

cohort. *N Engl J Med*, 2012, 366(26):2474-2482.

[17] Burns JD, Huston J 3rd, Layton KF, et al. Intracranial aneurysm enlargement on serial magnetic resonance angiography: frequency and risk factors. *Stroke*, 2009, 40(2):406-411.

[18] White PM, Wardlaw J. Unruptured intracranial aneurysms: prospective data have arrived. *Lancet*, 2003, 362(9378):90-91.

[19] Sato K, Yoshimoto Y. Risk profile of intracranial aneurysms: rupture rate is not constant after formation. *Stroke*, 2011, 42(12):3376-3381.

[20] Gillani RL, Podraza KM, Luthra N, et al. Factors influencing the management of unruptured intracranial aneurysms. *Cureus*, 2016, 8(5):601-606.

[21] Hasan D, Chalouhi N, Jabbour P, et al. Early change in ferumoxytol-enhanced magnetic resonance imaging signal suggests unstable human cerebral aneurysm: a pilot study. *Stroke*, 2012, 43(12):3258-3265.

[22] Vlak MH, Rinkel GJ, Greebe P, et al. Risk of rupture of an intracranial aneurysm based on patient characteristics: a case-control study. *Stroke*, 2013, 44(5):1256-1259.

[23] Ambekar S, Khandelwal P, Bhattacharya P, et al. Treatment of unruptured intracranial aneurysms: a review. *Expert Rev Neurother*, 2016, 16(10):1205-1216.

[24] Alshekhlee A, Mehta S, Edgell RC, et al. Hospital mortality and complications of electively clipped or coiled unruptured intracranial aneurysm. *Stroke*, 2010, 41(7):1471-1476.

[25] Héman LM, Jongen LM, van der Worp HB, et al. Incidental intracranial aneurysms in patients with internal carotid artery stenosis: a CT angiography study and a metaanalysis. *Stroke*, 2009, 40(4):1341-1346.

[26] Aishima K, Shimizu T, Aihara M, et al. Lifetime Effects of Small Unruptured Intracranial Aneurysms. *World Neurosurg*, 2016, 95(11):434-440.

[27] McDonald JS, McDonald RJ, Fan J, et al. Comparative effectiveness of unruptured cerebral aneurysm therapies: propensity score analysis of clipping versus coiling. *Stroke*, 2013, 44(4):988-994.

[28] Flemming KD, Lanzino G. Management of Unruptured Intracranial Aneurysms and Cerebrovascular Malformations. *Continuum (Minneapolis)*. *Cerebrovascular Disease*. 2017, 23(1):181-210.

[29] Mori K, Wada K, Otani N, et al. Validation of effectiveness of keyhole clipping in nonfrail elderly patients with unruptured intracranial aneurysms. *J Neurosurg*, 2017, 6(1):1-8.

脑动脉瘤壁差异表达基因研究进展

曾鸣 综述 陈风华 审校

中南大学湘雅医院神经外科,湖南 长沙 410008

摘要:脑动脉瘤作为一种高致残率和死亡率的疾病,一直是神经科研究的重点,其致病机制一直难以明确,而对术中的动脉瘤标本进行基因表达的测定并与正常血管进行差异比较研究成为探索其致病机制的新方法。本文回顾了近年来与血管壁重塑相关的差异表达基因(胶原蛋白基因、基质金属蛋白酶基因、金属蛋白酶组织抑制剂基因、细胞黏附分子基因等)及与免疫/炎症相关的差异表达基因(主要组织相容性复合体基因、S100 蛋白基因、Krüppel 样因子基因等)的相关研究结果并进行综述。

关键词:脑动脉瘤;基因表达;血管壁重塑;免疫;炎症

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2017.03.021

目前研究认为,遗传因素、血流动力学因素及动脉粥样硬化等各种致病因素作用于血管壁可引

起细胞基因表达和代谢的改变,继而出现细胞凋亡,导致血管壁强度变弱,在压力作用下形成动

收稿日期:2017-04-20;修回日期:2017-06-12

作者简介:曾鸣(1990-),男,硕士研究生,主要从事脑血管病基础与临床研究。

通讯作者:陈风华(1971-),男,医学博士,副教授,主要从事脑血管病基础与临床研究。

脉瘤甚至破裂^[1-3]。因此,许多学者^[4-11]试图通过 RT-PCR、DNA 芯片或测序技术分别检测脑动脉瘤壁与对照血管如颞浅动脉、脑膜中动脉壁中各基因的表达并进行比较,通过查阅二者间差异表达基因的产物的功能和相关文献,找出其中可能与脑动脉瘤发病相关的基因并探讨可能的致病机制。

脑动脉瘤的病理改变主要为血管壁的重塑,而炎症则被认为在动脉瘤的发病机制中占据重要地位,因此,本文从血管壁的重塑和免疫/炎症两个角度对脑动脉瘤壁差异基因研究的相关文献进行回顾。

