

# 蛛网膜下腔出血患者不同神经功能恢复结局之间 microRNAs 表达差异的 meta 分析

韩岳<sup>1</sup>, 左积文<sup>1</sup>, 陈丽丽<sup>1</sup>, 王静<sup>2</sup>

(1. 正定县人民医院外三科, 石家庄 050800; 2. 石家庄市第四医院产二科, 石家庄 050011)

**摘要:** **目的** 评价蛛网膜下腔出血 (subarachnoid hemorrhage, SAH) 患者不同神经功能恢复结局之间的微小核糖核酸 (micro-ribonucleic acid, microRNA) 表达差异, 根据 microRNA 的表达差异探讨影响神经功能恢复的潜在机制。 **方法** 计算机检索英文数据库 PubMed, EmBase, Cochrane library, 以及中文数据库中国知网 (China national knowledge infrastructure, CNKI)、万方数据知识服务平台、重庆维普中文科技期刊数据库 (China Science and Technology Journal Database, CSTJ)、中国生物医学文献服务系统, 并检索了基因表达数据库包括高通量基因表达数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) 以及芯片表达谱数据库 (Array Express)。搜集 SAH 患者中关于 microRNA 表达水平与不同神经功能恢复结局相关的病例对照研究。检索时间为建库至 2022 年 8 月。采用均数差值 (mean difference, MD) 及其 95% 置信区间 (confidence interval, CI) 对 microRNA 表达结果进行合并。对差异表达 microRNA 的靶基因进行富集分析。 **结果** 最终纳入发表于 2017 ~ 2022 年的 6 项研究。纳入研究均采用改良 Rankin 量表 (modified Rankin Scale, mRS) 对神经功能恢复结局进行评估。Meta 分析结果认为, miR-152-3p [MD=-0.31, 95%CI (-0.50, -0.13), 校正后  $P=0.006$ ], miR-221-3p [MD=-0.26, 95%CI (-0.40, -0.11), 校正后  $P=0.005$ ], miR-34a-5p [MD=-0.28, 95%CI (-0.46, -0.11), 校正后  $P=0.009$ ] 在神经功能恢复良好患者的脑脊液中表达水平低于神经功能恢复不良患者, 差异具有统计学意义。而 miR-210-3p [MD=0.23, 95%CI (0.10, 0.37), 校正后  $P=0.006$ ] 和 miR-193b-3p [MD=0.16, 95%CI (0.12, 0.20), 校正后  $P=0.002$ ] 在神经功能恢复良好患者的脑脊液或外周血中表达水平高于神经功能恢复不良患者, 差异具有统计学意义。靶基因富集分析显示 PI3K-AKT 信号通路与 SAH 患者神经功能恢复结局相关。 **结论** SAH 患者不同神经功能恢复结局之间 microRNA 表达差异具有统计学意义, microRNA 有望成为判定神经功能恢复结局的生物标志物。靶基因富集分析证实了 PI3K-AKT 信号通路在 SAH 患者神经功能恢复中的关键作用。

**关键词:** 蛛网膜下腔出血; 微小核糖核酸; 神经功能; meta 分析

**中图分类号:** R743.35; R446 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2023) 04-131-08

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2023.04.024

## Meta-analysis of Differential microRNA Expression between Different Neurological Recovery Outcomes in Patients with Subarachnoid Hemorrhage

HAN Yue<sup>1</sup>, ZUO Jiwen<sup>1</sup>, CHEN Lili<sup>1</sup>, WANG Jing<sup>2</sup>

(1. the Third Department of Surgery, Zhengdingxian People's Hospital, Shijiazhuang 050800, China; 2. the Second Department of Obstetrics, the Fourth Hospital of Shijiazhuang, Shijiazhuang 050011, China)

**Abstract: Objective** To evaluate differential micro-ribonucleic acid (microRNA) expression between different neurological function recovery outcomes in patients with subarachnoid hemorrhage (SAH) and to explore the potential mechanisms affecting neurological function recovery according to the differential microRNA expression. **Methods** Literature databases including PubMed, EmBase, Cochrane library, China national knowledge infrastructure (CNKI), Wanfang data knowledge service platform, China Science and Technology Journal Database (CSTJ), SinoMed, and the gene expression databases, including Gene Expression Omnibus (GEO) and Array Express, were searched from inception to August 2022. Study reported the microRNA expression in SAH patients with different neurological outcome were included. The microRNA expression results were pooled using mean difference (MD) with its 95% confidence interval (CI), and the target genes of significantly expression microRNAs were selected for enrichment analysis. **Results** Six studies published between 2017 and 2022 were finally included. The neurological outcomes were all assessed using the modified Rankin Scale (mRS). Meta-analysis showed miR-152-3p [MD=-0.31, 95%CI (-0.50, -0.13), adjusted  $P=0.006$ ], miR-221-3p [MD=-0.26, 95%CI (-0.40, -0.11), adjusted  $P=0.005$ ], and miR-34a-5p [MD=-0.28, 95%CI (-0.46, -0.11), adjusted  $P=0.009$ ] were lower expressed in the cerebrospinal fluid of neurological good

**作者简介:** 韩岳 (1984-), 男, 本科, 副主任医师, 研究方向: 神经外科学相关疾病, E-mail: hanyue8011@sohu.com。

recovery patients than that of poor recovery patients with statistically significant. MiR-210-3p[MD=0.23, 95%CI(0.10, 0.37), adjusted  $P = 0.006$ ] and miR-193b-3p[MD=0.16, 95%CI(0.12, 0.20), adjusted  $P = 0.002$ ] were higher expressed in cerebrospinal fluid or serum of neurological good recovery patients than that of poor recovery patients with statistically significant. The enrichment analysis revealed that the PI3K-AKT signaling pathway was associated with neurological outcome after SAH. **Conclusion** There were differences in microRNA expression between different neurological functional recovery outcomes in SAH patients and microRNA was expected to be a biomarker to determine the neurological recovery outcome. The enrichment analysis validated the key role of the PI3K-AKT signaling pathway in the neurological recovery of SAH patients.

