

炎症因子基因多态性与缺血性脑卒中研究进展

宫珍卿 王永久 朱孔华

摘 要 脑卒中家族史被认为是脑卒中发病的一个重要的危险因素,但是决定脑卒中遗传易感性的基因仍需要进一步的证实。当前越来越多的证据支持局部和全身炎症反应在非心源性缺血性脑卒中的发生、发展、斑块破裂及血栓形成及动脉粥样硬化等过程中起到重要作用,因此炎症基因可能在非心源性缺血性脑卒中的发病机制中发挥关键的作用。笔者总结概括了常见几种炎症因子:淋巴毒素(LTA)、白介素-6(IL-6)、5-脂氧合酶激活蛋白基因(ALOX5AP)和染色体区 9p21.3 的多态性与非心源性缺血性脑卒中的关系。该研究有利于深刻了解到这些基因的功能以及遗传因素在缺血性脑卒中的进展中的作用。

关键词 非心源性缺血性脑卒中 炎症基因 基因多态性 白介素-6 5-脂氧合酶激活蛋白基因 染色体区 9p21.3

中图分类号 R74 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.10.003

缺血性脑卒中为是个体遗传背景和环境因素相互作用的结果,研究发现一级亲属有脑卒中史的个体卒中发病危险是其他人群的 1.5~2.5 倍,因此找出能够证实缺血性脑卒中危险的生物学标志物,对预警疾病的危险和采取干预措施有重要的意义。TOAST 研究将缺血性脑卒中分为 5 种亚型:①大动脉粥样硬化;②小血管闭塞;③心源性栓塞;④其他确定病因的脑卒中;⑤未知病因的脑卒中。其中非心源性脑卒中的重要发病基础是动脉粥样硬化,是由于颈动脉或椎动脉的动脉粥样硬化性狭窄的发展后果。血管壁炎症是动脉粥样硬化的一个重要机制,炎症因子基因可能在非心源性缺血性脑卒中的发病机制中发挥关键的作用。很多研究揭示了炎症因子基因多态性与非心源性缺血性脑卒中存在着关联,其中染色体区 9p21.3 已经被证实是冠状动脉性心脏病和心肌梗死易感性的基因位点区^[1]。本文将就近年来国内外关于常见炎症因子(LTA、IL-6 和 ALOX5AP)、染色体区 9p21.3 的多态性与非心源性缺血性脑卒中的发病风险的临床试验结果综述如下。

一、淋巴毒素(LTA)

淋巴毒素(lymphotoxin- α , LTA),作为肿瘤坏死因子(TNF)家族中一员,主要由淋巴细胞产生,定位于细胞内染色体 6p21,是一种重要的前炎症细胞素,被认为在动脉粥样硬化的炎症过程中起关键作

用。LTA 主要是通过诱导动脉粥样硬化斑块中黏附因子和细胞因子(血管内皮细胞、平滑肌细胞和白细胞)的聚集发挥作用,而且实验证实 LTA 在脑血管疾病患者血管内表达增加。遗传学研究已经表明在 LTA 内含子-1 的 252 个位置(252A/G)多态性增加了 LTA 基因的转录活性,在 LTA 基因外显子-3 的 804C/A 位置的多态性可导致因素第 26 位密码子的苏氨酸(T)转变为天冬酰胺(N),从而促进脑缺血后的炎症反应^[2]。因此推测 LTA 基因多态性与缺血性脑卒中的发生有关。

在荷兰的一项研究表明 LTA 的 804C/A 位点的多态性与缺血性脑卒中有关,匈牙利一项对 353 个缺血性脑卒中病例和 180 个健康对照者的研究显示 LTA 的 252 位 G 和 804 位 A 等位基因多态性(即 252A/G 和 804C/A)是大血管型缺血性脑卒中的易感因素,而德国的一项大样本研究并未发现 252A/G 和 804C/A 基因多态型与缺血性脑卒中的发病风险相关^[3,4]。日本对 1044 例缺血性脑卒中患者以及年龄、性别相匹配的对照者的研究发现,LTA 的 252A/G 和 804C/A 两个位点基因多态性与缺血性脑卒中和其亚型无关^[5],2015 年印度的一项 250 例缺血性脑卒中病例和 250 个健康对照者研究也未发现 252A/G 和 804C/A 基因多态性多态性与脑卒中的关系,但根据缺血性脑卒中 TOAST 分型进行亚组分析,可以得出 LTA 252A/G 的基因多态性与小动脉硬化型脑梗死有关^[6]。

2016 年最新的 Meta 分析发现 LTA 252A/G 的基因多态性与白种人群的缺血性脑卒中有关,而与亚洲人群的缺血性脑卒中无关,而 LTA 804C/A 的基因多

