

DOI:10.13350/j.cjpb.230216

• 临床研究 •

细菌性脑膜炎患者脑脊液、血清 lncRNA NEAT1 水平与病情及血脑屏障破坏程度相关性分析

胡古月, 杨静*, 黄瑞

(中国医科大学附属盛京医院神经内科, 辽宁沈阳 110072)

【摘要】 **目的** 检测细菌性脑膜炎(BM)患者脑脊液、血清中 lncRNA NEAT1 水平变化情况,并分析其与患者病情严重程度以及血脑屏障破坏程度的相关性。 **方法** 收集 2015 年 2 月-2021 年 12 月间本院收治的 BM 患者 66 例作为 BM 组,另选取同期不具备神经系统感染性疾病但具有腰穿指征的同期住院患者 40 例作为对照组。根据中枢神经系统功能障碍程度将患者分为普通 BM 组与重症 BM 组,收集患者入院 48 h 内脑脊液与血清标本,qRT-PCR 法检测脑脊液与血清标本中 lncRNA NEAT1 水平,比较对照组、BM 组间以及普通 BM 组与重症 BM 组间脑脊液与血清标本中 lncRNA NEAT1 水平;根据白蛋白指数对 BM 患者血脑屏障破坏程度进行分级,比较普通 BM 组与重症 BM 组血脑屏障破坏程度;Pearson 法分析脑脊液 lncRNA NEAT1、血清 lncRNA NEAT1、白蛋白指数间相关性。 **结果** 与对照组相比,BM 组患者脑脊液(3.28 ± 0.51 vs 1.01 ± 0.18)、血清 lncRNA NEAT1 水平(2.51 ± 0.42 vs 1.01 ± 0.16)均升高($P < 0.05$),且 BM 组患者血清与脑脊液中 lncRNA NEAT1 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$);与普通 BM 患者相比,重症 BM 患者脑脊液 lncRNA NEAT1(3.62 ± 0.53 vs 2.82 ± 0.46)、血清 lncRNA NEAT1(2.70 ± 0.46 vs 2.25 ± 0.37)水平升高($P < 0.05$),且普通 BM、重症 BM 患者血清与脑脊液中 lncRNA NEAT1 水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$);普通 BM 患者、重症 BM 患者血脑屏障损伤程度之间比较差异有统计学意义($P < 0.05$);BM 患者脑脊液、血清 lncRNA NEAT1 均与白蛋白指数呈正相关($P < 0.05$),BM 患者脑脊液 lncRNA NEAT1 与血清 lncRNA **结论** BM 患者脑脊液、血清中 lncRNA NEAT1 高表达,其水平与患者严重程度、血脑屏障损伤程度密切相关,为 BM 患者的诊疗提供了靶点。

【关键词】 细菌性脑膜炎;脑脊液;lncRNA NEAT1;病情严重程度;血脑屏障破坏程度

【中图分类号】 R512.5

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)02-0207-04

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 Feb;18(2):207-210.]

Correlation of lncRNA NEAT1 level in cerebrospinal fluid and serum with disease severity and blood-brain barrier damage in patients with bacterial meningitis

HU Gu-yue, YANG Jing, HUANG Rui (*Department of Neurology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110072, China*) *

【Abstract】 **Objective** To detect the changes in lncRNA NEAT1 level in cerebrospinal fluid and serum of patients with bacterial meningitis (BM), and to analyze its correlation with the severity of the disease and the degree of blood-brain barrier damage. **Methods** From February 2015 to December 2021, 66 BM patients admitted to our hospital were regarded as the BM group. Another 40 cases of hospitalized patients who did not have nervous system infectious diseases but had lumbar puncture indications were regarded as the control group. The patients were grouped into normal BM group and severe BM group according to the degree of central nervous system dysfunction. The cerebrospinal fluid and serum samples were collected within 48 hours of admission, and qRT-PCR was used to detect the level of lncRNA NEAT1 in the cerebrospinal fluid and serum samples, the level of lncRNA NEAT1 in cerebrospinal fluid and serum samples was compared between the control group and the BM group, and between the normal BM group and the severe BM group; the degree of blood-brain barrier damage in BM patients was graded according to the albumin index, and the degree of blood-brain barrier damage in the normal BM group and the severe BM group was compared; Pearson's method was applied to analyze the correlation between cerebrospinal fluid lncRNA NEAT1, serum lncRNA NEAT1 and albumin index. **Results**

