

·临床研究 Clinical research·

颈动脉支架植入术后血清长链非编码 RNA 结直肠肿瘤
差异表达基因水平及临床意义

李 爽, 王建民, 胡沛霖

【摘要】 目的 探讨颈动脉支架植入术后血清长链非编码 RNA(LncRNA)结直肠肿瘤差异表达基因(CRNDE)水平及临床意义。**方法** 选取 2018 年 1 月至 2019 年 6 月在邢台市人民医院接受颈动脉支架植入术治疗的 173 例颈动脉狭窄性急性缺血性脑卒中(AIS)患者作为研究对象。采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR)法检测患者血清 LncRNA CRNDE 相对表达量,并分析其与预后的关系。**结果** 173 例颈动脉狭窄性 AIS 患者支架植入术后预后不良发生率为 39.88%(69/173)。预后不良组患者血清 LncRNA CRNDE 相对表达量为 $(1.35\pm 0.34)\%$,显著高于预后良好组 $[(0.93\pm 0.19)\%]$ ($P<0.001$)。Logistic 回归分析显示,出血转化、脑卒中病灶数、LncRNA CRNDE 与颈动脉狭窄性 AIS 患者预后关系密切。模型 B(出血转化+脑卒中病灶数+LncRNA CRNDE)评估颈动脉狭窄性 AIS 患者预后的效能,高于 LncRNA CRNDE、模型 A(出血转化+脑卒中病灶数)($Z=2.603, P=0.009; Z=2.945, P=0.003$)。**结论** LncRNA CRNDE 与颈动脉狭窄性 AIS 患者支架植入术后预后关系密切,检测血清 LncRNA CRNDE 表达有助于评估患者预后。

【关键词】 颈动脉支架植入术;长链非编码 RNA 结直肠肿瘤差异表达基因;预后
中图分类号:R743.34 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2021)-07-0707-04

Serum long-chain non-coding RNA colorectal tumor differentially expressed level after carotid artery stenting and its clinical significance LI Shuang, WANG Jianmin, HU Peilin. Division I, Department of Neurology, Xingtai Municipal People's Hospital, Xingtai, Hebei Province 054000, China

Corresponding author: LI Shuang, E-mail: h789645@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the serum long-chain non-coding RNA colorectal tumor differentially expressed(LncRNA CRNDE) level after carotid artery stenting, and to discuss its clinical significance. **Methods** A total of 173 acute ischemic stroke(AIS) patients with carotid stenosis, who received carotid stent implantation in the Xingtai Municipal People's Hospital of China between January 2018 and June 2019, were selected as the study subjects. Real-time fluorescence quantitative PCR(RT-qPCR) was used to detect the relative expression of serum LncRNA CRNDE in patients with carotid stenosis AIS, and its relationship with prognosis was analyzed. **Results** The incidence of poor prognosis in 173 patients with carotid stenosis AIS after stent implantation was 39.88%(69/173). The relative expression of serum LncRNA CRNDE in the poor prognosis group was $(1.35\pm 0.34)\%$, which was significantly higher than $(0.93\pm 0.19)\%$ in the good prognosis group($P<0.001$). Logistic regression analysis showed that hemorrhagic transformation, number of stroke lesions and serum LncRNA CRNDE level were closely related to the prognosis of patients with carotid stenosis AIS. The efficacy of model B (hemorrhagic transformation + number of stroke lesions + LncRNA CRNDE) in evaluating the prognosis of patients with carotid stenosis AIS was better than LncRNA CRNDE and model A (hemorrhagic transformation + number of stroke lesions), the differences were statistically significant ($Z=2.603, P=0.009$ and $Z=2.945, P=0.003$ respectively). **Conclusion** Serum LncRNA CRNDE expression level carries a close relationship to the prognosis of patients with carotid stenosis AIS after receiving carotid artery stenting. The detection of serum LncRNA CRNDE expression is helpful for assessing the prognosis of patients. (J Intervent Radiol, 2021, 30: 707-710)

【Key words】 carotid stent implantation; long-chain non-coding RNA differential gene expression in colorectal cancer; prognosis

