

引用本文: 刘杰. 大动脉粥样硬化型脑梗死中性粒细胞与淋巴细胞比值对静脉溶栓后出血转化的预测价值及神经功能预后的影响[J]. 安徽医药, 2023, 27(4): 786-790. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2023.04.035.

◇临床医学◇



大动脉粥样硬化型脑梗死中性粒细胞与淋巴细胞比值对静脉溶栓后出血转化的预测价值及神经功能预后的影响

刘杰

作者单位: 新乡医学院第三附属医院神经内科, 河南 新乡 453000

摘要: **目的** 检测大动脉粥样硬化型脑梗死外周血中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)对静脉溶栓后出血转化(HT)的预测价值及对神经功能预后的影响。**方法** 选取2013年6月至2021年6月在新乡医学院第三附属医院接受静脉溶栓治疗的大动脉粥样硬化型脑梗死病人147例,根据静脉溶栓后是否发生HT,将病人分为non-HT组($n=105$)和HT组($n=42$)。比较两组病人的一般临床资料,logistic多因素回归分析影响HT发生的危险因素,受试者工作曲线(ROC)评估NLR、收缩压、心房颤动和脑梗死体积 $\geq 10\text{ cm}^3$ 单独及联合预测HT发生的临床价值。根据NLR预测HT发生的临界值将病人分为NLR高水平组和NLR低水平组,比较两组病人出院后90 d神经功能预后不良率。**结果** HT组病人年龄、收缩压、中性粒细胞(0.8 ± 0.2) $\times 10^9/\text{L}$ 、NLR 7.4 ± 0.3 、谷草转氨酶(AST)(29.4 ± 6.3)U/L和美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分(6.2 ± 1.7)分高于non-HT组(0.6 ± 0.4) $\times 10^9/\text{L}$ 、 2.1 ± 0.3 、(21.6 ± 5.4)U/L和(2.3 ± 0.6)分,淋巴细胞计数(0.1 ± 0.0) $\times 10^9/\text{L}$ 低于non-HT组(0.3 ± 0.1) $\times 10^9/\text{L}$,差异有统计学意义($P<0.05$)。收缩压、心房颤动、NLR和脑梗死体积 $\geq 10\text{ cm}^3$ 为影响HT发生的独立危险因素。NLR预测HT发生的曲线下面积为0.90,大于收缩压、心房颤动和脑梗死体积 $\geq 10\text{ cm}^3$ 预测HT发生的曲线下面积(0.72、0.74、0.82),差异有统计学意义($Z=5.33$ 、 5.02 、 4.36 ,均 $P<0.05$),联合预测HT发生的曲线下面积为0.94,大于NLR、收缩压、心房颤动和脑梗死体积 $\geq 10\text{ cm}^3$ 单独预测($Z=3.25$ 、 6.33 、 6.03 和 5.15 ,均 $P<0.05$)。NLR高水平组神经功能预后不良率46.5%高于NLR低水平组14.4%,差异有统计学意义($\chi^2=17.27$, $P<0.001$)。**结论** NLR水平增加是大动脉粥样硬化型脑梗死静脉溶栓后HT发生的独立危险因素,且对HT具有一定的预测价值,并影响神经功能预后。

关键词: 脑梗死; 动脉粥样硬化; 中性粒细胞与淋巴细胞比值; 出血转化; 预后

The predictive value of neutrophil to lymphocyte ratio in patients with large atherosclerotic cerebral infarction to hemorrhage transformation after intravenous thrombolysis and the influence on the prognosis of neurological function

LIU Jie

Author Affiliation: Department of Neurology, Third Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang, Henan 453000, China

