

脊柱骨折并发脊髓损伤患者血清 miRNA-133a 和核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 表达水平及其与预后的相关性研究

贾祎佳, 陆廷盛, 姚书耽, 杨建文, 姬林松, 杨再松, 罗春山 (贵州省骨科医院脊柱科, 贵阳 550014)

摘要: 目的 探究脊柱骨折并发脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 患者血清微小 RNA (microRNA, miR) -133a 和核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors protein 3, NLRP3) 表达水平及其与预后的关系。方法 选取 2019 年 1 月~2022 年 3 月在贵州省骨科医院治疗的 90 例脊柱骨折并发 SCI 患者作为并发 SCI 组, 统计手术后 3 个月患者预后情况, 并依据预后分为预后良好组和预后不良组; 另以同期单纯脊柱骨折患者 90 例作为对照组, 记录患者一般资料。采用酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测脊柱骨折患者血清 NLRP3 水平, 采用实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 法检测 miR-133a 水平; 受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线分析血清 miR-133a 和 NLRP3 水平预测脊柱骨折并发 SCI 患者预后的价值; 采用多因素 Logistic 回归分析脊柱骨折并发 SCI 患者预后不良的影响因素。结果 与对照组比较, 并发 SCI 组血清 miR-133a 水平 (0.68 ± 0.19 vs 1.01 ± 0.24) 降低, NLRP3 水平 (136.42 ± 32.78 pg/ml vs 86.35 ± 15.95 pg/ml) 升高, 差异具有统计学意义 ($t=10.227, 13.030$, 均 $P<0.001$)。与预后良好组比较, 预后不良组椎管侵占率 $\geq 50\%$ 比例 (64.71% vs 23.21%)、受伤至激素类药物使用时间 ≥ 8 h 比例 (70.59% vs 25.00%)、Frankel 分级 A 级比例 (41.18% vs 1.79%) 和血清 NLRP3 水平 (162.11 ± 46.74 pg/ml vs 120.82 ± 29.75 pg/ml) 升高, miR-133a 水平 (0.58 ± 0.14 vs 0.74 ± 0.18) 降低, 差异均具有统计学意义 ($t=4.430\sim 45.267$, 均 $P<0.001$)。ROC 分析显示, 血清 miR-133a, NLRP3 及二者联合预测脊柱骨折并发 SCI 患者预后不良的曲线下面积 (area under the curve, AUC) 为 0.779 (95%CI: 0.681 ~ 0.877), 0.770 (95%CI: 0.673 ~ 0.868) 和 0.834 (95%CI: 0.750 ~ 0.918)。Logistic 回归结果显示, miR-133a[OR (95%CI) = 0.824 (0.727 ~ 0.934)]、NLRP3[OR (95%CI) = 2.673 (1.359 ~ 5.256)]、椎管侵占率 $\geq 50\%$ [OR (95%CI) = 1.562 (1.146 ~ 2.129)] 和受伤至激素类药物使用时间 ≥ 8 h[OR (95%CI) = 1.305 (1.009 ~ 1.687)] 均是脊柱骨折并发 SCI 患者发生预后不良的独立影响因素 (均 $P < 0.05$)。结论 脊柱骨折并发 SCI 患者血清 NLRP3 水平较高, miR-133a 水平较低, 与预后密切相关, 两者联合对脊柱骨折并发 SCI 患者预后有较高预测效能。

关键词: 脊柱骨折; 脊髓损伤; 微小核糖核酸 -133a; 核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白 3

中图分类号: R688.2; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 02-001-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2023.02.001

Expression Levels of miRNA-133a, Nucleotide Binding Oligomerization Domain-like Receptor Protein 3 in Serum of Patients with Spinal Fracture Complicated with Spinal Cord Injury and Their Correlation with Prognosis

JIA Yi-jia, LU Ting-sheng, YAO Shu-dan, YANG Jian-wen, JI Lin-song, YANG Zai-song, LUO Chun-shan

(Department of Spine Surgery, Guizhou Provincial Orthopedics Hospital, Guiyang 550014, China)

Abstract: Objective To explore the expression levels of micro RNA(miR)-133a and nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor 3 (NLRP3) in serum of patients with spinal cord injury(SCI) complicated spinal fracture and its relationship with prognosis. **Methods** A total of 90 patients with spinal fractures combined with SCI who were treated in Guizhou Provincial Orthopedics Hospital from January 2019 to March 2022 were selected as the combined SCI group. The prognosis of the patients 3 months after the operation was counted. They were divided into a good prognosis group and a poor prognosis group according to the prognosis. In addition, 90 patients with simple spinal fracture during the same period were selected as the control group, and the general data of the patients were recorded. The level of serum NLRP3 in patients with spinal fractures was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the level of miR-133a was detected by quantitative real-time

基金项目: 贵州省科技计划项目 (编号: 黔科合基础-ZK[2022]一般 231)。

作者简介: 贾祎佳 (1985-), 男, 博士研究生, 副主任医师, 主要从事脊髓损伤的干细胞治疗, E-mail: jiyajia2192@163.com。

通讯作者: 罗春山, E-mail: 279432964@qq.com。

PCR (qRT-PCR) method. Receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the value of serum miR-133a and NLRP3 levels in predicting the prognosis of patients with spinal fractures complicated with SCI, and multivariate Logistic regression was used to analyze the influencing factors of poor prognosis in patients with spinal fractures complicated with SCI.

