

缺血性脑卒中患者血清 lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN 表达及预后评估价值

陆旭东,余波,陈璐涵,张晓玲

【摘要】目的 探讨缺血性脑卒中(IS)患者血清长链非编码RNA-蛋白质复合物(lncRNA-XIST)、miR-532-5p、磷酸酶张力蛋白同源物(PTEN)表达及预后评估价值。**方法** 选取2023年6月至2024年6月嘉兴市第二医院收治的IS患者77例,经规范治疗并随访3个月后,根据预后改良的Rankin(mRS)评分分为预后良好组(39例,mRS评分 ≤ 2 分)和预后不良组(38例,mRS评分 > 2 分);比较两组入院时的血清指标(lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA表达量)和美国国立卫生研究院脑卒中量表(NIHSS)评分;采用Pearson相关性分析血清lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA表达水平及NIHSS评分间的相关性,受试者工作特征(ROC)曲线分析相关指标对IS患者预后的预测价值。**结果** 预后不良组入院时血清lncRNA-XIST表达水平和NIHSS评分均高于预后良好组,miR-532-5p、PTEN mRNA表达水平均低于预后良好组(均 $P < 0.05$)。IS患者血清PTEN mRNA与lncRNA-XIST呈负相关($r = -0.492, P < 0.05$),与miR-532-5p呈正相关($r = 0.464, P < 0.05$),血清lncRNA-XIST与miR-532-5p呈负相关($r = -0.327, P < 0.05$);患者血清lncRNA-XIST与NIHSS评分呈正相关($r = 0.448, P < 0.05$),miR-532-5p和PTEN mRNA与NIHSS评分均呈负相关($r = -0.425, -0.690$, 均 $P < 0.05$)。ROC曲线显示,血清lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA和NIHSS评分对IS患者预后均有良好的预测价值($AUC = 0.835, 0.731, 0.831, 0.837$, 均 $P < 0.05$)。**结论** IS患者血清lncRNA-XIST、miR-532-5p和PTEN mRNA与其预后紧密相关,其作用机制可能是lncRNA-XIST通过直接或间接调控miR-532-5p的表达下调PTEN mRNA表达,最终影响患者预后。

【关键词】 缺血性脑卒中;长链非编码RNA-蛋白质复合物;miR-532-5p;磷酸酶张力蛋白同源物

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.03.005

【中图分类号】 R743.3 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1671-0800(2025)03-0238-04

急性缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)是由脑组织缺血缺氧和炎症反应等多因素导致的脑血管循环障碍性疾病^[1]。长链非编码RNA-X染色体失活特异转录物(lncRNA-XIST)作为lncRNA的一员,在胃癌、乳腺癌和卵巢癌等多种肿瘤细胞中呈现高水平表达。研究表明,lncRNA-XIST的低表达具有抑制凋亡和炎症反应的作用^[2]。上调miR-532-5p能够增加心肌缺血再灌注损伤大鼠的心肌细胞活力,进而减少细胞凋亡和减轻心肌损伤,对心脑血管损伤具有积极作用^[3]。Toll样受体9(TLR9)蛋白是模式识别受体之一,能够识别微生物DNA并触发免疫反应。有研究表明,lncRNA-XIST通过影响FUS蛋白的功能调控TLR9 mRNA的表达,进而在细胞的增

殖和凋亡过程中发挥作用^[4]。miR-532-5p与TLR9 mRNA存在负调控关系,miR-532-5p可以通过与TLR9 mRNA相关位点结合,抑制其翻译,进而抑制TLR9蛋白的表达^[5]。且miR-532-5p的高表达还能抑制缺氧后脑细胞的凋亡,但它对缺氧后脑损伤的保护机制尚不明确^[6]。磷酸酶张力蛋白同源物(PTEN)表达减少能够诱发细胞代谢紊乱,参与由脑缺血再灌注诱导的应激反应^[7]。本研究检测了IS患者血清lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA表达水平,并分析它们对患者预后神经功能的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2023年6月至2024年6月嘉兴市第二医院收治的IS患者77例,纳入标准:(1)符合IS的诊断标准^[8],发病至入院时间 < 4.5 h;(2)伴有偏瘫、感觉障碍、失语等IS相关症状,并在本院

基金项目: 嘉兴市科技计划项目(2024AD30097)

