

雄激素受体 α_A 基因甲基化和tHcy对颅内动脉狭窄的影响

黄毓娟¹, 万里², 杨志宏³, 沈舒文^{1,4}

1. 陕西中医药大学基础医学院, 陕西 咸阳 712046; 2. 西安大兴医院神经内科, 陕西 西安 710016; 3. 陕西中医药大学附属医院脑病科, 陕西 咸阳 712046; 4. 陕西中医药大学中医系, 陕西 咸阳 712046

【摘要】目的:主要探讨人雄激素受体 α_A (Androgen receptor- α_A , AR- α_A)基因启动子区甲基化状态与高分辨率磁共振成像下,以大脑中动脉M₁段不同信号斑块为例,探讨颅内动脉狭窄斑块临床与分子生物学的关系。**方法:**在缺血性脑卒中患者中,行头颅高分辨率磁共振成像检查,入选69例大脑中动脉M₁段存在斑块且有神经系统缺损症状的患者和30例对照组,评估颅内动脉斑块信号。采用甲基化特异性聚合酶链反应(MSP)检测静脉血AR- α_A 基因启动子区甲基化状态及荧光法测定血清总同型半胱氨酸(tHcy)水平。**结果:**斑块高信号或混杂信号组42例AR- α_A 基因启动子区甲基化率为78.6%;等信号或低信号组27例AR- α_A 基因启动子区甲基化率为70.4%;30例对照组中AR- α_A 基因启动子甲基化率为26.6%;3组甲基化率差异有显著性意义($P<0.05$)。同时,实验组tHcy水平显著高于对照组($P<0.05$),AR- α_A 基因启动子区甲基化程度与tHcy相关系数为 $r=0.549$ 。**结论:**颅内动脉高信号斑块的不稳定性程度增加,与tHcy成正相关,更易引起颅内动脉狭窄。

【关键词】雄激素受体 α_A ; 甲基化; 总同型半胱氨酸; 颅内动脉狭窄

【中图分类号】R35;R445.2

【文献标志码】A

【文章编号】1005-202X(2020)03-0311-06

Effects of methylation of androgen receptor- α_A gene and total homocysteinet on intracranial arterial stenosis

HUANG Yujuan¹, WAN Li², YANG Zhihong³, SHEN Shuwen^{1,4}

1. School of Basic Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China; 2. Department of Neurology, Xi'an Daxing Hospital, Xi'an 710016, China; 3. Department of Encephalopathy, Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China; 4. School of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China;

Abstract: Objective To discuss the relationship between intracranial arterial stenosis plaques in clinic and molecular biology under the methylation state of androgen receptor- α_A (AR- α_A) gene promoter region and high-resolution magnetic resonance imaging by taking plaques of different signals in M₁ segment of middle cerebral artery as example. **Methods** Patients with ischemic stroke were detected by high-resolution magnetic resonance imaging. A total of 69 patients with plaques in M₁ segment of middle cerebral artery and neurological defect symptoms were enrolled in the study, and 30 cases in control group. Intracranial arterial plaque signals were evaluated. Methylation specific polymerase chain reaction (MSP) was used for detecting methylation state of AR- α_A gene promoter region of venous blood, and fluorescence method for determining the level of serum total homocysteinet (tHcy). **Results** The methylation rate of AR- α_A gene promoter region in the high signal or mixed signal group ($n=42$) was 78.6%, and that was 70.4% in iso-signal or low signal group ($n=27$) and 26.6% in control group ($n=30$). There were statistical differences in methylation rate among 3 groups ($P<0.05$). Meanwhile, the level of tHcy in experimental group was significantly higher than that in control group ($P<0.05$). The correlation coefficient r between the methylation of AR- α_A gene promoter region and tHcy was 0.549. **Conclusion** The instability of high signal plaques in intracranial artery is increased and is positively related to tHcy, which is more likely to lead to intracranial artery stenosis.