Results Compared with the control group, the serum miR-133a level in the SCI group was decreased (0.68 ± 0.19 vs 1.01 ± 0.24), and the NLRP3 level was increased (136.42 ± 32.78 pg/ml vs 86.35 ± 15.95 pg/ml), and the difference was statistically significant ($t=10.227, 13.030$, all $P<0.001$). Compared with the group with good prognosis, the spinal canal invasion rate $\geq 50\%$ (64.71% vs 23.21%), duration of hormone drug use ≥ 8 h from injury (70.59% vs 25.00%), Frankel grade A (41.18% vs 1.79%), the serum NLRP3 level in the poor prognosis group were increased (162.11 ± 46.74 pg/ml vs 120.82 ± 29.75 pg/ml), and the miR-133a level in the poor prognosis group was decreased (0.58 ± 0.14 vs 0.74 ± 0.18), and the differences were statistically significant ($t=4.430-45.267$, all $P<0.001$). ROC analysis showed that the area under the curve (AUC) of serum miR-133a, NLRP3 and their combination in predicting poor prognosis in patients with spinal fractures and SCI were 0.779 (95%CI:0.681~0.877) and 0.770 (95%CI:0.673~0.868), 0.834 (95%CI:0.750~0.918). The results of Logistic regression showed that miR-133a [OR(95%CI)=0.824(0.727~0.934)], NLRP3 [OR (95%CI) =2.673 (1.359~5.256)], spinal canal invasion rate $\geq 50\%$ [OR(95%CI)=1.562(1.146~2.129)], and the time from injury to hormone use ≥ 8 h [OR(95%CI)=1.305(1.009~1.687)] were independent influencing factors for poor prognosis in patients with spinal fractures complicated with SCI (all $P<0.05$).

Conclusion Serum NLRP3 levels were higher and miR-133a levels were lower in patients with spinal fractures combined with SCI, which were closely related to prognosis. The combination of the two have high predictive performance on the prognosis of patients with spinal fractures combined with SCI.

Keywords: vertebral fracture; spinal cord injury; microRNA-133a; nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor protein 3

脊髓损伤 (spinal cord injury, SCI) 是脊柱骨折患者常见的并发症,也是临床医学中一种常见的难以治愈的疾病,损伤后的病理变化一直是临床医学研究的热点^[1]。SCI后的炎症反应复杂,由多种细胞类型和多种炎症细胞因子协调,炎症因子的大量释放会进一步加重SCI的进展^[2-3]。探究SCI发病过程密切相关的炎症因子对患者病情及预后实施评估显得十分重要。核苷酸结合寡聚化结构域样受体蛋白3 (nucleotide-binding oligomerization domain-like receptors protein 3, NLRP3) 炎症小体是目前临床研究较多的炎症小体,是神经炎症的影响因素之一,可以调控促炎细胞因子的成熟和分泌,介导炎症,已证实NLRP3炎症小体及其相关通路的激活与SCI后的炎症反应密切相关^[4-5]。研究表明,微小RNA (microRNA, miRNA, miR) 在真核细胞中广泛存在,通过对靶基因转录的调控参与体内多种生物活性的调节,已证实miRNA的异常表达与SCI后炎症反应、氧化应激、细胞凋亡等过程密切相关^[6]。miR-133a位于人染色体18q11.2位置上,是一个与炎症调控密切相关的miRNA,已证实miR-133a与脓毒症、哮喘等^[7-8]疾病的炎症调节有关。此外,miR-133a可以靶向调控NLRP3参与急性主动脉夹层疾病过程^[9]。目前有关NLRP3与脊柱骨折并发SCI的报道多局限于动物实验,临床试验较少,而miR-133a与脊柱骨折并发SCI的关系尚未有报道。本研究拟通过检测脊柱骨折并发SCI患者血清miR-133a和NLRP3表达水平,探讨

