

# 急性脑梗死患者血清 CCR5 和 miR-211-5p 表达水平及其临床意义

牛立远<sup>a</sup>, 刘会雪<sup>a</sup>, 史立彬<sup>b</sup> (石家庄平安医院 a. 急诊内科; b. 急诊科, 石家庄 050021)

**摘要:** 目的 探究急性脑梗死 (acute cerebral infarction) 患者血清 CC 趋化因子细胞受体 5 (chemokine C-C motif receptor type 5, CCR5) 和微小核糖核酸 (microRNA, miR) -211-5p 表达水平及其临床意义。方法 选取 2019 年 2 月~2021 年 2 月石家庄平安医院收治的 130 例急性脑梗死患者 (观察组), 另选同期 130 例健康体检者作为对照 (对照组)。实时荧光定量 PCR 检测血清中 CCR5 信使 RNA (messengerRNA, mRNA) 和 miR-211-5p 相对表达水平; 酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 法检测血清中 CCR5 水平; Pearson 法分析 CCR5 mRNA 和 miR-211-5p 表达水平与美国国立卫生研究院卒中量表 (the National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS) 评分相关性; 分析 CCR5 mRNA 和 miR-211-5p 表达水平与急性脑梗死患者临床病理特征关系; 受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析 CCR5 mRNA 和 miR-211-5p 表达水平对急性脑梗死的诊断价值; Kaplan-Meier 生存曲线分析 CCR5 mRNA 和 miR-211-5p 表达水平与急性脑梗死预后生存的关系。结果 与对照组相比, 观察组患者血清中 CCR5 mRNA 表达 ( $1.49 \pm 0.29$  vs  $1.03 \pm 0.24$ ) 和蛋白含量水平 ( $290.96 \pm 10.35\text{ng/ml}$  vs  $152.37 \pm 8.97\text{ng/ml}$ ) 显著增高, miR-211-5p 相对表达水平 ( $0.59 \pm 0.18$  vs  $0.96 \pm 0.22$ ) 显著降低, 差异均有统计学意义 ( $t=13.933, 115.374, 14.841$ , 均  $P < 0.001$ ); 轻度组、中度组、重度组 CCR5 mRNA ( $1.26 \pm 0.21, 1.58 \pm 0.22, 1.77 \pm 0.24$ ) 和蛋白含量水平 ( $257.34 \pm 7.26\text{ng/ml}, 289.31 \pm 9.36\text{ng/ml}, 357.31 \pm 8.12\text{ng/ml}$ ) 依次增加, miR-211-5p 相对表达水平 ( $0.74 \pm 0.17, 0.61 \pm 0.1, 0.28 \pm 0.18$ ) 依次降低, 差异均有统计学意义 ( $F=57.145, 1396.953, 73.759$ , 均  $P < 0.001$ )。急性脑梗死患者 CCR5 mRNA 表达水平与 miR-211-5p 表达水平呈负相关性 ( $r=-0.341, P<0.001$ ), 与 NIHSS 评分呈正相关性 ( $r=0.315, P<0.001$ ); miR-211-5p 表达水平与 NIHSS 评分具有显著的负相关性 ( $r=-0.475, P<0.001$ )。CCR5 mRNA 和 miR-211-5p 表达水平与急性脑梗死患者脑梗死体积、OCSF 分型及血脂异常有关 ( $P < 0.05$ ), 与性别、梗死部位无关 ( $P>0.05$ )。CCR5 mRNA 和 miR-211-5p 诊断急性脑梗死的曲线下面积为 0.834, 0.868, 二者联合诊断的曲线下面积为 0.921。CCR5 mRNA 高表达患者的 90 天生存率显著低于低表达患者 ( $61.97\%$  vs  $81.36\%$ ), miR-211-5p 高表达患者的 90 天生存率显著高于低表达患者 ( $80.65\%$  vs  $61.76\%$ ), 差异均有统计学意义 ( $\chi^2=5.853, 5.589$ , 均  $P < 0.05$ )。结论 急性脑梗死患者血清 CCR5 mRNA 和蛋白表达水平增高, miR-211-5p 表达水平降低, 均与患者的病情程度有关, 对急性脑梗死有一定诊断价值。

**关键词:** 急性脑梗死; CC 趋化因子细胞受体 5; 微小核糖核酸 -211-5p

**中图分类号:** R743.3; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 01-128-07

**doi:**10.3969/j.issn.1671-7414.2023.01.024

## Expression Levels and Their Clinical Significance of Serum CCR5 and miR-211-5p in Patients with Acute Cerebral Infarction

NIU Li-yuan<sup>a</sup>, LIU Hui-xue<sup>a</sup>, SHI Li-bin<sup>b</sup>

(a. Emergency Department of Internal Medicine; b. Department of Emergency, Shijiazhuang Ping'an Hospital, Shijiazhuang 050021, China)

**Abstract: Objective** To explore the expression levels and clinical significance of serum chemokine C-C motif receptor type 5 (CCR5) and microRNA-211-5p (miR-211-5p) in patients with acute cerebral infarction. **Methods** A total of 130 patients with acute cerebral infarction admitted to Shijiazhuang Ping'an Hospital from February 2019 to February 2021 were selected (observation group), and 130 healthy subjects during the same period were selected as control group (control group). Real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect the relative expression levels of CCR5 messenger RNA (mRNA) and miR-211-5p in serum. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method to detect the level of CCR5 in serum. Pearson was used to analyze the correlation between the expression levels of CCR5 mRNA and miR-211-5p and the National Institutes of Health

