

ANRIL, PON 基因及其交互效应对急性缺血性 脑卒中后认知损伤的影响*

刘生刚^{1,2} 肖雷¹ 段园园¹ 邓小红¹ 王亚军¹ 柳华^{1,2}

(1. 绵阳市人民医院神经内科·川北医学院, 四川 绵阳 621053; 2. 成都市第三人民医院·西南交通大学附属医院神经内科, 四川 成都 610014)

【摘要】 目的 探讨 ANRIL, PON 基因及其交互效应对急性缺血性脑卒中 (IS) 后认知损伤 (PSCI) 的影响。方法 以 17~70 岁汉族初发急性 IS 患者作为研究对象, 发病后 2 周采用简易智能量表 (MMSE) 进行认知测定, 检测 ANRIL 和 PON 基因单核苷酸多态性 (SNPs), 采用多因素回归方法和多因子降维法 (MDR) 分析 IS 后认知损伤的传统危险因素和易感基因位点以及它们之间的交互作用。结果 共纳入研究对象 255 例, 88 例具有程度不同的认知损伤 (34.5%)。分析发现, rs10116277 G 等位基因携带者认知损伤发病风险更小 ($OR=0.128, P=0.001$), rs1333049 C 等位基因 ($OR=1.472, P=0.038$), rs12026 ($OR=2.595, P=0.015$) 和 rs7493 GG 基因型 ($OR=2.597, P=0.015$), 以及 rs3735590 A 等位基因 ($OR=1.731, P=0.034$) 增加了认知损伤发病风险; 交互作用分析发现, 携带 rs10116277 TT 基因型和 rs1333049 CC 基因型的高 hsCRP 值患者 ($OR=5.049, P=0.005$)、携带 rs10116277 TT 基因型和 rs1333049 CC 基因型的大中面积脑梗死患者 ($OR=8.322, P=0.001$)、携带 rs10116277 TT 基因型的颈动脉中重度狭窄患者 ($OR=4.067, P=0.001$)、以及携带 rs3735590 GG 基因型的大中面积梗死患者 ($OR=5.176, P<0.001$) 认知损伤发生率显著升高。结论 ANRIL, PON 基因与 PSCI 发病风险密切相关。

【关键词】 缺血性脑卒中; ANRIL; PON; 认知损伤; 单核苷酸多态性; 交互作用

【中图分类号】 R743.3 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2023.09.025

The effect of ANRIL, PON gene and their interactions on cognitive impairment in acute ischemic stroke patients

LIU Shenggang^{1,2}, XIAO Lei¹, DUAN Yuanyuan¹, DENG Xiaohong¹, WANG Yajun¹, LIU Hua^{1,2}

(1. Department of Neurology, Mianyang People's Hospital · North Sichuan Medical College, Mianyang 621053, Sichuan, China;

2. Department of Neurology, Chengdu Third People's Hospital, The Affiliated Hospital of Southwest Jiaotong University, Chengdu 610014, China)

【Abstract】 **Objective** To evaluate the association of the ANRIL and PON gene with cognitive impairment in acute ischemic stroke (PSCI) using single nucleotide polymorphisms (SNPs) as gene marker and any possible interactions between specific genotypes and traditional risk factors for PSCI among a Han Chinese cohort. **Methods** The samples consisted of the Han people with first-ever ischemic stroke (IS) at the age of ranging from 17 to 70 years. The cognitive function was evaluated at 2 weeks after IS onset according to the Chinese version of Mini-Mental State Examination (MMSE). The SNPs were detected by SNPscan methods based on polymerase chain reaction principle. Allelic and genotypic frequency differences were evaluated using a Logistic regression model. The interactional analyses were performed using the multifactor dimensionality reduction test. **Results** A total of 255 patients were entered into the study and 88 patients were diagnosed as PSCI (34.5%). We found an association between the rs10116277 G allele ($OR=0.128, P=0.001$), rs1333049 C allele ($OR=1.472, P=0.038$), rs12026 ($OR=2.595, P=0.015$) and rs7493 GG genotype ($OR=2.597, P=0.015$), and rs3735590 A allele ($OR=1.731, P=0.034$) and PSCI. In addition, we also found interactions for PSCI risk between SNPs in the ANRIL and PON gene and traditional risk factors, including: rs10116277 TT geno-

基金项目:成都市科技局技术创新研发项目(2019-YF05-00014-SN);绵阳市卫健委科研课题(202239)

通讯作者:柳华,主任医师, E-mail: hxliumedidocor@163.com

引用本文:刘生刚,肖雷,段园园,等. ANRIL, PON 基因及其交互效应对急性缺血性脑卒中后认知损伤的影响[J]. 西部医学, 2023, 35(9): 1373-

1379. DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2023.09.025

type, rs1333049 CC genotype and high levels of hsCRP ($OR=5.049, P=0.005$); rs10116277 TT genotype, rs1333049 CC genotype and infarction volume ($OR=8.322, P=0.001$); rs10116277 TT genotype and carotid stenosis ($OR=4.067, P=0.001$); as well as rs3735590 GG genotype and infarction volume ($OR=5.176, P<0.001$). **Conclusion** The ANRIL and PON SNPs as well as the gene-environment interactions play an important role in PSCI in a Han Chinese cohort.

