

血清 miR-29 联合 LncRNA TUG1 与 ADMA 对缺血性脑卒中的鉴别诊断价值

郭盼 刘晓琳 慕军平

【摘要】 目的 探讨血清微小 RNA-29(miR-29)联合长链非编码 RNA(lncRNA)TUG1 及非对称二甲基精氨酸(ADMA)对缺血性脑卒中的鉴别诊断价值。**方法** 收集 2017 年 6 月 - 2018 年 7 月本院确诊的缺血性脑卒中患者 110 例,选出血性脑卒中患者 80 例,同期纳入本院的体检健康者 100 例;采用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)法检测血清 miR-29 和 LncRNA TUG1 表达水平;采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清 ADMA 水平。**结果** 与出血性脑卒中组 miR-29(60.7 ± 4.3) - log, LncRNA TUG1(16.4 ± 1.4) - log, ADMA(6.3 ± 0.7) mIU/mL 和健康对照组 miR-29(62.3 ± 4.8) - log; LncRNA TUG1(15.9 ± 1.3) - log; ADMA(6.4 ± 0.6) mIU/mL 比较,缺血性脑卒中组血清 LncRNA TUG1(43.5 ± 3.5) - log 和 ADMA(11.4 ± 1.4) mIU/mL 水平显著升高,而血清 miR-29(31.4 ± 2.1) - log 水平显著降低($P < 0.05$),而出血性脑卒中组和健康对照组血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平无明显差异($P > 0.05$)。Spearman 相关性分析显示,血清 LncRNA TUG1 及 ADMA 水平与 NIHSS 评分(LncRNA TUG1: $r = 0.538, P = 0.002$; ADMA: $r = 0.566, P = 0.001$)呈正相关,而血清 miR-29 水平与 NIHSS 评分(miR-29: $r = -0.545, P = 0.001$)呈负相关。血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 区分缺血性脑卒中与非缺血性脑卒中(出血性脑卒中和健康对照者)的 AUC 分别为 0.863(95%CI = 0.800~0.944, $P < 0.001$)、0.912(95%CI = 0.833~0.977, $P < 0.001$)和 0.764(95%CI = 0.688~0.887, $P < 0.001$);敏感度及特异度分别为 85.3%/82.1%、94.2%/73.5%和 76.8%/81.2%;对应的临界值分别为 48.6 - log、33.2 - log 和 9.5 mIU/mL。当联合血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 时区分缺血性脑卒中与非缺血性脑卒中的 AUC 为 0.945(95%CI = 0.932~0.998, $P < 0.001$),敏感度为 83.8%,特异度为 97.3%。**结论** 联合血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 对缺血性脑卒中中具有潜在的鉴别诊断价值。

【关键词】 缺血性脑卒中 微小 RNA 长链非编码 RNA 非对称二甲基精氨酸

【中图分类号】 R743.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2019)03-0277-05

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2019.03.005

The differential diagnosis value of serum miR-29 combined with lncRNA TUG1 and ADMA in ischemic stroke

Guo Pan, Liu Xiaolin, Mu Junping. Department of Laboratory, Xianyang Hospital, Yan'an University, Xianyang Shanxi 712000

【Abstract】 Objective To explore the differential diagnosis value of serum microRNA-29 (miR-29) combined with long non-coding RNA (lncRNA) TUG1 and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in ischemic stroke. **Methods** 110 patients with ischemic stroke diagnosed in our hospital from June 2017 to July 2018 were collected. 80 patients with hemorrhagic stroke were selected, and 100 healthy people were included in our hospital during the same period. Real-time PCR (RT-PCR) was used to detect the expression levels of serum miR-29 and LncRNA TUG1, and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the level of serum ADMA. **Results** Compared with hemorrhagic stroke [miR-29: (60.7 ± 4.3) - log, LncRNA TUG1: (16.4 ± 1.4) - log, ADMA: (6.3 ± 0.7) mIU/mL] and healthy controls (miR-29: (62.3 ± 4.8) - log, LncRNA TUG1: (15.9 ± 1.3) - log, ADMA: (6.4 ± 0.6) mIU/mL], serum LncRNA TUG1 (43.5 ± 3.5) - log and ADMA (11.4 ± 1.4) mIU/mL levels in patients with ischemic stroke were significantly increased ($P < 0.05$), and the level of serum miR-29 (31.4 ± 2.1 - log) was significantly decreased ($P < 0.05$). The levels of serum miR-29, LncRNA TUG1 and ADMA were not significantly different between hemorrhagic stroke and healthy

