



电子、语音版

· 论 著 ·

## 脑动脉瘤破裂出血后脑脊液中 miRNA-3177-3p 与脑血管痉挛的发病关系及临床意义

翁传波<sup>1,2</sup>, 江涛<sup>1,2,3</sup>, 张洋<sup>4</sup>, 刘师林<sup>4</sup>, 江录伟<sup>1,2</sup>, 王绪扣<sup>1,2</sup>

1. 安徽医科大学第一附属医院神经外科, 安徽 合肥 230041

2. 安徽省公共卫生临床中心神经外科, 安徽 合肥 230041

3. 安徽省转化医学研究院, 安徽 合肥 230031

4. 安徽医科大学第二附属医院神经外科, 安徽 合肥 230031

**摘要:**目的 测定动脉瘤性蛛网膜下腔出血(aSAH)后脑血管痉挛(CV)患者与脑血管未痉挛患者脑脊液中miRNA-3177-3p的表达情况,探讨其与CV的发病关系及临床意义。方法 将29例aSAH患者分成脑血管痉挛组(CV组)与脑血管未痉挛组(non-CV组)。比较两组患者的一般临床资料;通过生物信息数据分析确定miRNA-3177-3p作为研究对象,测定两组患者脑脊液中miRNA-3177-3p实际表达情况并比较差异;预测miRNA-3177-3p下游靶基因ATP1B3,构建ATP1B3质粒,双萤光素酶报告实验验证miRNA-3177-3p与ATP1B3靶向关系;最后,ELISA法测定两组患者脑脊液中ATP1B3转录产物ATP1β3含量并比较差异。结果 CV组患者Hunt评级高于non-CV组( $P<0.05$ );CV组脑脊液中miRNA-3177-3p表达丰度为(0.873±0.044),与non-CV组(0.908±0.034)比较,差异有统计学意义( $t=2.157, P=0.040$ );双萤光素酶报告实验结果显示,与miRNA-3177-3p作用后,ATP1B3-3'UTR区相较于对照组活性降低15%( $P<0.05$ );将ATP1B3-3'UTR区进行突变,ATP1B3-3'UTR区相较突变前活性上升14%( $P<0.05$ );ELISA法证实表达产物ATP1β3在CV组脑脊液中(1.776±0.013)ng/mL高于non-CV组(1.722±0.016)ng/mL( $t=7.778, P=0.000$ )。结论 CV患者脑脊液中miRNA-3177-3p表达下调,ATP1B3高表达可能参与了CV的发病过程,该机制可能在预测与治疗CV上具有一定临床意义。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2023, 50(3): 6-11]

**关键词:**动脉瘤破裂出血;脑血管痉挛;微小核糖核苷酸;脑脊液

中图分类号:R651.1

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2023.03.002

## Association of miRNA-3177-3p in cerebrospinal fluid with cerebral vasospasm after aneurysmal subarachnoid hemorrhage and its clinical significance

WENG Chuanbo<sup>1,2</sup>, JIANG Tao<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Yang<sup>4</sup>, LIU Shilin<sup>4</sup>, JIANG Luwei<sup>1,2</sup>, WANG Xukou<sup>1,2</sup>

1. Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230041, China

2. Department of Neurosurgery, Anhui Public Health Clinical Center, Hefei, Anhui 230041, China

3. Anhui Provincial Institute of Translational Medicine, Hefei, Anhui 230031, China

4. Department of Neurosurgery, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230031, China

Corresponding author: JIANG Tao, Email: jiangtao\_aysfy@163.com

**Abstract:** **Objective** To investigate the association of miRNA-3177-3p with cerebral vasospasm (CV) and its clinical significance by measuring the expression of miRNA-3177-3p in cerebrospinal fluid (CSF) in patients with or without CV after aneurysmal subarachnoid hemorrhage (aSAH). **Methods** A total of 29 aSAH patients were divided into CV group and non-CV group. General clinical data were compared between the two groups; miRNA-3177-3p was determined as the