**基金项目:** 河北省中医药管理局科研项目 (2010132)。

**作者简介:** 牛立远 (1980-), 男, 本科, 主治医师, 研究方向: 内科, E-mail: 79156591@qq.com。

Stroke Scale (NIHSS) score. Analysis of the relationship between the expression levels of CCR5 mRNA and miR-211-5p and the clinicopathological characteristics of patients with acute cerebral infarction. Receiver operating characteristic curve (ROC curve) was used to analyze the diagnostic value of CCR5 mRNA and miR-211-5p expression levels for acute cerebral infarction. Kaplan-Meier survival curve analysis of the relationship between the expression levels of CCR5 mRNA and miR-211-5p and the prognosis and survival of acute cerebral infarction. **Results** Compared with the control group, the relative expression level of CCR5 mRNA expression ( $1.49 \pm 0.29$  vs  $1.03 \pm 0.24$ ) and protein content level ( $290.96 \pm 10.35$  ng/ml vs  $152.37 \pm 8.97$  ng/ml) in the serum of patients in the observation group was significantly increased, and the relative expression level of miR-211-5p ( $0.59 \pm 0.18$  vs  $0.96 \pm 0.22$ ) was significantly reduced ( $t=13.933, 115.374, 14.841$ , all  $P<0.05$ ). CCR5 mRNA ( $1.26 \pm 0.21$ ,  $1.58 \pm 0.22$ ,  $1.77 \pm 0.24$ ) and protein levels ( $257.34 \pm 7.26$  ng/ml,  $289.31 \pm 9.36$  ng/ml,  $357.31 \pm 8.12$  ng/ml) in mild, moderate and severe groups increased sequentially, and the relative expression level of miR-211-5p ( $0.74 \pm 0.17$ ,  $0.61 \pm 0.15$ ,  $0.28 \pm 0.18$ ) decreased sequentially, and the difference was statistically significant ( $F=54.861, 1296.567, 68.629$ , all  $P<0.001$ ). The expression level of CCR5 mRNA in patients with acute cerebral infarction had a significant negative correlation with the expression level of miR-211-5p ( $r=-0.341$ ,  $P<0.001$ ), and a significant positive correlation with the NIHSS score ( $r=0.315$ ,  $P<0.001$ ). The expression level of miR-211-5p had a significant negative correlation with NIHSS score ( $r=-0.475$ ,  $P<0.001$ ). The expression levels of CCR5 mRNA and miR-211-5p were related to cerebral infarction volume, OCSF classification and dyslipidemia in patients with acute cerebral infarction ( $P<0.05$ ), but not related to gender and infarct location ( $P>0.05$ ). The areas under the curve of CCR5 mRNA and miR-211-5p in the diagnosis of acute cerebral infarction were 0.834 and 0.868, and the area under the curve of the combined diagnosis of the two was 0.921. The 90-day survival rate of patients with high expression of CCR5 mRNA was significantly lower than that of patients with low expression (61.97% vs 81.36%), and the 90-day survival rate of patients with high expression of miR-211-5p was significantly higher than that of patients with low expression (80.65% vs 61.76%), the differences were statistical significant ( $\chi^2=5.853, 5.589$ ,  $P<0.05$ ). **Conclusion** In the expression levels of serum CCR5 mRNA and protein in patients with acute cerebral infarction were increased, and the expression levels of miR-211-5p were decreased, which were related to the severity of the disease, and have certain diagnostic value for acute cerebral infarction.

**Keywords:** acute cerebral infarction; chemokine C-C motif receptor type 5; microRNA-211-5p

急性脑梗死 (acute cerebral infarction) 是一种常见的神经系统疾病, 常发于中老年人<sup>[1]</sup>, 是指由于脑供血不足引起的脑缺血和缺氧所致的脑组织坏死<sup>[2]</sup>。急性脑梗死发病率和死亡率高, 易复发, 且常伴有动脉粥样硬化、糖尿病和冠心病等并发症<sup>[3]</sup>。因此, 急性脑梗死的早期及时诊断、评估和治疗对提高疗效和改善预后具有重要意义。CC趋化因子细胞受体5 (chemokine C-C motif receptor type 5, CCR5) 属于CC类趋化因子家族, 是一种G蛋白偶联受体, CCR5不仅存在于免疫细胞中, 并且在神经元、神经胶质和血管细胞等脑细胞中均可检测到<sup>[4-5]</sup>。研究显示, CCR5及其配体在脑皮质缺血后表达显著上调<sup>[6]</sup>。微小核糖核酸 (microRNA, miR) 属于非编码单链RNA, 其通常长度较短 (约18~22个核苷酸), 在转录后水平上负调控靶基因的表达<sup>[7-8]</sup>。已证实多个miRNA成员均对急性脑梗死诊断和预后评估有一定参考价值<sup>[9-10]</sup>。另外, 研究证实miR-211-5p参与调控缺血再灌注损伤的保护机制<sup>[11]</sup>。本研究拟通过检测急性脑梗死患者血清CCR5和miR-211-5p水平变化, 并探讨其临床意义, 现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象 选择2019年2月~2021年2月石