作者单位: 314000 浙江省嘉兴,嘉兴市第二医院

通信作者: 张晓玲,Email: luxudongs2024@163.com

进行头颅CT检查；(3)接受规范治疗。排除标准：(1)依从性差；(2)伴有精神障碍；(3)有脑卒中史、多发脑叶梗死或出血性脑卒中；(4)合并颅内肿瘤。根据预后改良的Rankin(mRS)评分^[9]将患者分为预后良好组(39例, mRS评分≤2分)和预后不良组(38例, mRS评分>2分)。本研究获得嘉兴市第二医院医学伦理委员会批准, 所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.2 方法 患者入院后参照指南^[10]进行抗血栓、降脂固斑、改善侧支循环及活血化瘀等治疗, 通过上门或电话的方法随访3个月。

1.3 观察指标 (1)一般资料: 包括患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、基础疾病(高血压、糖尿病)及入院时美国国立卫生研究院脑卒中量表(NIHSS)评分。采用NIHSS评分评估IS患者溶栓前神经功能损伤程度, 分数越高提示患者神经功能损伤程度越严重^[11]。(2)入院时血清lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA水平: 采集患者入院时清晨空腹肘静脉血5 ml, 3 200 r/min离心10 min, 取上清液置于-20℃冰箱保存备用, 采用实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)分析lncRNA-XIST、miR-532-5p和PTEN mRNA表达水平(试剂盒购自广州锐博生物技术有限公司)。lncRNA-XIST的正向引物: 5'-ATGCTGTAGCTGACTGTAGC-3', 反向引物: 5'-ATGCTGTA-GCTGACTGTAGC-3', 反应条件为: 95℃预变性2 min, 95℃变性30 s, 58℃扩增30 s, 72℃退火40 s, 共40个循环, 以GAPDH作为内参。miR-532-5p的正向引物: 5'-CAUGCCUUGAGUGU-AGGACCGU-3', 反向引物: 5'-GGUCCUACACU-CAAGGCAUGUU-3', 反应条件为: 85℃预热3 min, 85℃变性和扩增20 s, 42℃退火40 s, 共35个循环, 以U6作为内参。PTEN mRNA的正向引物: 5'-GTGCAGATAATGACAAG-3', 反向引物: 5'-GATTTGACGGCTCCTCT-3', 反应条件为: 95℃预热和变性45 s, 60℃扩增34 s, 72℃退火5 s, 共40个循环, 以GAPDH作为内参。lncRNA-XIST、miR-532-5p和PTEN mRNA的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

1.4 统计方法 采用SPSS 20.0统计软件进行处理数据, 计量资料以均数±标准差表示, 组间比较采用t检验; 计数资料以例数和百分比表示, 组间比较采

用 χ^2 检验; 相关性分析采用Pearson相关性分析; 预测价值分析采用受试者工作特征(ROC)曲线。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料比较 两组年龄、性别、吸烟史、饮酒史及基础疾病差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$), 预后不良组入院时NIHSS评分高于预后良好组($P < 0.05$), 见表1。

2.2 两组血清lncRNA-XIST、miR-532-5p及PTEN mRNA表达水平比较 预后不良组入院时血清lncRNA-XIST表达水平高于预后良好组, miR-532-5p、PTEN mRNA表达水平均低于预后良好组(均 $P < 0.05$), 见表2。

2.3 IS患者血清lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA的相关性 IS患者血清PTEN mRNA与lncRNA-XIST呈负相关($r=-0.492, P < 0.05$), 与miR-532-5p呈正相关($r=0.464, P < 0.05$); 血清lncRNA-XIST与miR-532-5p呈负相关($r=-0.327, P < 0.05$), 见图1~3。

2.4 IS患者血清lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA与NIHSS评分的相关性 IS患者血清

表1 两组急性缺血性脑卒中患者一般资料比较

指标	预后良好组 (n=39)	预后不良组 (n=38)	$\chi^2(t)$ 值	P值
年龄(岁)	65.4±6.0	65.0±5.8	(0.29)	> 0.05
性别[例(%)]				
男	21(53.85)	22(57.89)	0.13	> 0.05
女	18(46.15)	16(42.11)		
吸烟史[例(%)]	16(41.03)	17(44.74)	0.11	> 0.05
饮酒史[例(%)]	11(28.21)	13(34.21)	0.32	> 0.05
基础疾病[例(%)]				
高血压	24(61.54)	21(55.26)	0.31	> 0.05
糖尿病	20(51.28)	18(47.37)	0.12	> 0.05
NIHSS评分(分)	4.27±1.01	5.95±1.06	(7.12)	< 0.05

