

论著·临床研究

血清 miR-497 联合 TLR4 及 Lp-PLA2 在缺血性脑卒中诊断及预后中的相关性研究

罗南友, 陈明友

(隆昌市人民医院检验科, 四川内江 642150)

摘要:目的 探究血清微小 RNA-497 (miR-497)联合 Toll-样受体 4 (TLR4)及脂蛋白相关磷脂酶 A2 (Lp-PLA2)在缺血性脑卒中 (IS)诊断及预后中的价值。方法 收集 2016 年 6 月到 2017 年 12 月该院确诊的 IS 患者 160 例作为 IS 组,选出血性脑卒中患者 80 例作为出血性脑卒中组,同期收集在该院体检健康人群 160 例作为健康对照组。采用实时荧光定量 PCR (qPCR)法检测血清 miR-497 表达量;采用酶联免疫吸附法 (ELISA)检测血清 TLR4 与 Lp-PLA2 水平并从患者入院开始对纳入的 160 例 IS 患者进行 6 个月的随访。结果 与出血性脑卒中组和健康对照组相比,IS 组患者血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平显著升高,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。IS 患者血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平与 IS 患者 NIHSS 评分呈正相关 (miR-497: $r = 0.545$, $P = 0.001$; TLR4: $r = 0.538$, $P = 0.002$; Lp-PLA2: $r = 0.566$, $P = 0.001$)。联合血清 miR-497、TLR4 和 Lp-PLA2 时,区分 IS 组与出血性脑卒中组和健康对照组的曲线下面积 (AUC) 为 0.975 (95%CI: 0.932~0.998, $P < 0.05$),灵敏度为 94.2%,特异度为 74.3%。生存分析显示,相比低 miR-497 组,高 miR-497 组患者的生存时间显著缩短 ($\chi^2 = 8.405$, $P = 0.004$);相比低 TLR4 组,高 TLR4 组患者的生存时间显著缩短 ($\chi^2 = 5.171$, $P = 0.023$);相比低 Lp-PLA2 组,高 Lp-PLA2 组患者的生存时间显著缩短 ($\chi^2 = 11.417$, $P = 0.001$)。Cox 比例回归模型分析结果提示,高 miR-497、高 TLR4、高 Lp-PLA2 和高血压等因素均是提高 IS 患者死亡风险的重要因素。结论 血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 对 IS 具有潜在的诊断及预后价值。

关键词:缺血性脑卒中; 微小 RNA; 脂蛋白相关磷脂酶 A2; Toll-样受体 4

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.19.018 **中图法分类号:**R743.3

文章编号:1673-4130(2019)19-2376-06

文献标识码:A

Serum miR-497 combined with TLR4 and Lp-PLA2 in diagnosis and prognosis of ischemic stroke

LUO Nanyou, CHEN Mingyou

(Department of Clinical Laboratory, Longchang People's Hospital, Neijiang, Sichuan 642150, China)

Abstract: Objective To explore the value of serum microRNA-497 (miR-497) combined with Toll-like receptor 4 (TLR4) and lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2) in the diagnosis and prognosis of ischemic stroke (IS). **Methods** 160 patients with IS diagnosed in our hospital from June 2016 to December 2017 were selected as IS group, 80 patients with hemorrhagic stroke were selected as hemorrhagic stroke group, and 160 healthy people were collected as healthy control group during the same period. Real-time fluorescence quantitative PCR (RT-PCR) was used to detect serum miR-497, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the levels of TLR4 and Lp-PLA2. 160 IS patients were followed up for 6 months from admission. **Results** Compared with the hemorrhagic stroke group and the healthy control group, the levels of serum miR-497, TLR4 and Lp-PLA2 in IS group were significantly higher, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Serum levels of miR-497, TLR4 and Lp-PLA2 in IS patients were positively correlated with NIHSS score (miR-497: $r = 0.545$, $P = 0.001$; TLR4: $r = 0.538$, $P = 0.002$; Lp-PLA2: $r = 0.566$, $P = 0.001$). When the serum miR-497, TLR4 and Lp-PLA2 were combined, the area under the curve (AUC) to distinguish between IS group and hemorrhagic stroke group and healthy control group was 0.975 (95%CI: 0.932-0.998, $P < 0.05$), the sensitivity was 94.2%, and the specificity was 74.3%. Survival analysis showed that compared with the low miR-497 group, the high miR-497 group had significantly shorter survival time ($\chi^2 = 8.405$, $P = 0.004$), compared with the low TLR4 group, the high TLR4 group had