Abstract: **Objective** To detect the predictive value of neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) in peripheral blood of large atherosclerotic cerebral infarction on hemorrhagic transformation (HT) after intravenous thrombolysis and its influence on the prognosis of neurological function. **Methods** A total of 147 patients with large atherosclerotic cerebral infarction who received intravenous thrombolysis in our hospital from June 2013 to June 2021 were collected. According to whether HT occurred after intravenous thrombolysis, the patients were divided into non-HT group ($n=105$) and HT group ($n=42$). The general clinical data of the two groups were compared, logistic multivariate regression was used to analyze the risk factors affecting the occurrence of HT, receiver operating curve (ROC) was used to evaluate the clinical value of NLR in predicting the occurrence of HT. According to the critical value of NLR to predict the occurrence of HT, patients were divided into NLR high-level group and NLR low-level group, and the poor prognosis rate of neurological function of the two groups was compared 90 days after discharge. **Results** Age, systolic blood pressure, neutrophils (0.8 ± 0.2) $\times 10^9/\text{L}$, NLR (7.4 ± 0.3), aspartate aminotransferase (AST) (29.4 ± 6.3) U/L and National Institutes of Health Stroke Scale (NIHSS) score (6.2 ± 1.7) in HT group were higher than those in non-HT group (0.6 ± 0.4) $\times 10^9/\text{L}$, (2.1 ± 0.3), (21.6 ± 5.4) U/L and (2.3 ± 0.6), while lymphocyte count (0.1 ± 0.0) $\times 10^9/\text{L}$ was lower than that of non-HT group (0.3 ± 0.1) $\times 10^9/\text{L}$, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). Systolic blood pressure, atrial fibrillation, NLR and cerebral infarction volume $\geq 10\text{ cm}^3$ were independent risk factors that affect the occurrence of HT. The area under the curve predicted by NLR for HT occurrence was 0.90, which was greater than that predicted by the volume of contraction, atrial fibrillation and cerebral infarction $\geq 10\text{ cm}^3$ (0.72, 0.74, 0.82), the difference was statistically significant ($Z=5.33$, 5.02 , 4.36 , All $P<0.05$). The combined area under the curve for predicting the occurrence of HT was 0.943, which was greater

than that predicted by NLR, systolic blood pressure, atrial fibrillation and cerebral infarction volume $\geq 10 \text{ cm}^3$ alone ($Z=3.25, 6.33, 6.03$ and 5.15 , all $P<0.05$). The poor prognosis rate of neurological function in the high-level NLR group was 46.5% , which was significantly higher than that in the low-level NLR group 14.4% , and the difference was statistically significant ($\chi^2=17.27, P<0.001$). **Conclusion** The increase of NLR level is an independent risk factor for the occurrence of HT after intravenous thrombolysis of large atherosclerotic cerebral infarction and has a certain predictive value for HT, and affects the prognosis of neurological function.

Key words: Brain infarction; Atherosclerosis; Neutrophil to lymphocyte ratio; Hemorrhagic transformation; Prognosis

急性脑梗死是继心血管疾病和癌症之后致残和死亡的第三大原因^[1]。目前治疗脑梗死的金标准是再灌注,其中包括静脉注射重组组织纤溶酶原激活剂(recombinant tissue plasminogen activator, rt-PA)和血管内治疗^[2]。出血转化(hemorrhagic transformation, HT)是指脑梗死后血液从血管中渗出,发生率约为 $10\%\sim 40\%$ ^[3-6]。静脉溶栓治疗有助于改善脑梗死的临床结果,但有研究显示溶栓后 HT 的发生风险更高^[7]。因此 HT 的早期预测对于指导缺血性脑卒中的精准治疗,避免不良神经功能恢复和不良预后具有重要的临床价值。脑梗死导致大脑组织供血和供氧不足,从而使炎症诱导的多种级联反应进一步诱发脑损伤,炎症因子直接或间接地诱发 HT^[8-9]。外周血循环中的白细胞、中性粒细胞是缺血性脑损伤的重要介质,特定的淋巴细胞亚型在炎症和脑保护中起关键作用^[10]。中性粒细胞与淋巴细胞的比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)比单个中性粒细胞或淋巴细胞计数更好地反映了脑梗死病人的炎症状态^[11]。既往研究显示,不同的脑梗死亚型 HT 的发率有一定差异,心源性栓塞的 HT 发生率最高、其次为大动脉粥样硬化型和小动脉闭塞型^[12]。大动脉粥样硬化型脑梗死是缺血性脑梗死的主要类型,发病率最高,因此本研究探讨 NLR 对影响大动脉粥样硬化型脑梗死溶栓治疗后 HT 的预测价值及对神经功能预后的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 6 月至 2021 年 6 月在新乡医学院第三附属医院接受治疗的大动脉粥样硬化型脑梗死 147 例,根据静脉溶栓后是否发生 HT,将病人分为未发生 HT(non-HT)组($n=105$)和 HT 组($n=42$)。纳入标准:①入院后均确诊为大动脉粥样硬化型脑梗死^[13];②症状出现 $<6 \text{ h}$;③缺血性卒中导致的神经功能缺损;④年龄 ≥ 18 岁。排除标准:①颅内出血或有既往颅内出血史;②近 3 个月有头颅外伤或卒中史;③合并颅内肿瘤;④有主动脉夹层;⑤血压升高:收缩压 $\geq 180 \text{ mmHg}$ 或舒张压 $\geq 100 \text{ mmHg}$;⑥有急性出血倾向,包括血小板计数低于 $100\times 10^9/\text{L}$;⑦合并免疫缺陷的病人。病人或其近亲属知情同意,本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 资料收集 收集入院时的临床资料包括病人的年龄、性别、收缩压、舒张压和血糖。询问既往病史包括:脑梗死、高血压、糖尿病、心房颤动、高脂血症、冠心病和心功能不全。收集清晨空腹血,采用全自动生化分析仪检测病人三酰甘油(triglycerides, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、血清同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)、中性粒细胞、淋巴细胞、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、血肌酐(serum creatinine, Scr)和血小板,根据中性粒细胞和淋巴细胞计数计算 NLR。入院后评估美国国立卫生研究院卒中量表(national institute of health stroke scale, NIHSS)评分,常规头颅磁共振检测评估脑梗死体积。

