

· 临床研究 ·

染色体 12p13 的 rs12425791 位点基因多态性与急性缺血性卒中短期预后的关系

曹正余

(云南省第一人民医院急诊内科, 昆明 650032)

摘要:目的 探讨染色体 12p13 的 rs12425791 位点基因多态性与急性缺血性卒中(AIS)短期预后(1年)的关系。方法 选择 401 例 AIS 患者,运用 PCR-RFLP 法检测染色体 12p13 的 rs12425791 位点基因型,患者出院后随访 1 年,观察患者死亡和再发缺血性卒中情况。运用 Logistic 回归模型分析个体基因型和脑卒中预后的关系。结果 401 例 AIS 患者中,有 31 例发生死亡和复发卒中。在校正了年龄、性别和病史等因素后,Logistic 回归分析结果显示,rs12425791 纯合子突变(AA 型基因)的 AIS 患者 1 年内发生死亡或再发卒中的危险度较高,是 GG 型基因患者的 2.602 倍(95%CI 1.216~5.564)。结论 染色体 12p13 的 rs12425791 位点纯合子突变是 AIS 患者短期预后不良的独立危险因素。

关键词:基因型;多态性;单核苷酸;急性缺血性卒中;染色体 12p13

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.33.010

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)33-4004-03

Study on relativity of genetic variants of rs12425791 on chromosome 12p13 and prognosis in patients with acute ischemic stroke

Cao Zhengyu

(Department of Emergency Medicine, Yunnan First People's Hospital, Kunming, Yunnan 650032, China)

Abstract: Objective To investigate the association between genetic variants of rs12425791 on chromosome 12p13 and the one year risk of stroke-related death or recurrent stroke following initial stroke. **Methods** A total of 401 acute ischemic stroke(AIS) patients who had first-ever ischemic stroke were analyzed. The genotypes of chromosome 12p13 rs12425791 were analyzed by PCR-RFLP. Logistic regression analysis was used to assess the effect of individual genotype on stroke-related mortality or recurrent stroke in one year. **Results** Among the 401 AIS patients, 31 died or developed a recurrent stroke. After adjustment for age, sex and vascular risk factors, logistic regression analysis indicated that the odd ratio were 2.602(95%CI 1.216-5.564) for individuals with homozygous variant allele of rs12425791. **Conclusion** This study found that genetic variants of rs12425791 on chromosome 12p13 are independent predictors of stroke-related mortality or stroke recurrence in patients with incident ischemic stroke.

Key words: genotype; polymorphism, single nucleotide; mononucleotide; acute ischemic stroke; chromosome 12p13

急性缺血性卒中(AIS)是脑血管病中的严重急症之一。大量研究证实,遗传因素参与了 AIS 的发生、发展^[1-2]。近年研究发现,染色体 12p13 的 rs12425791 位点基因多态性与高加索人 AIS 发病有关^[3];而在意大利和瑞典人却未发现其相关性^[4-5]。目前对该基因多态性在脑缺血性损伤中的作用及其病理、生理机制尚不清楚。2008 年 3 月至 2010 年 4 月,作者观察了 AIS 患者 rs12425791 位点基因型,并探讨其基因多态性与 AIS 短期预后(1 年)的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2008 年 3 月至 2010 年 4 月本院收治的 401 例 AIS 患者,发病在 72 h 内住院病例(平均住院延迟时间 14.5~18.6 h),入选标准符合 1995 年全国第四次脑血管病学术会议制定的“各类脑血管病诊断要点”^[6]:(1)多为急骤发病;(2)多数无前驱症状;(3)一般意识清楚或有短暂性意识障碍;(4)有颈内动脉系统和(或)椎-基底动脉系统症状和体征;(5)腰穿脑脊液一般不应含血,若有红细胞可考虑出血性脑梗死;(6)栓子的来源可分为心源性或非心源性,也可同时伴有其他脏器、皮肤、黏膜等栓塞症状。并经颅脑 CT/MRI 证实为脑梗

死,排除脑出血。无卒中史,未行溶栓治疗。并排除各种急慢性炎症、肿瘤、明显的肝肾或心功能衰竭及应用免疫抑制剂者。其中男 270 例,女 131 例,年龄 40~88 岁,平均(64.8±12.6)岁。所有患者出院后进行随访,直至 2011 年 4 月结束。随访时间的中位数为 11 个月。详细记录患者在随访期间发生主要心血管事件的时间和疾病名称。主要事件包括:死亡、再发缺血性卒中,按照预后情况分为无不良事件组和有不良事件组。

