

外周血 miRNA-126 与 miRNA-143 表达对颅内动脉瘤介入术后患者复发的预测价值

丁崇学, 李扬, 罗坤

(新疆医科大学第一附属医院神经外三科, 新疆 乌鲁木齐 830000)

【摘要】目的: 探讨外周血微小 RNA-126 (miRNA-126)、miRNA-143 表达水平对颅内动脉瘤介入术后患者复发的预测价值。**方法:** 选取 113 例行介入栓塞术治疗的颅内动脉瘤患者为研究对象, 根据术后不同 Raymond 分级分为 Raymond I 级组 ($n = 88$)、Raymond II 级组 ($n = 13$) 和 Raymond III 级组 ($n = 12$); 根据不同预后分为复发组 ($n = 19$) 和未复发组 ($n = 94$)。比较不同分级患者、不同预后患者外周血 miRNA-126、miRNA-143 表达水平, 分析其与 Raymond 分级的相关性及其对颅内动脉瘤患者介入栓塞术后复发的预测价值。**结果:** 与 Raymond I 级组相比, Raymond II 级组和 Raymond III 级组患者 miRNA-126 表达水平平均升高 ($P < 0.05$), miRNA-143 表达水平平均降低 ($P < 0.05$)。相关性分析显示, miRNA-126 水平与 Raymond 分级正相关 ($r = 0.364, P < 0.05$), miRNA-143 水平与 Raymond 分级负相关 ($r = -0.347, P < 0.05$)。复发组患者外周血 miRNA-126 表达水平高于未复发组 ($P < 0.05$), miRNA-143 表达水平低于未复发组 ($P < 0.05$)。ROC 曲线分析显示, 外周血 miR-126、miR-143 及其联合预测颅内动脉瘤患者介入栓塞术后复发的曲线下面积分别为 0.767、0.826、0.968, 联合检测预测的价值高于两者单独预测 ($P < 0.05$)。**结论:** 外周血 miRNA-126、miRNA-143 联合检测能提高颅内动脉瘤介入术后复发的预测价值。

【关键词】 颅内动脉瘤; 介入术; 复发; 微小 RNA-126; 微小 RNA-143

【中图分类号】 R743.4 **【文献标志码】** A

Predictive value of peripheral blood miRNA-126 and miRNA-143 for recurrence in patients with intracranial aneurysm after interventional surgery

DING Chong-xue, LI Yang, LUO Kun

(Department of Neurosurgery III, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, Xinjiang, China)

【Abstract】Objective: To explore the predictive value of peripheral blood microRNA-126 (miRNA-126) and miRNA-143 for recurrence in patients with intracranial aneurysm after interventional surgery. **Methods:** A total of 113 patients with intracranial aneurysms undergoing interventional embolization were selected as the research objects. According to different Raymond grades, they were divided into Raymond I group ($n = 88$), Raymond II group ($n = 13$) and Raymond III group ($n = 12$), according to different prognoses, they were divided into a recurrent group ($n = 19$) and a non recurrent group ($n = 94$). The expression levels of miRNA-126 and miRNA-143 in peripheral blood of patients with different grades and prognoses were compared, and their correlation with Raymond grade, and predict their predictive value for postoperative recurrence in patients with intracranial aneurysms undergoing interventional embolization were analyzed. **Results:** Compared with patients with Raymond grading at grade I, miRNA-126 level was increased ($P < 0.05$), while miRNA-143 level was decreased in those at grades II and III ($P < 0.05$). Correlation analysis showed that the levels of miRNA-126 were positively correlated with Raymond grading ($r = 0.364, P < 0.05$), while miRNA-143 levels were negatively correlated with Raymond grading ($r = -0.347, P < 0.05$). The level of peripheral blood miRNA-126 in recurrence group was higher than that in non-recurrence group ($P < 0.05$), while miRNA-143 level was lower than that in non-recurrence group ($P < 0.05$). ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) values of peripheral blood miR-126, miR-143 and combined detection for predicting postoperative recurrence were 0.767, 0.826 and 0.968, respectively. AUC of combined detection was greater than that of single index ($P < 0.05$). **Conclusion:** The peripheral blood miRNA-126 combined with miRNA-143 can improve the predictive value for recurrence of intracranial aneurysm after interventional surgery.