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2021.07.014

作者单位: 054000 河北 邢台市人民医院神经内科一科

通信作者: 李 爽 E-mail: h789645@126.com

急性缺血性脑卒中 (acute ischemic stroke, AIS) 患者中约 20% 与颈动脉狭窄有关^[1-2], 常引起头晕目眩, 严重时甚至导致神经功能损伤和脑组织死亡^[3-4]。常见因素有高血压、糖尿病等慢性疾病, 造成脂质在颈动脉堆积, 进而引发炎症反应, 促使颈动脉内膜增厚, 管腔变窄^[5]。药物治疗和颈动脉内膜切除术为临床主要治疗手段, 然而颈动脉内膜切除术创伤大、术后并发症多, 不适用于老年 AIS 患者^[6]。颈动脉支架植入术微创, 在改善颈动脉狭窄性 AIS 患者脑组织灌注量方面取得较好疗效^[7-8], 但术后仍有部分患者出现再次脑卒中或死亡^[9]。早期评估术后患者预后情况并对危险因素进行干预是改善预后的重要手段。虽然目前部分血清学标志物如中性粒细胞与淋巴细胞比值及尿酸等, 已用于预测 AIS 患者预后, 但特异度较差, 预测能力有限^[10-11]。血管平滑肌细胞 (VSMC) 异常增殖、迁移可引起颈动脉内膜变厚、管腔变窄, 导致 AIS 发生发展^[12]。细胞实验表明, 长链非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 结直肠癌肿瘤差异表达基因 (colorectal neoplasia differentially expressed, CRNDE) 敲除可抑制血小板衍生生长因子- β 诱导的 VSMC 增殖和迁移^[13]。然而, 有关 LncRNA CRNDE 在颈动脉狭窄性 AIS 中表达及其与预后的关系有待进一步研究。本研究旨在探讨颈动脉支架植入术后血清 LncRNA CRNDE 水平及其意义, 以期临床评估患者预后提供帮助。

1 材料与方法

1.1 一般资料

前瞻性选取 2018 年 1 月至 2019 年 6 月在邢台市人民医院接受颈动脉支架植入术治疗的 173 例颈动脉狭窄性 AIS 患者作为研究对象。AIS 诊断依据《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014》^[14] 标准。患者入组标准: ①符合 AIS 诊断标准且 DSA 检查证实单侧或双侧颈动脉狭窄程度 $\geq 70\%$; ②凝血功能正常; ③无阿司匹林和氯吡格雷禁忌证; ④年龄 > 18 周岁; ⑤接受早期溶栓治疗; ⑥签署知情同意书。排除标准: ①严重心、肝、肾、肺功能障碍; ②伴发颅内动脉瘤或动脉畸形、动静脉瘘等不能同时处理; ③既往接受颅脑手术或颈动脉内膜切除术; ④颈动脉钙化严重。173 例患者中男 105 例, 女 68 例; 年龄 39~78 岁, 平均 (64.8 \pm 7.6) 岁。本研究获邢台市人民医院医学伦理委员会批准 (临床审 2018-070)。

收集患者性别、年龄、饮酒史、吸烟史、基础疾

病 (高血压、糖尿病、高脂血症、冠心病)、脑卒中分布及脑卒中病灶数等资料。

1.2 血清学指标检测

抽取患者术后 24 h 空腹外周静脉血 10 mL, 室温下 4 000 r/min 离心 15 min, 分离上层血清, 置于 -80°C 冰箱。采用实时荧光定量聚合酶链反应 (RT-qPCR) 法检测血清 LncRNA CRNDE 相对表达量。TRIzol 试剂提取血清中总 RNA, 将 2 μg 总 RNA 添加至 20 μL 反应液中, 采用 TIANScript RT 试剂盒逆转录合成 cDNA, PCR 扩增。反应条件为 95°C 5 min, 95°C 45 s, 60°C 45 s, 72°C 45 s, 45 个循环。LncRNA CRNDE 正向: 5'-GUGCUCGAGUGGUUUA AAUTT-3', 反向: 5'-AUUUAACACUCGAGCA CTT-3'; 内参 β -肌动蛋白 (actin) 正向: 5'-GCUUA UCAGACUGAUUGA-3', 反向: 5'-GTCAGTCGCT TGGGCTGT-3'。2- $\Delta\Delta\text{Ct}$ 表示 LncRNA CRNDE 相对表达量。