其与脊柱骨折并发SCI预后的关系,以期对疾病的预后评估提供参考,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 将贵州省骨科医院2019年1月~2022年3月收治的90例脊柱骨折并发SCI患者作为并发SCI组,其中男性50例,女性40例;年龄28~60 (43.07 ± 9.66)岁。纳入标准:符合《骨与关节创伤》中制定的脊柱骨折相关诊断标准^[10],并发SCI的患者符合脊髓损伤神经功能评价 (american spinal injury association, ASIA)^[11];一般临床资料无缺失者;受伤后12h内入院接受治疗;本研究经医院伦理委员会批准,患者均自愿签署知情同意书。排除标准:①近期接受过其他内外科手术治疗者;②既往有神经系统疾病、颅脑损伤史者;③既往有长期激素类药物治疗史者;④处于妊娠期或哺乳期等特殊时期者;⑤有恶性肿瘤、脏器严重病变或凝血异常者。另选取同期单纯脊柱骨折患者90例作为对照组,其中男性56例,女性34例;年龄28~59 (42.61 ± 7.92)岁。对照组与并发SCI组性别、年龄比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

1.2 仪器与试剂 NLRP3酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (货号:EH4202,武汉菲恩生物科技有限公司), miRNA提取试剂盒 [货号:19332ES08,翌圣生物科技(上海)股份有限公司], 反转录试剂盒 (货号:RP1105,上海恒斐生物科技有限公司), 荧光定量试剂盒 (货号:638316, TaKaRa公司)。

miR-133a, U6引物序列由上海汉恒生物公司提供。荧光定量PCR仪(型号: QuantStudio 3, 美国ABI公司), 酶标仪(型号: LabServ™K3型, 美国Thermo Fisher Scientific公司)。

1.3 方法

1.3.1 样本采集及临床资料收集: 采集脊柱骨折患者受伤入院24h内外周静脉血样, 3 000 r/min转速下离心处理15 min, 取上层血清保存于-80℃备用。记录患者一般资料, 主要包括年龄、性别、受伤至入院时间、致伤原因、骨折史、骨折累及节段、并发骨质疏松、椎管侵占率、受伤至激素类药物使用时间、脊髓损伤Frankel分级情况。

1.3.2 血清NLRP3, miR-133a水平检测: 冰上冻融血清, 采用ELISA法检测脊柱骨折患者血清NLRP3水平, 检测仪器为LabServ™K3型酶标仪, 检测操作需严格依照试剂盒及仪器使用说明进行。

冰上冻融血清, 依照血清miRNA提取试剂盒从血清中提取总RNA, 之后采用反转录试剂盒将RNA反转录为cDNA, 按照荧光定量试剂盒配制反应体系, 实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)反应参数: 95℃ 1 min; 94℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 30 s, 共40个循环。引物由上海汉恒生物公司合成, 引物序列: miR-133a, 上游: 5'-CTGCAGCGACCGTTGATGA-3', 下游: 5'-GGCCTACTAACGCAGCGTCG-3'; U6, 上游: 5'-GGGCCTCCAGGCGATGAAC-3', 下游: 5'-CAGTAGACGGGCGTCACGCTAC-3'。反应结束后采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算血清miR-133a相对表达水平。

1.3.3 预后评估: 手术前及手术后3个月对所有脊柱骨折患者行脊柱损伤水平评分(ASIA)^[11], 将分级较之前有所改善的患者记为预后良好, 否则为预后不良。

1.4 统计学分析 采用SPSS 25.0软件作为数据统计分析工具, 计量资料服从正态分布并以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; 计数资料以 $n(\%)$ 表示, 组间比较采用卡方检验; 绘制受试者工作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线分析血清miR-133a, NLRP3水平预测脊柱骨折并发SCI预后的价值; 采用多因素Logistic回归分析脊柱骨折并发SCI患者预后不良的影响因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组与并发SCI组血清miR-133a, NLRP3水平比较 并发SCI组血清miR-133a(0.68 ± 0.19)水平低于对照组(1.01 ± 0.24), NLRP3(136.42 ± 32.78 pg/ml)水平高于对照组(86.35 ± 15.95 pg/ml), 差异均有统计学意义($t=10.227, 13.030, P < 0.05$)。

2.2 脊柱骨折并发SCI患者不同预后组一般资料比较 见表1。本研究90例脊柱骨折并发SCI患者行手术治疗后3个月, 34例预后不良者纳入预后不良组, 56例预后良好者作为预后良好组。预后良好组与预后不良组年龄、性别、受伤至入院时间、致伤原因、骨折史、骨折累及节段、并发骨质疏松比较, 差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。预后不良组椎管侵占率 $\geq 50\%$ 、受伤至激素类药物使用时间 ≥ 8 h、Frankel分级A级患者比例高于预后良好组(均 $P < 0.05$)。

2.3 脊柱骨折并发SCI患者不同预后组血清miR-133a, NLRP3水平比较 预后不良组血清miR-133a(0.58 ± 0.14)水平低于预后良好组(0.74 ± 0.18), NLRP3(162.11 ± 46.74 pg/ml)水平高于预后良好组(120.82 ± 29.75 pg/ml), 差异均有统计学意义($t=4.430, 5.126$, 均 $P < 0.05$)。

