

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.09.003
文章编号: 1005-8982 (2021) 09-0013-05

脑血管疾病专题·论著

脑出血患者外周血 microRNA-7 表达的变化及其与近期预后的关系

陈培培¹, 张世瑶¹, 付强², 李莉¹

(新疆医科大学第一附属医院 1. 临床营养科, 2. 神经外科中心一病区, 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要: **目的** 研究脑出血患者外周血 microRNA-7(miR-7) 表达的变化及其与近期预后的关系。**方法** 选择2015年3月—2019年3月新疆医科大学第一附属医院收治的65例自发性脑出血患者作为脑出血组, 同期体检的55例健康志愿者作为对照组。检测两组研究对象外周血 miR-7 的表达; 随访脑出血患者的短期预后并根据出院后90 d 的改良 Rankin 量表(mRS) 评分分为 mRS < 3 分的预后良好患者和 ≥ 3 分的预后不良患者, 分析预后不良的影响因素及 miR-7 对预后不良的预测价值。**结果** 脑出血组外周血 miR-7 的表达水平低于对照组 ($P < 0.05$); 脑出血组中预后不良患者的入院时 GCS 评分、外周血 miR-7 的表达水平、早期肠内营养比例低于预后良好患者 ($P < 0.05$), 随机血糖、hs-CRP、初始血肿体积、出血破入脑室比例高于预后良好患者 ($P < 0.05$); miR-7 表达减少及随机血糖、hs-CRP 增加是预后不良的危险因素, 早期肠内营养是预后不良的保护因素 ($P < 0.05$); miR-7 表达减少对短期预后不良具有预测价值 ($P < 0.05$)。**结论** 脑出血患者外周血 miR-7 表达减少且是短期预后不良的危险因素、对短期预后不良具有预测价值。

关键词: 脑出血; microRNA-7; 近期预后; 危险因素; 预测价值

中图分类号: R743

文献标识码: A

Changes of microRNA-7 expression in peripheral blood of patients with cerebral hemorrhage and its correlation with short-term prognosis

Pei-pei Chen¹, Shi-yao Zhang¹, Qiang Fu², Li Li¹

(1. Department of Clinical Nutrition; 2. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang 830011, China)

Abstract: Objective To study the expression of miR-7 in the peripheral blood of patients with cerebral hemorrhage and its correlation with the recent prognosis. **Methods** Totally 65 patients with spontaneous intracerebral hemorrhage from March 2015 to March 2019 were selected as the intracerebral hemorrhage group, and 55 healthy volunteers as the control group. The expression of miR-7 in peripheral blood was detected. The short-term prognosis of patients with intracerebral hemorrhage was followed up, and the patients were classified as good prognosis with mRS < 3 and no prognosis with mRS ≥ 3 according to the modified Rankin Scale (mRS) score of 90 days after discharge. The influencing factors of poor prognosis and the predictive value of miR-7 for poor prognosis were analyzed. **Results** The expression level of miR-7 in the peripheral blood of the cerebral hemorrhage group was significantly lower than that of the control group ($P < 0.05$); the GCS score, the expression level of miR-7 in the peripheral blood and the proportion of early enteral nutrition of the patients with poor prognosis in the cerebral

收稿日期: 2020-11-06

[通信作者] 李莉, E-mail: xj_lily@126.com; Tel: 13201215011

hemorrhage group were significantly lower than those of the patients with good prognosis ($P < 0.05$); the random blood glucose, hs-CRP, initial hematoma volume, and the proportion of bleeding into the ventricle were significantly higher than those of the patients with good prognosis ($P < 0.05$); decreased miR-7 expression, increased random blood glucose, and hs-CRP were the risk factors for poor prognosis, early enteral nutrition was the protective factor for poor prognosis ($P < 0.05$), and the decreased expression of miR-7 had predictive value for short-term poor prognosis. **Conclusion** The decreased expression of miR-7 in the peripheral blood of patients with cerebral hemorrhage is a risk factor for poor short-term prognosis and has a predictive value for poor short-term prognosis.