**Keywords:** subarachnoid hemorrhage; microRNA; neurological function; meta-analysis

蛛网膜下腔出血 (subarachnoid hemorrhage, SAH) 是一种急性出血性脑血管疾病, 占所有脑卒中患者的 5% ~ 10%<sup>[1]</sup>。全球 SAH 的年发病率为每十万人 6 ~ 27.63 例<sup>[2]</sup>。SAH 具有极差的预后, 约 35% 的患者在发病后的一个月内死亡<sup>[3]</sup>。幸存者中仍有约 40% 的患者会终身残疾, 日常生活需要依赖他人照料<sup>[4]</sup>。目前, 预测 SAH 患者的神经功能恢复结局多依赖于临床评分和影像学结果, 但准确度较低<sup>[5]</sup>。因此迫切需要深入研究 SAH 患者神经功能恢复结局相关的生物标志物。微小核糖核酸 (micro-ribonucleic acid, microRNA) 是一类长度约为 19 ~ 25 个核苷酸的非编码单链 RNA 分子, 已有研究证实 microRNA 与多种心血管疾病及神经系统疾病相关<sup>[6-8]</sup>。在 SAH 的发生发展过程中, microRNA 也被证实具有重要的调节作用<sup>[9]</sup>。然而, SAH 患者不同神经功能恢复结局之间的 microRNA 表达差异仍然缺乏研究。因此本文将分析 SAH 患者不同神经功能恢复结局之间的 microRNA 表达差异, 为 microRNA 作为判定神经功能恢复结局的生物标志物提供循证医学证据。

## 1 材料与方法

### 1.1 资料来源

1.1.1 文献来源: 检索英文数据库: PubMed, EmBase, Cochrane library; 检索中文数据库: 中国知网 (China National Knowledge Infrastructure, CNKI)、万方数据 (wanfang data) 知识服务平台、重庆维普中文科技期刊数据库 (China Science and Technology Journal Database, CSTJ)、中国生物医学文献服务系统 (Sino Med)。基因表达数据库: 高通量基因表达数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) 以及芯片表达谱数据库 Array Express。检索时间设定为从数据库建库至 2022 年 8 月。检索不设置语言限制。

1.1.2 纳入排除标准: 纳入标准为: ①文献中的研究对象为 SAH 患者; ②检测了 SAH 患者循环血液或脑脊液中 microRNA 的水平, 并对数据进行了报道; ③研究报道了 SAH 患者的神经功能结局。排除标准: ①动物研究或体外细胞研究; ②重复发表的文章或实验数据; ③学位论文、会议摘要、信件

综述等; ④未报道原始数据的研究。

### 1.2 方法

1.2.1 检索方法: 英文检索式为 (“subarachnoid hemorrhage”) AND (“microRNA” OR “microRNA” OR “noncoding RNA” OR “non-coding RNA”)。中文检索式为: 蛛网膜下腔出血 and (小 RNA or microRNA or microRNA or 非编码 RNA or 微小核糖核酸)。两名研究员分别从标题和摘要中独立筛选符合纳入排除标准的文献, 遇到争议通过相互讨论或与第三位研究人员协商解决的方式达成一致意见。通过文献数据库检索, 共得到英文研究 392 篇, 去除重复后得到 281 篇。得到中文研究 534 篇, 去重后得到 486 篇。并在 GEO 和 Array Express 数据库中, 得到 11 个数据集。对去重后的 778 项研究进行题目和摘要筛查, 排除不相关文献 742 篇。之后对 36 篇文献进行全文查看, 排除 30 篇研究, 最终纳入 6 篇文献。文献筛选流程见图 1。纳入文献提取获得的内容包括: 第一作者姓名、发表年份、研究地点、患者数量、样本来源、microRNA 检测方法或平台、不良结局判定方式。

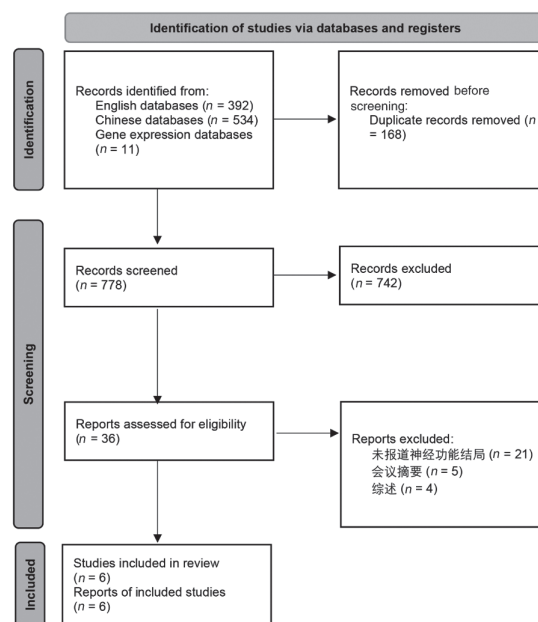


图1 文献筛选流程图

1.2.2 文献质量评价: 由两名研究员使用 Cochrane 所推荐的诊断准确性研究质量评估第二版 (Quality

Assessment of Diagnostic Accuracy Studies 2, QUADAS-2) 量表对纳入研究进行设计质量评估。评估内容包括了病例的选择、待评价试验、金标准、病例流程和进展情况四个方面。

1.3 统计学分析 采用均数差值 (mean difference, MD) 及其 95% 置信区间 (confidence interval, 95% CI) 对 microRNA 表达结果数据进行合并。 $I^2$  统计量用于评估研究之间的异质性。 $I^2 \geq 50\%$  时认为具有明显异质性, 采用随机效应模型进行分析; 否则认为不具有明显异质性, 采用固定效应模型进行分析<sup>[10]</sup>。所得到的  $P$  值采用 BH (Benjamini & Hochberg) 法进行矫正。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。Begg's 和 Egger's 检验用于评估潜在发表偏倚。

使用在线数据库 mirWalk Version 3.0 (<http://mirwalk.umm.uni-heidelberg.de/>) 对有统计学差异的 microRNA 靶基因进行筛选。选择在 mirWalk 数据库所含的 3 个亚数据库 (TargetScan, miRTarBase

和 miRDB) 中得以证实的基因作为最终靶基因。对靶基因进行京都基因和基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析。使用 R 版本 4.2.0 中的 “clusterProfile” 包进行基因富集分析<sup>[11]</sup>。

