

结核性脑膜炎患者脑脊液中 miR-200a, miR-4652-3p 水平表达对疾病严重程度和预后预测价值研究

冷洁^a, 焦旭峰^b, 胡咏汶^c, 柳霞^d (青岛市中心医院北部院区 / 青岛市胸科医院 a. 疾控科; b. 医教科; c. 胸二科; d. 胸一科, 山东青岛 266043)

摘要: 目的 分析结核性脑膜炎 (tuberculous meningitis, TBM) 患者脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 表达及其对疾病严重程度和预后的预测价值。方法 选择 2018 年 1 月~2022 年 12 月于青岛市胸科医院就诊的 187 例结核性脑膜炎患者, 按照病情程度分为 I 期 ($n=62$)、II 期 ($n=76$) 和 III 期 ($n=49$), 根据预后情况分为预后良好组 ($n=131$) 和预后不良组 ($n=56$)。qRT-PCR 法检测脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 水平表达。Spearman 法分析 miR-200a 和 miR-4652-3p 与临床资料间相关性; ROC 曲线分析脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 水平对结核性脑膜炎患者疾病严重程度及预后的预测价值。多因素 Logistic 回归分析预后不良影响因素。结果 I 期、II 期、III 期结核性脑膜炎患者脑脊液 miR-200a (1.05 ± 0.14 , 0.91 ± 0.14 , 0.76 ± 0.13) 和 miR-4652-3p (0.92 ± 0.11 , 0.78 ± 0.11 , 0.65 ± 0.10) 表达水平依次降低, 差异具有统计学意义 ($F=61.079$, 87.203 , 均 $P < 0.001$)。预后良好组患者脑脊液 miR-200a (0.95 ± 0.14) 和 miR-4652-3p (0.82 ± 0.11) 表达水平显著高于预后不良组患者 (0.84 ± 0.13 , 0.73 ± 0.10), 差异具有统计学意义 ($t=5.025$, 5.262 , 均 $P < 0.05$); 预后良好患者脑脊液腺苷脱氨酶和 TNF- α , IL-23, LTB4, CRP, mRS 评分显著低于预后不良患者, 差异具有统计学意义 ($t=5.649$, 7.721 , 11.150 , 9.455 , 11.314 , 14.407 , 均 $P < 0.05$)。结核性脑膜炎患者脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 水平呈正相关 ($r=0.405$, $P < 0.001$); miR-200a, miR-4652-3p 与 LTB4, TNF- α , CRP, mRS 评分, IL-23, 腺苷脱氨酶呈负相关 ($r=-0.472$, -0.466 , -0.461 , -0.435 , -0.422 , -0.419 ; -0.459 , -0.531 , -0.471 , -0.417 , -0.513 , -0.408 , 均 $P < 0.05$)。miR-200a, miR-4652-3p 预测患者疾病严重程度的 AUC (95%CI) 分别为 0.881 ($0.825 \sim 0.923$) 和 0.878 ($0.822 \sim 0.921$), 二者联合预测的 AUC (95%CI) 为 0.945 ($0.902 \sim 0.973$), 高于单项检测, 差异具有统计学意义 ($Z=3.008$, 2.960 , all $P=0.003$)。脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 水平评估患者预后不良的 AUC (95%CI) 为 0.749 ($0.681 \sim 0.809$) 和 0.756 ($0.688 \sim 0.816$), 二者联合评估患者预后不良的 AUC (95%CI) 为 0.839 ($0.778 \sim 0.889$), 高于二者单独检测, 差异有统计学意义 ($Z=2.994$, 2.697 , $P=0.003$, 0.007)。腺苷脱氨酶 [OR (95%CI): 1.106 ($1.033 \sim 1.185$)], miR-200a [OR (95%CI): 0.529 ($0.369 \sim 0.744$)], miR-4652-3p [OR (95%CI): 0.471 ($0.310 \sim 0.715$)], CRP [OR (95%CI): 4.423 ($1.459 \sim 13.412$)], TNF- α [OR (95%CI): 1.196 ($1.061 \sim 1.348$)], IL-23 [OR (95%CI): 4.809 ($1.086 \sim 3.013$)] 和 LTB4 [OR (95%CI): 1.327 ($1.064 \sim 1.655$)] 为结核性脑膜炎患者预后不良的影响因素 (均 $P < 0.05$)。结论 结核性脑膜炎患者脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 表达下调, 与疾病严重程度及预后密切相关, 二者联合能较好地预测结核性脑膜炎严重程度及预后, 具有一定临床价值。

关键词: 结核性脑膜炎; miR-200a; miR-4652-3p

中图分类号: R529.3; R446.14 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2024) 03-078-07