家庄平安医院治疗的急性脑梗死患者130例为观察对象 (观察组), 其中男性74例, 女性56例, 年龄62~80 ( $67.34 \pm 7.21$ ) 岁, 吸烟史50例, 饮酒史64例, 高血压史78例, 高脂血症史51例, 糖尿病史45例, 冠心病史34例。观察组所有患者均在发病后72 h内入院, 入院时均出现神经症状和体征, 经磁共振成像 (magnetic resonance imaging, MRI) 证实为急性脑梗死。脑梗死部位位于基底节58例, 脑叶72例。参考美国国立卫生研究院卒中量表 (the National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS) 评分标准<sup>[12]</sup>在入院时对观察对象进行评分, 并依次分为轻度组 (NIHSS  $\leq 6$  分,  $n=55$ )、中度组 ( $7 \leq \text{NIHSS} \leq 14$  分,  $n=46$ )、重度组 (NIHSS  $\geq 15$  分,  $n=29$ )。同期选取医院健康体检者130例为对照组, 其中男性70例, 女性60例, 年龄60~79 ( $66.87 \pm 3.15$ ) 岁, 吸烟史55例, 饮酒史59例, 高血压史67例, 高脂血症史45例, 糖尿病史36例, 冠心病史28例。观察组和对照组年龄、性别、吸烟史、饮酒史、高血压史、高脂血症史、糖尿病史、冠心病史等一般资料比较差异均无统计学意义 (均  $P>0.05$ )。所有患者自出院当天便以门诊或电话的方式进行随访 (90天), 随访截止到患者死亡或2021年5月。

纳入标准: ①在72 h内入院, 首次发生脑梗死; ②符合第四届脑血管学术会议制定的急性脑梗死诊断标准, 且经脑部MRI证实; ③每个参与者及其家属均签署书面知情同意书; ④临床资料完整。排除标准: ①并发其他脑出血疾病或免疫系统疾病者; ②并发肿瘤者; ③肝肾功能严重受损者; ④脑梗死部位位于脑干和胼胝体部位的患者。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 RNA提取试剂盒, 反转录试剂盒, 荧光定量检测试剂盒(南京诺唯赞生物科技股份有限公司); CCR5 ELISA检测试剂盒(上海酶联生物科技有限公司); AU5800全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特公司); 500型qRT-PCR检测仪(美国ABI公司); Nano-600核酸定量仪(上海嘉鹏科技有限公司)。

### 1.3 方法

1.3.1 资料收集及血清样品采集: 收集所有参与者的年龄、性别、体重、高血压、糖尿病、家族史等基线资料。观察组在入院次日, 对照组在体检当天, 空腹状态下抽取所有参与者静脉血样5 ml, 离心, 收集上清, 置于-80℃冰箱中备用。

1.3.2 指标检测: 利用全自动生化分析仪检测总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)。

采用实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)检测血清中CCR5信使RNA(messenger RNA, mRNA)和miR-211-5p表达水平。使用RNA提取试剂盒提取参与者血清中的总RNA, 核酸定量仪检测RNA的浓度与质量, 通过反转录试剂盒反转录得到cDNA, 在qRT-PCR仪进行扩增。内参选择 $\beta$ -Actin或U6, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算血清中CCR5 mRNA和miR-211-5p表达水平。CCR5引物序列: 上游5'-AGCTCCCTTAAGCCATGACT-3', 下游5'-CAGTACTAGCCCAATTGCCA-3'; miR-211-5p引物序列: 上游5'-GATTCAAAGCGTAAGCATCG-3', 下游5'-CAAAGAGGCGCATTA-3';  $\beta$ -Actin引物序列: 上游5'-GGCTAAATGCCAGTATGC-3', 下游5'-ATGCAAGGCTGAATGGAC-3'; U6引物序列: 上游5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 下游: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。

通过CCR5 ELISA检测试剂盒检测血清中CCR5的蛋白水平, 操作严格遵循试剂盒说明书进行。1.3.3 梗死体积和血脂异常判断标准: 发病3天后根据CT检查计算脑梗死体积: 梗死体积( $\text{cm}^3$ ) =  $\pi/6 \times \text{长} \times \text{宽} \times \text{检测阳性层数}$ 。参照Adama分

类法分为三类<sup>[13]</sup>, 其中梗死体积 $< 1.5 \text{ cm}^3$ 小梗死;  $1.5 \text{ cm}^3 \leq \text{梗死体积} < 3.0 \text{ cm}^3$ 为中梗死; 梗死体积 $\geq 3.0 \text{ cm}^3$ 为大梗死。参照《2016修订版中国成人血脂异常防治指南》中血脂异常评判标准<sup>[14]</sup>: 血清TC $\geq 6.22 \text{ mmol/L}$ , TG $\geq 2.26 \text{ mmol/L}$ , HDL-C $< 1.04 \text{ mmol/L}$ , LDL-C $\geq 4.14 \text{ mmol/L}$ 。

1.4 统计学分析 运用SPSS25.0进行统计学分析。计量资料以均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )描述, 两组间比较采用独立样本 $t$ 检验, 三组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较行SNK- $q$ 检验; Pearson法分析CCR5 mRNA和miR-211-5p表达水平与美国国立卫生研究院卒中量表(the National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS)评分相关性; 受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析CCR5 mRNA和miR-211-5p表达水平对急性脑梗死的诊断价值。通过Kaplan-Meier生存曲线和log-rank分析CCR5 mRNA和miR-211-5p表达水平与急性脑梗死预后的关系。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 对照组与观察组血清CCR5, miR-211-5p表达水平比较 见表1。观察组血清CCR5 mRNA及蛋白表达水平高于对照组, miR-211-5p表达水平低于对照组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$ )。

