·论 著·

血清miR-149-3p和CXCR3水平与aSAH后迟发性脑缺血的相关性分析

付宏亮 景文记 卢俊义

【摘要】**目的** 探讨血清微小RNA-149-3p(miR-149-3p)、CXC趋化因子受体3(CXCR3)与动脉瘤性蛛网膜下腔出血(aSAH)后迟发性脑缺血(DCI)的相关性。**方法** 2020年6月~2022年6月前瞻性收集aSAH共175例,采用qRT-PCR法检测血清miR-149-3p,采用酶联免疫吸附法检测血清CXCR3水平。**结果** 175例中,58例发生DCI,发生率为33.1%;117例未发生DCI。与未发生DCI病人比较,DCI病人血清miR-149-3p水平显著降低(P<0.05),CXCR3水平显著升高(P<0.05)。aSAH病人血清miR-149-3p水平与CXCR3水平呈明显负相关(r=-0.462,P<0.001);多因素logsitic回归分析显示,miR-149-3p水平降低、CXCR3水平增高是aSAH后发生DCI的独立危险因素(P<0.05)。ROC曲线分析显示,血清miR-149-3p水平≤0.94预测aSAH后发生DCI的曲线下面积(AUC)为0.828,敏感度为82.76%,特异度为72.65%;血清CXCR3水平≥12.81 ng/L预测aSAH后发生DCI的AUC为0.812,敏感度为79.31%,特异度为83.76%;血清miR-149-3p≤0.94联合血清CXCR3联合≥12.81 ng/L预测aSAH后发生DCI的AUC为0.906,敏感度为91.38%,特异度为83.76%。两者联合预测效果更好(P<0.05)。**结论** aSAH后发生DCI病人血清miR-149-3p水平降低、CXCR3水平升高,是aSAH后发生DCI独立危险因素,可能作为预测aSAH后发生DCI的指标。

【关键词】动脉瘤性蛛网膜下腔出血;微小RNA-149-3p;CXC趋化因子受体3;迟发性脑缺血

【文章编号】1009-153X(2023)01-0011-04 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 743.9

Correlation of serum levels of miR-149-3p and CXCR3 with delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage

FU Hong-liang, JING Wen-ji, LU Jun-yi. Department of Neurosurgery, Linfen People's Hospital, Linfen 041000, China

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the correlation between serum levels of microRNA-149-3p (miR-149-3p) and CXC chemokine receptor 3 (CXCR3) and delayed cerebral ischemia (DCI) after aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH). **Methods** A total of 175 patients with aSAH were prospectively recruited from June 2020 to June 2022. Serum levels of miR-149-3p and CXCR3 were detected by qRT-PCR and enzyme-linked immunosorbent assay, respectively. **Results** Of these 175 patients, 58 patients had DCI (33.1%), and 117 did not. The incidence of DCI was 33.1%. Compared with patients without DCI, the serum level of miR-149-3p was significantly decreased (P<0.05) and the serum CXCR3 level was significantly increased (P<0.05) in patients with DCI. The serum level of miR-149-3p was significantly negatively correlated with the serum level of CXCR3 in aSAH patients (r=-0.462, P<0.001). Multivariate logsitic regression analysis showed that a decrease in serum level of miR-149-3p and an increase in serum level of CXCR3 were independent risk factors for DCI after aSAH (P<0.05). ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of serum miR-149-3p level ≤0.94 for predicting DCI after aSAH was 0.828, the sensitivity was 82.76%, and the specificity was 72.65%. The AUC of serum CXCR3 level ≥12.81 ng/L for predicting DCI after aSAH was 0.812, the sensitivity was 79.31%, and the specificity was 83.76%. The AUC of serum miR-149-3p ≤0.94 combined with serum CXCR3 ≥12.81 ng/L for predicting DCI after aSAH was 0.906, the sensitivity was 91.38%, and the specificity was 83.76%. The prediction effectiveness of two indexes was significantly better than that of a single index (P<0.05). **Conclusions** A decrease in serum level of miR-149-3p and an increase in serum level of CXCR3 are independent risk factors for DCI after aSAH, which may be used as indicators to predict DCI after aSAH.