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2024.03.013

Study on the Predictive Value of miR-200a and miR-4652-3p Levels in Cerebrospinal Fluid of Patients with Tuberculous Meningitis for Disease Severity and Prognosis

LENG Jie^a, JIAO Xufeng^b, HU Yongwen^c, LIU Xia^d (a. Disease Control Department; b. Medical Education Department; c. Thoracic Second Department; d. Thoracic First Department, North Campus of Qingdao Central Hospital / Qingdao Chest Hospital, Shandong Qingdao 266043, China)

Abstract: Objective To analyze the expression of microRNA (miR) -200a and miR-4652-3p in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis (TBM) and their predictive value for disease severity and prognosis. **Methods** A total of 187 patients with tuberculous meningitis who visited Qingdao Chest Hospital from January 2018 to December 2022 were regarded and separated into stage I ($n=62$), stage II ($n=76$) and stage III ($n=49$) according to the severity of the condition. There were 131 cases in the good prognosis group and 56 cases in the poor prognosis group according to the prognosis. The qRT-PCR method

作者简介: 冷洁 (1973-), 女, 本科, 副主任医师, 研究方向: 结核性脑膜炎, E-mail: j3iw3e@163.com。

通讯作者: 柳霞 (1983-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 结核性脑膜炎, E-mail: liu11502158@163.com。

was applied to detect the expression levels of miR-200a and miR-4652-3p in cerebrospinal fluid. Spearman method was used to analyze correlation among miR-200a, miR-4652-3p and clinical data. ROC curve was applied to analyze the predictive value of cerebrospinal fluid miR-200a and miR-4652-3p levels in evaluating the severity and prognosis of tuberculosis meningitis patients. Multivariate logistic regression was applied to analyze the influencing factors of poor prognosis in patients. **Results** The expression levels of miR-200a (1.05 ± 0.14 , 0.91 ± 0.14 , 0.76 ± 0.13) and miR-4652-3p (0.92 ± 0.11 , 0.78 ± 0.11 , 0.65 ± 0.10) in the cerebrospinal fluid of patients with stage I, II, and III tuberculous meningitis were decreased sequentially, and the differences were significant ($F=61.079$, 87.203 , all $P<0.05$). The expression levels of miR-200a (0.95 ± 0.14) and miR-4652-3p (0.82 ± 0.11) in cerebrospinal fluid of patients with good prognosis tuberculous meningitis were higher than those of patients with poor prognosis (0.84 ± 0.13 , 0.73 ± 0.10), and the differences were statistically significant ($t=5.025$, 5.262 , all $P<0.05$), while the levels of cerebrospinal fluid adenosine deaminase, TNF- α , IL-23, LTB4, CRP and mRS scores in patients with good prognosis were lower than those in patients with poor prognosis ($t=5.649$, 7.721 , 11.150 , 9.455 , 11.314 , 14.407 , all $P<0.05$). There was a positive correlation between the levels of miR-200a and miR-4652-3p in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis ($r=0.405$, $P<0.001$). The levels of miR-200a and miR-4652-3p in cerebrospinal fluid were negatively correlated with LTB4, TNF- α , CRP, mRS scores, IL-23 and adenosine deaminase ($r=-0.472$, -0.466 , -0.461 , -0.435 , -0.422 , -0.419 ; -0.459 , -0.531 , -0.471 , -0.417 , -0.513 , -0.408 , all $P<0.05$). The AUC(95%CI) of miR-200a and miR-4652-3p to assess disease severity were 0.881 ($0.825\sim0.923$) and 0.878 ($0.822\sim0.921$), respectively. The AUC(95%CI) of both combination in assessing the severity of patients was 0.945 ($0.902\sim0.973$), which was higher than the single detection, and the differences were significant ($Z=3.008$, 2.960 , all $P=0.003$). The AUC(95%CI) of poor prognosis patients evaluated by cerebrospinal fluid miR-200a and miR-4652-3p levels were 0.749 ($0.681\sim0.809$) and 0.756 ($0.688\sim0.816$), and the AUC of poor prognosis patients evaluated by both combination was 0.839 ($0.778\sim0.889$), which was higher than that measured separately, and the differences were significant ($Z=2.994$, 2.697 , $P=0.003$, 0.007). Adenosine deaminase [OR(95%CI): $1.106(1.033\sim1.185)$], miR-200a [OR(95%CI): $0.529(0.369\sim0.744)$], miR-4652-3p [OR(95%CI): $0.471(0.310\sim0.715)$], C-reactive protein [OR(95%CI): $4.423(1.459\sim13.412)$], TNF- α [OR(95%CI): $1.196(1.061\sim1.348)$], IL-23 [OR(95%CI): $4.809(1.086\sim3.013)$], and LTB4 [OR(95%CI): $1.327(1.064\sim1.655)$] were influencing factors for poor prognosis in patients with tuberculous meningitis (all $P<0.05$). **Conclusion** The expressions of miR-200a and miR-4652-3p in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis were down-regulated, and they were closely related to the severity and prognosis of the disease. The combination of the miR-200a and miR-4652-3p could better predict the severity and prognosis of tuberculous meningitis, which may have a certain clinical value.