controls ($P>0.05$). Spearman correlation analysis showed that serum levels of LncRNA TUG1 and ADMA were positively correlated with NIHSS score (LncRNA TUG1: $r=0.538$, $P=0.002$; ADMA: $r=0.566$, $P=0.001$), while serum level of miR-29 was negatively correlated with NIHSS score (miR-29: $r=-0.545$, $P=0.001$). The AUC of serum miR-29, LncRNA TUG1 and ADMA for ischemic stroke and non-ischemic stroke (hemorrhagic stroke and healthy controls) were 0.863 (95% $CI=0.800\sim0.944$, $P<0.001$), 0.912 (95% $CI=0.833\sim0.977$, $P<0.001$) and 0.764 (95% $CI=0.688\sim0.887$, $P<0.001$); sensitivity and specificity were 85.3%/82.1%, 94.2%/73.5% and 76.8%/81.2%. The corresponding critical values were 48.6 (–log), 33.2 (–log) and 9.5 mIU/mL. When combined with serum miR-29, LncRNA TUG1 and ADMA, the AUC of ischemic stroke and non-ischemic stroke was 0.945 (95% $CI=0.932\sim0.998$, $P<0.001$), and the sensitivity was 83.8%, the specificity was 97.3%. **Conclusion** Combined serum miR-29, LncRNA TUG1 and ADMA had potential diagnostic value in ischemic stroke.

【Key words】 Ischemic stroke MicroRNA Long non-coding RNA Asymmetric dimethylarginine

临床上 60%~70% 脑卒中患者属于缺血性脑卒中^[1]。缺血性脑卒中起病 3~6 h 是救治的“黄金时间”^[2], 目前对于缺血性脑卒中的干预和治疗仍很有限, 其原因包括以下几个方面: (1) CT 是诊断缺血性脑卒中的方法之一, 但因缺血性脑卒中起病 24 h 内脑组织的缺血改变并不明显, 使得其缺乏特异性^[3]; (2) MRI 相较于 CT 具有更高的灵敏度和特异性, 但大多数医疗机构并不具有行 MRI 检查的条件。研究指出多种类型生物学标志物有助于缺血性脑卒中的个性化治疗。近年来, 微小 RNA (microRNA, miR) 与长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 等非编码 RNA 参与心脑血管病进程。非对称二甲基精氨酸 (asymmetric dimethylarginine, ADMA) 被报道参与血管内皮损伤, 诱发血管内皮炎症, 被认为是“血管内皮危险因子”^[4]。本研究拟通过比较缺血性脑卒中、出血性脑卒中与健康人群血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平, 以探讨三者对缺血性脑卒中的临床价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象

收集本院 2017 年 6 月–2018 年 7 月确诊的缺血性脑卒中患者 110 例, 其中男 73 例, 女 37 例, 年龄 47~66 岁, 平均年龄 (58.4 ± 5.6) 岁, 入院后依据国立卫生院卒中量表 (National Institutes of Health Stroke Scale, NIHSS) 进行评分^[5]。缺血性脑卒中确诊依据《中国急性缺血性脑卒中诊治指南 (2014)》^[6]。选出血性脑卒中患者 80 例, 其中男 52 例, 女 28 例, 年龄 45~67 岁, 平均年龄 (57.9 ± 5.3) 岁。出血性脑卒中确诊依据《中国脑梗死中西医结合诊治指南 (2017)》^[7]。同期纳入本院的体检

健康者 100 例, 其中男 69 例, 女 31 例, 年龄 47~68 岁, 平均年龄 (58.9 ± 5.7) 岁。本研究经医院伦理委员会批准。

1.2 临床资料与样本的采集

对研究对象年龄、性别、吸烟史、饮酒史、高血压病、糖尿病等基本资料进行采集。采用 EDTA 抗凝管采集缺血性脑卒中和出血性脑卒中患者入院 48 h 内与体检健康者外周静脉血 2 mL, 于 2 h 内分离血清后放置于 -80°C 冰箱保存备测。