【**Key words**】Aneurysmal subarachnoid hemorrhage; MicroRNA-149-3p; CXC chemokine receptor 3; Delayed cerebral ischemia

动脉瘤性蛛网膜下腔出血(aneurysmal subarachnoid hemorrhage,aSAH)是一种病情极其凶险的脑血管病,占所有脑卒中的5%~10%,病死率、致残率较高[1,2]。迟发性脑缺血(delayed cerebral ischemia,DCI)是aSAH的主要并发症,主要发生在aSAH初次出血后4~12 d,是导致病人死亡、残疾的主要原因[3,4]。探讨aSAH后并发DCI的危险因素,对于疾病的治疗具有重要意义。微小RNA(microRNA,miRNA)与缺血性脑卒中等密切相关[5]。研究发现,miR-149-3p与肿瘤、肠炎、胃炎等疾

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2023.01.004

作者单位:041000 山西,临汾市人民医院神经外科(付宏亮、景文记、卢俊义)

病的发生、发展密切相关[6]，与缺血/再灌注损伤也有关[7]。生物学软件（Targetscan）在线分析显示，miR-149-3p与CXCR3有靶向结合位点。CXCR3为趋化因子受体，主要表达于活化的T淋巴细胞，参与多种疾病的免疫反应。研究显示，SAH及其并发症与T辅助细胞亚群失衡有关[8]。本文探讨血清miR-149-3p、CXCR3水平与aSAH后发生DCI的相关性，为临床提供参考。

1 资料与方法

1.1 病例选择标准 纳入标准：符合aSAH诊断标准[9]；初次发病且在发病24 h内入院；临床资料完整。排除标准：非动脉瘤破裂所致SAH；入院72 h内死亡或放弃治疗；合并颅内感染；心、肝、肾功能不全；合并自身免疫系统疾病或凝血功能障碍。

1.2 研究对象 2020年6月~2022年6月前瞻性收集aSAH共175例，其中男78例，女97例；年龄45~76岁，平均（63.01±10.51）岁。

1.3 DCI的诊断标准[10] 发病4 d后发生神经功能缺损症状（偏瘫、失语、意识下降），且持续时间在1h以上；CT或MRI检查发现新梗死灶，并排除颅内再出、脑积水、脑水肿、癫痫等。

1.4 检测方法

1.4.1 血清miR-149-3p水平的检测 入院24 h内采集肘静脉血5 ml，3 000转/min（离心半径10 cm）离心20 min，收集血清，-80 ℃保存待检。血清miR-149-3p表达水平采用qRT-PCR法检测，使用Trizol Reagent（广州济恒医药科技有限公司）提取血清总RNA，紫外分光光度计检测其浓度及纯度，根据First Strand cDNA Synthesis Kit（上海钰博生物科技有限公司）合成cDNA，以U6为内参，使用PCR试剂盒（上海钰博生物科技有限公司）进行PCR扩增。miR-149-3p上游引物5′-CTCGAGGTCTGCCAGCTGGGGCCCTCCCT-3′，下游引物5′-GCGGCCGCCTTCCAAGAATCTTTATTG-3′；U6上游引物5′-CTCGCTTCGGCAGCACA-3′，下游引物5′-AACGCTTCA CGAATTTGCGT-3′。采用$2^{-\triangle\triangle CT}$法计算miR-149-3p表达水平。

1.4.2 血清CXCR3水平的检测 采用酶联免疫吸附法检测血清CXCR3水平，试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。

1.5 统计学分析 采用SPSS 23.0软件分析；计量资料用$\bar{x}\pm s$表示，采用t检验；计数资料采用χ^2检验；采用Pearson相关系数分析血清miR-149-3p、CXCR3水平相关性；ROC曲线分析血清miR-149-3p、CXCR3对aSAH发生DCI的诊断价值；多因素logistic回归模型分析影响aSAH发生DCI的危险因素；$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 DCI的发生率 175例中，58例发生DCI，发生率为33.1%；117例未发生DCI。