Keywords: cerebral hemorrhage; mirn7 microrna; short-term prognosis; risk factors; predictive value

脑出血是临床上常见的脑血管疾病,起病快、病情发展迅速,具有较高的致残率和致死率^[1]。临床中,在脑出血发病早期判断神经功能的预后、筛选预后不良的高危因素并进行针对性处理对降低脑出血的致残率、改善脑出血的预后具有积极价值。脑出血后神经功能损害的机制复杂,炎症反应及氧化应激反应激活、脑水肿、颅内压升高、胶质细胞活化等均与脑出血后神经功能的损害有关,其中星形胶质细胞的活化能够产生自由基、炎症因子等并介导神经功能损害^[2-4]。钱红等^[5]的实验表明,在脑出血大鼠模型中增加 microRNA-7 (miR-7)的表达能够减轻脑组织病理损害、抑制星形胶质细胞活化,提示 miR-7 在脑出血中起保护作用,增加 miR-7 的表达可能成为改善脑出血患者预后的治疗靶点,但 miR-7 在脑出血患者中的变化及意义均未见报道。本研究以脑出血患者为研究对象,具体分析外周血 miR-7 表达的变化及其与近期预后的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2015年3月—2019年3月新疆医科大学第一附属医院收治的65例自发性脑出血患者作为脑出血组。纳入标准:①经头颅CT证实脑出血;②发病至入院时间 <6 h;③入院时无昏迷症状;④临床资料及随访资料完整。排除标准:①继发性脑出血;②既往有脑外伤、脑出血、脑梗死病史;③合并恶性肿瘤、自身免疫性疾病、糖尿病、急慢性感染;④近2周使用过抗生素、免疫制剂的患者。另取同期在该院体检的55例健康志愿者作为对照组。脑出血组中男性36例,女性29例;年龄39~62岁,平均 (48.59 ± 9.29) 岁。对照组中男性32例,女性

23例;平均年龄 (47.83 ± 9.83) 岁。两组的一般资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 研究方法

1.2.1 短期预后的评估 出院后第90天时通过门诊或电话回访,采用改良Rankin量表(mRS)对脑出血组患者的短期预后进行评估,mRS评分 <3 分为预后良好,mRS评分 ≥ 3 分为预后不良,死亡患者计入预后不良。

1.2.2 外周血 miR-7 表达的检测 于入院时采集脑出血组和体检时采集对照组的外周血3~5 ml进行miRNA的提取及检测,试剂盒购自天根生化科技(北京)有限公司。按照miRNA提取分离试剂盒说明书操作,提取外周血中的miRNA;按照miRNA cDNA第一链合成试剂盒说明书步骤将外周血中miRNA逆转录为cDNA;按照miRNA荧光定量检测试剂盒说明书配置荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)体系:cDNA 2 μ l、反应预混液 10 μ l、正向引物(10 μ mol/L)0.6 μ l、通用反向引物(10 μ mol/L)0.6 μ l、去离子水 6.8 μ l,在PCR仪上进行扩增反应,扩增程序为95 $^{\circ}$ C预变性3 min、95 $^{\circ}$ C变性5 s、60 $^{\circ}$ C退火延伸15 s、40个循环。分别扩增目的基因 miR-7 的引物序列(正向:5'-TAGCGATTATGCATGCTAA-3',反向:5'-CTCAACTGGTGTCTGGGA-3')及内参基因 U6 的引物序列(正向:5'-ATTATGCGCATGCTATATCG-3',反向:5'-TACTTAGCGTAGAGCTAGCT-3')。扩增完成后得到循环曲线及循环阈值(Ct),以U6为内参,2 $^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 miR-7 的相对表达量。

