

【DOI】 10.3969/j.issn.1671-6450.2023.06.008

神经系统疾病专题

颅内大动脉粥样硬化型急性脑梗死患者血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达与颅内动脉粥样斑块负荷、病情严重程度度的关系

李波,徐世成,赵安容,李焱,张磊

基金项目:四川省卫生健康委员会科研课题(20PJ306)

作者单位:636000 四川省巴中市中心医院神经内科

通信作者:李波,E-mail:libobo967@163.com



【摘要】目的 分析颅内大动脉粥样硬化型急性脑梗死(ACI)患者血清膜联蛋白 A2(Annexin A2)、微小 RNA-9-5p(miR-9-5p)表达与颅内动脉粥样斑块负荷、病情严重程度度的关系。**方法** 选取 2019 年 1 月—2022 年 10 月四川省巴中市中心医院神经内科收治的颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者 170 例作为研究组,健康体检志愿者 173 例作为健康对照组。检测实验室指标,酶联免疫吸附法和荧光定量 PCR 法分别检测血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达,对颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者颅内动脉粥样斑块负荷进行测定,根据美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分将 ACI 患者分为轻度 ACI 亚组 39 例、中度 ACI 亚组 56 例和重度 ACI 亚组 75 例。分析颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达及二者与颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分的相关性,颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的影响因素,血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达对重度颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的预测价值。**结果** 与健康对照组比较,研究组血清三酰甘油(TG)、总胆固醇(TC)、高敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、Annexin A2 水平均明显升高($t/P = 11.636 / < 0.001, 12.198 / < 0.001, 45.099 / < 0.001, 58.651 / < 0.001$),而 miR-9-5p 表达明显降低($t/P = 34.044 / < 0.001$);轻度 ACI 亚组、中度 ACI 亚组、重度 ACI 亚组血清 Annexin A2 水平、颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分依次升高($F/P = 81.628 / < 0.001, 16.766 / < 0.001, 14.000 / < 0.001$),miR-9-5p 表达依次降低($F/P = 17.951 / < 0.001$);颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者血清 Annexin A2 与 miR-9-5p 表达呈负相关($r/P = -0.859 / < 0.001$),血清 Annexin A2 水平与颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分呈正相关($r/P = 0.814 / < 0.001, 0.649 / < 0.001$),血清 miR-9-5p 表达与颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分呈负相关($r/P = -0.737 / < 0.001, -0.564 / < 0.001$);血清 Annexin A2 高水平、颅内动脉粥样斑块负荷高是 ACI 发生的危险因素[$OR(95\% CI) = 1.716 (1.201 \sim 2.452), 1.924 (1.384 \sim 2.674)$],血清 miR-9-5p 高表达是其保护因素[$OR(95\% CI) = 0.835 (0.715 \sim 0.975)$];血清 Annexin A2、miR-9-5p 及二者联合预测重度颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的曲线下面积(AUC)分别为 0.833、0.791、0.925,二者联合预测优于单独预测($Z/P = 2.530 / 0.011, 3.364 / 0.001$)。**结论** 颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者血清 Annexin A2 水平升高,miR-9-5p 表达降低,与颅内动脉粥样斑块负荷、病情严重程度度有关,二者联合对重度 ACI 有较高的预测价值。

【关键词】 颅内大动脉粥样硬化;脑梗死,急性;膜联蛋白 A2;微小 RNA-9-5p;颅内动脉粥样斑块负荷;病情严重程度

【中图分类号】 R743.33

【文献标识码】 A

The relationship between the expression of Annexin A2 and miR-9-5p in serum and the load of intracranial atherosclerotic plaque and the severity of the disease in patients with acute cerebral infarction of intracranial atherosclerosis

Li Bo, Xu Shicheng, Zhao Anrong, Li Yao, Zhang Lei. Department of Neurology, Bazhong Central Hospital, Sichuan Province, Bazhong 636000, China

Corresponding author: Li Bo, E-mail: libobo967@163.com

Funding program: Scientific Research Project of Sichuan Provincial Health Commission (20PJ306)

【Abstract】 Objective To analyze the relationship between the expression of serum annexin A2, microRNA-9-5p (miR-9-5p) in patients with acute cerebral infarction (ACI) of intracranial atherosclerotic type and the burden of intracranial atherosclerotic plaque and the severity of the disease. **Methods** One hundred and seventy patients with intracranial ath-