注: NIHSS为美国国立卫生研究院脑卒中量表

表2 两组急性缺血性脑卒中患者血清lncRNA-XIST、miR-532-5p及PTEN mRNA表达水平比较

组别	例数	lncRNA-XIST	miR-532-5p	PTEN mRNA
预后良好组	39	1.09±0.27	1.31±0.26	1.58±0.29
预后不良组	38	1.48±0.33	0.98±0.22	1.04±0.31
t值		5.68	6.01	7.90
P值		< 0.05	< 0.05	< 0.05

注: lncRNA-XIST为血清长链非编码RNA-蛋白质复合物, PTEN为磷酸酶张力蛋白同源物

lncRNA-XIST 与 NIHSS 评分呈正相关 ($r=0.448, P < 0.05$), miR-532-5p、PTEN mRNA 与 NIHSS 评分均呈负相关 ($r=-0.425, -0.690$, 均 $P < 0.05$), 见图 4~6。

2.5 血清 lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA 和 NIHSS 评分对 IS 患者预后的预测价值 血清 lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA 和 NIHSS 评分对 IS 患者预后均有良好的预测价值 ($AUC=0.835, 0.731, 0.831, 0.837$, 均 $P < 0.05$), 见表 3。

3 讨论

lncRNA-XIST 可参与冠心病、缺血性脑卒中等动脉粥样硬化性心血管疾病的发生发展^[12]。miR-532-5p 参与多种肿瘤细胞的生物学调节, 其低水平的蛋白质分子形式与肿瘤组织低分化、临床高分期及淋巴结转移有关^[13]。PTEN mRNA 属于抑癌基因的转录产物, 其编码的 PTEN 蛋白是一种重要的肿瘤抑制因子。当血清 lncRNA-XIST 表达水平较高, miR-532-5p、PTEN mRNA 表达水平较低时, 即使 IS 患者已采取紧急措施制止疾病突发带来的严重后果, 但预后仍

受这些潜在因素影响。本研究显示, 预后不良组入院时血清 lncRNA-XIST 表达水平高于预后良好组, miR-532-5p、PTEN mRNA 表达水平均低于预后良好组。IS 患者血清 PTEN mRNA 与 lncRNA-XIST 呈负相关, 与 miR-532-5p 呈正相关; 血清 lncRNA-XIST 与 miR-532-5p 呈负相关。这提示 IS 患者血清 lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA 表达水平在一定程度上会影响其预后情况, 且血清 lncRNA-XIST、miR-532-5p 和 PTEN mRNA 之间存在关联。TLR9 蛋白是一类天然的免疫受体, 能够识别致病性相关及损伤相关的分子模式, 进而诱发免疫反应, TLR9 蛋白水平越高, 提示机体炎症反应越剧烈, 血管或组织损伤越严重^[14]。lncRNA-XIST 能够激活 TLR9 通路, 而 miR-532-5p 则相反, 它能通过与 TLR9 mRNA 相关位点结合的方式抑制 TLR9 通路。因此, 血清 lncRNA-XIST 表达水平越高且 miR-532-5p 表达水平越低, 提示机体炎症越严重。PTEN mRNA 在一定程度上阻碍了肿瘤细胞的过度生长, 有助于 IS 患者预后机体恢复。因此, 推测 lncRNA-XIST 可通

