

摘 要

TIA 人群中 ApoE、MTHFR 基因多态性与颈动脉斑块的相关性分析

目的:

回顾性分析首发颈内动脉系统TIA（Transient cerebral ischemic attack）人群 ApoE、MTHFR基因多态性与颈动脉斑块的相关性，为指导临床预防及治疗颈动脉粥样硬化和TIA提供理论依据。

方法:

选取2020年10月至2022年10月就诊于吉林大学中日联谊医院神经内一科的198例首发颈内动脉系统TIA人群作为研究对象，应用核酸质谱技术检测其ApoE、MTHFR C677T基因多态性，根据颈动脉超声检查结果，将符合入选标准的患者分为以下三组：有斑块组（易损斑块组（135例）、非易损斑块组（44例））和无斑块组（19例）；收集并整理研究对象的一般临床资料，实验室检查：甘油三酯（TG）、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、载脂蛋白A1(ApoA1)、载脂蛋白B(ApoB)、小而低密度胆固醇（sdLDL-C）、脂蛋白（a）（LP(a)）、总胆固醇（TC）、载脂蛋白E(ApoE)、载脂蛋白A1与载脂蛋白B比值（ApoA1/ApoB）、同型半胱氨酸(Hcy)等。采用SPSS 25.0统计软件比较三组的ApoE、MTHFR C677T基因型及等位基因分布特点，一般临床资料、实验室检查间的差异；采用Logist回归法分析颈动脉斑块形成的危险因素；再进行亚组分析，探讨颈动脉易损斑块的危险因素。

结果:

1. ①无斑块、非易损斑块、易损斑块三组的 ApoE、MTHFR C677T 基因型及等位基因分布频率存在明显差异， $P<0.01$;

②易损斑块组 ApoE ϵ 4 等位基因分布频率（9.8%）vs.非易损斑块组 ApoE ϵ 4 等位基因分布频率（0.2%）， t 值=-2.265， $P<0.001$ ，存在明显差异；

③易损斑块组 MTHFR C677T TT 基因型分布频率（17.7%）vs.非易损斑块组 MTHFR C677T TT 基因型分布频率（10.5%）， t 值=-2.673， $P<0.001$ ；无斑块组

MTHFR C677T T 等位基因分布频率（3.8%）vs.有斑块组 MTHFR C677T T 等位基因分布频率（50.7%）， t 值=-2.845， $P<0.01$ ，差异具有统计学意义。

2. ①无斑块、非易损斑块、易损斑块三组的总胆固醇、TG、sdLDL-C、LP(a)、LDL-C、ApoE、Hcy 水平具有显著差异， $P<0.05$ ，且呈升高趋势；而 HDL-C 也具有差异， $P<0.05$ ，呈下降趋势；

②ApoE2/3、ApoE3/3、ApoE3/4 三组的总胆固醇、TG、LDL-C、sdLDL-C、ApoA1/ApoB、LP(a)、ApoE、Hcy 均存在差异， $P<0.05$ ，且呈升高趋势；而 HDL-C 也具有差异， $P<0.05$ ，呈下降趋势；

③MTHFR C677T CC、CT、TT 基因型 Hcy 水平具有显著差异， $\chi^2=32.601$ ， $P<0.05$ ，且呈升高趋势。

3. 回归分析的结果示：①年龄(OR值=1.134,95% CI:1.028~1.251, $P<0.05$)、高血压(OR值=47.42,95% CI:5.372~418.613, $P<0.05$)、糖尿病(OR值=3.351,95% CI:1.07~10.494, $P<0.05$)、总胆固醇(OR值=2.429,95% CI:1.233~4.786, $P<0.05$)、Hcy(OR值=1.337,95% CI:1.116~1.602, $P<0.05$)分别是颈动脉斑块形成的危险因素；HDL-C(OR值=0.138,95% CI:0.029~0.652, $P<0.05$)是颈动脉斑块的保护因素；