## 2 结果

2.1 纳入文献基本特征 见表 1。最终共有 6 项研究<sup>[12-17]</sup> 符合纳入标准。研究发表于 2017 ~ 2022 年。研究地点为中国和丹麦。两篇研究采用了脑脊液样本<sup>[13-14]</sup>, 其余研究采用了外周血和血清样本。两篇研究采用了 microRNA 芯片进行 microRNA 检测<sup>[13-14]</sup>, 其余研究采用了聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 进行检测。纳入研究均采用了改良 Rankin 量表 (modified Rankin Scale, mRS) 评估神经功能恢复结局。检测时间点分别为 3 个月、6 个月和 9 个月。

表 1 纳入研究的基本特征

| 作者                             | 发表年代 | 研究地点 | 样本量 | 样本来源 | 检测方法         | 不良结局判定依据    |
|--------------------------------|------|------|-----|------|--------------|-------------|
| LAI Nian-sheng <sup>[12]</sup> | 2017 | 中国   | 60  | 血清   | 实时荧光定量聚合酶链反应 | 9 个月 mRS 结果 |
| BACHE S <sup>[13]</sup>        | 2017 | 丹麦   | 37  | 脑脊液  | microRNA 芯片  | 3 个月 mRS 结果 |
| BACHE S <sup>[14]</sup>        | 2020 | 丹麦   | 74  | 脑脊液  | microRNA 芯片  | 3 个月 mRS 结果 |
| 陈明 <sup>[15]</sup>             | 2020 | 中国   | 55  | 外周血  | 实时荧光定量聚合酶链反应 | 6 个月 mRS 结果 |
| 赵春艳 <sup>[16]</sup>            | 2022 | 中国   | 176 | 血清   | 实时荧光定量聚合酶链反应 | 3 个月 mRS 结果 |
| 陈飞虎 <sup>[17]</sup>            | 2022 | 中国   | 171 | 血清   | 实时荧光定量聚合酶链反应 | 3 个月 mRS 结果 |

在纳入研究质量方面, 有一项研究未明确患者的纳入排除标准<sup>[12]</sup>。有一篇研究仅接受了弹簧圈动脉瘤栓塞术治疗的患者<sup>[17]</sup>。另外, 一篇纳入了高血压治疗后的 SAH 患者<sup>[16]</sup>。上述不同的患者纳入排除标准会造成研究间的异质性。但总体来说, 纳入研究设计质量方面较为理想, 见图 2。

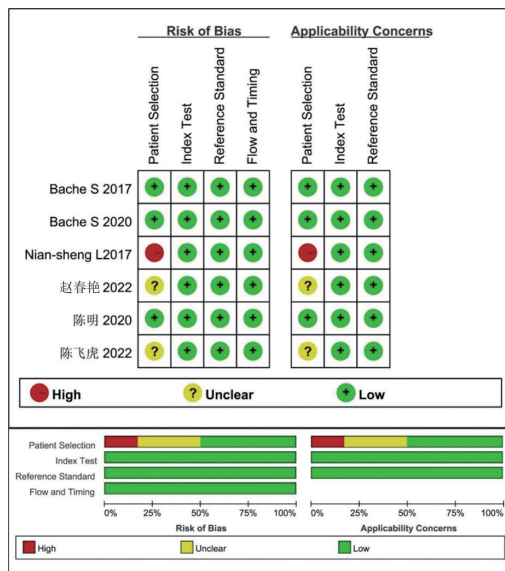


图 2 纳入文献的设计风险偏倚图

2.2 Meta 分析结果 见表 2。固定效应模型显示 miR-152-3p [ $I^2=0\%$ , MD=-0.31, 95%CI (-0.50, -0.13), 矫正后  $P=0.006$ ], miR-221-3p [ $I^2=0\%$ , MD=-0.26, 95%CI (-0.40, -0.11), 矫正后  $P=0.005$ ], miR-34a-5p [ $I^2=1.7\%$ , MD=-0.28, 95%CI (-0.46, -0.11), 矫正后  $P=0.009$ ] 在神经功能恢复良好患者的脑脊液中表达水平低于神经功能恢复不良患者, 差异具有统计学意义。而 miR-210-3p [ $I^2=0\%$ , MD=0.23, 95%CI (0.10, 0.37), 矫正后  $P=0.006$ ] 和 miR-193b-3p [ $I^2=0\%$ , MD=0.16, 95%CI (0.12, 0.20), 矫正后  $P=0.002$ ] 在神经功能恢复良好患者的脑脊液或循环血中表达水平高于神经功能恢复不良患者, 差异具有统计学意义。由于目前纳入研究数量较少, 未进行发表偏倚的评估。另外, 虽然在固定效应模型中 miR-9-3p (矫正后  $P=0.009$ ) 和 miR-27a-3p (矫正后  $P<0.001$ ) 水平在神经功能恢复良好的患者中高于神经功能恢复不良患者, 但上述结果异质性均较高, 分别达 94.7% 和 76.4%。而 miR-9-3p 和 miR-27a-3p 的基于随机效应模型合并结果并未显示出差异具有统计学意义 (矫正后  $P=0.237$ ,  $P=0.853$ )。

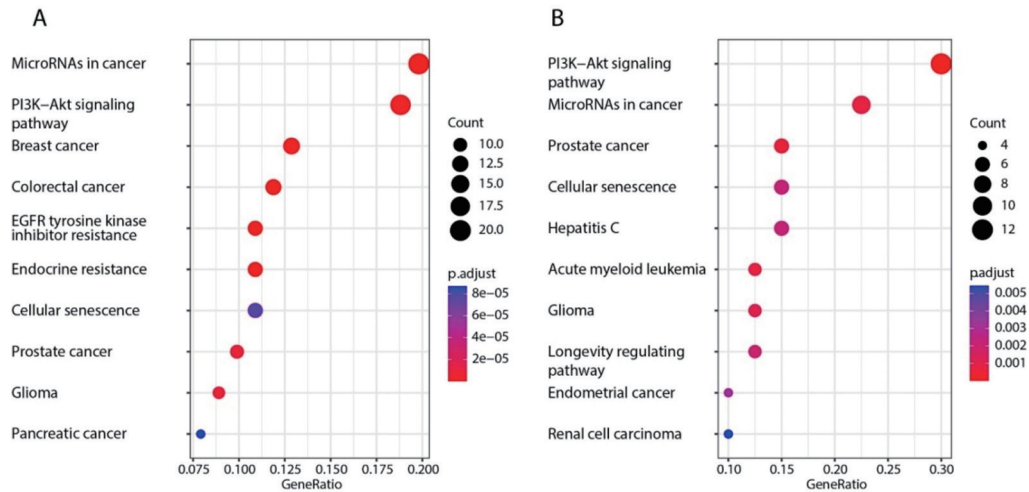
表 2 microRNA 在不同神经功能结局 SAH 患者中表达水平的 meta 分析结果