【Key words】 Intracranial aneurysm; Interventional surgery; Recurrence; MicroRNA-126; MicroRNA-143

颅内动脉瘤指颅内动脉血管先天异常等诱发的局部血管壁损伤而扩大形成异常膨出的脑血管病

变,早期无明显症状,但随着病情进展,尤其是瘤体破裂引起的蛛网膜下腔出血是导致患者死亡的最严重并发症,死亡率约 40%^[1]。目前普遍认为颅内动脉瘤是颅内动脉壁的局部先天缺陷及腔内压力增加而导致异常膨出,>80%的动脉瘤发生于 willis 环的前半段^[2],可在任何年龄阶段发生,临床以早诊断早治疗防治策略为主^[3]。介入栓塞术干预后可有效防治动脉瘤破裂出血,且术后致残率及病死率较低,但在长期随访中发现,介入治疗后的复发率较高,且复发动脉瘤治疗难度增加,破裂出血后致残率及致死率高^[4]。microRNA (miRNA) 作为机体中一类高度保守、内源性非编码的小 RNA,能够调控转录过程中 >30% 的编码基因^[5],miRNA 能够通过抑制或促进内皮细胞、平滑肌细胞增殖的方式参与颅内动脉瘤的发病过程^[6],因而进一步探究 miRNA 在颅内动脉瘤中的应用价值具有重要临床意义。血管生成及细胞外基质的降解合成是颅内动脉瘤发生的主要病理机制,miR-126 作为一类调控血管生成的关键调节因子,其在动脉瘤患者外周血中水平升高^[7]。miR-143 则是一类在血管平滑细胞中高表达的常染色体编码 miRNA,在调控平滑肌细胞表型中起到重要作用,与颅内动脉瘤的发生发展关系密切^[8]。目前关于 miR-126、miR-143 对预测颅内动脉瘤介入术后复发预测价值的研究鲜少报道。本研究旨在探讨外周 miRNA-126、miRNA-143 表达水平对颅内动脉瘤介入术后患者复发的预测价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 2 月至 2022 年 2 月新疆医科大学第一附属医院 113 例行介入栓塞术治疗的颅内动脉瘤患者为研究对象。其中男性 65 例,女性 48 例;年龄 (54.68 ± 5.41) 岁;解剖分型:分叉型 61 例,侧壁型 52 例;动脉瘤位置:大脑中动脉 15 例、前交通动脉 37 例、颈内动脉 45 例、后循环动脉 16 例;瘤颈类型:宽颈 31 例,窄颈 82 例;瘤体最长径 4.6 ~ 14.8 mm,平均 (9.67 ± 2.15) mm。患者根据术后不同 Raymond 分级分为 Raymond I 级组 ($n = 88$)、Raymond II 级组 ($n = 13$) 和 Raymond III 级组 ($n = 12$);根据不同预后分为复发组 ($n = 19$) 和未复发组 ($n = 94$)。所有患者或家属均对本研究知情同意,本研究严格遵照《赫尔辛基宣言》中医学伦理要求进行。纳入标准:(1)经头颅数字减影血管造影(DSA)、CT 或 MRI 影像学检查证实为颅内动脉瘤,且动脉瘤未破裂;(2)于本院接受血管介入栓塞术;(3)临床资料完整且愿意接受至少 6 个月以上 DSA 随访。排

除标准:(1)既往颅脑手术史或药物治疗史;(2)卒中或其他脑血管病史;(3)多发性颅脑损伤;(4)合并恶性肿瘤;(5)严重头颅外伤史;(6)术中转开颅或保守处理;(7)合并精神疾病无法配合干预;(8)术前意识模糊或昏迷患者。

1.2 方法

1.2.1 Raymond 分级及复发判定标准 根据 DSA 影像资料按照 Raymond 分级标准^[9]评估:完全栓塞为 I 级,瘤颈显影为 II 级,瘤体显影为 III 级。DSA 随访 ≥ 6 个月,脑动脉瘤重新显影、栓塞部位仍有明显血供、残留增大或新见瘤样扩张为复发^[10]。

