

# 血清 miR-193b-3p 与动脉瘤性蛛网膜下腔出血病人不良预后的关系

任江艳 王新星 王向阳 全海波 任晓佳

**【摘要】目的** 探讨血清微小核糖核酸(miR)-193b-3p 与动脉瘤性蛛网膜下腔出血(aSAH)病人不良预后的关系。**方法** 2019 年 1 月 1 日至 2021 年 12 月 1 日前瞻性收集 aSAH 共 159 例,采用 RT-PCR 检测入院 24 h 内血清 miR-193b-3p 水平。发病 90 d,采用 GOS 评分评估预后,其中 4~5 分为预后良好,1~3 分为预后不良。**结果** 159 例中,预后良好 153 例,预后不良 56 例(35.2%),其中死亡 39 例。ROC 曲线分析显示,入院 24 h 内血清 miR-193b-3p 水平预测 aSAH 不良预后的曲线下面积为 0.912(95% CI 0.870~0.954),最佳截断值为 0.62,灵敏度和特异度分别为 75.7%和 94.6%。入院 24 h 内血清 miR-193b-3p 水平与入院时 Hunt-Hess 分级呈明显负相关( $r=-0.384, P<0.001$ ),与入院时 Fisher 分级呈明显负相关( $r=-0.200, P=0.011$ ),与入院时 GCS 评分呈明显正相关( $r=0.409, P<0.001$ )。多因素 logistic 回归分析显示,入院 24 h 内血清 miR-193b-3p $\geq 0.62$  是 aSAH 病人预后不良的独立危险因素(OR=3.148;95% CI 1.017~5.167;  $P<0.001$ )。**结论** 本文结果提示入院 24 h 内血清 miR-193b-3p 作为非侵入性生物标志物,不仅可以用于评估 aSAH 病人的病情严重程度,还可以在早期用于预测病人的预后。

**【关键词】** 动脉瘤性蛛网膜下腔出血;微小核糖核酸;miRNA;miR-193b-3p;血清;预后

**【文章编号】** 1009-153X(2023)09-0569-04 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 743.9

**Relationship between serum miR-193b-3p on admission and poor prognosis of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage**

REN Jiang-yan, WANG Xin-xing, WANG Xiang-yang, TONG Hai-bo, REN Xiao-jia. Department of Neurosurgery, Shanxi Bethune Hospital, Taiyuan 030012, China

**【Abstract】Objective** To investigate the relationship between serum miR-193B-3P on admission and poor prognosis of patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH). **Methods** A total of 159 patients with aSAH were prospectively collected from January 1, 2019 to December 1, 2021, and the serum miR-193b-3p level within 24 h after admission was detected by RT-PCR. GOS score was used to evaluate the prognosis 90 days after the onset, with a GOS score of 4~5 as good prognosis and a GOS score of 1~3 as poor prognosis. **Results** Of these 159 patients, 153 patients had good prognosis, and 56 (35.2%) poor prognosis (39 patients died). ROC curve analysis showed that the area under the curve of serum miR-193b-3p level within 24 h after admission to predict the poor prognosis of aSAH patients was 0.912 (95%CI 0.870~0.954), the best cutoff value was 0.62, and the sensitivity and specificity were 75.7% and 94.6%, respectively. Serum miR-193b-3p levels within 24 h after admission were significantly negatively correlated with Hunt-Hess grade ( $r=-0.384, P<0.001$ ) and Fisher grade on admission ( $r=-0.200, P=0.011$ ), was significantly positive correlated with GCS score on admission ( $r=0.409, P<0.001$ ). Multivariate logistic regression analysis showed that serum miR-193b-3p $\geq 0.62$  within 24 h after admission was an independent risk factor for poor prognosis of aSAH patients (OR=3.148; 95% CI 1.017~5.167;  $P<0.001$ ). **Conclusions** Our results suggest that serum miR-193b-3p within 24 h of admission, as a non-invasive biomarker, can not only be used to assess the severity of aSAH patients, but also can be used to predict the prognosis of patients with aSAH in the early stage.

