

• 论 著 •

GSK3 β 基因 3'-UTR 多态性与缺血性脑卒中的关系

杨旭 马英 周华勇 张翼 屈战利 龙继发

【摘要】 目的 探讨糖原合成酶激酶 3 β (GSK3 β) 基因 3'-UTR 多态性与缺血性脑卒中的关系。**方法** 选择本院 2017 年 3 月 - 2019 年 3 月收治的缺血性脑卒中患者 91 例作为研究组;另选择本院 2017 年 3 月 - 2019 年 3 月体检健康者 80 例作为对照组;采用 PCR 法检测 GSK3 β 基因 3'-UTR 多态性位点 rs334558 和 rs6438552 等位基因和基因型频率。**结果** 研究组 ADL 评分和认知功能障碍发生率高于对照组 ($P < 0.05$);研究组基因位点 rs334558 等位基因 C 分布和基因型频率 CC 高于对照组 ($P < 0.05$);研究组基因位点 rs6438552 等位基因 C 分布和基因型频率 CC 高于对照组 ($P < 0.05$)。**结论** GSK3 β 基因 3'-UTR 多态性与缺血性卒中存在关系;rs334558 和 rs6438552 位点 C 等位基因可能为缺血性脑卒中的易感基因。

【关键词】 糖原合成酶激酶 3 β 3'-UTR 多态性 缺血性脑卒中 相关性

【中图分类号】 R743.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2020)02-0149-03

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2020.02.001

The association between 3'-UTR polymorphism of GSK3 β gene and ischemic stroke Yang Xu*, Ma Ying, Zhou Huayong*, et al. * Department of Neurology, Nanchong Central Hospital, Nanchong Sichuan 637000

【Abstract】 Objective To investigate the association between glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3 beta) gene 3'-UTR polymorphism and ischemic stroke. **Methods** The 91 patients with ischemic stroke admitted to our hospital from March 2017 to March 2019 were selected as the study group, and 80 healthy people from March 2017 to March 2019 were selected as the control group. The allele and genotype frequencies of 3'-UTR polymorphism loci rs334558 and rs6438552 of GSK3 beta gene were detected by PCR. **Results** The ADL score of the study group was higher than that of the control group, and the incidence of cognitive impairment was lower than that of the control group ($P < 0.05$). The distribution of rs334558 allele C in the study group was higher than that in the control group, and the genotype frequency CC was higher than that in the control group ($P < 0.05$). The distribution of rs6438552 allele C in the study group was higher than that in the control group, and the genotype frequency CC was higher than that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The 3'-UTR polymorphism of GSK3beta gene was correlated with ischemic stroke. It was suggested that the C alleles at rs334558 and rs6438552 loci might be susceptible to ischemic stroke.

【Key words】 Glycogen synthase kinase 3beta 3'-UTR polymorphism Ischemic stroke Correlation

缺血性脑卒中是常见的一种疾病,主要是由遗传因素和环境因素共同作用引起的一种复杂疾病^[1-2]。流行病学调查显示,缺血性脑卒中发病率呈不断上升趋势,严重影响患者生活质量和身心健康^[3-4]。因此,采取早期诊断和治疗对缺血性脑卒中具有重要意义。

糖原合成酶激酶 3 β (GSK3 β)是在脑内高度表达的一种多功能丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,与神经系统发病密切相关^[5]。本研究分析 GSK3 β 基因 3'-UTR 多态性与缺血性脑卒中的相关性,旨在为临床诊断和治疗缺血性脑卒中提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择本院 2017 年 3 月 - 2019 年 3 月收治的缺血性脑卒中患者 91 例作为研究组,依据中华医学会神经病学分会脑血管病学组制定的《中国急性缺血性脑

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(编号为 81400966)

作者单位:637000 四川省南充市中心医院(川北医学院第二临床医学院)神经内科(杨旭 周华勇 张翼 屈战利 龙继发);川北医学院附属医院神经内科(马英)