基金项目:山东省青岛市卫生和计划生育委员会基金资助项目(2014-WJZD104)

作者单位:266100 青岛市第八人民医院神经内科

通讯作者:王永久,副主任医师、硕士生导师,电子信箱:yongjiu75

@163.com

态性与白种人群和亚洲人群的缺血性脑卒中均无关^[7]。

以上研究结果的差异,也说明 LTA 基因多态性与缺血性脑卒中的关系需要在不同的脑梗死亚型、不同的种族人群中研究。

二、白细胞介素 6(IL-6)

白细胞介素 6(IL-6)在急性炎症反应和调节急性期蛋白如 C 反应蛋白的产生中起关键作用。IL-6 通过激活内皮细胞和加速纤维蛋白原合成来促进炎症反应,因此这种炎症因子有可能在血管炎症的发病机制中有重要作用。

IL-6 基因启动子的 -174G/C 位点基因多态性中的 G 等位基因被证明与幼年时期慢性血管炎相关,转染试验也证明不管在人类细胞中含 G 等位基因的细胞其 IL-6 启动子活性比 C 等位基因的细胞高,更重要的是,在健康对照组中,GG 基因型个体血浆 IL-6 浓度几乎是 CC 基因型的 2 倍^[8]。实验还发现,IL-6 中 -174G/C 位点多态性中的 G 等位基因与颈动脉的内膜平均厚度增加有关,是新发心肌梗死和脑卒中的重要指示物^[9]。近年来有研究发现,-174G/C 基因多态性影响血浆中 IL-6 水平,从而与脑卒中史、年轻患者缺血性脑卒中的严重程度有关,GC 基因型可能是缺血性脑卒中一个危险因素^[10]。

2015 年土耳其在对 42 个缺血性脑卒中患者以及 48 个健康对照者的研究中发现,-174G/C 基因多态性中 C 等位基因被认为与缺血性脑卒中的发病风险有关,但是土耳其对儿科脑卒中患者的研究没有发现这种多态性与缺血性脑卒中的关联^[11]。

Tong 等对 748 例中国汉族急性缺血性脑卒中患者和 748 例健康对照组进行了 IL-6 的 -572G/C 和 -174G/C 等位基因进行了队列关联研究,发现 -174G/C 位点的 C 等位基因频率不论在中国汉族的缺血性脑卒中患者还是健康对照组人群中都很低,而 -572 位 G 等位基因频率则很高,且 -572G/C 基因多态性是中国汉族的缺血性脑卒中的独立的危险因素^[12]。2014 年 Yang 等^[13]对 430 例缺血性脑卒中患者和对 461 例健康对照组的研究中发现,IL-6 中的 -174CC 基因型和 -572GG 基因型均轻度增加缺血性脑卒中的发病风险。

2015 年的一项纳入了 2025 例缺血性脑卒中患者和 2174 例健康对照人群的 Meta 分析,发现 -174G/C 基因多态性与缺血性脑卒中的发病风险无

关^[14],而 2016 年的一项纳入了 10549 例血栓性疾病和 19316 例健康对照的 Meta 分析,发现 IL-6 中 -174G/C 基因多态性与心肌梗死发病风险有关,特别是在亚洲人群,而与缺血性脑卒中的发病风险研究结果不一致^[15]。

研究不一致的结果可能反映了 IL-6 复杂的生理作用、脑卒中亚型之间或不同研究人群之间的差异以及试验设计的局限性,Kumar 等^[16]的研究发现,IL-6 中 -174G/C 基因多态性与印度北部人群缺血性脑卒中相关,需要对不同种族的人群进行大样本的前瞻性研究才能明确 IL-6 基因多态性与缺血性脑卒中发病风险的相关性。

三、5-脂氧合酶激活蛋白基因(ALOX5AP)

在血管壁脂肪细胞内,ALOX5AP 参与白细胞三烯合成。首先,花生四烯酸在脂肪氧化酶-5 和其激活蛋白 ALOX5AP 的作用下被转化成白细胞三烯 A4,在白细胞三烯 A4 水解酶和白细胞三烯 C4 合酶的作用下,白细胞三烯 A4 生成炎症可溶性指示物,包括白细胞三烯 B4、C4、D4 和 E4。这些可溶性产物促进血管内白细胞的激活及单核细胞在血管壁内的黏附,促进动脉粥样硬化斑块的炎症反应,从而导致动脉粥样硬化形成或斑块不稳定。