1 与血管壁重塑相关的基因

细胞外基质的重塑和内皮细胞的排列紊乱甚至丢失都是脑动脉瘤血管壁重塑过程中的重要改变^[3,12]。胶原蛋白基因、基质金属蛋白酶(MMP, matrix metalloproteinase)基因及金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP, tissue inhibitor of metalloproteinase)基因的表达改变可能与细胞外基质的重塑有关,而细胞黏附分子基因的表达改变可能与内皮细胞的排列紊乱有关^[12]。

1.1 胶原蛋白基因

无论是在破裂还是未破裂脑动脉瘤壁中,胶原蛋白的编码基因(如 COL1A1, COL1A2)的表达与对照血管壁相比都存在显著差异^[4,7,10,11,13]。胶原蛋白是构成血管壁细胞外基质的主要成分之一,其种类繁多,但 I 型和 III 型胶原占动脉壁所有胶原的 80% 以上,对于维持血管壁的完整和对抗血流冲击必不可少^[14]。脑动脉瘤壁与正常脑血管壁的免疫组化对比显示,动脉瘤壁中 I 型胶原分布更广泛(正常脑血管中只分布在外膜和中膜,而动脉瘤壁全层都有),III 型胶原相对减少^[3,15]。胶原蛋白基因表达的改变可能是血管内皮、血管平滑肌细胞在炎症、血流动力学因素作用下的应激反应,同时也是导致血管壁细胞外基质重塑的原因之一。此外,遗传性疾病 Ehlers-Danlos 综合征血管型患者其编码 III 型胶原的 COL3A1 基因存在突变,而这类患者脑动脉瘤的发生率较一般人群更高,提示 COL3A1 基因可能与动脉瘤发病有关^[16]。

1.2 MMP 基因及 TIMP 基因

以往研究发现,脑动脉瘤壁中 MMP-2、MMP-9 和 MMP-13 的编码基因呈表达上调^[5,7],而 TIMP-2、TIMP-4 的编码基因则呈表达下调^[6,7,9,13]。MMP 是一类依赖金属离子的蛋白水解酶,能够降解包括胶

原蛋白、层粘连蛋白、纤连蛋白等在内的多种细胞外基质,而 TIMP 家族由四种同源低分子蛋白组成,每种 TIMP 对不同类型 MMP 的亲合力不同,但都能够抑制 MMP 的蛋白水解活性。生理条件下 MMP 即在组织和细胞外液中保持低水平的表达,但 TIMP 的浓度通常远超 MMP 以抑制其活性。MMP 与 TIMP 的相对平衡对于维持组织的正常结构必不可少^[17,18]。在脑动脉瘤中,MMP 基因的表达上调及 TIMP 基因的表达下调可能在细胞外基质的重塑及血管壁结构的改变中发挥重要作用。进一步的研究发现 TIMP 基因的表达与脑动脉瘤基底部的直径呈正相关,提示动脉瘤的增大可能引起 TIMP 的代偿表达以抑制 MMP 的活性^[4]。值得注意的是,破裂动脉瘤与未破裂动脉瘤相比,其 MMP 基因的表达更高,提示这些基因表达的改变可能不仅参与脑动脉瘤的发生发展,更参与其破裂过程^[19]。

1.3 细胞黏附分子基因

Pera 等人^[9]发现脑动脉瘤壁中编码钙粘素的 CDH5 基因和编码整合素的 ITGA7 基因呈表达下调。钙粘素和整合素都属于细胞黏附分子。血管内皮细胞通常表达 VE-钙粘素和 N-钙粘素两种钙粘素。VE-钙粘素只在血管内皮表达,与血管腔的正确形成、紧密连接的重塑等功能有关。N-钙粘素在多种细胞均有表达,若内皮细胞丢失 N-钙粘素则可因血管发育异常导致胚胎早期死亡。钙粘素是构成内皮细胞相互粘着连接的成分之一,对于维持血管内皮的完整具有重要作用,且钙粘素-连接蛋白复合体在内皮细胞响应血流压力和剪切应力刺激的信号转导通路中发挥重要作用^[20,21]。而整合素除了介导细胞之间相互粘着连接外,还可介导细胞与细胞外基质之间的连接,并通过这种连接感应细胞外基质的变化。与钙粘素相比,在信号转导方面整合素发挥的作用更为重要,既可以将外部信号转导至细胞内,也可将细胞内信号转导至细胞外。通过参与这种信号转导,整合素在血管发生、内皮细胞的增殖、分化及迁移中发挥重要作用^[22-24]。钙粘素和整合素等细胞黏附分子基因的表达异常可能改变血管内皮细胞的结构和功能,影响内皮细胞的排列,增加血管通透性,还可影响内皮细胞对环境刺激的反应,从而导致脑动脉瘤的发生。