卒中诊治指南》^[6](2010年)中相关诊断标准。纳入标准:(1)符合缺血性脑卒中诊断标准,且经脑CT或MRI证实;(2)为首次发病;(3)获得知情同意。排除标准:(1)合并其他引起中枢神经损伤疾病;(2)合并严重心肺、肝肾功能异常者;(3)存在视听障碍无法交流者。纳入的91例患者中男54例,女37例;年龄43~79岁,平均年龄(62.54±6.71)岁。另选择本院于2017年3月-2019年3月体检健康者80例作为对照组,均获得知情同意,其中男47例,女33例;年龄41~79岁,平均年龄(61.82±5.46)岁。2组一般资料比较无明显差异($P>0.05$)。

1.2 PCR法检测 GSK3β 基因 3'-UTR 多态性位点 rs334558 和 rs6438552 等位基因和基因型频率

GSK3β 基因 3'-UTR 多态性位点 rs334558 和 rs6438552 检测,即(1)基因组DNA提取:所有受试者均于入院3 h内抽取3 mL外周静脉血,采用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K2)抗凝,采用常规盐析法提取基因组DNA。采用1.0%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测DNA浓度和纯度,放置于-20℃下保存;(2)PCR:从基因组数据库获取TBX21基因序列,采用Primer Premier 5.0软件设计引物,引物由上海生物工程有限公司合成。引物序列见表1;(3)PCR循环条件:95℃预变性5 min,经95℃30 s、58℃30 s、72℃延伸45 s×34个循环,72℃延伸10 min,放置于12℃保温;(4)SBE法检测单核苷酸多态性(SNP)位点:取rs334558和rs6438552 PCR产物3 μL加入1 U小牛血清碱性磷酸酶及1 U核酸外切酶,充分混合均匀,放置于37℃下60 min,再以75℃15 min灭活小牛血清碱性磷酸酶及核酸外切酶,取上步纯化好的产物1 μL,加入HiDi Formamide 3 μL,95℃变性5 min,迅速冰冷5 min。ABI3130XI Avant遗传分析仪上机检测基因型。

1.3 观察指标

(1)观察2组日常生活活动能力(ADL)评分和认知功能障碍发生情况,其中ADL评分为0~100分,评分越高日常生活活动能力越好;(2)观察2组基因位点 rs334558 等位基因和基因型频率;(3)观察2组

基因位点 rs6438552 等位基因和基因型频率。

表 1 PCR 引物序列

| 引物序列 | 基因位点 rs334558 | 基因位点 rs6438552 |
|------|---------------------------|------------------------------|
| 上游引物 | 5'-GACGTCCGTGAT-TGGCTC-3' | 5'-GCTTTTGGTGCCT-TAGGTGAC-3' |
| 下游引物 | 5'-AGCCCAGAGCCCT-GTCAG-3' | 5'-CGAAACATTGGG-TTCTCCTCG-3' |

1.4 统计学处理

采用SPSS 22.0。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料以例和率(%)表示,采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2组ADL评分和认知功能障碍发生率比较
研究组ADL评分和认知功能障碍发生率高于对照组($P<0.05$)(表2)。

表 2 2 组 ADL 评分和认知功能障碍发生率比较

| 组别 | 例数 | ADL 评分 ($\bar{x} \pm s$, 分) | 认知功能障碍 发生率[n(%)] |
|-----|----|----------------------------------|---------------------|
| 研究组 | 91 | 89.45±7.53* | 23(25.27)* |
| 对照组 | 80 | 45.36±4.89 | 0(0.00) |

注:与对照组比较,* $P<0.05$

2.2 2组基因位点 rs334558 等位基因和基因型频率比较

研究组基因位点 rs334558 等位基因C分布和基因型频率CC高于对照组($P<0.05$)(表3)。

2.3 2组基因位点 rs6438552 等位基因和基因型频率比较

研究组基因位点 rs334558 等位基因C分布和基因型频率CC高于对照组($P<0.05$)(表4)。

3 讨 论

脑卒中是威胁人类生命安全的一种疾病,具有较高的发病率、致残率和致死率^[7-8]。脑卒中又称为脑血管意外,主要是以脑组织缺血及出血性损伤症状为临床表现的一种急性脑血管疾病,主要包括蛛网膜下腔出血、脑梗死和脑出血^[9-11]。临床研究报告