基金项目:安徽医科大学校科研基金项目(2019xkj067);安徽省转化医学研究院科研基金项目(2021zhxy-C72)。

收稿日期:2022-05-17;修回日期:2023-03-23

作者简介:翁传波(1988—),男,神经外科主治医师,硕士学位,主要从事神经外科基础与临床相关研究,Email: rehomail@163.com。

通信作者:江涛(1976—),男,神经外科主任医师,博士学位,主要从事神经外科(特别是脑血管病)基础与临床相关研究,Email: jiangtao\_aysfy@163.com。

target miRNA after integrated bioinformatics analysis, and the expression of miRNA-3177-3p in CSF was measured and compared between the two groups; after *ATP1B3* was predicted as the downstream target gene of miRNA-3177-3p, *ATP1B3* plasmids were constructed and the dual-luciferase reporter gene assay was used to verify the targeting relationship between miRNA-3177-3p and *ATP1B3*; finally, ELISA was used to measure the content of ATP1 $\beta$ 3, a transcription product of *ATP1B3*, in CSF, which was then compared between the two groups. **Results** The CV group had a significantly higher Hunt grade than the non-CV group ( $P < 0.05$ ). There was a significant difference in the expression level of miRNA-3177-3p in CSF between the CV group and the non-CV group ( $0.873 \pm 0.044$  vs  $0.908 \pm 0.034$ ,  $t = 2.157$ ,  $P = 0.040$ ). The dual-luciferase reporter gene assay showed that after interaction with miRNA-3177-3p, the activity of *ATP1B3*-3'UTR region was reduced by 15% compared with the control group ( $P < 0.05$ ), while the activity of *ATP1B3*-3'UTR region was increased by 14% after mutation ( $P < 0.05$ ). ELISA showed that the CV group had a significantly higher level of ATP1 $\beta$ 3 in CSF than the non-CV group ( $1.776 \pm 0.013$  ng/mL vs  $1.722 \pm 0.016$  ng/mL,  $t = 7.778$ ,  $P = 0.000$ ). **Conclusion** The expression level of miRNA-3177-3p is downregulated in CV patients, and the high expression of its target gene *ATP1B3* may be involved in the pathogenesis of CV. This mechanism may have a certain clinical significance in the prediction and treatment of CV.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2023, 50(3): 6–11]

**Keywords:** aneurysmal subarachnoid hemorrhage; cerebral vasospasm; microRNA; cerebrospinal fluid

脑血管痉挛(cerebral vasospasm, CV)是动脉瘤性蛛网膜下腔出血(aneurysmal subarachnoid hemorrhage, aSAH)后最严重的急性并发症,以脑血管痉挛性收缩及缺血性神经功能障碍为特征,可进一步加重aSAH患者病情并有引发致命后果的风险。在出现临床症状前准确评估aSHA患者CV风险是遏制病情进一步恶化的关键,然而,目前没有有效的生物标志物可以预测CV。miRNA是一类进化上保守的非编码小分子单链RNA,长度约22个核苷酸,具有在翻译水平调控基因表达的功能。已有研究证实,在CV发生过程中涉及miRNA表达水平的变化,这些变化揭示了CV的可能机制,同时提出将miRNA作为预测CV生物标志物的可能。本研究通过生物信息数据分析寻找参与CV发病密切相关的miRNA,通过构建双荧光素酶报告基因检测系统,验证目标miRNA对预测靶基因是否具有调控作用,为后续研究CV发病机制及早期预测提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 生物信息数据分析

aSAH患者脑脊液miRNA表达数据GSE165608由GEO(gene expression omnibus, GEO)数据库获取(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/genes-expression/>),按照是否发生CV将数据分为CV组与non-CV组,利用GEO2R工具对两组miRNA表达进行差异分析,筛选满足阈值 $|\log\text{-FC}| > 2$ ,  $P < 0.01$ 的差异表达miRNA(differentially expressed miRNA, DE-miRNA)。DE-miRNA下游靶基因的预测,我们借助了TargetSan(<http://www.targetscan.org>)与miRDB(<http://mirdb.org/>)工具,在2种工具中均有预测且功能高度相关的靶mRNA筛选为研究对象。