1.2.3 临床资料 包括脑出血组患者的年龄、性别、吸烟史、饮酒史、高血压史、糖尿病史,入院时的白细胞计数、随机血糖和高敏感C反应蛋白(hs-CRP)水平、初始血肿体积、出血破入脑室情况及治疗过程中早期肠内营养情况。白细胞计数采用血常规仪检测,hs-CRP采用全自动生化分析

仪检测,初始血肿体积根据头颅CT检查结果测量,出血破入脑室根据头颅CT检查判断,早期肠内营养指发病后24~48 h内给予肠内营养乳剂。

1.3 统计学方法

数据处理采用SPSS 21.0统计软件,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用 t 检验;计数资料以构成比或率(%)表示,比较使用 χ^2 检验。影响因素的分析采用Logistic回归模型,预测价值采用ROC曲线分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组外周血miR-7相对表达量的比较

脑出血组外周血miR-7的相对表达量为(0.57 ± 0.18),对照组外周血miR-7的相对表达量为(0.89 ± 0.24),两组比较,差异有统计学意义($t =$

$8.333, P = 0.000$),脑出血组降低。

2.2 脑出血组中预后良好患者与预后不良患者外周血miR-7相对表达量及临床资料的比较

经mRS评分后,脑出血组中预后良好患者为40例,预后不良患者为25例。预后良好患者和预后不良患者的年龄、性别、吸烟史、饮酒史、高血压史、糖尿病史、白细胞计数比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);预后良好患者与预后不良患者的入院时GCS评分、外周血miR-7的相对表达量、早期肠内营养、随机血糖、hs-CRP、初始血肿体积、出血破入脑室比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),预后不良患者的入院时GCS评分、外周血miR-7的相对表达量降低,早期肠内营养患者减少,随机血糖、hs-CRP水平升高,初始血肿体积增大,出血破入脑室患者增多。见表1。

表1 脑出血组中预后良好患者与预后不良患者外周血miR-7表达水平及临床资料的比较

组别	<i>n</i>	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	男性 例(%)	吸烟史 例(%)	饮酒史 例(%)	高血压史 例(%)	糖尿病史 例(%)	入院时GCS评分/ ($\bar{x} \pm s$)
预后良好患者	40	49.14 ± 10.77	22(55.0)	19(47.5)	13(32.5)	25(62.5)	14(35.0)	14.48 ± 2.84
预后不良患者	25	47.71 ± 9.11	14(56.0)	11(44.0)	10(40.0)	14(56.0)	9(36.0)	12.81 ± 2.41
t/χ^2 值		0.552	0.006	0.076	0.378	0.271	0.007	2.440
<i>P</i> 值		0.583	0.937	0.783	0.538	0.603	0.935	0.018

组别	白细胞计数/ ($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	随机血糖/ (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	hs-CRP/(mg/L, $\bar{x} \pm s$)	miR-7相对表达 量/($\bar{x} \pm s$)	初始血肿体积/ (ml, $\bar{x} \pm s$)	出血破入脑 室 例(%)	早期肠内营 养 例(%)
预后良好患者	9.91 ± 1.81	6.41 ± 1.04	5.52 ± 0.94	0.61 ± 0.17	16.68 ± 3.94	7(17.5)	18(45.0)
预后不良患者	10.97 ± 2.09	7.09 ± 1.42	9.29 ± 1.48	0.47 ± 0.16	29.39 ± 7.79	11(44.0)	5(20.0)
t/χ^2 值	1.756	2.224	12.581	3.303	8.714	5.396	4.205
<i>P</i> 值	0.084	0.030	0.000	0.002	0.000	0.020	0.040