【Key words】 Ischemic stroke; Cognitive impairment; ANRIL; PON; Single nucleotide polymorphisms; SNP; Interaction

脑卒中是我国居民首位死因,目前发病率为 246.8/10 万,死亡率为 114.8/10 万^[1-2],而缺血性卒中(Ischemic stroke, IS)是脑卒中的主要类型,占有脑卒中的 43.7%~78.9%^[1]。卒中后认知损伤很常见,超过 70%的卒中患者在病后 3 月后会出现不同程度认知损伤(Cognitive impairment, CI),导致失能和死亡率增加,给患者、照护者、家庭、医疗系统和社会增加了严重负担^[3]。其中,IS 急性期 CI 发生率约为 30%~50%^[4-5]。因此,研究急性 IS 后认知损伤(Post stroke cognitive impairment, PSCI)的危险因素,对于预防和针对性治疗极为重要^[6]。认知损伤具有明确的遗传背景,研究发现,24%的认知损伤可归因于遗传易感因素^[7]。最近一个全基因组关联分析(Genome-wide association study, GWAS)在 3 个苏格兰人群中证实 IS 的多基因风险与 PSCI 密切相关^[8]。长链非编码 RNA 家族的 INK4 基因座中反义非编码 RNA(Antisense non-coding RNA in the INK4 locus, ANRIL)与 IS 发病密切相关^[9]。ANRIL 参与了炎症和神经功能失调的调节,可能在阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)的发病机制中起作用^[10]。研究者在 AD 细胞模型中也发现 ANRIL 表达上调,通过沉默 ANRIL 可以减少细胞凋亡,增强神经突触生长,并降低炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、L-6 和 IL-17 的水平^[11]。对氧磷酶(Paraoxonase, PON)参与脂质代谢,和动脉粥样硬化过程关系密切。Meta 分析显示, PON 基因单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)与 IS 的发病具有紧密相关性^[12-14]; PON1 L55M(rs854560)与血管性痴呆(Vascular dementia, VaD)^[15], PON2 S311C(rs7493)和 rs705379 与 AD 的发病风险相关^[16]。由此推测, ANRIL 和 PON 基因可能是 PSCI 的发生遗传易感因素,并且, PSCI 是一个多因素疾病,本研究旨在探讨上述 2 个基因及其与 CI 传统危险因素的交互效应,以期 PSCI 的防治提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取绵阳市人民医院神经内科连续入院的符合纳入标准的汉族初发 IS 患者。纳入标准:①符合世界卫生组织(WHO)IS 诊断标准。②发病

14 天内,发病前无认知障碍及其他影响智能的神经精神疾患。③患者及家属知情并签署知情同意书,同时经医院伦理委员会审核通过。排除标准:①腔隙性脑梗死、有明确原因的继发性脑梗死、再发性脑梗死患者。②伴有意识障碍、言语障碍、严重视听损害不能进行认知评测者。③存在其他严重合并症和并发症者;④影像学发现脑白质病变、脑萎缩者。

1.2 研究方法

1.2.1 评价指标 ①认知评定:发病后 2 周采用简易智能量表(Mini-mental State Examination, MMSE)中国版本进行认知测定, MMSE<27 分诊断为认知损伤。②神经功能缺损评定:使用美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)进行评估,神经功能损伤程度较重定义为 NIHSS>5(非轻型卒中)。③高同型半胱氨酸(HHCY)定义采用 2011 中国高血压防治指南修订委员会制定的标准:血浆 Hcy>10 $\mu\text{mol/L}$ 。④高危 CRP 定义为 hs-CRP>3.0 mg/L。⑤高尿酸定义采用中国高尿酸血症与痛风诊疗指南(2019)定义:为非同日两次血尿酸水平>420 $\mu\text{mol/L}$ 。⑥入院高血糖参照 1998 年 WHO 标准:空腹 ≥ 7.0 mmol/L,或者随机 ≥ 11.1 mmol/L。⑦入院高血压根据 1999 年 WHO 高血压标准:即收缩压 ≥ 140 mmHg 和(或)舒张压 ≥ 90 mmHg。⑧吸烟史定义为平均每日吸烟 1 支以上,时间大于一年;饮酒史定义为平均每周饮白酒至少一次,时间大于一年^[17]。⑨血脂异常诊断依据中国成人血脂异常防治指南(2016 年修订版):甘油三酯(TG) ≥ 1.7 mmol/L(150 mg/dl)、血浆胆固醇(TC) ≥ 5.18 mmol/L(200 mg/dl)、高密度脂蛋白(HDL-C)<1.04 mmol/L(40 mg/dl)、低密度脂蛋白(LDL-C) ≥ 3.37 mmol/L(130 mg/dl)。⑩超重定义为 BMI ≥ 24 kg/m²。⑪颈动脉狭窄程度:在最大斑块位置,采用 NASCET 方法计算颈动脉狭窄率,将颈动脉狭窄程度分为:正常、轻度狭窄(1%~49%)、中度狭窄(50%~69%)、重度狭窄(70%~99%)、血管闭塞(血栓堵塞,血流信号消失)。⑫梗死面积定义(CT/MRI):根据 Pullicino 公式,将脑梗死面积分为大、中、小三型,其中小梗死灶<4 mL,中梗死灶 5~10 mL,大梗死灶>10 mL。