Keywords: androgen receptor- α_A ; methylation; total homocysteinet; intracranial artery stenosis

【收稿日期】2019-11-21

【基金项目】全国名老中医药专家沈舒文教授传承工作室建设项目(国中医药人教发[2016]42号)

【作者简介】黄毓娟, 硕士, 讲师, 主要从事内科疾病的诊断、治疗及科研工作, E-mail: huangyujuan197@163.com

【通信作者】万里, 副主任医师, 主要从事神经内科的诊断及治疗工作, E-mail: wwwwoods@163.com

前言

缺血性脑血管疾病发生发展的基础是动脉硬化,动脉硬化是造成心脑血管疾病和死亡的重要因素。大量结果表明,雄激素受体 α_A (Androgen receptor- α_A , AR- α_A)基因表达下调与动脉粥样硬化患

者粥样斑块的发生相关,本课题组进一步研究表明,AR- α_A 基因启动子区CpG岛存在的高甲基化可能使AR基因表达沉默,从而致脑梗死发病,同时血液总同型半胱氨酸(total Homocysteine, tHcy)的增高可以调控AR- α_A 基因启动子区甲基化强度^[1-2]。

国内研究表明,颅内动脉狭窄是中国人缺血性脑血管事件发生的主要原因,而国外相关研究认为,引起狭窄的斑块性质可能是决定缺血性脑卒中反复发作和进展的重要因素。由于斑块的成分不同,导致其在磁共振成像下的成像过程中,出现不同信号的斑块,为继续探究基因启动子区甲基化与缺血性脑卒中之间的关系,因此决定利用1.5 T高分辨率磁共振成像(High-Resolution Magnetic Resonance Imaging, HR MRI)作为检查手段,探讨颅内动脉大脑中动脉M₁段斑块性质与基因启动子区甲基化、tHcy之间的关系,是否存在AR- α_A 基因启动子区甲基化调控导致血管平滑肌细胞(Vascular Smooth Muscle Cell, VSMC)的过度增殖与迁移,这种变化是否导致血管内皮损伤、斑块的形成,导致颅内动脉狭窄,VSMC的过度增殖与迁移是否可以导致斑块的继发性改变,理论阐明易损斑块的分子生物学形成机制。本研究在HR MRI颅内成像基础上,用临床病例进行研究,并讨论AR- α_A 基因启动子区甲基化与颅内动脉不同信号斑块的内在生物学关系。

1 对象与方法

1.1 对象

试验组:纳入标准:所有患者均为急性缺血性卒中,年龄 ≥ 18 岁,发病时间 ≤ 7 d。排除标准:心源性脑梗死、颈部血管及双下肢血管狭窄率 $>50\%$ 、无症状及体征的脑梗死、不能完成核磁共振检查者,一般情况登记。辅助检查:心脏结构及功能评价,包括心脏彩超、心电图、颈部血管彩超、双下肢血管彩超。

对照组:纳入标准:非急性腔隙性脑梗死,时间 ≥ 7 d,年龄 ≥ 18 岁。排除标准和实验组相同。

1.2 颅脑HR MRI的大脑中动脉(Middle Cerebral Artery, MCA)斑块检查

影像采集:采用Philips(荷兰)1.5 T磁共振(MR)系统,切换率50 mT/ms,8通道扫描线圈。参与实验的患者均进行常规头颅MR扫描,扫描的序列及参数:横截面T₁WI(TR 400 ms,TE 15 ms,T₁ 150 ms)、T₂WI(TR 4 000 ms,TE 120 ms)、T₂-FLAIR(TR 9 000 ms,TE 120 ms,T₁ 2 600 ms)、DWI(b=1 000 s/mm²,TR 3 000 ms,TE 87 ms),及矢状面T₂WI(TR 3 000 ms,TE 90 ms),厚度5 mm,层间距1.5 mm,FOV 240 mm \times 240 mm,矩阵

320 \times 256,使用造影剂钆喷酸葡胺,剂量为0.1 mmol/kg进行磁共振血管造影(Magnetic Resonance Angiography, MRA)及T₁ VISTA HR MRI;1.5T MR进行头颅HR MRI检查颅内动脉粥样硬化斑块至狭窄处,明确不同信号强度的斑块,以周围肌肉组织信号作为对比,实验组分为高信号或混杂信号组、等信号或低信号组。

图像分析标准:HR MRI评估脑动脉粥样硬化斑块的易损性具有较高的可信度^[3]。目前认为HR MRI检查中T₁WI序列,参考斑块病理学变化可以更好地解释HR MRI图像的意义。高低信号主要是相对于周围肌肉组织而言,如纤维帽在T₁、T₂序列呈高信号,高于周围肌肉信号2倍以上^[4];斑块内出血在T₁加权项呈高信号,呈高亮状态,与周围肌肉组织形成鲜明对比^[5];脂质核心在T₁、T₁加权和T₂、T₂*呈现高信号^[6-7];钙化在T₁、T₂序列呈低信号,信号比肌肉暗^[8]。由2位高年资影像医师双盲分析各序列斑块的分布及信号特点,进行分组。

