

烟雾病遗传学研究

周丽 王乔树

【摘要】 烟雾病是一种慢性进行性、闭塞性脑血管病,其病因和发病机制目前尚未阐明。近年来国内外大量研究证实其存在遗传易感性,且遗传性因素在发病机制中的作用较获得性因素更加重要。本文就近年来烟雾病遗传学研究进展进行综述,以为早期诊断和有效精准治疗提供指导。

【关键词】 脑底异常血管网病; 基因; 遗传学; 综述

Genetic study on moyamoya disease

ZHOU Li, WANG Qiao-shu

Department of Neurology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China

Corresponding author: WANG Qiao-shu (Email: qwang624@sjtu.edu.cn)

【Abstract】 Moyamoya disease (MMD) is a chronic progressive obstructive cerebrovascular disease. At present, the etiology and pathogenesis of MMD are still not clear. Recently, many studies confirmed the genetic susceptibility of MMD and reported that the genetic factors are more important than acquired causes. We summarize the domestic and foreign studies on the genetics of MMD, and expect to provide a guidance for early diagnosis and precise treatment.

【Key words】 Moyamoya disease; Genes; Genetics; Review

This study was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81371304).

烟雾病(MMD)系指双侧颈内动脉(ICA)终部和(或)大脑前动脉(ACA)起始部和(或)大脑中动脉(MCA)起始部进行性狭窄或闭塞,同时伴颅底增生的异常血管网,并排除动脉粥样硬化、自身免疫性疾病、脑膜炎、中枢神经系统肿瘤、21三体综合征和神经纤维瘤等,并且强调为双侧,单侧为可疑烟雾病^[1]。烟雾病在全球范围内均有发生,而在日本、韩国和中国等东亚国家的发病率高于其他地区,其中中国发病率约0.43/10万^[2]。值得注意的是,有烟雾病家族史的人群较普通人群发病率高30~40倍,且已有烟雾病患者表现出常染色体显性遗传特点,提示遗传因素参与烟雾病的发病^[3]。烟雾病有2个发病高峰期,一为年龄5~9岁的儿童,临床症状以脑缺血为主,二为45~49岁的成人,临床主要表现为颅内出血^[1]。研究显示,缺血型烟雾病主要通过软

脑膜动脉代偿大脑中动脉或大脑前动脉;出血型烟雾病主要通过脉络膜前动脉迂曲扩张或后交通动脉开放扩张代偿,或颈内动脉终部进行性狭窄或闭塞致Willis环周围多发细小、扭曲和烟雾状血管影代偿,其中成人供血代偿途径以后者为主、儿童则以前者为主,故不同代偿模式导致不同年龄段患者临床表现不同^[4]。但上述情况均可能导致不可逆性神经功能缺陷和智力障碍,因此,及时诊断和适当处理对改善患者长期预后至关重要,有助于明确烟雾病相关遗传变异,并可为存在烟雾病风险的人群制定个体化治疗方案。目前关于烟雾病的病因尚未阐明,但有学者认为遗传因素在烟雾病的发病机制中的作用较获得性因素更为重要^[1]。本文拟就烟雾病遗传学研究进展进行综述,以为临床诊断、干预和基因靶向治疗提供指导。

一、RNF213基因与烟雾病

研究显示,定位于17q25的RNF213基因是东亚人群烟雾病易感基因之一^[5]。RNF213基因可以编码一种含5256个氨基酸序列的蛋白,该蛋白包含两个功能区:Walker基序和Ring蛋白区域,前者具有

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2017.12.012

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:81371304)

作者单位:200080 上海交通大学附属第一人民医院神经内科

通讯作者:王乔树 (Email: qwang624@sjtu.edu.cn)