1.3 血清 ADMA 水平的检测

采用酶联免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测每组对象血清 ADMA 水平。步骤如下: 所有标本经稀释 (1:100) 后依次加入微孔板中与抗体室温孵育 40 min (分别加入 ADMA 浓度为 100 pg/mL、50 pg/mL、10 pg/mL 的 3 个标准品、阳性和阴性对照), 洗板 5 次, 在避光条件下加入酶标记的单抗室温孵育 40 min, 再洗板 5 次, 加入底物反应 15 min 后终止反应, 于分光光度仪上检测吸光值 (A)。ADMA 试剂盒由美国 R&D Systems 公司提供。同时计算血清 ADMA 检测的批内、批间变异系数。

1.4 血清 miR-29 与 LncRNA TUG1 相对表达水平检测

按照试剂盒说明书进行血清总 RNA 提取, 并经逆转录试剂盒逆转录为 cDNA, 进行实时荧光定量 PCR (Quantitative Real-time PCR, RT-PCR) 检测。RT-PCR 反应体系为 Mix 10 μL , 上下游引物各 0.8 μL , cDNA 2 μL , DEPC 水 6.4 μL ; 循环条件为 95°C 变性 5 min, 95°C 30 s, 57°C 30 s, 72°C 30 s, 42 个循环。miR-29、LncRNA TUG1 与内参基因 U6 引物序列见表 1。采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算基因相对表

达量。同时计算 miR-29 与 LncRNA TUG1 检测的批内、批间变异系数。

表 1 miR-29、LncRNA TUG1 与 U6 的引物序列	
RNA	引物序列(5'—3')
miR-29 上游	ATAGAGCTTCCTGTTT
miR-29 下游	CAGGCCCCAGGGA
LncRNA TUG1 上游	GTGTCATAGAGCTTCCTGT
LncRNA TUG1 下游	GAACCAGGCCCCAGG
U6 上游	CTCGCTTCGGCAGCACA
U6 下游	AACGCTTCACGAATTTGCGT

1.5 统计学处理

采用 SPSS 20.0 软件。计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间两两比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析。计数资料组间比较用卡方检验。相关性分析采用 Spearman 检验。ROC 曲线分析 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平判别缺血性脑卒中的曲线下面积(area under ROC curve, AUC)及 95%置信区间(confidence interval, CI)。检验水准为 $\alpha = 0.05$ 。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 基本信息及血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平比较

血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平检测的批内变异系数分别为 3.3%、3.8% 和 3.1%,批间变异系数分别为 3.6%、3.5% 和 3.9%,均 < 5%。与出血性脑卒中组和健康对照组比较,缺血性脑卒中组血清 LncRNA TUG1 和 ADMA 水平显著升高,而血清 miR-29 水平显著降低($P < 0.05$);出血性脑卒中组和健康对照组血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平无明显差异($P > 0.05$)。3

组间年龄、性别构成、吸烟史、饮酒史、高血压病和糖尿病的比例无明显差异($P > 0.05$)(表 2)。

2.2 血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平与 NIHSS 评分的关系

血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平与缺血性脑卒中患者年龄、性别构成、吸烟史、饮酒史、高血压病、糖尿病的比例等因素均无明显关系($P > 0.05$),血清 LncRNA TUG1 及 ADMA 水平与 NIHSS 评分(LncRNA TUG1: $r = 0.538, P = 0.002$; ADMA: $r = 0.566, P = 0.001$)呈正相关,而血清 miR-29 水平与 NIHSS 评分(miR-29: $r = -0.545, P = 0.001$)呈负相关(表 3~4)。

2.3 血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 鉴别缺血性脑卒中的 ROC 分析

血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 区分缺血性脑卒中与非缺血性脑卒中(出血性脑卒中和健康对照者)的 AUC 分别为 0.863(95% CI = 0.800~0.944, $P < 0.001$)、0.912(95% CI = 0.833~0.977, $P < 0.001$)和 0.764(95% CI = 0.688~0.887, $P < 0.001$);在各指标约登指数为最大值时对应的敏感度及特异度分别为 85.3%/82.1%、94.2%/73.5% 和 76.8%/81.2%;对应的临界值分别为 48.6 - log、33.2 - log 和 9.5 mIU/mL(图 1)。当联合血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 时运用 logistics 回归模型将上述 3 个指标(变量)拟合后得到的新的变量—“PRE-1 值”,而后将“PRE-1 值”带入 ROC 曲线进行分析,发现联合 3 种指标在区分缺血性脑卒中与非缺血性脑卒中的 AUC 为 0.945(95% CI = 0.932~0.998, $P < 0.001$,图 1),敏感度为 83.8%,特异度为 97.3%。