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集 入院当日详细记录高血压史[高血压诊断标准为收缩压大于或等于 140 mm Hg 和(或)舒张压大于或等于 90 mm Hg]、糖尿病史(空腹血糖大于或等于 7.8 mmol/L 或 OGTT 后 2 h 血糖大于或等于 11.1 mmol/L)、吸烟史(分为现时吸烟者和不吸烟者,不吸烟者包括于本研究前 6 个月戒烟的既往吸烟者)等^[7]。所有入选病例在入院后次日晨起空腹采肘静脉血 5 mL,加入 EDTA 抗凝,4℃离心(3 000 r/min)10 min,应用全自动生化分析仪(Hitachi 7060, Hitachi)检测总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、血糖、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)等生化指标。

表 1 两组患者一般资料比较

组别	n	年龄		性别[n(%)]		原发性高血压病史[n(%)]		糖尿病史[n(%)]		心脏病史[n(%)]		吸烟史[n(%)]	
		($\bar{x} \pm s$, 年)		男	女	有	无	有	无	有	无	现时吸烟者	不吸烟者
无不良事件组	370	64.3 \pm 11.1	250(67.6)	120(32.4)	199(53.8)	171(46.2)	65(17.6)	305(82.4)	54(14.6)	316(85.4)	120(32.4)	250(67.6)	
有不良事件组	31	63.3 \pm 13.4	20(64.5)	11(35.5)	20(64.5)	11(35.5)	10(32.3)	21(67.7)	11(35.5)	20(64.5)	16(51.6)	15(48.4)	

1.2.2 染色体 12p13 的 rs12425791 位点基因多态性检测

(1)基因组 DNA 提取:晨起空腹采肘静脉血 2 mL,加入 EDTA 抗凝,立即置于 4 ℃ 冰箱中,在 1 h 内 4 ℃ 3 500 r/min 离心 10 min。采用血液基因组 DNA 提取试剂盒(GENERay, GK1042 100 次,中国上海)提取基因组 DNA,并于 -20 ℃ 保存。(2)PCR 扩增目的基因片段(引物合成均由上海生工生物工程有限公司合成):上游引物为 5'-TCT CCT TCA TAC TGT TGA CCT TC-3',下游引物为 5'-TTG TCA GAG-GAG AAA CCA AGT AC-3'。(3)酶切反应条件及结果鉴定:PCR 反应体系 25 μ L,扩增条件:94 ℃ 2 min,94 ℃ 30 s,59 ℃ 45 s,72 ℃ 60 s,30 个循环后,72 ℃ 5 min。取扩增产物 10 μ L,用 Sca I 限制性内切酶酶切。配制 2.0% 琼脂糖凝胶,取 PCR 酶切产物 10 μ L 加 1 μ L 上样缓冲液,电压 160 V,时间 30 min 电泳分离,检测分析基因型。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 t 检验;计数资料间比较采用 χ^2 检验。运用 Logistic 回归在校正性别、年龄和疾病史等因素后估计优势比(OR), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者临床资料比较 按随访期间内无不良事件与有不良事件分成两组,分别为 370 例及 31 例。两组患者糖尿病史、心脏病史、吸烟史和 HDL-C 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),而年龄、性别比、TG 和 LDL-C 水平两组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。在有不良事件组中,糖尿病史、心脏病史和吸烟史等显著高于无不良事件组,见表 1、2。

表 2 两组患者实验室资料比较($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	n	TC	HDL-C	TG	LDL-C
无不良事件组	370	5.1 \pm 0.9	1.3 \pm 0.3	1.5 \pm 0.9	3.3 \pm 0.8
有不良事件组	31	5.0 \pm 1.2	1.1 \pm 0.4	1.6 \pm 0.9	3.3 \pm 1.0

2.2 两组患者基因型和等位基因比较 无不良事件组的 GG、GA 和 AA 基因型分别为 216 例、110 例和 33 例,而有不良事件组分别为 21 例、12 例和 9 例,差异有统计学意义($P = 0.0477$)。G 和 A 等位基因频率分别为 542.176 和 54.30,差异有统计学意义($P = 0.0262$)。

