

# 缺氧缺血性脑病新生儿血清 miR-139-5p, HDAC4 和 GFAP 表达水平及其临床价值研究

张丽蓉, 林 艾, 杨 丽 (广元市中心医院新生儿科, 四川广元 628000)

**摘要:**目的 分析血清微小核糖核酸 (micro RNA, miR) -139-5p, 组蛋白去乙酰化酶 4 (histone deacetylase 4, HDAC4) 和胶质纤维酸性蛋白 (glialfibrillary acidic protein, GFAP) 与新生儿缺氧缺血性脑病 (hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE) 脑损伤严重程度的关系。方法 选取 2017 年 1 月~2022 年 3 月广元市中心医院分娩的 HIE 新生儿 72 例为研究对象 (研究组); 同期健康的足月新生儿 75 例为对照组。实时荧光定量 PCR 检测血清中 miR-139-5p, HDAC4 表达水平。酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测血清 GFAP 水平。Logistic 回归分析影响 HIE 患儿重度脑损伤发生的因素。结果 与对照组相比, 研究组血清 GFAP ( $1.30 \pm 0.37 \text{ ng/L}$  vs  $0.50 \pm 0.15 \text{ ng/L}$ ), HDAC4 相对表达水平 ( $2.05 \pm 0.39$  vs  $1.02 \pm 0.21$ ) 升高, miR-139-5p 相对表达水平 ( $0.63 \pm 0.14$  vs  $1.01 \pm 0.22$ ) 和 NBNA 评分 ( $33.20 \pm 1.43$  分 vs  $39.85 \pm 2.23$  分) 降低, 差异具有统计学意义 ( $t=17.304, 20.046, 12.436, 21.424$ , 均  $P<0.05$ ); 与轻中度组相比, 重度组血清 GFAP ( $1.61 \pm 0.47 \text{ ng/L}$  vs  $1.16 \pm 0.33 \text{ ng/L}$ ), HDAC4 ( $2.43 \pm 0.37$  vs  $1.87 \pm 0.40$ ) 相对表达水平升高, miR-139-5p 相对表达水平 ( $0.38 \pm 0.10$  vs  $0.74 \pm 0.16$ ) 和 NBNA 评分 ( $30.52 \pm 1.54$  分 vs  $34.46 \pm 1.38$  分) 降低, 差异具有统计学意义 ( $t=4.690, 5.669, 9.900, 10.884$ , 均  $P<0.05$ )。Logistic 回归分析显示, miR-139-5p 低表达, HDAC4 高表达, 低 NBNA 评分, 低出生后 1 min 内 Apgar 评分是影响 HIE 患儿重度脑损伤发生的危险因素 (Wald  $\chi^2=5.772 \sim 6.969$ , OR=1.519 ~ 1.709, 均  $P<0.05$ )。Pearson 分析显示, 血清 miR-139-5p 表达水平与 GFAP, HDAC4 呈负相关 ( $r=-0.416, -0.579$ , 均  $P<0.05$ ), 血清 HDAC4 表达水平与 GFAP 呈正相关 ( $r=0.437, P<0.05$ )。Spearman 分析显示, 血清 miR-139-5p 表达水平与 NBNA 评分、出生后 1 min 内 Apgar 评分、出生后 5 min 内 Apgar 评分呈正相关 ( $r=0.398, 0.367, 0.348$ , 均  $P<0.05$ ); 血清 HDAC4 表达水平与 NBNA 评分、出生后 1 min 内 Apgar 评分、出生后 5 min 内 Apgar 评分呈负相关 ( $r=-0.364, -0.345, -0.332$ , 均  $P<0.05$ )。结论 HIE 患儿血清中 miR-139-5p 表达降低, HDAC4 表达升高, miR-139-5p, HDAC4 与 HIE 患儿脑损伤严重程度有关。

**关键词:** 缺氧缺血性脑病; 微小核糖核酸 -139-5p; 组蛋白去乙酰化酶 4; 胶质纤维酸性蛋白

**中图分类号:** R722.1; R392.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2024) 01-055-06

**doi:**10.3969/j.issn.1671-7414.2024.01.010

## Study on the Expression Levels of Serum miR-139-5p, HDAC4 and GFAP in Neonates with Hypoxic-ischemic Encephalopathy and Their Clinical Value

ZHANG Lirong, LIN Ai, YANG Li

(Department of Neonatology, Guangyuan Central Hospital, Sichuan Guangyuan 628000, China)

