

# 帕金森病患者治疗期间血清 miR-153, miR-128b 水平表达 与非运动症状的相关性研究

李群英, 甄时建, 何树光, 陈超英

(湖南中医药高等专科学校附属第一医院检验科, 湖南株洲 412000)

**摘要:** 目的 观察并对比帕金森病患者不同治疗时期非运动症状[非运动症状评价量表(NMSS)]与血清微小RNA-153(miR-153)和微小RNA-128b(miR-128b)表达谱,并分析NMSS评分与miR-153和miR-128b之间的相关性,旨在为临床诸多帕金森病患者的非运动症状治疗提供新的干预靶点。方法 前瞻性研究,选取湖南中医药高等专科学校附属第一医院2018年1月~2019年10月期间收治的82例帕金森患者,对所有患者均进行有效追踪,患者分别于治疗前、治疗4,8和12周于该院门诊复查,采用NMSS量表评估患者非运动症状,并检测血清miR-153和miR-128b水平,采用双变量Pearson相关性检验与一般线性回归分析得到线性回归方程,检验血清miR-153和miR-128b对帕金森病患者非运动症状的影响。结果 治疗前血清miR-153和miR-128b表达谱及NMSS评分>治疗4w>治疗8w>治疗12w,差异均有统计学意义( $F=7.640, 134.902, 18.048$ , 均 $P<0.05$ );经相关性分析得出:NMSS评分与血清miR-153和miR-128b表达谱均呈正相关( $r=0.246, 0.486$ , 均 $P<0.001$ );经线性回归分析检验得到血清miR-153线性回归方程: $Y=13.656+1.704X$ ,血清miR-128b: $Y=13.656+22.661X$ ,帕金森患者血清miR-128b水平可能是患者非运动症状的影响因素( $t=8.879, P<0.05$ )。结论 帕金森病患者血清miR-153和miR-128b表达谱与非运动症状密切相关,临床可通过监测并干预血清miR-153和miR-128b表达谱,以此缓解帕金森病患者非运动症状,提高患者预后。

**关键词:** 帕金森病;血清微小RNA-153;微小RNA-128b;非运动症状

中图分类号: R742; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2021)05-120-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.05.027

## Research on Correlation between Expression of Serum miR-153, miR-128b Levels and Non-motor Symptoms in Patients with Parkinson's Disease During Treatment Period

LI Qun-ying, ZHEN Shi-jian, HE Shu-guang, CHEN Chao-ying

(Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Hunan Traditional Chinese Medical College, Hunan Zhuzhou 412000, China)

**Abstract:** **Objective** To observe and compare the expression profiles of non-motor symptoms [non-motor symptoms scale (NMSS)], serum microRNA-153 (miR-153) and microRNA-128b (miR-128b) in patients with Parkinson's disease at different treatment periods, and analyze the correlation between the NMSS score and miR-153 and miR-128b, aiming to provide new intervention targets for the treatment of non-motor symptoms in many patients with Parkinson's disease. **Methods** A prospective study was performed, 82 patients with Parkinson's disease admitted to the First Affiliated Hospital of Hunan Traditional Chinese Medicine College from January 2018 to October 2019 were selected, and all patients were effectively tracked. The patients were reexamined in the outpatient department of the hospital before, at 4w, 8w and 12w of treatment, the NMSS scale was used to assess the symptoms of patients with non-motor symptoms, and detected serum miR-153, miR-128b levels, a bivariate Pearson correlation test and general linear regression analysis were used to obtain a linear regression equation, tested the effect of serum miR-153 and miR-128b on non-motor symptoms in patients with Parkinson's disease. **Results** The expression profiles of serum miR-153 and miR-128b and NMSS score before treatment >at 4w >8w >12w of treatment, there was a statistical significant difference ( $F=7.640, 134.902, 18.048$ , all  $P<0.05$ ). The correlation analysis showed that the NMSS score had positive correlation with the expression profiles of serum miR-153 and miR-128b ( $r=0.246, 0.486$ , all  $P<0.001$ ). The linear regression equation of serum miR-153 was obtained by linear regression analysis:  $Y=13.656+1.704X$ , serum miR-128b:  $Y=13.656+22.661X$ , and the level of serum miR-128b in patients with Parkinson's disease might be the influencing factor

作者简介: 李群英(1979-),女,硕士学历,主管技师,专业:临床检验技术, E-mail: oocp0236@163.com。

of non-motor symptoms ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression profiles of serum miR-153 and miR-128b in patients with Parkinson's disease were closely related to non-motor symptoms. Clinically, the expression profiles of serum miR-153 and miR-128b can be monitored and intervened to relieve non-motor symptoms and improve prognosis in patients with Parkinson's disease.