表 2 研究对象基本信息及血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平比较

指标	缺血性脑卒中组 (<i>n</i> = 110)	出血性脑卒中组 (<i>n</i> = 80)	健康对照组 (<i>n</i> = 100)	统计值	<i>P</i>
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	58.4 ± 5.6	57.9 ± 5.3	58.9 ± 5.7	<i>F</i> = 1.433	0.388
男性[例(%)]	73(66.4)	52(65.0)	69(69.0)	χ^2 = 1.337	0.743
吸烟史[例(%)]	57(51.8)	43(53.8)	52(52.0)	χ^2 = 1.549	0.476
饮酒史[例(%)]	68(61.8)	45(56.3)	53(53.0)	χ^2 = 1.695	0.611
高血压病史[例(%)]	53(48.2)	41(51.3)	45(45.0)	χ^2 = 1.855	0.780
糖尿病史[例(%)]	32(29.1)	22(27.5)	23(23.0)	χ^2 = 1.484	0.369
miR-29($\bar{x} \pm s, -\log$)	31.4 ± 2.1	60.7 ± 4.3*	62.3 ± 4.8*	<i>F</i> = 7.876	<0.001
LncRNA TUG1($\bar{x} \pm s, -\log$)	43.5 ± 3.5	16.4 ± 1.4*	15.9 ± 1.3*	<i>F</i> = 9.569	<0.001
ADMA($\bar{x} \pm s, \text{mIU/mL}$)	11.4 ± 1.4	6.3 ± 0.7*	6.4 ± 0.6* ^a	<i>F</i> = 5.676	<0.001

注:与缺血性脑卒中组比较,* $P < 0.05$

表 3 血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平与缺血性脑卒中临床特征的关系($n=110$)

临床特征	例数	miR-29(- log)			LncRNA TUG1(- log)			ADMA(miU/mL)		
		$\bar{x} \pm s$	t	P	$\bar{x} \pm s$	t	P	$\bar{x} \pm s$	t	P
性别										
男	73	31.6 \pm 2.1			43.9 \pm 4.1			11.6 \pm 1.1		
女	37	31.3 \pm 2.0			43.0 \pm 4.0			11.3 \pm 1.0		
年龄(岁)			1.016	0.894		1.743	0.768		1.056	0.809
<60	61	31.5 \pm 1.9			43.7 \pm 3.9			11.5 \pm 0.9		
≥ 60	49	31.4 \pm 2.0			43.2 \pm 4.0			11.4 \pm 1.0		
吸烟史			-1.754	0.723		-1.368	0.347		-1.931	0.192
无	53	31.1 \pm 1.9			43.1 \pm 3.9			11.1 \pm 0.7		
有	57	31.8 \pm 2.1			43.8 \pm 4.1			11.7 \pm 1.3		
饮酒史			1.372	0.563		1.942	0.563		-1.721	0.723
无	42	31.5 \pm 2.0			43.5 \pm 4.0			11.2 \pm 0.9		
有	68	31.3 \pm 1.8			43.3 \pm 3.8			11.5 \pm 1.1		
高血压病史			2.104	0.129		2.276	0.132		1.331	0.569
无	57	32.1 \pm 2.0			44.1 \pm 4.0			11.5 \pm 1.0		
有	53	31.0 \pm 1.7			43.0 \pm 3.7			11.3 \pm 0.8		
糖尿病史			2.009	0.304		1.342	0.500		2.146	0.129
无	78	31.6 \pm 1.8			44.1 \pm 3.2			11.8 \pm 1.0		
有	32	31.3 \pm 2.0			42.3 \pm 3.8			11.0 \pm 0.7		
NIHSS 评分(分)			4.945	0.001		-3.037	0.002		-6.037	<0.001
≤ 5	35	33.6 \pm 2.2			42.1 \pm 3.9			9.8 \pm 0.9		
≥ 6	75	29.5 \pm 1.9			44.9 \pm 4.2			12.7 \pm 1.7		