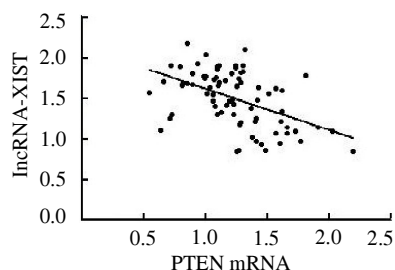


图1 血清 PTEN mRNA 与 lncRNA-XIST 之间的关系

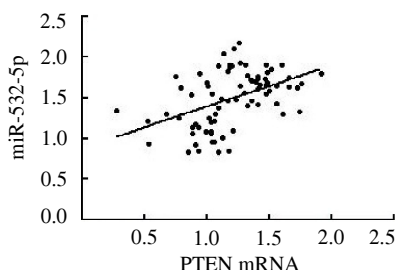


图2 血清 PTEN mRNA 与 miR-532-5p 之间的关系

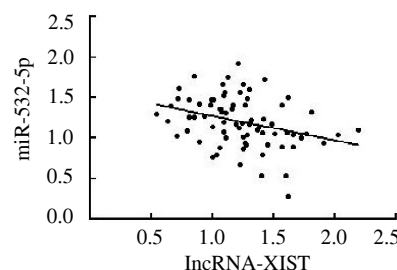


图3 血清 lncRNA-XIST 与 miR-532-5p 之间的关系

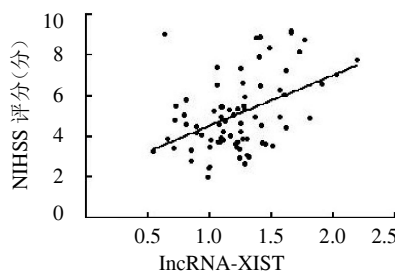


图4 血清 lncRNA-XIST 与 NIHSS 评分之间的关系

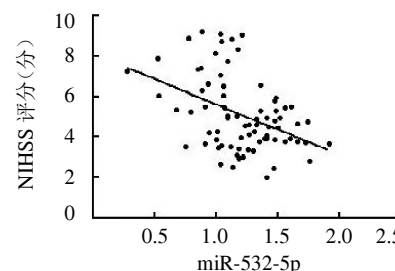


图5 血清 miR-532-5p 与 NIHSS 评分之间的关系

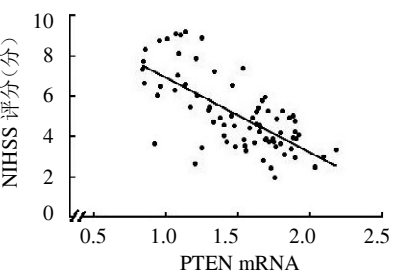


图6 血清 PTEN mRNA 与 NIHSS 评分之间的关系

表3 lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA 和 NIHSS 评分对急性缺血性脑卒中患者预后的预测价值

指标	AUC	95%CI	敏感度(%)	特异度(%)	截断值	P 值
lncRNA-XIST	0.835	0.744 ~ 0.927	86.84	71.80	1.243	< 0.05
miR-532-5p	0.731	0.618 ~ 0.844	73.68	69.20	1.165	< 0.05
PTEN mRNA	0.831	0.740 ~ 0.922	89.47	74.40	1.303	< 0.05
NIHSS 评分(分)	0.837	0.748 ~ 0.927	84.21	71.80	5.175	< 0.05

注: lncRNA-XIST 为血清长链非编码 RNA-蛋白质复合物, PTEN 为磷酸酶张力蛋白同源物, NIHSS 为美国国立卫生研究院脑卒中量表

过直接或间接调控 miR-532-5p 的表达,下调 PTEN mRNA 表达水平,控制 TLR9 蛋白的产生。相关研究显示,PTEN 在β细胞中可作为控制 TLR9/IL-6 轴的关键炎症检查点,在β细胞的发育过程中至关重要,能够防止β细胞中 TLR9/IL-6 信号的过度激活,避免机体炎症进一步加剧^[15]。推测 TLR9 蛋白水平可能与 PTEN mRNA 的表达量存在关联。

PTEN 是具有磷脂磷酸酶和蛋白磷酸酶双重活性的磷酸酶,与细胞的生长、分化、凋亡调控有关,能够调控神经系统神经元的发育。其表达减少能促进神经元的增殖、迁移,细胞体积增大^[16]。因此,推测 PTEN mRNA 表达下调可诱导患者神经功能损伤。本研究显示,预后不良组入院时 NIHSS 评分高于预后良好组;IS 患者血清 lncRNA-XIST 与 NIHSS 评分呈正相关,miR-532-5p 和 PTEN mRNA 与 NIHSS 评分均呈负相关。这提示 PTEN mRNA 表达下调可诱导患者神经功能损伤。

lncRNA-XIST 在神经功能损伤中发挥调控作用,参与心肌细胞凋亡、自噬和坏死,以及通过影响氧化应激、炎症、线粒体功能障碍和细胞内钙超载,在 IS 进展中起关键调控作用。本研究显示,血清 lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN mRNA 和 NIHSS 评分对 IS 患者预后均有良好的预测价值(均 $P < 0.05$)。这进一步验证了 lncRNA-XIST 通过直接或间接调控 miR-532-5p 的表达,下调 PTEN mRNA 表达水平,从而诱导患者神经功能损伤的推测。