| microRNAs   | 数据集数量 | $I^2$ (%) | 固定效应模型               |       |           | 随机效应模型               |       |           |
|-------------|-------|-----------|----------------------|-------|-----------|----------------------|-------|-----------|
|             |       |           | 均数差值 (95%CI)         | $P$ 值 | 校正后 $P$ 值 | 均数差值 (95%CI)         | $P$ 值 | 校正后 $P$ 值 |
| let-7b-5p   | 4     | 0.00      | -0.14 (-0.28, 0.00)  | 0.051 | 0.157     | -0.15 (-0.35, 0.04)  | 0.117 | 0.395     |
| miR-125b-5p | 4     | 42.90     | -0.07 (-0.26, 0.11)  | 0.429 | 0.589     | -0.19 (-0.53, 0.16)  | 0.288 | 0.623     |
| miR-130a-3p | 4     | 62.80     | -0.08 (-0.22, 0.06)  | 0.280 | 0.519     | -0.17 (-0.55, 0.20)  | 0.368 | 0.670     |
| miR-152-3p  | 4     | 0.00      | -0.31 (-0.50, -0.13) | 0.001 | 0.006     | -0.34 (-0.59, -0.10) | 0.006 | 0.058     |
| miR-15a-5p  | 4     | 67.40     | 0.08 (-0.10, 0.25)   | 0.407 | 0.579     | 0.05 (-0.42, 0.51)   | 0.845 | 0.893     |
| miR-15b-5p  | 4     | 0.00      | -0.03 (-0.17, 0.12)  | 0.721 | 0.810     | -0.03 (-0.17, 0.12)  | 0.721 | 0.853     |
| miR-16-5p   | 4     | 29.80     | 0.03 (-0.14, 0.20)   | 0.723 | 0.810     | 0.03 (-0.14, 0.20)   | 0.723 | 0.853     |
| miR-185-5p  | 4     | 48.70     | -0.06 (-0.20, 0.08)  | 0.394 | 0.579     | -0.06 (-0.20, 0.08)  | 0.394 | 0.670     |
| miR-19a-3p  | 4     | 17.20     | -0.05 (-0.21, 0.12)  | 0.578 | 0.713     | -0.05 (-0.21, 0.12)  | 0.578 | 0.792     |
| miR-204-5p  | 4     | 0.00      | -0.23 (-0.43, -0.04) | 0.018 | 0.073     | -0.23 (-0.43, 0.02)  | 0.028 | 0.149     |
| miR-20a-5p  | 4     | 13.40     | 0.09 (-0.08, 0.26)   | 0.303 | 0.519     | 0.09 (-0.08, 0.26)   | 0.303 | 0.623     |
| miR-21-5p   | 4     | 0.00      | -0.23 (-0.44, -0.01) | 0.040 | 0.149     | -0.23 (-0.48, 0.01)  | 0.063 | 0.237     |
| miR-221-3p  | 4     | 0.00      | -0.26 (-0.4, -0.11)  | 0.000 | 0.005     | -0.26 (-0.40, -0.11) | 0.000 | 0.007     |
| miR-222-3p  | 4     | 71.30     | -0.01 (-0.16, 0.13)  | 0.848 | 0.872     | -0.05 (-0.40, 0.30)  | 0.782 | 0.853     |
| miR-223-3p  | 4     | 0.00      | 0.22 (0.00, 0.43)    | 0.045 | 0.153     | 0.22 (0.00, 0.43)    | 0.045 | 0.210     |
| miR-24-3p   | 4     | 0.00      | -0.04 (-0.17, 0.08)  | 0.509 | 0.650     | -0.04 (-0.17, 0.08)  | 0.509 | 0.754     |
| miR-25-3p   | 4     | 43.20     | 0.07 (-0.09, 0.23)   | 0.378 | 0.579     | 0.08 (-0.17, 0.33)   | 0.537 | 0.764     |
| miR-26a-5p  | 4     | 39.60     | -0.12 (-0.29, 0.05)  | 0.153 | 0.377     | -0.11 (-0.39, 0.17)  | 0.448 | 0.690     |
| miR-27b-3p  | 4     | 0.00      | -0.12 (-0.31, 0.08)  | 0.239 | 0.466     | -0.12 (-0.31, 0.08)  | 0.239 | 0.553     |
| miR-29a-3p  | 4     | 20.70     | -0.14 (-0.28, 0.01)  | 0.061 | 0.175     | -0.18 (-0.46, 0.09)  | 0.194 | 0.514     |
| miR-29b-3p  | 4     | 33.60     | -0.12 (-0.29, 0.06)  | 0.207 | 0.448     | -0.12 (-0.36, 0.12)  | 0.324 | 0.631     |
| miR-29c-3p  | 4     | 64.60     | -0.08 (-0.20, 0.04)  | 0.179 | 0.414     | -0.22 (-0.52, 0.08)  | 0.152 | 0.433     |
| miR-30a-5p  | 4     | 0.00      | -0.11 (-0.28, 0.06)  | 0.218 | 0.448     | -0.11 (-0.28, 0.06)  | 0.218 | 0.537     |
| miR-30d-5p  | 4     | 51.90     | 0.06 (-0.06, 0.18)   | 0.309 | 0.519     | -0.04 (-0.31, 0.23)  | 0.779 | 0.853     |
| miR-328-3p  | 4     | 0.00      | -0.27 (-0.48, -0.05) | 0.014 | 0.066     | -0.27 (-0.48, -0.05) | 0.014 | 0.088     |
| miR-34a-5p  | 4     | 1.70      | -0.28 (-0.46, -0.11) | 0.002 | 0.009     | -0.3 (-0.54, -0.07)  | 0.011 | 0.080     |
| miR-34b-3p  | 4     | 0.00      | -0.17 (-0.40, 0.06)  | 0.143 | 0.377     | -0.17 (-0.40, 0.06)  | 0.143 | 0.433     |
| miR-361-5p  | 4     | 54.80     | 0.02 (-0.11, 0.14)   | 0.773 | 0.841     | 0 (-0.38, 0.38)      | 0.994 | 0.994     |
| miR-451a    | 4     | 67.70     | 0.04 (-0.17, 0.26)   | 0.694 | 0.810     | 0.1 (-0.38, 0.59)    | 0.672 | 0.853     |
| miR-486-5p  | 4     | 57.60     | 0.1 (-0.10, 0.30)    | 0.342 | 0.550     | 0.19 (-0.27, 0.66)   | 0.416 | 0.670     |
| miR-92a-3p  | 4     | 82.40     | 0.01 (-0.12, 0.15)   | 0.842 | 0.872     | 0.07 (-0.44, 0.58)   | 0.784 | 0.853     |
| miR-93-5p   | 4     | 0.00      | 0.01 (-0.16, 0.17)   | 0.941 | 0.941     | 0.01 (-0.16, 0.17)   | 0.941 | 0.967     |
| miR-9-3p    | 4     | 94.70     | 0.44 (0.17, 0.71)    | 0.001 | 0.009     | 1.41 (-0.08, 2.89)   | 0.064 | 0.237     |
| miR-502     | 2     | 92.00     | -0.43 (-1.68, 0.82)  | 0.498 | 0.650     | -2.83 (-9.65, 3.98)  | 0.416 | 0.670     |
| miR-27a-3p  | 5     | 76.40     | 0.14 (0.10, 0.18)    | 0.000 | 0.000     | -0.04 (-0.29, 0.21)  | 0.751 | 0.853     |
| miR-210-3P  | 3     | 0.00      | 0.23 (0.10, 0.37)    | 0.001 | 0.006     | 0.23 (0.10, 0.37)    | 0.001 | 0.007     |
| miR-193b-3p | 2     | 0.00      | 0.16 (0.12, 0.20)    | 0.000 | 0.002     | 0.16 (0.12, 0.2)     | 0.000 | 0.004     |