表 4 血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平与临床特征的相关性分析

临床特征	miR-29		LncRNA TUG1		ADMA	
	r	P	r	P	r	P
性别	0.103	0.638	0.203	0.531	0.133	0.609
年龄	-0.121	0.573	0.218	0.497	0.129	0.588
吸烟史	0.053	0.932	0.247	0.464	0.116	0.684
饮酒史	0.114	0.592	0.169	0.505	0.152	0.589
高血压史	-0.071	0.883	0.175	0.469	0.105	0.866
糖尿病史	0.092	0.817	0.185	0.417	0.175	0.448
NIHSS 评分	-0.545	0.001	0.538	0.002	0.566	0.001

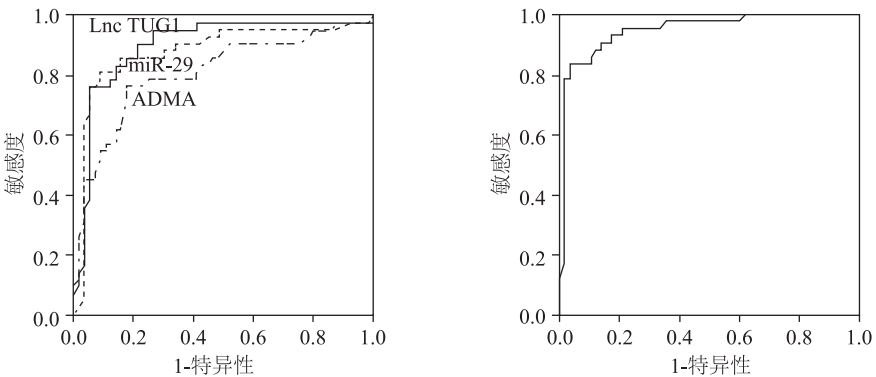


图 1 血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平鉴别缺血性脑卒中的 ROC 曲线分析 A 为血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 水平区分缺血性脑卒中与非缺血性脑卒中(出血性脑卒中和健康对照)的 ROC 曲线;B 为联合 3 种指标区分缺血性脑卒中与非缺血性脑卒中的 ROC 曲线

3 讨 论

缺血性脑卒中通常起病急促,患者若不及时确诊并行溶栓治疗很容易造成致残或致死性伤害,早前一项 META 分析通过对 7012 例缺血性脑卒中患者分析指出,发病 6 h 内行溶栓治疗的患者最终存活

率可提高 46.0%,遗憾的是仅约 2% 患者能够及时进行溶栓治疗^[8]。

近年来,越来越多的证据表明非编码 RNA 和心血管疾病如炎症相关血管内皮病变、心肌梗死等关系密切^[9-10]。Widlansky 等^[9]人发现 miR-29 水平增高能抑制微血管渗漏的发生,而降低 miR-29

的表达水平促进由糖尿病患者高糖状态下诱导的促炎症蛋白的表达,从而加速视网膜血管损伤。动物模型及细胞机制研究发现,在经糖氧剥夺处理的 HT22 神经元和缺血性脑卒中小鼠模型中检测到 miR-29 的水平较未经糖氧剥夺处理的 HT22 和健康对照小鼠均显著下降,且 miR-29 的水平与神经元的死亡和/或凋亡数量呈负相关^[10]。此外,值得注意的是,长链非编码 RNA 可通过复杂的网络通路参与心血管疾病的发生。LncRNA TUG1 可以通过上调细胞内 Bcl2 样蛋白 11 的水平来促进细胞毒性功能,进而加强炎症因子磷脂酶 A2-IVA 的作用,促进炎症因子的释放^[11]。血管内皮细胞炎症导致的动脉粥样斑块形成是缺血性脑卒中的发生基础,本研究通过临床样本检测出缺血性脑卒中患者血清低 miR-29 和高 LncRNA TUG1 水平的表达,且与患者 NIHSS 评分显著相关,表明 2 个在缺血性脑卒中的发病中发挥作用,与前期的基础研究结果相一致^[9-11]。这些研究表明,缺血性脑卒中患者血清中低 miR-29 和高 LncRNA TUG1 水平可能参与了机体的炎症反应。

