

miR-124 在血管性痴呆患者血清中表达差异及其意义

王小林, 邵宏敏

河北省唐山市丰润区人民医院神内二科, 河北 唐山 064000

摘要:目的 探讨 miR-124 在血管性痴呆患者血清中表达差异及其意义。方法 选取 2018 年 1 月至 2019 年 5 月我院收治的血管性痴呆患者 68 例(观察组),再选择体检结果显示为健康者 50 例(对照组)。治疗前,对患者的一般资料进行对比并对观察组和对照组的 miR-124 相对表达水平进行检测;治疗 3 个月后,对治疗前与治疗后的 miR-124 相对表达水平进行对比,并根据治疗结果分为良好组与不良组,比较两组的 miR-124 相对表达水平。结果 治疗前 miR-124 的相对表达水平观察组高于对照组($P < 0.005$)。治疗后 3 个月后,观察组的 miR-124 的相对表达水平较治疗前低,差异有统计学意义($P < 0.015$)。良好组和不良组在年龄、性别、体重上,差异无统计学意义($P > 0.05$);而在高血压、高血脂及 miR-124 上,差异有统计学意义($P < 0.05$)。ROC 曲线分析发现,在预测血管性痴呆患者治疗后预后时,高血脂的 AUC 曲线下面积为 0.742;高血压的 AUC 曲线下面积为 0.705;血清 miR-124 相对表达水平的 AUC 曲线下面积为 0.821。以最大约登指数计算得出最大 AUC 面积相应参数截止值,高血脂为 5.220(敏感度 = 60.00%,特异性 = 85.70%);高血压为 1.965(敏感度 = 75.00%,特异性 = 69.00%);血清 miR-124 相对表达水平为 4.225(敏感度 = 80.00%,特异性 = 78.60%)。结论 miR-124 表达水平有可能作为血管性痴呆患者预后不良的一个指标。

关键词:痴呆;血管性痴呆;miRNA;miR-124

中图分类号:R743

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2020.05.006

Difference in serum expression of miRNA-124 in patients with vascular dementia and its significance

WANG Xiao-Lin, SHAO Hong-Min. Department of Internal Medicine, Fengrun District People's Hospital, Tangshan 064000, Hebei, China

Corresponding author: WANG Xiao-Lin, Email: bjliuyung56@126.com

Abstract: **Objective** To investigate the difference in serum miRNA-124 expression among patients with vascular dementia and its significance. **Methods** Sixty-eight patients admitted to our hospital for vascular dementia from January 2018 to May 2019 were assigned to observation group, while 50 healthy volunteers were used as control. Before treatment, general information and the relative expression level of miRNA-124 were evaluated in the observation group and the control group. The change in the relative expression level of miRNA-124 was analyzed after 3 months of treatment. According to treatment outcomes, the patients were divided into good outcome group and poor outcome group. The relative expression level of miRNA-124 was compared between the two groups. **Results** The relative expression level of miRNA-124 was significantly higher in the observation group than in the control group before treatment ($P < 0.005$). After 3 months of treatment, the relative expression level of miRNA-124 was significantly reduced in the observation group ($P < 0.015$). There were no significant differences in sex, age, or weight between the good outcome group and the poor outcome group ($P > 0.05$); however, there were significant differences in hypertension, hyperlipidemia, and miRNA-124 between the two groups ($P < 0.05$). In the prediction of prognosis for vascular dementia, the areas under the receiver operating characteristic curve were 0.742, 0.705, and 0.821 for hyperlipidemia, hypertension, and the relative serum expression of miRNA-124, respectively; the cut-off values determined by the maximum Youden index were 5.220(sensitivity = 60.00%, specificity = 85.70%), 1.965(sensitivity = 75.00%, specificity = 69.00%), and 4.225(sensitivity = 80.00%, specificity = 78.60%) for hyperlipidemia, hypertension, and the relative serum expression level of miRNA-124, respectively. **Conclusions** The expression level of miRNA-124 may be an indicator of poor

收稿日期:2020-01-10;修回日期:2020-09-18

作者简介:王小林(1979-),女,本科,主治医师,研究方向:脑血管病。Email:bjliuyung56@126.com。

prognosis in patients with vascular dementia.

