

## ·信息研究·

## 内皮型一氧化氮合酶基因 G894T 多态性与原发性高血压关系的 Meta 分析

陈 剑<sup>1</sup>, 周智涓<sup>1</sup>, 柯剑婷<sup>2</sup>, 陈筱潮<sup>1</sup>

(中山大学附属第五医院 1. 心血管内科, 2. 肾内科, 广东 珠海 519000)

**摘要:**【目的】对中国人群内皮型一氧化氮合酶(eNOS)基因 G894T 多态性与原发性高血压相关性的研究进行 Meta 分析。【方法】通过文献检索全面收集中国人群 eNOS 基因 G894T 多态性与原发性高血压关系的病例-对照研究,剔除不符合要求的文献,应用 Meta 分析软件包(RevMan 4.2)对入选文献进行异质性检验并根据检验结果进行数据合并,计算合并优势比(odds ratio, OR),并评估发表偏倚的影响。【结果】共 11 篇文献符合条件纳入研究,包括 2 123 例原发性高血压患者和 2 097 例对照者,各研究之间存在异质性,故采用随机效应模型进行数据合并,结果显示 eNOS 多态性基因型(GT+TT)与 GG 的 OR 值为 1.48,95% CI 为 1.13 ~ 1.94( $P = 0.004$ )。【结论】eNOS 基因 G894T 多态性与中国人群原发性高血压易感性相关,T 等位基因可能是原发性高血压的遗传危险因素。

**关键词:** 高血压;一氧化氮合酶;多态性;Meta 分析

中图分类号:R544.1 文献标识码:A 文章编号:1672-3554(2008)4S-0116-04

原发性高血压是一种由多种遗传因素和环境因素共同作用所致的复杂的疾病,而且遗传在高血压发病中可能起着重要的不可忽视的作用<sup>[1]</sup>。内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)以 L-精氨酸为基质生成一氧化氮而引起血管扩张<sup>[2,3]</sup>和产生利尿因子,在调节血压中起重要作用。人类 eNOS 基因定位于染色体 7q35~q36 区,含有 26 个外显子和 25 个内含子。其第 7 外显子区的 G894T 突变,导致相应蛋白产物第 298 位上的谷氨酸被替换成天冬氨酸(Glu298Asp)。现有的研究显示 G894T 错义突变使 eNOS 合成功能异常,而使血管局部 eNOS 活性及含量下降,导致 NO 合成减少,最终是血管内皮功能失调,促进原发性高血压发生。目前 eNOS 基因 G894T 多态性与我国人群原发性高血压易感性的关系颇受国内学者的关注,但由于研究样本普遍较小,结果差异较大,本研究通过对国内外已进行的相关研究进行 Meta 分析,提供循证医学证据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

利用已发表的 eNOS 基因 G894T 多态性与原发性高血压相关性的研究文献,系统评价原发性高血压患者 eNOS 基因 G894T 分布与正常人有无差异。高血压患者为病例组,常规体检健康且无高血压家族史者为对照组。观察指标为(GT+TT) / GG 基因型的 OR 值。

### 1.2 资料来源

以“高血压”、“一氧化氮合酶”、“基因多态性”为主题词,联合检索自 1994 年 1 月 1 日起至 2007 年 5 月 1 日止的中

国生物医学文献数据库、中国学术期刊全文数据库、维普中国科技期刊数据库、中国重要会议论文全文数据库、中国博士学位论文全文数据库和中国优秀硕士学位论文全文数据库,以“hypertension”、“nitric oxide synthase”、“polymorphism”为主题词检索同期 PubMed 获取在外文期刊发表的中国人文献资料,并对与高血压和遗传性疾病有关的一些中文生物医学期刊和国内较大型的学术会议论文汇编进行了手工检索。允许纳入国内少数民族为研究对象的研究。