2.4 脊柱骨折并发SCI患者预后不良的多因素Logistic回归分析 见表2。将脊柱骨折并发SCI患者是否发生预后不良作为因变量(预后不良=1, 预后良好=0), 以miR-133a(连续变量), NLRP3(连续变量), 椎管侵占率($< 50\%=0, \geq 50\%=1$)、受伤至激素类药物使用时间(< 8 h=0, ≥ 8 h=1)、Frankel分级(D~E级=0, A~C级=1)为自变量进行Logistic回归分析, 结果显示, miR-133a是脊柱骨折并发SCI患者发生预后不良的保护因素, NLRP3, 椎管侵占率 $\geq 50\%$ 、受伤至激素类药物使用时间 ≥ 8 h是脊柱骨折并发SCI患者发生预后不良的独立危险因素($P < 0.05$)。

2.5 血清miR-133a, NLRP3水平对脊柱骨折并发SCI患者预后的预测价值 见图1。ROC分析显示: 血清miR-133a, NLRP3水平及二者联合预测脊柱骨折并发SCI患者预后不良的曲线下面积(area under the curve, AUC)分别为0.779(95%CI: 0.681-0.877), 0.770(95%CI: 0.673-0.868), 0.834(95%CI: 0.750-0.918), 特异度分别为83.9%, 60.7%和89.3%, 敏感度分别为64.7%, 79.4%和64.7%。miR-133a, NLRP3预测截断值分别为0.62, 130.95 pg/ml。

3 讨论

SCI发病后创伤最初会导致原发性损伤, 损害神经元和胶质细胞, 同时血液-脊髓屏障被破坏, 加剧脊髓肿胀和损伤^[12-13]。慢性期的最终会形成致密的胶质瘢痕, 使SCI患者感觉和运动功能出现异常, 大小便失禁, 甚至造成瘫痪, 严重影响患者身心健康^[14]。寻找可预测脊柱骨折并发SCI患者预后不良的因素并及时给予干预, 对提高术后治疗效果有重要意义。然而目前临床中针对SCI诊断主要依靠影像学检查及查体来完成, 仍欠缺用于评估SCI

疾病严重程度及预后的、客观的特异性生化指标^[15]。炎症反应发生在不同细胞损伤过程中,是SCI的重要生理机制之一^[15]。因此,探究脊柱骨折并发SCI患者相关炎症因子水平变化可能对SCI的康复有重要意义。

表1 脊柱骨折并发SCI患者不同预后组一般资料比较 [$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

类别	预后良好组 (n=56)	预后不良组 (n=34)	χ^2	P	
年龄(岁)	42.78 ± 9.45	43.56 ± 10.04	0.371	0.712	
男性	32 (57.14)	18 (52.94)	0.151	0.697	
受伤至入院时间(h)	6.54 ± 1.42	6.62 ± 1.57	0.249	0.804	
受伤原因	交通事故	20 (35.71)	17 (50.00)	2.237	0.525
	高处坠落	10 (17.86)	5 (14.71)		
	重物砸伤	19 (33.93)	10 (29.41)		
	其他	7 (12.50)	2 (5.88)		
有骨折史	否	53 (94.64)	33 (97.06)	0.291	0.590
	是	3 (5.36)	1 (2.94)		
骨折累及节段	T11~T12	29 (51.79)	18 (52.94)	0.011	0.915
	L1~L2	27 (48.21)	16 (47.06)		
合并骨质疏松	否	51 (91.07)	31 (91.18)	0.000	0.986
	是	5 (8.93)	3 (8.82)		
椎管侵占率	< 50%	43 (76.79)	12 (35.29)	15.325	<0.001
	≥ 50%	13 (23.21)	22 (64.71)		
受伤至激素类药物使用时间	< 8 h	42 (75.00)	10 (29.41)	18.023	<0.001
	≥ 8 h	14 (25.00)	24 (70.59)		
Frankel 分级	A 级	1 (1.79)	14 (41.18)	45.267	<0.001
	B 级	5 (8.93)	11 (32.35)		
	C 级	8 (14.28)	6 (17.65)		
	D 级	14 (25.00)	2 (5.88)		
	E 级	28 (50.00)	1 (2.94)		

表2 脊柱骨折并发SCI患者预后不良的多因素 Logistic 回归分析

类别	β	SE	Wald	OR	95%CI	P
miR-133a	-0.194	0.064	9.149	0.824	0.727~0.934	0.002
NLRP3	0.983	0.345	8.122	2.673	1.359~5.256	0.004
椎管侵占率	0.446	0.158	7.967	1.562	1.146~2.129	0.005
受伤至激素类药物使用时间	0.266	0.131	4.129	1.305	1.009~1.687	0.042
Frankel 分级	0.186	0.102	3.313	1.204	0.986~1.470	0.069