表1 对照组与观察组血清CCR5, miR-211-5p表达水平比较( $n=130, \bar{x} \pm s$ )

项目	对照组	观察组	$t$ 值	$P$ 值
CCR5 mRNA	$1.03 \pm 0.24$	$1.49 \pm 0.29$	13.933	0.000
CCR5 (ng/ml)	$152.37 \pm 8.97$	$290.96 \pm 10.35$	115.374	0.000
miR-211-5p	$0.96 \pm 0.22$	$0.59 \pm 0.18$	14.841	0.000

2.2 观察组不同严重程度患者血清CCR5, miR-211-5p表达水平比较 见表2。轻度组血清CCR5 mRNA及蛋白水平均高于中度组、重度组, 重度组高于中度组( $P < 0.05$ ); 轻度组、中度组、重度组血清miR-211-5p表达水平逐次降低, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$ )。

2.3 急性脑梗死患者血清CCR5 mRNA, miR-211-5p表达水平和NIHSS评分之间的相关性分析 Pearson相关性分析结果显示, 急性脑梗死患者血清CCR5 mRNA表达水平与miR-211-5p表达水平呈显著负相关( $r=-0.341, P=0.000$ ), 与NIHSS评分呈显著正相关( $r=0.315, P=0.000$ ); miR-211-5p表达水平与NIHSS评分呈显著负相关( $r=-0.475, P=0.000$ )。

2.4 CCR5 mRNA, miR-211-5p表达水平与急性脑梗死患者临床病理特征的关系分析 见表3。急性脑梗死患者血清CCR5 mRNA表达水平和miR-211-5p



表达水平与患者脑梗死体积、OCSF 分型及血脂异常 有关 ( $P < 0.05$ ), 与性别、梗死部位无关 ( $P > 0.05$ )。

表 2 观察组不同严重程度患者血清 CCR5, miR-211-5p 表达水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

项目	轻度组 ( $n=55$ )	中度组 ( $n=46$ )	重度组 ( $n=29$ )	F 值	P 值
CCR5 mRNA	$1.26 \pm 0.21$	$1.58 \pm 0.22^a$	$1.77 \pm 0.24^{ab}$	57.145	0.000
CCR5 (ng/ml)	$257.34 \pm 7.26$	$289.31 \pm 9.36^a$	$357.31 \pm 8.12^{ab}$	1396.953	0.000
miR-211-5p	$0.74 \pm 0.17$	$0.61 \pm 0.15^a$	$0.28 \pm 0.18^{ab}$	73.759	0.000

注: <sup>a</sup> 与轻度组相比,  $t=10.274, 14.256, 27.443, 74.714, 5.558, 17.124$ , 均  $P < 0.05$ ; <sup>b</sup> 与中度组相比,  $t=5.140, 49.187, 11.890$ , 均  $P < 0.05$ 。

表 3 CCR5 mRNA, miR-211-5p 水平与临床病理特征的关系 ( $\bar{x} \pm s$ )

项 目	n	CCR5 mRNA	t	P	miR-211-5p	t	P 值
性别 男	74	$1.48 \pm 0.21$	0.516	0.607	$0.60 \pm 0.18$	0.673	0.502
女	56	$1.50 \pm 0.23$			$0.58 \pm 0.15$		
梗死部位 基底节	58	$1.46 \pm 0.25$	1.185	0.238	$0.56 \pm 0.13$	1.923	0.057
脑叶	72	$1.51 \pm 0.23$			$0.61 \pm 0.16$		
脑梗死体积 小梗死	57	$1.19 \pm 0.17$	95.822	0.000	$0.86 \pm 0.18$	214.725	0.000
中梗死	32	$1.62 \pm 0.24$			$0.57 \pm 0.16$		
大梗死	41	$1.81 \pm 0.28$			$0.23 \pm 0.07$		
OCSF 分型 完全及部分前循环梗死	71	$1.25 \pm 0.26$	10.980	0.000	$0.76 \pm 0.21$	11.562	0.000
后循环梗死以及腔隙性脑梗死	59	$1.78 \pm 0.29$			$0.39 \pm 0.14$		
血脂异常 是	79	$1.29 \pm 0.28$	9.720	0.000	$0.74 \pm 0.22$	10.812	0.000
否	51	$1.80 \pm 0.31$			$0.36 \pm 0.15$		

2.5 CCR5 mRNA, miR-211-5p 表达水平对急性脑梗死发生的诊断价值 见图 1。ROC 曲线分析结果显示, CCR5 mRNA 截断值为 1.423 时, 诊断急性脑梗死的敏感度和特异度分别为 63.85% (83/130), 96.15% (125/130), ROC 曲线下面积为 0.834 (95% CI: 0.785~0.882,  $P < 0.05$ ); miR-211-5p 截断值为 0.672 时, 诊断急性脑梗死的敏感度和特异度分别为 80.77% (105/130), 78.46% (102/130), ROC 曲线下面积为 0.868 (95% CI: 0.825~0.910,  $P < 0.05$ ); 二者联合诊断的敏感度和特异度分别为 82.31% (107/130), 86.15% (112/130), ROC 曲线下面积为 0.921 (95% CI: 0.890~0.952,  $P < 0.05$ ), 联合诊断价值高于单一指标。