ALOX5AP 基因定位于细胞内染色体的 13q12.3,目前,关于 ALOX5AP 基因多态性与缺血性脑卒中的研究主要集中在 ALOX5AP 基因(HapA 和 HapB)。在冰岛人群中进行的连锁分析和关联研究证明 ALOX5AP 是心肌梗死和缺血性脑卒中的危险因素,实验对 296 例患有这种疾病的家族基因组范围连锁分析研究,染色体区 13q 开始作为与心肌梗死相关联的基因位点被人们所认识,对没有合并心肌梗死的冰岛脑卒中患者的独立的连锁研究测序了同一种基因位点,随后包含 ALOX5AP 基因(HapA)以及 4 种单核苷酸多态性的单倍型被证明与心肌梗死相关联,是正常人群发病危险的 1.8 倍,同时这一单倍型被证实可以增加冰岛脑卒中患者 1.7 倍危险性^[17]。

有研究报道,ALOX5A 启动子的一个位点 rs17222919 多态性与韩国人群缺血性脑卒中的发病风险无关,而与脑出血的发病风险相关,而启动子的另一个位点(-581_582 Ins A)与中国人群缺血性脑卒中的发病风险相关。2012 年,中国的一项对 658 例缺血性脑卒中和 704 例健康人群研究中发现,rs17222919 位点的 G 等位基因增加缺血性脑卒中的发病风险,特别是在小动脉硬化型脑梗死的患者

中^[18]。2014 年对 1003 例中国河南省缺血性脑卒中和 889 例健康对照的人群研究中发现,在病例组中,rs17222919G 等位基因明显低于对照组入群,证明 G 等位基因是缺血性脑卒中的一个保护因素^[19]。

2015 年在中国开展的一项研究,选取了 200 例缺血性脑卒中患者和 200 例健康对照者作为研究对象,对 ALOX5AP 启动子区的 18 个单核苷酸多态性的研究中发现,rs17222919 基因多态性与缺血性脑卒中的发病风险相关,同时研究又选取了 810 例缺血性脑卒中患者和 825 例健康对照人群,对 rs17222919,rs9579646 基因多态性和单倍型与缺血性脑卒中的发病风险分析,结果发现在缺血性脑卒中组 rs17222919 的 G 基因明显低于其对照组,进一步证实 rs17222919 基因多态性与缺血性脑卒中的发病风险相关^[20]。体外实验证实 G 等位基因的转录活性低于 T 等位基因,T 等位基因转录活性的降低主要是通过作用于糖皮质激素受体实现的,另一方面降低脂肪氧化酶-5 的激活,减少白三烯类物质的产生,因而降低缺血性脑卒中的发病风险^[21]。

四、9p21.3

从 2007 年起,大量实验证实了染色体区 9p21.3 的单核苷酸多态性与动脉硬化、冠心病、心肌梗死、2 型糖尿病、脑动脉瘤、腹主动脉瘤发病风险有关^[1]。2009 年,Hu 等^[22]对中国汉族人群 9p21.3 染色体的 CDKN2A 基因(rs3088440 and rs3731245)、CDKN2B 基因(rs3217992 and rs1063192)和 rs10757274 and rs2383206 的基因多态性与缺血性脑卒中的研究发现,rs2383206 的 GG/GA 增加缺血性脑卒中的发病风险,而且 rs2383206 和 rs3731245 基因多态性与大动脉粥样硬化型和小血管硬化型的脑梗死发病有关。

2012 年,中国对 1657 例缺血性和出血性脑卒中和 1644 例病例对照研究中发现,9p21.3 的 ANRIL 基因的 rs10757278GG 位点增加缺血性脑卒中风险的 1.47 倍,增加出血性脑卒中风险的 1.60 倍,该实验还发现 rs10757278GG 和 rs10757274 增加缺血性脑卒中的复发风险^[23]。2014 年,中国另一项对 769 例病例组 682 例对照组的研究中发现,9p21.3 染色体的 rs2383207、rs3731245 和 rs1537378 位点与缺血性脑卒中的发病风险有关^[24]。

美国、瑞典等国外大量实验也证实了 9p21.3 基因多态性与缺血性脑卒中的发病风险有关^[25]。但以前比利时和美国的研究却发现 9p21.3 的单核苷酸多

态性与脑缺血的发病风险无关^[26]。

近年来 Zhang 等^[27]对 1657 例脑卒中患者(724 例动脉粥样硬化性脑血栓、466 例腔隙性脑梗死和 462 例脑出血)进行平均 4.5 年的随访研究发现,rs10757278 GG 位点既增加动脉粥样硬化性缺血性脑卒中的风险也增加脑出血发病风险,且有家族史的脑卒中患者其复发风险增加 2.37 倍。