② LDL-C(OR 值 =1.741,95% CI:1.133~2.675, $P<0.05$)、总胆固醇(OR 值 =1.805,95% CI:1.233~2.641, $P<0.05$)、MTHFR TT 基因型(OR 值 =2.885,95% CI:1.23~6.768, $P<0.05$)、ApoE ϵ 4 等位基因(OR 值 =10.491,95% CI:1.355~81.231, $P<0.05$)与颈动脉斑块的易损性相关，增加易损斑块风险。

结论：

1.ApoE ϵ 4 等位基因、MTHFR C677T TT 基因型与颈内动脉系统 TIA 患者颈动脉斑块的易损性相关，增加易损斑块风险。

2.总胆固醇、Hcy、高血压、糖尿病、年龄是颈内动脉系统 TIA 患者颈动脉斑块形成的危险因素；HDL-C 是颈动脉斑块的保护因素；LDL-C、总胆固醇增加颈动脉易损斑块风险。

关键词：

ApoE 基因，MTHFR C677T 基因，颈内动脉系统 TIA，斑块易损性，脂质代谢，Hcy

Abstract

Correlation analysis of ApoE and MTHFR gene polymorphisms and carotid plaque in TIA population

Objective:

A retrospective analysis of the correlation between ApoE and MTHFR gene polymorphisms and carotid plaque in the population with first TIA (Transient cerebral ischemic attack) in the internal carotid artery system was conducted to provide a theoretical basis for guiding clinical prevention and treatment of carotid atherosclerosis and TIA.

Methods:

A population of 198 patients with first-episode TIA of the internal carotid artery system who visited the Department of Neurology I at Sino-Japanese Friendship Hospital of Jilin University from October 2020 to October 2022 were selected as study subjects, and their ApoE and MTHFR C677T gene polymorphisms were detected by applying nucleic acid mass spectrometry. Based on the results of carotid ultrasonography, patients who met the inclusion criteria were divided into the following three groups: the group with plaque (vulnerable plaque group (135 patients), non-vulnerable plaque group (44 patients)) and no plaque group (19 patients); general clinical data of the study subjects were collected and compiled, and laboratory tests: triglycerides (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), apolipoprotein A1 (ApoA1), apolipoprotein B (ApoB), small and dense low-density cholesterol (sdLDL-C), lipoprotein(a) (LP(a)), total cholesterol (TC), apolipoprotein E (ApoE), apolipoprotein A1 to apolipoprotein B ratio (ApoA1/ApoB), and homocysteine (Hcy). SPSS 25.0 statistical software was used to compare the characteristics of ApoE, MTHFR C677T genotype and allele distribution, general clinical information, and differences between laboratory tests in the three groups; Logist regression was used to analyze the risk factors for carotid

plaque formation; then subgroup analysis was performed to explore the risk factors for vulnerable plaque in carotid arteries.

Results:

1. ① Significant differences in ApoE, MTHFR C677T genotypes, and allele distribution frequencies among the three groups of no plaque, non-vulnerable plaque, and vulnerable plaque, $P<0.01$;

② There was a significant difference in ApoE ϵ 4 allele distribution frequency in the vulnerable plaque group (9.8%) vs. ApoE ϵ 4 allele distribution frequency in the non-vulnerable plaque group (0.2%), t -value = -2.265, $P<0.001$.

③ MTHFR C677T TT genotype distribution frequency in the vulnerable plaque group (17.7%) vs. MTHFR C677T TT genotype distribution frequency in the non-vulnerable plaque group (10.5%), t -value = -2.673, $P<0.001$; MTHFR C677T T allele distribution frequency in the no plaque group (3.8%) vs. C677T T allele distribution frequency (50.7%), t value = -2.845, $P<0.01$, the difference was statistically significant.

2. ① Total cholesterol, TG, sdLDL-C, LP(a), LDL-C, ApoE, and Hcy levels in the three groups of no plaque, non-vulnerable plaque, and vulnerable plaque were significantly different, $P<0.05$, and showed an increasing trend; while HDL-C was also different, $P<0.05$, and showed a decreasing trend.