表 3 2 组基因位点 rs334558 等位基因和基因型频率比较 [n(%)]

| 组别 | 例数 | 等位基因 | | 基因型频率 | | |
|-----|----|------------|------------|------------|-----------|------------|
| | | C | T | CC | CT | TT |
| 研究组 | 91 | 56(61.54)* | 35(38.46)* | 51(56.04)* | 9(9.89) | 30(32.97)* |
| 对照组 | 80 | 33(41.25) | 47(58.75) | 25(31.25) | 16(20.00) | 39(48.75) |

注:与对照组比较,* $P<0.05$

表 4 2 组基因位点 rs6438552 等位基因和基因型频率比较 [n(%)]

| 组别 | 例数 | 等位基因 | | 基因型频率 | | |
|-----|----|------------|------------|------------|-----------|------------|
| | | C | T | CC | CT | TT |
| 研究组 | 91 | 63(69.23)* | 28(30.77)* | 53(58.24)* | 14(15.38) | 24(26.37)* |
| 对照组 | 80 | 34(42.50) | 46(57.50) | 27(33.75) | 12(15.00) | 41(51.25) |

注:与对照组比较,* P<0.05

道表明,我国脑卒中发病率位居全世界第一位^[12]。缺血性脑卒中主要分为椎动脉系统和颈内动脉系统供血区梗死或短暂性脑缺血发作,其中颈内动脉系统供血区梗死或短暂性脑缺血发作主要表现为肢体运动、感觉障碍,而椎动脉系统供血区梗死或短暂性脑缺血发作的临床表现主要为听力障碍、耳鸣、眩晕、平衡障碍等^[13-15]。脑卒中后认知功能障碍为脑卒中的常见并发症,其能影响患者日常生活活动能力^[16-17]。本研究结果表明,研究组 ADL 评分高于对照组而认知功能障碍发生率低于对照组,故而提示缺血性脑卒中患者的日常生活活动能力明显下降且认知功能障碍发生率较高。

GSK3 β 基因主要位于染色体 3q 13.3 上,主要由 272461 个碱基构成,包括内含子 10 个和外显子 11 个,是多功能的一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,也是细胞内多种信号转导通路中的一种重要成分,不仅参与细胞内糖代谢过程,同时参与细胞增殖、分化、凋亡等多种重要生理过程。相关临床报道显示,GSK3 β 作为 tau 蛋白激酶的一种,在 tau 蛋白的过度磷酸化中具有重要意义,且 GSK3 β 还可促进神经元凋亡,增加脑内 β -淀粉样蛋白合成^[18]。GSK3 β 基因编码区无多态性存在,故而本研究重点在于分析 GSK3 β 基因转录后调节区域 3'-UTR,进行了 3'-UTR rs334558 和 rs6438552 位点的等位基因以及基因型对缺血性脑卒中发病风险的影响分析。近年来,有研究报道显示 GSK3 β 基因 3'-UTR 多态性与阿尔茨海默病密切相关^[19],但目前临床上尚无有关 GSK3 β 基因 3'-UTR 多态性与缺血性脑卒中的相关性研究。本研究结果显示,研究组基因位点 rs334558 等位基因 C 分布高于对照组且基因型频率 CC 也高于对照组,故而提示 rs334558 和 rs6438552 位点 C 等位基因可能为缺血性脑卒中的易感基因,但其具体作用机制尚未阐明,还需在后续研究中增加样本量和指标进一步研究,提供可靠的参考价值。

综上所述,GSK3 β 基因 3'-UTR 多态性与缺血性脑卒中存在关系;rs334558 和 rs6438552 位点 C 等位基因可能为缺血性脑卒中的易感基因。

参 考 文 献

[1] Jin, Hwan, Lee, et al. Neuroprotective mechanisms and translational potential of therapeutic hypothermia in the treatment of ischemic stroke [J]. Neural Regeneration Research, 2017, 12 (3): 341-350.