Keywords: tuberculous meningitis; micro RNA-200a; micro RNA-4652-3p

结核性脑膜炎(TBM)由结核分枝杆菌引起,是结核病最严重的肺外表现,目前其发病率和死亡率较高^[1-2]。因此,需寻求更有效的指标及药物治疗,以改善结局。微小核糖核酸(microRNA, miRNA, miR)能影响mRNA稳定性,通过部分或完全结合其靶向mRNA来发挥作用^[3]。研究发现,miR-200a在脑膜瘤组织中显著下调^[4],其能通过靶向调节 β -连环蛋白信号转导途径等抑制炎症进展^[5]。miR-4652-3p在恶性脑膜瘤中表达下调,其能通过参与Wnt/ β -连环蛋白信号传导抑制脑膜瘤细胞增殖和迁移,进而影响预后^[6]。但miR-200a和miR-4652-3p是否与结核性脑膜炎严重程度和预后有关还尚不明确,因此,本研究通过检测结核性脑膜炎患者脑脊液miR-200a和miR-4652-3p的表达,分析miR-200a和miR-4652-3p与结核性脑膜炎严重程度和预后间的关系,为结核性脑膜炎的早期诊疗及预后提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择2018年1月~2022年12月

于青岛市胸科医院就诊的187例结核性脑膜炎患者为研究对象,根据英国医学研究理事会标准^[7],将患者按照病情程度分为I期(意识清晰,无神经系统病灶特征, $n=62$)、II期(存在脑膜刺激征、轻度神经功能受损、运动功能障碍, $n=76$)和III期(严重神经功能受损及惊厥、昏迷等症状, $n=49$)。I期患者男性32例,女性30例,平均年龄 43.10 ± 10.25 岁;II期患者男性40例,女性36例,平均年龄 43.12 ± 10.18 岁;III期患者男性25例,女性24例,平均年龄 43.16 ± 10.18 岁。三组患者性别、年龄比较差异无统计学意义($\chi^2=0.033$, $F=0.157$, 均 $P>0.05$)。本研究经本院伦理委员会审核批准。

纳入标准:①符合脑膜炎相关诊断标准^[8];②患者临床资料完整并签署同意书。排除标准:①曾接受抗结核、抗感染等治疗;②原发性肝脏功能障碍;③其它恶性肿瘤;④心脑血管疾病及其他中枢神经疾病;⑤其它类型脑膜炎;⑥血液系统、先天免疫方面疾病。

1.2 仪器与试剂 HITACHI 7100型全自动生化分析仪(日立公司); Multiskan FC酶标仪, SimpliAmp PCR仪(赛默飞世尔科技公司)。C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)试剂盒(货号: YS02159B, 上海雅吉生物科技有限公司); 腺苷脱氨酶、肿瘤坏死因子 α (tumour necrosis factor, TNF- α)、白细胞介素-23(interleukin-23, IL-23)和白三烯B4(leukotriene B4, LTB4)试剂盒(货号: MC438L, ml077385, ml058067, ml058026, 上海酶联生物科技有限公司); Trizol试剂、SuperScript VILO™反转录试剂盒、PCR试剂盒(赛默飞世尔科技公司, 货号: 11753100)。

1.3 方法

表1

qRT-PCR引物序列

基因	上游引物	下游引物
miR-200a	5'-CCCTACGCCACAATTAACAAGCC-3'	5'-GCTTCCAGGTGTCATATTGG-3'
miR-4652-3p	5'-UGAGGGAUGGGUUAACAGA-3'	5'-GTGCAGGCTCCGACCT-3'
U6	5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'	5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'

1.3.2 实验室检测指标及改良Rankin量表评分: 采用免疫透射比浊法检测患者脑脊液CRP水平。采用酶联免疫吸附法检测腺苷脑脊液脱氨酶、TNF- α 、IL-23和LTB4水平, 具体操作严格按照试剂盒说明书进行。

改良Rankin量表(modified Rankin scale, mRS)评分: 评估神经遗留症状及功能障碍, 分值越高, 症状越严重^[9]。

1.3.3 预后: 治疗结束后对患者进行听力、视力、运动功能及智力方面的测试^[10], 根据测试结果将患者分为预后良好组(正常或轻微后遗症, $n=131$)和预后不良组(严重后遗症或死亡, $n=56$)。