作者简介:罗南友,男,副主任技师,主要从事肿瘤标志物的临床意义研究。

本文引用格式:罗南友,陈明友.血清 miR-497 联合 TLR4 及 Lp-PLA2 在缺血性脑卒中诊断及预后中的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2019,40(19):2376-2381.

significantly shorter survival time ($\chi^2=5.171, P=0.023$), compared with the low Lp-PLA2 group, the high Lp-PLA2 group had significantly shorter survival time ($\chi^2=11.417, P=0.001$). Cox proportional regression model analysis showed that high miR-497, high TLR4, high Lp-PLA2 and hypertension were all important factors to increase the risk of death in IS patients. **Conclusion** Serum miR-497, TLR4 and Lp-PLA2 have potential diagnostic and prognostic value for IS.

Key words: ischemic stroke; microRNA; lipoprotein-associated phospholipase A2; Toll-like receptor 4

缺血性脑卒中(IS)是脑卒中中最为常见的一类,占60%~70%^[1-2]。近年来,微小RNA与心血管病之间关系的研究逐渐增多。其中,微小RNA-497(miR-497)被证实能够通过促进血管内皮细胞凋亡、炎症和血管生成等过程的调控在IS病变中发挥作用^[3]。Toll样受体4(TLR4)是参与机体天然免疫的重要炎症分子,其可以诱导促炎症基因、炎性细胞因子等的表达,并在血管内皮炎症损害中发挥作用^[4]。脂蛋白相关磷脂酶A2(Lp-PLA2)同样具有血管特异性的炎症标志物,已被证实是心血管疾病的危险因素^[5]。本研究通过比较IS患者、出血性脑卒与健康人群血清miR-497、TLR4及Lp-PLA2水平,旨在探究三者对IS的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院2016年6月到2017年12月确诊的IS患者160例作为IS组,其中男103例,女57例,平均年龄为(60.2±6.1)岁。IS患者均符合《中国急性缺血性脑卒中诊治指南(2014)》^[6]中的诊断标准,均为首次发病且经计算机断层扫描(CT)或核磁共振成像(MRI)检查证实。所有患者于入院后依据国立卫生院卒中量表(NIHSS)进行评分^[7]。选出血性脑卒中患者80例作为出血性脑卒中组,其中男47例,女33例,平均年龄为(57.8±6.3)岁。出血性脑卒中患者均符合《中国脑梗死中西医结合诊治指南(2017)》^[8]中的诊断标准。同期纳入前来本院体检中心体检的健康者160例作为健康对照组,其中男99例,女61例,平均年龄为(58.9±5.6)岁。排除标准:(1)既往有其他心脑血管疾病史者;(2)排除老年痴呆等神经系统疾病导致的无法采集相关信息和精神分裂症的患者;(3)急性或慢性感染或炎症性疾病。从患者入院开始对纳入的160例IS患者进行6个月的电话随访。本研究的开展经医院伦理委员会批准。

1.2 样本例数计算 诊断试验样本例数计算公式为 $n=(\mu_a^2/\delta)^2(1-P)P$,其中 α 定为0.05,则 μ_a 为1.96; δ 一般定在0.10; P 值的确定: $P_{\text{灵敏度}}=90\%$ 。将 $\mu_a=1.96, \delta=0.10, P_{\text{灵敏度}}=90\%$ 代入公式计算后可得病例数 $n \approx 133$ 例,即本研究需要至少133例患者。本次研究共纳入160例患者,符合统计学要求。

1.3 临床资料与样本采集 由研究人员对研究对象的年龄、性别、体质量指数(BMI)、吸烟史、饮酒史、高

血压、糖尿病、高胆固醇血症(空腹胆固醇大于240 mg/dL)等基本资料进行采集,BMI计算公式为:体质量(kg)/身高²(m²)。采用促凝采血管采集IS患者、出血性脑卒中患者(入院48 h内采集)与健康体检者外周静脉血2 mL,并于2 h内分离血清后放置于-80℃冰箱保存备检测。