1.2.2 SNP 分型

1.2.2.1 ANRIL SNPs 位点的选择 根据在 Hapmap 数据库(HapMap Data Phase III/Rel#2, Feb09, on NCBI36 B36 assembly, dbSNP b126)中获得的非亲缘关系北京人群的所有 SNP 基因分型数据, 挑选出 $r^2 \geq 0.8$ 且最小等位基因频率(MAF) $> 5\%$ 的 SNPs 作为标签 SNPs。位于 5' 和 3' 侧翼区以及非转录区(UTRs)的 SNPs 也纳入分析。最后, 15 个 SNP 位点纳入分析, 包括 rs2184061, rs7044859, rs10738607, rs1537375, rs1004638, rs10738609, rs10757278, rs10757274, rs2383206, rs1333049, rs1333040, rs10116277, rs10757269, rs1537378 和 rs7865618。

1.2.2.2 PON 位点选择 选择在脑血管疾病及认知功能研究较多的位点, 共涉及 9 个位点(rs12026, rs3735590, rs662, rs705379, rs705381, rs7493, rs854560, rs854571 和 rs854572)。

1.2.2.3 DNA 提取 取每个受试者外周静脉血 2 mL 于内含 EDTA-K2(K3)抗凝剂的紫头管, 于 -80°C 冰箱保存。采用北京 TIANGEN 公司提供的血液基因组 DNA 提取试剂盒(TIANamp Blood DNA Kit)(离心柱型), 目录号: DP348 提取 DNA。

1.2.2.4 SNPs 分型采用 SNPscan 方法(Cat #: G0104K, 上海天昊生物科技有限公司) 该技术是根据提供的 SNP 信息合成特异引物并优化连接反应体系后组装而成。实验步骤简述如下: ①DNA 样本浓度在 30~50 ng/ul。②样本裂解: 使用 2.5 ul 4x DNA lysis Buffer, 在 PCR 仪上 98°C , 5 min 裂解。③连接反应: 使用裂解 DNA 样本, 加入 10 μL 连接反应预混合液, 3 000 rpm 离心 0.5 min, 在 PCR 仪按以下程序运行: 第一步, 4 个循环, 包括: 94°C , 1 min, 58°C , 4 h; 第二步, 94°C , 2 min, 72°C 保持。④多重荧光 PCR 反应(每个样本进行两个 PCR 反应, 每个反应各扩增 48 位点的连接产物), 连接产物 1 ul 加 19 ul PCR 预混合液, 3000 rpm 离心 0.5 min, 然后在 PCR 仪按以下程序运行: 第一步, 95°C , 2 min 变性, 第二步, 9 个循环: 94°C , 20 秒变性, 首次循环 62°C , 40 秒退火(后续每个循环降低 0.5°C), 72°C 延伸 1.5 min; 第三步, 25 个循环: 94°C , 20 秒变性, 首次循环 57°C , 40 秒退火, 72°C 延伸 1.5 min; 第四步, 68°C 60 min 延伸。⑤PCR 产物上 ABI 3730XL 测序仪: PCR 产物稀释 10 倍后, 取 1 ul 与 0.5 ul Liz 600 SIZE STANDARD, 8.5 ul Hi-Di 混匀, 95°C 变性 5 min 后上 ABI 3730XL 测序仪。⑥数据分析: ABI 3730XL 测序仪上收集的原始数据用软件 GeneMapper 4.1 (Applied Bi-