1.3 静脉溶栓治疗 采用重组组织性纤溶酶原激活剂(购于德国勃林格英格翰公司,50 毫克/支)静脉溶栓治疗,使用剂量为 0.9 mg/kg , 10% 剂量静脉推注 1 min,剩余剂量连续静脉泵入 60 min,最大剂量不超过 90 mg。

1.4 神经功能预后评估 病人出院后 90 d 进行随访,根据改良 Rankin 量表(modified Rankin scale, mRS)评分, mRS 为 0~2 分的病人定义为神经功能预后良好组, 3~6 分的病人定义为神经功能预后不良组。

1.5 统计学方法 SPSS 21.0 统计软件。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料采用例(%)表示,两组比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法;多因素 logistic 回归分析影响 HT 发生的危险因素,受试者操作特征曲线(ROC 曲线)评估收缩压、心房颤动、NLR 和脑梗死体积 $\geq 10 \text{ cm}^3$ 预测 HT 发生的临床价值,曲线下面积比较采用 Z 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组间资料的比较 HT 组年龄、收缩压、中性粒细胞计数、NLR、AST 和 NIHSS 评分高于 non-HT 组,淋巴细胞低于 non-HT 组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表1 大动脉粥样硬化型脑梗死 147 例一般资料比较

组别	例数	年龄/ (岁, $\bar{x} \pm s$)	性别 (男/女)/例	BMI/ (kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	收缩压/(mmHg, $\bar{x} \pm s$)	舒张压/(mmHg, $\bar{x} \pm s$)	血糖/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)
non-HT 组	105	59.3±6.5	74/31	23.5±2.6	152.3±8.4	82.6±5.4	6.5±2.1
HT 组	42	63.4±7.4	31/11	23.9±2.4	162.4±6.7	84.0±3.7	6.7±2.3
$t(\chi^2)$ 值		3.92	(0.16)	2.06	3.63	2.54	0.87
P 值		0.010	0.686	0.078	0.010	0.083	0.254

组别	脑梗死史/ 例(%)	高血压/例(%)	糖尿病/例(%)	心房颤动/例(%)	高脂血症/ 例(%)	冠心病/例(%)	TG/(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)
non-HT 组	12(8.2)	68(64.8)	39(37.1)	8(7.6)	37(35.2)	13(12.4)	1.8±0.6
HT 组	4(2.7)	28(67.7)	14(33.3)	8(19.0)	13(31.0)	6(14.3)	1.7±0.5
$t(\chi^2)$ 值	(0.11)	(0.05)	(0.19)	(4.04)	(0.25)	(0.10)	1.25
P 值	0.738	0.827	0.664	0.044	0.620	0.756	0.098

组别	TC/ (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	LDL-C/ (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	HDL-C/ (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	Hcy/(μmol/L, $\bar{x} \pm s$)	中性粒细胞/ (10 ⁹ /L, $\bar{x} \pm s$)	淋巴细胞/ (10 ⁹ /L, $\bar{x} \pm s$)	NLR/ $\bar{x} \pm s$
non-HT 组	4.7±0.8	2.9±0.8	1.2±0.4	8.5±2.1	0.6±0.4	0.3±0.1	2.1±0.3
HT 组	4.8±0.6	2.8±0.7	1.4±0.5	8.7±2.0	0.8±0.2	0.1±0.0	7.4±0.3
t 值	1.87	0.94	1.47	2.65	2.94	3.53	5.36
P 值	0.084	0.108	0.094	0.063	0.043	0.012	<0.001