2.2 DCI病人血清miR-149-3p、CXCR3水平变化 与未发生DCI病人比较，DCI病人血清miR-149-3p表达水平显著降低（$P<0.05$），CXCR3水平显著升高（$P<0.05$）。见表1。

表1 aSAH病人血清miR-149-3p、CXCR3水平变化

组别	例数（例）	miR-149-3p	CXCR3（ng/L）
无DCI组	117	1.03±0.21	10.64±3.21
DCI组	58	0.75±0.16*	15.82±4.36*

注：与无DCI组相应值比，* $P<0.05$；aSAH. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血；DCI. 迟发性脑缺血

表2 aSAH后发生DCI危险因素的单因素分析

危险因素	无DCI组（n=117）	DCI组（n=58）
性别（例，男/女）	53/64	25/33
年龄（岁）	63.24±9.65	62.55±9.76
吸烟（例）	35（29.91%）	20（34.48%）
饮酒（例）	30（25.64%）	17（29.31%）
脑卒中史（例）	15（12.82%）	10（17.24%）
高血压（例）	62（52.99%）	35（60.34%）
糖尿病（例）	59（50.43%）	38（65.52%）
高脂血症（例）	36（30.77%）	25（43.10%）
低蛋白血症（例）	25（21.37%）	23（39.66%）*
动脉瘤位置（例）		
前循环	90（76.92%）	47（81.03%）
后循环	27（23.08%）	11（18.97%）
动脉瘤直径（mm）	8.97±2.32	9.25±3.03
治疗方式（例）		
介入术	65（55.36%）	35（60.34%）
夹闭术	52（44.44%）	23（39.66%）
术前Hunt Hess分级（例）		
Ⅰ~Ⅲ	63（53.85%）	21（36.21%）
Ⅳ~Ⅴ	54（46.15%）	37（63.79%）*
mFisher评分（例）		
1~2分	71（60.68%）	22（37.93%）
≥3分	46（39.32%）	36（62.07%）*

注：与无DCI组相应值比，* $P<0.05$；aSAH. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血；DCI. 迟发性脑缺血

2.3 血清miR-149-3p、CXCR3水平相关性 血清miR-149-3p表达水平与CXCR3水平呈明显负相关（r=-0.462，P<0.001）。

2.4 aSAH后发生DCI的危险因素 单因素分析显示低蛋白血症、Hunt-Hess分级、mFisher评分、血清miR-149-3p与CXCR3水平与aSAH后发生DCI有关（P<0.05，表1、表2）。多因素logistic回归分析显示，低蛋白血症、Hunt-Hess分级Ⅳ~Ⅴ级、mFisher评分≥3分、血清miR-149-3p≤0.94、血清CXCR3≥12.81 ng/L是aSAH后发生DCI的独立危险因素（P<0.05；表3）。

2.5 血清miR-149-3p、CXCR3水平评估aSAH发生DCI的价值 ROC曲线分析显示，血清miR-149-3p、CXCR3对评估aSAH后发生DCI具有一定的价值，两者联合评估效果更好（P<0.05）。见表4、图1。

3 讨 论

DCI是aSAH的主要并发症，发病率约为30%，可导致失语、昏迷、偏瘫等严重神经功能障碍，致残率、病死率较高。DCI与脑血管痉挛、炎症反应、早期脑损伤、血栓形成等因素有关，早期预测aSAH后DCI发生风险对于改善病人预后具有重要意义[11,12]。miRNA的异常表达与急性脑梗死、脑缺血等脑血管疾病密切相关，通过调控血管生成、炎症反应等病理过程参与脑缺血、缺氧过程[13]。王娜等[14]研究表明，aSAH后发生DCI病人血清miR-210表达水平升高，是aSAH后发生DCI的独立危险因素。miR-149-3p通过调节免疫反应、炎症反应、细胞增殖、分化参与疾病进展，与肿瘤、糖尿病心肌病、炎症性疾病密切相关[15]。本文结果显示，aSAH后发生DCI病人血清miR-149-3p表达水平降低，提示miR-149-3p与DCI的有关。研究显示，miR-149-3p在动脉粥样硬化冠状动脉组织表达降低，参与调节血管平滑肌细胞迁移和增殖[16]；还可通过调节性T细胞分化，在肿瘤免疫逃逸发挥抑制作用[17]。