1.3 随访

采用电话或门诊等方式随访, 复查患者出院后 90 d 内预后情况。采用改良 Rankin 量表 (mRS) 评分评估患者预后, mRS 评分 < 3 分为预后良好, ≥ 3 分为预后不良。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据分析。服从正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 两组间比较用独立样本 t 检验。计数资料以例或率 [$n(\%)$] 表示, 用卡方检验。Logistic 回归法分析影响颈动脉狭窄性 AIS 患者预后的相关因素。多因素 logistic 回归法建立模型 A [出血转化+脑卒中病灶数评估患者预后 ($F=-1.435+0.468\times$ 出血转化 $+0.374\times$ 脑卒中病灶数)、模型 B [出血转化+脑卒中病灶数+LncRNA CRNDE 评估患者预后 ($F=-8.454+0.828\times$ 出血转化 $-0.415\times$ 脑卒中病灶数 $+6.606\times$ LncRNA CRNDE)。受试者工作特征曲线 (ROC) 分析 LncRNA CRNDE、模型 A、模型 B 评估患者预后的价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

173 例颈动脉狭窄性 AIS 患者支架植入术后预后不良发生率为 39.88% (69/173), 其中死亡 2 例 (1.16%), 重度残疾 14 例 (8.09%), 中重度残疾 20 例 (11.56%), 中度残疾 33 例 (19.08%)。预后不良组和预后良好组间患者年龄、性别、体质量指数、颈动脉扭曲、高脂血症、高血压、饮酒史、糖尿病、吸烟

史、冠心病、发病部位比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);出血转化、脑卒中病灶数、同型半胱氨酸比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。预后不良组患者血清 LncRNA CRNDE 相对表达量为 $(1.35\pm0.34)\%$,高于预后良好组 $[(0.93\pm0.19)\%]$,差异有显著统计学意义($t=10.395, P<0.001$)。

表 1 两组基线资料比较

| 参数 | 预后不良组 (n=69) | 预后良好组 (n=104) | χ^2 值 | P 值 |
|----------------------------|-----------------|------------------|------------|--------|
| 年龄/岁 | 65.13±7.48 | 64.55±7.83 | | 0.628 |
| 性别/n(%) | | | 0.357 | 0.550 |
| 男 | 40(57.97) | 65(62.50) | | |
| 女 | 29(42.03) | 39(37.50) | | |
| 体质量指数/(kg/m ²) | 25.72±3.54 | 25.08±3.36 | 1.201 | 0.232 |
| 高血压/n(%) | 24(34.78) | 29(27.88) | 0.929 | 0.335 |
| 糖尿病/n(%) | 20(28.99) | 27(25.23) | 0.192 | 0.662 |
| 高脂血症/n(%) | 19(27.54) | 24(23.08) | 0.442 | 0.506 |
| 吸烟史/n(%) | 25(36.23) | 30(28.85) | 1.043 | 0.307 |
| 饮酒史/n(%) | 16(23.19) | 21(20.19) | 0.221 | 0.638 |
| 冠心病/n(%) | 15(21.74) | 16(15.38) | 1.139 | 0.286 |
| 颈动脉扭曲/n(%) | 13(18.84) | 11(10.58) | 2.371 | 0.124 |
| 发病部位/n(%) | | | 0.166 | 0.684 |
| 前循环 | 41(59.42) | 65(62.50) | | |
| 后循环 | 28(40.58) | 39(37.50) | | |
| 出血转化/n(%) | | | 4.872 | 0.027 |
| 是 | 14(20.29) | 9(8.65) | | |
| 否 | 55(79.71) | 95(91.35) | | |
| 脑卒中病灶数/n(%) | | | 5.191 | 0.023 |
| 单发 | 24(34.78) | 54(50.47) | | |
| 多发 | 45(63.22) | 49(49.53) | | |
| 同型半胱氨酸/(ng/mL) | 10.48±2.67 | 8.02±2.10 | 6.761 | <0.001 |