osystems, USA) 分析。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 21.0 统计进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 非正态性计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示, 两组间比较采用 t 检验或 Wilcoxon 秩和检验。计数资料组间比较采用 χ^2 检验, 采用优势比(OR)及其 95% 置信区间(CI)表示率的相关度。采用等位基因比较、隐性和显性遗传模式 3 个遗传模型分析遗传风险。多因子降维法(Multifactor Dimensionality Reduction, MDR)被用来分析交互作用, 最佳模型选择依赖于最大测试平衡精确度(Testing balanced accuracy, TBA)和交叉验证一致性(Cross-validation consistency, CVC), 经 1000 次置换检验后估算最终 P 值。多因素 Logistic 回归分析用来调整协变量。上述统计除特别指定外, 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 研究期间, 共纳入 312 例急性 IS 患者, 根据纳入排除标准, 共 255 例 IS 患者进入本研究分析。根据 MMSE 评测, 88 例患者存在认知损伤, 认知损伤的比例为 34.5%, 平均年龄(64.01 ± 4.51)岁, 男性 52 例, 女性 36 例; 认知正常 167 例, 年龄(62.03 ± 5.65)岁, 男性 91 例, 女性 71 例。调整协变量多因素分析后显示, 认知损伤组年龄较大, 更多见大中体积梗死、非轻型梗死、颈动脉中重度狭窄和高 hs-CRP 值。认知正常 IS 患者右侧梗死多见。病例组与对照组的人口统计学特征和临床特点, 见表 1。

2.2 SNPs 关联分析 在总体样本的所有遗传模式下, 经调整协变量后, 多元 Logistic 回归分析显示, 5 个位点影响了急性 PSCI 的发病, rs10116277 G 等位基因携带者发病风险更小($P = 0.001$), rs1333049 C 等位基因、rs12026 和 rs7493 位点 GG 基因型、以及 rs3735590 位点 A 等位基因增加了发病风险($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 交互作用分析 采用 MDR 软件评估总人群 PSCI 可能的基因-基因, 基因-传统危险因素交互作用的影响, PSCI 传统危险因素分析中 $P \leq 0.10$ 的因素都被纳入交互分析。我们发现, 在基因-基因交互作用分析中, 三阶交互模型 rs10116277、rs3735590 和 rs7493 是最佳模型。在基因-传统危险因素交互分析中, ANRIL rs10116277、rs1333049 和 hsCRP 三阶交互, rs10116277、rs1333049 和右侧脑梗死的三阶交互, rs10116277、rs1333049 和大中面积梗死体积的三阶交互, rs10116277 和中重度颈动脉狭窄的二阶交互, rs10116277、rs1333049 和 65 岁及以上人群的三阶交互, PON rs7493 与右侧脑梗死二阶交互, rs3735590

表 1 PSCI 和对照组临床特点[M(P₂₅, P₇₅)]
Table 1 The clinical features of PSCI and controls samples

临床特点/危险因素	PSCI(n=88)	对照组(n=167)	OR, %95CI	P	P', OR, 95%CI [Ⓢ]
年龄(岁)	65(62, 67)	54(60, 66)	—	Z= -2.580 0.010 ^①	—
年龄分段≥65/<65	45/43	66/101	1.601, 0.952~2.695	0.075	0.111
性别:男/女	52/36	96/71	1.068, 0.633~1.804	0.865	—
超重	34	68	0.917, 0.540~1.555	0.747	—
吸烟	37	55	1.477, 0.868~2.516	0.15	—
饮酒	16	23	1.391, 0.692~2.796	0.352	—
高血压	54	100	1.064, 0.6271.806	0.818	—
糖尿病	25	39	1.302, 0.725~2.340	0.376	—
心房纤颤	6	6	1.963, 0.614~6.278	0.398(连续校正)	—
梗死体积(大中面积/小面积)	54/34	21/146	1.99, 5.88~20.83	<0.001	<0.001, 8.387, 4.144~16.975
梗死部(右侧/非右侧)	27/61	76/91	0.530, 0.307~0.915	0.022	0.036, 0.464, 0.227~0.950
血脂异常	57	107	1.031, 0.601~1.769	0.912	—
入院高血糖	28	43	1.417, 0.807~2.491	0.224	—
高尿酸	11	23	0.894, 0.414~1.932	0.776	—
高 hs-CRP	54	60	2.832, 1.662~4.826	<0.001	0.006, 2.690, 1.328~5.446
高同型半胱氨酸	56	121	0.665, 0.383~1.155	0.146	—
非轻型 IS(NIHSS>5)	47	37	4.028, 2.311~7.021	<0.001	0.003, 2.826, 1.425~5.607
文化程度(文盲/非文盲)	10/78	17/150	1.131, 0.494~2.588	0.770	—
颈动脉狭窄(中重度/轻度)	36/52	120/47	3.688, 2.144~6.344	<0.001	<0.001, 4.912, 2.406~10.028
颈动脉内中膜厚度	32	49	1.376, 0.796~2.379	0.252	—