组别	AST/ (U/L, $\bar{x} \pm s$)	ALT/ (U/L, $\bar{x} \pm s$)	BUN/ (μmol/L, $\bar{x} \pm s$)	SCr/(μmol/L, $\bar{x} \pm s$)	血小板/(10 ⁹ /L, $\bar{x} \pm s$)	NIHSS 评分/ (分, $\bar{x} \pm s$)	脑梗死体积≥ 10 cm ³ /例(%)
non-HT 组	21.6±5.4	25.3±5.4	5.2±1.0	78.5±8.4	205.7±15.3	2.3±0.6	35(33.3)
HT 组	29.4±6.3	26.7±4.7	5.4±0.8	80.4±7.9	209.3±13.4	6.2±1.7	22(52.4)
$t(\chi^2)$ 值	4.20	2.42	1.97	2.66	1.41	4.06	(4.59)
P 值	0.003	0.061	0.081	0.062	0.091	0.006	0.032

注: BMI 为体质质量指数, TG 为三酰甘油, TC 为总胆固醇, LDL-C 为低密度脂蛋白胆固醇, HDL-C 为高密度脂蛋白胆固醇, Hcy 为血清同型半胱氨酸, NLR 为中性粒细胞与淋巴细胞比值, GOT 为谷草转氨酶, GPT 为谷丙转氨酶, BUN 为血尿素氮, SCr 为血肌酐, NIHSS 为美国国立卫生研究院卒中量表。

2.2 logistic 多因素分析影响 HT 发生的危险因素
以表 1 中差异有统计学意义的因素为自变量, 以 HT 为因变量, 经过 logistic 多因素回归分析显示收缩压、心房颤动、NLR 和脑梗死体积≥10 cm³ 为影响 HT 发生的危险因素, 见表 2。

2.3 各指标单独及联合预测 HT 发生的临床价值
各指标单独及联合预测 HT 发生 ROC 曲线特征见表

表2 logistic 多因素回归分析影响大动脉粥样硬化型脑梗死 147 例静脉溶栓后出血转化发生的危险因素

因素	β 值	SE 值	Wald χ^2 值	OR 值	95%CI	P 值
年龄	0.59	0.23	6.96	1.81	(0.91, 2.82)	0.078
收缩压	1.26	0.97	1.71	2.31	(1.56, 3.20)	0.005
心房颤动	0.03	0.02	4.55	1.03	(1.02, 2.64)	0.019
中性粒细胞	0.70	0.44	2.55	1.50	(0.57, 1.22)	0.993
淋巴细胞	-5.30	3.52	2.27	0.33	(0.15, 2.20)	0.874
NLR	0.96	0.56	2.93	2.97	(1.05, 5.32)	<0.001
AST	1.36	0.96	2.02	1.07	(0.68, 2.63)	0.142
NIHSS 评分	1.64	1.23	1.77	1.70	(0.74, 1.94)	0.084
脑梗死体积≥10 cm ³	1.26	1.03	1.52	1.01	(1.00, 2.36)	0.012

注: NLR 为中性粒细胞与淋巴细胞比值, AST 为谷草转氨酶, NIHSS 为美国国立卫生研究院卒中量表。

3。NLR 预测 HT 发生的曲线下面积大于收缩压、心房颤动和脑梗死体积≥10 cm³ 预测 HT 发生的曲线下面积, 差异有统计学意义 ($Z=5.33$ 、 5.02 、 4.36 , 均 $P<0.05$), 联合预测 HT 发生的曲线下面积 0.94, 大于 NLR、收缩压、心房颤动和脑梗死体积≥10 cm³ 单独预测 ($Z=3.25$ 、 6.33 、 6.03 和 5.15 , 均 $P<0.05$)。

2.4 NLR 水平对病人出院后 90d 神经功能预后的影响
根据 NLR 预测 HT 发生的截断值 5.7, 将 NLR >5.7 病人分为 NLR 高水平组 ($n=43$), NLR ≤5.7 的病人分为 NLR 低水平组 ($n=104$)。NLR 高水平组出院后 90 d 神经功能预后良好者 23 例, 预后不良者 20