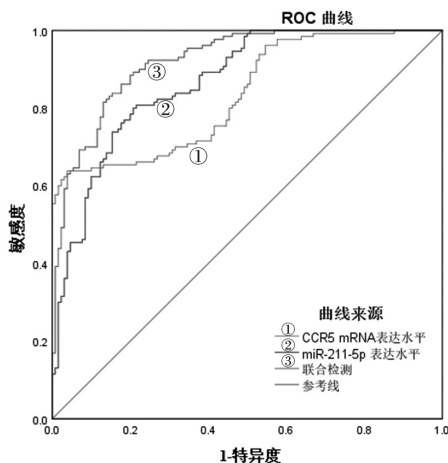


图 1 ROC 曲线分析 CCR5 mRNA, miR-211-5p 水平对急性脑梗死的诊断价值

2.6 CCR5 mRNA, miR-211-5p 表达水平对急性脑梗死患者预后的影响 见图 2。130 例急性脑梗死患者随访 90 天, 平均随访时间为 40 天, 随访期间死亡 38 例, 根据 CCR5 mRNA 和 miR-211-5p 表达水平将患者分为 CCR5 mRNA 高表达组 ( $>1.49$ ) 和 CCR5 mRNA 低表达组 ( $\leq 1.49$ ), miR-211-5p 高表达组 ( $>0.59$ ) 和 miR-211-5p 低表达组 ( $\leq 0.59$ ), 结果显示, CCR5 mRNA 高表达组患者 90 天总体生存率 44 例 (61.97%) 低于 CCR5 mRNA 低表达组 [48 例 (81.36%)], miR-211-5p 高表达组患者 90 天总体生存率 [50 例 (80.65%)] 高于 miR-211-5p 低表达组患者生存率 [42 例 (61.76%)], 差异均有统计学意义 ( $\chi^2=5.853, 5.589$ , 均  $P < 0.05$ )。

3 讨论

急性脑梗死治疗的关键在于发病后最短时间内准确诊断, 从而把握最佳治疗时机, 给出合适的治疗方案 [15]。目前, 临床上常用诊断方法主要有 MRI, CT 影像检查及 NIHSS 评分, 但它们在使用过程中均具有一定限制性, 如 MRI 检查对部分患者 (含有金属异物等) 并不适用; CT 检查并不能很好的显示处于梗死早期的缺血病灶 [16]。因此, 寻找检测方便、特异度高的非侵入性生物标志物对于急性脑梗死的诊断与治疗有着重要临床意义 [10]。

急性脑梗死的病理损伤机制包括炎症反应、氧化应激及细胞凋亡等。CCR5 基因位于染色体 3q21.31 上, 在包括粒细胞、T 淋巴细胞、巨噬细胞等多种细胞上表达, 属于重要的炎症受体。CCR5

与CC类趋化因子配体5(CC chemokine ligand-5, CCL5)等结合能够调节细胞和体液免疫,参与自身免疫性疾病、炎症疾病、脑梗死、自发性脑出血等疾病过程<sup>[17]</sup>。WEBER等<sup>[18]</sup>研究发现,CCR5的

表达水平可被炎性细胞因子上调,从而影响机体免疫;JOY等<sup>[19]</sup>研究发现,CCR5在卒中后患者的皮质神经元中特异性表达,是卒中和创伤后脑损伤恢复的关键转折靶点。