Key words: dementia; vascular dementia; miRNA; miR-124

血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 常常会演变成阿尔茨海默病, 因此, 对 VD 的早期诊断及预防具有重要意义^[1]。VD 根据病理及病因可分为大面积脑梗死痴呆、多发性腔隙性脑梗死痴呆、多梗死痴呆等^[2]。VD 的诊断要结合患者的体征和影像学检查等, 还需排除其他的可能病因^[3]。VD 与变性痴呆不同, 前者发病较为突然, 且会伴随脑血管事件的发生, 而后者发病则较为缓慢^[4]。

microRNA (miRNA) 是一类非编码 RNA, 由 20 ~ 25 个核苷酸组成^[5]。近年来有研究显示^[6], miRNA 参与多种脑血管疾病的调控, 包括血管血栓的形成、动脉粥样硬化、脑缺血再灌注等, 而上述脑血管疾病则是 VD 的主要病因, 所以 miRNA 与 VD 也具有相关性。研究指出^[7], miRNA 与 VD 有关, miRNA 通过刺激神经元及炎症的发生, 导致细胞的凋亡及氧化应激, 从而影响生物体的记忆。脑缺血缺氧时, 大脑中有多种 miRNA 的表达产生改变, 其中以 miR-124 的表达量最高。本文拟探讨血管性痴呆患者外周血 miRNA 的表达水平及其意义。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2018 年 1 月至 2019 年 5 月我院收治的血管性痴呆患者 68 例纳入为观察组, 再选择体检结果显示健康的患者 50 例纳入为对照组。

纳入标准^[8]: ①符合血管性痴呆的诊断: 认知功能 (如言语、注意力、记忆力等) 明显下降; ②证实患者脑血管疾病发生 3 个月之内出现认知障碍; ③简易智力状态检查量表 (Mini-mental State Examination, MMSE) 评分 < 27 分; (4) Hachinski 缺血指数量表 (Hachinski Ischemic Scale, HIS) 评分 > 7 分。

排除标准^[9]: ①确诊为其他原因的痴呆、抑郁症患者或精神障碍患者; ②患有严重的颅脑损伤; ③患有癫痫、帕金森等疾病的患者; ④患有严重的心、肝、肾等脏器疾病的患者; ⑤患有恶性肿瘤、甲状腺功能异常或严重贫血的患者。

该实验已通过本院医学伦理委员会批准 (批准号: HBTSFR20170218)。患者及家属均签署相关知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器

Trizol 试剂盒、反转录试剂盒 (PrimeScript™ RT

reagent Kit)、SYBR Green 实时荧光定量 PCR 试剂盒 (2 × SYBR Premix Ex Taq™ II) 为日本 Takara 公司产品。氯仿、异丙醇及 75% 乙醇等均为国产分析纯试剂。氯化三苯基四氮唑 (TTC) 购自美国 Amresco 公司。琼脂糖购自上海增健生物科技有限公司。梯度 PCR 仪 (Bio. tad 公司, 美国)。实时定量 (Real time) PCR 仪 (ABI 7500, 美国)。超低温冰箱 (Thermo 公司, 美国)。低温高速离心机 (Heraeus, 德国)。

1.3 研究方法

1.3.1 治疗方法 参照 2016 年修订的《中国脑血管病防治指南》对患者进行相关的治疗^[10]: ①采用个体化的方法对患者进行治疗, 并将患者的血压调整至正常范围内; ②为防止血小板凝集, 患者口服阿司匹林 (0.1 g/d); ③使患者口服胆碱以营养神经; ④给予患者康复治疗及认知训练; ⑤给予患者营养支持; ⑥对患者进行对症治疗并防治并发症。