综上所述,血清 lncRNA-XIST、miR-532-5p、PTEN 可作为临床评估缺血性脑卒中预后指标。本研究未深入探讨患者血清 lncRNA-XIST 和 PTEN mRNA 之间的具体作用机制,有待后期深入研究。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 陆旭东、陈璐涵:实验操作、论文撰写;余波:数据整理、统计学分析;张晓玲、陆旭东:研究指导、论文修改、经费支持

参 考 文 献

[1] 王建宇,张莉,王勇朝,等.阿替普酶修复急性缺血性脑卒中后 T 淋巴细胞介导的脑组织免疫炎症损伤的成效研究[J].中国免疫学杂志,2024,40(7):1484-1489.

- [2] 汤建华,刘克勤,姜爱雯,等.lncRNA XIST 通过 NF-κB/NLRP3 炎性体通路影响急性肺损伤大鼠炎症反应和细胞凋亡[J].中国老年学杂志,2023,43(1):115-119.
- [3] GAO Y, HUANG Y. Circ_0007841 knockdown confers cisplatin sensitivity to ovarian cancer cells by down-regulation of NFIB expression in a miR-532-5p-dependent manner[J]. J Chemother, 2023, 35(2): 117-130.
- [4] 李兴,宋春梅,卢文辉,等.脓毒症患者外周血中 lncRNA 和 miRNA 表达谱及功能分析[J].中华急诊医学杂志,2024,33(1):95-100.
- [5] 张晓文,张慧云,王维,等.变应性鼻炎患者血液嗜酸性粒细胞富集群中 TLR2、TLR4、TLR7 和 TLR9 的变化及其相关性[J].西安交通大学学报(医学版),2018,39(4):537-541,572.
- [6] 慕经纬.miR-532-5p 对缺血性脑卒中的神经保护作用及机制研究[D].沈阳:中国医科大学,2020.
- [7] ZHENG Y, GU H, KONG Y. Targeting PTEN in ischemic stroke: From molecular mechanisms to therapeutic potentials[J]. Exp Neurol, 2025, 383: 115023.
- [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.中国急性缺血性卒中诊治指南 2023[J].中华神经科杂志,2024, 57(6): 523-559.
- [9] RETHNAM V, BERNHARDT J, DEWEY H, et al. Utility-weighted modified rankin scale: Still too crude to be a truly patient-centric primary outcome measure?[J]. Int J Stroke, 2020, 15(3): 268-277.
- [10] 中国卒中学会,中国卒中学会神经介入分会,中华预防医学会卒中预防与控制专业委员会介入学组.急性缺血性卒中血管内治疗中国指南 2023[J].中国卒中杂志,2023,18(6):684-711.
- [11] CHALOS V, VAN DER ENDE N A M, LINGSMA H F, et al. National institutes of health stroke scale: An alternative primary outcome measure for trials of acute treatment for ischemic stroke[J]. Stroke, 2020, 51(1): 282-290.
- [12] 那顺孟和,玉海,陈恕,等.下肢动脉硬化闭塞症患者支架植入术后血清 lncRNA-MALAT1、lncRNA-XIST 与 1 年内支架内再狭窄相关性研究[J].疑难病杂志,2024,23(8):913-918.
- [13] Retraction: Hsa_circ_0000673 is down-regulated in gastric cancer and inhibits the proliferation and invasion of tumor cells by targeting miR-532-5p[J]. Biosci Rep, 2022, 42(7): BSR20180538.
- [14] LAM L K M, MURPHY S, KOKKINAKI D, et al. DNA binding to TLR9 expressed by red blood cells promotes innate immune activation and Anemia[J]. Sci Transl Med, 2021, 13(616): eabj1008.
- [15] TSAI P J, CHEN M Y, HSU W C, et al. PTEN acts as a crucial inflammatory checkpoint controlling TLR9/IL-6 axis in B cells[J]. iScience, 2024, 27(7): 110388.
- [16] 李玉平,王伶俐,陈震,等.circRNA_0051079 通过靶向 miR-26a-5p/PTEN 轴诱导视网膜神经变性的分子机制[J].眼科新进展,2023, 43(5):363-368.

收稿日期:2024-10-24

(本文编辑:孙海儿)