

血清 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 作为心源性 脑卒中诊断标志物的研究

刘旭阳 孙玉芳 汤舒洁 项涛

(西南交通大学附属医院 成都市第三人民医院急诊科, 四川 成都 610031)

【摘要】目的 研究血清 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 与心源性脑卒中的关联性,及其作为诊断标志物的可行性。**方法** GEO 数据库整合分析筛选出可能的心源性脑卒中特异性 miRNA (hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297),通过孟德尔随机化与共定位分析验证两个 miRNA 对心源性脑卒中发病的危险作用,并对它们在 miRNA-mRNA 调控网络中的靶基因进行富集分析来寻找相关通路。纳入 2022 年 3 月—2023 年 1 月于成都市第三人民医院急诊科诊断新发缺血性脑卒中的患者共 103 例,其中心源性脑卒中 22 例(病例组),非心源性脑卒中 81 例(对照组)。采用实时荧光定量聚合酶链反应检测血清 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 的表达水平,多因素逻辑回归分析其与心源性脑卒中的相关性,采用 ROC 曲线评估预测价值。**结果** 孟德尔随机化分析提示遗传预测的循环血液中 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 表达增高分别使心源性脑卒中的发病风险增加 46% 和 70%。共定位分析提示循环血液中 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 的表达与心源性脑卒中存在共享遗传变异的概率分别为 95% 和 86%。病例组血清 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 表达水平显著高于对照组 ($P < 0.05$), hsa-miR3173-5p ($OR = 6.30, 95\% CI 1.79 \sim 22.14, P = 0.004$) 和 hsa-miR-4297 ($OR = 12.38, 95\% CI 1.97 \sim 77.72, P = 0.007$) 与心源性脑卒中有显著关联。hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 的 ROC 曲线下面积 (AUC) 分别为 0.705 和 0.624,将 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 联合心房颤动共同进行分析,其 AUC 为 0.842。**结论** hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 的表达水平与心源性脑卒中中具有密切关联,有望作为心源性脑卒中的诊断标志物。

【关键词】 心源性脑卒中;miRNA;诊断标志物

【DOI】10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2024.05.019

Serum hsa-miR3173-5p and hsa-miR-4297 as Diagnostic Markers of Cardiogenic Stroke

LIU Xuyang, SUN Yufang, TANG Shujie, XIANG Tao

(Department of Emergency, The Affiliated Hospital of Southwest Jiaotong University, The Third People's Hospital of Chengdu, Chengdu 610031, Sichuan, China)

【Abstract】Objective To explore the levels of serum hsa-miR3173-5p and hsa-miR-4297 and their feasibility as the diagnostic markers in cardiogenic stroke. **Methods** GEO database integration analysis screened out possible cardiogenic stroke-specific miRNAs (hsa-miR3173-5p and hsa-miR-4297), verified the risk role of the two miRNAs in the development of cardiogenic stroke by Mendelian randomization and colocalization analysis, and their target genes in the miRNA-mRNA regulatory network were enriched to search for related pathways. A total of 103 patients newly diagnosed with ischemic stroke in the emergency department from March 2022 to January 2023 were included, among which 22 cases were cardiogenic stroke (case group) and 81 were non-cardiogenic stroke (control group). The expression levels of serum hsa-miR3173-5p and hsa-miR-4297 were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction, and their correlation with cardiogenic stroke was analyzed by multivariable logistic regression. The predictive value was evaluated using the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** Mendelian randomization analysis suggested that genetically predicted increased expression of hsa-miR3173-5p and hsa-miR-4297 in circulating blood increased the risk of cardiogenic stroke by 46% and 70% respectively. Colocalization analysis suggested that the expression of hsa-miR3173-5p and hsa-miR-4297 in circulating blood has a 95% and 86% probability of shared genetic variation with cardiogenic stroke, respectively. The expression levels of serum hsa-miR3173-5p and hsa-miR-4297 in the case group were significantly higher than in the control group ($P < 0.05$), and hsa-miR3173-5p ($OR = 6.30, 95\% CI 1.79 \sim 22.14, P = 0.004$) and hsa-miR-4297 ($OR = 12.38, 95\% CI 1.97 \sim 77.72, P = 0.007$) were significantly associated with cardiogenic stroke. The area under the ROC curve (AUC) for hsa-miR3173-5p and hsa-miR-4297 were 0.705 and 0.624 respectively, and the AUC of the combined analysis of hsa-

基金项目:成都市卫健委科研课题(2021217)

通信作者:项涛, E-mail:1142752929@qq.com

miR3173-5p and hsa-miR-4297 with atrial fibrillation is 0.842. **Conclusion** The expression levels of hsa-miR3173-5p and hsa-miR-4297 are closely related to cardiogenic stroke, and are promising as diagnostic markers for cardiogenic stroke.