1.3.2 抽血及 miRNA 的提取^[11-12] 治疗前, 对每一位研究对象抽取 3 mL 外周血; 治疗后 3 个月, 对观察组抽取 3 mL 外周血。取 0.3 mL, 3000 r/min 离心分离血浆。采用 TRIzol 法, 利用 mirVana PARIS-miRNA 提取试剂盒进行 miRNA 提取, 进行反转录则使用 TaqManmiRNA 反转录试剂盒进行, 最后使用 TaqManmiRNA 检测试剂盒, 采用 RT-PCR 检测 miR-124 的表达。以 U6 为内参, miR-124 正向引物为 5'-GCTAAG-GCACGCGGTG-3', 反向引物为设计引物 5'-GTGCAGGTC-CGAGGT-3'; 以内参 U6, 正向引物为 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 反向引物为 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。通过计算 $-\Delta Ct$ 以获得 miRNA 的相对表达, $\Delta Ct = Ct_{miRNA} - Ct_{u6}$ 。

1.4 观察指标

治疗前, miR-124 的相对表达水平与对照组进行对比; 治疗后 3 个月, miR-124 的相对表达水平与治疗前进行对比。治疗 3 个月后, 患者症状明显好转且无不良事件出现, 即为治疗效果良好, 纳入良好组; 患者症状无明显好转或出现不良事件, 即为治疗效果不良, 纳入不良组。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计学软件处理研究数据。计数资料用例 (%) 表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 计量

资料用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用成组 t 检验或配对 t 检验。通过绘制 ROC 曲线来评价 miR-124 的诊断效能。当 $P < 0.05$, 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较

观察组与对照组在性别、年龄及受教育年限上差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 患者的一般资料对比 ($\bar{x} \pm s$)

项目	观察组 ($n = 68$)	对照组 ($n = 50$)	t/χ^2 值	P 值
性别(男/女)	36/32	26/24	0.010	0.919
年龄/岁	68.19 ± 9.32	68.56 ± 10.23	0.451	0.763
受教育年限/年	8.62 ± 1.03	8.73 ± 0.45	0.423	0.789

2.2 miR-124 的相对表达水平比较

治疗前 miR-124 的相对表达水平观察组高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.005$)。观察组治疗 3 个月后患者的 miR-124 的相对表达水平较治疗前低, 差异有统计学意义 ($P < 0.015$)。见表 2。

表 2 miR-124 的相对表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗 3 个月后	t 值	P 值
观察组	68	2.56 ± 0.23	1.56 ± 0.09	2.553	0.015
对照组	50	1.03 ± 0.31			
t 值		2.903			
P 值		0.005			

2.3 良好组和不良组的临床资料对比

良好组和不良组在年龄、性别、体重上差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而在高血压、高血脂及 miR-124 上差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 4 血清 miR-124 相对表达水平预测血管性痴呆患者治疗后预后效果

因素	AUC	临界值	灵敏度/%	特异度/%	95% CI	P 值
高血脂	0.742	5.220	60.00	85.70	0.606 ~ 0.877	0.002
高血压	0.705	1.965	75.00	69.00	0.557 ~ 0.854	0.009
miR-124 相对表达水平	0.821	4.225	80.00	78.60	0.706 ~ 0.936	0.000

表 3 良好组和不良组的临床资料对比 [$n(\%)$; $\bar{x} \pm s$]

项目	良好组 ($n = 57$)	不良组 ($n = 11$)	t/χ^2	P 值
年龄/岁	60.13 ± 6.59	61.78 ± 6.23	0.139	1.208
性别				
男	29(50.88)	7(63.64)	0.603	0.438
女	28(49.12)	4(36.36)		
体重指数				
< 25 kg/m ²	45(78.95)	6(54.55)	2.928	0.087
≥ 25 kg/m ²	12(21.05)	5(45.45)		
高血压				
有	22(38.60)	8(72.73)	4.357	0.037
无	35(61.40)	3(27.27)		
高血脂				
有	24(42.11)	9(72.73)	5.822	0.016
无	33(57.89)	2(27.27)		
治疗前 miR-124	2.55 ± 0.21	2.57 ± 0.27	0.478	0.632
治疗后 miR-124	1.47 ± 0.56	2.49 ± 0.13	3.564	0.015