**Abstract: Objective** To analyze the relationship between serum micro RNA (miR) 139-5p, histone deacetylase 4 (HDAC4) and glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the severity of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy (HIE). **Methods** From January 2017 to March 2022, 72 HIE neonates born in Guangyuan Central Hospital were collected as research objects (study group), while 75 healthy full-term newborns were the control group. The expression levels of miR-139-5p and HDAC4 in serum were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. ELISA was applied to detect serum GFAP level. Binary logistic regression was applied to analyze the factors affecting the occurrence of severe brain injury in children with HIE. **Results** Compared with the control group, the serum GFAP ( $1.30 \pm 0.37 \text{ ng/L}$  vs  $0.50 \pm 0.15 \text{ ng/L}$ ) and HDAC4 relative expression level ( $2.05 \pm 0.39$  vs  $1.02 \pm 0.21$ ) in the study group were increased, the relative expression level of miR-139-5p ( $0.63 \pm 0.14$  vs  $1.01 \pm 0.22$ ) and the NBNA score ( $33.20 \pm 1.43$  score vs  $39.85 \pm 2.23$  score) was decreased, the differences were statistically significant ( $t=17.304, 20.046, 12.436, 21.424$ , all  $P<0.05$ ). Compared with the mild to moderate group, the serum GFAP level ( $1.61 \pm 0.47 \text{ ng/L}$  vs  $1.16 \pm 0.33 \text{ ng/L}$ ), HDAC4 relative expression level ( $2.43 \pm 0.37$  vs  $1.87 \pm 0.40$ ), miR-139-5p ( $0.38 \pm 0.10$  vs  $0.74 \pm 0.16$ ) and NBNA score ( $30.52 \pm 1.54$  score vs  $34.46 \pm 1.38$  score) relative expression level in the severe group were increased, and the differences were statistically significant ( $t=4.690, 5.669, 9.900, 10.884$ , all  $P<0.05$ ).

**基金项目:** 2017 年四川省卫生和计划生育课题资助项目 (17PJ400); 超低频经颅磁刺激对 AD 模型大鼠认知功能影响及机制探讨。

**作者简介:** 张丽蓉 (1975-), 女, 本科, 副主任医师, 研究方向: 新生儿疾病, E-mail: zhanglr1975r@163.com。

Logistic regression analysis showed that low expression of miR-139-5p, high expression of HDAC4, low NBNA score and low Apgar score within 1 min after birth were risk factors for severe brain injury in HIE children (Wald  $\chi^2=5.772 \sim 6.969$ , OR=1.519  $\sim$  1.709, all  $P < 0.05$ ). Pearson analysis showed that the expression level of serum miR-139-5p was negatively correlated with GFAP, HDAC4 ( $r=-0.416, -0.579$ , all  $P < 0.05$ ), while the expression level of serum HDAC4 was positively correlated with GFAP ( $r=0.437, P < 0.05$ ). Spearman analysis showed that the expression level of serum miR-139-5p was positively correlated with NBNA score, Apgar score within 1 min after birth, and Apgar score within 5 min after birth ( $r=0.398, 0.367, 0.348$ , all  $P < 0.05$ ). Serum HDAC4 expression level was negatively correlated with NBNA score, Apgar score within 1 min after birth, and Apgar score within 5 min after birth ( $r=-0.364, -0.345, -0.332$ , all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** The expression of miR-139-5p in the serum of children with HIE was decreased, and the expression of HDAC4 was increased, miR-139-5p and HDAC4 were associated with the severity of brain injury in children with HIE.

**Keywords:** hypoxic-ischemic encephalopathy; miR-139-5p; histone deacetylase 4; glial fibrillary acidic protein

缺氧缺血性脑病(hypoxic-ischemic encephalopathy, HIE)是围生期窒息导致的新生儿脑部缺氧缺血性脑损伤疾病。HIE临床主要表现为意识障碍、昏迷等<sup>[1]</sup>。脑损伤严重患儿可能发生新生儿智力障碍、多器官功能损伤等永久性神经系统后遗症<sup>[2]</sup>,严重影响神经系统发育,因此脑损伤严重程度的早期判定是临床研究热点。微小核糖核酸(microRNA, miR)是非编码RNA,可作为神经系统疾病诊断指标<sup>[3]</sup>。据报道,miRNA与神经元损伤和神经炎症有关,可能在HIE的发病机制中起关键作用<sup>[4]</sup>。miR-139-5p与神经系统疾病发展密切相关<sup>[5]</sup>。YAO等<sup>[6]</sup>发现miR-13p-5p可能与缺血性脑卒中患者脑缺血/再灌注损伤的减轻机制有关。SAHA等<sup>[7]</sup>研究显示,海马组织组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase-4, HDAC4)的异常表达与脑损伤后的焦虑、抑郁行为和记忆功能有关。胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)与新生儿窒息后脑损伤严重程度有关<sup>[8]</sup>。目前关于miR-139-5p, HDAC4和GFAP在HIE患儿血清中的表达情况及其在之间关系的研究较少,基于此,本研究通过检测miR-139-5p, HDAC4和GFAP在HIE患儿血清中表达情况,并分析其与脑损伤严重程度的关系,以期临床预防HIE脑损伤进展提供参考。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2017年1月~2022年3月广元市中心医院分娩的HIE新生儿72例为研究对象(研究组),其中男性32例,女性40例。纳入标准:①符合HIE诊断标准,参考2005年《新生儿缺氧缺血性脑病诊断标准》<sup>[9]</sup>;②患儿出生时存在神经系统症状;③胎龄 $\geq 37$ 周。排除标准:①先天性脑畸形患儿;②出生时伴随有严重的心、肝、肾功能异常;③电解质紊乱、颅内出血和产伤等原因引起的抽搐;④血液系统疾病患儿;先天性遗传代谢性疾病、宫内感染及其他先天性疾病所引起的脑损伤患儿;⑤中枢神经系统感染、胆红素脑病。以同期健康的足月新生儿75例为对照组,其中男性36

