistic method was used to analyze the risk factors affecting the AIS patients to develop mild cognitive impairment, and the receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the predictive value of serum miR-219 level for mild cognitive impairment occurrence in AIS patients. **Results** There were 95 cases with mild cognitive impairment and 90 cases with non-cognitive impairment among 185 AIS patients. The proportion of diabetes mellitus in mild cognitive impairment group was significantly higher than that in non-cognitive impairment group ($P<0.05$). The level of serum miR-219 in control group, non-cognitive impairment group and mild cognitive impairment group increased in turn ($P<0.05$). The dualistic Logistic regression analysis showed that diabetes mellitus and high serum miR-219 level were the independent risk factors for mild cognitive impairment occurrence in AIS patients. The ROC curve analysis results showed that the area under ROC curve of serum miR-219 for predicting the mild cognitive impairment occurrence in AIS patients was 0.818, and the best cutoff value was 1.34. **Conclusion** miR-219 highly expresses in the serum of AIS patients, which is a risk factor affecting mild cognitive impairment occurrence, and has certain diagnostic value for mild cognitive impairment occurrence in AIS patients.

作者简介:李雪媛,女,主治医师,主要从事神经内科、缺血性脑血管病方面的研究。

本文引用格式:李雪媛,常红,邢惠娟,等.血清 miR-219 水平与急性缺血性脑卒中后轻度认知功能障碍的关系[J].检验医学与临床,2021,18(17):2541-2544.

Key words: miR-219; acute ischemic stroke; mild; cognitive impairment

急性缺血性脑卒中(AIS)是最常见的卒中类型,占我国脑卒中的 69.6%~70.8%^[1]。轻度认知功能障碍是介于正常衰老和痴呆(AD)之间的一种中间状态,其发病率随年龄增长而升高^[2]。AIS 常伴有认知功能障碍甚至痴呆。miRNAs 是一类由内源基因编码的由 22~25 个核苷酸组成的单链非编码小分子 RNA,在体内发挥多种生物学功能,可作为进行性疾病诊断与预后判断的重要生物标志物。研究表明,miRNAs 与 AIS 患者认知功能障碍严重程度有关^[3]。miR-219 是一种常见的 miRNAs,研究表明,肾脏纤维化患者血清中 miR-219 水平明显降低^[4]。miR-219 在 AIS 患者中的研究报道不多,本研究采用实时荧光定量 PCR 检测 185 例 AIS 患者血清中 miR-219 情况,探讨 miR-219 与 AIS 患者轻度认知功能障碍的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2018 年 11 月至 2019 年 10 月在本院神经内科住院的 185 例 AIS 患者为研究对象,其中男 100 例,女 85 例;年龄 46~69 岁,平均(55.6±7.9)岁。AIS 患者按照认知功能评价分为轻度认知功能障碍组和无认知功能障碍组。纳入标准:(1)符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》^[1]中 AIS 的诊断标准;(2)发病至入院就诊时间<24 h;(3)进行 1.5T 或 3.0MRI 检查;(4)患者自愿参与本研究,并签署知情同意书,能完成临床记录者。排除标准:(1)有重度认知功能障碍;(2)合并其他心血管疾病;(3)有恶性肿瘤;(4)临床资料不全。另选取体检健康者 170 例作为对照组,其中男 92 例,女 78 例;年龄 46~69 岁,平均(60.1±8.8)岁。

1.2 仪器与试剂 Trizol 抽提试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;反转录试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司;AceQ qPCR SYBR[®] Green Mix 购自南京 Vazyme 生物科技股份有限公司;miR-219 及 U6 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计与合成。实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 血清样品:采集 AIS 患者与健康体检者空腹静脉血 5 mL,常温 3 000 ×g 离心 10 min 后收集血清,置于一 80 °C 冰箱保存备用。

1.3.2 认知功能的判断 由神经内科医生对所有研究对象进行认知功能评价。轻度认知功能障碍判断标准:参考田金洲主编的《中国痴呆诊疗指南(2017 年)》中有关轻度认知障碍的诊断标准,并运用简易精神状态检查表(MMSE)、蒙特利尔认知评估量表(Mo-CA)^[5]、日常生活功能量表(ADL)等进行认知功能测评。根据认知功能评价将 AIS 患者分为轻度认知功