2.3 生物信息分析结果 见图 3。对差异表达 microRNA 的靶基因进行 KEGG 富集分析。在神经功能恢复良好的人群中显著下调的 microRNA 靶基因富集结果显示, 基因富集于 Phosphatidylinositol

3-kinase/protein kinase B( PI3K-AKT )等信号通路中。而显著上调的 microRNA 靶基因富集结果同样显示富集于 PI3K-AKT 等信号通路中。



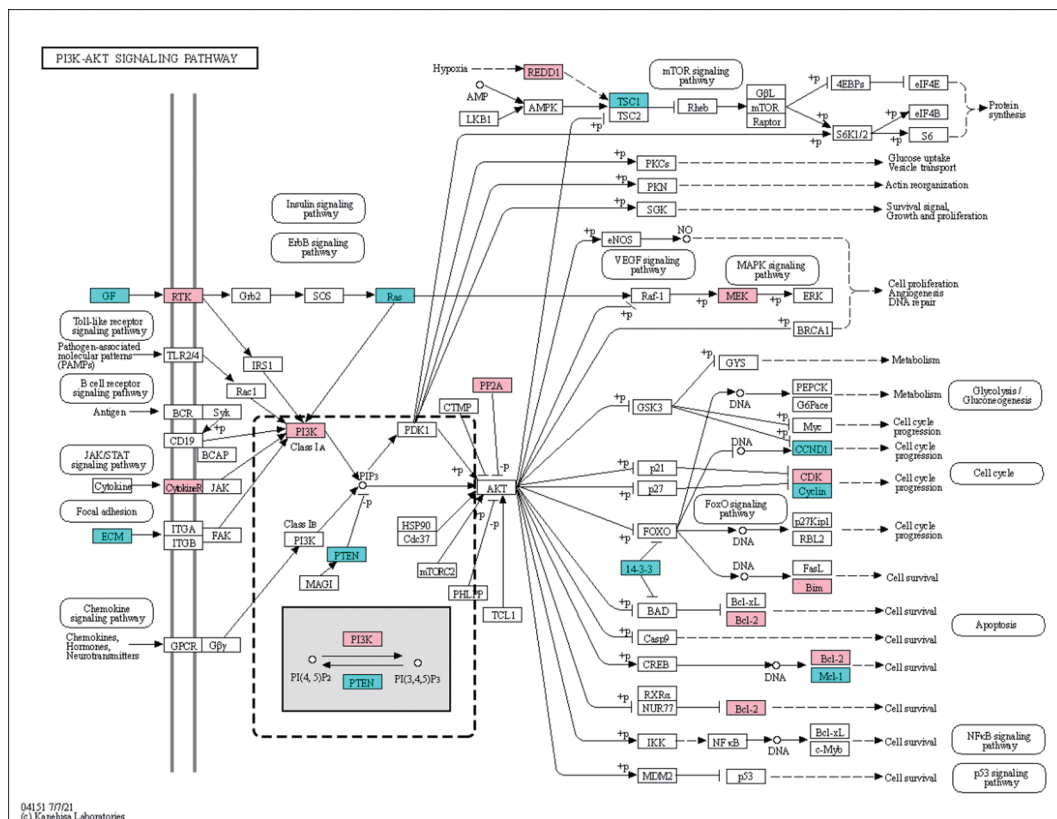


A: 在神经功能结局恢复良好人群中显著下调 microRNA 的靶基因富集; B: 在神经功能结局恢复良好人群中显著上调 microRNA 的靶基因富集。

图3 差异表达 microRNA 的靶基因 KEGG 富集分析

进一步通过 KEGG 数据库, 对 PI3K-AKT 细胞通路中不同靶基因进行标注。发现在神经功能恢复良好的人群中表达降低 microRNA 的靶基因包括 phosphoinositide 3-kinase (PI3K) 等相关基

因。而在表达增高的 microRNA 靶点包含 PTEN (gene of phosphate and tension homology deleted on chromosome ten) 等相关基因, 见图 4。