1.2.2 miR-126 及 miR-143 水平检测 术后 7 d 以 RNase Free 的离心管取清晨空腹肘静脉血 5 mL,3 500 r/min 离心 10 min 取上清, - 80 °C 保存待测。取 200 μL 样品按照 RNA 提取试剂盒中说明书操作步骤提取血清中的总 RNA,提取后用紫外分光光度计检验,OD 值 (A260/A280) = 1.8 ~ 2.1,并用凝胶电泳检测 RNA 的完整性;符合标准后进行 cDNA 反转录合成,反转录体系 (10 μL): 2 × miRNA 反应混合液 5 μL,0.1% BSA 1 μL,miRNA PrimeScript® RT 酶混合物 1 μL,总 RNA 0.5 μL,去 RNA 酶 ddH₂O 2.5 μL,反应条件:37 °C 60 min,85 °C 5 s,4 °C 30 min;cDNA 获取后,进行 RT-qPCR 检测,PCR 体系 10 μL:SYBR® Prmix Ex Tap II (2 ×) 5 μL,上游引物 0.4 μL,下游引物 0.4 μL,ROX Reference Dye II (50 ×) 0.2 μL,cDNA 1 μL,ddH₂O 3 μL,详细操作见试剂盒说明书,PCR 反应参数设置:50 °C 激活聚合酶 5 min,95 °C 预变性 30 s,95 °C 变性 5 s,60 °C 退火和延伸 34 s,反应进行 40 个循环。miR-126、miR-143 及内参基因 U6 引物委托上海生工生物工程股份有限公司合成。见表 1。每个样本设置 3 个复孔,取平均 Ct 值进行分析,以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相对表达量。

表 1 引物序列

基因	引物序列	片段大小 (bp)	
miR-126	上游	5'-GTCGTATCCAGTCCAGGGTCCGAG-3'	24
	下游	5'-GTATTGCGACTGGATAACGAC-3'	20
miR-143	上游	5'-AGTGTCCCCACCGTCGGTTGTACCTTG-3'	27
	下游	5'-CACTGCTGCTACCGTACAAG-3'	20
U6	上游	5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3'	18
	下游	5'-AACGCTTCACGAATTTCCGT-3'	20

1.3 观察指标

(1)不同 Raymond 分级患者外周血中 miR-126、miR-143 表达水平;(2)miR-126、miR-143 表达水平与 Raymond 分级的相关性;(3)不同预后患者外周血 miR-126、miR-143 表达水平;(4)外周血 miR-

126、miR-143 检测对颅内动脉瘤介入栓塞术后复发的预测价值。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 24.0 软件对数据进行处理与分析。计量资料符合正态分布且方差齐性,以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,多个均数两两比较行 LSD-*t* 检验;相关性能采用 Spearman 相关性分析;预测价值采用受试者工作特征(ROC)曲线分析,曲线下面积(AUC)检验预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同 Raymond 分级患者外周血 miR-126、miR-143 表达水平比较

Raymond II 级组和 Raymond III 级组患者外周血 miRNA-126 表达水平均高于 Raymond I 级组($P < 0.05$);miRNA-143 水平均低于 Raymond I 级组($P < 0.05$)。Raymond II 级组和 Raymond III 级组患者外周血 miRNA-126、miRNA-143 表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 不同 Raymond 分级患者外周血 miR-126、miR-143 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	miR-126	miR-143
Raymond I 级组($n = 88$)	2.77 ± 0.41	1.43 ± 0.22
Raymond II 级组($n = 13$)	3.08 ± 0.36*	1.18 ± 0.25*
Raymond III 级组($n = 12$)	3.12 ± 0.38*	1.15 ± 0.24*
F 值	6.562	13.436
P 值	0.002	<0.001

* $P < 0.05$, 与 Raymond I 级组相比。

2.2 外周血 miR-126、miR-143 水平与 Raymond 分级的相关性

相关性分析显示,miRNA-126 表达水平与 Raymond 分级正相关($P < 0.05$);miRNA-143 表达水平与 Raymond 分级负相关($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 miR-126、miR-143 水平与 Raymond 分级的相关性

指标	Raymond 分级	
	r 值	P 值
miR-126	0.364	0.003
miR-143	-0.347	0.007

2.3 不同预后患者外周血 miR-126、miR-143 表达水平比较

复发组患者外周血 miRNA-126 表达水平高于未复发组,miRNA-143 水平低于未复发组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

2.4 外周血 miR-126、miR-143 水平对颅内动脉瘤患者介入栓塞术后复发的预测价值

ROC 曲线分析显示,外周血 miR-126、miR-143

水平预测颅内动脉瘤患者介入栓塞术后复发均有价值,且联合预测的价值高于两者单独预测($P < 0.05$)。见表 5 及图 1。

表 4 不同预后患者外周血 miR-126、miR-143 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	miR-126	miR-143
复发组($n = 19$)	3.35 ± 0.37	1.04 ± 0.19
未复发组($n = 94$)	2.74 ± 0.42	1.44 ± 0.21
t 值	5.785	7.686
P 值	<0.001	<0.001