能障碍组和无认知功能障碍组。

1.3.3 实时荧光定量 PCR 检测血清 miR-219 水平 采用 Trizol 抽提试剂盒提取血清中总 RNA,采用反转录试剂盒获得 cDNA。采用实时荧光定量 PCR 检测各组研究对象血清中 miR-219 水平。采用实时荧光定量 PCR 仪对 miR-219 进行扩增。miR-219 正向引物:5'-CCGCCCCGGGCCGCGGCUC-3',反向引物:5'-GCCCCAAACCUCGAGCGGG-3';内参 U6 正向引物:5'-GCAGTGCTTAGCTGGTTGT-3',反向引物:5'-GCGAGCACAGAATTAATACGAC-3'。实时荧光定量 PCR 反应体系共 20 μL: AceQ qPCR SYBR[®] Green Mix 8 μL, cDNA (50 ng/μL) 2 μL,上下游引物(10 μmol/L)各 1 μL, ddH₂O 8 μL。反应条件:95 °C 45 s, 95 °C 45 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s, 40 个循环。采用 2^{-ΔΔCt} 法对血清 miR-219 水平进行定量分析,重复 3 次取平均值。

1.3.4 其他临床资料收集 对所有研究对象进行三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、空腹血糖(FPG)检测,并收集高血压病史、饮酒史、吸烟史等临床资料。中国缺血性脑卒中亚型(CISS)分型参考文献[6]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两组间比较采用 LSD-*t* 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;将单因素分析中 $P < 0.2$ 的变量进一步纳入二分类 Logistic 回归分析;采用受试者工作特征(ROC)曲线分析血清 miR-219 水平对 AIS 患者发生认知功能障碍的预测价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组研究对象一般情况比较 185 例 AIS 患者中有轻度认知功能障碍 95 例,无认知功能障碍组 90 例。轻度认知功能障碍组中糖尿病比例明显高于无认知功能障碍组,差异有统计学意义($P < 0.05$);轻度认知功能障碍组和无认知功能障碍组性别,年龄,有吸烟、饮酒史比例,有高血压、冠心病、脑卒中、心肌梗死基础疾病比例,CISS 分型比例比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 各组研究对象血清中 TG、TC、HDL-C、LDL-C、FPG、miR-219 水平比较 轻度认知功能障碍组、无认知功能障碍组血清中 miR-219 水平明显高于对照组,且轻度认知功能障碍组血清中 miR-219 水平明显高于无认知功能障碍组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 3 组间血清中 TG、TC、HDL-C、LDL-C、

FPG 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 1 各组研究对象一般情况比较

组别	<i>n</i>	男[<i>n</i> (%)]	年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	吸烟[<i>n</i> (%)]	饮酒[<i>n</i> (%)]
有轻度认知功能障碍组	95	53(55.8)	59.6±10.5	45(47.4)	51(53.7)
无认知功能障碍组	90	47(52.2)	61.2±11.3	37(41.1)	37(41.1)
对照组	170	92(54.1)	60.1±11.8	68(40.0)	75(44.1)
χ^2/F		0.237	0.487	1.421	3.367
<i>P</i>		0.888	0.615	0.492	0.186

组别	<i>n</i>	基础疾病[<i>n</i> (%)]					CISS 分型[<i>n</i> (%)]				
		高血压	糖尿病	冠心病	脑卒中	心肌梗死	大动脉粥样硬化	心源性卒中	穿支动脉病变	其他原因	不明原因
有轻度认知功能障碍组	95	54(56.8)	40(42.1)	32(33.7)	28(29.5)	7(7.4)	55(57.9)	15(15.8)	17(17.9)	6(6.3)	2(2.1)
无认知功能障碍组	90	42(46.7)	25(32.2)	23(25.6)	21(23.3)	3(3.3)	50(55.6)	16(17.8)	21(23.3)	2(2.2)	1(1.1)
对照组	170	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
χ^2/F		1.917	4.163	1.462	0.898	1.472			2.892		
<i>P</i>		0.166	0.041	0.227	0.344	0.225			0.576		