注:①. 秩和检验;P'基于 logistic 回归分析,调整了年龄(≥65/<65)、梗死部位(右侧/非右侧)、梗死体积(大中/小)、高 hs-CRP、非轻型卒中、颈动脉狭窄(中重度/轻)等变量;95%CI 只有在 P 值有统计学意义才写出。

与大中面积梗死体积的二阶是最佳模型,具有最高 TBA。然而,在 Logistic 回归分析中,只有 ANRIL rs10116277、rs1333049 和 hsCRP, rs10116277、rs1333049 和大中面积梗死体积,rs10116277 和中重度颈动脉狭窄,PON rs7493 和右侧脑梗死,rs3735590 和大中面积梗死体积交互作用具有统计学意义,见表 3。Logistic 回归分析用来评估最佳交互模型对 PSCI 的效应,调整协变量后,本研究发现,携带 ANRIL rs10116277 TT 基因型和 rs1333049 CC 基因型的高 hsCRP 患者,发生急性 PSCI 的比率为 5.049 倍(OR = 5.049, 95%CI: 1.650~15.448, P = 0.005);携带 ANRIL rs10116277 TT 基因型,rs1333049 CC 基因型的大中面积脑梗死患者,发生急性 PSCI 的比率为 8.322 倍(OR = 8.322, 95%CI: 2.458~28.171, P = 0.001);rs10116277 TT 携带者加上颈动脉中重度狭窄,PSCI 发生率为 4.067 倍(OR = 4.067, 95%CI: 1.832~9.027, P = 0.001);rs3735590 GG 携带者加上大中面积梗死,PSCI 发生率为 5.176 倍(OR = 5.176, 95%CI: 2.343~11.436, P < 0.001)。其它交互效应未见统计学意义。

3 讨论

本研究通过分析动脉粥样硬化相关基因 ANRIL 与 PON 的 SNP 位点与 PSCI 发病风险相关性,发现了新的 PSCI 潜在预测指标。本研究还发现,5 个 SNPs 位点影响了急性 PSCI 的发病,rs10116277 G 等位基因具有保护效应,rs1333049 C 等位基因、rs12026 和 rs7493 GG 基因型、rs3735590 A 等位基因增加了 PSCI 发病风险。

ANRIL 是染色体 9p21 区域一段长 3.8 kb 的非编码 RNA,广泛参与了动脉粥样硬化疾病的发生^[9,18]。在大鼠糖尿病模型中,ANRIL 下调能重建学习和记忆能力,避免海马锥体神经元的凋亡^[19]。在 AD 细胞模型中,ANRIL 敲除能抑制凋亡和炎症因子细胞因子表达,促进神经突的生长^[10]。这些都是 AD 发病的关键机制。研究也发现,ANRIL rs10116277 位点风险等位基因增加了白人群体冠脉病变发生 1.45 倍^[20]。在高加索人群中,冠状动脉旁路移植术后,rs10116277 风险基因携带者更易出现心肌损伤^[21]。在中国 AD 人群中研究发现,rs1333049 C 等位基因增加了晚发性 AD 的发生^[22]。在意大利人群中,rs1333049 C 等位基因也增加了 VaD 和晚发性 AD 的发病风险^[23]。

表 2 5 个 SNPs 位点在不同遗传模型下在认知损伤组和正常组中的分布情况

Table 2 The distribution of alleles and genotypes of 5 SNPs with significant statistically in ANRIL and PON gene among PSCI and controls groups