### 1.2 一般资料

选择2018年10月—2021年8月在安徽医科大学第

四附属医院(现改名为安徽医科大学第一附属医院)神经外科住院治疗的aSAH患者29例。平均年龄( $58.0 \pm 9.7$ )岁;男性15例,女性14例。aSAH患者依据自身病情采取了全脑血管造影术、脑动脉瘤介入栓塞术、开颅脑动脉瘤夹闭术、脑室穿刺外引流术及药物等诊治手段,危重患者予重症监护治疗。所有患者住院期间每日进行经颅多普勒血管超声检查,将任何一侧大脑中动脉血流速率大于120 cm/s并且Lindegard比率(同侧大脑中动脉平均血流速率/同侧颅外颈内动脉平均血流速率)大于3.0者诊断为CV<sup>[1]</sup>,并依此将患者分为脑血管痉挛组(CV组)及脑血管未痉挛组(non-CV组)。本研究取得全部受试患者知情同意并签署知情同意书,并经原安徽医科大学第四附属医院医学伦理委员会批准(PJ-Q2018-011, PJ-YX2022-001)。

### 1.3 脑脊液标本采集

两组患者脑脊液标本采集过程均严格遵照无菌原则,放置脑室外引流管患者从引流管中直接收集,未放置脑室外引流管且无腰椎穿刺禁忌者则通过腰椎穿刺术获取,每位患者脑脊液采集量为10.0 mL。脑脊液采集后立即4.0℃下3 000 r/min离心5.0 min,取上清液-80.0℃保存。

### 1.4 miRNA-3177-3p检测

脑脊液样本中总RNA提取采用Trizol法,逆转录获得cDNA,以cDNA为模板进行实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)分析。茎环法逆转录引物序列miRNA-3177-3p: 5' - GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGACTGGATACGACACGTGT-3'。实时定量PCR引物序列miRNA-3177-3p正向引物序列: 5' - TACACGGCACTGGGGACAC -3', miRNA-3177-3p反向引物序列: 5' - ATCCAGTGCAGGGTCCGAGG -3'。反应条件,95.0℃变性5.0 s, 60.0℃退火30.0 s,共40个循

环。各基因相对表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

### 1.5 双荧光素酶报告实验基因质粒构建及检测

检索 $ATP1B3$ -3'UTR与miRNA-3177-3p种子序列核酸匹配位点,PCR体外扩增包含结合位点的核酸片段,按Xho I (CTCGAG)/Not I (GCGGCCGC)酶切位点对核酸片段进行酶切,琼脂凝胶电泳酶切产物获得目的基因片段,将目的基因片段与载体相连构建 $ATP1B3$ 野生型基因质粒( $ATP1B3$ -wt)。同法构建 $ATP1B3$ 突变型基因质粒( $ATP1B3$ -mut),其突变位点设计:结合位点TCTA-AAGCTTAATATGCCGTGCT/突变点GTGCTCATCGGCAC-CATATCATG。挑取测序正确的重组质粒单克隆菌落扩增并培养,无内毒素质粒提取试剂盒提取质粒并保存备用。复苏293T细胞,接种于24-well培养板中,37.0℃、5.0%二氧化碳环境下培养至细胞融合度达到约60.0%。将miRNA-3177-3p与 $ATP1B3$ (野生型或突变型结合位点)3'UTR荧光素酶报告基因共转染293T细胞,转染48 h后荧光素酶系统检测荧光素酶活性,评估目的基因表达情况。

### 1.6 $Na^+/K^+$ -ATP酶 $\beta 3$ 肽检测

两组脑脊液样本中 $ATP1B3$ 转录产物 $Na^+/K^+$ -ATP酶 $\beta 3$ 肽(ATP1 $\beta 3$ )水平测定采用酶联免疫分析法(enzyme-

linked immunosorbent assay, ELISA)。各待测样品加入相应的酶标试剂温浴,洗涤拍干后加入显色剂,酶标仪450 nm波长下测定各样本光密度(optical density, OD)值。

### 1.7 统计学方法

采用SPSS 10.0软件进行统计分析。计数资料以例表示,比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概率法;计量资料采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,比较采用两独立样本 $t$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 生物信息数据分析结果

纳入分析的所有脑脊液样本中miRNA表达情况。按是否发生CV进行分组,CV组与non-CV组在hsa-miRNA-3177-3p、hsa-miRNA-27a-3p、hsa-miRNA-24-3p、hsa-miRNA-23a-3p、hsa-miRNA-146b-5p及hsa-miRNA-29a-3p表达上存在差异(见图1),均出现表达下调(阈值 $|\log FC| > 2$ ,  $P < 0.01$ ),其中hsa-miRNA-3177-3p表达下调最为显著(见图2)。最后,对差异表达的miRNA进行KEGG富集分析,其中hsa04150\_mTOR、hsa04152 AMPK、hsa04068\_FoxO 3个信号通路可能参与CV的发生与调节,而上述通路均与能量代谢与氧化应激过程相关(见图3)。