注:—表示无数据。

表 2 各组研究对象血清中 TG、TC、HDL-C、LDL-C、FPG、miR-219 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)	FPG (mmol/L)	miR-219
轻度认知功能障碍组	95	1.47±0.81	4.51±0.75	1.35±0.48	2.43±0.48	4.93±1.03	1.31±0.18* [#]
无认知功能障碍组	90	1.53±0.78	4.25±0.81	1.41±0.39	2.39±0.39	5.13±1.20	1.25±0.19*
对照组	170	1.38±0.83	4.32±0.78	1.29±0.37	2.51±0.45	5.08±1.15	1.12±0.15
<i>F</i>		1.080	2.862	2.628	2.409	0.817	42.987
<i>P</i>		0.341	0.058	0.074	0.091	0.443	<0.001

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与无认知功能障碍组比较,[#] $P<0.05$ 。

2.3 AIS 患者发生轻度认知功能障碍的影响因素分析 将单因素分析中 $P<0.2$ 的变量进一步纳入二分类 Logistic 回归分析,结果显示,糖尿病、血清 miR-219 水平高是 AIS 患者发生轻度认知功能障碍的独立危险因素,见表 3。

表 3 AIS 患者发生轻度认知障碍的影响因素分析

变量	β	Wald	OR	95%CI	<i>P</i>
饮酒	0.323	0.357	1.381	0.479~3.990	0.550
高血压	0.456	0.334	1.578	0.336~7.408	0.563
糖尿病	0.479	5.064	1.615	1.064~2.452	0.024
miR-219	0.761	4.452	2.142	1.056~4.346	0.034

2.4 血清 miR-219 水平对 AIS 患者发生轻度认知障碍的预测价值 血清 miR-219 水平预测 AIS 患者发生轻度认知功能障碍的 ROC 曲线下面积为 0.818(95%CI:0.755~0.871),最佳截断值为 1.34,灵敏度为 68.42%,特异度为 82.22%,见图 1。

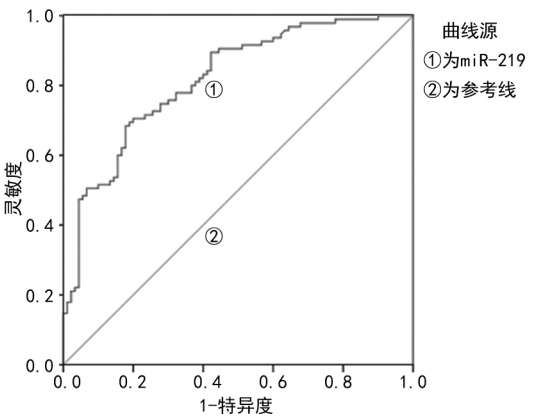


图 1 血清 miR-219 水平预测 AIS 患者发生轻度认知障碍的 ROC 曲线分析

3 讨论

AIS 患者认知功能障碍主要与血管闭塞或血流量减少导致脑细胞缺乏氧气和营养有关。AIS 患者认知功能障碍是受多基因调控的过程,涉及多种信号转导途径、多种细胞因子的变化^[7-8]。miRNAs 是一类真核生物内源性小分子单链 RNA,通过与靶基因

mRNA 的 3'端非编码区特异性结合,参与神经系统不同信号通路基因调控,在学习与记忆功能中起重要作用,也用于血管性痴呆患者早期诊断^[9]。袁梅等^[10]研究结果表明,AIS 患者血清 miR-335 水平明显下降,与脑卒中后患者病情密切相关。谢尊椿等^[11]研究表明,AIS 患者血浆 miR-124 水平明显降低,其水平与脑梗死面积及美国国立卫生研究所脑卒中评分(NIHSS)呈负相关。由此可见,多种 miRNAs 与 AIS 病情进展有关。

miR-219 是常见的 miRNA 之一,广泛存在于各种细胞、组织中。多项研究表明,miR-219 在多种病变组织、肿瘤中均异常表达,参与多种信号通路,进而抑制癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力,可作为多种疾病早期诊断、治疗靶点或预后监测的指标^[12-13]。本研究结果表明,miR-219 在 AIS 患者血清中高表达,提示 miR-219 可能与 AIS 发病有关。本研究结果表明,轻度认知功能障碍组 AIS 患者血清中 miR-219 水平明显高于无认知功能障碍组,表明 miR-219 水平可能与 AIS 患者发生轻度认知功能障碍有关。