**Keywords:** Parkinson's disease; serum microRNA-153; microRNA-128b; non-motor symptoms

帕金森是中老年中枢神经系统常见病, 主要以运动缓慢、静止性震颤、步态、姿势异常为特征性表现, 发病率、致残率、死亡率均较高<sup>[1]</sup>。病理学研究结果显示, 除上述特征性临床表现外, 还存在诸多非运动症状, 如感觉异常、自主神经紊乱及精神疾病等, 除了疾病本身给患者造成严重困扰外, 对患者生活质量也造成极大影响<sup>[2-3]</sup>。帕金森作为全球第二大神经病变, 尚缺乏有效的治疗方案, 目前基因治疗是最有前景的治疗方案。微小RNA (micro RNA, miRNA) 是机体内源性微小非编码单链RNA, 主要作用于靶基因的特定序列, 在转录完成后, 促使靶基因活性受到抑制并降解, 调控基因的表达, 在生物细胞增殖、分化、凋零等过程中扮演不可或缺的角色<sup>[4]</sup>。血清miR-153, miR-128b均属于脑特异性miRNA, 其有效保障了中枢神经系统的健康发育, 个体罹患帕金森后, 中枢神经系统受损, 受损细胞主动分泌miRNA并释放入血, 造成脑部损伤患者血液中miRNA表达谱发生异常改变<sup>[5-6]</sup>。但临床关于miR-153和miR-128b与帕金森患者非运动症状之间的研究较少。鉴于此, 本研究旨在探析miR-153和miR-128b在帕金森患者机体中表达情况, 并分析其与帕金森患者非运动症状之间的关系, 旨在为缓解帕金森患者临床症状, 促进良性预后提供新的干预靶点。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 本次研究方法思路均取得我院医学伦理委员会审核通过。前瞻性研究选取我院2018年1月~2019年10月期间收治的82例帕金森患者, 其中男性43例, 女性39例; 年龄55~78岁, 平均年龄 $66.52 \pm 6.45$ 岁; 吸烟者70例, 饮酒者68例; 并发症: 糖尿病67例, 高血压70例, 冠心病45例(每位患者可并发单种或多种疾病)。纳入标准: ①满足帕金森相关指南<sup>[7]</sup>: a. 单侧发病; b. 伴静止性震颤; c. 病程呈进行性加重; d. 症状长期非对称, 患病侧明显; e. 对左旋多巴胺反应良好, 且反应持续时间 $\geq 5$ 年; f. 伴左旋多巴诱导舞蹈症; ②患者及家属均知晓本次研究目的并自愿签署知情同意书。排除标准: ①伴重要脏器功能受损者; ②并发认知功能缺陷, 不能有效配合研究者; ③并发其他脑血管疾病, 如脑血管疾病后遗症、脑损伤等。

**1.2 仪器与试剂** 总RNA试剂盒: 赛默飞世尔中国公司; 一次性采血器: 河南省三强医疗器械有限

公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 非运动症状评估方法:** 采用非运动症状评价量表 (non motor symptoms scale, NMSS)<sup>[8]</sup> 评估, 包括睡眠、疲劳、心血管系统等8项内容, 按照近1个月内症状出现的频率 (1~4个等级标准) 与严重程度 (0~3等级制), NMSS总分 = 程度  $\times$  频率, 得分越高表明帕金森患者非运动症状越严重。

**1.3.2 血清学检测方法:** 血清miR-153, miR-128b水平检测: 入院抽取5ml空腹肘静脉血, 3500r/min离心15min, 分离上清液保存于 $-30^{\circ}\text{C}$ 待检。采用相对定量分析法分析、解读数据, 得出血清miR-153, miR-128b表达谱。

**1.3.3 随访方法:** 所有患者均参照帕金森指南给予常规抗帕金森病药物治疗, 包括多巴胺受体激动剂、左旋多巴、抗氧化应激等药物, 本研究中患者在门诊给予: 盐酸多奈哌齐胶囊、盐酸普拉克索片, 第1周起始剂量0.375mg/天, 第2周0.75mg/天, 每周加量一次, 每日最大剂量 $\leq 4.5\text{mg}$ , 3次/天, 多巴丝肼片治疗, 375~780mg/天, 3次/天, 在此基础上联合认知功能训练。对所有患者均进行有效追踪, 患者分别于治疗前、治疗4, 8, 12周于我院门诊复查, 采用NMSS量表评估患者非运动症状, 并检测血清miR-153, miR-128b水平, 所有入组患者随访期间的非运动症状评估与血清学检测均由同一组医师进行。