1.4 统计学分析 采用SPSS 25.0进行统计分析, 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 用 χ^2 检验; 计量资料以

1.3.1 脑脊液miR-200a和miR-4652-3p表达水平测定: 所有患者入院后次日均予以腰椎穿刺术, 在无菌条件下采集脑脊液3ml, 3 000r/min离心10min, 收集上清液用螺口瓶分装3支, 每支约1ml, 保存至-70℃冰箱中, 在48h内进行检测。采用Trizol试剂提取脑脊液总RNA, 并分析纯度。反转录试剂盒逆转录合成cDNA, 获得检测基因循环阈值 C_t , 以U6为内参, 引物由GenePharma公司设计合成, qRT-PCR法检测脑脊液miR-200a和miR-4652-3p表达水平, 反应条件: 95℃ 5min; 98℃ 10s; 55℃ 30s; 72℃ 30s, 35个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ [$2^{-(\Delta C_t \text{ 实验组} - \Delta C_t \text{ 对照组})}$]法计算miR-200a和miR-4652-3p相对水平。引物序列见表1。

均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用独立样本 t 检验, 多组比较采用单因素方差分析, SNK- q 法进一步组内两两比较。Spearman法进行相关性分析; 受试者工作特征(ROC)曲线分析脑脊液miR-200a, miR-4652-3p及其联合检测对结核性脑膜炎患者疾病严重程度及预后的预测效能。Logistic回归分析患者预后不良的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 I期、II期和III期患者脑脊液miR-200a和miR-4652-3p水平比较 见表2。I期、II期和III期结核性脑膜炎患者脑脊液miR-200a和miR-4652-3p水平依次降低, 差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

表2

I期、II期、III期患者脑脊液miR-200a和miR-4652-3p表达($\bar{x} \pm s$)

项目	I期患者($n=62$)	II期患者($n=76$)	III期患者($n=49$)	F	P
miR-200a	1.05 \pm 0.14	0.91 \pm 0.14 ^a	0.76 \pm 0.13 ^{ab}	61.079	<0.001
miR-4652-3p	0.92 \pm 0.11	0.78 \pm 0.11 ^a	0.65 \pm 0.10 ^{ab}	87.203	<0.001

注: ^a与I期患者比较, $q=8.416, 10.760; 15.610, 18.590$, 均 $P < 0.05$; ^b与II期患者比较, $q=8.423, 9.336$, 均 $P < 0.05$ 。

2.2 预后良好和预后不良患者脑脊液miR-200a和miR-4652-3p表达水平比较 见表3。与预后良好组比较, 预后不良组脑脊液miR-200a, miR-4652-3p相对表达量降低; 腺苷脱氨酶、CRP, TNF- α , IL-23, LTB4水平和mRS评分升高, 差异具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2.3 预后良好组和预后不良组患者临床资料比较 见表4。预后良好组和预后不良组结核性脑膜炎患者性别、年龄、体质指数、头痛、发热、呕吐、

抽搐、结核患者接触史、脑积水、肺结核、平均病程等比较, 差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.4 结核性脑膜炎患者脑脊液miR-200a和miR-4652-3p水平与临床资料相关性分析 见表5。结核性脑膜炎患者脑脊液miR-200a与miR-4652-3p水平呈正相关($r=0.405, P < 0.001$)。miR-200a和miR-4652-3p水平与腺苷脱氨酶、CRP, TNF- α , IL-23, LTB4, mRS评分呈负相关(均 $P < 0.05$)。

表 3 预后良好和预后不良患者脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

项 目	预后良好组 ($n=131$)	预后不良组 ($n=56$)	t	P
miR-200a	0.95 ± 0.14	0.84 ± 0.13	5.025	< 0.001
miR-4652-3p	0.82 ± 0.11	0.73 ± 0.10	5.262	< 0.001
平均病程 (天)	32.85 ± 7.82	35.12 ± 7.86	1.815	0.071
CRP (mg/L)	8.29 ± 1.93	11.82 ± 2.01	11.314	< 0.001
腺苷脱氨酶 (U/L)	7.91 ± 2.02	9.74 ± 2.05	5.649	< 0.001
TNF- α (ng/ml)	34.21 ± 5.86	41.65 ± 6.43	7.721	< 0.001
IL-23 (pg/ml)	57.65 ± 5.79	68.36 ± 6.52	11.150	< 0.001
LTB4 (pg/ml)	69.76 ± 8.21	82.18 ± 8.27	9.455	< 0.001
mRS 评分 (分)	1.68 ± 0.51	3.52 ± 1.24	14.407	< 0.001

表 4 预后良好组和预后不良组患者临床资料比较 [n (%)]

