【临床经验】

颈动脉狭窄患者血浆微小核 RNA 与脑内侧支循环建立的关联研究

荆丽萨[1]，彭　彬[2]，吴大玉[3]，杨雪莲[3]，周孝雯[1]，李龙宣[3]，黄丙仓[1]，陈　玮[1*]
（1. 上海市浦东新区公利医院影像科，上海 200135；2. 上海市浦东新区公利医院中心实验室，上海 200135；
3. 上海市浦东新区公利医院神经内科，上海 200135）

摘要：目的　探讨颈动脉狭窄患者血浆微小 RNA（micro ribonucleic acid，miR）分子水平与脑侧支循环形成的相关性。**方法**　本研究为横断面调查，入选 2017 年 1 月至 2018 年 10 月在上海公利医院经超声筛查确诊为颈动脉狭窄超过 30% 的患者 60 例。经脑数字减影血管造影，评估脑内侧支循环建立情况。实时荧光定量聚合酶链式反应法测定患者血浆中 miR-92-3p、miR-15a-3p、miR-16-3p、miR-126-3p、miR-210-3p 和 miR-132-3p 的表达水平。比较各组间一般临床资料及颈动脉狭窄程度、脑侧支循环是否建立与血浆 miR 水平的关系，并用多因素 logistic 回归和受试者工作特征曲线（receiver operating characteristic curve，ROC）分析血浆 miR 水平对颈动脉狭窄患者脑内侧支循环建立的预测能力。**结果**　按中华医学会《缺血性卒中侧支循环评估与干预中国指南（2017）》纳入狭窄＜ 50% 组 17 例、狭窄 50% ～ 70% 组 21 例以及狭窄＞ 70% 组 22 例，经性别、饮酒史及颈动脉狭窄程度校正后，logistic 回归结果显示，miR-92a-3p 是侧支循环建立的抑制因素［比值比（odds ratio，*OR*）＝ 0.21］，而 miR-126-3p、miR-132-3p 和 miR-210-3p 促进侧支循环建立（*OR* 分别为 6.10、1.91 和 3.09）。ROC 提示这 4 种 miR 对侧支循环开放具有预测效能（曲线下面积：0.918 ～ 0.942），其中 miR-126-3p 效能最高。**结论**　血浆中 miR-92、miR-126、miR-210 和 miR-132 的表达水平对颈动脉狭窄患者脑侧支循环建立均有一定的诊断价值。

关键词：颈动脉狭窄；侧支循环；微小核糖核酸；脑卒中
中图分类号：R743　　**文献标志码**：A　　**文章编号**：1672-9188（2023）01-0059-07
DOI：10.13683/j.wph.2023.01.010

Association studies on plasma microRNA and collateral circulation in patients with carotid stenosis

JIN Lisa[1], PENG Bin[2], WU Dayu[3], YANG Xuelian[3], ZHOU Xiaowen[1], LI Longxuan[3], HUANG Bincang[1], CHEN Wei[1*]
（*1. Department of Radiology, Gongli Hospital, Pudong New Area, Shanghai 200135, China; 2. Central Laboratory, Gongli Hospital, Pudong New Area, Shanghai 200135, China; 3. Department of Neurology, Gongli Hospital, Pudong New Area, Shanghai 200135, China*）

Abstract: ***Objection*** To investigate the correlation between plasma microRNAs（miR）and cerebral collateral circulation in patients with carotid stenosis. ***Methods*** In this cross-sectional study, 60 patients with carotid artery stenosis over 30% confirmed by ultrasound screening at Shanghai Gongli Hospital from Jan 2017 to Oct 2018 were enrolled. Cerebral digital subtraction angiography was used to evaluate the establishment of collateral circulation. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction was used to determine the expression levels of miR-92-3p, miR-15a-3p, miR-16-3p, miR-126-3p, miR-210-3p and miR-132-3p. The general clinical data, degree of carotid stenosis and the relationship between the establishment of cerebral collateral circulation and plasma miR level was compared among the three groups. Multivariate logistic regression and receiver operating characteristic curve（ROC）were used to analyze the predictive ability of plasma miR levels to establish cerebral collateral circulation in patients with carotid stenosis. ***Results*** According to the Guidelines