AIS 患者认知功能障碍发生机制较复杂,但血清中一些标志物的变化可为早期诊断及治疗提供参考。一般认为,血液循环中的 miRNA 主要来源于体内凋亡或坏死的细胞,或者来源于细胞的主动释放及循环细胞的裂解等。miRNA 可以通过血脑屏障,脑组织中 miRNA 水平与血清中 miRNA 水平变化是一致的。miR-219 可能来源于受损的脑组织,有望通过检测血清中 miR-219 水平预测 AIS 的发生与进展。缺血性脑卒中是脑卒中中最常见的类型,不健康的生活方式,如吸烟、饮酒等因素,以及高血压、糖尿病等基础疾病因素可能均影响脑卒中的发生、发展。本研究分析发现,糖尿病、血清 miR-219 水平高是 AIS 患者发生轻度认知功能障碍的独立危险因素,提示有上述因素 AIS 患者发生轻度认知功能障碍风险较高。进一步研究发现,血清 miR-219 水平预测 AIS 患者发生轻度认知功能障碍的 ROC 曲线下面积为 0.818,最佳截断值为 1.34,提示血清 miR-219 水平对于 AIS 患者发生轻度认知功能障碍有一定预测价值。

综上所述,miR-219 在 AIS 患者血清中高表达,且在有轻度认知功能障碍的 AIS 患者血清中表达更高,对 AIS 患者发生轻度认知功能障碍有一定预测价值。由于本研究临床资料少,miR-219 在 AIS 患者认知功能障碍发生过程中的具体作用机制尚未明确,仍需进一步研究。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 丁珂,洪震.老年性痴呆和轻度认知功能障碍的流行病学研究进展[J].中国临床神经科学,2013,21(1):108-115.
- [3] 郭万申,李志方.miRNAs 及血清神经元 PAS 结构域蛋白 4、神经元特异性烯醇化酶、S100 β 蛋白水平与急性脑卒中患者认知障碍严重程度的关系研究[J].实用心脑血管病杂志,2019,27(3):32-37.
- [4] 李霜青,应俊,许旭春.miR-219 与 TGFBR2 的调控关系在肾脏纤维化中的作用[J].中国病理生理杂志,2019,35(4):703-709.
- [5] 董新秀,胡慧,王凌,等.蒙特利尔认知评估量表在评估轻度认知损害老人中的验证性因素分析[J].中华神经科杂志,2018,51(12):966-971.
- [6] 汪桂青,赵松耀,窦海玲.缺血性脑卒中的 CISS 分型及危险因素分析[J].中国实用神经疾病杂志,2015,18(20):81-82.
- [7] HIGAKI S,MURAMATSU M,MATSUDA A,et al. Defensive effect of microRNA-200b/c against amyloid-beta peptide-induced toxicity in Alzheimer's disease models[J].PLoS One,2018,13(5):e0196929.
- [8] 朱洁,张敏.缺血性脑卒中合并脑微出血患者认知功能及血清细胞因子变化的研究[J].重庆医学,2019,48(11):1909-1911.
- [9] BUCHTHAL B,WEISS U,BADING H. Post-injury nose-to-brain delivery of activin a and serpinB2 reduces brain damage in a mouse stroke model[J].Mol Ther,2018,26(10):2357-2365.
- [10] 袁梅,周成芳,汤永红,等.急性缺血性脑卒中患者血清 miRNA-335 表达水平及临床意义[J].中国动脉硬化杂志,2015,23(6):589-593.
- [11] 谢尊椿,刘彬,周美鸿,等.急性缺血性脑卒中患者血浆 miR-124 表达变化及其意义[J].实用医学杂志,2019,35(3):343-345.
- [12] 曾保征,王赣,陈超,等.miR-613 在肝细胞癌中的表达变化及其对癌细胞增殖、凋亡及侵袭、迁移能力的影响[J].山东医药,2020,60(10):41-44.
- [13] BRUINSMA I B,VAN DIJK M,BRIDEL C,et al. Regulator of oligodendrocyte maturation,miR-219, a potential biomarker for MS[J].J Neuroinflammation,2017,14(1):235-244.

(收稿日期:2021-01-26 修回日期:2021-05-21)