[Keywords] Cardiogenic stroke; miRNA; Diagnostic marker

脑卒中是全世界重大公共卫生问题,是第二位常见的死亡原因和第三位致残的主要疾病^[1],给社会和家庭造成极大负担。缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)占有脑卒中的 80% 以上^[2],目前国际广泛使用的 TOAST 病因学分型将 IS 分为 5 个亚型^[3]:大动脉粥样硬化(large-artery atherosclerosis, LAA)型、心源性栓塞(cardioembolic, CE)型、小动脉闭塞(small-artery occlusion lacunar, SAO)型、其他明确病因(stroke of other determined etiology, SOE)型和不明原因(stroke of other undetermined etiology, SUE)型,准确分型对临床决策和预后评估至关重要。其中 CE 型病情最重、死亡率最高、预后最差,约占 IS 总数的 20%^[4],早期诊断 CE 型脑卒中是 IS 救治的重点和难点之一。

miRNA 在不同疾病中起调控作用,稳定性好,易检测,具有作为疾病诊断标志物的广泛前景^[5]。本课题组前期基于生物信息学方法,筛选出可能与 CE 型脑卒中相关的特异性 miRNA(hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297),现拟研究 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 在急性 IS 患者中的表达水平,以期提高 CE 型脑卒中患者早期诊断率,为后续治疗方案的选择提供参考。

1 资料与方法

1.1 生物信息学方法

本课题组前期已经通过生物信息学方法对已发表与脑卒中相关的 miRNA 和 mRNA 高通量数据进行整合分析,运用多种工具、算法分析预测靶向 miRNA-mRNA 关系,然后用 Cytoscape 软件构建由 miRNA 和 mRNA 组成的生物信息调控网络。进一步通过孟德尔随机化与共定位分析验证了两个 miRNA 对 CE 型脑卒中发病的危险作用,通过预测 miRNA 的靶标 mRNA,并分析其功能通路来预测循环 miRNA 参与脑栓塞的分子机制。

1.2 研究对象

前瞻性纳入 2022 年 3 月—2023 年 1 月于成都市第三人民医院急诊科就诊并入院治疗的急性 IS 患者共 103 例,所有研究对象均在急诊科完成血液标本采集、病史记录和生命体征测量,并根据美国国立卫生研究院卒中量表(National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS)进行评分^[6],在住院期间完成血常规、血生化(包括心肌酶、脑钠肽)、动态心电图、心脏彩超、血管神经影像学/脑血管造影等检查。参考《心源性卒中诊断中国专家共识(2020)》^[7],由两名神经内科

主任医师共同对入组患者进行诊断和 TOAST 病因学分型,根据结果分为病例组(CE 型脑卒中)和对照组(非 CE 型脑卒中)。

纳入标准:(1)发病 72 h 以内,诊断标准参考《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018》^[8];(2)首次发病患者;(3)既往诊断脑卒中,无明显神经功能缺失,再发 IS 的患者。排除标准:(1)出血性脑卒中,包括脑梗死后出血的患者;(2)有神经系统、免疫系统疾病,近期使用免疫抑制剂、激素等药物的患者;(3)接受放化疗治疗的恶性肿瘤患者;(4)关键指标缺失的病例。

本研究已通过成都市第三人民医院伦理委员会批准(伦理审批号 2021-S-30),所有研究对象及家属均已签署同意书。

1.3 标本采集和 miRNA 检测

符合标准的患者,均在到达急诊科 1 h 内完成血液标本采集,采取梯度离心方法,放置于 -80°C 冰箱中冷冻保存,24 h 内行总 RNA 提取、纯化。miRNA 检测步骤如下:(1)血浆 miRNA 的提取;(2)血浆 miRNA 浓度及纯度的鉴定;(3)RNA Poly(A)加尾;(4)逆转录为 cDNA;(5)实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术检测目标 miRNA 相对表达;(6)PCR 数据的采集和处理;(7)血清 miRNA 表达量的数据处理方法为 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法。