SNPs 基因型/MA	PSCI (n=88)	认知正常 (n=167)	遗传模型(OR, 95%CI, P)			遗传模型(调整协变量后 OR', 95%CI', P')		
			D	R	A	D	R	A
rs10116277								
GG	5	31	—	0.264, 0.099~0.706, 0.005	—	—	0.128, 0.038~0.434, 0.001	—
GT	30	60	—	—	—	—	—	—
TT	53	76	1.813, 1.073~3.063, 0.025	—	—	1.889, 0.968~3.689, 0.062	—	—
G	40	122	—	—	0.511, 0.337~0.776, 0.001	—	—	0.511, 0.337~0.776, 0.001
rs1333049								
CC	24	34	—	1.467, 0.804~2.677, 0.211	—	—	1.331, 0.625~2.836, 0.459	—
GC	48	82	—	—	—	—	—	—
GG	16	51	0.505, 0.268~0.953, 0.033	—	—	0.552, 0.245~1.242, 0.151	—	—
C	96	150	—	—	1.472, 1.020~2.124, 0.038	—	—	1.472, 1.020~2.124, 0.038
rs12026								
CC	6	7	—	1.672, 0.544~5.138, 0.544	—	—	1.713, 0.431~6.802, 0.444	—
CG	16	56	—	—	—	—	—	—
GG	66	104	1.817, 1.023~3.230, 0.040	—	—	2.595, 1.208~5.575, 0.015	—	—
C	28	70	—	—	0.714, 0.441~1.156, 0.169	—	—	0.714, 0.441~1.156, 0.169
rs3735590								
AA	4	4	—	1.94, 0.473~7.954, 0.576	—	—	1.579, 0.302~8.264, 0.589	—
GA	24	30	—	—	—	—	—	—
GG	60	133	0.548, 0.305~0.984, 0.043	—	—	0.476, 0.222~1.021, 0.057	—	—
A	32	38	—	—	1.731, 1.039~2.885, 0.034	—	—	1.731, 1.039~2.885, 0.034
rs7493								
CC	6	5	—	2.371, 0.703~7.999, 0.269	—	—	2.854, 0.623~13.079, 0.177	—
GC	16	58	—	—	—	—	—	—
GG	66	104	1.817, 1.023~3.230, 0.040	—	—	2.597, 1.206~5.575, 0.015	—	—
C	28	68	—	—	0.740, 0.456~1.201, 0.222	—	—	0.740, 0.456~1.201, 0.222

注:本表只列出了 5 个有统计学意义的位点,其余 19 个位点省略;SNP.单核苷酸多态性;PSCI.急性卒中后认知损害;MA.少见等位基因(Minor allele)。遗传模型:D.显性遗传模型(常见等位基因型/其它基因型合并数据);R.隐性遗传模型(少见等位基因型/其它基因型合并数据);A.等位基因模型(少见等位基因/常见等位基因);OR', 95%CI', P'.多因素分析调整了以下变量:梗死体积、梗死部位、高 hs-CRP、非轻型卒中、颈动脉狭窄。

表 3 ANRIL, PON 基因交互作用模型表
Table 3 The interactional models of ANRIL, PON gene and traditional factors for PSCI

交互因素	最佳模型 ^①	Training BA	Testing BA	CVC	P	P'
ANRIL-PON 基因	rs10116277, rs3735590, rs7493	0.6518	0.5868	8/10	0.4015	0.1160
ANRIL 基因-hs-CRP	rs10116277, rs1333049, hs-CRP	0.667	0.661	10/10	0.109	0.0010-0.0020
ANRIL 基因-脑梗死部位	rs10116277, rs1333049, 右侧脑梗死	0.6204	0.5631	10/10	0.5399	0.2580-0.2590
ANRIL 基因-脑梗死体积	rs10116277, rs1333049, 大中面积脑梗死	0.7559	0.7499	10/10	0.0079	0.0000-0.0010
ANRIL 基因-颈动脉狭窄	rs10116277, 颈动脉中重度狭窄	0.6829	0.6829	10/10	0.0567	0.0000-0.0010
ANRIL 基因-人群年龄	rs10116277, rs1333049, 65 岁或者以上人群	0.6151	0.5517	10/10	0.6161	0.324-0.3250
PON 基因-脑梗死部位	rs7493, 右侧脑梗死	0.6099	0.5985	10/10	0.3408	0.0230-0.0240
PON 基因-脑梗死体积	rs3735590, 大中面积脑梗死	0.7523	0.7463	10/10	0.0108	0.0000-0.0010

注:①. 仅列出最佳模型; P'. 经 1000 次置换检验后的 P 值。BA. balanced accuracy, 即平衡精确度; CVC. cross-validation consistency, 即交叉验证一致性。

PON 是高密度脂蛋白相关的有机磷酸酯水解酶, 具有水解内酯、硫内酯、芳基酯和不同有机磷酸盐的能力, 具有抗动脉粥样硬化的生理作用^[24]。PON 基因与动脉粥样硬化相关疾病具有密切关系, 在 Gran Canaria 岛北部地区, rs7493 GG 基因型增加了颈动脉 IMT 的风险^[25]; 在新加坡华人中, 不吸烟人群中 rs3735590 少见等位基因(A)携带者患 CHD 的风险更高^[26]。GWAS 研究也揭示, PON1 基因一个 SNP 与 AD 发病风险有关^[27]。Meta 分析显示, PON1 L55M (rs854560) M 等位基因有更高的 VaD 发病风险^[15]。综上, ANRIL, PON 基因与动脉粥样硬化疾病关系密切, 本身也涉及到认知损害的病理生理过程, 因此, 可以理解 ANRIL, PON 基因与急性 PSCI 发病风险的关系。