差异表达 microRNA 的靶基因进行富集分析后认为, PI3K-AKT 信号通路可能在神经功能恢复转归中发挥了重要的作用。

本研究结果提示 miR-152-3p 在神经功能恢复良好的人群中表达水平较低, 结果具有统计学差异。有研究结果认为 miR-152 具有预测 2 型糖尿病微血管并发症风险的作用, 提示 miR-152 表达水平可能与微血管形成相关<sup>[18]</sup>。对于动脉瘤患者, miR-152-3p 水平在颅内动脉瘤破裂患者的脑脊液中相较于未破裂患者显著升高, 并能够独立预测颅内动脉瘤破裂风险。其作用机制可能与人血管平滑肌细胞 (human vascular smooth muscle cells, HVSMCs) 的增殖和迁移相关<sup>[19]</sup>。miR-152-3p 也可能通过影响 HVSMCs 的增殖和表型转换来影响 SAH 后血管重塑和血管痉挛<sup>[20]</sup>。在缺氧条件下 miR-152-3p 能够靶向作用于 DDX6 (DEAD-box helicase 6) 基因加重血管内皮细胞的功能障碍<sup>[21]</sup>。上述研究提示高 miR-152-3p 水平可能通过抑制 HVSMC 细胞增殖并造成内皮细胞功能障碍, 从影响了血管重塑和造成血管痉挛, 进一步引起神经功能恢复不良。

miR-221-3p 也被认为与 2 型糖尿病微血管并发症风险相关<sup>[22]</sup>。在机制研究中, miR-221-3p 能够抑制 HVSMCs 的增殖<sup>[23]</sup>。在一篇纳入的研究中, miR-221 水平的升高与 SAH 后发生迟发性脑缺血的风险相关<sup>[13]</sup>。另外, 一篇临床研究也发现, 在急性缺血性脑卒中人群中, 发生迟发性抑郁症患者血清 miR-221-3p 水平显著高于未发生抑郁症人群<sup>[24]</sup>。而卒中后抑郁症的发生与较差的神经功能结局相关<sup>[25]</sup>。因此, 高 miR-221-3p 水平也可能通过影响 HVSMC 增殖和血供重建, 造成了神经功能恢复不良。

对于 miR-34a-5p, 在动脉瘤破裂发生 SAH 的人群血清中, 水平显著高于健康对照人群<sup>[26]</sup>。基础研究认为在布比卡因诱导的神经毒性模型中 miR-34a-5p 水平上调<sup>[27]</sup>。miR-34a-5p 水平上调也与小鼠认知障碍相关<sup>[28-29]</sup>。另外, 研究发现随着年龄的增加, 小鼠大脑内 miR-34a-5p 表达水平逐渐增高<sup>[30]</sup>。因此, miR-34a-5p 更可能通过抑制神经细胞再生和突触重塑<sup>[29]</sup>来影响 SAH 患者的神经功能恢复。

在神经功能恢复良好的患者中, miR-210-3p 和 miR-193b-3p 表达显著上调。在一项有关脑梗死的临床观察研究中, 认为血清 miR-210 表达的降低是脑梗死患者预后不良的独立危险因素<sup>[31]</sup>。从机制上, 体外研究证实了通过间充质干细胞衍生的细胞外囊泡, 能够通过促进神经干细胞 miR-210-3p 的表达, 来预防缺氧损伤以及细胞凋亡<sup>[32]</sup>。在 SAH 患者高压氧治疗作用机制研究中, 治疗后 miR-193b-

3p 表达水平增高与神经功能恢复良好相关<sup>[16]</sup>。循环 miR-193b-3p 的增加也被认为能够减轻 SAH 动物模型的神经行为障碍、脑水肿、血脑屏障损伤和神经变性, 并降低 SAH 后脑组织内炎症因子的表达水平<sup>[33]</sup>。同时在动物模型中, miR-193b-3p 干预也能够减轻脑缺血再灌注损伤, 并起到神经保护作用<sup>[34-35]</sup>。因此, miR-210-3p 和 miR-193b-3p 可能通过抑制神经细胞凋亡和降低炎症反应水平等机制起到了神经保护作用, 有益于 SAH 后神经功能恢复。

靶向基因富集分析中, PI3K-AKT 信号通路与 SAH 患者神经功能恢复结局相关。具体为 PI3K 活性增加, PETN 活性降低与神经功能恢复良好相关。PI3K-AKT 通路在 SAH 中的作用机制, 包括减轻神经细胞自噬, 维持血脑屏障完整性, 降低脑含水量, 减轻神经炎症和缓解白质损伤等多个方面。在 SAH 动物模型中, PI3K-AKT 信号通路活性升高有助于减轻脑水肿, 维持血脑屏障完整性, 减少脑内浸润中性粒细胞数量, 从而促进了 SAH 发生后的神经功能恢复<sup>[36]</sup>。同时, PI3K-AKT 信号通路活性升高能够通过缓解白质损伤以促进神经功能恢复<sup>[37]</sup>。采用碱性成纤维细胞生长因子对 SAH 动物模型进行干预后, 使 PI3K-AKT 信号通路活性升高, 抑制了神经细胞自噬, 降低了脑含水量, 从而减轻脑损伤并促进神经功能恢复<sup>[38]</sup>。近期发表研究认为脂肪基质细胞所释放的外泌体以及烟碱型乙酰胆碱  $\alpha 7$  受体 ( $\alpha 7$ -AChR) 激动剂加兰他敏, 均能够直接上调 PI3K/AKT 信号通路, 从而增加神经细胞的存活, 进而缓解 SAH 造成的神经功能障碍<sup>[39-40]</sup>。

本研究仍然具有以下缺陷: ①本研究假定了所有纳入的 SAH 患者均得到了良好治疗, 并且患者特征及治疗因素在恢复良好和恢复不良的人群中分布平衡。但实际上仍需考虑患者特点或治疗因素对结果产生的影响。②本研究仅纳入了 6 项研究, 其中的两项研究来自于同一团队。仍然需要更多的研究来对本研究结果进行验证。③本研究所分析的样本包括外周血和脑脊液。虽然 microRNA 具备穿越血脑屏障的能力, 不同的样本来源仍然可能会对结果造成影响。④所有研究均排除了在随访期间死亡的患者, 该部分患者的缺失可能会对结果造成影响。

综上所述, 本研究通过综合分析 SAH 患者不同神经功能恢复结局之间 microRNA 的表达差异, 认为在神经功能恢复良好患者中, miR-152-3p, miR-221-3p 和 miR-34a-5p 水平下调, 而 miR-210-3p 和 miR-193b-3p 水平上调, 差异具有统计学意义。通过靶向基因 KEGG 富集分析, 认为 PI3K-AKT 信号通路在 SAH 患者神经功能恢复中起到了关键的作用。