收稿日期：2021-10-28；修回日期：2022-11-18
作者简介：荆丽萨，主治医师，研究方向：脑血管病影像诊断。
通信作者：陈玮，副主任医师，研究方向：脑血管病影像诊断及介入治疗。
基金项目：上海市卫健委面上项目（201640396）；上海市医学重点专科资助（ZK2019A08）；上海市浦东新区卫生系统重点学科建设资助（PWZxk2017-26）

for Evaluation and Management of Cerebral Collateral Circulation in Ischemic Stroke (2017) by the Chinese Medical Association, 17 cases were included in the 30% - 50% carotid stenosis group, 21 cases in the 50% - 70% carotid stenosis group, and 22 cases in the 70% - 99% carotid stenosis group. After adjusting for gender, drinking history and degree of carotid stenosis, logistic regression results showed that miR-92A-3p was negatively correlated with collateral circulation [(odds ratio, *OR*) =0.21]. miR-126-3p, miR-132-3p and miR-210-3p were positively correlated with collateral circulation (*OR* were 6.10, 1.91 and 3.09). ROC suggested that these four miR had predictive efficacy for collateral circulation establishment (area under curve: 0.918 - 0.942), among which miR-126-3p had the highest efficacy. ***Conclusion*** The expression levels of miR-92, miR-126, miR-210 and miR-132 in plasma have certain diagnostic value for establishing cerebral collateral circulation in patients with carotid stenosis.

Key words: carotid stenosis; collateral circulation; microRNA; stroke

颈动脉狭窄是发生缺血性脑卒中的一个重要危险因素，及时有效的临床干预十分必要[1]，然而临床上选择手术或支架治疗，还是选择药物治疗（包括他汀类药物和抗血小板药物）降低脑卒中的发生风险成为焦点[2]。另一方面，研究显示，脑内侧支循环及血管新生的建立对缺血性脑卒中的发生、发展、治疗及预后具有保护作用[3]，因此，如何早期预测颈动脉狭窄患者脑内侧支循环的状况，是制定后续治疗方案和判断预后的关键，而对于脑卒中高发生风险者精准地实施药物强化治疗或侵入性手术治疗十分必要[4]。

微小 RNA（micro ribonucleic acids，miR）是一类内源性非编码单链 RNA 分子，通过抑制蛋白翻译或介导信使 RNA 降解，在转录后调控蛋白质合成，在生物的生理、病理过程中起到重要作用，并可调控血管新生[5]。基于 PubMed 数据库的检索结果显示，miR-126、miR-210 和 miR-132 等有促血管新生作用[6—8]，而 miR-92、miR-15/16 家族则抑制血管新生[9—11]。上海公利医院神经内科团队发现，在急性缺血性脑卒中早期检测血清中这些 miR 水平有助于间接反映缺血性脑卒中患者脑内侧支循环的状况，这些抑制或促血管新生的 miR，特别是促血管新生的 miR-126、miR-132 和 miR-210 是急性缺血性脑卒中侧支循环建立好坏的影响因素[12]。当颈动脉狭窄引起脑内缺血时，这些亚临床分子标志物水平是否与脑内侧支循环 / 新生血管的建立存在关联尚不清楚，本文将对此进行探讨。

1 资料与方法

1.1 研究对象

样本量计算：以 miR-126 为例计算本研究所需样本量，根据已有文献[13] 中 miR-126 在是否有侧支循环分组中的表达情况 [(14.76±11.91) pg/ml 比 (8.17±4.45) pg/ml]，power 设为 0.9，α 设为 0.05，在 PASS 软件中用分组 *t* 检验样本量计算模块计算得到需要是否有侧枝循环分组各 41 例。本研究的最后检测结果，将 miR-126 在不同侧支循环分组的表达量的均值和标准差输入 PASS 的 power 计算模块，得到本研究的实际 power 为 0.97。因此本研究的样本量满足研究设计设定的 power，支持最后的结论。

本研究于 2017 年 1 月至 2018 年 10 月在上海市公利医院连续纳入经超声筛查确诊为颈动脉狭窄超过 30% 的患者 60 例。

纳入标准：依据中华医学会外科分会血管外科学组《颈动脉狭窄诊治指南》[14]，经超声筛查确诊为颈动脉狭窄超过 30% 的患者，为准确评估血管狭窄程度及颅内侧支循环代偿情况，经患者及家属同意入院行全脑数字减影血管造影（digital subtraction angiography，DSA）。