类 别		预后良好组 ($n=131$)	预后不良组 ($n=56$)	χ^2	P
性别	男	65 (49.62)	32 (57.14)	0.890	0.346
	女	66 (50.38)	24 (42.86)		
年龄 (岁)	> 50	54 (41.22)	28 (50.00)	1.228	0.268
	< 50	77 (58.78)	28 (50.00)		
体质量指数 (kg/m^2)	> 24	64 (48.85)	31 (55.36)	0.664	0.415
	≤ 24	67 (51.15)	25 (44.64)		
头痛	是	95 (72.52)	37 (66.07)	0.786	0.375
	否	36 (27.48)	19 (33.93)		
发热	是	90 (68.70)	36 (64.29)	0.348	0.555
	否	41 (31.30)	20 (35.71)		
呕吐	是	78 (59.54)	36 (64.29)	0.371	0.542
	否	53 (40.46)	20 (35.71)		
抽搐	是	47 (36.88)	28 (50.00)	3.257	0.071
	否	84 (64.12)	28 (50.00)		
结核患者接触史	是	55 (41.98)	27 (48.21)	0.618	0.432
	否	76 (58.02)	29 (51.79)		
脑积水	是	60 (45.80)	34 (60.71)	3.490	0.062
	否	71 (54.20)	22 (39.29)		
肺结核	是	58 (44.27)	32 (57.14)	2.602	0.107
	否	73 (55.73)	24 (42.86)		

表 5 结核性脑膜炎患者脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 水平与临床资料相关性

类 别	miR-200a		miR-4652-3p	
	r	P	r	P
CRP	-0.461	< 0.001	-0.471	< 0.001
腺苷脱氨酶	-0.419	< 0.001	-0.408	< 0.001
TNF- α	-0.466	< 0.001	-0.531	< 0.001
IL-23	-0.422	< 0.001	-0.513	< 0.001
LTB4	-0.472	< 0.001	-0.459	< 0.001
mRS 评分	-0.435	< 0.001	-0.417	< 0.001

2.5 多因素 Logistic 回归分析影响结核性脑膜炎患者预后不良的因素 见表 6。以腺苷脱氨酶、miR-200a, miR-4652-3p, CRP, TNF- α , IL-23, LTB4 (均为实测值) 为自变量, 以结核性脑膜炎患者预后 (良好=0, 不良=1) 为因变量, 进行多因素 Logistic 回归分析, 结果表明, 腺苷脱氨酶、miR-200a 低、miR-4652-3p 低、CRP, TNF- α , IL-23, LTB4 为结核性脑膜炎患者预后不良的危险因素 (均 $P < 0.05$)。

表 6 多因素 Logistic 回归分析结核性脑膜炎患者预后的影响因素

因素	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95%CI
miR-200a	-0.646	0.179	13.035	< 0.001	0.529	0.369-0.744
miR-4652-3p	-0.753	0.213	12.494	< 0.001	0.471	0.310-0.715
CRP	1.487	0.566	6.901	0.009	4.423	1.459-13.412
腺苷脱氨酶	0.101	0.035	8.286	0.004	1.106	1.033-1.185
TNF- α	0.179	0.061	8.609	0.003	1.196	1.061-1.348
IL-23	0.593	0.260	5.187	0.023	4.809	1.086-3.013
LTB4	0.283	0.113	6.294	0.012	1.327	1.064-1.655

2.6 脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 水平对结核性脑膜炎患者疾病严重程度的预测价值 见表 7。以不同病情程度结核性脑膜炎患者为状态变量（Ⅰ期为 0，Ⅱ期、Ⅲ期为 1），以脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 水平为自变量，绘制 ROC 曲线，结果

表明，脑脊液 miR-200a，miR-4652-3p 水平及二者联合评估结核性脑膜炎患者疾病严重程度的曲线下面积（Area under the curve，AUC）分别为 0.881，0.878 和 0.945，联合预测 AUC 显著高于单项检测（ $Z=3.008$ ， 2.960 ， $P=0.003$ ， 0.003 ）。

表 7 脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 水平对结核性脑膜炎严重程度的预测价值

项目	AUC	95%CI	约登指数	截断值	敏感度（%）	特异度（%）
miR-200a	0.881	0.825-0.923	0.630	0.96	85.60	77.42
miR-4652-3p	0.878	0.822-0.921	0.631	0.81	77.60	85.48
联合检测	0.945	0.902-0.973	0.767	-	92.80	73.87

2.7 脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 水平对结核性脑膜炎患者预后的预测价值 见表 8。miR-200a，miR-4652-3p 水平及二者联合预测结核性脑膜炎患者预后不良的 AUC 为 0.749，0.756 和 0.839，联合预测 AUC 显著高于二者单独检测（ $Z=2.994$ ， 2.697 ， $P=0.003$ ， 0.007 ）。