表3 各指标单独及联合预测大动脉粥样硬化型脑梗死 147 例静脉溶栓后出血转化发生 ROC 曲线特征

因素	ROC	95%CI	灵敏度/%	特异度/%	截断值
收缩压	0.72	(0.71, 0.76)	75.6	72.3	161 mmHg
心房颤动	0.74	(0.72, 0.77)	78.3	65.4	
NLR	0.90	(0.88, 0.92)	81.5	79.6	5.7
脑梗死体积≥10cm ³	0.82	(0.80, 0.83)	70.7	76.2	
联合	0.94	(0.91, 0.96)	0.89	0.82	

注: NLR 为中性粒细胞与淋巴细胞比值。

例。NLR 低水平组出院后 90 d 神经功能预后良好者 89 例,预后不良者 15 例,NLR 高水平组神经功能预后不良发生率显著高于 NLR 低水平组,差异有统计学意义($\chi^2=17.27, P<0.001$)。

3 讨论

在一项纳入 285 例脑卒中病人的研究表明,溶栓治疗后 HT 的发生率为 25.3 %^[14]。本研究纳入大动脉粥样硬化型脑梗死,静脉溶栓后 HT 的发生率为 28.6 %,可能提示大动脉粥样硬化型脑梗死静脉溶栓后 HT 发生率较高。寻找影响 HT 发生的危险因素及预测因素,对预防 HT 的发生具有一定的帮助。血脑屏障的破坏已被确定为缺血性卒中后 HT 发生的潜在机制,基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase, MMP-9)在蛋白酶水解活性中可直接破坏血脑屏障成分,增加 HT 发生风险^[15]。中性粒细胞是 MMP-9 的主要来源,抑制或破坏中性粒细胞后可保留血脑屏障功能并降低脑梗死病人 HT 的发生率^[16]。本研究发现,HT 组中性粒细胞、NLR 高于 non-HT 组,淋巴细胞低于 non-HT 组,说明 HT 组病人外周血中中性粒细胞处于高水平,可能参与了血脑屏障的破坏,促进了 HT 的发生。经过多因素回归分析显示,NLR 为引起 HT 发生的独立危险因素,单独的中性粒细胞并非引起 HT 的独立危险因素。NLR 反映中性粒细胞和淋巴细胞水平的平衡,可以充分反映免疫水平,比单独的中性粒细胞或淋巴细胞能更好的预测 HT 发生。

淋巴细胞的相对减少可增加促炎细胞因子的产生,从而加重缺血性损伤^[17]。有研究显示,特定的淋巴细胞亚型在消除炎症反应中发挥了关键作用,为保护脑梗死大脑组织的主要免疫调节剂^[18]。在本研究中,中性粒细胞和淋巴细胞单独检测时均非影响 HT 发生的独立因素,并且在预测 HT 发生的模型中显示,NLR 预测 HT 发生的临床价值高于收缩压、心房颤动和脑梗死体积 $>10\text{ cm}^3$,进一步确定了 NLR 对 HT 有较高的临床预测价值。ROC 结果显示 NLR 预测 HT 发生的截断值为 5.7,每增加 1 个单位,诱发 HT 发生的风险增加 2.965 倍。Mate 分析显示,综合国内和国外研究高 NLR 可以预测 AIS 病人的 HT,截断值为 7.5~11,略高于本研究中 NLR 预测 HT 的截断值,可能与纳入研究的标准不同和预测 HT 类型不同有关^[19]。NLR、收缩压、心房颤动和脑梗死体积 $\geq 10\text{ cm}^3$ 联合预测 HT 发生的临床价值高于单独预测,具有更高的灵敏度和特异度。另外本研究还显示 NLR 高水平组出院后 90 d 神经功能预后不良率显著高于 NLR 低水平组,NLR 高水平可能预示着神经功能预后不良。

综上所述,NLR 水平增加是影响大动脉粥样硬化型脑梗死静脉溶栓后发生 HT 的独立危险因素,且影响病人神经功能预后,降低 NLR 水平可能成为预防和治疗 HT 的有效方法之一。