ATP 依赖解聚酶功能;后者类似环指状结构,含泛素化连接酶活性区域。解聚酶可以催化蛋白解聚,泛素化连接酶参与细胞生理活动,如细胞周期、信号转导、DNA 修复和转录调节等^[6]。Miyatake 等^[7]发现,95%的家族性烟雾病(FMMD)患者和79%的散发性烟雾病患者存在 *RNF213* c.14576G>A 基因多态性,且 *RNF213* c.14576G>A 纯合变异者较杂合变异者发病年龄早、病情严重,可以出现缺血性卒中和大脑后动脉(PCA)狭窄等。究其原因,短暂性大脑中动脉闭塞(MCAO)可以激活 *RNF213* 基因表达,而 *RNF213* c.14576G>A 变异具有降低血管生成能力的作用,进一步加重脑缺血,而脑缺血又可以诱导 *RNF213* 基因表达,导致恶性循环。烟雾病患者临床表现主要表现为脑缺血和脑出血,相关研究显示, *RNF213* c.14576G>A 变异导致缺血型烟雾病,而 *RNF213* p.A4399T 变异与出血型烟雾病相关^[8]。Liu 等^[9]对 8 例家族性烟雾病的家系成员进行全基因组相关性研究(GWAS)时发现,烟雾病与染色体 17q25 区域存在相关性,8 例先证者全外显子测序(WES)结果显示,均存在 *RNF213* p.Arg4810Lys 突变,而其他编码区无突变。为进一步探讨 *RNF213* 基因多态性的潜在作用,研究者敲除斑马鱼 *RNF213* 基因,结果显示,斑马鱼颅内动脉管壁不规则且产生异常血管,提示 *RNF213* 基因可能在颅内血管生成中涉及新的信号转导通路。2015 年, Kobayashi 等^[10] 研究显示, *RNF213* p.Arg4810Lys 变异也可降低血管生成能力,且易诱发脑组织缺氧。尽管我们业已了解 *RNF213* 基因与异常血管生成的关系,但尚无足够证据显示血管生成减少如何导致大脑基底部分异常血管网形成。Sonobe 等^[11]敲除 C57BL/6 小鼠 *RNF213* 基因第 32 外显子,制备 *RNF213* 基因缺陷型小鼠模型,再进行育种,结果显示,正常情况下 *RNF213* 基因缺陷型小鼠与正常小鼠的动脉解剖和管壁结构无明显差异,行颈总动脉结扎术后,正常小鼠出现颈动脉内膜短暂性增生,但 *RNF213* 基因缺陷型小鼠未见颈动脉内膜增生,表明 *RNF213* 基因突变不能充分诱导烟雾病。尽管目前尚不明确烟雾病患者 *RNF213* c.14576G>A 变异可使机体某些功能丧失还是加强,但通过 Liu 等^[9]敲除斑马鱼 *RNF213* 基因的试验结果表明,该基因突变可能存在功能损伤,并可能涉及新的信号转导通路,但关于烟雾病与 *RNF213* 基因之间的关系尚待进一步研究。