Compared with the control group, the level of lncRNA NEAT1 in the cerebrospinal fluid (3.28 ± 0.51 vs 1.01 ± 0.18) and serum (2.51 ± 0.42 vs 1.01 ± 0.16) of patients in the BM group were increased ($P < 0.05$), and the level of lncRNA NEAT1 in serum and cerebrospinal fluid of patients in BM group was obviously different ($P < 0.05$); compared with

* **【通讯作者】** 杨静, E-mail: yangj5@sj-hospital.org

【作者简介】 胡古月(1987-),女,辽宁沈阳人,本科,护师,主要从事神经内科方面工作研究, E-mail: huguayue8860@163.com

patients with normal BM, the level of lncRNA NEAT1 in cerebrospinal fluid (3.62 ± 0.53 vs 2.82 ± 0.46) and the level of lncRNA NEAT1 in serum (2.70 ± 0.46 vs 2.25 ± 0.37) were increased in patients with severe BM ($P < 0.05$), and there was a statistically obvious difference in the level of lncRNA NEAT1 in serum and cerebrospinal fluid between normal BM and severe BM ($P < 0.05$); there was a statistically obvious difference in the degree of blood-brain barrier damage between patients with normal BM and patients with severe BM ($P < 0.05$); the lncRNA NEAT1 in the cerebrospinal fluid and serum of patients with BM were positively correlated with the albumin index ($P < 0.05$), the lncRNA NEAT1 in the cerebrospinal fluid was positively correlated with lncRNA NEAT1 in serum in patients with BM ($P < 0.05$). **Conclusion**

The lncRNA NEAT1 is highly expressed in the cerebrospinal fluid and serum of patients with BM, and its level is closely related to the severity of the patients and the degree of blood-brain barrier damage, which provides a target for the diagnosis and treatment of patients with BM.

【Key words】 bacterial meningitis; cerebrospinal fluid; lncRNA NEAT1; disease severity; degree of blood-brain barrier damage

细菌性脑膜炎(Bacterial meningitis, BM)是指严重的中枢神经系统感染性疾病,多种细菌均可引发本病^[1-2]。细菌性脑膜炎需要及时处理,拖延会造成患者不可逆残疾以及死亡。血脑屏障是血浆与脑细胞、脑脊液间的屏障,可阻滞有害物质经由血液进入脑组织,维持脑内稳定环境,血脑屏障破损是BM神经炎症与损伤的重要发病机制^[3-4]。研究认为,长链非编码RNA(lncRNA)在脑代谢、神经干细胞保护、脑内炎症反应中发挥重要作用^[5-6],核富集转录体1(NEAT1)是一种lncRNA,负责维持核旁斑点的结构完整性^[7]。研究显示,NEAT1表达有助于创伤性脑损伤小鼠的功能恢复^[8],然而,目前对BM患者中NEAT1在血脑屏障损伤后的表达和功能及其进一步调节血脑屏障通透性的能力知之甚少。本研究通过分析BM患者血清以及脑脊液样本中NEAT1表达情况,并分析其与患者病情严重程度以及血脑屏障的关系。