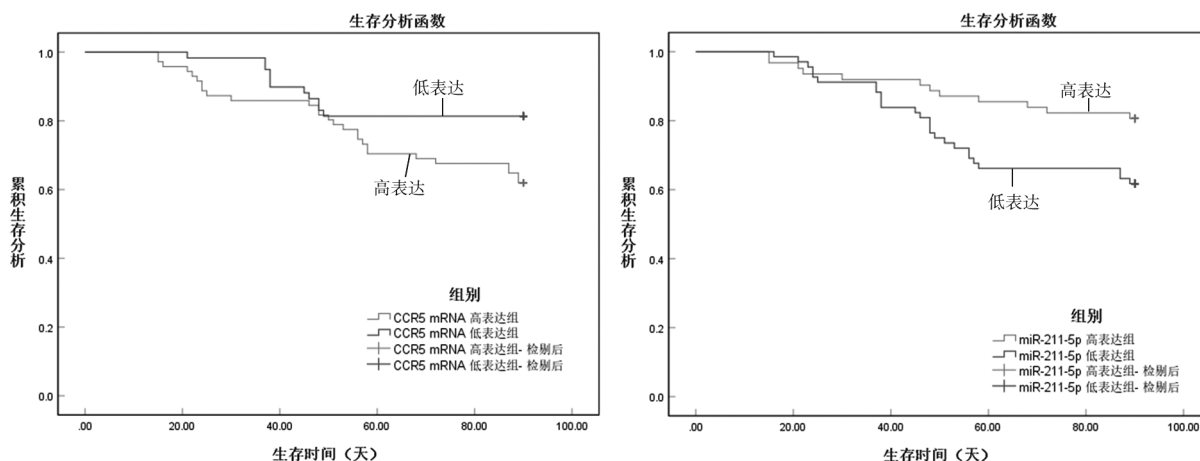


图2 CCR5 mRNA, miR-211-5p 表达水平与急性脑梗死患者预后的生存曲线分析

本研究发现,CCR5在急性脑梗死患者中高表达,且随着患者疾病严重程度的增加,其表达水平亦随之升高,提示CCR5可能参与急性脑梗死的疾病发生发展。有研究表明,CCR5在保护大脑免受缺血后损伤、增强大脑修复和改善大脑皮层缺血后亚急性期的功能恢复方面起着至关重要的作用<sup>[6]</sup>。说明CCR5对脑缺血后损伤有着复杂调控机制。高玉广等<sup>[20]</sup>有关急性脑出血的研究显示,治疗期间CCR5水平与患者神经功能缺损程度同步下降,说明其与神经功能缺损程度密切相关。本研究结果显示,CCR5水平与NIHSS评分呈显著正相关,提示随着神经损伤程度加重,CCR5水平增加,同时促进中性粒细胞向缺血部位聚集,从而加重缺血损伤。此外,CCR5 mRNA表达水平还与患者脑梗死体积、OCSP分型及血脂异常有关,说明CCR5异常表达能够反映出患者脑梗死体积大小,且可以区分OCSP分型。

越来越多的证据表明,miRNA可作为急性脑梗死的诊断标志物。如miR-145-5p在急性脑梗死患者外周血中低表达,是潜在的诊断标志物<sup>[21]</sup>。miR-211-5p全长仅22bps,但其在多种生物体病理生理过程发挥重要作用,通过下调胶质细胞源性神经营养因子表达,抑制骨髓间充质干细胞向肠神经节细胞分化<sup>[22]</sup>。在动物模型中,miR-211-5p的过表达导致梗死体积、神经功能缺损评分和组织病理学损伤减少;而在体外,上调miR-211-5p表达可降低细胞凋亡和乳酸脱氢酶释放率,增加细胞活力<sup>[11]</sup>。以上这些研究表明miR-211-5p很有可能是急性脑梗死的潜在治疗靶标。本研究发现,miR-211-5p在

急性脑梗死患者中低表达,且随着患者疾病程度的增加,其表达水平亦随之降低,提示miR-211-5p与急性脑梗死的发生和发展有关。另有研究显示,通过诱导miR-211-5p水平增加,能够抑制Efemp2及其下游靶基因表达,从而调控神经元凋亡<sup>[23]</sup>。本研究结果显示,miR-211-5p表达水平与NIHSS评分呈显著负相关,说明其表达水平可作为预判急性脑梗死严重程度的潜在靶标。本研究结果显示,miR-211-5p表达水平还与患者脑梗死体积、OCSP分型及血脂异常有关,提示miR-211-5p能够鉴别脑梗死患者OCSP分型,并且可以反映出梗死体积,从而为临床治疗提供参考。以上结果表明,miR-211-5p可能参与急性脑梗死的发生和发展,可作为疾病的潜在治疗靶标。

以上研究说明,CCR5和miR-211-5p在急性脑梗死患者血清中的表达可能成为早期诊断、治疗急性脑梗死的靶点,故本研究假设二者的表达可能对该疾病具有潜在的诊断价值。通过进一步ROC曲线分析发现,CCR5 mRNA及miR-211-5p单独检测对急性脑梗死诊断的ROC曲线下面积为0.834,0.868,而二者联合诊断的ROC曲线下面积为0.921。这提示CCR5和miR-211-5p的表达水平对急性脑梗死具有一定的诊断价值,可作为新型诊断生物标志物。随后通过分析CCR5 mRNA和miR-211-5p对急性脑梗死患者预后的影响,发现高表达CCR5 mRNA患者,低表达miR-211-5p患者的总体生存率降低,进一步表明CCR5 mRNA和miR-211-5p很有可能成为预测急性脑梗死患者生存预后的重要标志物。既往研究表明,miRNA通过负调控其靶

基因进而参与调控多种疾病的发生发展,如 miR-455-5p 负调控靶基因 CCR5 抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡,从而抑制癌症的发展<sup>[24]</sup>。于是猜测本研究中 CCR5 mRNA, miR-211-5p 可能也存在类似的关系。本研究相关性分析验证了上述猜想。miR-211-5p 是否负靶向 CCR5 参与脑梗死的过程仍待后续更进一步的探究。

综上所述,在急性脑梗死患者中 CCR5 高表达, miR-211-5p 低表达,二者表达水平呈现显著负相关,且与病情程度相关,可作为急性脑梗死新型诊断和患者生存预后的重要标志物。但本研究存在局限性,仅从临床水平上初步探究了二者在急性脑梗死中的表达及临床意义,并未深入探究二者参与急性脑梗死的具体分子机制,还有待后续更深入研究。