**1.4 统计学分析** 采用SPSS 23.0统计分析软件, 符合正态分布的计量资料以均值 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用独立样本 $t$ 检验, 组内比较采用配对 $t$ 检验, 多组间比较采用单因素方差分析; 计数资料以率表示, 两组间比较采用 $\chi^2$ 检验, 采用一般线性回归分析得到线性回归方程, 检验血清miR-153, miR-128b对帕金森患者非运动症状的影响; 相关性分析采用双变量Pearson相关性检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 治疗不同阶段血清miR-153, miR-128b表达谱及NMSS评分对比** 见表1。治疗前血清miR-153, miR-128b表达谱及NMSS评分 $>$ 治疗4周 $>$ 治疗8周 $>$ 治疗12周, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$ )。

表1 治疗不同阶段血清 miR-153, miR-128b 表达谱及 NMSS 评分对比 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	治疗前	治疗4周	治疗8周	治疗12周	F	P
miR-153 (RQ 值)	2.08 ± 1.08	1.99 ± 0.97	1.72 ± 0.85	1.48 ± 0.59	7.640	< 0.001
miR-128b (RQ 值)	2.41 ± 0.26	2.29 ± 0.23	2.02 ± 0.17	1.82 ± 0.15	134.902	< 0.001
NMSS (分)	73.45 ± 18.45	71.52 ± 17.86	65.12 ± 15.23	55.23 ± 13.41	18.048	< 0.001

注: RQ 值是比较的 Ct 值, Ct 值是指每个反应管内的荧光信号到达设定的阈值时所经历的循环数。

2.2 治疗不同阶段血清 miR-153, miR-128b 表达谱与 NMSS 评分之间的相关性 见图 1、图 2。经相关性分析得出, NMSS 评分与血清 miR-153,

miR-128b 表达谱均呈正相关 ( $r=0.246, 0.486, P < 0.001$ )。

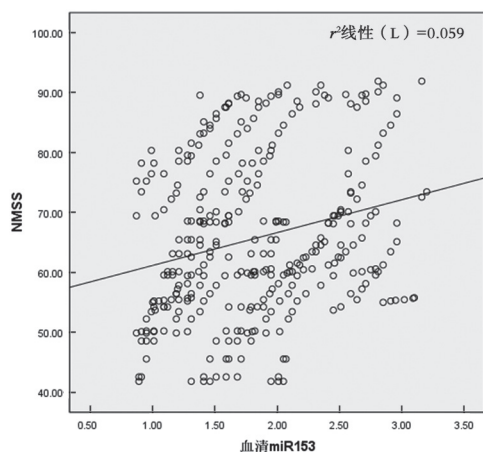


图1 血清 miR-153 与 NMSS 评分之间的相关性

2.3 治疗不同阶段血清 miR-153, miR-128b 表达谱与 NMSS 评分之间的线性回归分析 见表 2。经线性回归分析检验得到血清 miR-153 线性

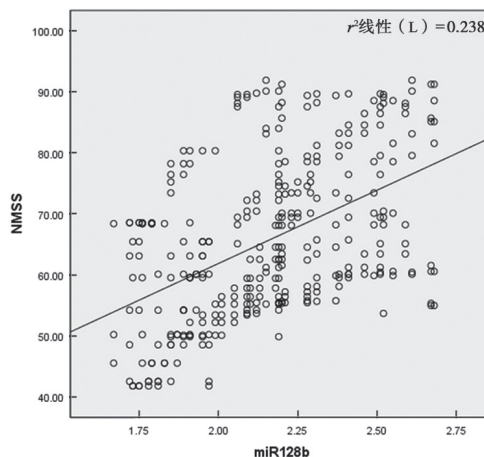


图2 miR-128b 与 NMSS 评分之间的相关性

回归方程:  $Y=13.656+1.704X$ , 血清 miR-128b:  $Y=13.656+22.661X$ , 帕金森患者血清 miR-128b 水平可能是患者非运动症状的影响因素 ( $P < 0.05$ )。

表2 治疗不同阶段血清 miR-153, miR-128b 表达谱与 NMSS 评分之间的线性回归分析

指标	B	标准误差	标准系数	t	P	B 的 95%CI
常量	13.656	5.172	-	2.641	0.009	3.482~23.831
血清 miR-153	1.704	1.167	0.076	1.460	0.145	-0.591~3.998
miR-128b	22.661	2.552	0.460	8.879	0.000	17.640~27.682