1.4 血清TLR4及Lp-PLA2水平检测 采用酶联免疫吸附法检测每组对象血清TLR4和Lp-PLA2水平。步骤为加样后室温孵育40 min,洗板5次,在避光条件下加入酶标记的单抗室温孵育40 min,再洗板5次,加入底物反应15 min后终止反应,于DNM-9606酶标分析仪(北京普朗新技术有限公司)上检测吸光值(A)。TLR4及Lp-PLA2检测试剂盒分别由武汉天一辉远生物科技有限公司和上海超研生物科技有限公司提供。同时计算血清TLR4及Lp-PLA2批内和批间变异系数(CV),以评估实验的重复性和精确度。CV计算方法为标准差(s)与均值(\bar{x})的比值。

1.5 血清miR-497表达水平检测 按照血清RNA提取试剂盒说明书步骤进行总RNA提取。取上述提取的RNA,使用去除基因组逆转录试剂盒逆转录为cDNA,进行实时荧光定量PCR(qPCR),仪器为CFX96(美国Bio-Rad公司)。RT-PCR按照SYBR GREEN说明书进行,反应体系为:Mix 10 μ L,上下游引物各0.8 μ L,cDNA 2 μ L,DEPC水6.4 μ L。qPCR循环条件:95℃变性5 min;95℃ 30 s,60℃ 30 s,72℃ 30 s,45个循环,每组设置3个复孔。使用的miR-497与甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)引物序列见表1。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算miR-497的相对表达量。

表1 miR-497和GAPDH的引物序列

RNA	引物序列(5'-3')	大小(bp)
miR-497 上游	ACA ACC AAC ATA GAA A	21
miR-497 下游	ATT TCC AAC AGA CAT T	20
GAPDH 上游	AGA AGG CTG GGG CTC ATT TG	119
GAPDH 下游	GCA GGA GGC ATT GCT GAT GAT	120

1.6 统计学处理 采用SPSS20.0软件进行统计学分析。正态分布数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间两两比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析。相关性分析采用Spearman检验。受试者工作特征曲线(ROC曲

线)分析计算 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平判别 IS 的曲线下面积(AUC)及其 95%置信区间(95% CI)。采用 Kaplan-Meier 法进行生存曲线分析,应用对数秩检验计算生存曲线间的统计学差异,并使用 Cox 比例回归模型分析潜在影响因素。检验水准为

$\alpha=0.05, P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 研究对象基本信息比较 3 组间在年龄、性别、吸烟史、饮酒史、高血压、糖尿病、高胆固醇血症和 BMI 比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 研究对象基本信息比较

组别	n	年龄 (岁, $\bar{x}\pm s$)	男性 [n(%)]	吸烟史 [n(%)]	饮酒史 [n(%)]	高血压史 [n(%)]	糖尿病史 [n(%)]	高胆固醇血症 [n(%)]	BMI ($\text{kg}/\text{m}^2, \bar{x}\pm s$)	NIHSS (分, $\bar{x}\pm s$)
IS 组	160	60.2±6.1	97(60.6)	88(55.0)	96(60.0)	79(49.4)	52(32.5)	43(26.9)	25.1±2.1	9.4±2.6
出血性脑卒中组	80	57.8±6.3	47(58.8)	43(53.8)	45(56.3)	41(51.3)	22(27.5)	23(28.8)	24.9±1.7	—
健康对照组	160	58.9±5.6	99(61.9)	83(51.9)	97(60.6)	75(46.9)	47(29.4)	46(28.8)	24.7±1.5	—
χ^2/F		1.432	0.220	0.317	0.451	0.450	0.729	0.167	1.669	—
P		0.387	0.896	0.854	0.798	0.798	0.695	0.920	0.533	—

注:—表示无数据

2.2 3 组研究对象血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平比较 血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 检测的批内 CV 值分别为 2.4%、2.9%和 2.2%,批间 CV 值分别为 2.6%、3.7%和 2.8%,均小于 5.0%,提示实验结果具有良好的重复性和精确度。与出血性脑卒中组和健康对照组相比,IS 组患者血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平显著升高,差异均具有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

0.001; TLR4: $r = 0.538, P = 0.002$; Lp-PLA2: $r = 0.566, P = 0.001$ 呈正相关,见表 4。

表 3 各组研究对象血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	miR-497	Lp-PLA2 ($\mu\text{g}/\text{L}$)	TLR4 (mIU/mL)
IS 组	160	31.4±2.1*#	331.7±36.8*#	43.5±3.5*#
出血性脑卒中组	80	6.7±1.3	146.8±22.4	16.3±1.9
健康对照组	160	6.3±1.0	141.6±19.3	15.8±1.6
F		7.876	6.569	4.676
P		<0.05	<0.05	<0.05