1.3 标本的采集

抽取参与者清晨空腹肘静脉血4 mL,2 mL血用于检测血tHcy浓度;2 mL血用来提取基因组DNA,检测甲基化程度,-80℃冰箱保存备用。

1.4 AR- α_A 基因启动子区甲基化状态的检测

提取DNA及其甲基化修饰、纯化与吸收:用DNA Methylation TM Kit试剂盒(购自美国ZYMO公司),严格按说明书进行操作;取5 μ L M-Dilution Buffer添加到14 μ L的DNA标本中,用无菌双蒸水调整使总容量为50 μ L,轻弹混合后室温在37℃水浴箱孵育15 min,使DNA变性。合格标本中加入CT试剂100 μ L混合。避光下,50℃孵育14 h;4℃孵育10 min;取400 μ L M-Binding Buffer加入IC管中,IC管放入已提供的集合管中。上述标本入IC管中,摇床混匀后进行全速离心,时间为30 s,弃去上清液。取M-Wash Buffer 100 μ L置入至IC管中,全速离心30 s。取200 μ L M-Desulphonation Buffer加入IC管中,室温静置15~20 min孵育,全速离心,时间为30 s。取M-Wash Buffer加入IC管中200 μ L,行全速离心,时间为30 s,再取M-Wash Buffer 200 μ L,将其加入至IC管中进行全速离心,离心时间为30 s。之后置入IC管于微离心管中,取M-Elution Buffer 10 μ L直接悬滴入IC管中,全速离心,时间为30 s,之后进行洗提。

甲基化特异性聚合酶链反应(Methylation Specific Polymerase Chain Reaction, MSP)引物设计:引物由上海英俊生物技术有限公司合成,引物的合成批号分别为:20180512、20180515、20180516,AR- α_A 基因特异性聚合酶链反应(Polymerase Chain Reaction, PCR)引物如表1所示。

表 1 AR-α_A 基因 PCR 引物
Tab.1 PCR primers of androgen receptor-α_A (AR-α_A) gene

| 引物 | 引物序列 | 退火温度/°C |
|-------|--|---------|
| AR-PN | S: 5'-GAG GTG TAT TTG GAT AGT AG-3' | 63 |
| | A: 5'-AAC TCC CTA AAC TCT CCC TT-3' | |
| AR-PU | S: 5'-TGT TGT GTA TAA TTA TTT TGA GGG T-3' | 65 |
| | A: 5'-CTC ACA CAC CAT ATA ACC ACT AAA C-3' | |
| AR-PM | S: 5'-CGT CGT GTA TAA TTA TTT CGA GGG C-3' | 66 |
| | A: 5'-CTC GCG CAC CGT ATA ACC GCT AAA C-3' | |

AR-α_A 基因 PCR 方法及步骤:反应体系:含修饰 DNA 模板 2 μL, 包括 Taq 酶 0.1 U/μL, dNTP 500 μmol/L, 20 mmol/L HCl, pH 8.3; 100 mmol/L KCl, 3 mmol/L MgCl₂, 引物各 0.3 μL, 加无菌双蒸水, 总体积共 12.5 μL。94 °C 5 min, 65 °C 30 s, 72 °C 1 min, 20 个循环, 72 °C 7 min, 结束反应。得到 PCR 产物模板。AR-PN、AR-PM、AR-PU 按上述反应体系扩增。在 1% 的琼脂糖凝胶上, 取 PCR 产物进行电泳, 同时对其进行观察并拍照存档。检测方法:荧光生化法检测血 tHcy 水平。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件, 计数资料用 χ^2 检验, 年龄进行 Kruskal-Wallis 检验, 计量资料组间用 *t* 检验, 偏态分布计量资料组间均数比较采用秩和检验, 相关性分析采用 Spearman 等级相关分析, *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料

在 tHcy 患者中, 高信号或混杂信号斑块患者 40 例 (95.2%), 明显多于等信号或低信号患者 20 例 (74.1%), 也显著高于对照组 18 例 (60.0%), 差异具有统计学意义 ($\chi^2=6.49, P=0.023$)。其他各项临床资料比较, 差异均无统计学意义 (*P*>0.05, 表 2)。