**【Key words】** Aneurysmal subarachnoid hemorrhage; Serum; miR-193b-3p; Prognosis

动脉瘤性蛛网膜下腔出血(aneurysmal subarachnoid hemorrhage, aSAH)病死率和致残率均较高<sup>[1,2]</sup>。研究发现,早期脑损伤(early brain injury,

EBI)和脑血管痉挛(cerebral vasospasm, CVS)与迟发性脑缺血(delayed cerebral ischemia, DCI)密切相关,是 aSAH 病人的重要的预后影响因素<sup>[3,4]</sup>。微小 RNA(microRNAs, miRNA)可在转录后水平调节多个靶基因的表达<sup>[5,6]</sup>。研究显示 miR-193b-3p 可减轻小鼠 aSAH 后 EBI<sup>[4]</sup>;而且,miR-193b-3p 可减轻大鼠脑缺血再灌注损伤<sup>[7]</sup>。本文血清 miR-193b-3p 水平与 aSAH 病人预后的关系,为临床提供参考。

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2023.09.007

作者单位:030012 太原,山西白求恩医院神经外科(任江艳、王新星、王向阳、全海波、任晓佳)

通讯作者:王新星, E-mail: wxsxshy@163.com

## 1 资料与方法

1.1 病例选择标准 纳入标准:年龄 $\geq 18$ 岁;符合 aSAH 的诊断标准<sup>[8]</sup>;首次发病,发病 24 h 内入院;最近 2 周内未服用抗凝血药物;最近 3 周内无头部外伤史;配合检查和随访。排除标准:非动脉瘤破裂导致的 SAH;入院前已接受手术夹闭或血管内栓塞治疗;合并恶性肿瘤;合并严重的心、肺、肝和肾等重要器官功能障碍;自身免疫性疾病、血液系统疾病;过去 1 个月内有感染史。

1.2 研究对象 2019 年 1 月 1 日至 2021 年 12 月 1 日前前瞻性收集 aSAH 共 159 例,其中男 73 例,女 86 例;年龄 24~89 岁,平均 $(57.14 \pm 13.54)$ 岁。本研究经山西白求恩医院伦理委员会批准(2019-037),病人及其家属充分了解本研究的目的,所有病人自愿参与本研究,并签署知情同意书。

1.3 血清 miR-193b-3p 水平的检测 采集入院 24 h 内空腹外周静脉血,3 000 转/min 离心 10 min 分离血清,并储存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 备用。Trizol 试剂(美国 Thermo Fisher 公司)提取总 RNA,使用 SuperScript III 第一链合成系统(美国 Invitrogen 公司)合成 cDNA。使用 miRcute Plus miRNA qPCR 检测试剂盒(SYBR Green)进行 RT-qPCR:反应总量为 20  $\mu\text{l}$ , 95  $^{\circ}\text{C}$ 、15 min, 94  $^{\circ}\text{C}$ 、25 s, 65  $^{\circ}\text{C}$ 、30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$ 、34 s, 94  $^{\circ}\text{C}$ 、20 s, 60  $^{\circ}\text{C}$ 、34 s, 共 45 个周期。根据  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  公式计算血清 miR-193b-3p 的相对表达水平。miR-193b-3p 正向引物序列 5'-AACTGGCCCTCAAAGTCCC-3', 反向 5'-ATACCTCGGACCCTGCACTG-3';内参 U6 正向引物序列 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3', 反向 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。

1.4 治疗方法 所有病人均按照 AHA/ASA 的 aSAH 管理指南进行治疗<sup>[9]</sup>。①血管内介入栓塞术:按照动脉瘤位置、大小和形态选择适宜的弹簧圈以栓塞颅内动脉瘤;单纯弹簧圈栓塞困难者,采用支架辅助栓塞。②夹闭术:根据动脉瘤具体情况采用合适入路实施手术,其中大脑中动脉及前、后交通动脉动脉瘤采用翼点入路,椎-基底动脉动脉瘤采用枕下正中入路。

1.5 预后评估 发病 90 d 采用 GOS 评分评估预后<sup>[10]</sup>,其中 4~5 分为预后良好,1~3 分为预后不良。

1.6 统计学处理 使用 SPSS 26.0 软件分析;计数资料采用 $\chi^2$ 检验;正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;偏态分布计量资料以中位数(四分位间距)表示,使用 Mann-Whitney U 检验;采用 Spearman 秩相关系