二、MMP 基因与烟雾病

MMP 基因是导致烟雾病进展的基因之一,由 Gross 和 Lapierre^[12]于 1962 年首次发现,主要依靠金属离子催化活性以降解细胞外基质(ECM),因具有特定进化序列而与其他金属蛋白酶不同,故而命名。*MMP* 基因为多基因家族,包括 25 种以上分泌酶和细胞表面酶,主要作用是降解细胞外基质,在调节组织病理生理学重塑过程中发挥重要作用,主要针对其他蛋白酶、蛋白酶抑制剂、凝血因子和趋化因子等^[13]。研究显示,基质金属蛋白酶(MMPs)在生理或病理过程如胚胎发育、伤口愈合、炎症反应、关节炎、心血管病、肺部疾病和肿瘤中具有重要作用^[14]。Ma 和 You^[2]以及汤荡等^[15]对中国烟雾病患者的研究显示,烟雾病与 *MMP-3* 基因第 1171 位点多态性具有相关性。*MMP-3* 又称基质溶酶-1,可溶解基底膜胶原蛋白,从而诱导其他金属蛋白酶合成。*MMP-3* 基因第 1171 位点启动子区插入/删除变异体,可以表现为 5 或 6 个腺嘌呤残留物,通常称为 5A 或 6A,其中,5A 等位基因启动子活性较强,使 *MMP-3* 基因呈高表达;6A 等位基因启动子活性较弱,*MMP-3* 基因表达不足。Li 等^[16]对中国汉族烟雾病患者的研究显示,*MMP-3* 基因低表达是家族性和散发性烟雾病的易感因素。烟雾病的特征性病理改变为动脉内膜增厚、不规则粥样硬化斑块形成致血管进行性狭窄或闭塞,病理生理学机制为平滑肌细胞过度增殖和细胞外基质异常生成,系基质金属蛋白酶和金属蛋白酶组织抑制因子(TIMPs)对平滑肌细胞和细胞外基质的调节作用失衡所致,这也可能是 *MMP-3* 基因低表达易导致烟雾病的作用机制之一,尚待进一步验证。亦有研究显示,基质金属蛋白酶家族成员 *MMP-2* 和 *MMP-9* 基因多态性也可能是烟雾病的遗传易感因素之一^[17-18]。基质金属蛋白酶和金属蛋白酶组织抑制因子对维持血-脑屏障(BBB)和促进血管生成起重要作用,其中 *MMP-2* 和 *MMP-9* 可降解内皮基底层,调节细胞之间紧密连接,从而改变血-脑屏障通透性。Park 等^[17]对 107 例烟雾病患者和 243 名正常对照者进行基因多态性检测,结果显示,与正常对照者相比,烟雾病患者血清 *MMP-9* 水平显著升高,推测 *MMP-9* 表达上调可以使血-脑屏障结构改变,加重出血进程。*MMP-9* 又称明胶酶 B,其作用底物包括明胶,天然 IV、V 和 VI 型胶原,层黏连蛋白(LN)等,主要由单核巨噬细胞、血管内皮细胞和中性粒细胞等多种细胞合成分泌。动

物实验显示, *MMP-9* 基因敲除小鼠颈动脉内膜厚度显著降低^[19], 与 Park 等^[17]的研究结果一致, 推测 *MMP-9* 表达上调可使动脉内膜增厚, 从而导致血管狭窄。

三、TIMP 基因与烟雾病

TIMP 基因突变也可参与烟雾病的发病。金属蛋白酶组织抑制因子是基质金属蛋白酶的特异性天然抑制剂, 其中 *TIMP-1* 是 *MMP-9* 的特异性抑制剂。*TIMP* 表达异常时, 平滑肌细胞增殖失衡, 导致动脉内膜增厚, 粥样硬化斑块形成。Park 等^[17]研究显示, 与正常对照者相比, 烟雾病患者 *TIMP-2* 基因第 418 位点启动子区 *G/C* 基因型频率明显增加。Kang 等^[20]研究显示, *TIMP-2* 基因多态性可能诱发家族性烟雾病。后续研究结果显示, 烟雾病患者血浆 *TIMP-2* 和 *TIMP-1* 水平降低^[21], 提示 *TIMP-2* 和 *TIMP-1* 基因表达下调可能导致平滑肌细胞动员、迁移和增殖, 促进动脉闭塞性病变的进展。张皆德^[22]探讨 47 例烟雾病患者血清 *MMP-9* 和 *TIMP-1* 表达变化及其与颅内出血之间的关系, 结果显示, 烟雾病患者血清 *TIMP-1* 水平和 *MMP-9/TIMP-1* 比值均高于正常对照者; 相关分析显示, 血清 *MMP-9* 与 *TIMP-1* 表达变化呈正相关, 推测 *MMP-9* 和 *TIMP-1* 在烟雾病患者中呈协同表达, *MMP-9* 表达上调可以促进 *TIMP-1* 合成和分泌。上述研究结果均支持 *MMP* 与 *TIMP* 基表达失衡是烟雾病致病机制的假说, 二者表达失衡对烟雾病的进展极其重要。