2.4 对血管性痴呆患者进行治疗后预后 ROC 曲线

根据 2.3 的结果, 做高血脂、高血压及血清 miR-124 相对表达水平在预测血管性痴呆患者治疗后预后的 ROC 曲线分析, 高血脂在预测血管性痴呆患者治疗后预后的 AUC 曲线面积为 0.742, 高血压在预测血管性痴呆患者治疗后预后的 AUC 曲线面积为 0.705, 血清 miR-124 相对表达水平在预测血管性痴呆患者治疗后预后的 AUC 曲线面积为 0.821 (图 1)。以最大约登指数计算得出最大 AUC 面积相应参数截止值, 高血脂为 5.220 (敏感度 = 60.00%, 特异性 = 85.70%); 高血压为 1.965 (敏感度 = 75.00%, 特异性 = 69.00%); 血清 miR-124 相对表达水平为 4.225 (敏感度 = 80.00%, 特异性 = 78.60%)。

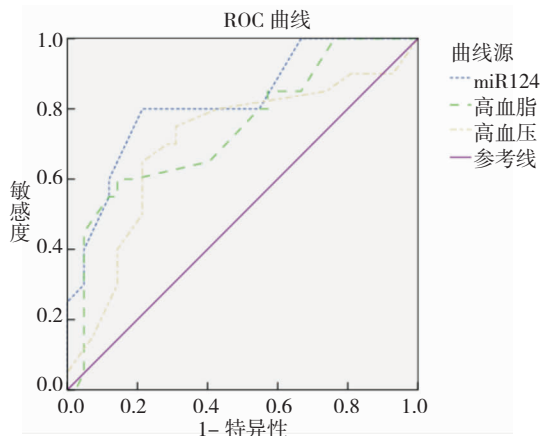


图1 血管性痴呆患者治疗后预后 ROC 曲线

3 讨论

痴呆主要特征表现为智能的缓慢减退,虽然无意识障碍,但可能伴有不同程度的人格改变^[13]。引起痴呆的原因有中枢系统疾病、肝脏疾病、肾脏疾病、脑血管疾病等,而 VD 属于脑血管疾病引发的痴呆,表现为认知功能的损伤,并且伴有局灶性神经系统损伤^[14-15]。近年来,VD 患者数量不断上升,其发病机制尚无确切共识,这是治疗 VD 的障碍之一^[16]。VD 目前只能够用药物进行控制,而在进行治疗时,也会有一些因素影响疗效^[17]。有研究显示^[18],miRNAs 与脑神经的发育、脑细胞的发育及突触的功能有极大的关系,miRNAs 的变化可能会造成脑缺血或者缺氧。miR-124 作为脑部特异性的 miRNA,在脑部的发育及神经的调控中发挥着重要作用,miR-124 的相对表达水平可能与 VD 治疗的疗效有关^[19]。

本研究中,治疗前 miR-124 的相对表达水平观察组高于对照组,治疗 3 个月后观察组的 miR-124 的相对表达水平较治疗前低。由此可见,血管性痴呆的发生与患者外周血 miR-124 的相对表达水平升高有关。将治疗 3 个月后的患者按恢复程度分为良好组和不良组,良好组和不良组在高血压、高血脂及 miR-124 上差异有统计学意义,提示不良组的高血压、高血脂比例更高,miR-124 水平更高。ROC 曲线分析发现,在预测血管性痴呆患者治疗后预后时,高血脂敏感度为 60.00%,特异性为 85.70%;高血压敏感度为 75.00%,特异性为 69.00%;血清 miR-124 相对表达水平敏感度为 80.00%,特异性为 78.60%。

由此可见,对患者进行治疗后,患者 miR-124

相对表达水平虽然有所下降,但却还是未能达到正常水平,可能与 VD 这一疾病的不可治愈性有关,故 miR-124 的表达水平显著高于正常人,故即使接受治疗后,VD 患者的 miR-124 的表达水平仍高于正常。

有研究显示^[20],miR-124 大量表达时,可以通过减少相关炎症因子的表达、对脑细胞的凋亡进行抑制等途径对脑神经与脑细胞进行保护。因此,我们可以猜测,当患者出现 VD 时,miR-124 表达水平的升高,可认为是机体对于大脑的一种保护。而文中又发现高血压及高血脂也是影响 VD 预后的重要预测指标,对此,在治疗的过程中,可根据 VD 患者 miR-124 表达水平的测定结果,及时更改治疗方式,及时控制患者治疗过程不良因素的发生,提高其治疗效果。