数评估相关性;采用多因素 logistic 回归模型分析预后的影响因素;采用受试者操作特征(receiver operator characteristic, ROC)曲线分析血清 miR-193b-3p 水平预测 aSAH 不良预后的价值; $P < 0.05$  认为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 预后情况 159 例中,预后良好 153 例,预后不良 56 例(35.2%),其中死亡 39 例。

2.2 血清 miR-193b-3p 水平预测 aSAH 不良预后的价值 ROC 曲线分析显示,血清 miR-193b-3p 水平预测 aSAH 不良预后的曲线下面积为 0.912 (95% CI 0.870~0.954),最佳截断值为 0.62,灵敏度和特异度分别为 75.7% 和 94.6%。见图 1。

2.3 相关性分析 血清 miR-193b-3p 水平与入院时 Hunt-Hess 分级呈明显负相关( $r = -0.384, P < 0.001$ ),与入院时 Fisher 分级呈明显负相关( $r = -0.200, P = 0.011$ ),与入院时 GCS 评分呈明显正相关( $r = 0.409, P < 0.001$ )。

2.4 预后的影响因素 单因素分析显示,GCS 评分、血清 miR-193b-3p 水平、年龄、CVS、入院时 Fisher 分级、入院时 Hunt-Hess 分级、机械通气、术后迟发性再出血和急性脑积水与 aSAH 预后有关( $P < 0.05$ , 表 1)。多因素 logistic 回归分析显示,血清 miR-193b-3p  $\geq 0.62$  是 aSAH 预后不良的独立危险因素(OR = 3.148; 95% CI 1.017~5.167;  $P < 0.001$ )。

## 3 讨论

随着神经介入、显微神经外科等治疗方式的改进及治疗水平的提高,aSAH 病人的致残率及病死率逐渐较低,但高分级 aSAH 因继发性神经功能损伤,治疗难度仍然较大<sup>[11]</sup>。据报道,全球 aSAH 死亡人数约占脑卒中死亡人数的 50%<sup>[12]</sup>。因此,及早评估 aSAH 预后,对指导临床治疗具有重要意义。目前,临床常用 GCS 评分、Hunt-Hess 分级、Fisher 分级来评价入院时病情严重程度及预测预后情况<sup>[13-15]</sup>。然而,随着研究的深入,逐渐发现 GCS 评分虽然可以评估脑损伤严重程度及预测预后,但其对插管病人的口头描述反应不可靠,以及缺乏脑干反射检测<sup>[13]</sup>;其次,Hunt-Hess 分级、Fisher 分级等量表主要基于医务人员的主观判断,存在偏差<sup>[14]</sup>。因此,需要一个客观的指标来评估 aSAH 的严重程度并协助预测预后,对临床工作提供更加客观的依据。