排除标准：患者入院后经头颅 CT、MR 影像学及脑血管 DSA 检查，椎基底动脉（后循环系统）血管狭窄、颅内出血、颅内血管畸形及动脉瘤等病变被排除；同时询问病史及全身检查，剔除全身性感染、肿瘤、自身免疫性疾病和严重的心肺肝肾功能不全患者。

脱落标准：符合纳入标准，但拒绝入院接受脑血管 DSA 检查患者。

本研究获得公利医院伦理委员会批准［(2016)公利医院伦理审查号 glll-24］，入组患者或其家属均签署知情同意书。

1.2 主要观察指标

1.2.1 超声评价指标

按中华医学会外科分会血管外科学组《颈动脉狭窄诊治指南》[14]，采用北美症状性颈动脉内膜切除试验法评价颈动脉狭窄程度，根据颈动脉狭窄程度分为狭窄＜ 50%、狭窄 50% ～ 70% 及狭窄＞ 70% 共 3 组。

1.2.2 脑血管 DSA 检查指标

患者签署脑血管造影知情同意书，检查采用改良的经皮穿刺技术穿刺股动脉，以 5-F 的猪尾导管先行主动脉弓造影，观察弓上各大血管开口情况，然后以 5-F 的单弯导管分别行两侧颈总动脉、锁骨下动脉选择性脑血管造影。以 4 帧 /s 速率采集，充分显示动、静脉期的血管影像。在颈总动脉狭窄部位至少取正、侧两个方向进行造影，观察颈动脉狭窄病变的性质（如狭窄部位、狭窄程度）、对侧颈动脉、椎动脉和颅内大脑动脉环的完整性等。

脑内侧支循环建立的 3 级途径依据《缺血性卒中脑侧支循环评估与干预中国指南 (2017)》[15]：初侧支循环为通过大脑动脉环的血流代偿，是最重要的代偿途径；次级侧支循环为通过眼动脉、软脑膜吻合支及其他相对较小的侧支与侧支吻合支之间实现的血流代偿；3 级侧支循环属于新生血管，多在缺血后一段时间才形成。

每级侧支循环的评估依照美国神经介入和治疗神经放射学会 / 介入放射学会方法分为 4 级[16]。0 级：没有侧支血流到缺血区域；1 级：缓慢的侧支血流到缺血周边区域，伴持续的灌注缺陷；2 级：快速的侧支血流到缺血周边区域，伴持续的灌注缺陷，仅有部分到缺血区域；3 级：静脉晚期可见缓慢但是完全的血流到缺血区域；4 级：通过逆行灌注血流快速而完全的灌注到整个缺血区域。由 2 名高级职称医师对造影结果分别进行评估得出结论，0 ～ 1 级视为无侧支循环；2 ～ 4 级视为有侧支循环。

1.2.3 RNA 抽提和 miR 表达检测指标

在入组时，所有患者抽取空腹外周静脉血 6 ml 置于 EDTA 抗凝管。1 h 内分离血浆后再次高速离心，去除细胞碎片，吸取上清，收集血浆置入 −80 ℃冰箱保存。按文献[17]报道方法，用 Trizol LS 试剂（购自美国 Ambion 公司），按试剂操作说明抽提各样本血浆中总 RNA，应用荧光探针逆转录试剂盒（购自美国 Applied Biosystems 公司）按操作说明进行逆转录。通过实时荧光定量聚合酶链式反应法测定 miR-92-3p、miR-15a-3p、miR-16-3p、miR-126-3p、miR-210-3p 和 miR-132-3p 的表达（使用荧光探针试剂盒，购自美国 Applied Biosystems 公司），内参选择 U6。通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法测定 miR 相对表达量，每例受试者至少测定 3 次。

1.3 次要观察指标

详细采集入组患者的临床资料，包括性别、年龄、高血压史、糖尿病史、高脂血症史、心脏病史、既往脑梗史、吸烟史及饮酒史等。

1.4 统计学方法

采用 SPSS25 软件进行数据处理及统计分析。本研究中 miR 和年龄为连续变量且符合正态分布，故以 $(\bar{x}\pm s)$ 差表示，两组间差异比较采用 t 检验（侧支循环分组），多组间差异采用方差分析及多重比较检验（劲动脉狭窄程度分组）。其他分类变量以 n(%) 表示，采用 χ^2 检验或 Fisher 检验来分析。多因素分析采用 logistic 回归模型分析，并绘制模型受试者工作特征曲线 (receiver operating characteristic curve，ROC)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