2 与免疫/炎症相关基因

在脑动脉瘤壁中,促进免疫/炎症反应的基因和抑制免疫/炎症反应的基因的表达均有改变,二者的

共同作用可能通过炎症机制导致脑动脉瘤的发病。

2.1 促进免疫/炎症反应的基因

Krischek 等人^[6]的研究发现编码主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I、II类分子(如 HLA-A, HLA-B)的基因在脑动脉瘤中高表达。MHC 分子主要与免疫/炎症反应中的免疫识别和抗原提呈有关,其中 MHC I 类分子在各类细胞表面均有表达,而 MHC II 类分子仅表达于专职识别、处理抗原信息的细胞(如树突状细胞、单核/吞噬细胞等)。该项研究的免疫组化实验结果显示 MHC II 类分子阳性染色区与 CD68 阳性染色区存在广泛重叠,提示 MHC II 类分子基因表达的改变可能与动脉瘤壁中浸润的巨噬细胞有关。另一项研究发现 CD163(同样是巨噬细胞标记物)的编码基因的表达显著上调,再次提示巨噬细胞的浸润可能在脑动脉瘤发病过程中具有重要作用。编码 S100 蛋白(如 S100A8, S100A9)的基因的表达也呈上调状态^[8]。S100 蛋白家族由一组低分子量的钙离子结合蛋白构成,其中 S100A8 和 S100A9 常组成复合体参与炎症及免疫反应的调节。S100A8/A9 可通过细胞外和细胞内两种途径作用于嗜中性粒细胞,促进其吞噬及趋附。同时, S100A8/A9 可增强单核细胞产生的炎症因子的作用,还可通过活化 NF- κ B 和 p38 MAPK 通路促进单核/巨噬细胞向促炎表型转化^[25]。

除上述基因外,炎症介质(如 IL-8, IFI30)、趋化因子(如 CCL3, CCL18)和补体(如 C2, C4A)等的编码基因在动脉瘤壁中也呈高表达,所有这些基因的表达上调都可能通过诱导炎症参与脑动脉瘤的发病^[11]。

2.2 抑制免疫/炎症反应的基因

编码 Krüppel 样因子(如 KLF2, KLF15)的基因在脑动脉瘤中呈表达下调^[8]。Krüppel 样因子是一类参与细胞生长分化和组织发育的转录调控因子。其中 KLF2 可通过抑制 NF- κ B 和 AP-1 来阻止单核/吞噬细胞的炎性活化,还可抑制炎症因子(如 IL-6、IL-8)的诱导和炎症通路下游的表达^[26]。而 KLF15 也可通过阻断 NF- κ B 的乙酰化抑制其活性而调节炎症通路的表达^[27]。Krüppel 样因子编码基因的表达下调可能使炎症更易发生,从而导致脑动脉瘤的发病。

3 总结、问题和展望

关于脑动脉瘤壁差异表达基因的研究从基因

表达这一角度探索了动脉瘤的发病机制,目前取得了不少的成果。虽然各研究得出的结果有相似之处,如 COL1A1 基因在多项研究中均呈表达上调,但差异更大,有些研究检测到的基因表达差异甚至相反,如 COL4A4 基因在 Marchese 等人的研究中呈表达下调,而在 Shi 等人的研究中呈表达上调。这可能与此类研究存在的一些缺点有关。动脉瘤壁取材方法、对照血管、检测技术等不同都可能造成结果偏倚。

虽然一次研究就可检测到成百上千个差异表达基因,但许多基因的产物的功能难以与脑动脉瘤发病相联系,也无文献提示其可能与动脉瘤发病有关,但不能就此断定这些基因的表达差异肯定与脑动脉瘤发病无关,可能是当前对这些基因功能的研究并不全面而无法找到关联。