将出血转化(无=0,有=1)、脑卒中病灶数(单发=0,多发=1)、同型半胱氨酸、LncRNA CRNDE 作为自变量($\alpha_{入}=0.05, \alpha_{出}=0.1$),颈动脉狭窄性 AIS 患者预后情况(预后良好=0,预后不良=1)作为因变量纳入 logistic 回归分析,结果显示出血转化、脑卒中病灶数、LncRNA CRNDE 与颈动脉狭窄性 AIS 患者预后关系密切,见表 2; LncRNA CRNDE 与模型 A 评估 AIS 患者预后的 ROC 曲线下面积(AUC)差异无统计学意义($Z=1.043, P=0.297$),模型 B 评估颈动脉狭窄性 AIS 患者预后的效能高于 LncRNA CRNDE 和模型 A($Z=2.603, P=0.009; Z=2.945, P=0.003$),见表 3、图 1。

表 2 影响颈动脉狭窄性 AIS 患者支架植入术后预后的因素

| 变量参数 | 系数值 | 标准误 | 卡方值 | P 值 | OR | 95%CI |
|--------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------------|
| 出血转化 | 0.407 | 0.187 | 4.832 | 0.032 | 1.526 | 1.055~2.199 |
| 脑卒中病灶数 | 0.466 | 0.185 | 6.168 | 0.004 | 1.629 | 1.173~2.597 |
| 同型半胱氨酸 | 0.369 | 0.185 | 3.825 | 0.079 | 1.264 | 0.752~2.104 |
| LncRNA CRNDE | 0.427 | 0.186 | 5.306 | 0.018 | 1.570 | 1.084~2.315 |

表 3 LncRNA CRNDE、模型 A 及模型 B 评估颈动脉狭窄性 AIS 患者预后的效能

| 参数 | AUC | 95%CI | 灵敏度/% | 特异度/% | 最佳截断点 |
|--------------|-------|-------------|-------|-------|-------|
| LncRNA CRNDE | 0.850 | 0.787~0.900 | 80.00 | 83.46 | 1.10 |
| 模型 A | 0.793 | 0.725~0.851 | 86.67 | 66.93 | 0.19 |
| 模型 B | 0.933 | 0.884~0.965 | 86.67 | 96.85 | 0.48 |

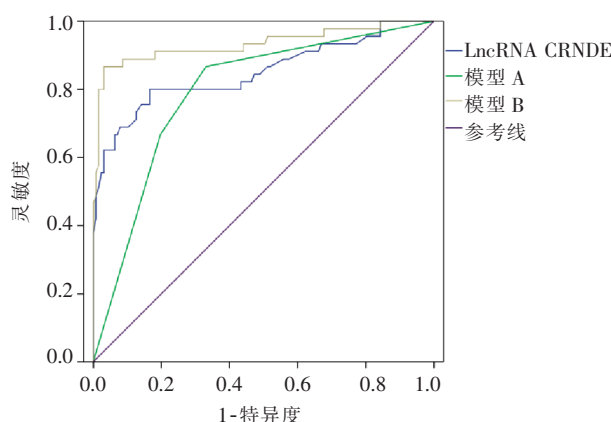


图 1 LncRNA CRNDE、模型 A 及模型 B 评估颈动脉狭窄性 AIS 患者预后 ROC 曲线

3 讨论

LncRNA 是主要存在于核内的一类新型非编码 RNA^[15]。已有研究证实多种 LncRNA 参与 AIS 发生发展过程^[16-17]。LncRNA CRNDE 在结直肠癌患者中差异表达,可调控染色质表观遗传,并具有调节组蛋白甲基化/非甲基化状态的作用,已在多种癌组织和癌细胞中发现其异常表达^[18-19]。近来相关研究显示,LncRNA CRNDE 在大鼠动脉球囊损伤后表达升高,并调节 VSMC 增殖、迁移和表型变化,而 VSMC 异常表达与颈动脉狭窄导致的 AIS 关系密切^[13]。有关 LncRNA CRNDE 在颈动脉狭窄性 AIS 中表达及其与预后的关系有待进一步研究。