参考文献

- [1] KRISHNAMURTHI RV, IKEDA T, FEIGIN VL. Global, regional and country-specific burden of ischaemic stroke, intracerebral haemorrhage and subarachnoid haemorrhage: a systematic analysis of the global burden of disease study 2017[J]. *Neuroepidemiology*, 2020, 54(2):171-179.
- [2] 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,中华医学会神经病学分会神经血管介入协作组.中国急性缺血性脑卒中早期血管内介入诊疗指南 2018[J].*中华神经科杂志*, 2018, 51(9):683-691.
- [3] PACIARONI M, BANDINI F, AGNELLI G, et al. Hemorrhagic transformation in patients with acute ischemic stroke and atrial fibrillation: time to initiation of oral anticoagulant therapy and outcomes[J/OL]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(22):e010133. DOI: 10.1161/JAHA.118.010133.
- [4] ALJUNDI ZE, MIYAJAN EO, ALHARBI HA, et al. Incidence, risk factors, clinical presentation, and outcomes of hemorrhagic transformation in patients with ischemic stroke admitted to a tertiary hospital in Kingdom of Saudi Arabia[J]. *Neurosciences (Riyadh)*, 2020, 25(5):345-349.
- [5] ANDRADE JBC, MOHR JP, LIMA FO, et al. The role of hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke upon clinical complications and outcomes[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2020, 29(8):104898. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2020.104898.
- [6] SHI K, ZOU M, JIA DM, et al. tPA mobilizes immune cells that exacerbate hemorrhagic transformation in stroke[J]. *Circ Res*, 2021, 128(1):62-75.
- [7] SONG Q, PAN R, JIN Y, et al. Lymphocyte-to-monocyte ratio and risk of hemorrhagic transformation in patients with acute ischemic stroke[J]. *Neurol Sci*, 2020, 41(9):2511-2520.
- [8] DENG J, ZHAO F, ZHANG Y, et al. Neutrophil extracellular traps increased by hyperglycemia exacerbate ischemic brain damage[J]. *Neurosci Lett*, 2020, 738:135383. DOI: 10.1016/j.neulet.2020.135383.
- [9] CHEN G, SONG X, YIN Y, et al. C-type natriuretic peptide prevents kidney injury and attenuates oxidative and inflammatory responses in hemorrhagic shock[J]. *Amino Acids*, 2017, 49(2):347-354.
- [10] ZHANG Y, JIANG L, YANG P, et al. Comparison of lymphocyte count, neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio in predicting the severity and the clinical outcomes of acute cerebral infarction patients[J]. *Clin Lab*, 2019, 65(7):10.
- [11] FERRO D, MATIAS M, NETO J, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts cerebral edema and clinical worsening early after reperfusion therapy in stroke[J]. *Stroke*, 2021, 52(3):859-867.
- [12] 吕佳,胡平成,杨琳,等.老年不同亚型急性脑梗死患者出血性转化影响因素的研究[J].*中华老年医学杂志*, 2019, 38(1):18-23.
- [13] 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.

- [14] LIU YL, LU JK, YIN HP, et al. High Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts hemorrhagic transformation in acute ischemic stroke patients treated with intravenous thrombolysis [J]. *Int J Hypertens*, 2020, 2020:5980261.DOI: 10.1155/2020/5980261.
- [15] HAO Y, YANG D, WANG H, et al. Predictors for symptomatic intracranial hemorrhage after endovascular treatment of acute ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2017, 48(5):1203-1209.
- [16] KONG L, MA Y, WANG Z, et al. Inhibition of hypoxia inducible factor 1 by YC-1 attenuates tissue plasminogen activator induced hemorrhagic transformation by suppressing HMGB1/TLR4/NF- κ B mediated neutrophil infiltration in thromboembolic stroke rats [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 94: 107507. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.107507.
- [17] WANG Z, KAWABORI M, HOUKIN K. FTY720 (Fingolimod) ameliorates brain injury through multiple mechanisms and is a strong candidate for stroke treatment [J]. *Curr Med Chem*, 2020, 27(18):2979-2993.
- [18] LI XX, LIU SH, ZHUANG SJ, et al. Effects of intravenous thrombolysis with alteplase combined with edaravone on cerebral hemodynamics and T lymphocyte level in patients with acute cerebral infarction [J/OL]. *Medicine (Baltimore)*, 2020, 99(50): e23414.DOI: 10.1097/MD.00000000000023414.
- [19] ZHANG RR, WU XD, HU WJ, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts hemorrhagic transformation in ischemic stroke: a meta-analysis [J/OL]. *Brain Behav*, 2019, 9(9): e01382.DOI: 10.1002/brb3.1382.
- (收稿日期:2021-11-17,修回日期:2022-01-30)

引用本文: 万焱, 罗煜, 王洁, 等. 长链非编码RNA LINC00662/微小RNA-16-5p/wee1信号通路对肝细胞癌细胞增殖及凋亡的作用研究[J]. 安徽医药, 2023, 27(4): 790-796. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2023.04.036.