例,女性39例。二组基线资料比较见表1。家属均知情同意,研究经广元市中心医院伦理委员会批准同意(伦理批号:2016-11-098)。

表1 研究组和对照组基线资料比较 [ $n(\%)$ ,  $\bar{x} \pm s$ ]

类别	研究组	对照组	$t/\chi^2$	$P$
性别/男	32	36	1.636	0.201
出生时体重(kg)	$3.02 \pm 0.44$	$3.12 \pm 0.51$	1.271	0.206
分娩孕周(周)	$39.14 \pm 6.64$	$38.54 \pm 7.15$	0.527	0.599
日龄(天)	$3.64 \pm 0.42$	$3.72 \pm 0.53$	1.012	0.313

1.2 仪器与试剂 实时荧光定量PCR仪(美国BIO-RAD公司),总RNA提取试剂盒[货号:DP419,天根生化科技(北京)有限公司],cDNA合成试剂盒[货号:FP314,天根生化科技(北京)有限公司],血清GFAP水平用GFAP ELISA试剂盒(上海西唐生物科技有限公司)。

## 1.3 方法

1.3.1 临床资料收集:收集新生儿性别、胎龄、平均日龄、出生时体重、出生后1 min内阿氏评分(Apgar评分)、出生后5 min内Apgar评分、产妇基本情况(妊娠期高血压、母体贫血、产程异常、胎盘异常、胎膜早破、羊水污染、母体高龄、产前发热、分娩方式等)等。

1.3.2 血清样本采集:在新生儿出生后24h内采集股静脉血2 ml,离心( $3\,500\text{ r/min}$ , 15 min),留上清,置于 $-80^\circ\text{C}$ 冰箱保存。

1.3.3 实时荧光定量PCR检测血清中miR-139-5p, HDAC4表达水平:血清总RNA用总RNA提取试剂盒提取,然后用cDNA合成试剂盒逆转录合成cDNA。用实时荧光定量PCR仪对miR-139-5p, HDAC4进行扩增。反应条件: $95^\circ\text{C}\ 90\text{s}$ ;  $95^\circ\text{C}\ 30\text{s}$ ,  $63^\circ\text{C}\ 30\text{s}$ ,  $72^\circ\text{C}\ 15\text{s}$ , 40个循环。反应引物由上海生工生物工程股份有限公司合成,miR-139-5p, F: 5'-i:TCTACAGTGCACGTGTCTCCAG-3', R: 5'-ACCTGCGTAGGTAGTTTCATGT-3'; U6, F: 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAT-3',

R: 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCAT-3'; HDAC4, F: 5'-GTGATGGGATTTCCATTGAT-3', R: 5'-CAGTGGTTCAGATTCCGGTGG-3';  $\beta$ -actin, F: 5'-CATCCGTAAAGACCTCTATGCCAAC-3', R: 5'-ATGGAGCCACCGATCCACA-3'。miR-139-5p以U6为内参,HDAC4以 $\beta$ -actin为内参。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 算法计算miR-139-5p, HDAC4的相对表达量。

1.3.4 血清GFAP水平检测: 血清GFAP水平用GFAP ELISA试剂盒检测, 具体操作严格按照试剂说明进行。

1.3.5 HIE分级标准<sup>[10]</sup>: 轻度: 瞳孔轻微放大, 拥抱反射活跃, 兴奋与抑制交替发生, 肌张力升高或正常, 脑电图正常, 但未发生中枢性呼吸衰竭; 中度: 嗜睡, 肌张力减退, 患儿的吮吸和拥抱反射能力减弱, 脑电图低电压, 发生中枢性呼吸衰竭。重度: 瞳孔放大, 昏迷, 存在意识障碍, 肌肉松软, 无吮吸及拥抱反射, 脑电图抑制, 发生惊厥和中枢呼吸衰竭。将HIE患儿分为轻、中度(轻中度组,  $n=49$ )和重度(重度组,  $n=23$ )。