四、其他基因与烟雾病

尽管目前尚无证据证实烟雾病属于自身免疫性疾病, 但有学者认为二者间存在联系。Chen 等^[23]在观察烟雾病患者自身免疫性疾病发病情况时发现, 烟雾病患者自身免疫性疾病患病率为 31%, 患病率明显升高, 证实二者之间存在联系。目前已知人类白细胞抗原 (*HLA*) 基因与自身免疫性疾病有关。Aoyagi 等^[24]的研究显示, 与正常对照者相比, 烟雾病患者 *HLA-B51* 基因频率增加。Kraemer 等^[25]对白种人烟雾病患者进行基因检测发现, *HLA-DR* 基因呈高表达, 并提出 *HLA* 基因通过调节免疫环境而加速烟雾病进展。Hong 等^[26]对 70 例烟雾病患者 (54 例散发性烟雾病患者、16 例家族性烟雾病患者) 进行 *HLA* 基因多态性分析, 结果显示, 家族性烟雾病患者 *HLA-DR* 等位基因频率明显增加。上述研究结果均支持 *HLA* 基因作为自身免疫性疾病相关基因与烟雾病的发病之间存在重要联系, 但具体机制

目前尚不清楚。有研究显示, 烟雾病患者存在 *ACTA2* 基因突变^[27-28], 可能引起血管平滑肌细胞异常迁移, 从而导致烟雾病。然而, 张谦等^[29]对我国 132 例烟雾病患者进行 *ACTA2* 基因编码区外显子测序, 并未发现中国烟雾病患者存在 *ACTA2* 基因编码外显子突变。因此, *ACTA2* 基因与烟雾病的关系尚待进一步研究。亦有研究显示, *TG* 相互作用因子 (*TGIF*) 和内皮型一氧化氮合酶 (*eNOS*) 参与烟雾病的发病^[30-31], 但具体机制尚待进一步研究。

五、展望

随着临床医师对烟雾病认识的逐渐提高和先进影像学技术的广泛应用, 越来越多的烟雾病病例被发现, 但是关于其确切发病机制尚未阐明。近年来, 国内外学者针对烟雾病的病因和发病机制开展一系列研究, 越来越多的研究证实, 定位于 17q25 的 *RNF213* 基因和 *MMPs* 基因家族与烟雾病的发病密切相关^[5, 16-18]。因此, 如果可以对上述基因位点进行基因检测并分析, 有助于确定烟雾病致病基因。众所周知, 烟雾病属于血管变异性疾病, 有研究显示, 某些基因突变可以导致血管生成和结构异常^[9, 18-19], 但具体机制尚不清楚, 因此, 针对血管生成重塑等方面的研究有望探寻到烟雾病的发病机制。随着对烟雾病易感基因定位研究的深入, 我们期待能够早日揭示其病因和发病机制, 在外科手术基础上有效结合基因靶向治疗, 阻止疾病进展, 使基因治疗成为外科治疗的良好补充手段。因此, 深入研究并准确定位烟雾病致病基因、明确病因和发病机制以指导临床预防与治疗是未来研究的重点。

参 考 文 献

- [1] Hu LC, Hao YL. Advances in the etiology of moyamoya disease. Zhong Feng Yu Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2016, 33:472-474. [胡良晨, 郝延磊. 烟雾病的病因研究进展. 中风与神经疾病杂志, 2016, 33:472-474.]
- [2] Ma J, You C. Association between matrix metalloproteinase-3 gene polymorphism and moyamoya disease. J Clin Neurosci, 2015, 22:479-482.
- [3] Kim JS. Moyamoya disease: epidemiology, clinical features, and diagnosis. J Stroke, 2016, 18:2-11.
- [4] Xie AM, Ding YJ, Li GJ. Collateral circulation characteristics of CT angiography imaging of adult ischemic type moyamoya disease. Zhongguo Yi Xue Zhuang Bei, 2016, 13:64-67. [谢安明, 丁耀军, 李功杰. 成人烟雾病侧支循环的 CT 血管成像特点. 中国医学装备, 2016, 13:64-67.]
- [5] Hu J, Luo J, Chen Q. The susceptibility pathogenesis of moyamoya disease. World Neurosurg, 2017, 101:731-741.
- [6] Miyawaki S, Imai H, Takayanagi S, Mukasa A, Nakatomi H, Saito N. Identification of a genetic variant common to moyamoya disease and intracranial major artery stenosis/