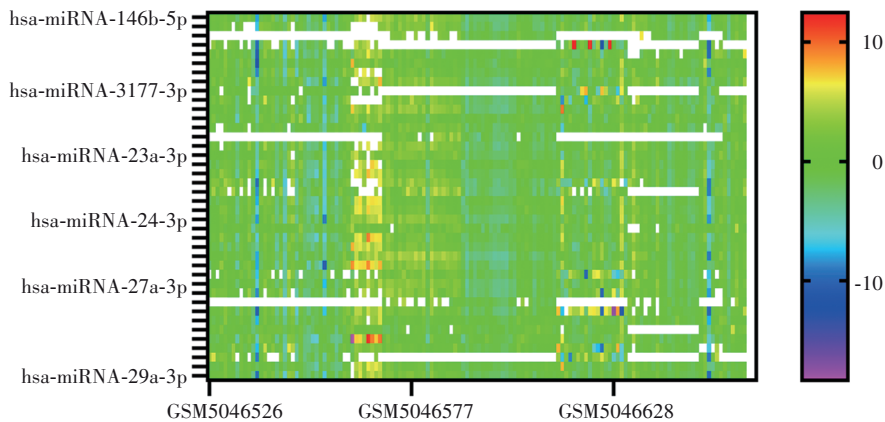


图1 纳入研究所有样本中miRNA表达情况

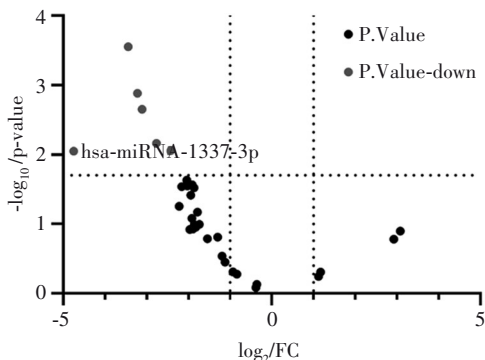


图2 CV组与non-CV脑脊液样本中miRNA差异表达情况

### 2.2 两组一般资料情况

两组患者性别、年龄、动脉瘤位置、有无脑室外引流、基础疾病(高血压、糖尿病、脑梗死)等资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。但反映两组患者aSAH病情严重程度的Hunt-Hess分级比较,CV组高于non-CV组,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

### 2.3 miRNA-3177-3p的qRT-PCR与双荧光素酶报告实验结果

生物信息数据分析发现miRNA-3177-3p在CV患者脑脊液中表达下调。采集两组患者脑脊液并检测各患者脑脊液中miRNA-3177-3p表达情况,结果显示CV组