therosclerotic ACI admitted to the Department of Neurology, Bazhong Central Hospital, Sichuan Province from January 2019 to October 2022 were selected as the study group, and 173 healthy volunteers were selected as the healthy control group. The laboratory indexes were detected, and the expression of Annexin A2 and miR-9-5p in serum were detected by ELISA and fluorescent quantitative PCR, respectively. The intracranial atherosclerotic plaque load of patients with intracranial atherosclerotic ACI was measured. According to the NIHSS score, ACI patients were divided into 39 mild ACI subgroups, 56 moderate ACI subgroups, and 75 severe ACI subgroups. To analyze the expression of Annexin A2 and miR-9-5p in serum of patients with intracranial atherosclerotic ACI and their correlation with intracranial atherosclerotic plaque load and NIHSS score, the influencing factors of the occurrence of intracranial atherosclerotic ACI, and the predictive value of the expression of Annexin A2 and miR-9-5p in serum on the occurrence of severe intracranial atherosclerotic ACI. **Results** Compared with the healthy control group, the levels of serum triacylglycerol (TG), total cholesterol (TC), hypersensitive C-reactive protein (hs-CRP), and annexin A2 in the study group were significantly increased ($t/P = 11.636 / < 0.001$, $12.198 / < 0.001$, $45.099 / < 0.001$, $58.651 / < 0.001$), and the expression of miR-9-5p was significantly decreased ($t/P = 34.044 / < 0.001$); The serum Annexin A2 level, intracranial atherosclerotic plaque load and NIHSS score in mild ACI subgroup, moderate ACI subgroup and severe ACI subgroup increased in turn ($F/P = 81.628 / < 0.001$, $16.766 / < 0.001$, $14.000 / < 0.001$), and the expression of miR-9-5p decreased in turn ($F/P = 17.951 / < 0.001$); The expression of serum Annexin A2 was negatively correlated with the expression of miR-9-5p in patients with intracranial atherosclerotic ACI ($r/P = -0.859 / < 0.001$), the level of serum Annexin A2 was positively correlated with the intracranial atherosclerotic plaque load and NIHSS score ($r/P = 0.814 / < 0.001$, $0.649 / < 0.001$), and the expression of serum miR-9-5p was negatively correlated with the intracranial atherosclerotic plaque load and NIHSS score ($r/P = -0.737 / < 0.001$, $-0.564 / < 0.001$); High level of Annexin A2 in serum, and high load of intracranial atherosclerotic plaque are risk factors for ACI [$OR(95\% CI) = 1.716 (1.201 - 2.452)$, $1.924 (1.384 - 2.674)$], high expression of miR-9-5p is protective factor of ACI [$OR(95\% CI) = 0.835 (0.715 - 0.975)$]; The area under the curve (AUC) of serum Annexin A2, miR-9-5p and their combination in predicting the occurrence of severe intracranial atherosclerotic ACI were 0.833, 0.791 and 0.925, respectively, and their combined prediction was better than the single prediction ($Z/P = 2.530 / 0.011$, $3.364 / 0.001$). **Conclusion** The increase of serum Annexin A2 level and the decrease of miR-9-5p expression in patients with intracranial atherosclerotic ACI are related to the load of intracranial atherosclerotic plaque and the severity of the disease. The combination of the two has a high predictive value for severe ACI.

【Key words】 Intracranial large atherosclerosis; Cerebral infarction, acute; Annexin A2; MicroRNA-9-5p; Intracranial atherosclerotic plaque load; Severity of disease

急性脑梗死 (acute cerebral infarction, ACI) 是一种发病率较高的脑血管疾病, 具有较高的致残率和病死率, 呈现年轻化趋势^[1-2]。颅内大动脉粥样硬化型是其重要分型, 其发病因素复杂, 颅内动脉粥样硬化斑块破裂形成的血栓是其病因之一^[3]。颅内动脉粥样硬化斑块负荷会影响 ACI 患者病情严重程度, 大部分 ACI 患者伴有颅内动脉粥样硬化, 累及多个动脉节段^[4-5]。故研究与 ACI 颅内动脉粥样硬化斑块负荷、病情严重程度有关的血清标志物, 对 ACI 防治、改善预后具有重要临床价值。膜联蛋白 A2 (Annexin A2) 是一种磷脂结合蛋白, 可增强吞噬细胞的吞噬作用, 诱导产生炎症细胞因子, 促进动脉粥样硬化斑块形成, 且与颈动脉斑块稳定性有关^[6-7]。微小 RNA (microRNA, miRNA) 参与炎症反应、内皮细胞损伤、肿瘤、代谢性疾病、ACI 等过程^[8-9]。miR-9-5p 作为一种 miRNA 分子能减轻脑缺血再灌注损伤并抑制炎症反应, 在脑血管动脉急性梗死的发生发展中起保护作用, 并且参与血管损伤修复、血管新生等过程^[10]。因此, 现分析血清 Annexin A2、

miR-9-5p 表达与颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者颅内动脉粥样硬化斑块负荷、病情严重程度关系, 旨在为临床该病诊治提供依据, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取 2019 年 1 月—2022 年 10 月四川省巴中市中心医院神经内科收治的颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者 170 例作为研究组, 同期选取体检健康志愿者 173 例作为健康对照组。研究组男 90 例, 女 80 例, 年龄 (60.84 ± 9.68) 岁; 合并高血压 20 例, 糖尿病 52 例; 家族遗传史 10 例; 发病至入院时间 (36.82 ± 9.04) h。健康对照组男 97 例, 女 76 例, 年龄 (60.03 ± 8.99) 岁。2 组性别、年龄、体质指数 (BMI)、饮酒史、吸烟史、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 研究组三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、高敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 水平均明显高于健康对照组 ($P < 0.05$), 见表 1。本研究经医院伦理委员会审核批准 (BYLS2018-11-3), 受试者或家属均知情同意并签署