材料与方 法

1 研究方法

1.1 研究对象纳入 收集2015年2月-2021年12月间本院收治的BM患者66例作为BM组,其中男36例,女30例,年龄18~52(34.24 ± 5.76)岁。纳入标准:①符合BM诊断标准^[9];②患者有发热、精神差的症状;③签署知情同意书。排除标准:①合并遗传性疾病;②合并自身免疫性疾病;③存在除脑部外的身体其他部位严重感染;④合并肿瘤;⑤肝肾功能不全者。根据中枢神经系统功能障碍程度将患者分为普通BM组与重症BM组,其中无谵妄、昏迷、呼吸衰竭患者为普通BM,有谵妄、昏迷、呼吸衰竭患者为重症BM。另选取同期不具备神经系统感染性疾病但具有腰穿指征的同期住院患者40例作为对照组(疑似BM,但脑脊液检查无异常,排除神经系统感染性疾病),其中男19例,女21例,年龄18~52(38.51 ± 5.58)岁。两组研究对象性别、年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 标本采集 BM组患者于入院后48 h内采集脑脊液标本2 mL以及肘静脉血5 mL,对照组患者入院后48 h采集脑脊液标本2 mL以及肘静脉血5 mL,标本均离心($3\ 000\ r/min$)15 min取上清,-20℃保存待测。

1.3 脑脊液、血清中 lncRNA NEAT1 水平检测 解冻采集的标本,以TRIzol试剂提取脑脊液、血清标本中总RNA,将一定量的RNA逆转录为cDNA,配置qPCR反应体系,循环条件设置为:95℃预处理2 min,95℃10 s,55℃15 s,72℃10 s,循环40次。引物序列见表1。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法以GAPDH作为内参计算血清lncRNA NEAT1水平。

表1 qRT-PCR引物序列
Table 1 qRT-PCR primer sequence

基因 Gene	正向引物 5'-3' Forward primer 5'-3'	反向引物 5'-3' Reverse primer 5'-3'
lncRNA NEAT1	CAATGACTTGGGGATG ATGCAAACAATTACTG	GTA CTCCCCACCTA CACACCCAC
GAPDH	GCACCGTCAAGGCTGA GAAC	TGGTGAAGACGCC AGTGGGA

1.4 血脑屏障损害程度评估 根据患者白蛋白指数评估BM患者血脑屏障损伤程度^[10]。白蛋白指数7.5~10记为轻度损伤;白蛋白指数10~30记为中度损伤,白蛋白指数>30记为重度损伤。白蛋白指数=脑脊液白蛋白×1000/血清白蛋白。

2 统计学分析

采用SPSS 25.0对本研究的数据进行统计学分析,性别等计数资料以(n)表示,采用 χ^2 检验进行两组间(对照组、BM组)比较;等级资料采用n表示,组间比较采用Z检验;符合正态分布的计量资料(年龄、脑脊液lncRNA NEAT1、血清lncRNA NEAT1)采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,组间(对照组、BM组,普通BM、重症BM)比较采用独立样本t检验;BM患者脑脊液、血清lncRNA NEAT1、白蛋白指数之间相关性采用Pearson法。以双侧 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 对照组与 BM 患者脑脊液、血清 lncRNA NEAT1 比较

与对照组相比, BM 组患者脑脊液(3.28 ± 0.51 , 1.01 ± 0.18)、血清 lncRNA NEAT1 水平(2.51 ± 0.42 , 1.01 ± 0.16)均升高($t = 27.103, 32.723, P < 0.05$); 与血清 lncRNA NEAT1 相比, BM 组脑脊液 lncRNA NEAT1 水平升高($t = 9.468, P < 0.05$)。

2 不同严重程度 BM 患者脑脊液、血清 lncRNA NEAT1 比较

与普通 BM 患者相比, 重症 BM 患者脑脊液 lncRNA NEAT1 ($3.62 \pm 0.53, 2.82 \pm 0.46$)、血清 lncRNA NEAT1 水平($2.70 \pm 0.46, 2.25 \pm 0.37$)升高($t = 7.345, 4.258, P < 0.05$); 与血清 lncRNA NEAT1 相比, 普通 BM、重症 BM 脑脊液 lncRNA NEAT1 水平均升高($t = 5.109, 8.081, P < 0.05$)。