1.4 统计学方法

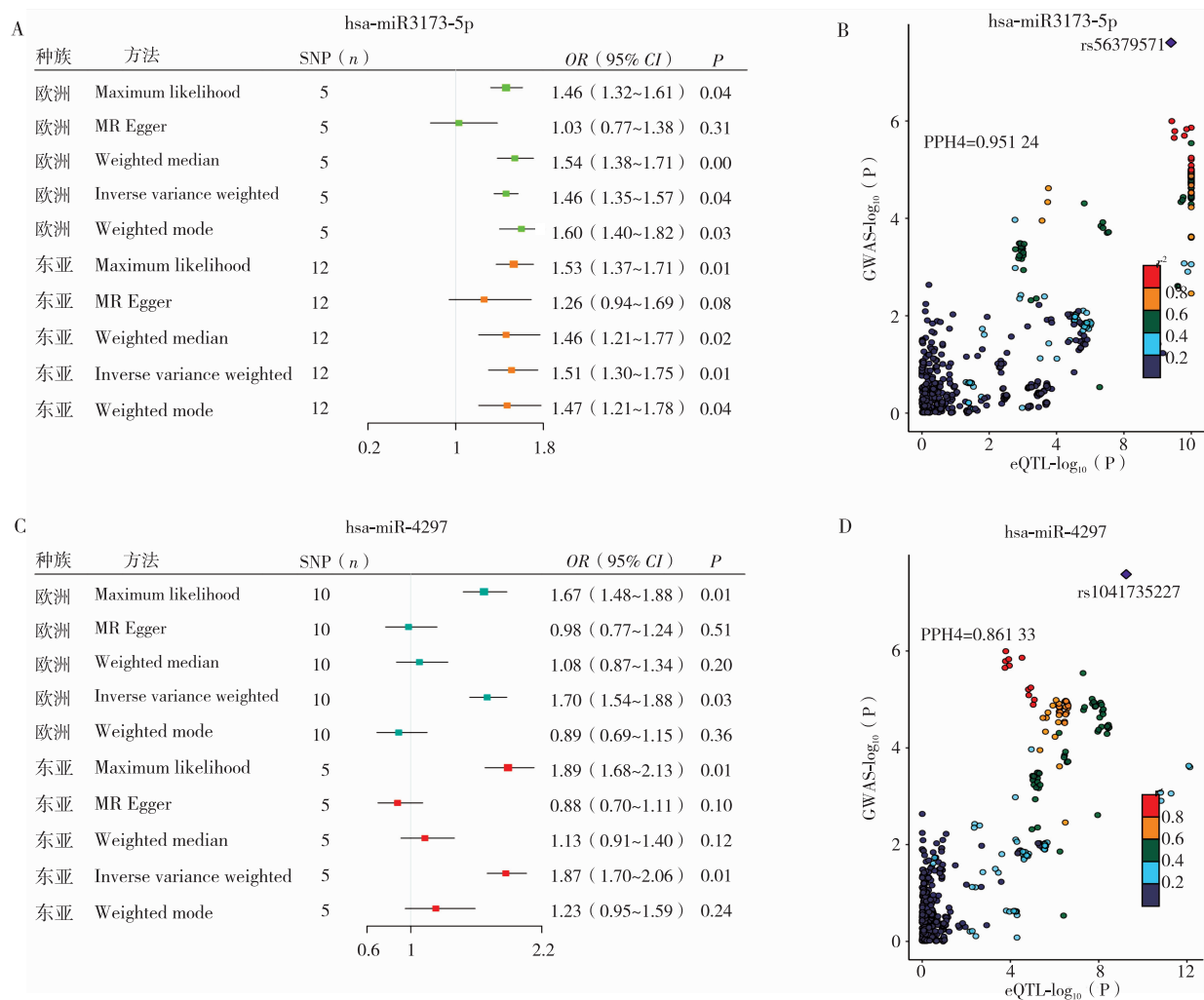
采用 R 4.2.2 软件和 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。满足正态分布和方差齐性的计量资料以均数 \pm 标准差表示,组间比较选择独立样本 t 检验;非正态分布的计量资料采用中位数(四分位数间距)表示,组间比较采用 Mann-Whitney U 检验。本研究多组比较中,各组数据均通过正态性和方差齐性检验,采用单因素方差分析。将单因素分析有意义的指标纳入多因素逻辑回归分析。用 ROC 曲线评估 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 对 CE 型脑卒中的预测价值,并计算曲线下面积(area under the curve, AUC),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 孟德尔随机化分析和共定位分析

基于 miRNA eQTL 数据的孟德尔随机化分析提示,遗传预测循环血液中的 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 表达增高,可使 CE 型脑卒中的发病风险分别增加 46% 和 70%(图 1A 和 1C)。共定位分析提示

循环血液中 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 的表达 和 86% (图 1B 和 1D)。
与 CE 型脑卒中存在共享遗传变异的概率分别为 95%



注:SNP,单核苷酸多态性;GWAS,全基因组关联分析。

图1 孟德尔随机化分析 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 与 CE 型脑卒中的发病风险及共定位分析

2.2 两组患者的一般情况

病例组的性别、年龄、血压、吸烟、饮酒、高血压、糖尿病、血常规、凝血、肝肾功能、血脂和对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。病例组中合并心房颤动

(房颤)10 例、合并冠心病 10 例,比例明显高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。病例组 NIHSS 评分高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 1。