符合条件入组的颈动脉狭窄患者共 60 例，其中男性 49 例 (81.67%)，年龄范围 38 ～ 83 岁，平均年龄 (66.69±7.65) 岁；女性 11 例 (18.33%)，年龄

范围 50 ～ 77 岁，平均年龄（65.82±7.65）岁。各组颈动脉狭窄患者在男女构成比例上有显著差异（$P < 0.05$）；颈动脉狭窄≥ 50% 与狭窄＜ 50% 时，颅内出现小梗塞灶有显著差异（$P < 0.01$）；饮酒史在颈动脉狭窄＞ 70% 与≤ 70% 患者中有显著差异（$P < 0.05$），同时在有无侧支循环开放的患者中存在显著差异（$P < 0.05$）。其余特征如年龄、心脏病史、高血压史、高血脂史、糖尿病史及吸烟史等在不同颈动脉狭窄程度以及有无侧支循环患者中均无显著差异（$P > 0.05$），详见表 1。

2.2 颈动脉狭窄程度和侧支循环建立的关联

χ^2 分析结果显示，颈动脉狭窄程度与侧支循环有无开放存在显著关联性（$P < 0.001$）。在校正表 1 中的性别、颅内小梗塞和饮酒史等可能的混杂因素后，以颈动脉狭窄程度分组为连续变量，采用 logistic 回归分析，结果显示，颈动脉狭窄程度与侧支循环有无开放仍然存在显著关联性（$P < 0.001$），见表 2。

2.3 血浆 miR 与颈动脉狭窄程度和侧支循环的关联

结果显示，血浆 miR-92a-3p 表达水平与颈动脉狭窄程度存在显著关联性（$P < 0.01$），血浆 miR-132-3p、miR-210-3p 水平与颈动脉狭窄程度存在显著关联性（$P < 0.05$）；血浆 miR-16-3p、miR-92a-3p、miR-126-3p、miR-132-3p 和 miR-210-3p 水平与脑内侧支循环是否建立有显著关联性（$P < 0.01$），见表 3。

表 2 颈动脉狭窄程度和侧支循环的关联性

Table 2 Correlation between degree of carotid stenosis and collateral circulation

颈动脉狭窄程度	侧支循环		χ^2值	$P_{未校正}$值	$P_{校正后}$值
	无（n=32）	有（n=28）			
＜50%（n=17）	17（53.13）	0（0.00）			
50%～70%（n=21）	11（34.38）	10（35.71）	25.81	＜0.001	＜0.001
＞70%（n=22）	4（12.50）	18（64.29）			

经对性别、饮酒史及颈动脉狭窄程度等混杂因素进行校正后，miR 对侧支循环预测的 logistic 回归结果显示，miR-92a-3p、miR-126-3p、miR-132-3p 和 miR-210-3p 水平均是颈动脉狭窄后脑内侧支循环开放与否的影响因素，其中 miR-92a-3p 水平与侧支循环建立呈负相关［比值比（odds ratio，OR）= 0.21］；而 miR-126-3p、miR-132-3p 和 miR-210-3p 水平与侧支循环建立呈正相关（OR 分别为 6.10、1.91 和 3.09），其中 miR-126-3p 水平关联性最大，ROC 曲线提示这 4 种 miR 对侧支循环开放均具有预测效能，详见表 4、图 1。

表 1 不同颈动脉狭窄程度和侧支循环患者的临床一般特征差异

Table 1 Clinical characteristics of patients with different degrees of carotid stenosis and collateral circulation