人体中一氧化氮由一氧化氮合酶促进合成,是重要的内源性舒张血管因子。大量研究报道一氧化氮合酶代谢失调在缺血性脑卒中等血管疾病发生、发展中发挥作用^[12]。ADMA 是一氧化氮合酶的内源性抑制物,以此减少一氧化氮在机体血管中的释放,参与心血管疾病进展。近期研究发现,血清 ADMA 水平在动脉粥样硬化性缺血性脑卒中中显著增高,且其水平变化在缺血性脑卒中患者血管内皮细胞舒缩血管调控中具有潜在价值^[13]。本研究结果表明,与出血性脑卒中和健康对照组比较,缺血性脑卒中患者血清 ADMA 水平显著上升,且与 NIHSS 评分相关,与前期的基础研究结果相呼应^[13]。本研究分析缺血性脑卒中发生后血清 ADMA 水平增高的原因可能有 ADMA 参与了动脉粥样硬化的主要形成过程,脑梗死后脑脊液中 ADMA 通过血脑屏障进入血清,导致血清 ADMA 水平升高。此外,脑梗死可导致急性脑水肿,颅内压增高,通过神经内分泌紊乱机制使肾功能异常,血管紧张素和抗利尿激素分泌增加,肾小球滤过率降低,血液中 ADMA 清除率降低,是造成血清 ADMA 水平增高的另 1 个重要原因。

ROC 曲线分析显示,血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 区分缺血性脑卒中和非缺血性脑

卒中(出血性脑卒中和健康对照者)时具有一定的价值,当联合 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 等指标时区分缺血性脑卒中和非缺血性脑卒中的特异度为 97.3%,提示联合上述三种标志物在缺血性脑卒中诊断中具有重要临床价值。

综上所述,本研究发现血清 miR-29、LncRNA TUG1 及 ADMA 对缺血性脑卒中中具有潜在的诊断价值。联合应用 3 个指标有望成为缺血性脑卒中临床诊疗的途径。

参 考 文 献

- [1] Young LH, Viscoli CM, Schwartz GG, et al. Heart failure after ischemic stroke or transient ischemic attack in Insulin-Resistant patients without diabetes mellitus treated with pioglitazone[J]. *Circulation*, 2018, 138(12):1210-1220.
- [2] 任占云, 汤武装, 樊焱, 等. 超敏 C-反应蛋白与缺血性脑卒中发病的前瞻性队列研究[J]. *中华疾病控制杂志*, 2018, 22(1):29-32, 51.
- [3] Kim AS, Cahill E, Cheng NT. Global stroke belt; geographic variation in stroke burden worldwide[J]. *Stroke*, 2015, 46(12):3564-3570.
- [4] Kataoka T, Hotta Y, Maeda Y, et al. Testosterone deficiency causes endothelial dysfunction via elevation of asymmetric dimethylarginine and oxidative stress in castrated rats[J]. *Journal of Sexual Medicine*, 2017, 14(12):1540-1548.
- [5] Kwah LK, Diong J. National institutes of health stroke scale (NIHSS)[J]. *Journal of Physiotherapy*, 2014, 60(1):61.
- [6] 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 2014[J]. *中华神经科杂志*, 2015, 48(4):246-257.
- [7] 高长玉, 吴成翰, 赵建国, 等. 中国脑梗死中西医结合诊治指南 (2017)[J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(2):136-144.
- [8] Wardlaw JM, Murray V, Berge E, et al. Recombinant tissue plasminogen activator for acute ischaemic stroke: an updated systematic review and meta-analysis[J]. *Lancet*, 2012, 379(9834):2364-2372.
- [9] Widlansky ME, Jensen DM, Wang Jing-li, et al. miR-29 contributes to normal endothelial function and can restore it in cardiometabolic disorders[J]. *EMBO Molecular Medicine*, 2018, 10(3):8046.
- [10] Khanna S, Rink C, Ghoorkhanian R, et al. Loss of miR-29b following acute ischemic stroke contributes to neural cell death and infarct size[J]. *Journal of Cerebral Blood Flow and Metabolism: Official Journal of the International Society of Cerebral Blood Flow and Metabolism*, 2013, 33(8):1197-1206.
- [11] Chen Sheng-cai, Wang Meng-die, Yang Hang, et al. LncRNA TUG1 sponges microRNA-9 to promote neurons apoptosis by up-regulated Bcl2l1 under ischemia[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 485(1):167-173.
- [12] Tain YL, Hsu, CN. targeting on asymmetric Dimethylarginine-Related nitric Oxide-Reactive Oxygen species imbalance to reprogram the development of hypertension[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17(12):e2020.
- [13] Chung JW, Oh MJ, Cho YH, et al. Distinct roles of endothelial dysfunction and inflammation in intracranial atherosclerotic stroke[J]. *European Neurology*, 2017, 77(3/4):211-219.

(2018-11-29 收稿)