如何从海量的数据和信息中挖掘出参与脑动脉瘤发病的重要基因是这类研究的难点,而深入探索这些基因参与发病的具体通路和机制则是下一步研究的重点。

参 考 文 献

- [1] Kataoka H. Molecular mechanisms of the formation and progression of intracranial aneurysms [J]. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 2015, 55(3): 214-229.
- [2] Mohan D, Munteanu V, Coman T, et al. Genetic factors involved in intracranial aneurysms--actualities [J]. *J Med Life*, 2015, 8(3): 336-341.
- [3] Medzikovic L. Cellular and molecular mechanisms of saccular intracranial aneurysm formation and rupture [D]. 2013.
- [4] Babu RA, Paul P, Purushottam M, et al. Differential expression levels of collagen 1A2, tissue inhibitor of metalloproteinase 4, and cathepsin B in intracranial aneurysms [J]. *Neurol India*, 2016, 64(4): 663-670.
- [5] Bekelis K, Kerley-Hamilton J S, Teegarden A, et al. MicroRNA and gene expression changes in unruptured human cerebral aneurysms [J]. *J Neurosurg*, 2016, 125(6): 1390-1399.
- [6] Krischek B, Kasuya H, Tajima A, et al. Network-based gene expression analysis of intracranial aneurysm tissue reveals role of antigen presenting cells [J]. *Neuroscience*, 2008, 154(4): 1398-1407.
- [7] Li L, Yang X, Jiang F, et al. Transcriptome-wide characterization of gene expression associated with unruptured intracranial aneurysms [J]. *Eur Neurol*, 2009, 62(6): 330-337.
- [8] Nakaoka H, Tajima A, Yoneyama T, et al. Gene expression

- profiling reveals distinct molecular signatures associated with the rupture of intracranial aneurysm [J]. *Stroke*, 2014, 45 (8) : 2239-2245.
- [9] Pera J, Korostynski M, Krzyszkowski T, et al. Gene expression profiles in human ruptured and unruptured intracranial aneurysms : what is the role of inflammation? [J]. *Stroke*, 2010, 41 (2) : 224-231.
- [10] Shi C, Awad I A, Jafari N, et al. Genomics of human intracranial aneurysm wall [J]. *Stroke*, 2009, 40 (4) : 1252-1261.
- [11] Yu L, Fan J, Wang S, et al. Gene expression profiles in intracranial aneurysms [J]. *Neurosci Bull*, 2014, 30 (1) : 99-106.
- [12] 李美华, 凌峻, 熊秋迎, et al. 血管内皮细胞间连接蛋白 VE-cadherin 和 β -连环蛋白在颅内动脉瘤中的表达 [J]. *中华实验外科杂志*, 2011, 28 (2) : 255-257.
- [13] Marchese E, Vignati A, Albanese A, et al. Comparative evaluation of genome-wide gene expression profiles in ruptured and unruptured human intracranial aneurysms [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2010, 24 (2) : 185-195.
- [14] Ruigrok YM, Rinkel GJ, Wijmenga C. Genetics of intracranial aneurysms [J]. *The Lancet Neurology*, 2005, 4 (3) : 179-189.
- [15] Chalouhi N, Ali MS, Jabbour PM, et al. Biology of intracranial aneurysms : role of inflammation [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2012, 32 (9) : 1659-1676.
- [16] Hitchcock E, Gibson WT. A Review of the Genetics of Intracranial Berry Aneurysms and Implications for Genetic Counseling [J]. *J Genet Couns*, 2017, 26 (1) : 21-31.
- [17] Verma RP, Hansch C. Matrix metalloproteinases (MMPs) : chemical-biological functions and (Q) SARs [J]. *Bioorg Med Chem*, 2007, 15 (6) : 2223-2268.
- [18] Aoki T, Kataoka H, Moriwaki T, et al. Role of TIMP-1 and TIMP-2 in the progression of cerebral aneurysms [J]. *Stroke*, 2007, 38 (8) : 2337-2345.
- [19] Jin D, Sheng J, Yang X, et al. Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases expression in human cerebral ruptured and unruptured aneurysm [J]. *Surg Neurol*, 2007, 68 Suppl 2 : S11-16 ; discussion S16.
- [20] Giannotta M, Trani M, Dejana E. VE-cadherin and endothelial adherens junctions : active guardians of vascular integrity [J]. *Dev Cell*, 2013, 26 (5) : 441-454.
- [21] Giampietro C, Taddei A, Corada M, et al. Overlapping and divergent signaling pathways of N-cadherin and VE-cadherin in endothelial cells [J]. *Blood*, 2012, 119 (9) : 2159-2170.
- [22] Chao JT, Davis MJ. The roles of integrins in mediating the effects of mechanical force and growth factors on blood vessels in hypertension [J]. *Curr Hypertens Rep*, 2011, 13 (6) : 421-429.
- [23] Malinin NL, Pluskota E, Byzova TV. Integrin signaling in vascular function [J]. *Curr Opin Hematol*, 2012, 19 (3) : 206-211.
- [24] Plow EF, Meller J, Byzova TV. Integrin function in vascular biology : a view from 2013 [J]. *Curr Opin Hematol*, 2014, 21 (3) : 241-247.
- [25] Averill MM, Kerkhoff C, Bornfeldt KE. S100A8 and S100A9 in cardiovascular biology and disease [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2012, 32 (2) : 223-229.
- [26] Nayak L, Lin Z, Jain MK. " Go with the flow " : how Kruppel-like factor 2 regulates the vasoprotective effects of shear stress [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 15 (5) : 1449-1461.
- [27] Lu Y, Zhang L, Liao X, et al. Kruppel-like factor 15 is critical for vascular inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123 (10) : 4232-4241.