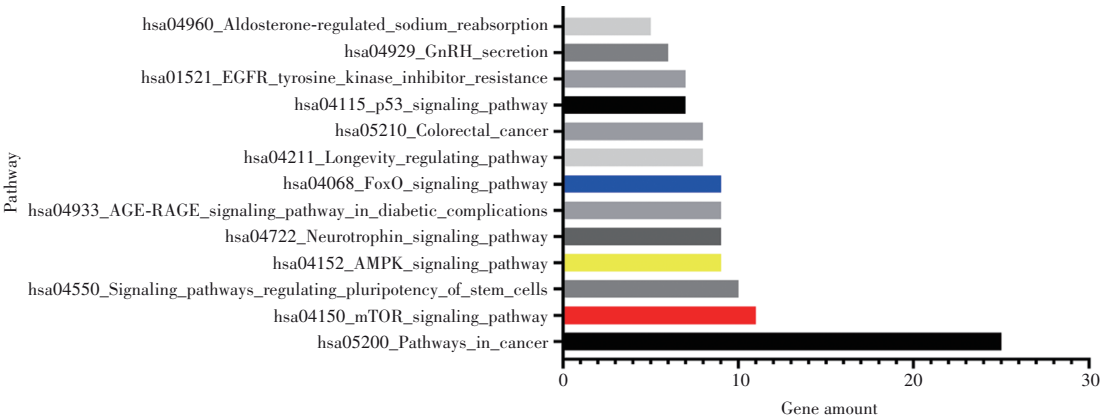


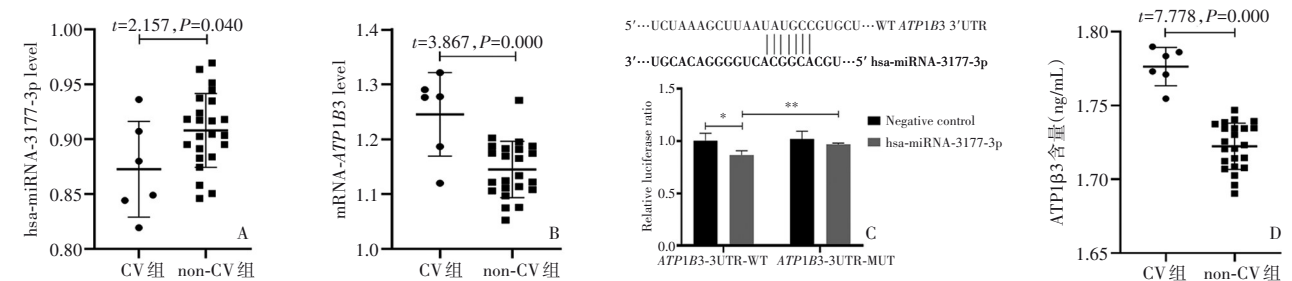
图3 富集分析CV发生可能涉及的信号通路

表1 两组患者一般资料比较				
项目	CV组 (n=6)	non-CV组 (n=23)	t/χ <sup>2</sup> 值	P值
年龄/(岁, $\bar{x}\pm s$ )	64.167±2.242	56.435±10.008	1.806	0.082
性别(男/女)/例	3/3	12/11	—	1.000
动脉瘤位置/例			1.144	0.887
前交通动脉瘤	3	13		
后交通动脉瘤	2	4		
大脑中动脉瘤	1	4		
基底动脉瘤		1		
小脑前下动脉瘤		1		
Hunt-Hess 分级/例			16.463	0.002
I、II		15		
III		6		
IV	4	2		
V	2			
脑室外引流术/例	2	1	—	0.100
高血压/例	5	15	—	0.633
糖尿病/例		1	—	1.000
脑梗死/例		2	—	1.000

miRNA-3177-3p 表达丰度为(0.873±0.044)与 non-CV 组的(0.908±0.034)比较,差异有统计学意义( $t=2.157, P=0.040$ ),CV 组 miRNA-3177-3p 表达丰度低于 non-CV 组患者(见图 4A)。靶基因筛选发现 *ATP1B3* 的 3'UTR 有 miRNA-3177-3p 结合位点,qRT-PCR 结果显示,CV 组 *ATP1B3*(1.246±0.076)与 non-CV 组(1.145±0.051)比较,差异有统计学意义( $t=3.867, P=0.000$ )(见图 4B)。miRNA-3177-3p 作用后,*ATP1B3*-3'UTR 区相较对照组活性降低 15%( $t=4.616, P=0.000$ );将 *ATP1B3*-3'UTR 区进行突变后,*ATP1B3*-3'UTR 区相较其突变前活性上升 14%( $t=5.650, P=0.000$ )(见图 4C)。

2.4 两组患者脑脊液中ATP1β3表达情况

结果显示,CV 组 ATP1β3(1.776±0.013)ng/mL 与 non-CV 组(1.722±0.016)ng/mL 比较,差异有统计学意义( $t=7.778, P=0.000$ )(见图 4D)。



A: 两组 miRNA-3177-3p 表达情况; B: 两组 ATP1B3 表达情况; C: 双萤光素酶报告实验; D: 两组 ATP1β3 表达情况;\*表示 ATP1B3-3'UTR 区与对照组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );\*\*表示 ATP1B3-3'UTR 区与其突变前比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

图4 双萤光素酶报告实验基因质粒表达及转录产物Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP1β3检测