② Total cholesterol, TG, LDL-C, sdLDL-C, ApoA1/ApoB, LP(a), ApoE, and Hcy levels in the ApoE2/3, ApoE3/3, and ApoE3/4 groups differed, $P<0.05$, and showed an increasing trend; while HDL-C also differed, $P<0.05$, and showed a decreasing trend.

③ MTHFR C677T CC, CT, TT genotype Hcy levels had a significant difference, $\chi^2=32.601$, $P<0.05$, and showed an increasing trend.

3. The results of regression analysis showed that: ① Age (OR = 1.134, 95% CI: 1.028~1.251, $P<0.05$), hypertension (OR = 47.42, 95% CI: 5.372~418.613, $P<0.05$), diabetes mellitus (OR = 3.351, 95% CI: 1.07~10.494, $P<0.05$), total cholesterol (OR=2.429, 95% CI: 1.233~4.786, $P<0.05$), and Hcy (OR=1.337, 95% CI: 1.116~1.602,

$P<0.05$) were risk factors for carotid plaque formation; HDL-C (OR=0.138, 95% CI: 0.029~0.652, $P<0.05$) were protective factors for carotid plaque.

② LDL-C (OR=1.741, 95% CI: 1.133~2.675, $P<0.05$), total cholesterol (OR=1.805, 95% CI: 1.233~2.641, $P<0.05$), MTHFR TT genotype (OR=2.885, 95% CI: 1.23~6.768, $P<0.05$), and ApoE ϵ 4 allele (OR=10.491, 95% CI: 1.355~81.231, $P<0.05$) were associated with increased susceptibility to carotid plaque and increased risk of vulnerable plaque.

Conclusions:

1. ApoE ϵ 4 allele and MTHFR C677T TT genotype were associated with the susceptibility of carotid plaque in patients with TIA of the internal carotid artery system and increased the risk of vulnerable plaque.

2. Total cholesterol, Hcy, hypertension, diabetes mellitus, and age were risk factors for carotid plaque formation in patients with TIA of the internal carotid artery system; HDL-C was a protective factor for carotid plaque; LDL-C and total cholesterol increased the risk of carotid vulnerable plaque.

Keywords:

ApoE gene, MTHFR C677T gene, TIA of the internal carotid artery system, plaque vulnerability, lipid metabolism, Hcy

中英文缩略词表

英文缩写	英文全称	中文名称
TIA	Transient cerebral ischemic attack	短暂性脑缺血发作
AIS	Acute ischemic stroke	急性缺血性脑卒中
CAS	carotid atherosclerosis	颈动脉粥样硬化
NVP	Non-vulnerable plaques	非易损斑块
VP	Vulnerable plaque	易损斑块
Hcy	Homocysteine	同型半胱氨酸
TC	Total cholesterol	总胆固醇
TG	Triglyceride	甘油三酯
HDL-C	High-density lipoprotein cholesterol	高密度脂蛋白胆固醇
LDL-C	Low-density lipoprotein cholesterol	低密度脂蛋白胆固醇
SdLDL-C	Small,dense low-density cholesterol	小而低密度胆固醇
LP(a)	Lipoprotein a	脂蛋白 (a)
ApoA1	Apolipoprotein A1	载脂蛋白 A1
ApoB	Apolipoprotein B	载脂蛋白 B
ApoE	Apolipoprotein E	载脂蛋白 E
CIMT	Carotid artery intima-media thickness	颈动脉内中膜厚度
IPH	Intra-plaque hemorrhage	斑块内出血
MTHFR	Methylenetetrahydrofolate reductase	亚甲基四氢叶酸还原酶
Ox.LDL	Oxidative modification of LDL	氧化修饰低密度脂蛋白
HWE	Hardy—Weinberg equilibrium	哈代·温伯格 平衡
CRP	C-reactive protein	C 反应蛋白
SR	Scavenger receptor	清道夫受体
Met	Methionine	蛋氨酸
PCR	Polymerase chain reaction	聚合酶链式反应
FPG	Fasting blood glucose test	空腹血糖检测
OR	odds ratio	优势比
CI	confidence interval	可信区间