临床特征	合计（n=60）	颈动脉狭窄程度					侧支循环			
		＜50%（n=17）	50%～70%（n=21）	＞70%（n=22）	$\chi^2/F/t$值	P值	无（n=32）	有（n=28）	χ^2/t值	P值
性别/n（%）										
男	49（81.67）	12（70.59）	15（71.43）	22（100.00）	7.80	0.020	24（75.00）	25（89.29）	1.19	0.275
女	11（18.33）	5（29.41）	6（28.57）	0（0.00）			8（25.00）	3（10.71）		
年龄/岁	66.53±7.59	66.59±7.62	64.24±9.10	68.68±5.35	1.89	0.159	67.16±7.58	65.82±7.68	−0.67	0.502
颅内小梗塞/n（%）	55（91.67）	12（70.59）	21（100.00）	22（100.00）	13.79	0.001	27（84.38）	28（100.00）	2.94	0.086
心脏病史/n（%）	11（18.33）	2（11.76）	4（19.05）	5（22.73）	0.78	0.677	7（21.88）	4（14.29）	0.17	0.672
高血压/n（%）	51（85.00）	13（76.47）	17（80.95）	21（95.45）	3.12	0.210	25（78.13）	26（92.86）	1.51	0.218
高血脂/n（%）	13（21.67）	4（23.53）	4（19.05）	5（22.73）	0.13	0.935	7（21.88）	6（21.43）	0	1
糖尿病/n（%）	18（30.00）	5（29.41）	9（42.86）	4（18.18）	3.11	0.210	8（25.00）	10（35.71）	0.38	0.534
吸烟史/n（%）	34（56.67）	9（52.94）	12（57.14）	13（59.09）	0.15	0.927	17（53.13）	17（60.71）	0.10	0.741
饮酒史/n（%）	9（18.00）	1（5.88）	1（4.76）	7（31.82）	7.71	0.021	1（3.13）	8（28.57）	5.71	0.017

表 3 不同颈动脉狭窄程度和侧支循环患者的血浆 miR 水平差异

Table 3 Differences of plasma miR levels in patients with different degrees of carotid artery stenosis and collateral circulation

miR	合计（n=60）	颈动脉狭窄程度			F值	P值	侧支循环		t值	P值
		＜50%（n=17）	50%～70%（n=21）	＞70%（n=22）			无（n=32）	有（n=28）		
15a-3p	1.66±0.59	1.76±0.69	1.65±0.60	1.60±0.49	0.38	0.681	1.78±0.62	1.53±0.52	−1.67	0.106
16-3p	1.05±0.60	1.20±0.64	1.18±0.65	0.82±0.48	2.71	0.075	1.26±0.60	0.81±0.53	−3.01	0.004
92a-3p	1.55±0.80	1.70±0.56	1.94±0.67	1.09±0.84	7.87	0.001	1.95±0.65	1.09±0.71	−4.84	＜0.001
126-3p	1.49±0.67	1.37±0.65	1.44±0.59	1.63±0.74	0.87	0.424	1.22±0.60	1.82±0.59	3.84	＜0.001
132-3p	2.76±2.33	1.94±1.63	2.26±1.90	3.85±2.77	4.37	0.017	1.73±1.24	3.99±2.72	3.97	＜0.001
210-3p	2.22±1.42	1.61±0.97	2.02±1.28	2.88±1.61	4.66	0.013	1.54±0.82	3.03±1.57	4.42	＜0.001

表 4 经性别、饮酒史、颈动脉狭窄程度校正后 miR 对侧支循环预测的 logistic 回归结果

Table 4 Logistic regression results of miR prediction of collateral circulation after adjusting for gender, drinking history and degree of carotid artery stenosis

miR	β值	标准误	z值	P值	OR	95%置信区间
15a-3p	−0.79	0.66	−1.19	0.230	0.45	0.11～1.62
16-3p	−1.12	0.68	−1.63	0.101	0.32	0.07～1.17
92a-3p	−1.55	0.62	−2.50	0.012	0.21	0.05～0.63
126-3p	1.81	0.67	2.69	0.007	6.10	1.85～27.33
132-3p	0.65	0.27	2.37	0.018	1.91	1.19～3.61
210-3p	1.12	0.43	2.59	0.009	3.09	1.47～8.57