本研究在随访支架植入术后颈动脉狭窄性 AIS 患者预后情况中,比较不同预后患者血清 LncRNA CRNDE 相对表达量,结果发现预后不良组患者 LncRNA CRNDE 相对表达量高于预后良好组,表明 LncRNA CRNDE 可能与患者支架植入术后预后存在联系。为进一步明确血清 LncRNA CRNDE 与颈动脉狭窄性 AIS 患者预后的关系,通过 logistic 多因素分析影响患者预后的因素,结果显示出血转化、脑卒中病灶数与颈动脉狭窄性 AIS 患者预后关系密切,与既往研究相符^[20-21]。此外,本研究还发现 LncRNA CRNDE 与颈动脉狭窄性 AIS 患者预后关系密切。

VSMC 异常增殖、迁移可造成颈动脉狭窄并引起 AIS^[11]。VSMC 是血管壁重要组成部分,主要在动脉血管中膜形成,具有构成血管壁组织结构和维持

血管张力的作用^[22]。VSMC 有收缩型和合成型两种表型,正常情况下以收缩型存在,受到外界刺激后转化为合成型并分泌细胞基质金属蛋白酶、骨保护素及碱性磷酸酶等细胞因子,促进 VSMC 增殖、迁移,导致血管壁增厚、管腔狭窄,促进动脉粥样硬化发展^[23]。动脉粥样硬化早期 VSMC 凋亡减少,导致血管内膜和中膜动脉血管中 VSMC 大量聚集,进而引起动脉粥样硬化性血管重构,加剧动脉粥样硬化发展^[24]。基础研究表明,LncRNA CRNDE 可抑制 VSMC 增殖、迁移,且 LncRNA CRNDE 基因敲除后可逆转 VSMC 表型改变^[13]。因此本研究推测 LncRNA CRNDE 可能通过调节 VSMC 增殖、迁移参与颈动脉狭窄性 AIS 疾病进程。

本研究同时通过血清 LncRNA CRNDE、模型 A 及模型 B 评估颈动脉狭窄性 AIS 患者预后的 ROC 曲线,结果发现模型 B 评估患者预后的效能高于 LncRNA CRNDE 及模型 A,表明增加 LncRNA CRNDE 有助于评估患者预后。

综上所述,LncRNA CRNDE 与颈动脉狭窄性 AIS 患者支架植入术后预后关系密切,检测血清 LncRNA CRNDE 表达有助于评估患者预后。本研究下一步将动态检测血清 LncRNA CRNDE 表达情况进行基础研究,分析 LncRNA CRNDE 影响颈动脉狭窄性 AIS 患者支架植入术后预后的病理生理机制。

[参 考 文 献]