综上所述,miR-124 表达水平可作为 VD 患者预后不良的一个重要指标,对监测 VD 患者的治疗效果具有重要意义,但因患者个体原因及患者例数等因素的影响,此研究还需要进一步进行完善。

参 考 文 献

- [1] 马宗艳,蔡宏斌,裴丽娟,等.血清晚期糖基化终末产物和可溶性晚期糖基化终末产物受体与阿尔茨海默病及血管性痴呆关系的研究[J].国际神经病学神经外科学杂志,2019,46(1):55-59.
- [2] Wolters FJ, Ikram MA. Epidemiology of vascular dementia [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2019, 39(8): 1542-1549.
- [3] Strandberg TE, Tienari PJ. Contributions of vascular and Alzheimer's disease pathology to dementia [J]. Alzheimers Dement, 2019, 15(7): 1004-1005.
- [4] Yao P, Li Y, Yang Y, et al. Triptolide improves cognitive dysfunction in rats with vascular dementia by activating the SIRT1/PGC-1 α signaling pathway [J]. Neurochem Res, 2019, 44(8): 1977-1985.
- [5] Andrade GM, Bomfim MM, Del Collado M, et al. Oxygen tension modulates extracellular vesicles and its miRNA contents in bovine embryo culture medium [J]. Mol Reprod Dev, 2019, 86(8): 1067-1080.
- [6] Swarbrick S, Wragg N, Ghosh S, et al. Systematic review of miRNA as biomarkers in Alzheimer's disease [J]. Mol Neurobiol, 2019, 56(9): 6156-6167.
- [7] 詹莹,安红伟. miRNA 与血管性痴呆的研究进展 [J]. 东南大学学报(医学版), 2019, 38(2): 376-379.
- [8] 陈粤瑛,宋晓楠,杨树龙.炎症相关因子在血管性痴呆发病机制中的作用 [J]. 中国生物化学与分子生物学

- 报, 2019, 35(7): 693-699.
- [9] 拜承萍, 铁婷婷. HMGB1、MIF 和 TNF- α 在血管性痴呆患者血清中的表达及价值分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(13): 1615-1618.
- [10] 张艳军, 吴大伟. 血管性痴呆危险因素的研究进展[J]. 中国城乡企业卫生, 2018, 33(6): 43-45.
- [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.
- [12] 谢尊椿, 刘彬, 周美鸿, 等. 急性缺血性脑卒中患者血浆 miR-124 表达变化及其意义[J]. 实用医学杂志, 2019, 35(3): 343-345.
- [13] Turana Y, Tenglawan J, Chia YC, et al. Hypertension and dementia: a comprehensive review from the HOPE Asia Network[J]. J Clin Hypertens (Greenwich), 2019, 21(8): 1091-1098.
- [14] 常光明, 陈潇, 耿鑫. 高迁移率族蛋白 B1 在血管性痴呆中的炎性作用机制及研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(15): 1893-1896.
- [15] Lim KB, Kim J, Lee HJ, et al. COWAT performance of persons with Alzheimer dementia, vascular dementia, and Parkinson disease dementia according to stage of cognitive impairment[J]. PMR, 2019, 11(7): 737-744.
- [16] 廖张元. 血管性痴呆的研究进展[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2019, 22(2): 224-227.
- [17] Scheepers LEJM, Jacobsson LTH, Kern S, et al. Urate and risk of Alzheimer's disease and vascular dementia: a population-based study[J]. Alzheimers Dement, 2019, 15(6): 754-763.
- [18] 王雪清, 李文新. miRNA 在乳腺癌中的研究进展[J]. 疾病监测与控制, 2019, 13(4): 301-304, 316.
- [19] Zhao B, Lu Y, Cao X, et al. MiRNA-124 inhibits the proliferation, migration and invasion of cancer cell in hepatocellular carcinoma by downregulating lncRNA-UCA1[J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 4509-4516.
- [20] 谢民, 李社芳, 邢海燕, 等. miR-124 靶向调控 STAT3 调节动脉粥样硬化中血管内皮细胞的生物学特性[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(1): 161-165.