3 讨论

动脉血管壁平滑肌收缩而引起的暂时性血管口径狭

窄称为 CV,在神经外科其是 aSAH 最严重的并发症之一, 10%~23% 的 aSAH 患者死于 CV。CV 可在 aSAH 后立即



发生,但更多是发生在aSAH后4~7 d,故早期预测CV具有重要意义。影像学检查结合临床表现虽能明确CV诊断,但无法对CV做早期预测。现有研究认为,参与CV病理生理学过程的生物标志物可能早于CV发生改变,在预测CV发生上可能存在一定价值<sup>[2]</sup>,而高龄、吸烟及高Hunt评级(更严重病情)是aSAH后发生CV的高危因素<sup>[3]</sup>。本研究通过对CV患者脑脊液中miRNA-3177-3p检测及分析,发现miRNA-3177-3p在CV患者脑脊液中表达下调,证实其与 $ATP1B3$ 基因存在结合位点,致 $ATP1B3$ 表达上调,表达产物 $ATP1\beta 3$ 增高。

miRNAs是一类约22个核苷酸长度的小分子非编码序列,能与互补mRNA3'-UTR(非编码区)结合实现基因转录后水平负性调控作用,参与约1/3人类基因表达过程。miRNA能在中枢神经系统稳定表达并参与到大脑生理活动中,而在脑肿瘤<sup>[4]</sup>、阿尔茨海默病<sup>[5]</sup>及脑梗死<sup>[6]</sup>患者血清或脑脊液中亦能检测到与上述疾病发病密切相关的循环miRNA。还有学者发现脑血管平滑肌细胞中miRNA-24对一氧化氮(NO)合成酶负性调控作用是导致aSAH患者血管内NO水平下降的原因,而NO是调节血管张力的重要物质,其水平下降与CV的发生直接相关<sup>[7]</sup>。Stylli等<sup>[8]</sup>在对aSAH患者脑脊液miRNA表达谱分析过程中,发现合并CV的aSAH患者脑脊液miRNA表达情况与未合并CV的aSAH者存在区别,因此指出这些差异表达的miRNA可能参与CV的病理生理过程。通过初步生物信息数据分析,笔者发现miRNA-3177-3p在CV患者脑脊液中存在差异,通过qRT-PCR及双荧光素酶检测,笔者证实CV患者脑脊液中miRNA-3177-3p表达下调,这与现有的研究结论一致,同时验证了其 $ATP1B3$ 存在结合位点,而随后的ELISA检测佐证了CV患者脑脊液中miRNA-3177-3p下调与 $ATP1B3$ 翻译表达产物 $ATP1\beta 3$ 增高有关。miRNA参与神经系统疾病发生过程的确凿证据,及其可分泌至细胞外液的事实,增加了miRNA-3177-3p作为预测CV生物标志物的吸引力。虽然miRNA在细胞外液中相对稳定<sup>[9]</sup>,并对核糖核酸酶(RNase)具有一定耐受力<sup>[10]</sup>,但在实际临床工作中,大家更倾向将稳定性更高的 $ATP1\beta 3$ 作为预测CV的生物标志物。

脑动脉血管壁平滑肌细胞膜上的 $Ca^{2+}$ 电闸门控通道开放,大量 $Ca^{2+}$ 内流,钙离子依赖的肌球蛋白轻链激酶磷酸化导致血管平滑肌细胞的收缩,这是目前解释CV发生的经典理论。而 $Ca^{2+}$ 通道的开放,受控于ATP非选择性结合血管平滑肌细胞膜上的P2X受体[是一个由7个(P2X1R~P2X7R)阳离子可渗透配体门控离子通道(LGIC)组成的家族,它们响应胞外配体腺苷5'-三磷酸(ATP)的结合而打开],这是ATP参与CV过程的普遍观点<sup>[11]</sup>。既往认为aSAH患者脑脊液中ATP源于血管内皮细胞分泌,而动物模型研究结果更倾向于蛛网膜下腔中