本研究交互作用分析也发现, 携带 ANRIL rs10116277 TT 基因型和 rs1333049 CC 基因型的高 hs-CRP 患者, 携带 ANRIL rs10116277 TT 基因型和 rs1333049 CC 基因型的大中面积脑梗死患者, 携带 rs10116277 TT 基因型的颈动脉中重度狭窄患者, 以及携带 rs3735590 GG 基因型的大中面积梗死患者 PSCI 发生率显著升高。

卒中后认知损伤风险因素众多, 比如高龄(65 岁以上)、血管危险因素、梗死部位大小等本身特点以及遗传易感因素等交互而成^[28]。在 CHD 患者中, rs1333049 CC 基因型被发现与升高的 CRP 有关^[29], ANRIL 过表达增加了糖尿病心肌梗死鼠的心肌梗死体积^[30], 颈总动脉狭窄患者 ANRIL 表达更低^[31]。上述基因与传统危险因素的复杂相互作用有助于我们理解上述的交互效应, 对于 IS 后急性期 CI 的防治极其重要。

ANRIL 和 PON 基因与 PSCI 研究甚少, 前期, 本研究团队报道在川东北人群 PON 基因与 PSCI 存在关联^[32], 然而, 由于认知测试方法差异, 以及 PSCI 本

身是一个多因素疾病, 基因多态性有较强的种族及地域差异性, 因此, 以 SNP 作为遗传标志物, 在川西北 PSCI 人群中, 研究其遗传关系及相互交互作用, 对于揭示 PSCI 发生机制更有优势。本研究成果不仅丰富了目前对 PSCI 遗传特性的认知, 也为临床诊疗提供了参考。本研究也存在一定缺陷, 如纳入分析样本来源范围较窄、数量较小等, 后期研究结果的进一步验证还需要扩大病例纳入范围及数量。

4 结论

ANRIL, PON 基因与 PSCI 发病风险密切相关。为了解 IS 人群后期认知障碍的发病、进展、转归、治疗情况与本研究基因的关系, 应对研究对象进行长期随访观察, 建立资料库进行对比研究。

【参考文献】

- [1] WU S, WU B, LIU M, *et al.* Stroke in China: advances and challenges in epidemiology, prevention, and management[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(4): 394-405.
- [2] WANG W Z, JIANG B, SUN H X, *et al.* Prevalence, Incidence, and Mortality of Stroke in China Results from a Nationwide Population-Based Survey of 480 687 Adults[J]. *Circulation*, 2017, 135(8): 759-771.
- [3] ROST N S, BRODTMANN A, PASE M P, *et al.* Post-Stroke Cognitive Impairment and Dementia[J]. *Circ Res*, 2022, 130(8): 1252-1271.
- [4] MAKIN S D, TURPIN S, DENNIS M S, *et al.* Cognitive impairment after lacunar stroke: systematic review and meta-analysis of incidence, prevalence and comparison with other stroke subtypes[J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2013, 84(8): 893-900.
- [5] DROS J, KLIMKOWICZ-MROWIEC A. Current view on post-stroke dementia[J]. *Psychogeriatrics*, 2021, 21(3): 407-417.
- [6] QUINN T J, RICHARD E, TEUSCHL Y, *et al.* European stroke organisation and european academy of neurology joint guidelines on post-stroke cognitive impairment[J]. *Eur J Neurol* 2021, 28(12): 3883-3920.
- [7] DEARY I J, YANG J, DAVIES G, *et al.* Genetic contributions