表 2 受试者的临床资料比较
Tab.2 Comparison of clinical information among 3 groups of subjects

| 临床资料 | 高信号或混杂信号组 (n=42) | 等信号或低信号组 (n=27) | 对照组 (n=30) |
|----------|------------------|-----------------|------------|
| 年龄/岁 | 63.4±10.7 | 59.4±11.1 | 58.4±13.7 |
| 性别(男/女) | 27/15 | 20/7 | 22/8 |
| 吸烟/例 | 17 | 6 | 6 |
| 高血压/例 | 37 | 24 | 25 |
| 糖尿病/例 | 24 | 9 | 11 |
| 高 tHcy/例 | 40* | 20* | 18* |
| 脑卒中病史/例 | 12 | 5 | 4 |

*表示 $\chi^2=6.49, P=0.023$

2.2 影像学结果

在观察 69 例患者的双侧大脑中动脉 M₁ 段可见斑块 101 处; 其中 42 例患者高信号或混杂信号 42 处, 27 例患者中等信号或低信号 59 处。典型病例如图 1~图 3 所示。

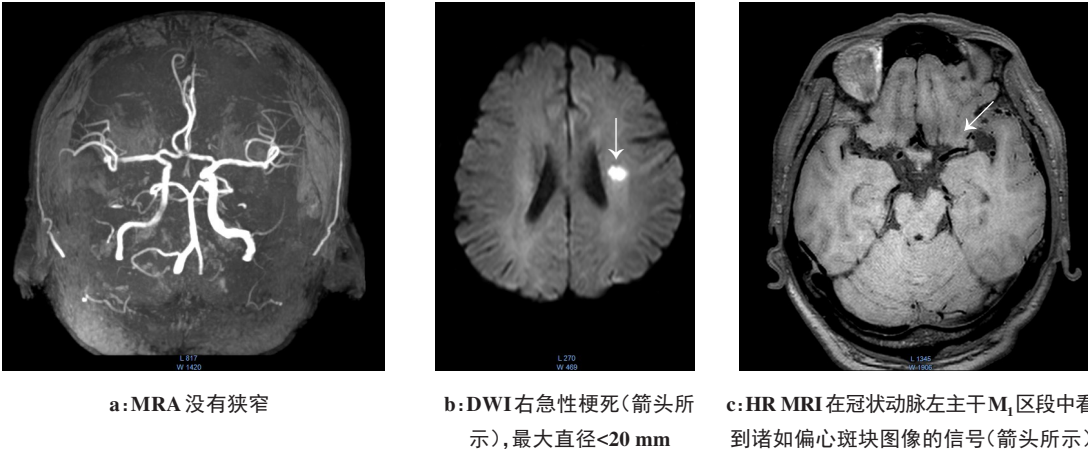


图 1 70 岁男性的中动脉供血区脑梗死左脑斑块
Fig.1 Left cerebral plaque in a 70-year-old male patient with cerebral infarction in the blood supply area of the middle cerebral artery

2.3 MSP 结果

通过电流得到甲基化结果, 电泳产物大小为 130 bp。高信号或混杂信号组血液 AR-α_A 基因启动子甲基化水

平高于其他两组; 而等信号或低信号组甲基化水平高于对照组 (图 4)。

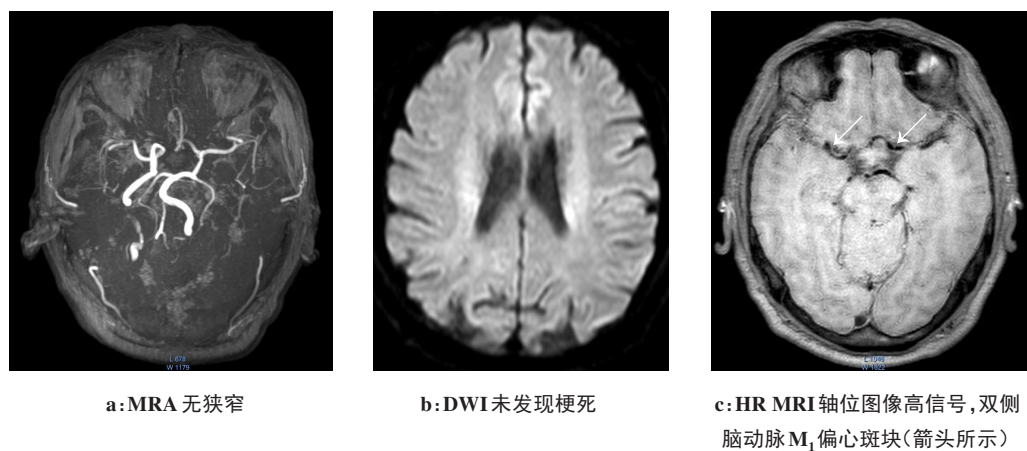


图2 患有短暂性脑缺血的60岁男性患者
Fig.2 60-year-old male patient with transient ischemic attack