2.3 预后不良相关因素的Logistic回归分析

以脑出血患者预后为因变量,以单因素分析有统计学意义的因素(入院时GCS评分、miR-7相对表达量、随机血糖、hs-CRP、初始血肿体积、出血破入脑室、早期肠内营养)为自变量,进行一般多因素Logistic回归分析($\alpha_{\lambda} = 0.05$),结果显示:miR-7相对表达量减少[$\hat{OR} = 0.692$ (95% CI: 0.501, 0.839), $P = 0.008$]、随机血糖[$\hat{OR} = 1.374$ (95% CI: 1.147, 2.149), $P = 0.014$]、hs-CRP升高[$\hat{OR} = 1.294$ (95% CI: 1.039, 2.349), $P = 0.019$]是预后不良的危险因素,早

期肠内营养[$\hat{OR} = 0.809$ (95% CI: 0.601, 0.918), $P = 0.012$]是预后不良的保护因素。见表2。

2.4 外周血miR-7预测脑出血患者预后不良的ROC曲线分析

经ROC曲线分析,外周血miR-7预测脑出血患者预后不良的曲线下面积为0.713($P = 0.002$);根据约登指数最大值确定外周血miR-7预测脑出血患者预后不良的最佳截点为0.600,该截点的敏感性为80.00% (95% CI: 0.593, 0.932),特异性为51.67% (95% CI: 0.384, 0.648)。见图1。

表2 脑出血患者预后不良相关因素的 Logistic 回归分析参数

自变量	<i>b</i>	<i>S_b</i>	Wald χ^2	<i>P</i> 值	\hat{OR}	95% CI	
						下限	上限
入院时 GCS 评分	-0.351	0.574	1.029	0.128	0.848	0.697	1.855
miR-7 相对表达量	-0.448	0.339	5.595	0.008	0.692	0.501	0.839
随机血糖	0.298	0.521	4.777	0.014	1.374	1.147	2.149
hs-CRP	0.349	0.552	4.191	0.019	1.294	1.039	2.349
初始血肿体积	0.518	0.302	0.839	0.204	1.148	0.710	1.585
出血破入脑室	0.394	0.675	0.747	0.258	1.229	0.838	1.949
早期肠内营养	-0.241	0.475	5.012	0.012	0.809	0.601	0.918

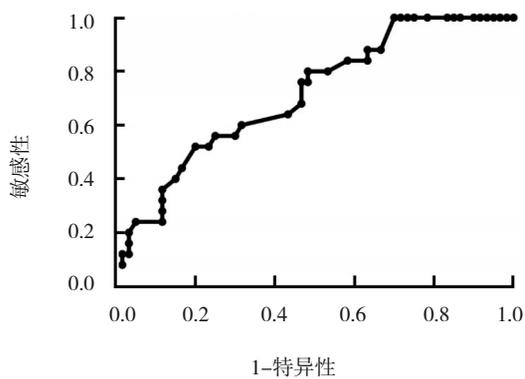


图1 外周血 miR-7 预测脑出血患者预后不良的 ROC 曲线

3 讨论

脑出血后神经功能的损害涉及复杂的病理生理机制,可能的机制包括炎症反应及氧化应激反应激活、脑水肿、颅内压升高、星形胶质细胞活化等^[6-9]。近年来,越来越多的研究开始关注脑出血患者预后的相关因素^[10-12],阐明影响脑出血预后的因素不仅能够早期筛查可能出现预后不良的高危患者,还能够根据相关因素制订治疗策略、发现新的靶向治疗手段,有助于为改善脑出血患者的预后提供理论依据。

金子凡^[13]的研究共纳入 177 例脑出血患者,根据出院后 90 d 时的 mRS 评分判断预后,预后不良患者共 68 例 (38.42%)。本研究纳入 65 例自发性脑出血患者,预后不良患者共 25 例 (38.46%),预后不良的发生情况与金子凡的研究一致。王星辰^[14]的研究发现,随机血糖是急性脑出血患者早期神经恶化的独立危险因素;金子凡^[13]的研究发现,中性粒细胞与淋巴细胞比值升高与脑出血患者短期预后不良有关;邱斌^[15]的研究将早期肠内营养用于重症脑出血患者后发