表 5 外周血 miR-126、miR-143 水平对颅内动脉瘤患者介入栓塞术后复发的预测价值

指标	截断值	95% CI	AUC 值	敏感度(%)	特异度(%)	P 值
miR-126	3.175	0.638 ~ 0.897	0.767	73.68	80.85	<0.05
miR-143	1.305	0.739 ~ 0.914	0.826	94.73	64.89	<0.05
联合	-	0.937 ~ 0.998	0.968	89.47	90.43	<0.05

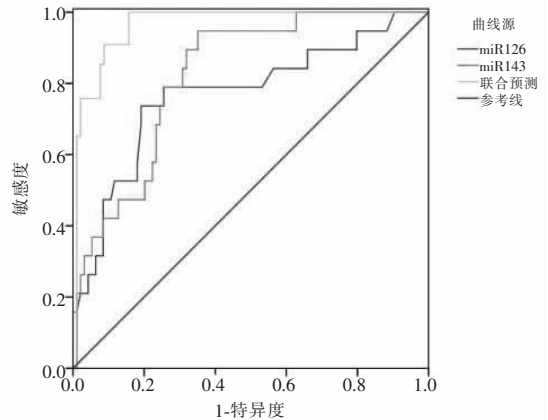


图 1 外周血 miR-126、miR-143 水平对颅内动脉瘤患者介入栓塞术后复发预测价值的 ROC 曲线

3 讨论

颅内动脉瘤作为一种血管炎症驱动的疾病,研究^[11-12]结果显示,服用抗炎药物后可明显改善实验性颅内动脉瘤的形成及进展。miRNA 作为机体内稳定表达且调控多项生理进程的重要生物学指标,miR-126 作为代偿性血管生成的主要调节因子,在机体内能够调控血管细胞粘附分子的表达,并促进血管内皮细胞的增殖,从而参与血管生成及重塑^[13],目前有研究^[14]表明,miR-126 对颅内动脉瘤患者术后脑血管痉挛有潜在预测价值;miR-143 则是已知能够调控平滑肌细胞表型的关键因子,而目前研究^[15]已经证实血管平滑肌细胞表型调控是影响颅内动脉瘤发生、发展过程的重要作用机制。本研究结果显示,不同动脉瘤即刻栓塞结果 Raymond 分级患者外周血 miR-126、miR-143 表达水平存在差异($P < 0.05$),且 miRNA-126 表达水平与 Raymond 分级正相关($P < 0.05$),miRNA-143 表达水平与

Raymond 分级负相关 ($P < 0.05$)。Raymond 分级作为预测动脉介入栓塞治疗长期结果的最常用指标, Raymond II/III 级是颅内动脉瘤介入栓塞术后复发的独立危险因素^[16], 本研究结果进一步证实了 miR-126、miR-143 在高风险因素患者中表达水平异常,是具有预测复发的潜在价值,与鄢伟等^[17-18]的研究结果一致。

本研究随访结果发现,随访期间共有 19 例患者复发,复发率为 16.81%,略高于与宋彦彬^[19]的研究结果,而对介入栓塞术后复发及未复发患者术后 7 d 外周血 miR-126、miR-143 表达水平比较结果显示,复发组患者外周血 miRNA-126 水平高于未复发组 ($P < 0.05$), miRNA-143 水平低于未复发组 ($P < 0.05$),表明外周血 miR-126、miR-143 表达参与了介入栓塞术后复发的病理进程,通过早期监测高危复发风险患者外周血 miR-126、miR-143 表达,及时采取干预措施,对预防复发及动脉瘤破裂具有积极意义。ROC 曲线分析结果显示,外周血 miR-126、miR-143 单独预测颅内动脉瘤患者介入栓塞术后复发的 AUC 分别为 0.767、0.826,敏感度和特异度分别为 73.68%、94.73% 和 80.85%、64.89%,而联合预测的 AUC 为 0.968,说明两者均有较好预测价值,但两者联合预测的价值更高。

综上,颅内动脉瘤患者外周血 miR-126、miR-143 表达水平与 Raymond 分级关系密切,可作为预测颅内动脉瘤患者介入栓塞术后复发的生物学指标,为高危患者的临床防治提供参考依据。

参考文献

[1] Luther E, McCarthy DJ, Brunet MC, et al. Treatment and diagnosis of cerebral aneurysms in the post-International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT) era: trends and outcomes[J]. *Journal of Neurointerventional Surgery*, 2020, 12(7): 682-687.