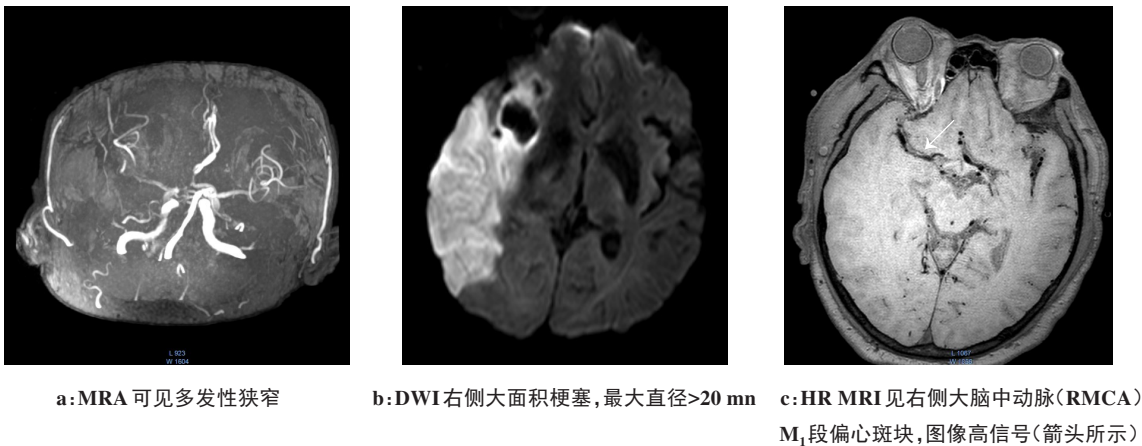


图3 63岁男性的脑梗塞-RMCA供血区脑梗死
Fig.3 63-year-old male patient with cerebral infarction in RMCA blood supply area

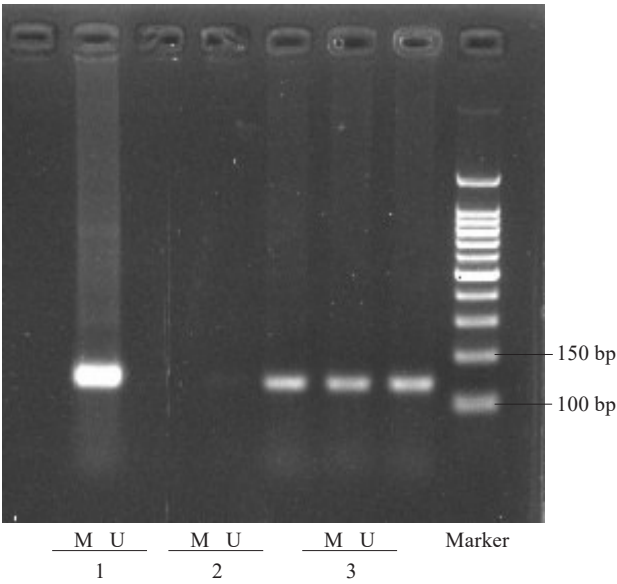


图4 MSP法检测AR- α 基因启动子甲基化电泳图
Fig.4 Electropherogram of the methylation of AR- α gene promoter detected by methylation specific polymerase chain reaction
1代表高信号或混杂信号组,2代表等信号或低信号组,3代表对照组;
M:用于扩增的甲基化引物;U:用于扩增的未甲基化的引物

2.4 不同性质斑块的甲基化率比较

甲基化检测表明,等信号或低信号组标本中有19例发生了甲基化,占比70.4%;高信号或混杂信号组标本中发生甲基化者33例,占比为78.6%;正常对照组发生甲基化者8例,占比26.6%。3组对比差异有显著性意义($P<0.001$,表3)。