表1 两组患者的一般资料

项目	对照组 (n = 81)	病例组 (n = 22)	$t/Z/\chi^2$	P
性别(男/女)	48/33	12/10	0.16	0.691
年龄/岁	72.28 ± 11.30	75.32 ± 11.57	-1.11	0.269
收缩压/mm Hg	153.64 ± 19.26	156.73 ± 27.08	-0.61	0.545
舒张压/mm Hg	82.30 ± 12.23	86.18 ± 12.22	-1.32	0.189
吸烟史/[n(%)]	33(40.74)	7(31.82)	0.58	0.446
饮酒史/[n(%)]	20(24.69)	3(13.64)	1.22	0.270
高血压/[n(%)]	46(56.79)	15(68.18)	0.93	0.335
糖尿病/[n(%)]	22(27.16)	7(31.82)	0.19	0.667
冠心病/[n(%)]	13(16.05)	10(45.45)	8.63	0.003
房颤/[n(%)]	10(12.35)	10(45.45)	12.12	<0.001

续表

项目	对照组($n=81$)	病例组($n=22$)	$t/Z/\chi^2$	P
红细胞/ $(\times 10^{12} \cdot L^{-1})$	4.61 ± 0.68	4.46 ± 0.62	0.88	0.382
白细胞/ $(\times 10^9 \cdot L^{-1})$	7.81 ± 2.54	7.27 ± 1.95	0.93	0.353
血小板/ $(\times 10^9 \cdot L^{-1})$	182(155 ~ 215)	180(137 ~ 261)	-0.09	0.929
凝血酶原时间/s	11.60(11.00 ~ 13.00)	12.45(11.70 ~ 13.03)	-1.52	0.128
部分活化凝血酶时间/s	29.40(27.30 ~ 35.15)	30.05(27.48 ~ 35.53)	-0.28	0.781
凝血酶时间/s	16.40(15.75 ~ 17.55)	16.65(15.80 ~ 17.70)	-0.77	0.442
纤维蛋白原/ $(mg \cdot dL^{-1})$	$3.47(2.93 \sim 3.95)$	$3.29(2.91 \sim 3.64)$	-0.78	0.435
肌酐/ $(\mu mol \cdot L^{-1})$	82.20(64.20 ~ 99.15)	73.05(61.38 ~ 86.08)	-1.56	0.118
尿素氮/ $(mmol \cdot L^{-1})$	$6.01(4.78 \sim 7.31)$	$5.65(4.41 \sim 7.34)$	-0.02	0.987
血糖/ $(mmol \cdot L^{-1})$	$6.29(5.02 \sim 9.58)$	$6.77(5.56 \sim 9.29)$	-0.36	0.717
白蛋白/ $(g \cdot L^{-1})$	37.30 ± 2.89	36.11 ± 3.28	1.67	0.098
谷丙转氨酶/ $(U \cdot L^{-1})$	15.90(11.15 ~ 21.65)	18.55(12.03 ~ 22.78)	-1.35	0.178
谷草转氨酶/ $(U \cdot L^{-1})$	20.20(16.95 ~ 24.70)	24.05(19.43 ~ 29.55)	-1.53	0.126
高密度脂蛋白胆固醇/ $(mmol \cdot L^{-1})$	1.22 ± 0.28	1.29 ± 0.31	-1.10	0.276
低密度脂蛋白胆固醇/ $(mmol \cdot L^{-1})$	2.95 ± 0.77	2.96 ± 1.04	-0.04	0.973
甘油三酯/ $(mmol \cdot L^{-1})$	$1.14(0.82 \sim 1.95)$	$1.31(0.81 \sim 2.01)$	-0.12	0.904
总胆固醇/ $(mmol \cdot L^{-1})$	4.87 ± 1.10	4.94 ± 1.43	-0.25	0.807
NIHSS 评分/分	6(4 ~ 12)	9(6 ~ 17)	-2.14	0.033

注:1 mm Hg=0.133 3 kPa。

2.3 两组患者 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 的表达水平

hsa-miR3173-5p 在病例组和对照组表达量分别为 1.44 ± 0.67 和 0.98 ± 0.56 , hsa-miR-4297 在病例组和对照组表达量分别为 0.94 ± 0.46 和 0.72 ± 0.39 。hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 在病例组的表达水平均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 表达水平

组别	n	hsa-miR3173-5p	hsa-miR-4297
对照组	81	0.98 ± 0.56	0.72 ± 0.39
病例组	22	1.44 ± 0.67	0.94 ± 0.46
t		-3.30	-2.21
P		0.001	0.030

2.4 对照组中不同 TOAST 分型患者的 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 表达水平

将对照组中患者根据 TOAST 病因学分型进行分组,由于本研究中 SOE 型无入组患者,故对照组患者分为 LAA 组、SAO 组、SUE 组。将 3 组患者 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 表达水平进行对比,差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