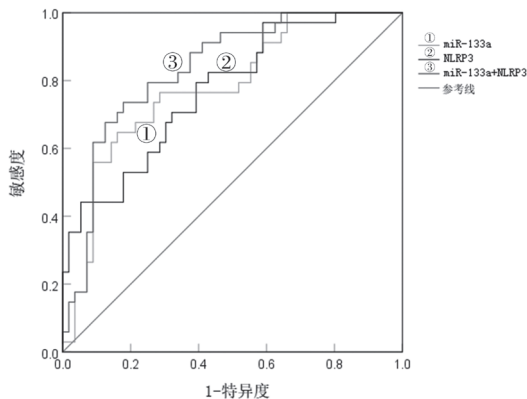


图1 血清 miR-133a, NLRP3 水平预测脊柱骨折并发SCI预后的ROC曲线

既往研究表明,SCI后伴随多种miRNA水平异常,而这些miRNA的靶基因可能参与SCI病理过程的氧化应激、细胞凋亡及炎症等^[16]。作为miRNA中的一员,前期研究证实miR-133a与炎症反应密切相关。近期有研究发现,脂多糖处理的TCMK-1细胞miR-133a表达降低,其可以抑制核转录因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)通路,靶向BINP3L抑制脂多糖诱导的TCMK-1细胞炎症和凋亡,对脓毒症肾损伤有保护作用^[7]。另有报道,miR-133a-3p可通过调控促炎细胞因子影响小胶质细胞激活,进而在神经病理性疼痛中发挥重要作用^[17]。ZHU等^[18]研究显示,敲除环状RNA

MAT2B(circular RNA MAT2B, circMAT2B)后, 通过上调 miR-133 能够抑制氧糖剥夺诱导的 H9c2 细胞炎症损伤。目前 miR-133a 在脊柱骨折并发 SCI 患者血清中表达变化尚未明确。本研究结果显示, 脊柱骨折并发 SCI 患者血清 miR-133a 表达水平降低, 说明 miR-133a 与 SCI 病情有关。张小建等^[19] 研究显示, miR-133 是影响急性病毒性心肌炎患儿预后的独立危险因素, 其可作为预后评估的重要指标。SCI 预后不良者血清 miR-133a 表达水平低于预后良好者, 提示血清 miR-133a 水平变化与脊柱骨折并发 SCI 患者的预后密切相关, 其水平越高, 患者预后越好。分析其原因, miR-133a 水平升高可能通过调控炎症反应相关信号通路, 抑制炎症细胞因子分泌, 减轻神经炎症损伤。回归分析显示, miR-133a 是脊柱骨折并发 SCI 患者预后不良影响因素, 提示临床监测 miR-133a 水平变化能够提供预警作用, 从而尽早制定策略。徐娜等^[20] 有关心律失常并发医院感染的研究发现, 外周血 miR-133a 表达水平增加, 其预测心律失常并发医院感染的 AUC 为 0.823。此外, miRNA 稳定存在于人体血浆等体液中, 是较为理想的临床诊断分子标志物。本研究 ROC 结果显示, 血清 miR-133a 预测脊柱骨折并发 SCI 患者预后不良的效能较好, 说明 miR-133a 可作为预测脊柱骨折并发 SCI 患者预后的有效指标。

NLRP3 炎症小体由凋亡相关点状蛋白、NLRP3、半胱氨酸蛋白酶 1 前体通过蛋白-蛋白相互作用耦合而成, 调节半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-1 依赖的促炎细胞因子白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β), IL-18 的成熟和分泌, 介导炎症, 并诱导细胞焦亡^[21]。NLRP3 炎症小体也是中枢神经系统中丰富的炎症小体, 是神经炎症的影响因素之一, 以往研究证实 NLRP3 异常激活与糖尿病、动脉粥样硬化、心血管、神经退行性疾病等相关^[22]。已证实发生 SCI 后 NLRP3 会上调表达, 其在 SCI 后炎症反应的启动和发生、发展中扮演着重要角色, 抑制 NLRP3 炎症小体活化可以减轻 SCI 动物模型的神经炎症和促进功能恢复^[23], 这为临床治疗 SCI 提供新的靶点。本研究发现, 并发 SCI 组患者血清 NLRP3 表达水平升高, 且与预后良好者比较, 预后不良者 NLRP3 表达水平升高。NLRP3 参与 SCI 后的炎症反应, 发生 SCI 后患者机体 NLRP3, 凋亡相关点状蛋白、半胱氨酸蛋白酶 1 前体会组成成熟的 NLRP3 炎症小体, 促进炎症细胞因子释放, 导致神经功能继发性损伤^[24], 因而 NLRP3 水平升高, 导致 NLRP3 炎症小体增多, 促进下游炎症因子分泌增加, 进而加重神经炎症, 不利于患者预后。刘艳辉等^[25] 研究显示, NLRP3 表达水平与病情严