2.5 甲基化与tHcy水平的关系

按甲基化程度不同将入组患者分为3组,tHcy($\mu\text{mol/L}$)在其中的水平差异较大,即完全甲基化组43例,tHcy水平为(13.2 ± 4.7) $\mu\text{mol/L}$ 、半甲基化组17例,tHcy水平为(19.8 ± 4.2) $\mu\text{mol/L}$,均高于非甲基化组39例,tHcy水平为(3.2 ± 4.7) $\mu\text{mol/L}$,组间对比有统计学意义($P<0.05$)。采用Spearman等级相关分析法对AR- α 基因甲基化程度与tHcy水平进行分析,二者存在不完全相关且为正相关($r=0.549$, $P<0.05$),根据双侧显著性值小于0.01,可见甲基化程度与tHcy水平存在显著相关关系,提示高tHcy与AR- α 基因启动子区的甲基化有关系。

表 3 3 组样本甲基化率的比较(例)
Tab.3 Comparison of methylation rates in 3 groups (cases)

| 组别 | n | 甲基化 | 半甲基化 | 非甲基化 | 甲基化率/% |
|------------------|----|-----|------|------|--------------|
| 高信号或混杂信号组 | 42 | 27 | 6 | 9 | 78.6 (33/42) |
| 等信号或低信号组 | 27 | 14 | 5 | 8 | 70.4 (19/27) |
| 对照组值 | 30 | 2 | 6 | 22 | 26.7 (8/30) |
| χ ² 值 | - | - | - | - | 16.4 |
| P 值 | - | - | - | - | 0.000 |

2.6 甲基化与颅内动脉狭窄率的关系

3 组与管腔狭窄率比较有显著的统计学意义 ($P<0.05$), 说明管腔狭窄与 AR-α_A 基因启动子甲基化程度不同(表4)。

表 4 管腔狭窄率比较(例)
Tab.4 Comparison of rate of arterial stenosis (cases)

| 组别 | 管腔狭窄率<50% | 管腔狭窄率>50% |
|------------------|-----------|-----------|
| 甲基化 | 3 | 38 |
| 半甲基化 | 13 | 12 |
| 非甲基化 | 2 | 1 |
| χ ² 值 | 4.518 | 58.573 |
| P 值 | 0.034 | 0.000 |

3 讨论

在血管阻塞性疾病中病理解剖可以显示平滑肌细胞的过度增生, 多项体内和体外实验中发现雄激素可以抑制 VSMC 的增殖和新的血管内膜出现^[9]。中国成年人颅内动脉粥样斑块普遍存在, MCA 和后循环即椎动脉 (Vertebral Artery, VA)、基底动脉 (Basilar Artery, BA) 斑块形态性质不同, 斑块新生毛细血管、斑块出血是 MCA、BA 及 VA 斑块的普遍特点, 脂质核心是 MCA 的特点, 钙化多出现在颅内动脉后循环^[10]。颅内动脉斑块的解剖和病理类型研究发现, 颅内动脉斑块在人群中普遍存在, MCA、VA、BA 的管壁病变不同, MCA 主要为偏心斑块, 与 VA、BA 进行比较存在差异^[11]。

实验结果从生物学角度显示了 tHcy 对 AR-α_A 基因启动子的甲基化的调控作用; AR-α_A 基因启动子的甲基化受到体内 tHcy 的调控, tHcy 调控 AR-α_A 基因启动子的甲基化可能是通过氧化应激作用^[12]。有研究表明, 高 tHcy 时, tHcy 长期作用于内皮细胞使内皮型一氧化氮合成酶 (eNOS) 受损, eNOS 基因表达减少, 会加速 NO 降解, 使得保护机制丧失, 其中心致病

机制可能主要与 tHcy 引起的游离自由基生成增多及氧化应激有关, 内皮型一氧化氮合酶基因启动子序列 DNA 甲基化程度随 tHcy 浓度的升高而增加^[13]。本研究发现缺血性脑卒中患者的血清 tHcy 水平显著高于正常人, 且同 AR-α_A 基因启动子的甲基化程度呈正相关, 这可能是易损斑块形成的重要环节。

斑块性质不同, AR-α_A 基因启动子的甲基化程度不同, 而且有显著的差异性且呈正相关性; AR-α_A 基因启动子的高甲基化可使 AR-α_A 基因沉默, 雄激素激活 AR-α_A 后, 可以减慢由于血管壁损伤引起 VSMC 的增殖^[14]。