1.3.6 新生儿行为神经测定(neonatal behavioral neurological assessment, NBNA)评分: 新生儿出生后安静温暖房间内10 min内完成NBNA评分<sup>[11]</sup>, 包括5个部分, 总分40分, NBNA评分<35分为异常。

1.4 统计学分析 采用软件SPSS 21.0对数据进行分析, 计数资料用 $n(\%)$ 表示, 采用 $\chi^2$ 检验。计量资料符合正态分布的以平均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 两组间比较行独立样本 $t$ 检验。计量资料不符合正态分布的以中位数(四分位间距)[ $M(P_{25}, P_{75})$ ]表示, 两组间比较采用Mann-Whitney  $U$ 检验。应用二元Logistic回归分析影响HIE患儿重度脑损伤发生的因素。采用Pearson法分析血清miR-139-5p与HDAC4及二者与GFAP的相关性, Spearman分析miR-139-5p, HDAC4与NBNA评分、出生后1 min内Apgar评分相关性。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 研究组和对照组血清miR-139-5p, HDAC4, NBNA评分、GFAP水平比较 见表2。与对照组相比, 研究组血清GFAP水平、HDAC4相对表达水平较高, miR-139-5p相对表达水平、NBNA评分较低, 差异有统计学意义(均 $P<0.05$ )。

2.2 不同脑损伤程度HIE患儿血清miR-139-5p, HDAC4, NBNA评分、GFAP水平比较 见表3。与轻中度组相比, 重度组血清GFAP水平、HDAC4相对表达水平较高, miR-139-5p相对表达水平、NBNA评分较低, 差异有统计学意义(均 $P<0.05$ )。

表2 研究组和对照组血清miR-139-5p, HDAC4, NBNA评分、GFAP水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

项目	研究组( $n=72$ )	对照组( $n=75$ )	$t$	$P$
miR-139-5p	$0.63\pm 0.14$	$1.01\pm 0.22$	12.436	0.000
HDAC4	$2.05\pm 0.39$	$1.02\pm 0.21$	20.046	0.000
NBNA评分(分)	$33.20\pm 1.43$	$39.85\pm 2.23$	21.424	0.000
GFAP (ng/L)	$1.30\pm 0.37$	$0.50\pm 0.15$	17.304	0.000

表3 不同脑损伤程度患儿血清miR-139-5p, HDAC4, NBNA评分、GFAP水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

项目	轻中度组( $n=49$ )	重度组( $n=23$ )	$t$	$P$
miR-139-5p	$0.74\pm 0.16$	$0.38\pm 0.10$	9.900	0.000
HDAC4	$1.87\pm 0.40$	$2.43\pm 0.37$	5.669	0.000
NBNA评分(分)	$34.46\pm 1.38$	$30.52\pm 1.54$	10.884	0.000
GFAP (ng/L)	$1.16\pm 0.33$	$1.61\pm 0.47$	4.690	0.000

2.3 轻中度组和重度组HIE患儿临床特征比较见表4。重度组产程异常比例、羊水污染比例高于轻中度组, 重度组出生后1 min内Apgar评分、出生后5 min内Apgar评分低于轻中度组, 差异有统计学意义(均 $P<0.05$ )。

表4 轻中度组和重度组HIE患儿临床特征比较 [ $n(\%)$ ,  $\bar{x}\pm s$ ,  $M(P_{25}, P_{75})$ ]

类别	轻中度组( $n=49$ )	重度组( $n=23$ )	$\chi^2/t/Z$	$P$
男性	24 (48.98)	12 (52.17)	0.064	0.800
胎龄(周)	$39.42\pm 1.32$	$38.90\pm 1.16$	1.649	0.104
平均日龄(天)	$3.54\pm 0.61$	$3.62\pm 0.54$	0.537	0.593
出生时体重(kg)	$2.71\pm 0.30$	$2.62\pm 0.32$	1.162	0.249
出生后1 min内Apgar评分(分)	5 (3, 6)	3 (2, 4)	2.985	0.003
出生后5 min内Apgar评分(分)	8 (7, 9)	6 (5, 7)	5.415	0.000
妊娠期高血压	6 (12.24)	4 (17.39)	0.050	0.823
母体贫血	3 (6.12)	2 (8.70)	0.009	0.923
产程异常	2 (4.08)	6 (26.09)	5.608	0.018
胎盘异常	1 (2.04)	1 (4.35)	0.046	0.831
胎膜早破	3 (6.12)	2 (8.69)	0.009	0.923
羊水污染	1 (2.04)	5 (21.74)	5.581	0.018
母体高龄	5 (10.20)	3 (13.04)	0.002	0.964
产前发热	6 (12.24)	3 (13.04)	0.082	13.04
自然分娩	44 (89.80)	20 (86.96)	0.002	0.964