注:与出血性脑卒中组相比,* $P<0.05$;与健康对照组相比,# $P<0.05$

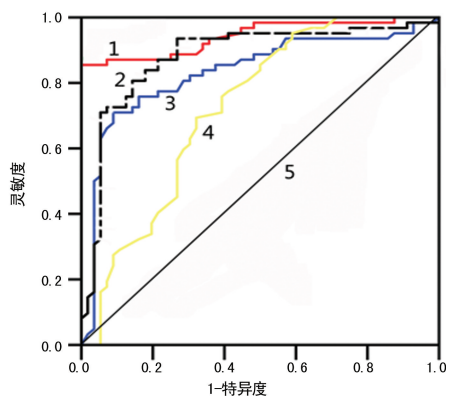
2.3 血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平与 IS 临床特征间的关系 血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平与 IS 患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、高血压、糖尿病、高胆固醇血症和 BMI 等因素均无相关性($P>0.05$),血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平与 IS 患者 NIHSS 评分(miR-497: $r = 0.545, P =$

表 4 血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平与 IS 临床特征的关系($n=160$)

指标	n	miR-497 ($\bar{x}\pm s$)	t_1	P_1	Lp-PLA2 ($\mu\text{g}/\text{L}, \bar{x}\pm s$)	t_2	P_2	TLR4 (mIU/mL, $\bar{x}\pm s$)	t_3	P_3
性别			1.345	0.322		1.565	0.322		1.582	0.336
男	97	31.6±2.1			333.5±32.1			43.9±4.1		
女	63	31.1±2.0			328.9±32.0			42.9±4.0		
r_1		0.103			0.121			0.053		
P_4		0.638			0.573			0.932		
年龄(岁)			1.016	0.894		1.056	0.894		1.743	0.768
<60	84	31.5±1.9			332.5±31.9			43.7±3.9		
≥60	76	31.3±2.0			330.8±32.0			43.3±4.0		
r_2		0.114			0.071			0.092		
P_5		0.592			0.883			0.817		
BMI(kg/m^2)			-1.903	0.192		-1.931	0.192		-1.378	0.135
<24.0	71	31.0±1.7			331.0±31.7			43.0±3.7		
≥24.0	89	31.7±2.3			332.3±32.3			43.9±4.3		

续表 4 血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平与 IS 临床特征的关系 (n=160)

指标	n	miR-497 ($\bar{x} \pm s$)	t_1	P_1	Lp-PLA2 ($\mu\text{g/L}, \bar{x} \pm s$)	t_2	P_2	TLR4 (mIU/mL, $\bar{x} \pm s$)	t_3	P_3
r_3		0.203			0.218			0.247		
P_6		0.531			0.497			0.464		
吸烟史			-1.754	0.723		-1.721	0.723		-1.368	0.347
无	72	31.1±1.9			331.1±31.9			43.1±3.9		
有	88	31.6±2.1			332.2±32.1			43.8±4.1		
r_4		0.169			0.175			0.185		
P_7		0.505			0.469			0.417		
饮酒史			1.372	0.563		1.331	0.563		1.002	0.996
无	64	31.5±2.0			332.5±32.0			43.5±4.0		
有	96	31.3±1.8			331.2±31.8			43.5±3.8		
r_5		0.133			0.129			0.116		
P_8		0.609			0.588			0.684		
高血压史			2.104	0.129		2.146	0.129		2.276	0.132
无	81	32.1±2.0			332.1±32.0			44.1±4.0		
有	79	30.7±1.7			331.3±31.7			42.9±3.7		
r_6		0.152			0.105			0.175		
P_9		0.589			0.866			0.448		
糖尿病史			2.009	0.304		2.063	0.212		1.342	0.500
无	108	31.6±1.8			332.6±32.2			44.1±3.2		
有	52	31.0±2.0			329.8±31.8			42.3±3.8		
r_7		0.203			0.216			0.238		
P_{10}		0.301			0.298			0.165		
高胆固醇史			-2.284	0.177		-2.071	0.183		-1.754	0.197
无	117	31.1±1.8			330.5±31.9			42.9±3.9		
有	43	32.2±2.3			335.0±32.2			45.1±3.2		
r_8		0.198			0.184			0.127		
P_{11}		0.107			0.366			0.774		
NIHSS 评分(分)			-2.945	0.004		-2.971	0.003		-3.037	0.002
≤5	45	30.2±1.9			324.5±31.9			42.0±3.9		
>5	115	31.9±2.2			334.5±32.2			44.1±4.2		
r_9		0.545			0.566			0.538		
P_{12}		0.001			0.001			0.002		