知情同意书。

表 1 健康对照组和研究组临床资料比较

Tab. 1 Comparison of clinical data between the health control group and the research group

项 目	健康对照组 (n = 173)	研究组 (n = 170)	χ^2/t 值	P 值
性别(男/女)	97/76	90/80	0.338	0.561
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	60.03 ± 8.99	60.84 ± 9.68	0.803	0.422
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	24.95 ± 5.76	25.13 ± 5.69	0.291	0.771
饮酒史[例(%)]	57(32.95)	64(37.65)	0.829	0.362
吸烟史[例(%)]	61(35.26)	50(29.41)	1.340	0.247
TG($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.45 ± 0.21	1.89 ± 0.45	11.636	<0.001
TC($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	4.42 ± 1.07	5.91 ± 1.19	12.198	<0.001
LDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	3.36 ± 0.66	3.38 ± 0.62	0.289	0.773
HDL-C($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.61 ± 0.47	1.64 ± 0.46	0.597	0.551
hs-CRP($\bar{x} \pm s$, mmol/L)	1.79 ± 1.13	7.49 ± 1.21	45.099	<0.001

1.2 病例选择标准 (1) 纳入标准: ①患者均符合 ACI 相关诊断标准, 且均属于颅内大动脉粥样硬化型^[11]; ②首次发病; ③住院期间未发生感染者; ④临床检查证实有梗死病灶; ⑤发病至入院时间小于 72 h。(2) 排除标准: ①出血性脑梗死、小动脉闭塞、心源性栓塞等脑梗死; ②合并自身免疫疾病、肿瘤及感染者; ③有颈动脉或颅内手术史; ④发病后已进行溶栓治疗; ⑤颅内动脉瘤等其他病变; ⑥精神疾病者。

1.3 观测指标与方法 患者于入院后次日清晨、体检健康者于体检时采集空腹肘静脉血 8 ml, 离心留取血清, -70℃ 贮存。

1.3.1 血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达检测: 取冻存的血清样本, 解冻后, 采用酶联免疫吸附法检测血清 Annexin A2 水平, 试剂盒购自天津康尔克生物科技有限公司(批号 SYH-36071)。以 RNA 提取试剂盒(购自北京擎科生物科技有限公司, 批号 TOA307) 获取血清中总 RNA, 反转录为 cDNA, 采用荧光定量 PCR 法(qRT-PCR) 检测血清 miR-9-5p 相对表达量(PCR 试剂盒购自重庆致宏生物科技有限公司, 批号 19635M)。qRT-PCR 反应条件为 95℃, 3 min; 91℃ 30 s, 60℃ 35 s, 73℃ 29 s, 共 37 个循环。miR-9-5p、内参 U6 由广州卢卡科技有限公司合成, 引物序列见表 2。采用 2^{- $\Delta\Delta$ CT}法检测血清 miR-9-5p 水平。

1.3.2 颅内动脉粥样斑块负荷测定: 患者入院后 24 h 内, 采用磁共振扫描仪(荷兰飞利浦公司, 型号 Achieva 3.0T) 分析 ACI 患者颅内动脉粥样硬化斑块和管壁结构的成分, 通过扫描患者大脑动脉 3D-TOF 序列获得血管完整的图像, 然后进行高分辨率扫描垂直于血管狭窄的部位, 然后将获得的血管完整影像和狭窄部位

影像资料由专业影像科医生进行数据分析和定量测量, 在高分辨率大脑动脉图像上测得血管总面积、最狭窄血管的管腔面积。颅内动脉粥样斑块负荷 = (血管总面积 - 最狭窄血管的管腔面积) / 血管总面积。

表 2 miR-9-5p 引物序列

Tab. 2 miR-9-5p primer sequence

基因	上游引物	下游引物
miR-9-5p	5'-CGAGCTCAGCGAT-TCTCACTTAC-3'	5'-TACCCGGACTGATATG-GACGACG-3'
U6	5'-CTCGCTTCGGCAGCA-CATGG-3'	5'-AACGCTTCACGAATTT-GCGT-3'

1.3.3 病情严重程度评估及分组: 颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者入院后 24 h 内采用美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS) 评分对患者进行病情严重程度评估, 总分为 42 分, 分值越大, 表示神经功能缺损越严重(病情越严重)。根据 NIHSS 评分分值分为轻度 ACI 亚组 39 例(NIHSS < 5 分)、中度 ACI 亚组 56 例(5 ~ 15 分)和重度 ACI 亚组 75 例(NIHSS > 15 分)^[12]。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 25.0 软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组间比较行独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验; 计数资料以频数或率(%) 描述, 组间比较行 χ^2 检验; 采用 Pearson 法分析颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达及二者与颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分的相关性; Logistic 回归分析颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的影响因素; 受试者工作特征曲线(ROC) 分析血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达对重度颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的预测价值。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达比较 与健康对照组比较, 研究组血清 Annexin A2 水平明显升高(*P* < 0.01), miR-9-5p 表达明显降低(*P* < 0.01), 见表 3。