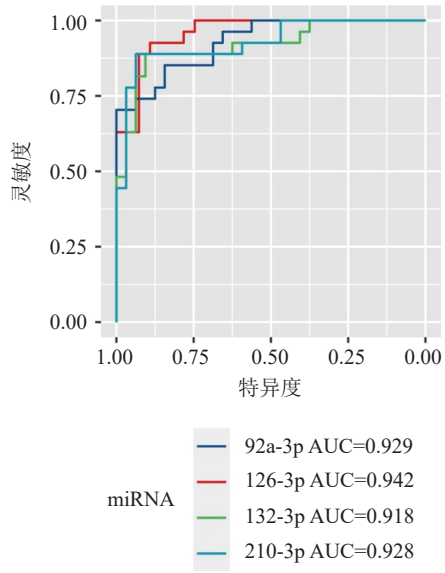


图 1 miR 预测侧支循环多变量 logistic 回归模型 ROC 曲线

Figure 1 ROC curve of miR prediction collateral circulation multivariate Logistic regression model

3 讨论

本研究结果显示，在校正性别、颅内小梗塞和饮酒史等可能的混杂因素后，颈动脉狭窄程度与脑内侧支循环建立密切相关，颈动脉狭窄＞ 70% 组的脑内侧支循环的建立程度较其他两组明显增加；同时经过对性别、饮酒史及颈动脉狭窄程度等混杂因素进行校正后，miR 对侧支循环预测的 logistic 回归结果显示，miR-92a、miR-126、miR-132 和 miR-210 均是颈动脉狭窄后脑内侧支循环开放与否的影响因素；miR-92a 与侧支循环建立呈负相关，而 miR-126、miR-132 和 miR-210 与侧支循环建立呈正相关，其中 miR-126 关联性最大，ROC 提示这 4 种 miR 对侧支循环开放均具有预测效能。

颈动脉狭窄导致缺血性脑卒中的主要原因为狭窄部位栓子脱落和颅内局部灌注不足[18]。本研究中，当患者颈动脉狭窄超过 50% 以后，颅内出现小梗塞灶的风险明显增加，但临床上颈动脉狭窄引起缺血性脑卒中的个体差异较大[19]，脑内侧支循环的建立是对颈动脉狭窄后颅内局部低灌注的一种重要代偿，可以改善脑血流灌注，减少缺血事件的发生[20]。本组资料也佐证显示，颈动脉狭窄程度与侧支循环建立存在关联性，随狭窄程度上升侧支循环建立的可能性上升，这是脑内缺血的一种自我保护机制。

本研究中，经过对性别、饮酒史及颈动脉狭窄程度等混杂因素进行修正后，logistic 回归结果显示，miR-92a 与侧支循环建立呈负相关，而 miR-126、miR-132 和 miR-210 与侧支循环建立呈正相关，ROC

提示这 4 种 miR 在颈动脉狭窄＞ 30% 时，对侧支循环是否开放具有预测效能。研究显示，miR 在血管内皮细胞和血管平滑肌细胞特异性表达，通过调控细胞增殖、分化、凋亡及应激反应等，在血管新生中发挥重要作用 [21]。miR-126、miR-210 和 miR-132 有促血管新生作用，而 miR-92 则抑制血管新生，所有这些 miR 都与炎症、血管生成、内皮和血管平滑肌细胞分化等过程有关 [22—24]。miR-126 通过血管内皮生长因子信号传导参与内皮细胞的分化和血管生成 [6]；miR-210 是低氧条件下低氧诱导因子 -1 介导的血管生成介质，被认为是血管平滑肌细胞和内皮细胞生物学的调节器，有助于内皮功能障碍的改善和血管重构，并在血管损伤后促新生内膜增生 [7]；miR132 参与血管平滑肌细胞的迁移和增殖 [8]；而 miR-92a 通过干扰结合和氧化低密度脂蛋白抑制血管内皮细胞增殖 [9]。

本研究结果显示，miR-126 与侧支循环建立的正关联性最大（*OR* ＝ 6.10，曲线下面积为 0.942）。研究显示，miR-126 主要在血管内皮细胞表达，在调节内皮细胞功能，控制血管生成和维持血管完整性中起着关键作用 [5]。miR-126 能促进血管重塑，抑制多个器官的纤维化，据报道对治疗动脉粥样硬化和再狭窄有益 [25]。循环系统中的 miR-126 表达水平是反映全身炎症和血管生成状态的指标，在缺血性脑卒中和急性心肌梗死患者中，血 miR-126 水平明显降低 [26]。上调 miR-126 可促进内皮细胞增殖和血管生成，并促进心脏新血管形成，改善心脏功能。文献 [27] 报道和本研究结果均提示，血浆 miR 具有极强的稳定性，在体内不受诸多临床因素的影响，如年龄、性别等，在体外 −80 ℃环境储存不会引起血浆 miR 水平的降低，且其表达具有显著的组织特异性，这些特点提示 miR-126 或能作为评估颈动脉狭窄后脑侧支循环建立的诊断及预后判断等的生物标志物，且可能成为药物治疗的潜在有效靶点和治疗手段。