注:1 表示联合检测;2 表示 miR-497;3 表示 Lp-PLA2;4 表示 TLR4;5 表示参考线

图 1 各指标单一检测及并联检测鉴别 IS 的 ROC 曲线分析

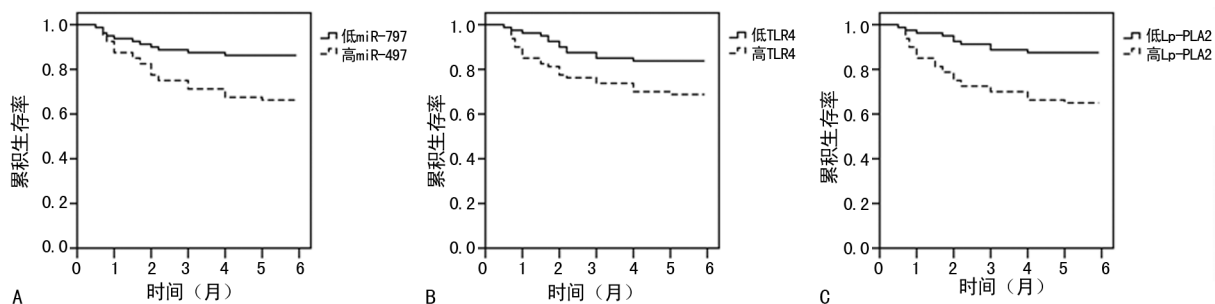
2.4 血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 鉴别 IS 的

ROC 曲线分析 血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 区分 IS 组患者与出血性脑卒中组和健康对照组的 AUC 分别为: 0.904 (95% CI: 0.833 ~ 0.977, $P < 0.05$)、0.764 (95% CI: 0.688 ~ 0.887, $P < 0.05$) 和 0.844 (95% CI: 0.800 ~ 0.929, $P < 0.05$); 对应的灵敏度及特异度分别为 78.3%、94.8%、77.0%、78.5% 和 70.8%、92.8%; 对应的临界值分别为 16.6、32.2 mIU/mL 和 214.5 $\mu\text{g/L}$ 。当联合血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 时, 3 种指标在区分 IS 组与出血性脑卒中组和健康对照组的 AUC 为 0.975 (95% CI: 0.932 ~ 0.998, $P < 0.05$), 灵敏度为 94.2%, 特异度为 74.3%, 见图 1。

2.5 血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平对 IS 患者的生存分析和 Cox 比例回归模型分析 截至随访完成, 160 例 IS 患者中死亡 38 例, 无患者失访。IS 患

者依据 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平的中位数 [miR-497: 30.8 (-log); TLR4: 318.6 μg/L; Lp-PLA2: 40.1 mIU/mL] 分别被分为高 miR-497 与低 miR-497 组、高 TLR4 与低 TLR4 组和高 Lp-PLA2 与低 Lp-PLA2 组。相比低 miR-497 组, 高 miR-497 组患者的生存时间显著缩短 ($\chi^2 = 8.405, P = 0.004$), 见图 2A; 相比低 TLR4 组, 高 TLR4 组患者的生存时间显著缩短 ($\chi^2 = 5.171, P = 0.023$), 见图 2B; 相比低 Lp-

PLA2 组, 高 Lp-PLA2 组患者的生存时间显著缩短 ($\chi^2 = 11.417, P = 0.001$), 见图 2C。Cox 比例回归模型分析结果提示, 高 miR-497、高 TLR4、高 Lp-PLA2 和高血压等因素均是提高 IS 患者死亡风险的重要因素; 而年龄、性别、吸烟史、饮酒史、糖尿病、高胆固醇血症和 BMI 等因素不能显著提高 IS 患者死亡风险, 见表 5。