2.2 颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分情况 颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者颅内动脉粥样斑块负荷为(0.71 ± 0.16), NIHSS 评分为(16.40 ± 4.81) 分。

2.3 不同病情程度患者血清 Annexin A2、miR-9-5p、颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分比较 轻度 ACI 亚组、中度 ACI 亚组、重度 ACI 亚组血清 Annexin A2 水平、颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分依次升高(*P* < 0.01), miR-9-5p 表达依次降低(*P* < 0.01), 见表 4。

表 3 健康对照组和研究组血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of serum annexin A2 and miR-9-5p expressions between the healthy control group and the research group

组别	例数	Annexin A2(μg/L)	miR-9-5p
健康对照组	173	14.31 ± 2.74	1.00 ± 0.00
研究组	170	43.08 ± 5.83	0.56 ± 0.17
<i>t</i> 值		58.651	34.044
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

2.4 血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达及其与颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分的相关性分析 Pearson 法相关分析显示,颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者血清 Annexin A2 与 miR-9-5p 表达呈负相关($P < 0.01$);血清 Annexin A2 水平与颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分呈正相关($P < 0.01$),血清 miR-9-5p 表达与颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分呈负相关($P < 0.01$),见表 5。

表 5 血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达及其与颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分的相关性分析

Tab. 5 Expression of Annexin A2 and miR-9-5p in serum and correlation analysis with intracranial atherosclerotic plaque load and NIHSS score

项目	Annexin A2		miR-9-5p	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
颅内动脉粥样斑块负荷	0.814	<0.001	-0.737	<0.001
NIHSS 评分	0.649	<0.001	-0.564	<0.001
miR-9-5p	-0.859	<0.001	-	-

表 4 3 组 ACI 亚型患者血清 Annexin A2、miR-9-5p、颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Comparison of serum Annexin A2, miR-9-5p, intracranial atherosclerotic plaque load, NIHSS score in three groups of ACI subtypes

组别	例数	Annexin A2(μg/L)	miR-9-5p	颅内动脉粥样斑块负荷	NIHSS 评分(分)
轻度 ACI 亚组	39	34.75 ± 4.96	0.71 ± 0.20	0.60 ± 0.14	13.42 ± 4.16
中度 ACI 亚组	56	40.91 ± 5.50	0.58 ± 0.17	0.69 ± 0.16	15.84 ± 4.55
重度 ACI 亚组	75	49.03 ± 6.53	0.47 ± 0.15	0.78 ± 0.17	18.37 ± 5.34
<i>F</i> 值		81.628	17.951	16.766	14.000
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 6 Logistic 回归分析影响颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的因素

Tab. 6 Logistic regression analysis of factors influencing the occurrence of intracranial atherosclerotic ACI

自变量	β 值	<i>SE</i> 值	<i>Wald</i> 值	<i>P</i> 值	<i>OR</i> 值	95% <i>CI</i>
TG 高	0.257	0.137	3.539	0.060	1.294	0.989 ~ 1.692
TC 高	0.064	0.144	0.203	0.652	1.067	0.805 ~ 1.415
hs-CRP 高	0.292	0.151	3.737	0.053	1.339	0.996 ~ 1.800
Annexin A2 高	0.539	0.182	8.803	0.003	1.716	1.201 ~ 2.452
miR-9-5p 高	-0.180	0.079	5.210	0.022	0.835	0.715 ~ 0.975
颅内动脉粥样斑块负荷高	0.654	0.168	15.174	<0.001	1.924	1.384 ~ 2.674

2.5 影响颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的多因素 Logistic 回归分析 以发生颅内大动脉粥样硬化型 ACI 为因变量,以 TG、TC、hs-CRP、Annexin A2、miR-9-5p、颅内动脉粥样斑块负荷为自变量纳入 Logistic 回归分析,结果显示,血清 Annexin A2 水平高、颅内动脉粥样斑块负荷高是 ACI 发生的危险因素($P < 0.05$),miR-9-5p 表达高是其保护因素($P < 0.05$),见表 6。

2.6 血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达对重度颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的预测价值 绘制血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达对重度颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的预测效能 ROC 曲线,并计算曲线下面积(AUC),结果显示,血清 Annexin A2、miR-9-5p 及二者联合预测重度颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的 AUC 分别为 0.833、0.791、0.925,二者联合的 AUC 优于血清 Annexin A2、miR-9-5p 单独预测的 AUC($Z/P = 2.530/0.011$ 、 $3.364/0.001$),见图 1、表 7。

3 讨论

ACI 是由多种因素引发的脑血管疾病,随着高血压、冠心病、高血脂等发生率增加,ACI 的发病率也呈逐年升高趋势^[13]。颅内动脉粥样硬化是 ACI 形成的病因之一,颅内动脉粥样斑块负荷对判断 ACI 严重程度具有较高的价值,并且颅内动脉粥样硬化严重程度又与患者神经功能恢复有关^[14-15]。因此,研究 ACI 患者颅内动脉粥样斑块负荷、病情严重程度有关的血清标志物对 ACI 的防治和改善 ACI 患者的生活质量具有非常重要的意义。