## 参考文献:

- [1] SHANG Feng, ZHAO Hao, CHENG Weitao, et al. Predictive value of the serum albumin level on admission in patients with spontaneous subarachnoid hemorrhage[J]. *Frontiers in Surgery*, 2021, 8: 719226.
- [2] CHEN Ruiqi, WEN Dingke, FU Wei, et al. Treatment effect of DNA framework nucleic acids on diffuse microvascular endothelial cell injury after subarachnoid hemorrhage[J]. *Cell Proliferation*, 2022, 55(4): e13206.
- [3] GRIS T, LAPLANTE P, THEBAULT P, et al. Innate immunity activation in the early brain injury period following subarachnoid hemorrhage[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 253.
- [4] LINDGREN A, VERGOUWEN M D, VAN DER SCHAAF I, et al. Endovascular coiling versus neurosurgical clipping for people with aneurysmal subarachnoid haemorrhage[J]. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018, 8(8): CD003085.
- [5] 李长青, 柴尔青, 姜蕾. 蛛网膜下腔出血预后相关生物标志物研究进展 [J]. *医学综述*, 2018, 24(10): 2016-2021, 2026.
- LI Changqing, CHAI Erqing, JIANG Lei. Research progress of biomarkers associated with prognosis of subarachnoid hemorrhage[J]. *Medical Recapitulate*, 2018, 24(10): 2016-2021, 2026.
- [6] 樊春荔, 何燕娟. 缺血性脑卒中和短暂性脑缺血发作患者血清 miR-23b-3p 水平变化的比较研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(5): 51-54, 123.
- FAN Chunli, HE Yanjuan. Altered levels of serum miR-23b-3p in patients with ischemic stroke and transient ischemic attack[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(5): 51-54, 123.
- [7] 周红, 娜日罕, 荣钰, 等. 扩张型心肌病患者两种治疗方法前后 microRNA-126 和 microRNA-30a 水平表达的研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(4): 6-9.
- ZHOU Hong, NA Rihan, RONG Yu, et al. Study on the expression of microRNA-126 and microRNA-30a in patients with dilated cardiomyopathy before and after two treatments[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(4): 6-9.
- [8] 程永红, 肖小平. 中重度颅脑损伤并发脑梗死患者血清 miRNA-124 与 miRNA-210 表达的临床意义 [J]. *现代检验医学杂志*, 2018, 33(3): 83-87.
- CHENG Yonghong, XIAO Xiaoping. Clinical application in detecting serum microRNA-124 and microRNA-210 in the moderately severe craniocerebral injury complicated with the traumatic cerebral infarction[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2018, 33(3): 83-87.
- [9] ZHENG Lina, ZHANG Xin, LIU Liping, et al. Altered expression of specific microRNAs in plasma of aneurysmal subarachnoid hemorrhage patients[J]. *Frontiers in Neurology*, 2022, 13: 842888.
- [10] 侯越, 赵妍, 王友明, 等. 脑卒中患者血清胱抑素 C 水平与卒中后认知障碍相关性的 Meta 分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(2): 142-147.
- HOU Yue, ZHAO Yan, WANG Youming, et al. Meta analysis of the correlation between cystatin C level in stroke patients and post stroke cognitive impairment[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(2): 142-147.
- [11] 侯芳霞, 刘琳, 张维, 等. 基于 GEO 数据库筛选稳定性心绞痛患者外周血关键差异基因及诊断模型构建 [J]. *现代检验医学杂志*, 2022, 37(6): 19-23, 69.
- HOU Fangxia, LIU Lin, ZHANG Wei, et al. Identification of hub genes and differential expression genes for peripheral blood samples of stable angina pectoris based on GEO databases[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2022, 37(6): 19-23, 69.
- [12] LAI Niansheng, ZHANG Jiaqi, QIN Feiyun, et al. Serum microRNAs are non-invasive biomarkers for the presence and progression of subarachnoid haemorrhage[J]. *Bioscience Reports*, 2017, 37(1): BSR20160480.
- [13] BACHE S, RASMUSSEN R, ROSSING M, et al. MicroRNA changes in cerebrospinal fluid after subarachnoid hemorrhage[J]. *Stroke*, 2017, 48(9): 2391-2398.
- [14] BACHE S, RASMUSSEN R, WOLCOTT Z, et al. Elevated miR-9 in cerebrospinal fluid is associated with poor functional outcome after subarachnoid hemorrhage[J]. *Translational Stroke Research*, 2020, 11(6): 1243-1252.
- [15] 陈明, 张清秀, 魏秀娥. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者外周血 miR-210 与 TLR4 表达的相关性及临床意义 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(12): 1665-1669.
- CHEN Ming, ZHANG Qingxiu, WEI Xiue. Correlation of miR-210 and TLR4 expression in peripheral blood of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage and its clinical significance[J]. *Journal of Molecular Diagnosis and Therapy*, 2020, 12(12): 1665-1669.
- [16] 赵春艳, 屠淑敏, 薛冰, 等. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者高压氧治疗后血清 miR-193b-3p 水平及其意义题录 [J]. *中华航海医学与高气压医学杂志*, 2022, 29(1): 102-107.
- ZHAO Chunyan, TU Shumin, XUE Bing, et al. The level and significance of miR-193b-3p in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage after hyperbaric oxygen treatment[J]. *Chinese Journal of Nautical Medicine and Hyperbaric Medicine*, 2022, 29(1): 102-107.
- [17] 陈飞虎, 陈建龙, 林海峰. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者介入治疗后 miR-27a 表达水平及意义 [J]. *海军医学杂志*, 2022, 43(1): 105-108.
- CHEN Feihu, CHEN Jianlong, LIN Haifeng. Expression level and significance of miR-27a in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage after interventional treatment[J]. *Journal of Navy Medicine*, 2022, 43(1): 105-108.
- [18] 李凌, 王成, 王静, 等. 2 型糖尿病微血管并发症患者血清 miR-152,  $\beta$ 2-GPI/ox-LDL 和  $\beta$ 2-GP I - Lp(a) 水平联合检测的价值研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2021, 36(2): 61-65.
- LI Ling, WANG Cheng, WANG Jing, et al. Clinical value of combined retention of serum miR-152,  $\beta$ 2-GPI/ox-LDL and  $\beta$ 2-GPI-Lp(a) in the type 2 diabetes patients with microvascular complications[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2021, 36(2): 61-65.