环境因素导致血管内皮损伤, 高血压、高血脂及 tHcy 等引起的血流动力学改变, 造成动脉血管内皮细胞的损伤, 内皮损伤在修复过程中引起动脉管壁增厚变硬, 有研究认为, 血流动力学原因会加大颅内最大动脉管壁前壁侧的压力, 导致大脑中动脉容易发生斑块粥样硬化斑块^[15-16], 而基因水平上因 AR-α_A 基因沉默会使血管内皮损伤处的 VSMC 过度增殖而形成斑块, 再出现斑块继发性改变。不稳定斑块与 AR-α_A 基因启动子的甲基化程度、tHcy 均呈正相关; 有关细胞实验证实, AR-α_A 均有抑制 VSMC 增殖和迁移的能力。斑块信号强度升高与吸烟史、高血压病史和糖尿病史有相关的趋势, 但无明显统计学差异, 可能统计样本不够大; 高 tHcy 患者与斑块信号强度及甲基化程度呈密切正相关且有统计学差异。因此认为, 外在环境导致血管内皮损伤, 在血管内皮修复过程中由于 AR-α_A 基因启动子甲基化, 导致平滑肌细胞的异常增殖, 使斑块的不稳定性增加。

颅内动脉狭窄是中国人缺血性脑血管病发病的一个主要原因^[17-18], 本研究利用 HR MRI 技术和 nMSP 的方法揭示 AR-α_A 基因启动子甲基化与颅内动脉狭窄的关系, 表明易损斑块导致的狭窄是由于机体环境和表观遗传学的共同结果, 防治颅内血管病变表观遗传学是否可以提供有益的临床预测效果还需临床循证医学的支持, 以及对颅内斑块的深入

认识还需从病理学上认识斑块,以更好地解释影像图像,结合分子生物学更好地认识和判定斑块的形态和风险,本次初步了解易损斑块的形成是多种因素合力的结果。目前国际上已开始7T MR超导系统对斑块形态学的研究,同时尝试对颅内后循环血管壁情况的探查,期待在未来,高分辨率能对斑块的认知更加深入,更好地指导临床与疾病的研究^[19-20]。同时,本次研究对象皆为咸阳地区人口,结果显示咸阳地区颅内动脉狭窄的患者中,87%的患者患有高tHcy血症,体检的过程中发现60%健康人群患有tHcy血症,远高于其他地区30%的发病率,颅内动脉狭窄不同的原因可能是地域不同,这还有待进一步调查。同时本研究对大脑中动脉、椎动脉、基底动脉的斑块形态和性质与AR- α_A 基因甲基化和tHcy的相关性没有研究,后续研究还需要进一步的研究。