注: A 为高 miR-497 与低 miR-497 组; B 为高 TLR4 与低 TLR4 组; C 为高 Lp-PLA2 与低 Lp-PLA2 组

图 2 血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 水平与 IS 患者的生存分析

表 5 影响 IS 患者生存的 Cox 比例回归模型分析

因素	偏回归系数	标准误	Wald	P	RR	95%CI	
						上限	下限
miR-497	2.10	0.84	11.63	<0.05	1.76	1.28	3.53
TLR4	1.53	0.65	9.45	<0.05	1.06	1.01	1.12
Lp-PLA2	1.77	0.72	7.56	<0.05	1.20	1.11	1.89
高血压	1.69	0.48	8.12	<0.05	1.05	1.04	2.07
年龄	0.32	0.55	0.44	>0.05	1.02	0.92	1.31
性别	0.65	0.81	0.57	>0.05	0.96	0.74	2.17
吸烟史	0.36	0.73	0.82	>0.05	1.06	0.76	1.89
饮酒史	0.35	0.52	0.48	>0.05	1.04	0.87	1.20
糖尿病	0.44	0.56	0.72	>0.05	0.99	0.82	1.36
高胆固醇血症	0.40	0.61	0.77	>0.05	1.01	0.92	1.22
BMI	0.48	0.65	0.73	>0.05	0.99	0.82	1.37

3 讨论

近年来, 越来越多的证据表明 miR-497 和心肌梗死、视网膜病炎症病变等关系密切^[9-10]。LI^[10] 发现 miR-497 表达水平的增高可以促进微血管炎症反应等的发生, 而降低 miR-497 的表达可提高视觉功能并能降低糖尿病诱导的促炎症蛋白的表达, 从而减轻视网膜血管的损伤。进一步的研究证实, miR-497 可以通过调节细胞内 p53 的水平发挥细胞毒性功能, 进而促进炎症因子磷脂酶 A2-IVA 的作用, 提高磷脂酶 A2-IVA 的表达水平, 促进炎症因子的释放^[3]。血管内皮细胞炎症导致的动脉粥样斑块形成是 IS 的重要病理基础, 本研究通过临床样本检测出 IS 患者高水

平血清 miR-497 的表达, 且与患者 NIHSS 评分呈正相关 ($r = 0.545, P = 0.001$), 与前期的基础研究结果相一致^[3,9-10]。这些研究表明, IS 患者血清中 miR-497 水平的增高可能参与了机体的炎症反应。

Lp-PLA2 又称血小板活化因子乙酰水解酶, 主要由成熟的巨噬细胞和淋巴细胞进行合成和分泌, 是磷脂酶超家族的一员。Lp-PLA2 能够有效使血小板活化因子水解和丧失活性, 同时可以水解氧化卵磷脂并促进并介导炎症反应, 导致血管内皮细胞损伤, 引起大量的单核细胞浸润, 继而增强粥样硬化的形成和降低粥样硬化斑块的稳定性^[11-12]。本研究结果表明, 与健康对照组相比, IS 患者血清 Lp-PLA2 水平显著上升, 且与 NIHSS 评分相关。主要是因为患者出现 IS 后, Lp-PLA2 参与了动脉粥样硬化的主要形成过程, 脑梗死后脑脊液中 Lp-PLA2 的通过血脑屏障进入血清, 导致血清 Lp-PLA2 水平升高。此外, 脑梗死可导致急性脑水肿, 颅内压增高, 通过神经内分泌紊乱机制使肾功能异常, 血管紧张素和抗利尿激素分泌增加, 肾小球滤过率降低, 血液中 Lp-PLA2 清除率降低, 是造成血清 Lp-PLA2 水平增高的另一个重要原因。

TLR4 是参与机体天然免疫的重要炎症分子, 同时他也是连接天然免疫与特异性免疫的重要物质。目前已经发现 TLR4 可以诱导机体产生 IL-12、IL-8、IL-23 等可溶性细胞因子, 这些细胞因子可促进 T 辅助细胞参与机体的细胞核体液免疫应答^[13]。此外, TLR4 还可以诱导促炎症基因、炎症细胞因子等的表

达,并在血管内皮炎症损害中发挥作用^[14]。血管内皮细胞炎症与氧化应激是动脉粥样斑块形成重要的发生基础。早前报道也指出,IS 患者体内血管内皮细胞处于高炎症状态。本研究通过临床样本检测出 IS 患者高水平血清 TLR4 的表达,与前期的基础研究结果相呼应^[13-14]。