2.4 影响HIE患儿重度脑损伤发生的多因素Logistic回归分析 见表5。以HIE患儿是否发生重度脑损伤为因变量(是=1, 否=0), 以miR-139-5p, HDAC4, NBNA评分、GFAP, 出生后1 min内Apgar评分、出生后5 min内Apgar评分(均



原值代入)、产程异常(是=1,否=0)、羊水污染(是=1,否=0)为自变量进行 Logistic 回归分析,结果显示,miR-139-5p 低表达、HDAC4 高表

达、低 NBNA 评分、低出生后 1 min 内 Apgar 评分是影响 HIE 患儿重度脑损伤发生的危险因素(均  $P < 0.05$ )。

表 5 影响 HIE 患儿重度脑损伤发生的多因素 Logistic 回归分析

类别	回归系数	标准误差	Wald	P 值	EXP ( $\beta$ )	95%CI
产程异常	0.236	0.216	1.184	0.276	1.265	0.828 ~ 1.932
羊水污染	0.602	0.365	2.721	0.099	1.826	0.893 ~ 3.734
出生后 1 min 内 Apgar 评分	0.536	0.203	6.969	0.008	1.709	1.148 ~ 2.544
出生后 5 min 内 Apgar 评分	0.091	0.248	0.134	0.714	1.095	0.673 ~ 1.780
GFAP 水平	0.492	0.316	2.427	0.119	1.636	0.881 ~ 3.039
NBNA 评分	0.533	0.209	6.518	0.011	1.705	1.132 ~ 2.568
miR-139-5p	0.471	0.196	5.796	0.016	1.603	1.091 ~ 2.354
HDAC4	0.418	0.174	5.772	0.016	1.519	1.080 ~ 2.136

2.5 HIE 患儿血清 miR-139-5p 与 HDAC4 相关性分析 生物信息学网站 (targetscan) 显示,miR-139-5p 与 HDAC4 存在结合位点,见图 1。Pearson 分析显示,血清 miR-139-5p 表达水平与 HDAC4 呈负相关 ( $r = -0.579$ ,  $P < 0.05$ )。

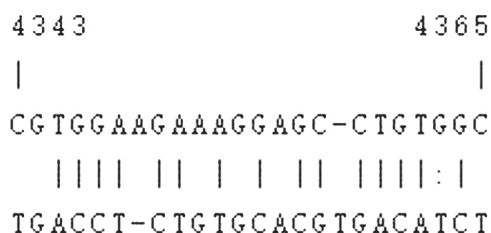


图 1 miR-139-5p 与 HDAC4 结合位点

2.6 HIE 患儿 miR-139-5p, HDAC4 与 GFAP, NBNA 评分、出生后 Apgar 评分相关性分析 Pearson 分析显示,血清 miR-139-5p 表达水平与 GFAP 呈负相关 ( $r = -0.416$ ,  $P < 0.05$ ),血清 HDAC4 表达水平与 GFAP 呈正相关 ( $r = 0.437$ ,  $P < 0.05$ )。Spearman 分析显示,血清 miR-139-5p 表达水平与 NBNA 评分、出生后 1 min 内 Apgar 评分、出生后 5 min 内 Apgar 评分呈正相关 ( $r = 0.398$ ,  $0.367$ ,  $0.348$ , 均  $P < 0.05$ );血清 HDAC4 表达水平与 NBNA 评分、出生后 1 min 内 Apgar 评分、出生后 5 min 内 Apgar 评分呈负相关 ( $r = -0.364$ ,  $-0.345$ ,  $-0.332$ , 均  $P < 0.05$ )。

3 讨论

缺氧缺血性脑病 (HIE) 是围生期窒息引起的中枢神经系统疾病,治疗不及时易导致新生儿神经系统后遗症<sup>[12]</sup>。新生儿 HIE 是新生儿残疾或死亡的原因之一,根据病情的严重程度,一般可分为轻度、中度和重度,轻度一般对新生儿的神经发育不会产生影响或产生轻微影响,而中度和重度则会导致新生儿神经功能发生永久性缺损甚至死亡<sup>[13]</sup>。新