### 3 讨论

帕金森病的治疗需求迫在眉睫, 随着对 miRNA 导致疾病发病的作用认知不断加深, 临床逐渐开展以基因作为治疗靶点的方案。因 miRNA 亚型诸多, 帕金森疾病发病机制复杂, 以单基因作为干预靶点的治疗效果难达预期, 但 miRNA 对编码基因的多途径调控, 为各类疾病的治疗开辟了新的途径<sup>[9-10]</sup>。

miRNA 是生物进化过程中保守性较高的内源性非编码小分子, 对靶 mRNA 具有显著的负性调控作用, 其在体内发挥的生物学作用主要体现在如下几点: ① miRNA 主要表达于胚胎发育、细胞分化、代谢、凋亡等过程中, 具有广泛的、显著的基因调节功能<sup>[11]</sup>; ② miRNA 具有极强的稳定性, 难以被核糖苷酸酶降解, 即使在各种极其恶劣环境下, 如强酸、煮沸等, miRNA 表达变化不明显<sup>[12]</sup>; ③ miRNA 可通过多元化途径与复杂的调节

网络系统对靶基因进行调控, 各种 miRNA 及其亚型之间相互协同、拮抗, 共同参与信号传导, 但在不同组织中, 其占主导地位均是该组织中特异性的 miRNA, miRNA 表达具有显著的时间特异性与组织特异性<sup>[13-14]</sup>; ④ miRNA 也在血液、组织细胞、羊水、尿液等体液中表达, 且外周血液中 miRNA 水平监测相对于组织中监测更为便捷、且具有较高的准确性。由此可见, 外周血中 miRNA 含量可作为疾病治疗及预后的新型评估生物学标志的科学性<sup>[15-16]</sup>。血清微小 RNA-153 (microRNA RNA-153, miR-153) 与微小 RNA-128b (microRNA RNA-128b, miR-128b) 均属于 miRNA 重要亚型, 其与帕金森病理发生过程密不可分; 血清 miR-153 和 miR-128b 水平增加, 作为脑部组织特异性 miRNA 亚型, 在介导炎症凋亡、受体功能等方面均具有重要意义。本研究结果显示, 治疗前血清 miR-153 和



miR-128b 表达谱及 NMSS 评分 > 治疗 4 周 > 治疗 8 周 > 治疗 12 周, 表明帕金森病患者血清 miR-153 和 miR-128b 表达谱与非运动症状密切相关。分析其原因可能为: ①患者罹患帕金森疾病后, 脑部组织细胞受损, 造成血脑屏障受损, 脑部组织中特异性 miR-153 和 miR-128b 沿着受损部位浸入血液中, 并随着血液循环到达全身, 且疾病越严重, 血清 miR-153 和 miR-128b 水平表达越高<sup>[17-18]</sup>。②患病后, 机体神经元受到损害, miR-128 可对神经元生长分化进行调控, 通过下调 miR-128b 水平, 多巴胺含量及神经元兴奋性均随之下降, 进而影响患者认知功能; ③ miR-128b 还能够调节 PCMI, 进而对脑部皮层发育产生影响; ④ miR128b 可与人轴抑制蛋白 1 特异性结合, 诱发神经炎症反应异常, 加重病情<sup>[19-20]</sup>。由此推测能否将血清 miR-153 和 miR-128b 表达谱作为帕金森病患者非运动症状的预估指标。

为进一步验证上述猜测, 本研究进一步经相关性分析得出, NMSS 评分与血清 miR-153 和 miR-128b 表达谱均呈正相关, 该结果提示临床可通过监测并干预血清 miR-153 和 miR-128b 表达谱, 以此缓解帕金森病患者非运动症状。分析造成该种现象的原因可能为: 当血清 miR-153 和 miR-128b 水平升高, 造成个体神经元凋亡, 帕金森病患者后, 大血管内皮细胞退化, 血脑屏障受损、神经元丢失, 最终导致患者个体神经保护功能下降, 病情加重。故考虑将血清 miR-153, miR-128b 表达谱作为帕金森病患者非运动障碍情况评估的有效指标, 但本研究仍具有一定的局限性, 如纳入的样本数量较少, 且缺乏个案分析, 本研究经线性分析得知血清 miR-153 不是帕金森病患者非运动症状的影响因素, 可能与本次研究纳入的样本数量较少有关。因此本研究结果的可信度还需在未来开展更多的相关性研究加以证实, 旨在为临床诸多帕金森病患者的非运动症状治疗提供新的干预靶点。