- occlusion. *Stroke*, 2012, 43:3371-3374.
- [7] Miyatake S, Miyake N, Touho H, Nishimura-Tadaki A, Kondo Y, Okada I, Tsurusaki Y, Doi H, Sakai H, Saitsu H, Shimojima K, Yamamoto T, Higurashi M, Kawahara N, Kawauchi H, Nagasaka K, Okamoto N, Mori T, Koyano S, Kuroiwa Y, Taguri M, Morita S, Matsubara Y, Kure S, Matsumoto N. Homozygous c.14576G>A variant of RNF213 predicts early-onset and severe form of moyamoya disease. *Neurology*, 2012, 78:803-810.
- [8] Ma YG, Zhang Q, Yu LB, Zhao JZ. Role of ring finger protein 213 in moyamoya disease. *Chin Med J (Engl)*, 2016, 129:2497-2501.
- [9] Liu W, Morito D, Takashima S, Mineharu Y, Kobayashi H, Hitomi T, Hashikata H, Matsuura N, Yamazaki S, Toyoda A, Kikuta K, Takagi Y, Harada KH, Fujiyama A, Herzig R, Kricshek B, Zou L, Kim JE, Kitakaze M, Miyamoto S, Nagata K, Hashimoto N, Koizumi A. Identification of RNF213 as a susceptibility gene for moyamoya disease and its possible role in vascular development. *PLoS One*, 2011, 6:E22542.
- [10] Kobayashi H, Matsuda Y, Hitomi T, Okuda H, Shioi H, Matsuda T, Imai H, Sone M, Taura D, Harada KH, Habu T, Takagi Y, Miyamoto S, Koizumi A. Biochemical and functional characterization of RNF213 (Mysterin) R4810K, a susceptibility mutation of moyamoya disease, in angiogenesis in vitro and in vivo. *J Am Heart Assoc*, 2015, 4:E002146.
- [11] Sonobe S, Fujimura M, Niizuma K, Fujimura T, Furudate S, Nishijima Y, Kure S, Tominaga T. Increased vascular MMP-9 in mice lacking RNF213: moyamoya disease susceptibility gene. *Neuroreport*, 2014, 25:1442-1446.
- [12] Gross J, Lapiere CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1962, 48:1014-1022.
- [13] Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 2001, 17:463-516.
- [14] Chakraborti S, Mandal M, Das S, Mandal A, Chakraborti T. Regulation of matrix metalloproteinases: an overview. *Mol Cell Biochem*, 2003, 253:269-285.
- [15] Tang D, Wang C, Xu W, Long J. Relationship between single nucleotide polymorphisms of matrix metalloproteinase-3 gene and moyamoya disease in Chinese Han population. *Guangdong Yi Xue*, 2015, 36:1698-1700. [汤荡, 汪成, 徐蔚, 龙江. 基质金属蛋白酶-3 基因单核苷酸多态性与中国汉族人群烟雾病的关系. *广东医学*, 2015, 36:1698-1700.]
- [16] Li H, Zhang ZS, Liu W, Yang WZ, Dong ZN, Ma MJ, Han C, Yang H, Cao WC, Duan L. Association of a functional polymorphism in the MMP-3 gene with moyamoya disease in the Chinese Han population. *Cerebrovasc Dis*, 2010, 30:618-625.
- [17] Park YS, Jeon YJ, Kim HS, Han IB, Oh SH, Kim DS, Kim NK. The GC+CC genotype at position-418 in TIMP-2 promoter and the -1575GA/-1306CC genotype in MMP-2 is genetic predisposing factors for prevalence of moyamoya disease. *BMC Neurol*, 2014, 14:180.
- [18] Fujimura M, Watanabe M, Narisawa A, Shimizu H, Tominaga T. Increased expression of serum matrix metalloproteinase-9 in patients with moyamoya disease. *Surg Neurol*, 2009, 72:476-480.
- [19] Johnson C, Galis ZS. Matrix metalloproteinase-2 and -9 differentially regulate smooth muscle cell migration and cell-mediated collagen organization. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2004, 24:54-60.