现,患者的神经功能得到改善。本研究预后不良患者与预后良好患者临床资料的比较及 Logistic 回归分析可知,随机血糖、hs-CRP 升高是预后不良的危险因素,早期肠内营养是预后不良的保护因素。随机血糖的分析结果与王星辰^[14]的研究一致;hs-CRP 是炎症及应激反应标志物,与中性粒细胞与淋巴细胞比值反映炎症及应激的意义相似,分析结果与金子凡^[13]的研究一致;早期肠内营养对短期预后的保护作用与邱斌^[15]的研究一致。

近年来多项基础研究证实 miRNA 在脑出血大鼠中发挥保护作用^[16-22],其中 miR-7 能够抑制星形胶质细胞、小胶质细胞的活化并减轻脑出血大鼠的神经损害。另有脑梗死的动物实验表明,miR-7 在脑梗死大鼠中的表达明显减少^[23]。本研究脑出血组外周血 miR-7 的相对表达量低于对照组,与 miR-7 的神经保护作用吻合,提示 miR-7 的低表达可能使其神经保护作用削弱,继而参与脑出血的发生及发展。钱红^[24]和 ZHANG^[24]的研究发现,miR-7 在脑出血过程中发挥的保护作用与靶向 EGFR/STAT3 及 TLR4 通路有关,今后可检测脑出血发病过程中上述通路分子在血清中的变化及与 miR-7 的相关性来验证 miR-7 发挥保护作用的分子机制。进一步分析 miR-7 与脑出血患者短期预后的关系可知,预后不良患者外周血 miR-7 的相对表达量低于预后良好患者且 miR-7 相对表达量减少是预后不良的危险因素,说明 miR-7 相对表达量减少与脑出血患者预后不良有关,增加 miR-7 的表达可能是治疗脑出血、改善脑出血预后的潜在靶点。此外,本研究还通过 ROC 曲线分析了 miR-7 对脑出血患者近期预后的预测价值,miR-7 预测近期预后的最佳截点值为 0.600,敏感性和特异性分别为 80.00% 和 51.67%。

综上所述,脑出血患者外周血 miR-7 相对表达量减少且是短期预后不良的危险因素,对短期预后不良具有预测价值,未来 miR-7 可能成为治疗脑出血、改善脑出血预后的靶点之一。

参考文献:

- [1] 薛元峰,潘榆春,曾武,等.重症脑出血患者颅内压相关参数与预后的关系[J].南京医科大学学报(自然科学版),2019,39(8):1211-1213.
- [2] CHENG Y, ZAN J, SONG Y, et al. Evaluation of intestinal injury, inflammatory response and oxidative stress following intracerebral hemorrhage in mice[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 42(4): 2120-2128.
- [3] LAN X, HAN X, LIU X, et al. Inflammatory responses after intracerebral hemorrhage: from cellular function to therapeutic targets[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2019, 39(1): 184-186.
- [4] 陈汉泽,田力,滕伟禹.脑出血大鼠脑组织中组织蛋白酶L的表达及其病理意义[J].中国医科大学学报,2019,48(10):901-904.
- [5] 钱红,胡柯,谢明,等.侧脑室注射 miR-7 通过 EGFR/STAT3 途径抑制大鼠脑出血后脑损伤[J].细胞与分子免疫学杂志,2018,34(2):141-147.
- [6] 杨慧,万广,高绚照,等.let-7a 通过抑制 MAP4K3/MKK4/JNK 信号通路减少脑出血大鼠神经元凋亡[J].中国病理生理杂志,2020,36(6):1055-1062.
- [7] CHEN J X, WANG Y P, ZHANG X, et al. lncRNA Mtss1 promotes inflammatory responses and secondary brain injury after intracerebral hemorrhage by targeting miR-709 in mice[J]. *Brain Res Bull*, 2020, 162: 20-29.
- [8] MUHAMMAD S, CHAUDHRY S R, KAHLERT U D, et al. Targeting high mobility group box 1 in subarachnoid hemorrhage: a systematic review[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(8): 2709.
- [9] SHI S X, LI Y J, SHI K, et al. IL (Interleukin)-15 bridges astrocyte-microglia crosstalk and exacerbates brain injury following intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2020, 51(3): 967-974.
- [10] LIU S, LIU X, CHEN S, et al. Neutrophil-lymphocyte ratio predicts the outcome of intracerebral hemorrhage: a meta-analysis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(26): e16211.
- [11] MATANO F, FUJIKI Y, MIZUNARI T, et al. serum glucose and potassium ratio as risk factors for cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28(7): 1951-1957.
- [12] NEUBERGER U, KICKINGEREDER P, SCHONENBERGER S, et al. Risk factors of intracranial hemorrhage after mechanical thrombectomy of anterior circulation ischemic stroke[J]. *Neuroradiology*, 2019, 61(4): 461-469.
- [13] 金子凡,冯娟.中性粒细胞与淋巴细胞比值对原发性急性脑出血患者短期预后的预测作用[J].中国脑血管病杂志,2018,15(5):236-240.
- [14] 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,2018,40(12):1120-1124.
- [15] 邱斌,邢小珍,肖展翅,等.早期肠内营养支持治疗对重症脑出血患者免疫功能和预后指标的影响[J].临床与病理杂志,2015,35(4):662-666.
- [16] SHANG Y, DAI S, CHEN X, et al. MicroRNA-93 regulates the neurological function, cerebral edema and neuronal apoptosis of rats with intracerebral hemorrhage through TLR4/NF- κ B signaling pathway[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(22): 3160-3176.
- [17] XI T Y, JIN F, ZHU Y, et al. MiR-27a-3p protects against blood-brain barrier disruption and brain injury after intracerebral hemorrhage by targeting endothelial aquaporin-11[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(52): 20041-20050.
- [18] XI T Y, JIN F, ZHU Y, et al. MicroRNA-126-3p attenuates blood-brain barrier disruption, cerebral edema and neuronal injury following intracerebral hemorrhage by regulating PIK3R2 and Akt[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 494(1/2): 144-151.
- [19] SU Y, SUN B X, GAO X S, et al. Intranasal delivery of targeted nanoparticles loaded with miR-132 to brain for the treatment of neurodegenerative diseases[J]. *Front Pharmacol*, 2020, 6(11): 1165.
- [20] LU X, ZHANG H Y, HE Z Y. MicroRNA-181c provides neuroprotection in an intracerebral hemorrhage model[J]. *Neural Regen Res*, 2020, 15(7): 1274-1282.
- [21] WANG S, CUI Y, XU J, et al. MiR-140-5p attenuates neuroinflammation and brain injury in rats following intracerebral hemorrhage by targeting TLR4[J]. *Inflammation*, 2019, 42(5): 1869-1877.
- [22] WANG Z F, 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.
- [23] KIM T, MEHTA S L, MORRIS-BLANCO K C, et al. The microRNA miR-7a-5p ameliorates ischemic brain damage by repressing α -synuclein[J]. *Sci Signal*, 2018, 11(560): 1-11.
- [24] ZHANG X D, FAN Q Y, QIU Z, et al. MiR-7 alleviates secondary inflammatory response of microglia caused by cerebral hemorrhage through inhibiting TLR4 expression[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(17): 5597-5604.

(张蕾 编辑)

本文引用格式: 陈培培,张世瑶,付强,等.脑出血患者外周血 microRNA-7 表达的变化及其与近期预后的关系[J].中国现代医学杂志,2021,31(9):13-17.

Cite this article as: CHEN P P, ZHANG S Y, FU Q, et al. Changes of microRNA-7 expression in peripheral blood of patients with cerebral hemorrhage and its correlation with short-term prognosis[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2021, 31(9): 13-17.