目 录

第 1 章 引言.....	1
第 2 章 文献综述.....	2
2.1 颈动脉粥样硬化斑块形成的生理机制	2
2.2 ApoE 基因多态性、血脂及颈动脉粥样硬化之间的相关性	2
2.2.1 ApoE 基因多态性与血脂的关系	2
2.2.2 血脂与颈动脉粥样硬化的关系	3
2.2.3 ApoE 基因与颈动脉粥样硬化的关系	3
2.3 颈动脉粥样硬化的危险因素	4
2.3.1 吸烟与颈动脉粥样硬化的关系	4
2.3.2 年龄、高血压与颈动脉粥样硬化的关系	4
2.3.3 糖尿病和颈动脉粥样硬化的关系	4
2.4 MTHFR C677T 基因多态性与 Hcy 及 CAS 的关系.....	5
2.4.1 Hcy 代谢与 CAS 的关系.....	5
2.4.2 MTHFR C677T 基因与 CAS 的相关性.....	5
2.5 颈动脉粥样硬化的治疗	5
2.5.1 他汀类药物	6
2.5.2 抗血小板聚集类药物	6
2.5.3 中药.....	6
2.5.4 经皮超声治疗	6
2.5.5 血管内介入治疗	7
2.5.6 其他治疗.....	7

第 3 章 临床资料与方法	8
3.1 研究对象.....	8
3.2 入选标准.....	8
3.3 排除标准	8
3.4 临床资料采集	8
3.4.1 基本信息.....	8
3.4.2 生化指标测定	9
3.4.3 ApoE、MTHFR C677T 基因多态性测定	9
3.4.4 颈动脉超声检查	9
3.4.5 相关指标的定义	9
3.5 研究方法.....	10
3.5.1 各组的血脂、一般资料及基因型比较	10
3.5.2 颈动脉斑块相关因素的回归分析	10
3.6 统计学分析.....	10
3.6.1 Hardy-Weinberg 平衡检验.....	10
3.6.2 数据处理分析	11
第 4 章 结 果.....	12
4.1 研究对象 ApoE 、MTHFR C677T 基因多态性特点（基因型及等位基因分布情况）	12
4.1.1 无斑块、非易损斑块及易损斑块组 ApoE 基因型频率比较	12
4.1.2 无斑块、非易损斑块及易损斑块组 ApoE 等位基因频率比较	12

4.1.3 无斑块、非易损斑块及易损斑块组 MTHFR C677T 基因型频率比较.....	13
4.1.4 无斑块、非易损斑块及易损斑块组 MTHFR 等位基因频率比较.....	13
4.2 研究对象各分组血脂、一般资料、基因型分布情况	13
4.2.1 ApoE 各基因型血脂水平比较	14
4.2.2 无斑块、非易损斑块及易损斑块组的脂质水平、Hcy 的比较	15
4.2.3 无斑块、非易损斑块及易损斑块组的一般资料比较	16
4.2.4 MTHFR C677T 各基因型 Hcy 比较.....	17
4.3 颈动脉斑块相关因素的二元 LOGISTIC 回归分析	18
4.4 颈动脉斑块易损性相关因素的二元 LOGISTIC 回归分析	19
第 5 章 讨论.....	21
5.1 ApoE 、血脂与颈动脉斑块的关系.....	21
5.2 高血压、糖尿病、年龄与颈动脉斑块的相关性.....	22
5.3 MTHFR 基因与颈动脉斑块易损性的相关性.....	22
5.4 不足与展望.....	22
第 6 章 结论.....	24
参考文献.....	25
作者简介及在学期间取得的科研成果	33
致 谢.....	34