【参考文献】

- [1] 杨志甫. 同型半胱氨酸对血栓调节蛋白基因甲基化修饰及其与脑梗死发病的关系[D]. 济南: 山东大学, 2017.
YANG Z F. The methylation of thrombomodulin gene by homocysteine and its relationship with the pathogenesis of cerebral infarction[D]. Jinan: Shandong University, 2017.
- [2] 袁彬, 张黎军, 李青, 等. 动脉粥样硬化血栓形成性脑梗死患者血清淀粉样蛋白A1基因多态性与颈动脉粥样硬化的相关性[J]. 中华脑科疾病与康复杂志(电子版), 2016, 6(2): 65-68.
YUAN B, ZHANG L J, LI Q, et al. Association of genetic polymorphisms of SAA1 with atherosclerosis in patients with atherothrombosis cerebral infarction[J]. Chinese Journal of Brain Diseases and Rehabilitation (Electronic Edition), 2016, 6(2): 65-68.
- [3] YANG W J, WONG K S, CHEN X Y. Intracranial atherosclerosis: from microscopy to high-resolution magnetic resonance imaging[J]. J Stroke, 2017, 19(3): 249-260.
- [4] 吕晋浩, 马宁, 袁景林, 等. 高分辨率磁共振检测颅内动脉斑块预测缺血性脑血管事件的研究[J]. 中华神经外科杂志, 2015, 31(5): 444-447.
LÜ J H, MA N, YUAN J L, et al. Detecting intracranial atherosclerotic plaques with high-resolution MR angiography for predicting ischemic cerebrovascular disease[J]. Chinese Journal of Neurosurgery, 2015, 31(5): 444-447.
- [5] CHEN X Y, WONG K S, LAM W W, et al. High signal on T₁ sequence of magnetic resonance imaging confirmed to be intraplaque haemorrhage by histology in middle cerebral artery[J]. Int J Stroke, 2014, 9(4): E19.
- [6] YANG W J, CHEN X Y, ZHAO H L, et al. Postmortem study of validation of low signal on fat-suppressed T₁-weighted magnetic resonance imaging as marker of lipid core in middle cerebral artery atherosclerosis[J]. Stroke, 2016, 47(9): 2299-2304.
- [7] JIANG Y, ZHU C, PENG W, et al. Ex-vivo imaging and plaque type classification of intracranial atherosclerotic plaque using high resolution MRI[J]. Atherosclerosis, 2016, 249: 10-16.
- [8] TURAN T N, RUMBOLDT Z, GRANHOLM A C, et al. Intracranial atherosclerosis: correlation between in-vivo 3T high resolution MRI and pathology[J]. Atherosclerosis, 2014, 237(2): 460-463.
- [9] REAGAN A M, GU X, PAUDEL S, et al. Age-related focal loss of contractile vascular smooth muscle cells in retinal arterioles is accelerated by caveolin-1 deficiency[J]. Neurobiol Aging, 2018, 71: 1-12.
- [10] YANG W J, FISHER M, ZHENG L, et al. Histological characteristics of intracranial atherosclerosis in a Chinese population: a postmortem study[J]. Front Neurol, 2017, 8: 488-495.
- [11] KIMURA H, TAKAO M, SUZUKI N, et al. Pathologic study of intracranial large artery atherosclerosis in 7260 autopsy cases[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2017, 26(12): 2821-2827.
- [12] HAI Z. Aberrant DNA methylation in the pathogenesis of atherosclerosis[J]. Clin Chim Acta, 2016, 456: 69-74.
- [13] 姜怡邓, 孙炜炜, 马胜超, 等. 内皮型一氧化氮合酶基因启动子区DNA甲基化调控同型半胱氨酸致内皮细胞损伤的机制[J]. 中国动脉硬化杂志, 2013, 21(2): 115-119.
JIANG Y D, SUN W W, MA S C, et al. The mechanism of endothelial nitric oxide synthase promoter DNA methylation in the impairment of endothelial cells induced by homocysteine[J]. Chinese Journal of Arteriosclerosis, 2013, 21(2): 115-119.
- [14] MA S C, CAO J C, ZHANG H P, et al. Aberrant promoter methylation of multiple genes in VSMC proliferation induced by Hcy[J]. Mol Med Rep, 2017, 16(5): 7775-7783.
- [15] HUANG B, YANG W Q, LIU X T, et al. Basilar artery atherosclerotic plaques distribution in symptomatic patients: a 3.0T high-resolution MRI study[J]. Eur J Radiol, 2013, 82(4): e199-e203.
- [16] XU W H, LI M L, GAO S, et al. Plaque distribution of stenotic middle cerebral artery and its clinical relevance[J]. Stroke, 2011, 42(10): 2957-2959.
- [17] WANG Y, ZHAO X, LIU L, et al. Prevalence and outcomes of symptomatic intracranial large artery stenoses and occlusions in China[J]. Stroke, 2014, 45(3): 663-669.
- [18] 温玉星, 顾宇翔, 黄绍崧, 等. 颅内外血管重建治疗老年动脉粥样硬化型缺血性脑血管病[J]. 中华神经外科疾病研究杂志, 2016, 15(1): 54-57.
WAN Y X, GU Y X, HUANG S S, et al. Extra-intracranial revascularization for atherosclerotic ischemic cerebrovascular disease in elderly patients[J]. Chinese Journal of Neurosurgical Disease Research, 2016, 15(1): 54-57.
- [19] HARTEVELD A A, DENSWIL N P, SIERO J C, et al. Quantitative intracranial atherosclerotic plaque characterization at 7T MRI: an ex vivo study with histologic validation[J]. AJNR Am J Neuroradiol, 2015, 37(5): 802-810.
- [20] LOPEZ GONZALEZ M R, FOO S Y, HOLMES W M, et al. Atherosclerotic carotid plaque composition: a 3T and 7T MRI-histology correlation study[J]. J Neuroimaging, 2016, 26(4): 406-413.

(编辑: 陈丽霞)