3 不同严重程度 BM 患者血脑屏障损伤程度比较

普通 BM 患者血脑屏障损伤轻度 19 例、中度 6 例、重度 3 例, 重症 BM 患者血脑屏障损伤轻度 8 例、中度 19 例、重度 13 例, 普通 BM 患者、重症 BM 患者血脑屏障损伤程度之间比较差异有统计学意义($Z = 3.531, P < 0.05$)。

4 BM 患者脑脊液、血清 lncRNA NEAT1 与白蛋白指数相关性

BM 患者脑脊液 lncRNA NEAT1 与白蛋白指数正相关($r = 0.572, P < 0.05$), BM 患者血清 lncRNA NEAT1 与白蛋白指数正相关($r = 0.601, P < 0.05$), BM 患者脑脊液 lncRNA NEAT1 与血清 lncRNA NEAT1 正相关($r = 0.752, P < 0.05$)。

讨 论

BM 是严重感染性疾病, 多种细菌都可以导致此病发生。病原菌侵入脑脊液内, 脑脊液内免疫球蛋白含量低, 吞噬活力差, 病原菌增长速度快, 同时释放内毒素等致炎物质, 影响神经细胞发挥作用, 并进一步刺激神经胶质细胞生成促炎因子^[11-12]。

血脑屏障是分离血液与脑组织的结构, 由脑毛细血管壁与神经胶质细胞形成, 可阻碍血液中的神经毒性物质渗透在脑组织, 维持脑内无菌环境, 维持中枢神经正常生理状态。因此保护血脑屏障是临床中预防脑损伤的理想治疗选择, 血脑屏障的已知分子性质呼吁寻求新的分子调节器, 改善疾病条件下血脑屏障的完整性与通透性。

研究显示 lncRNA 在 BM 患者损伤脑组织炎症反应、神经生成、应激反应中发挥重要作用^[13], lncRNA NEAT1 是维持核旁斑点结构完整的重要因子, 而核

旁斑点是核染色质间隙中的核糖核蛋白体。Zhao 等^[14]研究显示, 在阿尔茨海默症模型小鼠中 lncRNA NEAT1 表达显著上调, 敲低 NEAT1 基因对 AD 模型具有神经保护作用, 可能作用 AD 治疗的靶点, 其水平升高可能为代偿性升高。但关于 NEAT1 在中枢神经系统疾病中的表达情况研究不一, 研究显示, lncRNA NEAT1 可在体外通过激活 PI3K/Akt 信号通路对阿尔茨海默病模型细胞(PC12)凋亡具有抑制作用, 提示 lncRNA NEAT1 具有神经保护作用^[15]。Yan 等^[16]研究显示, lncRNA NEAT1 基因敲除可抑制帕金森小鼠体内自噬, 减轻多巴胺能神经元损伤。产生不同结果的原因可能是检测时间点不一致, lncRNA NEAT1 是一个动态变化过程。

BM 是以神经损伤为主要症状的感染性疾病, 本研究猜测 lncRNA NEAT1 可能在 BM 中发挥作用。本研究结果显示, BM 患者脑脊液、血清中 lncRNA NEAT1 水平均高于对照者对应标本, 提示 lncRNA NEAT1 在 BM 的发病中发挥作用, 且脑脊液中 lncRNA NEAT1 水平高于血清, 推测脑脊液中 lncRNA NEAT1 由颅内产生, 且血清 lncRNA NEAT1 与脑脊液 lncRNA NEAT1 正相关, 提示 lncRNA NEAT1 在血清中与脑脊液中具有一致性, 可能由于血脑屏障的受损而流通, 检测血清、脑脊液中 lncRNA NEAT1 水平可能有助于判断患者病情严重程度以及血脑屏障损伤程度, 血清与脑脊液中 lncRNA NEAT1 正相关提示患者无创检测成为可能。生理状态下, 脑组织不合成白蛋白, 脑脊液白蛋白含量极低, 当血脑屏障受损, 通透性增加, 脑脊液中白蛋白浓度升高, 因此白蛋白比值可提示血脑屏障的受损程度。本研究中普通 BM 与重症 BM 患者间血脑屏障损伤程度不同, 重症 BM 患者血脑屏障损伤程度为重度者比例多, 提示血脑屏障损伤程度与病情严重程度相关。进一步分析显示, 脑脊液与血清 lncRNA NEAT1 水平均与白蛋白指数正相关, 提示 lncRNA NEAT1 与血脑屏障损伤程度具有一致性, lncRNA NEAT1 水平升高可能是血脑屏障受损的原因之一。Wang 等^[17]研究显示, 体外血脑屏障受损模型中认为内皮细胞 lncRNA NEAT1 水平升高, 过表达 NEAT1 后, ZO-1/occludin 表达降低, 提示 lncRNA NEAT1 过表达可增加血脑屏障通透性。