#### 参考文献:

- [1] 王淼,玄洪雷.老年急性脑梗死患者血清 Pannexin1 和 sTREM-1 表达水平及其与病情和预后的相关性研究[J].现代检验医学杂志,2022,37(4):123-127. WANG Miao,XUAN Honglei. Serum Pannexin1 and sTREM-1 expression levels in elderly patients with acute cerebral infarction and their correlation with disease and prognosis [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2022,37(4):123-127.
- [2] 龚诗立,杨翠翠,胡朝英,等.缺血性脑卒中的炎症及抗炎药物的研究进展[J].中国药理学与毒理学杂志,2019,33(9):77-78. GONG Shili, YANG Cuicui, HU Chaoying, et al. Research progress of inflammation and anti-inflammatory drugs in ischemic stroke[J]. Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology, 2019, 33(9):77-78.
- [3] 陈露萍,孙家元,杨志勇,等.基于MRI的糖尿病合并急性脑梗死患者动脉粥样硬化分布情况与稳定性的临床研究[J].磁共振成像,2020,11(12):1159-1162. CHEN Luping, SUN Jiayuan, YANG Zhiyong, et al. Clinical study on the distribution and stability of atherosclerosis in patients with diabetes and acute cerebral infarction based on magnetic resonance imaging [J]. Chinese Journal of Magnetic Resonance Imaging, 2020, 11(12):1159-1162.
- [4] NAKATA H, MAEDA K, DAS D, et al. Activity and structural analysis of GRL-117C: a novel small molecule CCR5 inhibitor active against R5-tropic HIV-1s[J]. Scientific Reports, 2019, 9(1):4828.
- [5] QI Baowen, FANG Qiang, LIU Shiyuan, et al. Advances of CCR5 antagonists: From small molecules to macromolecules[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2020, 208(6593):112819.
- [6] PING Suning, QIU Xuecheng, KYLE M, et al. Brain-derived CCR5 contributes to neuroprotection and brain repair after experimental stroke[J]. Aging and Disease, 2020, 12(1):72-92.
- [7] 李平,庞智,朱剑云,等.非编码RNA对冠心病发生发展影响的研究进展[J].医学综述,2019,25(8):1474-1479.
- [8] LI Ping, PANG Zhi, ZHU Jianyun, et al. Research progress of non-coding RNA in development of coronary heart disease [J]. Medical Recapitulate, 2019, 25(8):1474-1479.
- [9] WU Han, LIU Haiyan, LIU Wenjie, et al. MiR - 377 - 5p inhibits lung cancer cell proliferation, invasion, and cell cycle progression by targeting AKT1 signaling [J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2019, 120(5):8120-8128.
- [10] WU Xiaomu, ZHANG Xiaohong, LI Dongqing, et al. Plasma level of miR-99b may serve as potential diagnostic and short-term prognostic markers in patients with acute cerebral infarction [J]. Journal Clinical Laboratory Analysis, 2020, 34(3):e23093.
- [11] 陈南耀,余丹.联合检测血清 miR-124 与 miR-182 的表达水平对急性脑梗死诊断与预后评估的价值[J].中国动脉硬化杂志,2019,27(6):502-506. CHEN Nanyao, YU Dan. The value of combined detection of the expression levels of serum microRNA-124 and microRNA-182 in diagnosis and prognosis of acute cerebral infarction [J]. Chinese Journal of Arteriosclerosis, 2019, 27(6):502-506.
- [12] PENG Zhe, LI Miaomiao, TAN Xiaodan, et al. MiR-211-5p alleviates focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by down-regulating the expression of COX2[J]. Biochemical Pharmacology, 2020, 177(12):113983.
- [13] 田慧军,刘卫卫,刘晓阳. PLR, NLR 水平与急性脑梗死患者神经功能缺损严重程度的关系[J].山西医药杂志,2020,49(9):1070-1073. TIAN Huijun, LIU Weiwei, LIU Xiaoyang. Relationship between PLR and NLR levels and the severity of neurological deficits in patients with acute cerebral infarction[J]. Shanxi Medical Journal, 2020, 49(9):1070-1073.
- [14] 张茜,张波,朱武.老年急性脑梗死患者血清脂蛋白 a, 生长分化因子 15 及 D-二聚体水平变化及其诊断价值研究[J].实用心脑血管病杂志,2019,27(8):56-61,67. ZHANG Qian, ZHANG Bo, ZHU Wu. Changes of serum levels of Lp(a), GDF-15 and D-dimer and their diagnostic value in elderly patients with acute cerebral infarction [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2019, 27(8):56-61,67.
- [15] 中国成人血脂异常防治指南修订联合委员会.中国成人血脂异常防治指南(2016年修订版)[J].中华健康管理学杂志,2017,11(1):7-28. Joint Committee Issued Chinese Guideline for the Management of Dyslipidemia in Adults. 2016 Chinese guideline for the management of dyslipidemia in adults [J]. Chinese Journal of Health Management, 2017, 11(1):7-28.
- [16] 韩光.外周血血小板参数对评估急性脑梗死患者生活能力改善的临床价值[J].现代检验医学杂志,2020,35(2):119-123. HAN Guang. Clinical value of platelet parameters in evaluating the improvement of life ability in patients with acute cerebral infarction [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(2):119-123.