- [20] Kang HS, Kim SK, Cho BK, Kim YY, Hwang YS, Wang KC. Single nucleotide polymorphisms of tissue inhibitor of metalloproteinase genes in familial moyamoya disease. *Neurosurgery*, 2006, 58:1074-1080.
- [21] Kang HS, Kim JH, Phi JH, Kim YY, Kim JE, Wang KC, Cho BK, Kim SK. Plasma matrix metalloproteinases, cytokines and angiogenic factors in moyamoya disease. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2010, 81:673-678.
- [22] Zhang JD. Expression of MMP-9, TIMP-1 in blood serum of moyamoya disease patients and their relationship with intracranial hemorrhage. Nanning: Guangxi Medical University, 2014. [张皆德. 烟雾病患者血清中 MMP-9 及 TIMP-1 的表达及与颅内出血间关系研究. 南宁: 广西医科大学, 2014.]
- [23] Chen JB, Liu Y, Zhou LX, Sun H, He M, You C. Prevalence of autoimmune disease in moyamoya disease patients in Western Chinese population. *J Neurol Sci*, 2015, 351:184-186.
- [24] Aoyagi M, Ogami K, Matsushima Y, Shikata M, Yamamoto M, Yamamoto K. Human leukocyte antigen in patients with Moyamoya disease. *Stroke*, 1995, 26:415-417.
- [25] Kraemer M, Horn PA, Roder C, Khan N, Diehl RR, Berlit P, Heinemann FM. Analysis of human leukocyte antigen genes in Caucasian patients with idiopathic moyamoya angiopathy. *Acta Neurochir (Wien)*, 2012, 154:445-454.
- [26] Hong SH, Wang KC, Kim SK, Cho BK, Park MH. Association of HLA-DR and -DQ genes with familial moyamoya disease in Koreans. *J Korean Neurosurg Soc*, 2009, 46:558-563.
- [27] Guo DC, Papke CL, Tran-Fadulu V, Regalado ES, Avidan N, Johnson RJ, Kim DH, Pannu H, Willing MC, Sparks E, Pyeritz RE, Singh MN, Dalman RL, Grotta JC, Marian AJ, Boerwinkle EA, Frazier LQ, LeMaire SA, Coselli JS, Estrera AL, Safi HJ, Veerarghavan S, Muzny DM, Wheeler DA, Willerson JT, Yu RK, Shete SS, Scherer SE, Raman CS, Buja LM, Milewicz DM. Mutations in smooth muscle alpha-actin (ACTA2) cause coronary artery disease, stroke, and moyamoya disease, along with thoracic aortic disease. *Am J Hum Genet*, 2009, 84:617-627.
- [28] Roder C, Peters V, Kasuya H, Nishizawa T, Wakita S, Berg D, Schulte C, Khan N, Tatagiba M, Kricshek B. Analysis of ACTA2 in European moyamoya disease patients. *Eur J Paediatr Neurol*, 2011, 15:117-122.
- [29] Zhang Q, Liu YP, Zhang D, Wang R, Zhang Y, Yu LB, Zhang X, Zhao JZ. Analysis of coding exon of ACTA2 in Chinese patients with moyamoya disease. *Zhongguo Wei Chuang Wai Ke Za Zhi*, 2015, 15:1041-1044. [张谦, 刘雅萍, 张东, 王嵘, 张岩, 于兰冰, 张学, 赵继宗. 中国烟雾病患者主动脉平滑肌肌动蛋白 $\alpha 2$ 基因编码区的研究. *中国微创外科杂志*, 2015, 15:1041-1044.]
- [30] Chen M, Kuo SJ, Liu CS, Chen WL, Ko TM, Chen TH, Chang SP, Huang CH, Chang YY, Wang BT. A novel heterozygous missense mutation 377T>C (V126A) of TGIF gene in a family segregated with holoprosencephaly and moyamoya disease. *Prenat Diagn*, 2006, 26:226-230.
- [31] Park YS, Min KT, Kim TG, Lee YH, Cheong HJ, Yeom IS, Choi JU, Kim DS, Kim NK. Age-specific eNOS polymorphisms in moyamoya disease. *Childs Nerv Syst*, 2011, 27:1919-1926.

(收稿日期:2017-10-25)

本期广告目次

- 凯那(北京泰德制药股份有限公司) 封二
- 申捷(齐鲁制药有限公司) 封三
- 恩必普(石药集团恩必普药业有限公司) 封四