综上所述, BM 患者脑脊液、血清中 lncRNA NEAT1 高表达, 其水平与患者严重程度、血脑屏障损伤程度密切相关, 为 BM 患者的诊疗提供了靶点。但本研究存在一定不足, 仅为临床研究, 下一步将进行细胞、动物实验验证。

- [1] Dua T. The Impact and Burden of Neurological Sequelae Following Bacterial Meningitis; A Narrative Review [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(5):900.
- [2] He H, Zou Y, He J, et al. A diagnostic scoring system for distinguishing between tuberculous and bacterial meningitis based on clinical and laboratory findings. [J]. *Biomed Res Int*, 2021;1220650.
- [3] Zhang L, Graf I, Kuang Y, et al. Neural progenitor cell-derived extracellular vesicles enhance blood-brain barrier integrity by NF- κ B (nuclear factor- κ B)-dependent regulation of ABCB1 (ATP-binding cassette transporter B1) in stroke mice [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2021, 41(3):1127-1145.
- [4] Gold BT, Shao X, Sudduth TL, et al. Water exchange rate across the blood-brain barrier is associated with CSF amyloid- β 42 in healthy older adults [J]. *Alzheimers Dement*, 2021, 17(12):2020-2029.
- [5] Deng Z, Ou H, Ren F, et al. LncRNA SNHG14 promotes OGD/R-induced neuron injury by inducing excessive mitophagy via miR-182-5p/BINP3 axis in HT22 mouse hippocampal neuronal cells [J]. *Biol Res*, 2020, 53(1):38.
- [6] 韩昆, 马跃文. lnc RNA/micro RNA 调控中枢神经系统损伤后神经干细胞增殖的研究进展 [J]. *重庆医科大学学报*, 2022, 36(1):30-35.
- [7] 刘晨, 季丹, 孙立娜, 等. lncRNA NEAT1 调控肝癌干细胞增殖及自我更新的机制研究 [J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2020, 29(8):916-921.
- [8] 吴依凡, 柴伟娜, 蒋理, 等. 长链非编码 RNA-核富集转录本 1 对创伤性脑损伤小鼠的神经保护作用及其可能机制 [J]. *中华创伤杂志*, 2021, 37(1):80-84.
- [8] Dzupova O, Helcl M, Kramarova R, et al. European Society for clinical microbiology and infectious diseases guidelines for the diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis [J]. *Klin Mikrobiol Infekc Lek*, 2017, 32(2):76-84.
- [10] 李静, 杨赞章, 张娜, 等. 化脓性脑膜炎患儿血清、脑脊液促炎因子水平变化及其与病情、血脑屏障破坏程度的关系 [J]. *山东医药*, 2020, 60(14):71-73.
- [11] 张勇, 董红娟, 梁静静, 等. 成人急性细菌性脑膜炎临床特征和不良预后的危险因素分析 [J]. *卒中与神经疾病*, 2020, 27(4):509-512.
- [12] 赵经纬, 吴蕾, 张少兰, 等. 脑脊液乳酸含量联合细胞学指标对神经外科手术后细菌性脑膜炎的早期诊断价值 [J]. *中国临床医生杂志*, 2021, 49(5):530-534.
- [13] 张信远, 李德珠, 林瑶, 等. lncRNA NEAT1 在中枢神经系统疾病中的研究进展 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 2020, 47(11):1174-1182.