2.5 多因素逻辑回归分析

结合既往文献报告 CE 型脑卒中的危险因素^[7],以是否发生 IS 为因变量,将单因素分析中 $P < 0.05$ 的变量进行逻辑回归分析,结果显示房颤、hsa-miR3173-

5p 和 hsa-miR-4297 是 CE 型脑卒中发生的危险因素,见表 4。

表 3 对照组中不同 TOAST 分型组的 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 表达水平

组别	n	hsa-miR3173-5p	hsa-miR-4297
LAA 组	43	0.94 ± 0.57	0.70 ± 0.38
SAO 组	31	1.05 ± 0.56	0.74 ± 0.37
SUE 组	7	0.88 ± 0.60	0.76 ± 0.58
F		0.47	0.10
P		0.630	0.909

表 4 多因素逻辑回归分析

项目	OR	95% CI	P
冠心病	3.55	0.96 ~ 13.51	0.063
房颤	5.90	1.34 ~ 26.08	0.019
NIHSS 评分	1.08	0.97 ~ 1.20	0.174
hsa-miR3173-5p	6.30	1.79 ~ 22.14	0.004
hsa-miR-4297	12.38	1.97 ~ 77.72	0.007

2.6 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 作为 CE 型脑卒中诊断标志物可行性分析

采用 ROC 曲线的方法分别分析 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 作为 CE 型脑卒中分子标志物的可行性(图 2)。结果显示,hsa-miR3173-5p 的 AUC 为 0.705($P < 0.05$); hsa-miR-4297 的 AUC 为 0.624($P > 0.05$);将 hsa-miR3173-5p、hsa-miR-4297 和房颤进行联合分析, AUC 为 0.842($P < 0.05$),见表 5。

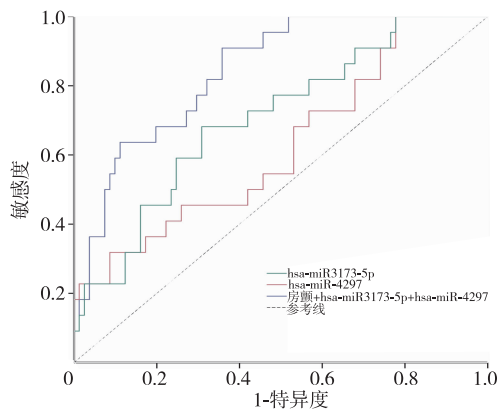


图2 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 联合房颤对 CE 型脑卒中预测值的 ROC 曲线

表5 miRNA 作为 CE 型脑卒中诊断标志物可行性分析

	AUC	95% CI	P
hsa-miR3173-5p	0.705	0.59 ~ 0.83	0.003
hsa-miR-4297	0.624	0.49 ~ 0.76	0.075
房颤 + hsa-miR3173-5p + hsa-miR-4297	0.842	0.76 ~ 0.92	<0.001

2.7 脑卒中患者发病相关 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 及靶基因的生物学功能

利用 miRDB 和 TargetScan Human 等数据库预测了两个未被研究的 miRNA (hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297) 的靶基因(564 和 833 个),见图 3。对靶基