### 1.3 资料选择标准

1.3.1 纳入标准 原始资料为已公开发表的文献;原始文献内容涉及 eNOS 基因多态性的基因型频率和(或)等位基因频率的独立病例-对照研究;原始文献为设计良好的病例对照研究,研究对象均为中国人,以汉族人群为主,有严格的对照,且有两组人群的基本构成。原发性高血压诊断均符合 1999 年世界卫生组织/国际高血压协会(WHO/ISH)诊断标准:收缩压  $\geq 140$  mm Hg 和(或)舒张压  $\geq 90$  mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa);或者既往有高血压史,目前正在服抗高血压药物,血压已低于上述标准者。统计方法恰当,数据表达明确;各文献研究方法相似;各文献有综合的统计指标,如优势比(odds ratio, OR)等。

1.3.2 剔除标准 原始文献重复;实验设计不严谨,如:非随机对照研究、原发性高血压诊断标准不规范、统计方法不妥当、样本资料不全及数据描述不清的文献;不符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡者,以上情况均予以剔除。

### 1.4 纳入文献的质量评价

对各独立研究从以下方面进行质量评估,以考察各研究是否存在偏倚及其影响程度,实验设计是否科学、研究

收稿日期:2008-04-09

基金项目:广东省科技计划项目(2006B36007005);珠海市心血管疾病综合防治研究项目(PC20052011)

作者简介:陈 剑(1978-),男,广东廉江人,医学硕士,住院医师,E-mail:drchenj@126.com;陈筱潮,通讯作者

对象的纳入标准及其基本构成是否明确、处理因素及其方法是否准确、统计方法是否恰当和是否对本研究所存在的偏倚进行了讨论。

### 1.5 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验

对各研究中病例组及对照组的基因型分布进行 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验,以验证研究人群的代表性,不符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律的文献予以剔除。

### 1.6 统计学方法

①采用 Meta 分析专用统计软件 Review Manager 4.2 (RevMan 4.2) 进行数据整理和分析,计算各研究的 (GT+TT)/GG 基因型 OR 值及其 95% 可信区间 (confidence interval, 95% CI)。②对研究结果进行异质性检验,并根据检验结果选用相应的数据合并方法,若各研究之间异质性无统计学意义 ( $P \geq 0.05$ , 设定  $\alpha=0.05$ ), 则采用 Peto Mantel-Haensze 固定效应模型进行数据合并, 计算合并 OR 值; 若各研究之间异质性有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 则采用校正后的 Dersimonian-Laird (D-L 法) 随机效应模型法进行数据合并, 计算总 OR 值。③由 RevMan 4.2 软件给出漏斗图, 评估发表偏倚。④进行敏感性分析。

## 2 结果

### 2.1 文献检索结果

对各研究基因型分布的遗传平衡检验发现,共检索出 17 篇相关文献,其中 5 篇为重复报道,1 篇<sup>[4]</sup>高血压组入选不符合上述 WHO 高血压诊断标准,均予以剔除,11 篇文献<sup>[5-15]</sup>的病例组及对照组均符合 H-W 遗传平衡定律,全部被纳入。11 个研究中,6 个研究结果认为 eNOS 基因 G894T 多态性与原发性高血压相关,5 个则认为无关。上述研究累计病例数 2123 例,对照组 2097 例。入选文献分别来自北京、重庆、广东、山东、新疆、蒙古等地,大部分发表于中国科技核心期刊(表 1)。

### 2.2 入选文献的异质性评估

各研究的 OR 值及 95% 可信区间见表 2。异质性检验

显示, eNOS 基因 G894T 多态性入选研究的  $\chi^2$  为 31.35,  $P = 0.0005$ 。按照  $\alpha=0.05$  认为各研究之间的差异存在统计学意义。应采用随机效应模型进行数据合并。