本组病例在一般临床特征中显示，性别在颈动脉狭窄程度上具有统计学差异，可能的原因除遗传差异外，抑或与男女性在生活方式上的差异有关，今后的研究应该进一步采集遗传以及其他潜在因素相关信息。本研究还显示，饮酒史在颈动脉狭窄程度和是否建立侧支循环上均具有统计学差异。既往研究显示，酒精对血管硬化具有双向作用，既能促进血管壁动脉粥样硬化，又能诱导血管内皮生长因子表达，并刺激血管生成 [28]，本研究样本数较少，对于这种解释须谨慎。

本研究仍存在一些局限性需要指出。首先，本组病例，显示 miR-92a、miR-132 及 miR-210 表达水平与颈动脉狭窄程度存在显著关联性，但由于 miR 影响血管壁调节的信号通路非常复杂，可能与脑内侧支循环的生成或其他一些未知因素有关，故这种相关性目前难以解释，须做进一步研究；其次，本研究是单中心横断面研究，样本量较少，且只采集了单一时间点的血液样本，miR 在血液中的代谢水平并非稳定不变的，今后研究应该通过动态监测评估 miR 与侧支循环建立的关联；最后，miR 作为侧支循环诊断标志物具有良好的诊断价值，但其与侧支循环建立的因果关系的探究仍然需要进一步的前瞻性研究和实验室证据。

4 结论

综上所述，颈动脉狭窄所致脑内侧支循环的建立是脑灌注不足的一种重要代偿机制，在颈动脉狭窄 70% 以上患者中，脑内侧支循环形成明显，miR-92a、miR-126、miR-132 和 miR-210 均是颈动脉狭窄后脑内侧支循环开放与否的影响因素；miR-92a 与侧支循环建立呈负相关，而 miR-126、miR-132 和 miR-210 与侧支循环建立呈正相关，其中 miR-126 关联性最大，这 4 种 miR 对侧支循环开放均具有一定的诊断价值。

参考文献：

[1] Rajamani K, Chaturvedi S. Stroke prevention-surgical and interventional approaches to carotid stenosis[J]. Neurotherapeutics, 2011, 8(3): 503-514.

[2] Abbott AL. Medical (nonsurgical) intervention alone is now best for prevention of stroke associated with asymptomatic severe carotid stenosis: results of a systematic review and analysis[J]. Stroke, 2009, 40(10): e573-e583.

[3] Bang OY, Saver JL, Kim SJ, *et al*. Collateral flow predicts response to endovascular therapy for acute ischemic stroke[J]. Stroke, 2011, 42(3): 693-699.

[4] Badacz R, Przewłocki T, Gacoń J, *et al*. Circulating miRNA levels differ with respect to carotid plaque characteristics and symptom occurrence in patients with carotid artery stenosis and provide information on future cardiovascular events[J]. Postepy Kardiol Interwencyjnej, 2018, 14(1): 75-84.

[5] Mishra PK, Tyagi N, Kumar M, *et al*. MicroRNAs as a therapeutic target for cardiovascular diseases[J]. J Cell Mol Med, 2009, 13(4): 778-789.

[6] Chen J, Cui C, Yang X, *et al*. MiR-126 affects brain-heart interaction after cerebral ischemic[J]. Transl Stroke Res, 2017, 8(4): 374-385.

[7] Raju S, Fish JE, Howe KL, *et al*. MicroRNAs as sentinels and protagonists of carotid artery thromboembolism[J]. Clin Sci (Lond), 2020, 134(2): 169-192.

[8] Anand S, Majeti BK, Acevedo LM, *et al*. MicroRNA 132 mediated loss of p120R as GAP activates the endothelium to facilitate pathological angiogenesis[J]. Nat Med, 2010, 16(8): 909-914.

[9] Loyer X, Potteaux S, Vion AC, *et al*. Inhibition of microRNA-92a prevents endothelial dysfunction and atherosclerosis in mice[J]. Circ Res, 2014, 114(3): 434-443.

