

# 急性缺血性脑卒中患者血清 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 水平表达检测的诊断价值研究

郭洁<sup>1</sup>, 池水侠<sup>2</sup> (1. 西安医学院第一附属医院急诊科, 西安 710077; 2. 咸阳市中心医院, 陕西咸阳 712000)

**摘要:** 目的 探究急性缺血性脑卒中 (acute ischemic stroke, AIS) 患者血清 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 水平表达检测的诊断价值。方法 选取西安医学院第一附属医院急诊科 2019 年 5 月 ~ 2020 年 3 月收治的 65 例 AIS 患者为病例组, 另选同期 50 例体检健康者为对照组。比较两组的糖尿病史、高血压史和高血脂史, 采用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 检测 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 的水平。采用美国国立卫生研究院卒中量表 (NIH stroke scale, NIHSS) 评估 AIS 患者的神经功能缺损程度。采用受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic, ROC) 计算 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 的 AIS 诊断价值。结果 两组的糖尿病史、高血压史和高血脂史比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。相比于对照组, 病例组血清中 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 水平均升高, 其差异具有统计学意义 ( $t=20.700, 25.997, 23.629$ , 均  $P=0.000$ )。Pearson 相关性分析结果显示, 血清中 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 水平与 NIHSS 评分均呈显著正相关, 其差异具有统计学意义 ( $r=0.272, P<0.001; r=0.142, P=0.005; r=0.171, P=0.013$ )。miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 联合检测诊断 AIS 的灵敏度和特异度分别为 71.2% 和 76.4%, 高于三项单独和两两联合检测。结论 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 三者联合检测可进一步提高 AIS 患者的诊断率, 为临床应用提供了可靠的理论基础。

**关键词:** 急性缺血性脑卒中; miRNA-181c-5p; miRNA-340-5p; miRNA146a

中图分类号: R743.3; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 05-043-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.05.009

## Diagnostic Value of miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p and miRNA146a Levels in Patients with Acute Ischemic Stroke

GUO Jie<sup>1</sup>, CHI Shui-xia<sup>2</sup> (1. Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University, Xi'an 710077, China; 2. Xianyang Central Hospital, Shaanxi Xianyang 712000, China)

**Abstract: Objective** To explore the diagnostic value of detection of serum miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p and miRNA146a levels in patients with acute ischemic stroke (AIS). **Methods** A total of 65 AIS patients admitted to the Department of Emergency, the First Affiliated Hospital of Xi'an Medical University from May 2019 to March 2020 were selected as the case group, and another 50 healthy patients during the same period were selected as the control group. The history of diabetes, hypertension and hyperlipidemia in the two groups were compared. Quantitative real-time PCR (qRT-PCR) was used to detect the levels of miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p and miRNA146a. The National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) was used to evaluate the degree of neurological impairment in AIS patients. AIS diagnostic value of miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p and miRNA146a was calculated by receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** There was no statistically significant difference between the two groups in the history of diabetes, hypertension and hyperlipidemia ( $P>0.05$ ). Compared with the control group, the serum levels of miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p and miRNA146a in the case group were significantly increased, and the differences were statistically significant ( $t=20.700, 25.997, 23.629$ , all  $P=0.000$ ). Pearson correlation analysis showed that serum levels of miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p and miRNA146a were significantly positively correlated with NIHSS score, and the differences were statistically significant ( $r=0.272, P<0.001; r=0.142, P=0.005; r=0.171, P=0.013$ ). The sensitivity and specificity of miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p and miRNA146a combined detection for the diagnosis of AIS were 71.2% and 76.4% higher than those of three separate and paired detection. **Conclusion** Combined detection of miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p and miRNA146a can further improve the diagnostic rate of AIS patients, providing a reliable theoretical basis for clinical application.

**Keywords:** acute ischemic stroke; miRNA-181c-5p; miRNA-340-5p; miRNA146a

作者简介: 郭洁 (1977-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 消化系统及危重症基础临床研究, E-mail:15389218778@163.com。

通讯作者: 池水侠 (1962-), 女, 本科, 副主任医师。

急性缺血性脑卒中 (acute ischemic stroke, AIS) 是临床上危害中老年人健康的心脑血管疾病, 其具有高致死和致残率、高患病率和高复发率等特点<sup>[1-2]</sup>。AIS 主要是由于脑血液供应障碍, 缺血、缺氧引起的局限性脑组织缺血性坏死或软化, 进而出现相应的神经功能缺损表现。目前 AIS 的诊断主要取决于查体、影像学检测和病史等, 但是部分患者影像学表现不典型且费用昂贵、耗时较长。因此, 探究 miRNA 生物标志物用于 AIS 的疾病诊断、病因识别和病情变化预测具有重要的临床意义<sup>[3]</sup>。本研究通过比较健康人群和 AIS 患者血清 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 的水平, 探究三者联合检测在 AIS 诊断中的应用价值, 旨在为 AIS 的临床诊断和治疗提供依据。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 选取西安医学院第一附属医院急诊科 2019 年 5 月 ~ 2020 年 3 月收治的 65 例 AIS 患者为病例组, 其中男性 36 例、女性 29 例; 平均年龄  $51.7 \pm 4.2$  岁。另选取同期于本院体检健康者 50 例为对照组, 其中男性 29 例、女性 21 例; 平均年龄  $53.8 \pm 3.4$  岁。本研究经我院伦理委员会审批通过, 受试者自愿参加本研究且均签署知情同意书。两组的糖尿病史和高血压史等一般资料比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