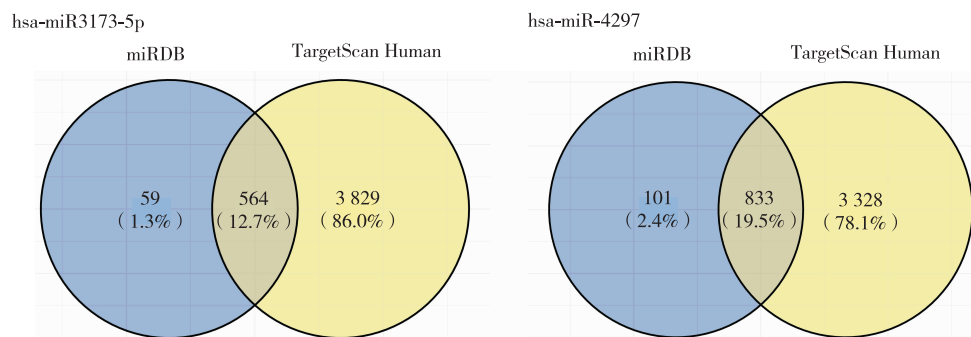


图3 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 的靶基因预测

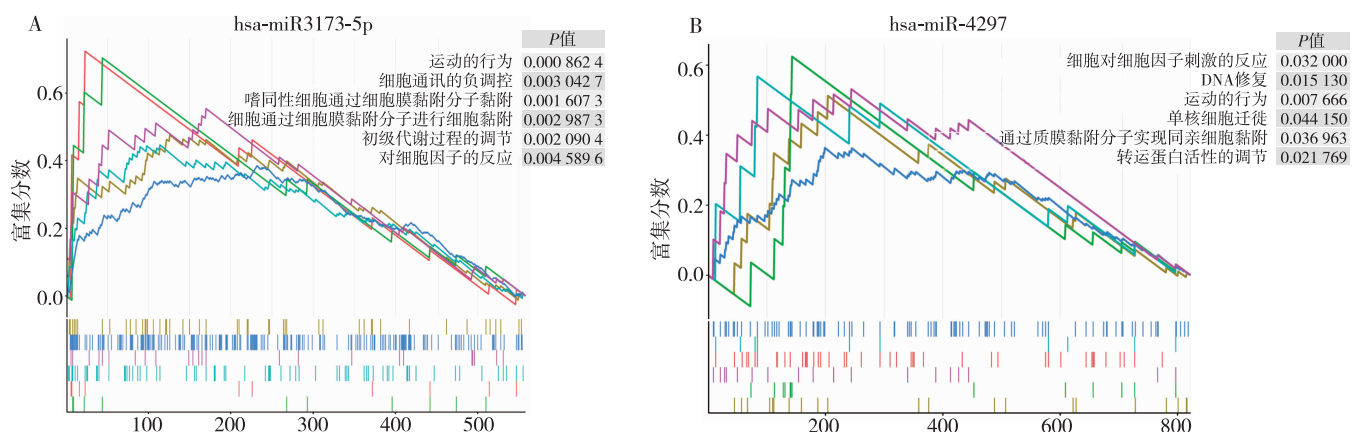


图4 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 的靶基因富集分析

因的富集分析提示,hsa-miR3173-5p 的靶基因主要富集在“嗜同性细胞通过细胞膜黏附分子黏附、运动的行为、细胞通过细胞膜黏附分子进行细胞黏附、对细胞因子的反应”等细胞黏附和细胞因子相关通路(图 4A)。而 hsa-miR-4297 的靶基因主要富集在“通过质膜黏附分子实现同亲细胞黏附、运动的行为、单核细胞迁徙、细胞对细胞因子刺激的反应”等细胞黏附、细胞迁移和细胞因子相关通路(图 4B)。

3 讨论

由心脏和主动脉弓的栓子引起的脑栓塞称为 CE 型脑卒中,相较于其他类型,CE 型脑卒中病因复杂、病情严重^[8-10],且发病率在急性 IS 患者中不断升高^[11]。对其确诊分型主要依赖于病史及心电图、心脏超声、磁共振成像、脑血管造影等辅助检查寻找病因学证据^[11],但在实际工作中,部分检查需提前预约,且存在费用偏高的情况,完成度不尽人意,导致了患者早期 TOAST 分型准确度较差^[11-12]。国内外研究者尝试寻找 CE 型脑卒中的预测指标,其中脑钠肽和 N 末端脑钠肽前体被证实有一定预测价值^[13],但其主要适用于心力衰竭患者的评估,对 CE 型脑卒中诊断特异性低。寻找合适的 CE 型脑卒中诊断标志物,有利于更高效、准确地筛选出 CE 型脑卒中患者,从而实现制定系统化、个体化的诊疗策略和选择最佳的二级预防措施^[11]。

miRNA 具备调控作用,有着稳定性好、容易检测的优点,是良好的疾病诊断标志物^[14]。已有相关研究^[15-16]证实,miRNA 在大脑不同种类细胞中具有很高的表达水平,可作为生物标志物来区分脑卒中亚型。有研究^[17-18]发现,在出血性脑卒中患者血浆中,miR-124-3p 水平高于 IS 患者,而 miR-16 水平低于 IS 患者;Li 等^[19]发现 115 个 miRNA 在 IS 中差异表达;Modak 等^[20]发现,与健康对照组相比,在 CE 型脑卒中患者中观察到 14 个 miRNA 的显著差异表达。因此,本研究选择 miRNA 作为研究对象来预测 CE 型脑卒中。目前,微阵列和转录组测序技术(RNA-seq)已被广泛用于测量转录物、发现异常表达基因和识别新的生物标志物,并采用生物信息学方法处理这些数据。GEO 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)为全球研究者提供了微阵列和 RNA-seq 数据。本研究前期利用 GEO 数据库,通过生物信息学方法对已发表脑栓塞相关的 miRNA 和 mRNA 高通量数据进行整合分析并进一步全面检索中英文文献,发现 7 个 miRNA 有相关文献报道(hsa-let-7b-5p、hsa-miR-3148、hsa-miR-185-5p、hsa-miR-32-3p、hsa-miR-133b、hsa-miR-940 和 hsa-miR-1237-3p),涉及肿瘤、神经系统疾病、呼吸系统疾病等多种疾病,但是 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 两个 miRNA 截至目前(2022.02.03)没有任何文献报道。本研究基于 miRNA eQTL 数据的孟德尔随机化分析提示遗传预测的循环血液中 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 表达增高分别使 CE 型脑卒中的发病风险增加 46% 和 70%,共定位分析提示循环血液中 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 的表达与 CE 型脑卒中存在共享遗传变异的概率分别为 95% 和 86%。因此推测它们可能与 CE 型脑卒中有关,而在 miRNA-mRNA 调控网络中的靶基因富集分析提示,其很有可能通过“嗜同性细胞通过细胞膜黏附分子黏附、运动的行为、细胞通过细胞膜黏附分子进行细胞黏附、对细胞因子的反应”等细胞黏附和细胞因子相关通路导致 CE 型脑卒中。