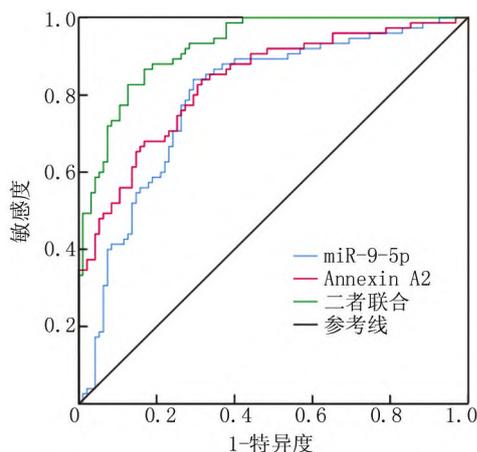


图 1 血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达预测重度颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的 ROC 曲线

Fig. 1 ROC curve of serum Annexin A2, miR-9-5p expression to predict the occurrence of severe intracranial atherosclerotic ACI

表 7 血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达对重度颅内大动脉粥样硬化型 ACI 发生的预测价值

Tab. 7 The predictive value of serum Annexin A2, miR-9-5p expression on the occurrence of severe intracranial atherosclerotic ACI

指 标	截断值	AUC	95% CI	敏感度	特异度	约登指数
Annexin A2	46.89 μg/L	0.833	0.772 ~ 0.894	0.840	0.684	0.524
miR-9-5p	0.49	0.791	0.722 ~ 0.861	0.840	0.705	0.545
二者联合		0.925	0.888 ~ 0.962	0.827	0.874	0.701

Annexin 又称为钙磷脂结合蛋白,其可参与细胞信号传导、形成生物膜、调控细胞生物学活动等^[16]。Annexin A2 以四聚体的结构形式存在,分子量约为 36 000,是一种新型的炎性标志物,存在于中性粒细胞、内皮细胞等细胞中,其中约有 1/3 的 Annexin A2 是由血管内皮细胞生成的,具有促进炎症反应的作用^[17]。近期有研究显示,Annexin A2 在不稳定性斑块患者中表达水平高于稳定性斑块,是急性缺血性脑卒中患者颈动脉斑块稳定性的影响因素^[6]。本研究发现,颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者血清 Annexin A2 水平升高,说明 Annexin A2 参与 ACI 病理过程。血清 Annexin A2 水平随 ACI 病情严重程度加重而升高,提示血清 Annexin A2 可能参与 ACI 的发生发展过程。已有研究证实,Annexin A2 在冠心病患者血清中呈高表达,Annexin A2 可调控血脂的转运及血管内皮生长因子,在粥样硬化性脑血管损伤中具有重要作用^[18]。根据以往研究推测 Annexin A2 可能通过促进炎症反应加速内皮细胞损伤参与疾病的发生,加重中性粒细

胞及吞噬细胞对脑组织损伤的干预作用。NIHSS 评分越高,ACI 患者病情越严重,颅内动脉粥样斑块负荷越高,说明 ACI 患者颅内供血严重不足^[19-20]。经 Pearson 法分析颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者血清 Annexin A2 水平与颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分呈正相关,提示 Annexin A2 与 ACI 颅内动脉粥样斑块负荷及病情严重程度有关,说明 Annexin A2 可在一定程度上反映 ACI 病情,从而利于辅助临床治疗。

miRNA 是一种内源性非编码小分子 RNA,广泛存在于真核生物中,已有研究证实 miRNA 参与 ACI 发生发展^[21-22]。miR-9-5p 作为一种 miRNA 分子,广泛参与多囊卵巢综合征、大脑中动脉闭塞等多种疾病的发生^[23-24]。Wang 等^[25]研究表明,miR-9a-5p 在大脑中动脉闭塞大鼠模型中表达下调,miR-9a-5p 可能会减轻大脑中动脉闭塞诱导的缺血损伤。本研究发现,颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者血清 miR-9-5p 表达明显降低,且 miR-9-5p 表达随 ACI 病情严重程度加重而降低,提示 miR-9-5p 在 ACI 发生发展过程中起重要作用,推测 miR-9-5p 可能通过减少内皮细胞损伤,促进血管生成抑制疾病的发生。过表达 miR-9-5p 通过靶向 ERMP1,介导内质网应激来提高细胞活力并抑制神经元凋亡,减轻缺血性卒中,且大脑中 miR-9-5p 表达有助于神经修复^[26]。Pearson 相关性分析结果显示,颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者血清 miR-9-5p 表达与颅内动脉粥样斑块负荷、NIHSS 评分呈负相关,提示 miR-9-5p 与 ACI 患者病情严重程度及颅内动脉粥样斑块负荷有关,miR-9-5p 可调控血管内皮因子,维护血管完整性,促进新生血管形成,在颅内动脉粥样硬化 ACI 中发挥积极作用。本研究还发现,颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者血清 Annexin A2 与 miR-9-5p 表达呈负相关,说明 Annexin A2 与 miR-9-5p 可能在 ACI 中存在调控作用,但具体机制仍需要后续探究。Logistic 回归分析显示,血清 Annexin A2 水平高、miR-9-5p 水平低、颅内动脉粥样斑块负荷高是 ACI 发生的危险因素,说明 Annexin A2 水平升高,miR-9-5p 表达降低,介导血管平滑肌细胞增殖、迁移,损害内皮细胞,造成动脉硬化,促进 ACI 发生,及时监测血清 Annexin A2、miR-9-5p 等指标水平变化,对临床预防 ACI 发生甚是有意义。同时,颅内动脉粥样斑块负荷较高者临床应建立高危预警体系,给予重点关注,以降低 ACI 风险。本研究 ROC 曲线结果显示,血清 Annexin A2 联合 miR-9-5p 表达预测重度颅内大动脉粥样硬化型 ACI 的 AUC 为 0.925,优于单一指标预测效能,说明监测血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达变化能够为重度颅内