的血凝块释放了大部分的ATP。例如在一项猴大脑中动脉破裂的aSAH动物实验中,脑动脉破裂出血后第7天,蛛网膜下腔中凝集的血凝块所含ATP量达到峰值,而该时期亦是迟发性CV的高发期<sup>[12]</sup>。 $Na^{+}-K^{+}-ATP$ 酶是镶嵌在细胞膜上用于建立与维持细胞内外 $Na^{+}-K^{+}$ 电化学梯度的特殊蛋白质,其建立的细胞膜静息电位在阈刺激下产生动作电位,后者广泛参与了各种细胞活动如神经元细胞电信号转导及继发性主动转运等<sup>[13]</sup>。 $Na^{+}-K^{+}-ATP$ 酶主要由 $\alpha$ 、 $\beta$ 2个亚基组成,目前已知人类拥有4种 $\alpha$ 亚基,3种 $\beta$ 亚基,而不同 $\alpha/\beta$ 亚基组合的 $Na^{+}-K^{+}-ATP$ 酶功能存在差异。目前已知 $\alpha$ 亚基是 $Na^{+}$ 、 $K^{+}$ 结合位点并兼具ATP酶活性,而 $\beta$ 亚基具体功能尚不清楚。现有研究发现,敲除小鼠 $\beta$ 亚基编码基因将导致小鼠运动障碍并致小鼠出生后数周内死亡<sup>[14]</sup>,此外 $\beta 2$ 亚基在与平衡及协调动作上有特殊功能的小脑颗粒细胞中含量高于 $\beta 1$ 与 $\beta 3$ <sup>[15]</sup>,从而推测不同 $\beta$ 亚基决定了 $Na^{+}-K^{+}-ATP$ 泵与 $K^{+}$ 的亲合力,并参与哺乳动物运动生理活动。Takheaw等<sup>[16]</sup>研究发现,单克隆抗体P-3E10能与单核细胞上 $Na^{+}-K^{+}-ATP$ 酶 $\beta 3$ 亚单位结合抑制Th1细胞因子(IL-2、IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ )、Th2细胞因子(IL-4和IL-10)和Th17细胞因子(IL-17A)释放,从而削弱T细胞免疫应答能力,认为 $Na^{+}-K^{+}-ATP$ 酶 $\beta 3$ 亚单位可作为治疗超应答T细胞相关疾病的突破点,提供 $Na^{+}-K^{+}-ATP$ 酶 $\beta 3$ 亚单位参与免疫应答的证据。亦有研究认为 $\beta 3$ 亚基是独立于 $\alpha$ 亚基表达的,能在不干扰 $Na^{+}-K^{+}-ATP$ 酶的功能下独立参与免疫应答<sup>[17]</sup>。CV显然不是一种血管炎症疾病,但有证据表明免疫炎症机制参与了CV的发病过程,例如CV患者脑脊液中IL-6、TNF- $\alpha$ 水平增高并与aSAH患者Hunt评分呈正相关,而IL-6与TNF- $\alpha$ 广泛参与人体各类免疫炎症反应过程<sup>[18]</sup>。另外,补体C3a及可溶性细胞间黏附因子-1亦与CV不良预后及病情进展相关<sup>[19]</sup>。上述免疫炎症应答参与CV发病过程的证据为本研究中发现CV患者脑脊液 $ATP1\beta 3$ 增高,推测 $\beta 3$ 亚基可能通过免疫炎症途径参与CV的发病机制提供一定依据,并认为CV可能是由炎症因子介导的血管壁细胞外基质及平滑肌细胞收缩所造成的。

CV组患者Hunt-Hess分级高于非CV组患者,与既往研究一致,提示病情更严重的aSAH患者较容易并发CV,高Hunt-Hess分级是CV发病的高危因素。但本研究中两组患者在年龄上的差异并不显著,这与既往研究结论不一致,考虑与本研究涉及的病例数较少有关。但本研究初步证实了miRNA-3177-3p在CV患者脑脊液中表达下调致其目标基因 $ATP1B3$ 高表达,并在CV患者脑脊液中检测到翻译产物 $ATP1\beta 3$ 增高,笔者认为miRNA及其调控网络的分析有助于筛选出准确预测CV的生物标志物,因此研究仍具有一定临床意义。在CV治疗上,目前仍遵循密切监护、高脑灌注压、高血容量以及钙离子拮抗

药物等预防及治疗 CV 的原则,虽然大部分患者能平稳过渡至安全期,但仍缺乏阻断 CV 进展的特效药物,若能开发出特定 miRNA 的激动剂或模拟物将使其成为治疗 CV 的新思路。总之,CV 仍是临床上发病机制复杂、治疗棘手且可导致不良预后的疾病之一,亟需基础与临床研究的进一步深入以寻找新的诊疗思路。