SAH 引起的 EBI 涉及多种病理生理机制,与病

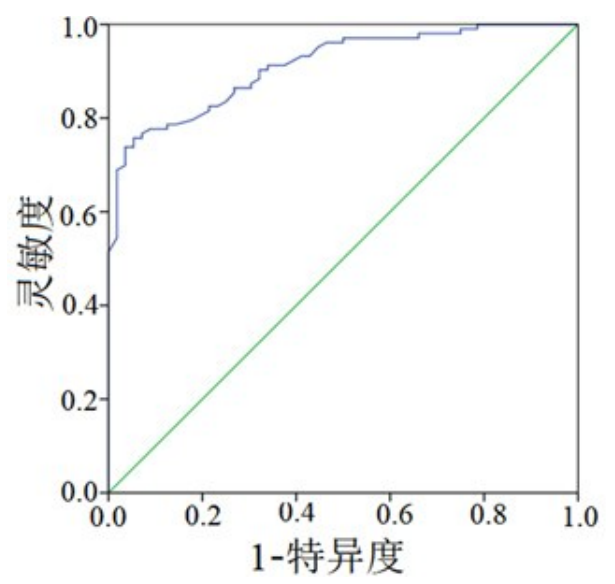


图1 血清miR-193b-3p水平预测动脉瘤性蛛网膜下腔出血病人预后不良的ROC曲线

表1 动脉瘤行蛛网膜下腔出血预后影响因素的单因素分析

影响因素	预后良好组	预后不良组
男性(例)	48(46.60%)	25(44.64%)
年龄(岁)	54.17±13.47	62.63±12.84*
合并高血压病(例)	36(34.95%)	23(41.07%)
合并高脂血症(例)	5(4.85%)	3(5.36%)
合并糖尿病(例)	7(6.80%)	7(12.50%)
动脉瘤位置(例)		
前循环	72(69.90%)	45(80.36%)
后循环	31(30.10%)	11(19.64%)
入院GCS评分(分)	13.53±2.62	9.00±3.57*
入院Hunt-Hess分级(例)		
1~2级	67(65.05%)	9(16.07%)
3~5级	36(34.95%)	47(83.93%)*
入院Fisher分级(例)		
I~Ⅲ级	39(37.86%)	6(10.71%)
Ⅳ及	64(62.14%)	50(89.29%)*
血清miR-193b-3p水平	0.90(0.57~1.22)	0.44(0.22~0.60)*
治疗方法(例)		
夹闭术	49(47.57%)	33(58.93%)
血管内栓塞	54(52.43%)	23(41.07%)
机械通气	77(74.76%)	56(100.0%)*
术后并发症(例)		
脑血管痉挛	16(15.53%)	20(35.71%)*
迟发性再出血	2(1.94%)	8(14.29%)*
急性脑积水	38(36.89%)	36(64.28%)*

注:与预后良好组相应比值,\**P*<0.05

人预后有关<sup>[3,4]</sup>。当血液进入蛛网膜下腔时,颅内压升高,脑灌注压降低<sup>[16]</sup>;同时,脑组织的缺血缺氧状态可间接损伤血管壁,从而形成微血栓,导致脑细胞水肿和死亡<sup>[17]</sup>。研究表明,miRNA参与许多疾病的病理过程,包括脑卒中、帕金森病、颅脑损伤、阿尔茨海默病等<sup>[18,19]</sup>。Yang等<sup>[20]</sup>研究发现miR-193b-3p通过SIAH1/JNK轴对缺血/再灌注损伤诱导的局灶性脑损伤具有潜在的神经保护作用。赵春艳等<sup>[21]</sup>研究显示aSAH病人高压氧治疗后血清miR-193b-3p显著下调与不良结局有关。本研究结果显示,血清miR-193b-3p水平与入院时Hunt-Hess分级呈明显负相关( $r=-0.384,P<0.001$ ),与入院时Fisher分级呈明显负相关( $r=-0.200,P=0.011$ ),与入院时GCS评分呈明显正相关( $r=0.409,P<0.001$ );ROC曲线分析显示,血清miR-193b-3p水平预测aSAH不良预后的曲线下面积为0.912(95%CI 0.870~0.954),最佳截断值为0.62,灵敏度和特异度分别为75.7%和94.6%;多因素logistic回归分析显示,血清miR-193b-3p $\geq 0.62$ 是aSAH预后不良的独立危险因素(OR=3.148;95%CI 1.017~5.167; $P<0.001$ )。这提示,血清miR-193b-3p作为非侵入性生物标志物,不仅可以用于评估aSAH病人的病情严重程度,还可以在早期用于预测病人的预后。然而,本研究纳入的病例数量有限,还有其他危险因素未进行分析,而且随访时间较短。此外,血清miR-193b-3p在aSAH中的具体机制仍不清楚。在未来的研究中,需要进行多中心前瞻性研究,以进一步扩大样本量,延长随访时间,以提高结果的可信度。

【参考文献】

[1] NUSSBAUM ES, MIKOFF N, PARANJAPPE GS. Cognitive deficits among patients surviving aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a contemporary systematic review [J]. Br J Neurosurg, 2021, 35(4): 384-401.

[2] 中国研究型医院学会神经再生与修复专委会脑血管病学组. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血:专家观点与规范推荐[J]. 中国血液流变学杂志, 2019, 29(3): 255-258.

[3] BALANÇA B, RITZENTHALER T, GOBERT F, et al. Significance and diagnostic accuracy of early S100B serum concentration after aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. J Clin Med, 2020, 9(6): 1746-1756.

[4] LAI N, WU D, LIANG T, et al. Systemic exosomal miR-193b-3p delivery attenuates neuroinflammation in early

brain injury after subarachnoid hemorrhage in mice [J]. J Neuroinflammation, 2020, 17(1): 74–85.

[5] 朱艺琳,刘嘉棋,田昊,等.循环miRNA作为颅内动脉瘤生物标志物的研究进展[J].中华神经医学杂志,2022,21(12):1269–1275.