第 1 章 引言

目前 TIA 的发病机制尚未完全清楚,许多研究显示 TIA 患者早期卒中风险很高,颈动脉粥样硬化(carotid atherosclerosis,CAS)斑块及其导致的颅外段血管狭窄是 TIA 发病的重要原因之一,反复发作的 TIA 极易进展成急性缺血性脑卒中(Acute ischemic stroke,AIS)^[1]。CAS 斑块又可分为非易损斑块(Non-vulnerable plaques, NVP)和易损斑块(Vulnerable plaque,VP)。大量研究表明,斑块的易损性主要取决于纤维帽的状态极其固定度。NVP:其脂质核心小、新生血管少、无炎症反应,结构较稳定,纤维帽厚,因而不易脱落、破裂;VP:富含脂质坏死核的体积大、斑块内出血(IPH)、破裂风险高。既往大量研究表明,基因多态性在 CAS 过程中发挥着重要作用^[2]。有关颈动脉粥样硬化斑块致病基因主要如下:1.如 ACE 基因、eNOS 基因、MTHFR 基因等导致血管内皮细胞损伤、动脉管壁硬化的血管内皮通路的相关基因^[3-5]。2.通过影响脂质代谢的 ApoA、ApoE 基因、ApoB 基因等,间接导致血管动脉粥样硬化^[6-8]。3.经研究证实 PAI-1、GPIIb/IIIa 等^[9]参与凝血/纤溶通路的基因也与动脉粥样硬化斑块形成、发展有关。4.参与动脉管壁慢性炎症反应的 IL-1、IL-6、TNF- β 等基因增加斑块易损性^[10-13]。易损斑块发生破裂出血,甚至脱落,致使颅内远端血管发生栓塞,进而导致 AIS 的发生,因此颈动脉斑块的易损性成为预测脑梗死发展的重要因素之一^[14-15]。因此对颈动脉粥样硬化斑块进行有效防治,对 TIA 的治疗及预后起积极作用。颈动脉超声可实时观察血管管腔、内膜情况,从不同切面显示血管结构,同时能检测 AS 的斑块厚度及易损性,具有无辐射、重现性好、分辨率较高、操作简洁等优势,已经成为诊断颈动脉粥样硬化斑块公认的简便检查手段之一^[16]。

首发 TIA 往往容易被人们忽视,导致缺乏进一步有效的检出及治疗;而颈动脉粥样硬化是 TIA 重要的危险因素之一;目前国内外对 TIA 人群中 ApoE、MTHFR 基因多态性与颈动脉斑块的相关研究较少。故本研究旨在通过探讨首发颈内动脉系统 TIA 人群中这两种基因型与颈动脉斑块的相关性,并对斑块形成及斑块易损性的危险因素进行分析,为指导临床预防及治疗颈动脉粥样硬化和 TIA 提供理论依据,从而减少 TIA 及脑梗死的发病率。

第2章 文献综述

颈动脉粥样硬化的研究进展

2.1 颈动脉粥样硬化斑块形成的生理机制

既往研究提出脂质沉积于动脉管壁是 CAS 最重要的病理机制, 随研究不断深入, 逐渐证实了由内源性单核巨噬细胞和获得性 T 淋巴细胞为主要诱导细胞的进展性免疫炎症病理过程。在血管内皮细胞损伤的基础上, 脂质颗粒 (LDL 为主) 沉积于动脉内皮下并诱导血液中大量淋巴、巨噬细胞聚集, 巨噬细胞吞噬脂质形成泡沫细胞并组成脂池, 诱导动脉血管壁中层的平滑肌细胞向内膜迁移, 并生成大量的胶原蛋白及弹力纤维, 这些物质进一步对脂池进行包裹, 最终形成典型的动脉粥样硬化斑块^[17]。随之在一系列因素的作用下愈发不稳定, 直至发生脱落, 造成远端血管堵塞, 最终导致脑卒中的发生的一系列病理生理过程^[18]。Ge 等对破裂的动脉粥样斑块实验研究表明: 斑块的易损性与纤维帽的厚度有强相关性^[19]。