[2] Anderson CS, Robinson T, Lindley RI, et al. Low-Dose versus Standard-Dose intravenous alteplase in acute ischemic stroke [J]. N Engl J Med, 2016, 374(24): 2313-2323.

[3] 薛静, 王昊, 高培毅, 等. 急性缺血性卒中溶栓治疗前后磁敏感加权序列突出血管征的变化和意义 [J]. 中国卒中杂志, 2017, 12(3): 233-238.

[4] 张志国, 孙亚鸣, 陈晓宇, 等. CT 灌注成像指导下超时间窗缺血性卒中患者静脉溶栓研究 [J]. 临床放射学杂志, 2017, 36 (1): 24-27.

[5] 叶洪涛, 薛静, 许方敏, 等. 小鼠海马糖原合成酶激酶 3 β 过表达对小鼠补心汤总黄酮抗抑郁和抗焦虑作用的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(3): 224-230.

[6] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 急性缺血性脑卒中诊治指南撰写组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 (2010) [J]. 中华神经科杂志, 2010, 43(2): 146-152.

[7] 祁宇, 薛静, 高培毅, 等. 磁敏感加权成像突出血管征对急性缺血性卒中缺血半暗带的评估价值 [J]. 国际医学放射学杂志, 2017, 40(6): 651-655.

[8] 周邑东, 袁怀武, 计仁杰, 等. 缺血性卒中后应激性高血糖与早期血管性认知功能障碍的相关性 [J]. 中国医学科学院学报, 2017, 39(6): 749-755.

[9] 戴颖仪, 梁肖玉, 胡欢, 等. 缺血性卒中再发的相关因素分析 [J]. 广东医学, 2017, 38(3): 387-389.

[10] 马媛媛, 杨国源. 缺血性卒中基础与临床研究进展 [J]. 中国现代神经疾病杂志, 2018, 18(1): 1-11.

[11] 潘小玲, 程兴, 胡传琛, 等. 帕罗西汀对缺血性卒中不伴抑郁患者神经功能恢复的临床疗效观察 [J]. 中国卒中杂志, 2017, 12 (2): 119-123.

[12] 杨秀芹. 老年脑梗死病人再发缺血性卒中与脑出血微血管病变和预后的关系分析 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15 (5): 619-621.

[13] 李克良, 耿瑞慧, 朱立勋, 等. 影响阿替普酶治疗急性缺血性卒中早期疗效的临床研究 [J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(8): 1464-1467.

[14] 李文兰, 朱叶锋, 冉海涛. 急性缺血性卒中患者颈动脉斑块超声观察 [J]. 中国介入影像与治疗学, 2017, 14(12): 747-751.

[15] 张红梅, 杜大勇, 石艳超, 等. 血清胱抑素 C 与缺血性卒中患者脑血管造影下脑动脉狭窄的关系 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2017, 34(6): 491-493.

[16] 王明跃, 叶晓林. 阿司匹林与替格瑞洛对急性轻型缺血性卒中溶栓后再发心脑血管风险的预防效果比较 [J]. 实用医院临床杂志, 2018, 15(1): 139-142.

[17] 刘艳贞. 颈动脉狭窄程度、糖尿病史与进展性缺血性卒中的关联性分析 [J]. 黑龙江医药科学, 2018, 12(1): 174-175.

[18] 刘勇, 孙嘉婧. 针刺介入时机对缺血性中风大鼠脑组织中 PTEN, p-AKT 和 p-GSK3 β 的影响 [J]. 上海针灸杂志, 2018, 37(9): 1068-1075.

[19] 王芬, 贾建平, 秦伟, 等. GSK3B 基因 3'-UTR 多态性与阿尔茨海默病发病风险的相关性分析 [J]. 脑与神经疾病杂志, 2019, 27(3): 138-142.