通过诱导中枢神经系统外周免疫细胞的炎症反应引发一系列病理机制，可能导致严重的脑损伤^[11]。其早期症状通常是非特异性的，且常在疾病后期脑损伤已经发生时被诊断出来^[12]。治疗周期长，且预后不良。尽管目前已进行积极抗结核治疗，但其病死率仍高达 19.0%~28.9%，因此其早期诊断和治疗在决定疾病预后方面起着重要作用^[13]。

3 讨论

结核性脑膜炎主要由免疫反应失调介导，其能

表 8 脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 水平对结核性脑膜炎患者预后的预测价值

项目	AUC	95%CI	截断值	约登指数	敏感度（%）	特异度（%）
miR-200a	0.749	0.681-0.809	0.88	0.381	62.50	75.57
miR-4652-3p	0.756	0.688-0.816	0.75	0.381	62.50	75.57
联合检测	0.839	0.778-0.889	-	0.544	91.07	63.36

miR-200 家族在调节上皮间充质转化方面具有关键作用^[14]。miR-200a 过表达能通过活性氧诱导的 NOD 样受体样蛋白结构域 3（NLRP3）在脓毒症引起的脑损伤中促进炎症^[15]。WEI 等^[16]表明，miR-200a 能靶向 SIRT1 基因，在氧葡萄糖剥夺 / 复氧的脑微血管内皮细胞中发挥抗炎作用，进而减弱炎症介导的脑缺血 / 再灌注损伤。但目前关于 miR-200a 在结核性脑膜炎患者中表达的研究较少。本研究中，不同严重程度及预后结核性脑膜炎患者脑脊液 miR-200a 水平比较差异具有统计学意义，提示

脑脊液 miR-200a 水平可能与结核性脑膜炎患者疾病严重程度和预后有关，其原因可能是 miR-200a 能参与相关基因及信号通路调节进而促使炎症反应。ROC 曲线结果表明，miR-200a 对脑膜炎严重程度及预后具有一定预测价值。

miR-4652-3p 在恶性脑膜瘤中异常表达，能通过传导 β -连环蛋白信号调节脑膜瘤细胞生长^[6]。miR-4652-3p 在肾细胞癌^[17]、肺鳞状细胞癌^[18]、颈动脉粥样硬化和血管痴呆^[19]等疾病中发挥重要作用，但其在结核性脑膜炎中的生物学功能尚未得到

证实。本研究中,不同严重程度结核性脑膜炎患者脑脊液 miR-4652-3p 水平比较差异具有统计学意义,提示 miR-4652-3p 水平随病情严重程度加重而降低。预后良好组患者脑脊液 miR-4652-3p 水平较高,提示 miR-4652-3p 可能与患者预后有关,推测其可能通过调节相关信号通路传导调节细胞因子表达,参与炎症抑制进而影响患者疾病严重程度和预后。ROC 曲线结果表明,miR-4652-3p 可能在一定程度上预测脑膜炎严重程度及预后。预后良好组患者脑脊液腺苷脱氨酶及 CRP, TNF- α , IL-23, LTB4 和 mRS 评分较低,且与脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 水平呈负相关。推测 miR-200a 和 miR-4652-3p 可能反映机体炎症反应程度及结核性脑膜炎严重程度。Logistic 回归分析,ROC 曲线进一步说明 miR-200a 和 miR-4652-3p 在结核性脑膜炎进展中的重要作用,二者联合可能对预测结核性脑膜炎严重程度及预后具有较高诊断价值。

综上所述,结核性脑膜炎患者脑脊液 miR-200a 和 miR-4652-3p 表达与疾病严重程度及预后密切相关。但样本收集期限较长,样本采集和检测时机对观察指标的结果可能有一定影响,后续还需加大样本量,缩短样本收集时间,进一步探索 miR-200a 和 miR-4652-3p 在结核性脑膜炎中的作用,并探索其生物学机制,为结核性脑膜炎的临床治疗提供理论依据。

参考文献:

- [1] HUYNH J, DONOVAN J, PHU N H, et al. Tuberculous meningitis: progress and remaining questions[J]. *Lancet Neurology*, 2022, 21(5): 450-464.
- [2] DONOVAN J, THWAITES G E, HUYNH J. Tuberculous meningitis: where to from here?[J]. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 2020, 33(3): 259-266.
- [3] YU Shijia, YU Mingjun, HE Xin, et al. KCNQ1OT1 promotes autophagy by regulating miR-200a/FOXO3/ATG7 pathway in cerebral ischemic stroke[J]. *Aging Cell*, 2019, 18(3): e12940.
- [4] FOIANI G, GUELF I G, MANDARA M T. MicroRNA dysregulation in canine meningioma: RT-qPCR analysis of formalin-fixed paraffin-embedded samples[J]. *Journal of Neuropathology and Experimental Neurology*, 2021, 80(8): 769-775.
- [5] MA Yi, PAN Changjie, TANG Xiaoqiang, et al. MicroRNA-200a represses myocardial infarction-related cell death and inflammation by targeting the Keap1/Nrf2 and β -catenin pathways[J]. *Hellenic Journal of Cardiology*, 2021, 62(2): 139-148.
- [6] LI Tengfei, REN Jianzhuang, MA Ji, et al. LINC00702/miR-4652-3p/ZEB1 axis promotes the progression of malignant meningioma through activating Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapie*, 2019, 113: 108718.
- [7] 国福云, 仵倩红, 潘建萍, 等. IL-23, ADA, LTB4 在结核性脑膜炎患者脑脊液中的表达及临床意义[J]. *临床误诊误治*, 2020, 33(1): 31-34.
- [8] GUO Fuyun, WU Qianhong, PAN Jianping, et al. Expression levels of IL-23, ADA and LTB4 in cerebrospinal fluid of patients with tuberculous meningitis and clinical significance[J]. *Clinical Misdiagnosis & Mistherapy*, 2020, 33(1): 31-34.
- [9] 叶任高, 陆再英. 内科学[M]. 6版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 156-120.
- [10] YE Rengao, LU Zaiying. Internal Medicine[M]. 6th Ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 156-120.
- [11] 刘建, 王淑霞, 张晓童, 等. 小儿结核性脑膜炎外周血补体因子 H、载脂蛋白 A1 和淀粉样蛋白 A 表达水平变化及其临床意义[J]. *卒中与神经疾病*, 2022, 29(5): 422-426.
- [12] LIU Jian, WANG Shuxia, ZHANG Xiaotong, et al. The expression levels of peripheral blood complement factor H, apolipoprotein A1 and amyloid A in children with tuberculous meningitis and their clinical significance[J]. *Stroke and Nervous Diseases*, 2022, 29(5): 422-426.
- [13] THEE S, BASU R R, BLAZQUEZ G D, et al. Treatment and outcome in children with tuberculous meningitis: a multicenter pediatric tuberculosis network European trials group study[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2022, 75(3): 372-381.
- [14] DAVIS A G, ROHLWINK U K, PROUST A, et al. The pathogenesis of tuberculous meningitis[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2019, 105(2): 267-280.
- [15] DANIEL B D, GRACE G A, NATRAJAN M. Tuberculous meningitis in children: clinical management & outcome[J]. *The Indian Journal of Medical Research*, 2019, 150(2): 117-130.
- [16] 宋月娟, 冯强生, 哈小琴. 脑脊液 T-SPOT 检测在结核性脑膜炎诊断中的临床应用价值[J]. *现代检验医学杂志*, 2018, 33(5): 115-116, 120.
- [17] SONG Yuejuan, FENG Qiangsheng, HA Xiaoqin. Clinical application value of CSF T-SPOT.TB detection in diagnosis of tuberculous meningitis[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2018, 33(5): 115-116, 120.
- [18] CAVALLARI I, CICCARESE F, SHAROVA E, et al. The miR-200 family of microRNAs: fine tuners of epithelial-mesenchymal transition and circulating cancer biomarkers[J]. *Cancers*, 2021, 13(23): 5874.
- [19] YU Jianhua, CHEN Jinlong, YANG Hualing, et al. Overexpression of miR-200a-3p promoted inflammation in sepsis-induced brain injury through ROS-induced NLRP3[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2019, 44(5): 1811-1823.
- [20] WEI Wei, LI Huihong, DENG Yunfei, et al. The combination of Alisma and Atractylodes ameliorates cerebral ischaemia/reperfusion injury by negatively regulating astrocyte-derived exosomal miR-200a-3p/141-3p by targeting SIRT1[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2023, 313: 116597.