生儿 HIE 发展为永久性脑损伤前存在一段黄金治疗时间,此时间段内有效进行神经功能保护可阻止神经元的凋亡和坏死,避免神经系统永久性损伤<sup>[14]</sup>。因此探究新生儿 HIE 脑损伤严重程度的相关因素,对改善 HIE 预后有重要意义。

miRNAs 可通过调控 mRNA 翻译和稳定性来介导各种蛋白质的表达<sup>[15]</sup>。大量研究为 miRNA 在新生儿 HIE 中的作用提供了越来越多的证据。ZHANG 等<sup>[16]</sup>研究显示,脊髓损伤大鼠神经细胞中 miR-139-5p 表达下调,过表达的 miR-139-5p 可改善脊髓损伤大鼠的运动功能、减轻痛觉及神经细胞凋亡。组蛋白去乙酰化酶 4 (HDAC4) 的失调与神经发育和神经退行性疾病相关<sup>[17]</sup>,HDAC4 在神经元细胞中可差异表达,其在缺血再灌注大鼠海马 CA1 区表达升高<sup>[18]</sup>。LUO 等<sup>[19]</sup>在培养细胞中通过氧-葡萄糖剥夺/再给氧 (OGD/R) 模拟脑缺血再灌注损伤,发现 HDAC4 抑制剂丙戊酸 (VPA) 可以保护神经元免受 OGD/R 损伤,本研究发现,研究组血清 miR-139-5p 相对表达水平低于对照组,重度组血清 miR-139-5p 相对表达水平低于轻中度组,研究组血清 HDAC4 相对表达水平高于对照组,重度组血清 HDAC4 相对表达水平高于轻中度组,提示 miR-139-5p, HDAC4 均与新生儿 HIE 的发生及病情严重程度有关,二者均可能参与了新生儿 HIE 发生及病情进展。

胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 在脑组织中主要维持星形胶质细胞的结构和功能,当中枢神经受损后,星形胶质细胞迅速活化并促进 GFAP 迅速合成,且新生儿窒息后脑损伤重度组血清 GFAP 水平明显高于轻、中度组<sup>[8]</sup>。MA 等<sup>[20]</sup>研究证实,抑制 HDAC4 可通过降低肌生成素 MYOG 表达来缓解去神经诱导的肌肉萎缩,HDAC4 抑制剂可能

是治疗神经源性肌肉萎缩的潜在药物,表明低表达 HDAC4 可能缓解神经诱导的肌肉萎缩。本研究发现,研究组 NBNA 评分低于对照组,重度组 NBNA 评分低于轻、中度组,研究组血清 GFAP 水平高于对照组,重度组血清 GFAP 水平高于轻中度组,提示 HIE 患儿随着脑损伤程度加重,神经功能缺损严重。经查证发现,有文献认为 HDAC4 在脑组织损伤的修复中起到了积极作用,也有文献认为 HDAC4 促进了神经元的凋亡进程,相关研究值得进一步探讨。本研究进一步分析显示,HIE 患儿血清 miR-139-5p, HDAC4 均与 GFAP 水平具有相关性,提示 miR-139-5p, HDAC4 可能影响 HIE 患儿脑神经功能。且 Logistic 回归分析显示,miR-139-5p, HDAC4, NBNA 评分、出生后 1 min 内 Apgar 评分是 HIE 患儿重度脑损伤发生的影响因素,说明以上因素均可能影响 HIE 患儿重度脑损伤发生,此外, NBNA 评分可以反映早产儿脑发育状况、规律及脑损伤后的发展趋势, Apgar 评分可用于新生儿窒息状况评估,与新生儿脑损伤有关<sup>[21]</sup>,而本研究中血清 miR-139-5p, HDAC4 表达水平与 NBNA 评分、出生后 1 min 内 Apgar 评分、出生后 5 min 内 Apgar 评分具有紧密相关性,提示 miR-139-5p, HDAC4 均可能与 HIE 患儿重度脑损伤有关。

miRNA 可以识别靶基因序列,调控靶基因表达,从而控制多种疾病的发生发展,如: ZHAO 等<sup>[22]</sup>研究显示, miR-139-5p 在复发性癫痫样放电大鼠神经细胞中表达下调, miR-139-5p 高表达可靶向负调控 Notch 通路减轻复发性癫痫样放电诱导的神经细胞的氧化应激和神经细胞凋亡; DUAN 等<sup>[23]</sup>模拟阿尔茨海默病发病机理中的神经损伤,发现 miR-223-3p/HDAC4 轴与神经损伤有关,上调 miR-223-3p,抑制 HDAC4,可以改善神经损伤,抑制凋亡,诱导增殖,提高生存率。Target Scan Human 网站预测 miR-139-5p 与 HDAC4 存在靶向结合位点,以上均表明 miR-139-5p 可通过调控靶基因表达参与疾病的发生,而本研究相关性结果同样提示 miR-139-5p 与 HDAC4 间存在负相关关系,与网站预测结果相符,提示二者可能相互作用,共同影响 HIE 患儿脑损伤的发生过程,关于其具体机制后续还需进一步研究。