虽然与染色体区 9p21.3 染色体的基因多态性与冠心病、心肌梗死、糖尿病、颅内动脉瘤及缺血性卒中的发病风险有关,但是其根本的机制仍然不清。这个基因组区主要被限定 2 个周期依赖性激酶抑制剂的编码序列 CDKN2A 和 CDKN2B 以及 ANRIL。这些基因在细胞周期调节中起重要作用,并且隶属于一个基因家族。其中 ANRIL,作为典型的非编码 RNA 的基因,定位于 CDKN2A 和 CDKN2B 编码序列内的基因,通过反转录和 PCR 分析结果显示 ANRIL 在动脉粥样化个体的血管内皮细胞、单核细胞起源的巨噬细胞和冠状平滑肌细胞中细胞中表达,从而促进动脉粥样硬化发生。

综上所述,血管炎症是动脉粥样化性疾病的一个重要机制,因此炎性因子的基因多态性可能在缺血性脑卒中的进展中起重要作用。在控制危险因素如高血压、糖尿病、高血脂症或脂肪代谢障碍以及吸烟基础上,了解其基因多态性,将更好地评估发生缺血性脑卒中的风险,也可应用个体化的治疗方法,增加治疗的效果。因此疾病易感基因的研究将可能有助于缺血性脑卒中的预防、早期诊断和治疗。

参考文献

- 1 Yue X, Tian L, Fan X, *et al.* Chromosome 9p21.3 variants are associated with cerebral infarction in Chinese population[J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 56(3):546-552
- 2 Kumar P, Misra S, Kumar A, *et al.* Association between lymphotoxin Alpha (-252G/A and -804C/A) gene polymorphisms and risk of ischemic stroke: a Meta-analysis[J]. *Acta Neurol Taiwan*, 2016, 25(1):10-17
- 3 Freilinger T, Bevan S, Ripke S, *et al.* Genetic variation in the lymphotoxin-alpha pathway and the risk of ischemic stroke in European populations[J]. *Stroke*, 2009, 40(3): 970-972
- 4 Trompet S, de Craen AJ, Slagboom P, *et al.* Lymphotoxin-alpha C804A polymorphism is a risk factor for stroke. The PROSPER study [J]. *Exp Gerontol*, 2008, 43(8): 801-815
- 5 Hagiwara, N, Kitazono T, Kamouchi M, *et al.* Polymorphisms in the lymphotoxin alpha gene and the risk of ischemic stroke in the Japanese population. The Fukuoka Stroke Registry and the Hisayama Study [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2008, 25(5): 417-422
- 6 Kumar, P. Association between lymphotoxin alpha (-252 A/G and