- to stability and change in intelligence from childhood to old age [J]. *Nature*, 2012, 482(7384): 212-215.
- [8] HARRIS S E, MALIK R, MARIONI R, *et al.* Polygenic risk of ischemic stroke is associated with cognitive ability[J]. *Neurology*, 2016, 86(7): 611-618.
- [9] BAI N, LIU W, XIANG T, *et al.* Genetic association of ANRIL with susceptibility to Ischemic stroke: A comprehensive meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2022, 17(6): e0263459.
- [10] ZHOU B, LI L, QIU X, *et al.* Long non-coding RNA ANRIL knockdown suppresses apoptosis and pro-inflammatory cytokines while enhancing neurite outgrowth via binding microRNA-125a in a cellular model of Alzheimer's disease[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(2): 1489-1497.
- [11] GHAFOURI-FARD S, SAFARI M, TAHERI M, *et al.* Expression of Linear and Circular lncRNAs in Alzheimer's Disease [J]. *J Mol Neurosci*, 2022, 72(2): 187-200.
- [12] LIU H, XIA P, LIU M, *et al.* PON gene polymorphisms and ischaemic stroke: a systematic review and meta analysis[J]. *Int J Stroke*, 2012, 8(2): 111-123.
- [13] WEI L K, AU A, MENON S, *et al.* Polymorphisms of MTHFR, eNOS, ACE, AGT, ApoE, PON1, PDE4D, and Ischemic Stroke: Meta-Analysis[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2017, 26(11): 2482-2493.
- [14] ZENG Q, ZENG J. A meta-analysis on relationship between paraoxonase 1 polymorphisms and atherosclerotic cardiovascular diseases[J]. *Life Sci*, 2019, 232: 116646.
- [15] SUN J H, TAN L, WANG H F, *et al.* Genetics of Vascular Dementia: Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *J Alzheimers Dis*, 2015, 46(3): 611-629.
- [16] NIE Y, LUO D, YANG M, *et al.* A Meta-Analysis on the Relationship of the PON Genes and Alzheimer Disease[J]. *J Geriatr Psychiatry Neurol*, 2017, 30(6): 303-310.
- [17] KELLY T N, GU D, CHEN J, *et al.* Cigarette smoking and risk of stroke in the Chinese adult population[J]. *Stroke*, 2008, 39(6): 1688-1693.
- [18] RAZEGHIAN-JAHROMI I, KARIMI AKHORMEH A, ZI-BAEENEZHAD M J. The Role of ANRIL in Atherosclerosis [J]. *Dis Markers*, 2022, 2022: 8859677.
- [19] WEN X, HAN X R, WANG Y J, *et al.* Down-regulated long non-coding RNA ANRIL restores the learning and memory abilities and rescues hippocampal pyramidal neurons from apoptosis in streptozotocin-induced diabetic rats via the NF- κ B signaling pathway[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(7): 5821-5833.
- [20] BECKIE T M, GROËR M W, BECKSTEAD J W. The relationship between polymorphisms on chromosome 9p21 and age of onset of coronary heart disease in black and white women[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2011, 15(6): 435-442.
- [21] LIU K Y, MUEHLSCHLEGEL J D, PERRY T E, *et al.* Common genetic variants on chromosome 9p21 predict perioperative myocardial injury after coronary artery bypass graft surgery[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2010, 139(2): 483-488, 488.e1-2.
- [22] YU J T, YU Y, ZHANG W, *et al.* Single nucleotide polymorphism rs1333049 on chromosome 9p21. 3 is associated with Alzheimer's disease in Han Chinese[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(17-18): 1204-1207.
- [23] EMANUELE E, LISTA S, GHIDONI R, *et al.* Chromosome 9p21. 3 genotype is associated with vascular dementia and Alzheimer's disease[J]. *Neurobiol Aging*, 2011, 32(7): 1231-1235.
- [24] KOTUR-STEVLJEVIC J, VEKIC J, STEFANOVIĆ A, *et al.* Paraoxonase 1 and atherosclerosis-related diseases[J]. *Biofactors*, 2020, 46(2): 193-205.
- [25] HERNÁNDEZ-SOCORRO C R, RODRÍGUEZ-ESPARRAGÓN F J, CELLI J, *et al.* Sonographic evaluation of atherosclerosis burden in carotid arteries of ischemic stroke patients and its relation to paraoxonase 1 and 2, MTHFR and AT1R genetic variants[J]. *J Neurol Sci*, 2017, 378: 146-151.
- [26] HAN Y, DORAJOO R, KE T, *et al.* Interaction effects between Paraoxonase 1 variants and cigarette smoking on risk of coronary heart disease in a Singaporean Chinese population[J]. *Atherosclerosis*, 2015, 240(1): 40-45.
- [27] LI H, WETTEN S, LI L, *et al.* Candidate single-nucleotide polymorphisms from a genomewide association study of Alzheimer disease. *Arch Neurol*, 2008, 65(1): 45-53.
- [28] KAUR M, SHARMA S. Molecular mechanisms of cognitive impairment associated with stroke[J]. *Metab Brain Dis*, 2022, 37(2): 279-287.
- [29] REICHERT S, SEITTER L, SCHALLER H G, *et al.* ANRIL polymorphisms (rs1333049 and rs3217992) in relation to plasma CRP levels among in-patients with CHD[J]. *Cytokine*, 2020, 127: 154932.
- [30] ZHANG L, WANG Y M. Expression and function of lncRNA ANRIL in a mouse model of acute myocardial infarction combined with type 2 diabetes mellitus[J]. *J Chin Med Assoc*, 2019, 82(9): 685-692.
- [31] CONGRAINS A, KAMIDE K, OGURO R, *et al.* Genetic variants at the 9p21 locus contribute to atherosclerosis through modulation of ANRIL and CDKN2A/B[J]. *Atherosclerosis*, 2012, 220(2): 449-55.
- [32] 聂毅, 柳华, 季一飞. 对氧磷酶基因与缺血性脑卒中后认知障碍的相关性研究[J]. *脑与神经疾病杂志*, 2022, 30(3): 172-176.
- (收稿日期: 2023-02-19; 修回日期: 2023-03-17; 编辑: 张翰林)