重程度、炎症因子 (IL-18, IL-1 β) 及预后有关, NLRP3 高表达者的 28 天累计生存率低于 NLRP3 低表达者。本研究回归分析显示, NLRP3 是影响脊柱骨折并发 SCI 患者预后不良的独立危险因素, 随着 SCI 患者疾病不断进展, 脊髓压迫程度不断加重, NLRP3 表达持续升高, 临床可及时监测 NLRP3 指标异常变化, 以预防患者出现预后不良。芍药内酯苷通过抑制 NP 状态下大鼠脊髓 NLRP3 表达, 降低脊髓促炎因子 IL-1 β , 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor α , TNF- α) 水平, 显著抑制脊髓背角的神经炎症反应^[26]。顾慧玲等^[27] 研究显示, 呼吸机相关肺损伤患者血清、诱导痰中 NLRP3 表达水平升高, 与炎症因子密切相关, 阻断 NLRP3 激活可能成为该病的潜在治疗靶点。这说明抑制 NLRP3 表达可能为临床疾病治疗提供靶点。姜福富等^[28] 探究了 NLRP3 与特发性肺纤维化急性加重患者预后的关系, 发现 NLRP3 水平升高与该疾病预后不良密切相关, 预测预后的 AUC 为 0.886, 敏感度为 81.60%, 特异度为 84.00%。本研究结果显示, miR-133a, NLRP3 联合预测脊柱骨折并发 SCI 患者预后不良的 AUC 为 0.834, 优于单一指标, 提示临床可将血清 miR-133a, NLRP3 水平联合检测作为预测脊柱骨折并发 SCI 患者预后不良的辅助生物检测手段, 及早评估预后不良发生风险。然而本研究纳入样本量有限, 且预测敏感度相对不高, 今后将延长样本纳入时间、增加样本量、验证及优化实验结果, 以期降低 SCI 患者临床预后不良发生率提供新思路。

此外, miRNA 可以通过调节靶基因表达, 在 DNA 翻译水平上参与多种信号通路调节, 与炎症反应、免疫功能、细胞增殖等病理生理过程密切相关。以往研究显示, miR-133a 可以靶向调控 NLRP3, 参与急性主动脉夹层炎症过程^[9]。基于既往研究推测本研究中脊柱骨折并发 SCI 的部分患者中 miR-133a, NLRP3 共同发挥作用的可能机制为: miR-133a 能够靶向抑制 NLRP3 激活, 抑制炎症反应, 参与 SCI 后修复过程。本研究回归分析还发现, 椎管侵占率 $\geq 50\%$ 、受伤至激素类药物使用时间 ≥ 8 h 是脊柱骨折并发 SCI 患者发生预后不良的独立危险因素。杨永涛等^[29] 与本研究结果一致。这说明临床应及时监控椎管侵占率、受伤至激素类药物使用时间, 以防止 SCI 患者出现不良预后。

综上, 脊柱骨折并发 SCI 患者血清 miR-133a 水平降低, NLRP3 水平升高, 且均与预后有关, 两者联合可用于预测脊柱骨折并发 SCI 患者预后。但本研究尚存在不足之处, 首先纳入患者的年龄跨度较大, 随访时间相对较短等不足, 均可能会导致研

究结果存在偏倚;其次,miR-133a, NLRP3 参与脊柱骨折并发 SCI 的具体病理机制仍需进一步研究。因此,今后将开展多中心的大样本研究,同时从临床、细胞、动物三方面验证推测,进一步获取更准确的研究数据。

参考文献:

- [1] SUGANDHAVESA N, LIAWRUNGRUEANG W, KAEWBUADEE K, et al. A multilevel noncontiguous spinal fracture with cervical and thoracic spinal cord injury[J]. *International Journal of Surgery Case Reports*, 2021, 88: 106529.
- [2] 卢绪章, 吴俊涛, 张春旺. 右美托咪定对脊柱骨折并发脊髓损伤患者炎症因子及神经功能的影响[J]. *药物与临床*, 2020, 17(24): 44-48.
LU Xuzhang, WU Juntao, ZHANG Chunwang. The effect of dexmedetomidine on the inflammatory factors and neurological function in patients with spinal fracture and spinal cord injury[J]. *Drug Evaluation*, 2020, 17(24): 44-48.
- [3] HELLENBRAND D J, QUINN C M, PIPER Z J, et al. Inflammation after spinal cord injury: a review of the critical timeline of signaling cues and cellular infiltration[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 284.
- [4] CHEN Yi, WU Lei, SHI Mengting, et al. Electroacupuncture inhibits NLRP3 activation by regulating CMPK2 after spinal cord injury[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 788556.
- [5] MI Jingyi, YANG Yang, YAO Hao, et al. Inhibition of heat shock protein family A member 8 attenuates spinal cord ischemia-reperfusion injury via astrocyte NF- κ B/NLRP3 inflammasome pathway:HSPA8 inhibition protects spinal ischemia-reperfusion injury[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2021, 18(1): 170-181.
- [6] SILVESTRO S, MAZZON E. MiRNAs as promising translational strategies for neuronal repair and regeneration in spinal cord injury[J]. *Cells*, 2022, 11(14): 2177.
- [7] QIN L Y, WANG M X, ZHANG H. MiR-133a alleviates renal injury caused by sepsis by targeting BNIP3L[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2020, 24(5): 2632-2639.
- [8] 熊欣, 周复, 李晓静. 哮喘患者血清 miR-133a, CTGF 表达变化及与气道炎症、重塑的相关性分析[J]. *临床和实验医学杂志*, 2022, 21(5): 468-471.
XIONG Xin, ZHOU Fu, LI Xiaojing. Changes of serum miR-133a and CTGF expressions in asthmatic patients and their correlations with airway inflammation and remodeling[J]. *Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2022, 21(5): 468-471.
- [9] DUAN Haizhen, ZHANG Xiaojun, SONG Renjie, et al. Upregulation of miR-133a by adiponectin inhibits pyroptosis pathway and rescues acute aortic dissection[J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2020, 52(9): 988-997.
- [10] 杨扬震. 骨与关节创伤[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2013: 593.
- [11] YANG Yangzhen. *Bone and Joint Injuries*[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 2013: 593.
- [11] ROBERTS T T, LEONARD G R, CEPELA D J. Classifications in brief: American spinal injury association (Asia) impairment scale[J]. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 2017, 475(5): 1499-1504.
- [12] JIN Chen, ZHAO Lijuan, WU Jinhui, et al. Traumatic cervical spinal cord injury: relationship of MRI findings to initial neurological impairment[J]. *European Spine Journal*, 2021, 30(12): 3666-3675.
- [13] ANJUM A, YAZID M D, FAUZI DAUD M, et al. Spinal cord injury: pathophysiology, multimolecular interactions, and underlying recovery mechanisms[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(20): 7533.
- [14] CHAY W, KIRSHBLUM S. Predicting outcomes after spinal cord injury[J]. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America*, 2020, 31(3): 331-343.
- [15] PANG Qiming, CHEN Siyu, XU Qijing, et al. Neuroinflammation and scarring after spinal cord injury: therapeutic roles of MSCs on inflammation and glial scar[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 751021.
- [16] TIGCHELAAR S, HE Zihuai, THARIN S. Spinal cord injury: a study protocol for a systematic review and meta-analysis of microRNA alterations[J]. *Systematic reviews*, 2022, 11(1): 61-71.
- [17] JIA Shu, CHEN Guowu, LIANG Yanhu, et al. GCH1-regulated miRNAs are potential targets for microglial activation in neuropathic pain[J]. *Bioscience Reports*, 2021, 41(9): BSR20210051.
- [18] ZHU Yanhui, ZOU Chengwei, JIA Yanting, et al. Knockdown of circular RNA circMAT2B reduces oxygen-glucose deprivation-induced inflammatory injury in H9c2 cells through up-regulating miR-133[J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(20): 2622-2630.
- [19] 张小建, 张军毅, 冯嵩, 等. 联合 cTnI, Mb 和 miR-133 检测在 AVM 患儿诊断及预后中的作用[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14(1): 145-148.
ZHANG Xiaojian, ZHANG Junyi, FENG Song, et al. Application of combined detection of cTnI, Mb and miR-133 in the diagnosis and prognosis of children with AVM[J]. *Journal of Molecular Diagnosis and Therapy*, 2022, 14(1): 145-148.
- [20] 徐娜, 崔云飞, 叶玲, 等. 心律失常合并医院感染患者外周血 miR-126-5p 和 miR-133a 表达水平[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(5): 708-712.
XU Na, CUI Yunfei, YE Ling, et al. Expression of peripheral blood miR-126-5p and miR-133a in arrhythmia patients complicated with nosocomial infection[J]. *Chinese Journal of Nosocomiology*, 2022, 32(5): 708-712.