#### 参 考 文 献

- [1] SNIDERSB, MIGDADYI, LAROSESL, et al. Transcranial-doppler-measured vasospasm severity is associated with delayed cerebral infarction after subarachnoid hemorrhage[J]. *Neurocrit Care*, 2022, 36(3): 815-821.
- [2] 毛群, 张建宁. 结合珠蛋白基因型与自发性蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2012, 39(3): 254-256.
- [3] RUMALLA K, LIN M, DING L, et al. Risk factors for cerebral vasospasm in aneurysmal subarachnoid hemorrhage: a population-based study of 8346 patients[J]. *World Neurosurg*, 2021, 145: e233-e241.
- [4] BURUIANĂ A, IFLORIAN SI, FLORIAN AI, et al. The roles of miRNA in glioblastoma tumor cell communication: diplomatic and aggressive negotiations[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(6): 1950.
- [5] SU LN, LI RQ, ZHANG ZQ, et al. Identification of altered exosomal microRNAs and mRNAs in Alzheimer's disease[J]. *Ageing Res Rev*, 2022, 73: 101497.
- [6] 李效丽. 进展型脑梗死患者 miRNA 的表达水平及临床意义[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2020, 47(2): 127-131.
- [7] LI HT, WANG J, LI SF, et al. Upregulation of microRNA-24 causes vasospasm following subarachnoid hemorrhage by suppressing the expression of endothelial nitric oxide synthase[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(1): 1181-1187.
- [8] STYLLI SS, ADAMIDES AA, KOLDEJ RM, et al. miRNA expression profiling of cerebrospinal fluid in patients with aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. *J Neurosurg*, 2017, 126(4): 1131-1139.
- [9] MRAZ M, MALINOVA K, MAYER J, et al. MicroRNA isolation and stability in stored RNA samples[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 390(1): 1-4.
- [10] LI M, YU B. Recent advances in the regulation of plant miRNA biogenesis[J]. *RNA Biol*, 2021, 18(12): 2087-2096.
- [11] WEN JL, CHEN ZH, ZHAO MM, et al. Cell deformation at the air-liquid interface evokes intracellular  $Ca^{2+}$  increase and ATP release in cultured rat urothelial cells[J]. *Front Physiol*, 2021, 12: 631022.
- [12] MACDONALD RL, WEIR B, ZHANG J, et al. Adenosine triphosphate and hemoglobin in vasospastic monkeys[J]. *Neurosurg Focus*, 1997, 3(4): e3.
- [13] POST RL, KUME S, TOBIN T, et al. Flexibility of an active center in sodium-plus-potassium adenosine triphosphatase[J]. *J Gen Physiol*, 1969, 54(1): 306-326.
- [14] MAGYAR JP, BARTSCH U, WANG ZQ, et al. Degeneration of neural cells in the central nervous system of mice deficient in the gene for the adhesion molecule on Glia, the beta 2 subunit of murine Na,K-ATPase[J]. *J Cell Biol*, 1994, 127(3): 835-845.
- [15] HILBERS F, KOPEC W, ISAKSEN TJ, et al. Tuning of the Na, K-ATPase by the beta subunit[J]. *Sci Rep*, 2016, 6(1): 20442.
- [16] TAKHEAW N, LAOPAJON W, SURINKAEW S, et al. Ligation of Na, K ATPase  $\beta 3$  subunit on monocytes by a specific monoclonal antibody mediates T cell hypofunction[J]. *PLoS One*, 2018, 13(6): e0199717.
- [17] CHRUEWKAMLOW N, PATA S, MAHASONGKRAM K, et al.  $\beta 3$  subunit of Na,K ATPase regulates T cell activation with no involvement of Na, K ATPase activity[J]. *Immunobiology*, 2015, 220(5): 634-640.
- [18] KUAI F, ZHOU JP, QIU YC, et al. FTY720 attenuates cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage through the PI3K/AKT/eNOS and NF- $\kappa$ B pathways in rats[J]. *Neurol India*, 2022, 70(4): 1517-1524.
- [19] FINDLAY JM, NISAR J, DARSAUT T. Cerebral vasospasm: a review[J]. *Can J Neurol Sci*, 2016, 43(1): 15-32.

责任编辑:王荣兵