大动脉粥样硬化型 ACI 发生提供参考。

综上所述,颅内大动脉粥样硬化型 ACI 患者血清 Annexin A2 水平升高,miR-9-5p 表达降低,二者呈负相关,且均与颅内动脉粥样斑块负荷、病情严重程度有关,能够为临床病情预测、病理机制解析提供参考。本研究不足之处:引起 ACI 发生的可能影响因素纳入不足,导致结果存在偏倚;样本量小,未探究血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达与 ACI 患者预后的关系;尚未明确血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达与颅内动脉粥样斑块负荷、病情严重程度的具体调控机制,仍需要基础实验探究血清 Annexin A2、miR-9-5p 表达异常的机制和作用,随后扩大样本,追踪随访,展开深入研究。

利益冲突:所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

李波:设计研究方案,课题设计,实施研究过程,论文撰写;徐世成:提出研究思路,分析试验数据,论文审核;赵安容:实施研究过程,资料搜集整理,论文修改;李焱、张磊:进行统计学分析

参考文献

[1] Huang Y, Shao Y, Wang Y, et al. Elevated troponin I levels on admission predict long-term mortality in patients with acute cerebral infarction following thrombolysis [J]. *Neurol Sci*, 2022, 43 (9) :5431-5439. DOI:10. 1007/s10072-022-06116-6.

[2] Zhang H, Qin Y, Gao S, et al. Correlation analysis of Trial of Org 10172 in acute stroke treatment classification and National Institutes of Health Stroke Scale score in acute cerebral infarction with risk factors [J]. *Rev Assoc Med Bras (1992)*, 2022, 68 (1) :44-49. DOI: 10. 1590/1806-9282. 20210413.

[3] Song X, Wei Q, Zhao X, et al. Association between short-term blood pressure variability and intracranial atherosclerotic plaque vulnerability: A high-resolution magnetic resonance imaging study [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2022, 29 (9) :1383-1392. DOI:10. 5551/jat. 63164.

[4] Leung TW, Wang L, Zou X, et al. Plaque morphology in acute symptomatic intracranial atherosclerotic disease [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2020, 92 (4) :370-376. DOI: 10. 1136/jnnp-2020-325027.

[5] 冯岩,陈晓辉.血清中 microRNA-99b 相对表达水平与急性脑梗死患者颅内动脉粥样斑块负荷的相关性 [J]. *卒中与神经疾病*, 2021, 28 (1) :45-48. DOI: 10. 3969/j. issn. 1007-0478. 2021. 01. 009.

Feng Y, Chen XH. The correlation between relative expression level of microRNA-99b in serum and the load of intracranial atherosclerotic plaque in patients with acute cerebral infarction [J]. *Stroke and Nervous Diseases*, 2021, 28 (1) :45-48. DOI:10. 3969/j. issn. 1007-0478. 2021. 01. 009.

[6] 高永超,刘晓文,王晓珂,等. sLDL-C、Annexin A2、Hcy 对 AIS 患者颈动脉斑块稳定性的评估价值 [J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2022, 14 (10) :1659-1662. DOI:10. 3969/j. issn. 1674-6929. 2022. 10. 006.

Gao YC, Liu XW, Wang XY, et al. The evaluation value of sLDL-C, Annexin A2 and Hcy in the assessment of carotid plaque stability in patients with AIS [J]. *Journal of Molecular Diagnosis and Therapy*, 2022, 14 (10) :1659-1662. DOI:10. 3969/j. issn. 1674-6929. 2022. 10. 006.

[7] Demos C, Williams D, Jo H. Disturbed flow induces atherosclerosis by Annexin A2-mediated integrin activation [J]. *Circ Res*, 2020, 127 (8) :1091-1093. DOI:10. 1161/CIRCRESAHA. 120. 317909.

[8] Mao X, Luan D, Qi Z. Dysregulation of serum miR-138-5p and its clinical significance in patients with acute cerebral infarction [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2022, 51 (5) :670-677. DOI:10. 1159/000523902.