- 804 C/A) gene polymorphisms and risk of stroke in North Indian population: a hospital - based case - control study[J]. Int J Neurosci, 2016, 126(12): 1127 - 1135
- 7 Kumar P, Misra S, Kumar A, *et al.* Association between Lymphotoxin Alpha (- 252G/A and - 804C/A) gene polymorphisms and risk of ischemic stroke: A Meta - Analysis [J]. Acta Neurol Taiwan, 2016, 25(1): 10 - 17
- 8 Fishman D, Faulds G, Jeffery R, *et al.* The effect of novel polymorphisms in the interleukin - 6 (IL - 6) gene on IL - 6 transcription and plasma IL - 6 levels, and an association with systemic - onset juvenile chronic arthritis[J]. J Clin Invest, 1998, 102(7): 1369 - 1376
- 9 Greisenegger S, Endler G, Haering D, *et al.* The (- 174) G/C polymorphism in the interleukin - 6 gene is associated with the severity of acute cerebrovascular events [J]. Thromb Res, 2003, 110(4): 181 - 186
- 10 Chakraborty B, Chowdhury D, Vishnoi G, *et al.* Interleukin - 6 gene - 174 G/C promoter polymorphism predicts severity and outcome in acute ischemic stroke patients from north India[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis. 2013, 22(5): 683 - 689
- 11 Ozkan A, Silan F, Uludag A, *et al.* Tumour necrosis factor alpha, interleukin 10 and interleukin 6 gene polymorphisms of ischemic stroke patients in south Marmara region of Turkey [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(10): 13500 - 135004
- 12 Tong Y, Wang Z, Geng Y, *et al.* The association of functional polymorphisms of IL - 6 gene promoter with ischemic stroke: analysis in two Chinese populations[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 391(1): 481 - 485
- 13 Yang X, Feng L, Li C, *et al.* Association of IL - 6 - 174G > C and - 572C > G polymorphisms with risk of young ischemic stroke patients[J]. Gene, 2014, 539(2): 258 - 262
- 14 Jin XF, Wang DL, Zhou Y, *et al.* Association between the interleukin - 6 - 174 G/C polymorphism and risk of ischemic stroke: a meta - analysis[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(4): 13076 - 13083
- 15 Ren H, Zhang Y, Yao Y, *et al.* Association between the interleukin - 6 genetic polymorphism 174 G/C and thrombosis disorder risk: Meta - analysis of 10,549 cases and 19,316 controls[J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(27): 4030
- 16 Kumar P, Kumar A, Sagar R, *et al.* Association between interleukin - 6 (G174C and C572G) promoter gene polymorphisms and risk of ischemic stroke in North Indian population: a case - control study[J]. Neurol Res, 2016, 38(1): 69 - 74
- 17 Helgadottir A, Manolescu A, Thorleifsson G, *et al.* The gene encoding 5 - lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke[J]. Nat Genet, 2004, 36(3): 233 - 239
- 18 Wang Y, Wang GN, Sun H, *et al.* Association of ALOX5AP with ischemic stroke in eastern Chinese[J]. World J Emerg Med, 2012, 3(2): 108 - 113
- 19 Fan Y, Chen H, Li A, *et al.* A promoter polymorphism (rs17222919, - 1316T/G) of ALOX5AP gene is associated with decreased risk of ischemic stroke in two independent Chinese populations [J]. PLoS One, 2015, 10(3): 0122393
- 20 Yang, D, Huang X, Cui C, *et al.* Genetic Variants in the Transcriptional Regulatory Region of the ALOX5AP gene and Susceptibility to Ischemic Stroke in Chinese Populations[J]. Sci Rep, 2016, 6: 29513
- 21 Qu ZY, Su F, Zhu YL, *et al.* A tagging ALOX5AP polymorphism and risk of ischemic stroke in a northeastern Chinese Han population[J]. 2015, 8(11): 21343 - 21350
- 22 Hu, WL, Li SJ, Liu DT, *et al.* Genetic variants on chromosome 9p21 and ischemic stroke in Chinese[J]. Brain Res Bull, 2009, 79(6): 431 - 435
- 23 Zhang W, Chen Y, Liu P, *et al.* Variants on chromosome 9p21.3 correlated with ANRIL expression contribute to stroke risk and recurrence in a large prospective stroke population[J]. Stroke, 2012, 43(1): 14 - 21
- 24 Yue, X, Tian L, Fan X, *et al.* Chromosome 9p21.3 Variants are associated with cerebral infarction in Chinese population [J]. J Mol Neurosci, 2015, 56(3): 546 - 552
- 25 Dichgans, M, Malik R, Konig IR, *et al.* Shared genetic susceptibility to ischemic stroke and coronary artery disease: a genome - wide analysis of common variants[J]. Stroke, 2014, 45(1): 24 - 36
- 26 Lemmens R, Abboud S, Robberecht W, *et al.* Variant on 9p21 strongly associates with coronary heart disease, but lacks association with common stroke[J]. Eur J Hum Genet, 2009, 17(10): 1287 - 1293
- 27 Zhang W, Chen Y, Liu P, *et al.* Variants on chromosome 9p21.3 correlated with ANRIL expression contribute to stroke risk and recurrence in a large prospective stroke population [J]. Stroke, 2012, 43(1): 14 - 21

(收稿日期: 2017 - 01 - 02)

(修回日期: 2017 - 01 - 25)

(上接第 6 页)

- 5 缪洪平, 陈志, 唐卫华, 等. 颅内动脉瘤破裂伴颅内血肿的急诊显微手术治疗[J]. 中国临床神经外科杂志, 2009, 14(10): 577 - 579
- 6 侯勇, 罗魏敏, 王剑峰, 等. 大脑中动脉瘤破裂并发颅内血肿脑疝的急诊手术治疗[J]. 浙江创伤外科, 2014, 19(2): 219 - 221
- 7 高振文, 吴国红, 曹明志, 等. 急诊手术治疗颅内动脉瘤破裂颅内血肿并脑疝[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2013, 12(6): 556 - 557

- 8 Wheelock B, Weir B, Watts R, *et al.* Timing of surgery for intracerebral hematomas due to aneurysm rupture[J]. J Neurosurg, 1983, 58(4): 476 - 481
- 9 Pasqualin A, Bazzan A, Cavazzani P, *et al.* Intracranial hematomas following aneurysmal rupture: experience with 309 cases [J]. Surg Neurol, 1986, 25(1): 6 - 17

(收稿日期: 2016 - 06 - 02)

(修回日期: 2016 - 06 - 05)