综上所述, HIE 患儿血清中 miR-139-5p 表达降低, HDAC4 表达升高, miR-139-5p, HDAC4 与 HIE 患儿脑损伤严重程度有关,推测 miR-139-5p, HDAC4 共同参与 HIE 的发生发展,有望作为诊断 HIE 重度脑损伤重要指标。本研究局限性在于:首先,样本量较小,可能导致部分结果有所偏倚,缺乏普适性;其次,有关 miR-139-5p, HDAC4 参与

HIE 发生发展的作用机制尚未明确。因而后期将扩大样本量进一步验证,同时结合基础实验、细化分组,进一步明确 miR-139-5p, HDAC4 的具体调控机制,为后期 HIE 病情诊断、治疗提供有力的参考依据。

#### 参考文献:

- [1] 陶红莉,鲁晓波,吴怡,等.急性脑损伤患者血清 Tau, HMGB1 水平检测在判断并发认知功能障碍风险的应用价值[J].现代检验医学杂志,2021,36(5): 159-163.  
TAO Hongli, LU Xiaobo, WU Yi, et al. Application value of serum tau and HMGB1 levels in patients with acute brain injury in judging the risk of cognitive impairment[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(5): 159-163.
- [2] 白文娟,方秀英,石权,等.新生儿缺氧缺血性脑病脑电背景演变与脑损伤程度的相关性研究[J].中国当代儿科杂志,2021,23(9): 909-915.  
BAI Wenjuan, FANG Xiuying, SHI Quan, et al. Correlation of electroencephalogram background evolution with the degree of brain injury in neonates with hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2021, 23(9): 909-915.
- [3] 庄静,陈全景.新生儿缺氧缺血性脑损伤中微小 RNA 的研究进展[J].儿科药理学杂志,2021,27(12): 53-57.  
ZHUANG Jing, CHEN Quanjing. Progress of microRNA in neonatal hypoxic-ischemic brain damage[J]. Journal of Pediatric pharmacy, 2021, 27(12): 53-57.
- [4] DEVOTO C, LAI Chen, QU Baoxi, et al. Exosomal microRNAs in military personnel with mild traumatic brain injury: preliminary results from the chronic effects of neurotrauma consortium biomarker discovery project[J]. Journal of Neurotrauma, 2020, 37(23): 2482-2492.
- [5] WANG Li, SONG Lifang, CHEN Xiaoyi, et al. MicroRNA-139-5p confers sensitivity to antiepileptic drugs in refractory epilepsy by inhibition of MRP1[J]. CNS Neuroscience & Therapeutics, 2020, 26(4): 465-474.
- [6] YAO Yiqin, HU Sheng, ZHANG Chunxue, et al. Ginsenoside Rd attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury by exerting an anti-pyrototic effect via the miR-139-5p/FoxO1/Keap1/Nrf2 axis[J]. International Immunopharmacology, 2022, 105: 108582.
- [7] SAHA P, GUPTA R, SEN T, et al. Histone deacetylase 4 downregulation Elicits post-traumatic psychiatric disorders through impairment of neurogenesis[J].