[10] Spinetti G, Fortunato O, Caporali A, *et al*. MicroRNA-15a and microRNA-16 impair human circulating proangiogenic cell functions and are increased in the proangiogenic cells and serum of patients with critical limb ischemia[J]. Circ Res, 2013, 112(2): 335-346.

[11] Yin KJ, Olsen K, Hamblin M, *et al*. Vascular endothelial cell-specific microRNA-15a inhibits angiogenesis in hindlimb ischemia[J]. J Biol Chem, 2012, 287(32): 27055-27064.

[12] 彭彬, 吴大玉, 孙家兰, 等. 急性脑梗死早期血中 miRNAs 水平与脑侧支循环建立的关系[J]. 中风与神经疾病杂志, 2016, 33(2): 100-103.

[13] Hao X, Wang S, Jiang C, *et al*. The relation between plasma miR-126 levels and cerebral collateral circulation in patients with intracranial arterial stenosis[J]. Neurol Neurochir Pol, 2021, 55(3): 281-288.

[14] 陈忠, 杨耀过. 颈动脉狭窄诊治指南[J]. 中国血管外科杂志(电子版), 2017, 9(3): 169-175.

[15] 中国卒中学会脑血流与代谢分会. 缺血性卒中脑侧支循环评估与干预中国指南(2017)[J]. 中华内科杂志, 2017, 56(6): 460-471.

[16] Bang OY, Saver JL, Buck BH, *et al*. Impact of collateral flow on tissue fate in acute ischaemic stroke[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2008, 79(6): 625-629.

[17] Svec D, Tichopad A, Novosadova V, *et al*. How good is a PCR efficiency estimate: recommendations for precise and robust qPCR efficiency assessments[J]. Biomol Detect Quantif, 2015, 3: 9-16.

[18] Romero JR. Prevention of ischemic stroke: overview of traditional risk factors[J]. Curr Drug Targets, 2007, 8(7): 794-801.

[19] José R, Pikula A, Nguyen TN, *et al*. Cerebral collateral circulation in carotid artery disease[J]. Curr Cardiol Rev, 2009, 5(4): 279-288.

[20] Marks MP, Lansberg MG, Mlynash M, *et al*. Effect of collateral blood f low on patients undergoing endovascular therapy for acute ischemic stroke[J]. Stroke, 2014, 45(4): 1035-1039.

[21] Ciesla M, Skrzypek K, Kozakowska M, *et al*. MicroRNAs as biomarkers of disease onset[J]. Anal Bioanal Chem, 2011, 401(7): 2051-2061.

[22] Hartmann P, Zhou Z, Natarelli L, *et al*. Endothelial Dicer promotes atherosclerosis and vascular inflammation by miRNA-103-mediated suppression of KLF4[J]. Nat Commun, 2016, 7: 10521.

[23] Chen T, Margariti A, Kelaini S, *et al*. MicroRNA-199b modulates vascular cell fate during iPS cell differentiation by targeting the Notch ligand Jagged1 and enhancing VEGF signaling[J]. Stem Cells, 2015, 33(5): 1405-1418.

[24] Chistiakov DA, Sobenin IA, Orekhov AN, *et al*. Human miR-221/222 in physiological and atherosclerotic vascular remodeling[J]. Biomed Res Int, 2015, doi: 10.1155/2015/354517.

[25] Schober A, Nazari-Jahantigh M, Wei Y, *et al*. MicroRNA-126-5p promotes endothelial proliferation and limits atherosclerosis by suppressing Dlk1[J]. Nat Med, 2014, 20(4): 368-376.

[26] Chen F, Du Y, Esposito E, *et al*. Effects of focal cerebral ischemia on exosomal versus serum miR126[J]. Transl Stroke Res, 2015, 6(6): 478-484.

[27] Ren J, Zhang J, Xu N, *et al*. Signature of circulating miRNAs as potential biomarkers in vulnerable coronary artery disease[J]. PLoS, 2013, 8(12): e80738.

[28] Koerselman J, de Jaegere PP, Verhaar MC, *et al*. Coronary collateral circulation: the effects of smoking and alcohol[J]. Atherosclerosis, 2007, 191(1): 191-198.

(编辑：王 佳)