本研究中,CE 型脑卒中患者外周血 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 表达水平明显高于对照组,将对照组进行亚组分析,发现 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 表达水平在 LAA 组、SAO 组和 SUE 组中无明显差异,因此考虑 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 可能在 CE 型脑卒中特异性表达。纳入患者的各临床指标,单因素分析显示冠心病、房颤、NIHSS 评分、hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 是 CE 型脑卒中的危险因素,进一步行多因素逻辑回归分析,房颤、hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 仍与 CE 型脑卒中显著相

关。分别将 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 进行 ROC 曲线分析,结果显示 hsa-miR3173-5p 的 AUC 为 0.705,具有一定的准确度,而 hsa-miR-4297 的 AUC 为 0.624($P > 0.05$),单独作为诊断标志物的效能较差。房颤是 CE 型脑卒中的独立危险因素^[7],并且由于血液中 miRNA 具有相关性,不同 miRNA 进行疾病预测具有联合作用^[21],因此将房颤、hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 进行联合分析,发现其具有较好的准确度(AUC 为 0.842),且差异有统计学意义。因此,本研究推测 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 的表达水平升高可能与 CE 型脑卒中发病风险增加有关,后续期待纳入更多的样本量来评估预测价值。

研究发现,在患胶质瘤的女性患者中,miR-4297 与平均血小板体积呈正相关^[22],血小板与血管炎症反应、血栓形成、动脉硬化密切相关^[23]。本研究中 hsa-miR-4297 表达水平与血小板数量呈正相关,考虑 hsa-miR-4297 可能在血小板的合成代谢过程中起了一定作用。进一步对 hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 的靶基因进行蛋白质相互作用网络分析提示,hsa-miR3173-5p 靶基因的 hub 基因主要是 STAT3、HTT、AP2B1,而 hsa-miR-4297 靶基因的 hub 基因主要是 PRKACB、MED1、AKT2、CAMK2A、PTEN 等。本研究是国内外首个关于特异性血清 miRNA 作为 CE 型脑卒中诊断标志物的研究,相关 miRNA 及其具体调控方式还缺乏报告,其靶基因与 CE 型脑卒中的具体机制尚需更深入的探索。

综上所述,hsa-miR3173-5p 和 hsa-miR-4297 与 CE 型脑卒中密切相关,联合分析时具有较好的预测性,有望成为 CE 型脑卒中的诊断标志物。对其具体靶基因调节机制、不同时间点的表达水平变化、早期干预是否有利于患者预后等问题,有待进一步研究。

参考文献

- [1] GBD 2016 DALYs and HALE Collaborators. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 333 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE) for 195 countries and territories, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. *Lancet*, 2017, 390(10100):1260-1344.
- [2] Wu S, Wu B, Liu M, et al. Stroke in China: advances and challenges in epidemiology, prevention, and management [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(4): 394-405.
- [3] Wolf ME, Sauer T, Alonso A, et al. Comparison of the new ASCO classification with the TOAST classification in a population with acute ischemic stroke [J]. *J Neurol*, 2012, 259(7):1284-1289.
- [4] O'Carroll CB, Barrett KM. Cardioembolic stroke [J]. *Continuum (Minneapolis)*, 2017, 23(1, Cerebrovascular Disease):111-132.
- [5] Yu L, Zheng Y, Ju B, et al. Research progress of miRNA-disease association prediction and comparison of related algorithms [J]. *Brief Bioinform*, 2022, 23(3):bbac066.