- [19] LI Yunping, WU An, DAI Weimin, et al. Cerebrospinal fluid exosomal miR-152-3p predicts the occurrence of subarachnoid haemorrhage and regulates vascular smooth muscle cell dysfunction[J]. *Folia Neuropathologica*, 2022, 60(2): 185-194.
- [20] XU Li, WU Jiang, LIU Yuan, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor  $\beta/\delta$  regulates cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage via modulating vascular smooth muscle cells phenotypic conversion[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2021, 24(6): 860.
- [21] ZHAO Zhongyan, WU Chanji, HE Xiangying, et al. MiR-152-3p aggravates vascular endothelial cell dysfunction by targeting DEAD-box helicase 6 (DDX6) under hypoxia[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 4899-4910.
- [22] 万淑君, 王成, 王静, 等. 2型糖尿病微血管并发症患者血清 miR-16, miR-126 和 miR-221 水平检测及临床意义 [J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(5): 9-13. WAN Shujun, WANG Cheng, WANG Jing, et al. Study on serum levels of miR-16, miR-126 and miR-221 and their clinical significance in type 2 diabetes patients with or without microvascular complications[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2016, 31(5): 9-13.
- [23] BAZAN H A, HATFIELD S A, O'MALLEY C B, et al. Acute loss of miR-221 and miR-222 in the atherosclerotic plaque shoulder accompanies plaque rupture[J]. *Stroke*, 2015, 46(11): 3285-3287.
- [24] LIANG Huaibin, HE Jirong, TU Xuanqiang, et al. MicroRNA-140-5p: A novel circulating biomarker for early warning of late-onset post-stroke depression[J]. *Journal of Psychiatric Research*, 2019, 115: 129-141.
- [25] 杨洋, 田蕊萍, 张利侠, 等. 血清白介素 -2 水平表达与卒中后抑郁相关性的 Meta 分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(2): 79-84, 117. YANG Yang, TIAN Ruiping, ZHANG Lixia, et al. Meta analysis of the correlation between serum interleukin-2 expression and post-stroke depression[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2021, 36(2): 79-84, 117.
- [26] SUPRIYA M, CHRISTOPHER R, INDIRA DEVI B, et al. Circulating microRNAs as potential molecular biomarkers for intracranial aneurysmal rupture[J]. *Molecular Diagnosis & Therapy*, 2020, 24(3): 351-364.
- [27] YANG Zhoujing, HU Sheng, HE Yinbin, et al. LINC00665 rescues bupivacaine induced neurotoxicity in human neural cell of SH-SY5Y through has-miR-34a-5p[J]. *Brain Research Bulletin*, 2021, 177: 210-216.
- [28] CUI Ming, XIAO Huiwen, LI Yuan, et al. Total abdominal irradiation exposure impairs cognitive function involving miR-34a-5p/BDNF axis[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(9): 2333-2341.
- [29] XU Yuelong, CHEN Ping, WANG Xianjun, et al. MiR-34a deficiency in APP/PS1 mice promotes cognitive function by increasing synaptic plasticity via AMPA and NMDA receptors[J]. *Neuroscience Letters*, 2018, 670: 94-104.
- [30] TAI Yusi, PU Mei, YUAN Luyang, et al. MiR-34a-5p regulates PINK1-mediated mitophagy via multiple modes[J]. *Life Sciences*, 2021, 276: 119415.
- [31] 王国玲, 张博刚, 郭娟, 等. 脑梗死患者血清 miR-181d 和 miR-210 水平表达与颈动脉狭窄程度及预后的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(6): 64-69. WANG Guoling, ZHANG Bogang, GUO Juan, et al. Correlation between serum miR-181d and miR-210 levels in patients with cerebral infarction and the degree of carotid artery stenosis and prognosis[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2021, 36(6): 64-69.
- [32] LI Fang, ZHANG Jie, LIAO Rui, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles prevent neural stem cell hypoxia injury via promoting miR-210-3p expression[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2020, 22(5): 3813-3821.
- [33] LAI Niansheng, WU Degang, LIANG Tianyu, et al. Systemic exosomal miR-193b-3p delivery attenuates neuroinflammation in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in mice[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 74.
- [34] CHEN Zhihao, YANG Junqing, ZHONG Jianjun, et al. MicroRNA-193b-3p alleviates focal cerebral ischemia and reperfusion-induced injury in rats by inhibiting 5-lipoxygenase expression[J]. *Experimental Neurology*, 2020, 327: 113223.
- [35] YANG Tianye, WU Jiajun, GE Kui, et al. MicroRNA-193b-3p reduces oxidative stress and mitochondrial damage in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury via the seven in absentia homolog 1/Jun N-terminal kinase pathway[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 6942-6954.
- [36] ZHU Qiquan, ENKHJARGAL B, HUANG Lei, et al. AGGF1 attenuates neuroinflammation and BBB disruption via PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B pathway after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 178.
- [37] PENG Jianhua, PANG Jinwei, HUANG Lei, et al. LRP1 activation attenuates white matter injury by modulating microglial polarization through Shc1/PI3K/Akt pathway after subarachnoid hemorrhage in rats[J]. *Redox Biology*, 2019, 21: 101121.
- [38] WANG Yue, PAN Xiaofei, LIU Guodong, et al. FGF-2 suppresses neuronal autophagy by regulating the PI3K/Akt pathway in subarachnoid hemorrhage[J]. *Brain Research Bulletin*, 2021, 173: 132-140.
- [39] DIENEL A, VEETIL R A, MATSUMURA K, et al. Agonism of the  $\alpha$ 7-acetylcholine receptor/PI3K/Akt pathway promotes neuronal survival after subarachnoid hemorrhage in mice[J]. *Experimental Neurology*, 2021, 344: 113792.
- [40] WANG Pinyan, XUE Yanan, ZUO Yuchun, et al. Exosome-encapsulated microRNA-140-5p alleviates neuronal injury following subarachnoid hemorrhage by regulating IGFBP5-mediated PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Molecular Neurobiology*, 2022, 59(12): 7212-7228.

收稿日期: 2022-09-13

修回日期: 2022-12-21