ROC 曲线分析显示,血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 区分 IS 组与出血性脑卒中组和健康对照组时具有一定的价值,当联合 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 等指标时在区分 IS 组患者与出血性脑卒中组和健康对照组的灵敏度达到 94.2%,提示联合上述 3 种标志物具有较高的临床应用价值。进一步的生存分析也提示,高 miR-497、高 TLR4 与高 Lp-PLA2 水平患者的预后较低水平者更差,Cox 比例回归模型分析结果提示,高 miR-497、高 TLR4、高 Lp-PLA2 和高血压等因素均是提高 IS 患者死亡风险的重要因素。上述研究提示,血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 在 IS 诊断及预后警示中具有重要临床价值。然而,本研究仍有如下不足:(1)本研究纳入 160 例 IS 患者,病例数仍然有限,后期需要更大样本量的研究来证实血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 在我国 IS 患者中的临床价值;(2)本研究中采用的 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 多个指标的联合模型虽然较各单独指标有较高的临床价值,但该模型的应用仍有待进一步的验证。

4 结 论

本研究发现血清 miR-497、TLR4 及 Lp-PLA2 对 IS 具有潜在的诊断及预后价值,联合应用这 3 个指标有望成为 IS 临床诊疗的途径。

参考文献

[1] YOUNG L H, VISCOLI C M, SCHWARTZ G G, et al. Heart failure after ischemic stroke or transient ischemic attack in Insulin-Resistant patients without diabetes mellitus treated with pioglitazone[J]. *Circulation*, 2018, 138(12):1210-1220.

[2] 任占云, 汤武装, 樊垚, 等. 超敏 C-反应蛋白与缺血性脑卒中发病的前瞻性队列研究[J]. *中华疾病控制杂志*, 2018, 22(1):29-32.

[3] SINOY S, FAYAZ S M, CHARLES K D, et al. Amikacin inhibits miR-497 maturation and exerts post-ischemic neuroprotection[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(5):3683-3694.

[4] 赵启晖, 李刚, 李梅, 等. 益生菌干预对患坏死性小肠结肠

炎早产儿胃肠激素,炎症介质及 Toll 样受体 4 表达水平的影响分析[J]. *标记免疫分析与临床*, 2017, 24(10):1154-1158.

- [5] TIBUAKUU M, KIANOUSH S, DEFILIPPIS A P, et al. Usefulness of lipoprotein-associated phospholipase a2 activity and c-reactive protein in identifying high-risk smokers for atherosclerotic cardiovascular disease (from the atherosclerosis risk in communities study)[J]. *Am J Cardiol*, 2018, 121(9):1056-1064.
- [6] 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 2014[J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(4):246-257.
- [7] KWAH L K, DIONG J. National institutes of health stroke scale (NIHSS)[J]. *J Physiother*, 2014, 60(1):61.
- [8] 高长玉, 吴成翰, 赵建国, 等. 中国脑梗死中西医结合诊治指南(2017)[J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(2):136-144.
- [9] LI X X, ZENG Z, LI Q M, et al. Inhibition of microRNA-497 ameliorates anoxia/reoxygenation injury in cardiomyocytes by suppressing cell apoptosis and enhancing autophagy[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(22):18829-18844.
- [10] LI X J. Long non-coding RNA nuclear paraspeckle assembly transcript 1 inhibits the apoptosis of retina Müller cells after diabetic retinopathy through regulating miR-497/brain-derived neurotrophic factor axis[J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2018, 15(3):204-213.
- [11] 闫秋月, 赵连利, 崔宁宁, 等. 血 Lp-PLA2, Hcy, UA 水平与血脂正常脑梗死患者的相关性分析[J]. *标记免疫分析与临床*, 2017, 24(11):1289-1292.
- [12] SAIRAM S G, SOLA S, BAROOAH A, et al. The role of Lp-PLA2 and biochemistry parameters as potential biomarkers of coronary artery disease in Asian South-Indians: a case-control study[J]. *Cardiovasc Diagn Ther*, 2017, 7(6):589-597.
- [13] MML A, RUOCCO J F, FERREIRA F, et al. Toll-Like receptor 4 and NLRP3 caspase 1-Interleukin-1 β -Axis are not involved in colon ascendens stent peritonitis-associated heart disease[J]. *Shock*, 2018, 50(4):483-492.
- [14] LI H M, WANG X, XU A L. Effect of paclitaxel plus hirudin on the TLR4-MyD88 signaling pathway during inflammatory activation of human coronary artery smooth muscle cells and mechanistic analysis[J]. *Cellular Physiol Bioche*, 2018, 50(4):1301-1317.

(收稿日期:2019-02-25 修回日期:2019-06-28)