经targetscan在线分析显示，miR-149-3p与CXCR3有靶向结合位点。CXCR3属于CXC趋化因子亚家族受体，主要表达于Th1细胞和NK细胞表面，负责介导T淋巴细胞向炎症部位聚集，在血管生成、炎症反应和肿瘤免疫逃逸中发挥重要作用[18,19]。CXCR3与其配体CXCL10结合，参与缺血性中风后小鼠淋巴细胞调节，与神经保护有关[20]。本文结果显示aSAH后发生DCI病人血清CXCR3水平升高；相关性分析显示，miR-149-3p与CXCR3呈明显负相关，推测miR-149-3p通过靶向调节CXCR3表达，通过免疫调节与炎症反应参与aSAH后DCI的发生发展。

本文多因素logistic回归分析显示，血清miR-

表3 aSAH后发生DCI危险因素的多因素logistic回归分析

危险因素	比值比	95%置信区间	P值
低蛋白血症	2.651	1.279~5.500	0.008
术前Hunt-Hess分级Ⅳ~Ⅴ级	2.795	1.294~6.038	0.009
mFisher评分≥3分	2.314	1.210~5.560	0.005
血清miR-149-3p水平降低	1.978	1.152~3.398	0.013
血清CXCR3水平增高	3.014	1.515~5.996	0.001

注：aSAH. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血；DCI. 迟发性脑缺血

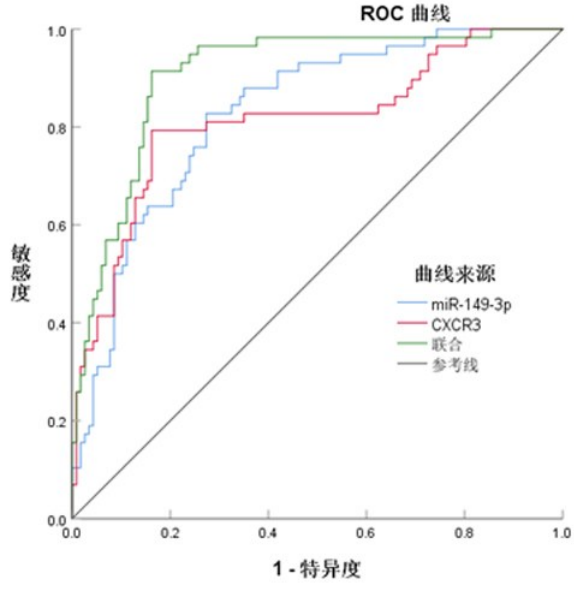

图1 ROC曲线分析血清miR-149-3p、CXCR3预测动脉瘤性蛛网膜下腔出血后发生迟发性脑缺血的价值

表4 血清miR-149-3p、CXCR3预测aSAH后发生DCI的效果

指标	曲线下面积	95%置信区间	临界值	敏感度	特异度	约登指数
血清miR-149-3p	0.828	0.764~0.81	0.94	82.76%	72.65%	0.554
血清CXCR3	0.812	0.746~0.867	12.81 ng/L	79.31%	83.76%	0.630
两者联合	0.906	0.853~0.45		91.38%	83.76%	0.751

注：aSAH. 动脉瘤性蛛网膜下腔出血；DCI. 迟发性脑缺血

149-3p≤0.94、血清CXCR3>12.81 ng/L是aSAH后发生DCI的独立危险因素（$P<0.05$）；ROC曲线分析显示，血清miR-149-3p联合CXCR3评估aSAH发生DCI的AUC为0.906，敏感度为91.38%，特异度为83.76%。这提示临床监测血清miR-149-3p、CXCR3水平有助于评估aSAH病人发生DCI的风险。

总之，aSAH后发生DCI病人血清miR-149-3p水平降低、CXCR3水平升高，是aSAH后发生DCI独立危险因素，可能作为预测aSAH后发生DCI的指标。

【参考文献】

[1] 河南省医师协会神经介入专业委员会，河南省微循环学会神经重症分会.《高分级动脉瘤性蛛网膜下腔出血综合救治》试行方案中原区域专家共识[J]. 中国临床神经外科杂志，2022，27(6)：513-521.