- 2022, 2022: 7677252.
- [8] PEDREROS-ROSALES C, JALIL MILAD R, LAGOS LUCERO M, et al. Efecto de las variantes de CYP2C9 sobre la dosis de losartán en hipertensos chilenos [Association between cytochrome p4502c9 polymorphisms and losartan dosing in hypertensive patients][J]. Revista Medica De Chile, 2019, 147(12): 1527-1534.
- [9] 张毅. ADRB1, ACE 基因多态性与高血压及左心室肥厚的相关性研究 [D]. 南京: 南京医科大学, 2021. ZHANG Yi. The relationship of gene polymorphism in beta -adrenergic receptor, angiotensin converting enzyme with essential hypertension and left ventricular hypertrophy [D]. Nanjing: Nanjing Medical University, 2021.
- [10] 王晶, 董天崴, 王爽, 等. β 1-肾上腺素受体、血管紧张素 II -1 型受体基因多态性与高寒地区高血压的关系研究 [J]. 中国全科医学, 2020, 23(30): 3823-3828. WANG Jing, DONG Tianwei, WANG Shuang, et al. Association of gene polymorphisms in β 1-adrenergic receptor and angiotensin II -1 receptor with hypertension in alpine areas[J]. Chinese General Practice, 2020, 23(30): 3823-3828.
- [11] MU Guangyan, XIANG Qian, ZHOU Shuang, et al. Association between genetic polymorphisms and angiotensin-converting enzyme inhibitor-induced cough: a systematic review and meta-analysis[J]. Pharmacogenomics, 2019, 20(3): 189-212.
- [12] CHEN Keping, XIAO Peng, LI Guochun, et al. Distributive characteristics of the CYP2C9 and AGTR1 genetic polymorphisms in Han Chinese hypertensive patients: a retrospective study[J]. BMC Cardiovascular Disorders, 2021, 21(1): 73.
- [13] 付虹, 田磊. 缺血性脑卒中伴高血压病患者个体化精准治疗的研究 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2022, 27(8): 870-876. FU Hong, TIAN Lei. Individualized precision therapy for patients with ischemic stroke and hypertension[J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2022, 27(8): 870-876.
- [14] HUANG Yun, WEN Gaiyan, LU Yao, et al. CYP3A4*1G and CYP3A5*3 genetic polymorphisms alter the antihypertensive efficacy of amlodipine in patients with hypertension following renal transplantation[J]. International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics, 2017, 55(2): 109-118.
- [15] 李雅静, 张瑞, 吴欣, 等. H 型高血压并发缺血性脑卒中患者 MTHFR C677T 基因多态性及血清 Hcy 水平的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(2): 9-13. LI Yajing, ZHANG Rui, WU Xin, et al. Relationship between MTHFR C677T gene polymorphisms and serum Hcy level in H type hypertension with ischemic stroke[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(2): 9-13.
- [16] 李鹏飞, 冷飞, 季忠庶. 抗高血压药物基因检测在中年高血压人群中的应用效果 [J]. 中国当代医药, 2019, 26(10): 49-52. LI Pengfei, LENG Fei, JI Zhongshu. Application effect of antihypertensive gene detection in middle-aged hypertensive patients[J]. China Modern Medicine, 2019, 26(10): 49-52.
- [17] 杜娜娜, 赵美丽. 药物基因组学指导下个体化用药对高血压患者依从性研究 [J]. 甘肃科技, 2020, 36(3): 109-111. DU Nana, ZHAO Meili. Study on the compliance of individualized medication in hypertensive patients under the guidance of pharmacogenomics[J]. Gansu Science and Technology, 2020, 36(3): 109-111.
- [18] 赵晓娟, 权青云, 张愉. 老年高血压患者血清胱抑素 C 水平与认知障碍的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(1): 136-138. ZHAO Xiaojuan, QUAN Qingyun, ZHANG Yu. Correlation between serum systatin-C level and cognitive impairment in elderly patients with hypertension[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(1): 136-138.
- [19] RYSZ J, FRANCZYK B, RYSZ-GÓRZYŃSKA R, et al. Pharmacogenomics of hypertension treatment[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(13): 4709.

收稿日期: 2024-02-29

修回日期: 2024-04-06

(上接第83页)

- [17] 杨超, 谭威, 崔应东, 等. 微小 RNA-4652-3p 通过下调 GRHL2 表达抑制肾癌细胞的增殖和迁移 [J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2020, 12(6): 347-352. YANG Chao, TAN Wei, CUI Yingdong, et al. Effect of microRNA-4652-3p on inhibition of the proliferation and migration of renal cancer cells by down-regulating the expression of GRHL2[J]. Journal of Contemporary Urologic and Reproductive Oncology, 2020, 12(6): 347-352.
- [18] ZHOU Yafu, YAN Jianhua, CHEN Huiguo, et al. MiR-4652-5p targets RND1 to regulate cell adhesion and promote lung squamous cell carcinoma progression[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2022, 194(7): 3031-3043.
- [19] LI Dongshi, HUANG Zhixin, DAI Yingyi, et al. Bioinformatic identification of potential biomarkers and therapeutic targets in carotid atherosclerosis and vascular dementia[J]. Frontiers in Neurology, 2023, 13(1): 1-10.

收稿日期: 2023-08-31

修回日期: 2024-01-23