[2] 张西安, 豆涛涛, 行治国, 等. 颅内动脉瘤患者术前 Hunt-Hess 分级、手术时机对血管内栓塞治疗预后的影响[J]. *海南医学*, 2022, 33(24): 3200-3203.

[3] 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, 张鸿祺, 等. 中国颅内未破裂动脉瘤诊疗指南 2021[J]. *中国脑血管病杂志*, 2021, 18(9): 634-664.

[4] 徐源, 杨华, 彭瀚, 等. 开颅夹闭术与介入栓塞术治疗大脑中动脉瘤的临床疗效对比研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(11): 84-87.

[5] 周璐, 冯建国, 贾静, 等. miRNA-21 调节 JAK2/STAT3 通路关键因子在急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征中的作用研究

[J]. *成都医学院学报*, 2021, 16(4): 424-430, 436.

[6] 段铭铭. 未破裂颅内动脉瘤患者外周血中 microRNA-126 表达情况及其生物信息学分析[J]. *现代中西医结合杂志*, 2019, 28(31): 3439-3443, 3449.

[7] Wu J, Gareev I, Beylerli O, et al. Circulating miR-126 as a potential non-invasive biomarker for intracranial aneurysmal rupture: a pilot study[J]. *Current Neurovascular Research*, 2021, 18(5): 525-534.

[8] Supriya M, Christopher R, Devi BI, et al. Altered microRNA expression in intracranial aneurysmal tissues: possible role in TGF- β signaling pathway[J]. *Cellular and Molecular Neurobiology*, 2022, 42(7): 2393-2405.

[9] 王驰, 刘长江, 杨鹏飞, 等. 神经外科医师对颅内动脉瘤血管内栓塞术后 DSA 即刻结果判读的影响[J]. *中国脑血管病杂志*, 2016, 13(1): 3-7.

[10] 程美雄. MRA 对颅内动脉瘤支架辅助弹簧圈栓塞术后随访结果的评估价值分析[J]. *中国 CT 和 MRI 杂志*, 2020, 18(1): 4-7.

[11] Chien SC, Chen CC, Chen CT, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in stent-assisted coil embolization of unruptured intracranial aneurysms[J]. *Interventional Neuroradiology: Journal of Peritherapeutic Neuroradiology, Surgical Procedures and Related Neurosciences*, 2022, 28(5): 568-574.

[12] Park KY, Ozaki T, Kostynskyy A, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in the dual antiplatelet regimen for intracranial stenting or flow-diverter treatment for unruptured cerebral aneurysms: a single-center cohort study[J]. *AJNR American Journal of Neuroradiology*, 2021, 42(9): 1638-1644.

[13] Gao S, Gao H, Dai L, et al. miR-126 regulates angiogenesis in myocardial ischemia by targeting HIF-1 α [J]. *Experimental Cell Research*, 2021, 409(2): 112925.

[14] Luo J, Zhu X, Liu F, et al. Expression of serum miR-126 in patients with intracranial aneurysm and its relationship with postoperative cerebral vasospasm[J]. *American Journal of Translational Research*, 2022, 14(6): 4372-4379.

[15] 杨成, 张燕飞, 管宏新, 等. 基于 TLR4/NF- κ B 信号通路上调 miR-143 对颅内动脉瘤模型大鼠的干预作用[J]. *疑难病杂志*, 2022, 21(8): 850-855.

[16] Zuckerman SL, Lakomkin N, Magarik JA, et al. Evaluation of previously embolized intracranial aneurysms: inter-and intra-rater reliability among neurosurgeons and interventional neuroradiologists[J]. *Journal of Neurointerventional Surgery*, 2018, 10(5): 462-466.

[17] 鄢伟, 王静静, 李晓东. 颅内动脉瘤患者手术前后血清 miR-126、miR-125b 表达变化及其临床意义[J]. *临床误诊误治*, 2021, 34(12): 99-103.

[18] 冯明陶. microRNA-143 调控平滑肌表型转化在颅内动脉瘤形成中的作用研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2017.

[19] 宋彦彬. 颅内动脉瘤介入术后复发的风险因素分析及列线图构建[J]. *宁夏医科大学学报*, 2021, 43(9): 904-908.

(收稿日期: 2023-08-27

修回日期: 2023-10-16)