(下转封三)

- [7] Appari M, Breitbart A, Brandes F, et al. C1q-TNF-related protein-9 promotes cardiac hypertrophy and failure[J]. *Circ Res*, 2017, 120(1):66-77.
- [8] Seldin MM, Wong GW. Regulation of tissue crosstalk by skeletal muscle-derived myonectin and other myokines[J]. *Adipocyte*, 2012, 1(4):200-202.
- [9] Schäffler A, Buechler C. CTRP family: linking immunity to metabolism[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2012, 23(4):194-204.
- [10] Fang H, Judd L. Adiponectin regulation and function[J]. *Compr Physiol*, 2018, 8(3):1031-1063.
- [11] Khoramipour K, Chamari K, Hekmatikar AA, et al. Adiponectin: structure, physiological functions, role in diseases, and effects of nutrition[J]. *Nutrients*, 2021, 13(4):1180.
- [12] Lei X, Wong GW. C1q/TNF-related protein 2 (CTRP2) deletion promotes adipose tissue lipolysis and hepatic triglyceride secretion[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(43):15638-15649.
- [13] Yan Z, Cao X, Wang C, et al. C1q/tumor necrosis factor-related protein-3 improves microvascular endothelial function in diabetes through the AMPK/eNOS/NO[•] signaling pathway[J]. *Biochem Pharmacol*, 2022, 195:114745.
- [14] Lu L, Zhang RY, Wang XQ, et al. C1q/TNF-related protein-1: an adipokine marking and promoting atherosclerosis[J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(22):1762-1771.
- [15] Chen Z, Xue Q, Cao L, et al. Toll-like receptor 4 mediated oxidized low-density lipoprotein-induced foam cell formation in vascular smooth muscle cells via Src and Sirt1/3 pathway[J]. *Mediators Inflamm*, 2021, 2021:6639252.
- [16] Li L, Aslam M, Siegler BH, et al. Comparative analysis of CTRP-mediated effects on cardiomyocyte glucose metabolism: cross talk between AMPK and Akt signaling pathway[J]. *Cells*, 2021, 10(4):905.

收稿日期:2023-06-19

(上接第 475 页)

- [6] Kwah LK, Diong J. National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) [J]. *J Physiother*, 2014, 60(1):61.
- [7] 中华医学会老年医学分会老年神经病学组, 心源性卒中诊断中国专家共识撰写组. 心源性卒中诊断中国专家共识 (2020) [J]. *中华老年医学杂志*, 2020, 39(12):1369-1378.
- [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. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018 [J]. *中华神经科杂志*, 2018, 51(9):666-682.
- [9] Bjerkreim AT, Khanevski AN, Thomassen L, et al. Five-year readmission and mortality differ by ischemic stroke subtype[J]. *J Neurol Sci*, 2019, 403:31-37.
- [10] Kelley RE, Kelley BP. Heart-brain relationship in stroke[J]. *Biomedicines*, 2021, 9(12):1835.
- [11] Fan ZX, Liu RX, Liu GZ. Development and refinement of diagnostic and therapeutic strategies for managing patients with cardiogenic stroke: an arduous journey[J]. *World J Clin Cases*, 2023, 11(4):719-724.
- [12] Bogiatzi C, Hackam DG, McLeod AI, et al. Secular trends in ischemic stroke subtypes and stroke risk factors[J]. *Stroke*, 2014, 45(11):3208-3213.
- [13] Wu Z, Zhao M, He M, et al. Validation of the use of B-type natriuretic peptide point-of-care test platform in preliminary recognition of cardioembolic stroke patients in the ED[J]. *Am J Emerg Med*, 2015, 33(4):521-526.
- [14] Zeng X, Zhang X, Zou Q. Integrative approaches for predicting microRNA function and prioritizing disease-related microRNA using biological interaction networks[J]. *Brief Bioinform*, 2016, 17(2):193-203.
- [15] Vidigal JA, Ventura A. The biological functions of miRNAs: lessons from in vivo studies[J]. *Trends Cell Biol*, 2015, 25(3):137-147.
- [16] Martins M, Rosa A, Guedes LC, et al. Convergence of miRNA expression profiling, α -synuclein interactome and GWAS in Parkinson's disease[J]. *PLoS One*, 2011, 6(10):e25443.
- [17] Leung LY, Chan CP, Leung YK, et al. Comparison of miR-124-3p and miR-16 for early diagnosis of hemorrhagic and ischemic stroke[J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 433:139-144.
- [18] Martinez B, Peplow PV. Blood microRNAs as potential diagnostic markers for hemorrhagic stroke[J]. *Neural Regen Res*, 2017, 12(1):13-18.
- [19] Li P, Teng F, Gao F, et al. Identification of circulating microRNAs as potential biomarkers for detecting acute ischemic stroke[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2015, 35(3):433-447.
- [20] Modak JM, Roy-O'Reilly M, Zhu L, et al. Differential microRNA expression in cardioembolic stroke[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28(1):121-124.
- [21] Zampetaki A, Willeit P, Tilling L, et al. Prospective study on circulating microRNAs and risk of myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 60(4):290-299.
- [22] Xu W, Huang L, Xie B, et al. Serum microRNA-4297 is a sex-specific predictive biomarker of glioma grade and prognosis[J]. *Front Neurol*, 2022, 13:888221.
- [23] Poredos P. Interrelationship between venous and arterial thrombosis[J]. *Int Angiol*, 2017, 36(4):295-298.

收稿日期:2023-07-06