- [14] Zhao MY, Wang GQ. The long-non-coding RNA NEAT1 is a novel target for Alzheimer's disease progression via miR-124/BACE1 axis. [J]. *Neurol Res*, 2019, 41(6):489-497.
- [15] 翟志恒, 田杨, 周玉妮, 等. lncRNA NEAT1 激活 PI3K/Akt 信号通路对 A β (25-35) 诱导的 PC12 细胞凋亡的影响及机制 [J]. *解放军医学杂志*, 2021, 46(12):1188-1195.
- [16] Yan W, Chen ZY. LncRNA NEAT1 promotes autophagy in MPTP-induced Parkinson's disease through stabilizing PINK1 protein [J]. *Biochem Biophys Res Commu*, 2018, 496(4):1019-1024.
- [17] Wang C, Yang Y, Cong L, et al. Implication of long non-coding RNA NEAT1 in the pathogenesis of bacterial meningitis-induced blood-brain barrier damage [J]. *Microvasc Res*, 2021 (138):104225.
- 【收稿日期】 2022-08-12 【修回日期】 2022-11-01
-
- (上接 206 页)
- [5] Pita Lopez ML, Ortiz Lazareno PC, Navarro Meza M, et al. CD28⁻, CD45RA (null/dim) and natural killer-like CD8⁺ T cells are increased in peripheral blood of women with low-grade cervical lesions [J]. *Cancer Cell Int*, 2014, 14(1):97.
- [6] Rashid S, Labani S, Das BC. Knowledge, awareness and attitude on HPV, HPV vaccine and cervical cancer among the college students in India [J]. *PLOS ONE*, 2016, 11(11):713.
- [7] Wu MZ, Zhang Y, Wu X, et al. Transcription expression and clinical significance of mrna of vascular endothelial growth factor and endostatin in liquid-based preparation specimens from patients with cervical dysplasia and carcinoma [J]. *Acta Cytol*, 2013, 57(5):522-527.
- [8] 岑尧, 张翠英, 张雅丽, 等. 中国女性人乳头瘤病毒感染状况及高危型别分布的 Meta 分析 [J]. *癌症进展*, 2013, 11(1):75-81.
- [9] 刘静. 皖北地区女性生殖道感染人乳头瘤状病毒基因分型研究 [D]. 2018, 蚌埠医学院.
- [10] Yuanyue L, Baloch Z, Shanshan, L, et al. Cervical cancer, human papillomavirus infection, and vaccine-related knowledge: Awareness in Chinese women [J]. *Cancer Control*, 2018, 25(1):1073.
- [11] 蒋盈盈, 徐玮, 陶俊贞. 高危人乳头瘤病毒感染状况及其与宫颈病变的相关性分析 [J]. *中国妇幼健康研究*, 2020, 31(5):671-675.
- [12] Hemmat N, Bannazadeh Baghi H. Association of human papillomavirus infection and inflammation in cervical cancer [J]. *Pathog Dis*, 2019, 77(5):48.
- [13] 曹建芳, 郝敏. 宫颈微环境免疫功能与宫颈癌 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2015, 42(3):249-252.
- [14] 谢建萍, 杨志红, 伊芳, 等. 宫颈高危型人乳头瘤病毒感染与阴道菌群及宫颈局部免疫功能的关系 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(10):2336-2339.
- [15] 倪焕娟, 徐彦文, 陈晓翠. 1 246 例门诊体检女性宫颈人乳头状瘤病毒感染及影响因素分析 [J]. *中国计划生育杂志*, 2022, 30(1):193-197.
- 【收稿日期】 2022-08-30 【修回日期】 2022-11-05