综上所述, 帕金森病患者血清 miR-153 和 miR-128b 表达谱与非运动症状密切相关, 临床可通过监测并干预血清 miR-153 和 miR-128b 表达谱, 以此缓解帕金森病患者非运动症状, 提高患者预后。

#### 参考文献:

- [1] MICHAL FREEDMAN D, WU Jincao, CHEN Honglei, et al. Associations between cancer and Parkinson's disease in U.S. elderly adults[J]. International Journal of Epidemiology, 2016, 45(3): 741-751.
- [2] GOEDERT M, COMPSTON A. Parkinson's disease - the story of an eponym[J]. Nature Reviews Neurology, 2018, 14(1): 57-62.
- [3] ARMSTRONG R A. Visual dysfunction in Parkinson's disease[J]. International Review of Neurobiology, 2017, 134(6): 921-946.
- [4] 周梅, 余丹. 血清微小 RNA-221, 微小 RNA-214 在帕金森病中的表达及其与帕金森综合评分的相关性研究[J]. 中国医刊, 2020, 55 (2): 206-209.
- [5] ZHOU Mei, YU Dan. Research on expression of serum microRNA-221 and microRNA-214 in Parkinson's disease and their correlation with Parkinson's comprehensive score [J]. Chinese Medical Journal, 2020, 55 (2): 206-209.
- [6] WANG Jin, CHEN Jinyun, SEN S. MicroRNA as biomarkers and diagnostics[J]. Journal of Cellular Physiology, 2016, 231(1): 25-30.
- [7] LIN Yihai, WU Zhangyi. MicroRNA-128 inhibits proliferation and invasion of glioma cells by targeting COX-2[J]. Gene, 2018, 658(6): 63-69.
- [8] 中华医学会神经病学分会帕金森病及运动障碍学组. 中国帕金森病治疗指南 (第三版)[J]. 中华神经科杂志, 2014, 43(6): 428-433.
- [9] Chinese Society of Parkinson's Disease and Movement Disorders. Chinese guidelines for the treatment of Parkinson's disease (3rd Edition) [J]. Chinese Journal of Neurology, 2014, 43 (6): 428-433
- [10] STORCH A, SCHNEIDER C B, KLINGELHÖFER L, et al. Quantitative assessment of non-motor fluctuations in Parkinson's disease using the Non-Motor Symptoms Scale (NMSS)[J]. Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria : 1996), 2015, 122(12): 1673-1684.
- [11] 刘郁, 张静静, 吕荣祥, 等. miR-143-3p 和 BCL2 在早发性帕金森病患者血清胞外囊泡中异常表达[J]. 中华神经医学杂志, 2019, 18(1): 17-21.
- [12] LIU Yu, ZHANG Jingjing, LÜ Rongxiang, et al. Abnormal expressions of micro RNA-143-3p and B-cell lymphoma-2 in serum extracellular vesicles of patients with early-onset Parkinson's disease [J]. Chinese Journal of Neuromedicine, 2019, 18 (1): 17-21
- [13] 乔迪, 江沛, 伊新艳, 等. 微小 RNA 在帕金森病中调节  $\alpha$ -突触核蛋白表达的研究进展[J]. 中南药学, 2017, 15(8): 1085-1088.
- [14] QIAO Di, JIANG Pei, YI Xinyan, et al. Role of microRNAs in regulating  $\alpha$ -synuclein expression in Parkinson's disease [J]. Central South Pharmacy, 2017, 15 (8): 1085-1088.
- [15] LEE H C, JUNG S H, HWANG H J, et al. WIG1 is crucial for AGO2-mediated ACOT7 mRNA silencing via miRNA-dependent and -independent mechanisms[J]. Nucleic Acids Research, 2017, 45(11): 6894-6910.
- [16] WANG C, GUPTA P, FRESSIGNE L, et al. TEG-1 CD2BP2 controls miRNA levels by regulating miRISC stability in *C. elegans* and human cells[J]. Nucleic Acids Research, 2017, 45(3): 1488-1500.
- [17] ZANGARI J, ILIE M, ROUAUD F, et al. Rapid decay of engulfed extracellular miRNA by XRN1 exonuclease promotes transient epithelial-mesenchymal transition[J]. Nucleic Acids Research, 2017, 45(7): 4131-4141.