**纳入标准:** AIS 患者均符合全国脑血管病学术会议修正的《各类脑血管疾病诊断要点》中 AIS 相关的诊断标准<sup>[4]</sup>, 并经 MRI 检查或头颅 CT 验证。

**排除标准:** ①恶性肿瘤患者; ②重要脏器功能异常者; ③伴严重感染及免疫系统疾病者。

**1.2 仪器与试剂** RT-PCR 仪购自德国 Qiagen 公司, 小型高速冷冻离心机购自德国 Eppendorf 公司, RNA 提取试剂盒购自天根生化科技 (北京) 有限公司, miRNA 1st Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒和 miRNA Universal SYBR qPCR Master Mix 试剂盒均

购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司。

**1.3 方法** 采集受试者空腹静脉血 3 ml 于试管中, 5 000 r/min 离心 5 min, 将血清置于  $-20^{\circ}\text{C}$  冰箱中保存。miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 的水平均采用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 进行检测, 应用 RNA 提取试剂盒提取血清中总 RNA, 应用 miRNA 1st Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA, 采用 RT-PCR 仪进行测定, 反应条件是  $95^{\circ}\text{C}$  5min;  $95^{\circ}\text{C}$  30 s;  $58^{\circ}\text{C}$  30 s 和  $72^{\circ}\text{C}$  30 s, 共 40 个循环。miRNA-181c-5p 上游引物序列为: 5'-ACA CTCCAGCTGGGAACATTCAACCTGTCG-3', 下游引物序列为: 5'-CTCAACTGGTGTCTGGA-3'。miRNA-340-5p 上游引物序列为: 5'-CTGGTAGGT TATAAAGCAATGA-3', 下游引物序列为: 5'-TCAA CTGGTGTCTGGA-3'。miRNA146a 上游引物序列为: 5'-CAGCTGGGTGAGAACTGAATTCCATGGGT-3', 下游引物序列为: 5'-GGGTGAGAACTGAATTCCA-3'。

采用美国国立卫生院卒中量表 (NIH stroke scale, NIHSS) 评价 AIS 患者神经功能缺损程度<sup>[5]</sup>。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS 22.0 统计学软件分析数据。计数资料以  $n$  (%) 表示, 采用  $\chi^2$  检验。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用  $t$  检验。相关性分析采用 Pearson 相关, 采用受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) 计算 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 的 AIS 诊断价值,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组血清中 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 水平的比较** 见表 1。比较两组血清中 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 水平, 结果显示相比于对照组, 病例组血清 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 水平均升高, 其差异均有统计学意义 (均  $P = 0.000$ )。

表 1 两组血清中 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 水平的比较

项 目	病例组 (n=65)	对照组 (n=50)	$t$ 值	$P$ 值
miRNA-181c-5p	$28.31 \pm 1.21$	$7.80 \pm 0.82$	20.700	0.000
miRNA-340-5p	$24.24 \pm 1.07$	$6.98 \pm 1.02$	25.997	0.000
miRNA146a	$21.82 \pm 1.36$	$7.29 \pm 1.13$	23.629	0.000

**2.2 血清中 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 水平与 NIHSS 评分的相关性分析** Pearson 相关性分析结果显示, 血清中 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 水平与 NIHSS 评分均呈显著正相关, 其差异具有统计学意义 ( $r=0.272, P < 0.001$ ;  $r=0.142, P=0.005$ ;  $r=0.171, P=0.013$ )。

**2.3 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a**

**联合检测在 AIS 中的诊断价值** miRNA-181c-5p 和 miRNA-340-5p, miRNA146a 诊断 AIS 的 ROC 曲线见图 1, 根据 ROC 曲线三者联合检测诊断 AIS 的灵敏度和特异度分别为 71.2% 和 76.4%, 高于 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 三项指标单独和两两联合检测, 见表 2。

表2 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p, miRNA146a 联合检测在 AIS 中的诊断价值

项 目	灵敏度 (%)	特异度 (%)	Youden 指数	AUC	P 值
miRNA-181c-5p	53.9	90.2	0.41	0.70	0.00
miRNA-340-5p	47.8	75.5	0.20	0.59	0.00
miRNA146a	67.7	54.1	0.18	0.56	0.00
miRNA-181c-5p+miRNA-340-5p	59.1	89.3	0.45	0.73	0.00
miRNA-181c-5p+miRNA146a	75.4	52.6	0.24	0.65	0.00
miRNA-340-5p+miRNA146a	65.1	75.5	0.37	0.73	0.00
miRNA-181c-5p+miRNA-340-5p+miRNA146a	71.2	76.4	0.44	0.76	0.00