◇临床医学◇



长链非编码RNA LINC00662/微小RNA-16-5p/wee1信号通路对肝细胞癌细胞增殖及凋亡的作用研究

万焱, 罗煜, 王洁, 汤晓青, 郭玺, 徐斌

作者单位: 昆明市第三人民医院肿瘤科, 云南 昆明 650000

通信作者: 罗煜, 男, 副主任医师, 研究方向为肝癌靶向、分子免疫治疗, Email: 1244073246@qq.com

基金项目: 昆明市科技计划(2017-1-S-15304)

摘要: **目的** 探讨长链非编码RNA linc00662(LncRNA linc00662)通过微小RNA-16-5p(miR-16-5p)/[丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶1 (wee1)]信号轴在肝细胞癌(HCC)细胞增殖及凋亡中的作用。**方法** 该研究时间为2019年8月至2020年10月, 体外培养正常肝细胞株LO2和肝癌细胞株SK-HEP-1、HepG2、Huh-7和Li-7。采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测细胞中linc00662、miR-16-5p和wee1的表达。以HepG2细胞作为研究对象, 设置shRNA阴性对照(sh-NC)组、linc00662-shRNA干扰(sh-linc00662)组、抑制剂阴性对照(inhibitor-NC)组、miR-16-5p抑制剂(miR-16-5p inhibitor)组、siRNA阴性对照(si-NC)组、wee1-siRNA干扰(si-wee1)组、linc00662-shRNA干扰联合miR-16-5p抑制剂(sh-linc00662+miR-16-5p inhibitor)组和miR-16-5p抑制剂联合wee1-siRNA干扰(miR-16-5p inhibitor+si-wee1)组。CCK-8和克隆形成实验检测细胞增殖活性; 流式细胞仪检测细胞凋亡水平; 蛋白质印迹法检测凋亡相关蛋白[B细胞淋巴瘤-2基因(Bcl-2)和Bcl-2相关X蛋白基因(Bax)]表达。双荧光素酶报告基因实验检测linc00662、miR-16-5p和wee1之间的相关性。**结果** PCR结果显示相比较LO2细胞, linc00662在SK-HEP-1、HepG2、Huh-7和Li-7细胞中普遍高表达[0.95 ± 0.14 比 2.12 ± 0.17 、 3.86 ± 0.15 、 2.31 ± 0.14 、 1.82 ± 0.18 , $P < 0.001$]。与sh-NC组相比, 敲低linc00662能抑制肝癌细胞增殖($P < 0.001$)并诱导细胞凋亡($P < 0.001$)。双荧光素酶报告结果显示linc00662直接靶向结合miR-16-5p并负调控miR-16-5p的表达。同时, miR-16-5p直接靶向结合wee1并负调控wee1的表达。下调miR-16-5p表达可以减轻敲低linc00662对肝癌细胞生长的抑制作用。此外, linc00662可能通过miR-16-5p/wee1通路发挥促癌作用。**结论** Linc00662是一种在肝癌细胞中上调的LncRNA, 可以通过miR-16-5p/wee1轴促进肝癌细胞增殖并抑制细胞凋亡。

关键词: 癌, 肝细胞; 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶1; 微小RNA-16-5p; LncRNA linc00662; 增殖; 凋亡

Effect of LncRNA LINC00662/miR-16-5p/wee1 signaling pathway on proliferation and apoptosis of hepatocellular carcinoma cells

WAN Yan, LUO Yu, WANG Jie, TANG Xiaoqing, GUO Xi, XU Bin

Author Affiliation: Oncology Department, The Third People's Hospital of Kunming, Kunming, Yunnan 650000, China

Abstract: **Objective** To investigate the role of long non-coding RNA (LncRNA) linc00662 in proliferation and apoptosis of hepato-