[2] 陈 鹤，赵玉龙，刘佳明，等. 前交通动脉破裂动脉瘤术后认知功能障碍的影响因素[J]. 中国临床神经外科杂志，2022，27(5)：366-369.

[3] 廖廷泉，苏祖禄，石 会. CT灌注成像预测及诊断蛛网膜下腔出血后迟发性脑缺血的Meta分析[J]. 中国临床神经外科杂志，2018，23(7)：458-462.

[4] Ikram A, Javaid MA, Ortega-Gutierrez S, *et al*. Delayed cerebral ischemia after subarachnoid hemorrhage [J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2021, 30(11): 1-10.

[5] Tian Y, Jiang Y, Dong X, *et al*. miR-149-3p suppressed epithelial-mesenchymal transition and tumor development in acute myeloid leukemia [J]. Hematology, 2021, 26(1): 840-847.

[6] Vasudeva K, Munshi A. miRNA dysregulation in ischaemic stroke: focus on diagnosis, prognosis, therapeutic and protective biomarkers [J]. Eur J Neurosci, 2020, 52(6): 3610-3627.

[7] Hu X, Xiang Z, Zhang W, *et al*. Protective effect of DLX6-AS1 silencing against cerebral ischemia/reperfusion induced impairments [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(22): 23096-23113.

[8] Chaudhry SR, Kahlert UD, Kinfe TM, *et al*. Differential polarization and activation dynamics of systemic T helper cell subsets after aneurysmal subarachnoid hemorrhage (SAH) and during post-SAH complications [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 1-10.

[9] 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.

[10] Zafar SF, Westover MB, Gaspard N, *et al*. Interrater agreement for consensus definitions of delayed ischemic events after aneurysmal subarachnoid hemorrhage [J]. J Clin Neurophysiol, 2016, 33(3): 235-240.

[11] 田 竺，胡群亮，王延民，等. 脑脊液气体分析与动脉瘤性蛛网膜下腔出血后迟发性脑缺血的相关性[J]. 中南医学科学杂志，2021，49(2)：169-172.

[12] Rumalla K, Lin M, Ding L, *et al*. Risk factors for cerebral vasospasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a population-based study of 8346 patients [J]. World Neurosurg, 2021, 145(1): e233-e241.

[13] Xing F, Liu Y, Dong R, *et al*. miR-374 improves cerebral ischemia reperfusion injury by targeting Wnt5a [J]. Exp Anim, 2021, 70(1): 126-136.

[14] 王 娜，卞玉杰，田继新. 血清mir-210、HIF-1α水平与动脉瘤性蛛网膜下腔出血后迟发性脑缺血的关系[J]. 中风与神经疾病杂志，2020，37(4)：302-305.

[15] Cao Y, Wang Z, Yan Y, *et al*. Enterotoxigenic bacteroides-fragilis promotes intestinal inflammation and malignancy by inhibiting exosome-packaged miR-149-3p [J]. Gastroenterology, 2021, 161(5): 1552-1566.

[16] Jing R, Pan W, Long T, *et al*. LINC00472 regulates vascular smooth muscle cell migration and proliferation via regulating miR-149-3p [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2021, 28(10): 12960-12967.

[17] Xu QR, Tang J, Liao HY, *et al*. Long non-coding RNA MEG3 mediates the miR-149-3p/FOXP3 axis by reducing p53 ubiquitination to exert a suppressive effect on regulatory T cell differentiation and immune escape in esophageal cancer [J]. J Transl Med, 2021, 19(1): 264-278.

[18] Yan Y, Zheng L, Du Q, *et al*. Interferon regulatory factor 1 (IRF-1) activates anti-tumor immunity via CXCL10/CXCR3 axis in hepatocellular carcinoma (HCC) [J]. Cancer Lett, 2021, 506(1): 95-106.

[19] Karin N. CXCR3 ligands in cancer and autoimmunity, chemoattraction of effector T cells, and beyond [J]. Front Immunol, 2020, 11(1): 976-985.

[20] Cai W, Shi L, Zhao J, *et al*. Neuroprotection against ischemic stroke requires a specific class of early responder T cells in mice [J]. J Clin Invest, 2022, 32(15): 1-17.

（2022-11-03收稿，2022-12-20修回）