- [1] 江 薇,翁艳秋,王晓燕,等. 救护模式对缩短缺血性脑卒中就诊至动脉穿刺时间的效果评价[J]. 介入放射学杂志, 2018, 27: 89-91.
- [2] Chang CS, Su SL, Kuo CL, et al. Cyclophilin a: a predictive biomarker of carotid stenosis in cerebral ischemic stroke[J]. Curr Neurovasc Res, 2018, 15: 111-119.
- [3] Yang X, Lu J, Wang J, et al. A clinical study and meta-analysis of carotid stenosis with coexistent intracranial aneurysms[J]. J Clin Neurosci, 2018, 52: 41-49.
- [4] Wangqin R, Krafft PR, Piper K, et al. Management of de novo carotid stenosis and postintervention restenosis - carotid endarterectomy; versus carotid artery stenting; a review of literature[J]. Transl Stroke Res, 2019, 10: 460-474.
- [5] Jolobe OMP. Mitigation of stroke risk in nonvalvular atrial fibrillation patients with high - grade carotid artery stenosis[J]. Am J Med Sci, 2018, 356: 578-579.
- [6] Yang L, Liu J, Qi G, et al. The middle-term outcome of carotid endarterectomy and stenting for treatment of ischemic stroke in Chinese patients[J]. Sci Rep, 2018, 8: 4697.
- [7] Lin CM, Liu CK, Chang YJ, et al. Reversed ophthalmic artery flow following ischemic stroke: a possible predictor of outcomes following carotid artery stenting[J]. Neurol Res, 2019, 41: 132-138.
- [8] Dong Y, Chao L, Li D, et al. Enterprise stent for symptomatic complex intracranial atherosclerotic stenosis: safety and efficiency[J]. J Intervent Med, 2018, 1: 234-239.
- [9] 颜进项,孟 雷,钟良君,等. 支架技术在急性缺血性卒中合并颅内动脉狭窄中的应用[J]. 中华神经外科杂志, 2018, 34: 45-49.
- [10] 翟萌萌,王建平,余 列,等. 中性粒细胞与淋巴细胞比值对急性脑梗死患者预后的预测价值[J]. 中国脑血管病杂志, 2017, 14: 82-86.
- [11] 陈 欢,卓文燕,朱培培,等. 25-羟基维生素 D 联合尿酸对缺血性脑卒中严重程度及早期预后的评估价值[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2017, 20: 3-7.
- [12] 徐 磊. 白藜芦醇抗动脉粥样硬化机制研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2018, 35: 566-568.
- [13] Zhou Y, He X, Liu R, et al. LncRNA CRNDE regulates the proliferation and migration of vascular smooth muscle cells[J]. J Cell Physiol, 2019, 234: 1-10.
- [14] 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: 246-257.
- [15] Chen F, Zhang L, Wang E, et al. LncRNA GAS5 regulates ischemic stroke as a competing endogenous RNA for miR-137 to regulate the Notch1 signaling pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 496: 184-190.
- [16] Zhang L, Luo X, Chen F, et al. LncRNA SNHG1 regulates cerebrovascular pathologies as a competing endogenous RNA through HIF-1 α /VEGF signaling in ischemic stroke[J]. J Cell Biochem, 2018, 119: 5460-5472.
- [17] Yang J, Gu L, Guo X, et al. LncRNA ANRIL expression and ANRIL gene polymorphisms contribute to the risk of ischemic stroke in the Chinese Han population[J]. Cell Mol Neurobiol, 2018, 38: 1253-1269.
- [18] Sun H, He L, Ma L, et al. LncRNA CRNDE promotes cell proliferation, invasion and migration by competitively binding miR-384 in papillary thyroid cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8: 110552-110565.
- [19] Chen Z, Yu C, Zhan L, et al. LncRNA CRNDE promotes hepatic carcinoma cell proliferation, migration and invasion by suppressing miR-384[J]. Am J Cancer Res, 2016, 6: 2299-2309.
- [20] Wei W, Li S, San F, et al. Retrospective analysis of prognosis and risk factors of patients with stroke by TOAST[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97: e0412.
- [21] Xie D, Xiang W, Weng Y, et al. Platelet volume indices for the prognosis of acute ischemic stroke patients with intravenous thrombolysis[J]. Int J Neurosci, 2019, 129: 344-349.
- [22] Espitia O, Chatelais M, Steenman M, et al. Implication of molecular vascular smooth muscle cell heterogeneity among arterial beds in arterial calcification[J]. PLoS One, 2018, 13: e0191976.
- [23] Grootaert M, Moulis M, Roth L, et al. Vascular smooth muscle cell death, autophagy and senescence in atherosclerosis[J]. Cardiovasc Res, 2018, 114: 622-634.
- [24] Hamczyk MR, Villa - Bellosta R, Gonzalo P, et al. Vascular smooth muscle - specific progerin expression accelerates atherosclerosis and death in a mouse model of Hutchinson - Gilford progeria syndrome[J]. Circulation, 2018, 138: 266-282.

(收稿日期:2020-11-18)

(本文编辑:边 倍)