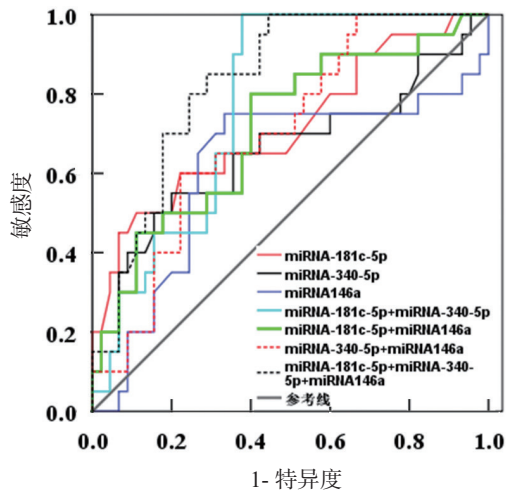


图1 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p, miRNA146a 诊断 AIS 的 ROC 曲线

### 3 讨论

AIS 是脑卒中的常见类型之一,全球每年约有超过 69 万人患 AIS,随着人们生活质量的提高,我国 AIS 的发病率明显增高。目前临床上仍未研发出针对 AIS 的特效药物,因此,深入探究生物标志物对 AIS 的诊断和治疗意义重大。miRNA 是广泛存在于真核细胞质中的长约 18~25 nt 的内源性非编码单链小分子,大量研究指出 miRNA 可作为 AIS 发生的“神经网络编码”,是疾病早期诊断、治疗和评估预后的新生物学标志物<sup>[6]</sup>。本研究通过比较两组血清中 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 的表达水平,探究三者联合检测在 AIS 诊断中的应用价值。

近年来,有研究指出 miRNA-181c-5p 可作为阿尔兹海默症 (Alzheimer's disease, AD) 的生物标志物,血清 miRNA-181c-5p 的缺失可能提示老年脑损伤<sup>[7]</sup>。miRNA-340-5p 在肺癌中呈高表达,是诊断肺癌较理想的指标<sup>[8]</sup>。miRNA-146a 是编码 CD40L 的靶基因,而 CD40L 是导致 AIS 的影响因素<sup>[9-10]</sup>。本研究结果表明,病例组血清中 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 水平均显著高于对照组,且与

NIHSS 评分呈正相关,由此可证实 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 可增加 AIS 患病风险。ROC 曲线下面积结果显示,miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 对 AIS 患者具有一定的诊断价值,当三者联合检测时灵敏度达 71.2%,特异度达 76.4%,提示 miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 联合诊断具有更高的诊断率,为临床应用提供更加可靠的理论基础。

综上所述,miRNA-181c-5p, miRNA-340-5p 和 miRNA146a 三者联合检测可进一步提高 AIS 患者的诊断率,但关于其与 AIS 的预后仍需进一步深入研究。

### 参考文献:

- [1] 王晓芸,张懿,孙朝荣,等.不同剂量辛伐他汀对急性缺血性脑卒中患者血清微小 RNA-182 和微小 RNA-497 水平及预后的影响 [J]. 中国医药, 2020,15(11):1719-1722.  
WANG Xiaoyun, ZHANG Yi, SUN Chaorong, et al. The effect of different doses of simvastatin tablets on serum microRNA-182 and microRNA-497 levels and prognosis in patients with acute ischemic stroke [J]. China Medicine, 2020,15(11):1719-1722.
- [2] 韦仕荣,高玉娟,韦晓阳,等.急性缺血性脑卒中患者血清微小 RNA-20b,微小 RNA-199a 水平与神经功能缺损程度及侧支循环形成的关系 [J]. 广西医学, 2020,42(20):2629-2633.  
WEI Shirong, GAO Yujuan, WEI Xiaoyang, et al. Relationships of serum microRNA-20b and microRNA-199a levels with neurological deficit degree and collateral circulation formation in patients with acute ischemic stroke [J]. Guangxi Medical Journal, 2020,42(20):2629-2633.
- [3] 黄怡颖,张健. miRNA-17-5p, miRNA-103-3p 及 miRNA-144-3p 在急性缺血性脑卒中中的表达及诊断价值研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2020,41(9):1105-1108.  
HUANG Yiying, ZHANG Jian. Expressions and clinical diagnostic values of miRNA-17-5p, miRNA-103-3p and miRNA-144-3p in acute ischemic stroke [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2020,41(9):1105-1108.
- [4] 王新德. 各类脑血管疾病诊断要点 [J]. 中华神经科杂志, 1996,29(6):379-380.

(下转第 89 页)