- [13] 王杰, 李冰. 2型糖尿病肾病病理改变与肾脏预后的相关性研究[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2021, 22(1):85-87.
WANG Jie, LI Bing. Study on the correlation between pathological changes of type 2 diabetes nephropathy and renal prognosis[J]. Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Nephrology, 2021, 22(1): 85-87.
- [14] 郭宜晨, 鲁亚静, 钟伟传, 等. 2型糖尿病患者外周血 miRNA 表达谱差异研究[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(6):5-8.
GUO Yichen, LU Yajing, ZHONG Weichuan, et al. Study on the difference of serum miRNA expression profile in peripheral blood of patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(6):5-8.
- [15] ISHII H, KANEKO S, YANAI K, et al. MicroRNAs in podocyte injury in diabetic nephropathy[J]. Frontiers in Genetics, 2020, 11:993.
- [16] EPPLE C, HAUMER A, ISMAIL T, et al. Prefabrication of a large pedicled bone graft by engineering the germ for de novo vascularization and osteoinduction[J]. Biomaterials, 2018, 192:118-127.
- [17] FASOLINO I, RAUCCI M G, SORIENTE A, et al. Osteoinductive and anti-inflammatory properties of chitosan-based scaffolds for bone regeneration [J]. Materials Science & Engineering. C, Materials for Biological Applications, 2019, 105:110046.
- [18] POFI R, FIORE D, DE GAETANO R, et al. Phosphodiesterase-5 inhibition preserves renal hemodynamics and function in mice with diabetic kidney disease by modulating miR-22 and BMP7[J]. Scientific Reports, 2017, 7:44584.
- [19] GALINDO R J, BECK R W, SCIOSCIA M F, et al. Glycemic monitoring and management in advanced chronic kidney disease[J]. Endocrine Reviews, 2020, 41(5):756-774.

收稿日期: 2022-06-08

修回日期: 2022-11-02

(上接第6页)

- [21] JIANG Na, AN Jinyang, YANG Kuan, et al. NLRP3 inflammasome: a new target for prevention and control of osteoporosis?[J]. Frontiers in Endocrinology, 2021, 12 752546.
- [22] ZAHID A, LI Bofeng, KOMBEA J K, et al. Pharmacological inhibitors of the NLRP3 inflammasome[J]. Frontiers in immunology, 2019, 10: 2538.
- [23] JIAO Jian-hang, ZHAO Guan-jie, WANG Yang, et al. MCC950, a selective inhibitor of NLRP3 inflammasome, reduces the inflammatory response and improves neurological outcomes in mice model of spinal cord injury[J]. Frontiers in Molecular Biosciences, 2020, 7: 37.
- [24] 苏啸尘, 王国强, 李江波, 等. 姜黄素通过调控 NLRP3 炎症小体抑制急性脊髓损伤后的炎症反应[J]. 山西医科大学学报, 2022, 53(6): 719-723.
SU Xiaochen, WANG Guoqiang, LI Jiangbo, et al. Curcumin suppresses the inflammatory response after acute spinal cord injury by modulating NLRP3 inflammasomes[J]. Journal of Shanxi Medical University, 2022, 53(6): 719-723.
- [25] 刘艳辉, 范永会, 王建文. 重症肺炎患者外周血 NLRP3 炎症小体表达水平的变化及临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(6): : 970-974.
LIU Yanhui, FAN Yonghui, WANG Jianwen. Changes and clinical significance of peripheral blood NLRP3 inflammasome expression in patients with severe pneumonia[J]. Journal of Molecular Diagnosis and Therapy, 2022, 14(6): 970-974.
- [26] 徐林, 周剑宇. 芍药内酯苷通过抑制脊髓 NLRP3 炎症小体活化缓解神经病理性疼痛[J]. 承德医学院学报, 2022, 39(5): 361-365.
XU Lin, ZHOU Jianyu. Albiflorin relieves neuropathic pain by inhibiting the activation of the spinal cord NLRP3 inflammasome[J]. Journal of Chengde Medical College, 2022, 39(5): 361-365.
- [27] 顾慧玲, 王海峰, 倪红燕, 等. 呼吸机相关肺损伤患者血清及诱导痰液 NLRP3 炎症小体的表达及与其它炎症因子的相关性[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(1): 97-100.
GU Huiling, WANG Haifeng, NI Hongyan, et al. Correlation of serum and phlegm NLRP3 inflammasome in patients with ventilator-induced lung injury with other inflammatory cytokines[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(1): 97-100.
- [28] 姜福富, 覃纲, 李嘉燕, 等. 特发性肺纤维化急性加重期患者 NLRP3 炎症小体、炎症因子、蛋白酶表达水平及其临床价值[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(20): 4974-4977.
JIANG Fufu, QIN Gang, LI Jiayan, et al. Expression levels and clinical value of NLRP3 inflammasome, inflammatory factor and protease in patients with acute exacerbation of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2022, 42(20): 4974-4977.
- [29] 杨永涛, 陈伟, 孙国静. 脊柱骨折合并脊髓损伤患者血清 HMGB1, NF- κ B 表达水平及其作为预后情况预测因素的临床意义[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2021, 36(9): 938-940.
YANG Yongtao, CHEN Wei, SUN Guojing. Serum HMGB1 and NF- κ B expression levels in patients with spinal fracture complicated with spinal cord injury and their clinical significance as prognostic factors[J]. Chinese Journal of Bone and Joint Injury, 2021, 36(9): 938-940.

收稿日期: 2022-10-25

修回日期: 2022-12-08