- [16] 国家卫生健康委员会急诊医学质控中心, 中国医师协会急诊医师分会, 世界中医药学会联合会急症专业委员会. 中国急性缺血性脑卒中急诊诊治专家共识 [J]. 中国急救医学, 2018(4):281-287.  
National Health Commission Emergency Medical Quality Control Center, Chinese Medical Doctor Association Emergency Medical Branch, World Federation of Chinese Medicine Societies Emergency Professional Committee. Expert consensus of Chinese and Western medicine emergency treatment for acute ischemic stroke in China [J]. Chinese Journal of Critical Care Medicine, 2018, 38(4):281-287.
- [17] 何宏媛, 楚世峰, 陈乃宏. CCR5 在神经系统疾病中作用的研究进展 [J]. 中国药理学通报, 2021, 37 (6): 760-764.  
HE Hongyuan, CHU Shifeng, CHEN Naihong. Research progress of CCR5 in nervous system diseases [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2021, 37(6):760-764.
- [18] WEBER R, RIESTER Z, HÜSER L, et al. IL-6 regulates CCR5 expression and immunosuppressive capacity of MDSC in murine melanoma [J]. Journal for Immuno Therapy of Cancer, 2020, 8(2):e000949.
- [19] JOY M T, BEN ASSAYAG E, SHABASHOV-STONE D, et al. CCR5 is a therapeutic target for recovery after stroke and traumatic brain injury [J]. Cell, 2019, 176(5):1143-1157.
- [20] 高玉广, 钟洁, 黄德庆, 等. 急性脑出血患者血清 MIP-1 $\alpha$ , CCR5, MMP-9 水平动态变化及其与神经功能缺损程度和预后的相关性 [J]. 山东医药, 2022, 62(21): 10-13.  
GAO Yuguang, ZHONG Jie, HUANG Deqing, et al. Dynamic changes of serum MIP-1 $\alpha$ , CCR 5 and MMP-9 in patients with acute cerebral hemorrhage and their correlations with the degree of neurological deficit and prognosis [J]. Shandong Medical Journal, 2022, 62(21):10-13.
- [21] 刘美霞, 刘群会, 朱祖欣, 等. 急性脑梗死患者血清 lncRNA SNHG14 和 miR-145-5p 水平变化及其与疾病发生风险的关系 [J]. 卒中与神经疾病, 2020, 27(1):47-51, 55.  
LIU Meixia, LIU Qunhui, ZHU Zuxin, et al. Serum levels of lncRNA SNHG14 and miR-145-5p in patients with acute cerebral infarction and their relationships with risk of disease [J]. Stroke and Nervous Diseases, 2020, 27(1):47-51, 55.
- [22] 孙亚云, 苏建华, 张俊华, 等. miR-211-5p 在局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠模型中表达分析 [J]. 解放军医药杂志, 2022, 34 (5):5-8.  
SUN Yayun, SU Jianhua, ZHANG Junhua, et al. Expression analysis of miR-211-5p in a rat model of focal cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Medical & Pharmaceutical Journal of Chinese People's Liberation Army, 2022, 34(5):5-8.
- [23] SHEN Yousu, ZHOU Tao, LIU Xiaobing, et al. Sevoflurane-induced miR-211-5p promotes neuronal apoptosis by inhibiting efemp2 [J]. ASN Neuro, 2021, 13:17590914211035036.
- [24] XING Qiaowei, XIE Huyang, ZHU Bingye, et al. MiR-455-5p suppresses the progression of prostate cancer by targeting CCR5 [J]. BioMed Research International, 2019, 2019: 6394784.
- 收稿日期: 2022-08-25  
修回日期: 2022-11-01

(上接第 120 页)

- [15] WANG Weisong, GAO Junjie, WANG Fangli. MiR-663a/MiR-423-5p are involved in the pathogenesis of lupus nephritis via modulating the activation of NF- $\kappa$ B by targeting TNIP2 [J]. American Journal of Translational Research, 2017, 9(8): 3796-3803.
- [16] 周奋, 郑霞, 毛海燕, 等. 急性心肌梗死大鼠中微小 RNA-221 的表达及相关机制 [J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36(6): 1080-1082.  
ZHOU Fen, ZHENG Xia, MAO Haiyan, et al. Expression of microRNA-221 and its related mechanisms in rats with acute myocardial infarction [J]. Chinese Journal of Experimental Surgery, 2019, 36 (6): 1080-1082.
- [17] LIN Haili, LIN Tiangqi, LIN Jiangui, et al. Inhibition of miR-423-5p suppressed prostate cancer through targeting GRIM-19 [J]. Gene, 2019, 688: 93-97.
- [18] 柴松波, 王振涛, 张淑娟, 等. 心衰康抑制慢性心衰大鼠心肌自噬及 MAPK/ERK1/2 信号通路 [J]. 中国病理生理杂志, 2019, 35(6):981-987.  
CHAI Songbo, WANG Zhentao, ZHANG Shujuan, et al. Xinshuaikang inhibits myocardial autophagy and MAPK/ERK1/2 signaling pathway in rats with chronic heart failure [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2019, 35 (6): 981-987.
- [19] SIREGAR T A P, PROMBUTARA P, KANJANA-SIRIRAT P, et al. The autophagy-resistant *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strain upregulates KatG to evade starvation-induced autophagic restriction [J]. Pathog Dis, 2022, 80(1): ftac004.
- [20] MOKHTARI B, BADALZADEH R. The potentials of distinct functions of autophagy to be targeted for attenuation of myocardial ischemia/reperfusion injury in preclinical studies: an up-to-date review [J]. Journal of Physiology and Biochemistry, 2021, 77(3): 377-404.
- [21] TANGCHIRAKHAPHAN S, INNAJAK S, NILWARANGKOON S, et al. Mechanism of apoptosis induction associated with ERK1/2 upregulation via goniothalamin in melanoma cells [J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2018, 15(3): 3052-3058.
- [22] 王鹏贺, 周思维, 张莎, 等. 自噬在急性心肌梗死发病中作用的研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2018, 18(4):783-786.  
WANG Penghe, ZHOU Siwei, ZHANG Sha, et al. Research progress of the role of autophagy in the pathogenesis and progression of acute myocardial infarction [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2018, 18 (4): 783-786.
- 收稿日期: 2021-11-07  
修回日期: 2022-03-20