[9] Ye Z, Hu J, Xu H, et al. Serum exosomal microRNA-27-3p aggravates cerebral injury and inflammation in patients with acute cerebral infarction by targeting PPAR γ [J]. *Inflammation*, 2021, 44 (3) :1035-1048. DOI:10. 1007/s10753-022-01717-x.

[10] Yan Q, Sun SY, Yuan S, et al. Inhibition of microRNA-9-5p and microRNA-128-3p can inhibit ischemic stroke-related cell death in vitro and in vivo [J]. *IUBMB Life*, 2020, 72 (11) :2382-2390. DOI:10. 1002/iub. 2357.

[11] 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. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1006-7876. 2018. 09. 004.

Chinese Society of Neurology, Cerebrovascular Department in Chinese Society of Neurology. Chinese guidelines for diagnosis and treatment of acute ischemic stroke 2018 [J]. *Chinese Journal of Neurology*, 2018, 51 (9) :666-682. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1006-7876. 2018. 09. 004.

[12] Chalos V, van der Ende NAM, Lingsma HF, 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. DOI:10. 1161/STROKEAHA. 119. 026791.

[13] Chen L, Wang Y, Wang Y, et al. Correlation between angiotensin receptor type 1 polymorphisms and atherosclerotic cerebral infarction risk [J]. *Pharmacogenomics Pers Med*, 2022, 15 (1) :477-485. DOI:10. 2147/PGPM. S364648.

[14] Psychogios M, Brehm A, López-Cancio E, et al. European Stroke Organisation guidelines on treatment of patients with intracranial atherosclerotic disease [J]. *Eur Stroke J*, 2022, 7 (3) :42-80. DOI:10. 1177/23969873221099715.

[15] 郝泽林,吴建跃,滕振飞,等.急性脑梗死患者血清学指标与神经功能缺损和脑梗死体积及颈动脉斑块性质的相关性研究 [J]. *中华全科医学*, 2020, 18 (11) :1803-1806. DOI:10. 16766/j. cnki. issn. 1674-4152. 001623.

Hao ZL, Wu JY, Teng ZF, et al. Correlation of hs-CRP, MMP-9 and Lp-PLA2 with neurological deficit, cerebral infarction volume and carotid plaque properties in patients with acute cerebral infarction [J]. *Chinese Journal of General Practice*, 2020, 18 (11) :1803-1806. DOI:10. 16766/j. cnki. issn. 1674-4152. 001623.

[16] Huang Y, Jia M, Yang X, et al. Annexin A2: The diversity of pathological effects in tumorigenesis and immune response [J]. *Int J Cancer*, 2022, 151 (4) :497-509. DOI:10. 1002/ijc. 34048.

- [17] Zhang J, Zhu J, Chen X, et al. E3 ubiquitin ligase Trim33 ubiquitylates Annexin A2 to promote NF- κ B induced skin inflammation in psoriasis[J]. *J Dermatol Sci*, 2022, 107(3): 160-168. DOI: 10.1016/j.jdermsci. 2022. 09. 002.
- [18] 林子祥, 刘丹, 薛雅芝, 等. 血清膜联蛋白 A2 在冠心病患者血清中明显升高[J]. *南方医科大学学报*, 2020, 40(3): 382-387. DOI: 10.12122/j. issn. 1673-4254. 2020. 03. 16.
- Lin ZX, Liu D, Xue YZ, et al. Serum annexin A2 level is significantly elevated in patients with coronary heart disease[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2020, 40(3): 382-387. DOI: 10.12122/j. issn. 1673-4254. 2020. 03. 16.
- [19] 王婧, 陈蕾, 王俊力, 等. 多模态监测对急性脑梗死患者脑颈血流动力学及神经功能预后的评估[J]. *疑难病杂志*, 2022, 21(11): 1129-1134. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 11. 003.
- Wang J, Chen L, Wang JL, et al. Prognostic evaluation of cerebral neck hemodynamics and neurological function in patients with acute cerebral infarction by multimodal monitoring[J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2022, 21(11): 1129-1134. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 11. 003.
- [20] 谭淑静, 么娇子, 黄蕊, 等. 化痰补气活血方对 2 型糖尿病合并脑梗死患者炎症因子、凝血功能的影响及疗效分析[J]. *疑难病杂志*, 2022, 21(7): 721-725. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 07. 010.
- Tan SJ, Me JZ, Huang R, et al. Effect of Huatanbuihuoxue recipe on patients with type 2 diabetes complicated with cerebral infarction and influence on inflammatory factors and coagulation function[J]. *Chin J Diffic and Compl Cas*, 2022, 21(7): 721-725. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-6450. 2022. 07. 010.
- [21] 施凤飞, 余航, 邹坤, 等. 沉默信息调节因子 1 基因多态性与动脉粥样硬化性脑梗死的相关性研究[J]. *中国医药*, 2022, 17(5): 669-673. DOI: 10.3760/j. issn. 1673-4777. 2022. 05. 007.
- Shi FF, Yu H, Zou K, et al. The relationship between silent information regulator 1 gene polymorphism and atherosclerotic cerebral infarction[J]. *China Medicine*, 2022, 17(5): 669-673. DOI: 10.3760/j. issn. 1673-4777. 2022. 05. 007.
- [22] Song XD, Li SX, Zhu M. Plasma miR-409-3p promotes acute cerebral infarction via suppressing CTRP3[J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2021, 37(4): 324-333. DOI: 10.1002/kjm2. 12327.
- [23] 王芳, 杨丽华, 余柯达, 等. miR-9-5p 调控雄激素受体的表达促进卵巢颗粒细胞增殖[J]. *生殖医学杂志*, 2021, 30(2): 236-242. DOI: 10.3969/j. issn. 1004-3845. 2021. 02. 018.
- Wang F, Yang LH, Yu KD, et al. miR-9-5p promotes ovarian granulosa cell proliferation in patients with polycystic ovary syndrome by regulating androgen receptor expression[J]. *Journal of Reproductive Medicine*, 2021, 30(2): 236-242. DOI: 10.3969/j. issn. 1004-3845. 2021. 02. 018.
- [24] Shen B, Wang L, Xu Y, et al. Knockdown of lncRNA SNHG15 ameliorates oxygen and glucose deprivation (OGD)-induced neuronal injury via regulating the miR-9-5p/TIPARP axis[J]. *Biochem Genet*, 2022, 60(2): 755-769. DOI: 10.1007/s10528-021-10121-3.
- [25] Wang N, Yang L, Zhang H, et al. MicroRNA-9a-5p alleviates ischemia injury after focal cerebral ischemia of the rat by targeting ATG5-mediated autophagy[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(1): 78-87. DOI: 10.1159/000486224.
- [26] Wang Q, Wang F, Fu F, et al. Diagnostic and prognostic value of serum miR-9-5p and miR-128-3p levels in early-stage acute ischemic stroke[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2021, 76: e2958. DOI: 10.6061/clinics/2021/e2958.