2.3 不同基因型与 AIS 预后的关系 在校正了年龄、性别、高血压史、糖尿病史和吸烟史后,AA 型基因的 AIS 患者 1 年内发生死亡或再发卒中的风险较高,是 GG 型基因患者的 2.602 倍(95%CI 1.216~5.564, $P < 0.05$);而 GA 型基因的 AIS 患者 1 年内发生死亡或再发卒中的风险与 GG 型相比差异无统计学意义(95%CI 0.539~2.325, $P > 0.05$)。提示 AA 基因型是 AIS 人群短期预后不良的独立危险因素。见表 3。

表 3 不同基因型和 AIS 患者预后 Logistic 回归分析结果

变量	B	S.E.	Wald	P	OR(95%CI)
AA	0.956	0.388	6.071	0.014	2.602(1.216~5.564)
GA	0.113	0.373	0.092	0.762	1.120(0.539~2.325)

3 讨 论

AIS 是以动脉粥样硬化为主要病因的常见脑血管疾病,是急诊科较为常见的严重急症之一。AIS 的病因和发病机制复杂,除了如高血压、糖尿病、高脂血症、高龄和吸烟等传统危险因素外,其与遗传的关系已越来越被研究者重视。目前认为卒中中属多基因遗传病,自 1992 年 Brass 等^[8]发现卒中在单精合子双胞胎的发病率高于双精合子以来,随着分子生物学技术和人类基因组计划的进展,卒中中相关危险基因的研究越来越多^[9]。

本研究结果显示,纯合子突变(AA 型基因)的 AIS 患者 1 年内发生死亡或再发卒中的风险较高,是 GG 型基因患者的 2.602 倍。有研究对福建汉族人 rs12425791 位点进行基因型检测,发现该位点可能是福建汉族人动脉粥样硬化型脑梗死的遗传风险标记^[10]。另有研究发现,携带 rs12425791 位点 A 等位基因的白人和黑人发生动脉粥样硬化型脑梗死的风险分别为 1.37 倍和 1.41 倍^[3]。虽然本研究和上述研究均得出 A 等位基因是缺血性卒中的危险因素,然而风险比相差近 1 倍,这可能与样本量、不同人种的遗传易感性和研究方案设计有关。但可以基本确定的是,rs12425791 位点纯合型突变,是卒中的遗传危险因素。rs12425791 位点位于 NINJ2 基因 5' 端非编码区上游,该基因在神经再生过程中起重要作用,可能通过改变大脑对缺血损伤的应答反应,而增加卒中风险^[11-12]。研究者据此预测,染色体 12p13 的 rs12425791 位点基因突变可能会导致卒中风险增加,并可能与卒中病情严重程度和预后有关系^[13-14]。

本研究入组人群的基线特征包括高血压病史、糖尿病病史、血糖等多项传统卒中危险因素,在校正了传统危险因素条件下进行基因型对卒中预后的回归分析。虽然存在一些不足之处,例如由于实验条件所限,未能对同型半胱氨酸等新的危险因素进行检测,但本研究的结果仍然提示 rs12425791 位点纯合子突变和 AIS 短期预后有关。虽然两组间样本量差别较大,但是通过回归分析,仍能得出 rs12425791 位点纯合子突变和 AIS 短期预后有关的结论。下一步的研究,可以更多的收集患者颈动脉内-中膜厚度、高敏 C 反应蛋白等指标,纳入更多的研究对象,进行更细致的分层研究,以提高结果的准确性和可靠性。

基因型检测便于在医院开展,费用较低,与传统心脑血管

危险因素相结合,可以提高对脑卒中高危人群筛查的灵敏度。本研究对 AIS 患者染色体 12p13 的 rs12425791 位点纯合子突变和 AIS 短期预后进行分析,结果提示该位点突变是 AIS 人群短期预后不良的独立危险因素。故在临床上对 AIS 患者应行染色体 12p13 的 rs12425791 位点基因型检测,来发现高危患者以利及时治疗,防止病情进展。

参考文献:

- [1] Pruissen DM, Kappelle LJ, Rosendaal FR, et al. Genetic association studies in ischaemic stroke: replication failure and prospects[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2009, 27(3): 290-294.
- [2] Domingues-Montanari S, Fernandez-Cadenas I, Del RA, et al. Association of a genetic variant in the ALOX5AP with higher risk of ischemic stroke: a case-control, meta-analysis and functional study[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2010, 29(6): 528-537.
- [3] Ikram MA, Seshadri S, Bis JC, et al. Genomewide association studies of stroke[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(17): 1718-1728.
- [4] Lotta LA, Giusti B, Saracini C, et al. No association between chromosome 12p13 single nucleotide polymorphisms and early-onset ischemic stroke [J]. *J Thromb Haemost*, 2010, 8(8): 1858-1860.
- [5] Olsson S, Melander O, Jood K, et al. Genetic variant on chromosome 12p13 does not show association to ischemic stroke in 3 swedish case-control studies[J]. *Stroke*, 2011, 42(1): 214-216.
- [6] 中华神经科学会. 全国脑血管病学术会议各类脑血管疾病诊断要点[J]. *中华神经科杂志*, 1996, 29(6): 381-383.
- [7] Mancina G, De Backer G, Dominiczak A, et al. Guidelines

for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the european society of hypertension(ESH) and of the european society of cardiology(ESC)[J]. *J Hypertens*, 2007, 25(6): 1105-1187.

- [8] Brass LM, Isaacs JH, Merikangas KR, et al. A study of twins and stroke[J]. *Stroke*, 1992, 23(2): 221-223.
- [9] Alberts MJ. Genetics update: impact of the human genome projects and identification of a stroke gene[J]. *Stroke*, 2001, 32(6): 1239-1241.
- [10] 尚贤金, 林毅, 方玲, 等. 染色体 12p13 两基因间多态与脑梗死的关系[J]. *中华神经科杂志*, 2011, 44(9): 613-618.
- [11] Araki T, Milbrandt J. Ninjurin, a novel adhesion molecule, is induced by nerve injury and promotes axonal growth[J]. *Neuron*, 1996, 17(2): 353-361.
- [12] Kubo T, Yamashita T, Yamaguchi A, et al. Analysis of genes induced in peripheral nerve after axotomy using cDNA microarrays[J]. *J Neurochem*, 2002, 82(5): 1129-1136.
- [13] Hsieh YC, Seshadri S, Chung WT, et al. Association between genetic variant on chromosome 12p13 and stroke survival and recurrence: a one year prospective study in Taiwan[J]. *J Biomed Sci*, 2012, 19(1): 1-3.
- [14] Madrigal I, Martinez M, Rodriguez-Revenga L, et al. 12p13 rearrangements: 6Mb deletion responsible for ID/MCA and reciprocal duplication without clinical responsibility[J]. *Am J Med Gene*, 2012, 158(5): 1071-1076.

(收稿日期: 2013-06-21 修回日期: 2013-07-25)

(上接第 4003 页)

- 2003, 10(5): 403.
- [4] 张庆芳. UF-1000i 全自动尿沉渣分析仪在胸腹腔积液检测中的应用[J]. *中国实用医药*, 2009, 11(1): 34-35.
- [5] 王长本, 李良琼, 孟凡萍, 等. 自动化仪器在胸腹腔积液白细胞计数及分类中的应用[J]. *中国误诊学杂志*, 2008, 8(25): 6116-6117.
- [6] 周艳君. 血细胞分析仪在胸腔积液白细胞测定中的临床价值[J]. *医学信息内: 外科版*, 2009, 7(6): 613-614.
- [7] 胡晓卫, 白雯. 自动化分析仪在胸腹腔积液细胞技术及分类中的应用[J]. *陕西医学杂志*, 2009, 7(8): 928-929.
- [8] 李志方, 索朗卓玛, 林敏, 等. 自动化仪器在浆膜腔积液细胞计数中的应用[J]. *检验医学与临床*, 2009, 9(6): 1417-

1418.

- [9] 白雪丽. XT-4000i 多功能全自动血细胞分析仪在体液细胞检测中与手工法的应用比较[J]. *中国医疗设备*, 2012, 27(1): 75-76.
- [10] Takemura H, Tabe Y, Ishii K, et al. Evaluation of capability of cell count and detection of tumor cells in cerebrospinal and body fluids by automated hematology analyzer [J]. *Risho Byori*, 2010, 58(6): 559-564.
- [11] Boer K, Deufel T, Reinhoefer M. Evaluation of the XE-5000 for the automated analysis of blood cells in cerebrospinal fluids[J]. *Clin Biochem*, 2009, 42(7): 683-691.

(收稿日期: 2013-07-13 修回日期: 2013-08-06)

启事: 本刊对院士及 863、973 项目文章开通绿色通道, 欢迎投稿。