2.2 ApoE 基因多态性、血脂及颈动脉粥样硬化之间的相关性

2.2.1 ApoE 基因多态性与血脂的关系

载脂蛋白 E (ApoE) 是参与脂蛋白代谢的主要运载蛋白, 其主要在肝脏细胞中表达。它是一种多肽蛋白, 不同的亚型与脂质和脂蛋白水平的变化相关, 从而与心脑血管风险相关^[20-22]。与 ApoE3 相比, ApoE4 亚型与 LDL-C 水平升高相关, 因此具有更高的心脑血管风险。然而, ApoE2 与 LDL-C 水平的轻度降低有关^[23-25]。多数研究指出 ApoE4 与较高的 ApoB、总胆固醇、LDL-C 和残余胆固醇水平相关^[26-27]。马文兵^[28]等人的研究证实携带 ApoE ϵ 4 等位基因的脑梗死患者血浆中总胆固醇、甘油三酯及 LDL-C 水平明显高于 ϵ 3 等位基因携带者。而 ApoE3 具有更高的降解 VLDL 活性的作用^[29]。此外, ApoE 基因多态性与血浆 HDL-C 的相关性仍无统一论^[30]。还有一项研究认为, ApoE2 携带者 LDL-C 水平的降低可能是由于与 ApoE4 相反的机制(VLDL 中 ApoE2 的相对减少将减缓肝脏摄

取,从而上调 LDL 受体)^[31]。巴西南部一项关于 ApoE 基因的研究中发现, ApoE ϵ 4 等位基因与动脉粥样硬化组血脂水平无关,但在无动脉粥样硬化组中却有较高的 LDL-C 水平^[32]。综上,然目前众多研究认为 ApoE ϵ 4 等位基因是血脂的不利因素。

2.2.2 血脂与颈动脉粥样硬化的关系

研究发现,脂蛋白中主要是Ox-LDL和总胆固醇使血管内膜破损,随后炎症趋化因子诱导单核细胞聚集,并转化为巨噬细胞,吞噬Ox-LDL形成泡沫细胞,进一步与脂质、免疫复合物和纤维蛋白结合形成血栓,引起动脉粥样硬化。而LP(a)也在多项动物实验中被证实存在于动脉粥样硬化病灶中,可作为早期检测动脉粥样硬化的指标。还有研究认为ApoA1可能与AS更为相关^[33],通过反向转运胆固醇、抗炎症、抗凋亡和抗氧化,起到保护因素的作用。而Ox-LDL可与巨噬细胞的SR1结合,通过上述病理过程,加速斑块形成。一个关于亚临床粥样硬化进展和炎症细胞因子的研究(Subclinical Atherosclerosis Development and Inflammatory Cytokines, AIR研究)^[34]也得出Ox-LDL与CAS具有强相关性。

2.2.3 ApoE 基因与颈动脉粥样硬化的关系

研究指出,脂质的摄取及代谢过程中有多种基因参与。其中ApoE基因通过不同的结合位点维持脂蛋白的转化、吸收过程,故而对脂代谢产生较大的影响。与CAS相关的ApoE基因现仍存在争议。国外一研究发现ApoE2/E3基因型者的颈动脉IMT比ApoE3/E3基因型者更薄,斑块更少^[35]。AIR研究^[36]则发现ApoE2/E2基因型者相比于ApoE4/E4基因型者患CAS的风险更高。一项韩国研究认为, ApoE ϵ 4等位基因是LAA型脑梗死患者复发的重要预测因子^[37]。Kahri J等人^[38]指出ApoE ϵ 2等位基因携带者与低HDL-C浓度水平明显相关。目前的研究结果表明ApoE在动脉粥样硬化中发挥的机制如下:1.在无动脉粥样硬化的人体动脉管壁内膜中检测不到ApoE,而尸检材料动脉硬化斑块管壁病灶处ApoE的含量却很高。2.单核巨噬细胞吞噬的脂质核心中检测出高水平ApoE。3.一项动物实验中,敲除ApoE基因的实验小鼠无明显动脉粥样硬化,即使在喂养高脂质食物情况下。综上,多项研究表明ApoE基因可能通过参与血脂调节进而影响颈动脉粥样硬化。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/237014004160006050>