[6] 蓝师海,洪涛.miRNA与蛛网膜下腔出血关系的研究进展[J].中国临床神经外科杂志,2022,27(1):48–50.

[7] YANG T, WU J, GE K, *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.

[8] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组,中华医学会神经病学分会神经血管介入协作组.中国蛛网膜下腔出血诊治指南2019[J].中华神经科杂志,2019,52(12):1006–1021.

[9] CONNOLLY ES JR, RABINSTEIN AA, CARHUAPOMA–JR, *et al.* Guidelines for the management of aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a guideline for healthcare professionals from the American Heart Association/american Stroke Association [J]. Stroke, 2012, 43(6): 1711–1737.

[10] JENNETT B, BOND M. Assessment of outcome after severe brain damage [J]. Lancet, 1975, 1(7905): 480–484.

[11] 齐猛,曲鑫,徐跃娇,等.老年重症动脉瘤性蛛网膜下腔出血患者预后的影响因素分析[J].中国脑血管病杂志,2020,17(1):11–16.

[12] CHEN J, LI M, ZHU X, *et al.* Atorvastatin reduces cerebral vasospasm and infarction after aneurysmal subarachnoid hemorrhage in elderly Chinese adults [J]. Aging, 2020, 12(3): 2939–2951.

[13] MISHRA R K, MAHAJAN C, KAPOOR I, *et al.* Comparison of Full Outline of UnResponsiveness (FOUR) score and the conventional scores in predicting outcome in aneurysmal subarachnoid haemorrhage patients [J]. Indian J Anaesth, 2019, 63(4): 295–299.

[14] RAJAJEE V. Grading scales in subarachnoid hemorrhage many options, but do we have a winner [J]? Eur J Neurol, 2018, 25(2): 207–208.

[15] WESTERN E, SORTEBERG A, BRUNBORG C, *et al.* Prevalence and predictors of fatigue after aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. Acta Neurochir (Wen), 2020, 162(12): 3107–3116.

[16] QIN L, WANG Y, XIE Z, *et al.* The role of ET–1 in early cerebral microcirculation changes after subarachnoid hemorrhage [J]. J Healthc Eng, 2022, 2022: 4592986–4592992.

[17] Zhou J, Guo P, Guo Z, *et al.* Fluid metabolic pathways after subarachnoid hemorrhage [J]. J Neurochem, 2022, 160(1): 13–33.

[18] MAKOWSKA M, SMOLARZ B, ROMANOWICZ H. microRNAs in Subarachnoid Hemorrhage (Review of Literature) [J]. J Clin Med, 2022, 11(15): 4630–4649.

[19] SLOTA JA, BOOTH SA. MicroRNAs in neuroinflammation: implications in disease pathogenesis, biomarker discovery and therapeutic applications [J]. Noncoding RNA, 2019, 5(2): 35–57.

[20] YANG Z, ZHUANG Q, HU G, *et al.* MORC4 is a novel breast cancer oncogene regulated by miR–193b–3p [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(3): 4634–4643.

[21] 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[J].中华航海医学与高气压医学杂志,2022,29(1):102–107.  
(2023–04–20收稿,2023–05–22修回)

~~~~~

(上接第568页)

[9] CHANDY D, SY R, ARONOW WS, *et al.* Hyponatremia and cerebrovascular spasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. Neurol India, 2006, 54(3): 273–275.

[10] SHERLOCK M, O’SULLIVAN E, AGHA A, *et al.* The incidence and pathophysiology of hyponatraemia after subarachnoid haemorrhage [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2006, 64(3): 250–254.

[11] 林昆哲,王守森.神经外科病人低钠血症的病因及治疗方式研究新进展[J].中华神经医学杂志,2019,18(8):851–855.

[12] 中国医师协会神经介入专业委员会,中国颅内动脉瘤计划研究组.中国颅内破裂动脉瘤诊疗指南2021[J].中国脑血管病杂志,2021,18(8):546–574.

[13] MISRA UK, KALITA J, KUMAR M. Safety and efficacy of fludrocortisone in the treatment of cerebral salt wasting in patients with tuberculous meningitis: a randomized clinical trial [J]. JAMA Neurol, 2018, 75(11): 1383–1391.  
(2023–03–13收稿,2023–07–26修回)