(收稿日期: 2022-12-30)

(上接 599 页)

- [16] 骆嵩, 屈洪党, 刘晓林, 等. miR-34c 在急性脑梗死患者血清中的表达[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(6): 1136-1138. DOI: 10.3969/j. issn. 1005-9202. 2021. 06. 005.
- Luo S, Qu HD, Liu XL, et al. Expression of miR-34c in serum of patients with acute cerebral infarction[J]. *Chinese Journal of Gerontology*, 2021, 41(6): 1136-1138. DOI: 10.3969/j. issn. 1005-9202. 2021. 06. 005.
- [17] Wang R, Yao J, Gong F, et al. miR-29c-3p regulates TET2 expression and inhibits autophagy process in Parkinson's disease models[J]. *Genes Cells*, 2021, 26(9): 684-697. DOI: 10.1111/gtc. 12877.
- [18] Zhang B, Yu L, Sheng Y. Clinical value and role of microRNA-29c-3p in sepsis-induced inflammation and cardiac dysfunction[J]. *Eur J Med Res*, 2021, 26(1): 90-112. DOI: 10.1186/s40001-021-00566-y.
- [19] Klein AM, de Queiroz RM, Venkatesh D, et al. The roles and regulation of MDM2 and MDMX: It is not just about p53[J]. *Genes Dev*, 2021, 35(9-10): 575-601. DOI: 10.1101/gad. 347872. 120.
- [20] Zavarikina TM, Khokhlova SV, Tyulyandina AS, et al. Association between molecular genetic markers of DNA repair and cell cycle control genes and response to platinum-based chemotherapy in ovarian cancer patients[J]. *Bull Exp Biol Med*, 2021, 171(6): 755-759. DOI: 10.1007/s10517-021-05310-4.
- [21] Zhao H, Shen R, Dong X, et al. Murine double minute-2 inhibition attenuates cardiac dysfunction and fibrosis by modulating NF- κ B pathway after experimental myocardial infarction[J]. *Inflammation*, 2017, 40(1): 232-239. DOI: 10.1007/s10753-016-0473-5.
- [22] 胡雪钟, 童同. LncRNA MEG3 调节 MDM2 通过 P53 信号通路影响缺血性脑卒中[J]. *脑与神经疾病杂志*, 2021, 29(6): 386-391.
- Hu XZ, Tong T. LncRNA MEG3 regulates MDM2 through P53 signaling pathway to affect cerebral ischemic stroke[J]. *Journal of Brain and Nervous Diseases*, 2021, 29(6): 386-391.
- [23] Pu Y, Li S, Wang L, et al. Association between high-sensitivity C-reactive protein and prognosis of patients with acute cerebral infarction[J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2022, 18(1): 1771-1778. DOI: 10.2147/NDT. S376440.
- [24] Zhang XL, Dong YT, Liu Y, et al. Effects of dl-3-n-butylphthalide on serum lipoprotein-associated phospholipase A2 and hypersensitive C-reactive protein levels in acute cerebral infarction[J]. *Brain Behav*, 2019, 9(12): e01469. DOI: 10.1002/brb3. 1469.

(收稿日期: 2023-01-31)