- Journal of Neurotrauma, 2019, 36(23): 3284-3296.
- [8] 张军建, 张矿召, 武振江. 血清 MBP, GFAP 水平与新生儿缺氧缺血性脑病脑损伤程度的关系研究 [J]. 中国实用神经疾病杂志, 2020, 23(22): 1986-1991.  
ZHANG Junjian, ZHANG Kuangzhao, WU Zhenjiang. Study on the relationship between serum MBP and GFAP levels and the severity of brain damage in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy [J]. Chinese Journal of Practical Nervous Diseases, 2020, 23(22): 1986-1991.
- [9] 中华医学会儿科学分会新生儿学组. 新生儿缺氧缺血性脑病诊断标准 [J]. 中国当代儿科杂志, 2005, 7(2): 97-98.  
The Group of Neonatology, Pediatric Society, Chinese Medical Association. Diagnostic criteria for neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. The Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2005, 7(2): 97-98.
- [10] CHALAK L F, ADAMS-HUET B, SANT'ANNA G. A total sarnat score in mild hypoxic-ischemic encephalopathy can detect infants at higher risk of disability [J]. Journal Pediatrics, 2019, 214: 217-221. e1.
- [11] 邢珊, 刘俐, 李改莲, 等. NBNA 评分在评价早产儿脑发育、脑损伤及预后中的应用 [J]. 中国儿童保健杂志, 2016, 24(2): 191-194.  
XING Shan, LIU Li, LI Gailian, et al. Evaluation of brain development and injury in preterm infants by neonatal behavioral neurological assessment [J]. Chinese Journal of Child Health Care, 2016, 24(2): 191-194.
- [12] 赵佳宝, 霍亚玲, 刘杨. 新生儿缺氧缺血性脑病豆纹动脉血流变化与脑损伤程度的关系 [J]. 中国中西医结合儿科学, 2021, 13(3): 228-231.  
ZHAO Jiabao, HUO Yaling, LIU Yang. Relationship between the changes in blood flow of lenticulostriate artery and the degree of brain injury in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. Chinese Pediatrics of Integrated Traditional and Western Medicine, 2021, 13(3): 228-231.
- [13] 孙伟璠, 蔡成. 新生儿缺氧缺血性脑病治疗研究进展 [J]. 中华实用儿科临床杂志, 2021, 36(8): 631-634.  
SUN Yifan, CAI Cheng. Research progress of treatment for neonatal hypoxic ischemic encephalopathy [J]. Chinese Journal of Applied Clinical Pediatrics, 2021, 36(8): 631-634.
- [14] 张玉娇, 周杏. 血清电解质、CKBB 及血乳酸水平与新生儿缺氧缺血性脑病严重程度的相关性分析 [J]. 中南医学科学杂志, 2020, 48(2): 179-182.  
ZHANG Yujiao, ZHOU Xing. The correlation between serum electrolyte, CKBB and lactic acid levels and the severity of neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. Medical Science Journal of Central South China, 2020, 48(2): 179-182.
- [15] DESTEFANIS E, AVŞAR G, GROZA P, et al. A mark of disease: how mRNA modifications shape genetic and acquired pathologies [J]. RNA, 2021, 27(4): 367-389.
- [16] ZHANG Ziyang, SHEN Lifang, YAN Yingying. MiR-139-5p alleviates neural cell apoptosis induced by spinal cord injury through targeting TRAF3 [J]. Acta Biochimica Polonica, 2020, 67(3): 359-365.
- [17] MAIN P, TAN Weijun, WHEELER D. et al. Increased abundance of nuclear HDAC4 impairs neuronal development and long-term memory [J]. Frontiers in Molecular Neuroscience, 2021, 14: 616642.
- [18] 李建国, 陈静, 孟金凤, 等. 缺血再灌注对大鼠海马组蛋白脱乙酰酶磷酸化水平的影响 [J]. 神经解剖学杂志, 2022, 38(2): 135-141.  
LI Jianguo, CHEN Jing, MENG Jinfeng, et al. Effects of ischemia-reperfusion on the phosphorylation level of histone deacetylase in the hippocampus of rats [J]. Chinese Journal of Neuroanatomy, 2022, 38(2): 135-141.
- [19] LUO Pan, FU Xiaopei, CHANG Mujun, et al. Cerebral ischemia-reperfusion causes a down regulation of HCN1 expression via enhancing the nuclear NRSF-HDAC4 gathering that contributes to neuron damage [J]. Brain Research Bulletin, 2020, 156: 50-57.
- [20] MA Wenjing, CAI Yong, SHEN Yuntian, et al. HDAC4 knockdown alleviates denervation-induced muscle atrophy by inhibiting myogenin-dependent atrogene activation [J]. Frontiers in Cellular Neuroscience, 2021, 15: 663384.
- [21] 史学凯, 黄锦雄, 蓝国锋, 等. 振幅整合脑电图联合新生儿行为神经测定评估新生儿脑功能损伤的回顾性研究 [J]. 新疆医学, 2022, 53(6): 678-681, 685.  
SHI Xuekai, HUANG Jinxiong, LAN Guofeng, et al. A retrospective study of amplitude integrated electroencephalography with neonatal behavioral neurological assessment for the evaluation of neonatal brain functional injury [J]. Xinjiang Medical Journal, 2022, 53(6): 678-681, 685.
- [22] ZHAO Chensheng, YANG Fan, WEI Xiaona, et al. MiR-139-5p upregulation alleviated spontaneous recurrent epileptiform discharge-induced oxidative stress and apoptosis in rat hippocampal neurons via regulating the notch pathway [J]. Cell Biology International, 2021, 45(2): 463-476.
- [23] DUAN Wenbiao, CHEN Xue. Jatropha rhizine can improve nerve cell injury induced by AB25-35, acting through miR-223-3p/HDAC4 axis [J]. American Journal of Translational Research, 2021, 13(5): 4644-4655.

收稿日期: 2023-02-07

修回日期: 2023-10-07