### 2.3 随机效应模型数据合并

根据异质性检验结果, 病例组及对照组均采用 Dersimonian-Laird 随机效应模型法进行数据合并, 计算合并 OR 值。纳入数据合并的 11 个研究总计原发性高血压组 2 123 例, 健康对照组 2 097 例。两组 (GT+TT)/GG 合并 OR 值 (95% CI) 为 1.48 (1.13~1.94), 显著性检验 Z 值为 2.86 ( $P=0.004$ )。同时绘制各研究的森林图(图 1)。尽管纳入研究不多,但从漏斗图(图 2)上粗略判断,meta 分析的发表偏倚不明显。

### 2.4 敏感性分析

上述 11 个研究中有 10 个通过应用聚合酶链反应、限制性内切酶方法检测 eNOS 基因 G894T 多态性,而梁茜等则应用聚合酶链反应、基因芯片技术,去除此研究行敏感性分析,两组 (GT+TT) / GG 合并 OR 值 (95%CI) 为 1.55 (1.17~2.05), 显著性检验 Z 值为 3.05 ( $P=0.002$ )。可见剔除这个研究后结果不变。

## 3 讨论

eNOS 基因 G894T 多态性是由于第 7 外显子第 78 位碱基即编码序列第 894 位碱基发生 G 突变为 T(G894T), 导致在第 298 位氨基酸残基上冬氨酸替代谷氨酸。近年来,国内、外先后有学者研究 eNOS 基因 G894T 多态性与原发性高血压的相关性,结果并不一致。基于考虑观察人群受不同种族、遗传背景和环境因素的影响,在分析疾病与特定基因相关性时常常出现不一致,如 1998 年 Lcolley 等<sup>[16]</sup>在法国高加索人中首次对 G894T 变异与高血压关系进行研究,发现高血压组 G 等位基因显著高于对照组。Miyamoto 等<sup>[17,18]</sup>对日本人群的研究结果正好与 Lcolley 相反,高血压组 T 等位基因频率显著高于对照组,提示 T 等位基因是日本人高血压的危险因子。Shoji 等<sup>[19]</sup>发现 eNOS-Glu298Asp 变异与高血压

表 1 中国人群 eNOS 基因 G894T 多态性与原发性高血压相关性病例-对照研究的文献情况

编号	作者	文献出处及出版时间	地区/民族	样本量(例)	
				高血压	对照组
1	董会弈 <sup>[5]</sup>	中国医师杂志, 2006	深圳/不详	97	87
2	贾崇奇 <sup>[6]</sup>	中华流行病学杂志, 2003	济南/不详	116	136
3	李东宝 <sup>[7]</sup>	高血压杂志, 2004	北京/不详	310	151
4	梁茜 <sup>[8]</sup>	临床和实验医学杂志, 2006	广东/汉族	124	100
5	刘海珍 <sup>[9]</sup>	中国循环杂志, 2002	武汉/不详	103	74
6	马厚勋 <sup>[10]</sup>	中华老年心脑血管病杂志, 2005	重庆/不详	192	122
7	谭建聪 <sup>[11]</sup>	中华流行病学杂志, 2004	重庆/汉族	226	226
8	王丛 <sup>[12]</sup>	中国分子心脏病学杂志, 2006	内蒙古/蒙族	100	50
9	王琳 <sup>[13]</sup>	国际遗传学杂志, 2006	大连/不详	277	547
10	徐新娟 <sup>[14]</sup>	高血压杂志, 2004	新疆/哈萨克族	203	190
11	张丽萍 <sup>[15]</sup>	中华心血管病杂志, 2006	新疆/维吾尔族	375	414

表 2 中国人群 eNOS 基因 G894T 多态性与原发性高血压病例-对照研究的基因型信息和优势比

编号	组别(例数)	基因			G/T 基因分布 (GT+TT)/ GG		95%CI	权重
		GG	GT	TT	频率(%)	OR 值		
1	高血压(97)	41	50	6	68/32	3.39	1.83~6.26	8.22
	对照组(87)	62	23	2	83/17			
2	高血压(116)	83	29	4	84/16	2.06	1.12~3.79	8.29
	对照组(136)	114	20	2	91.2/8.8			
3	高血压(310)	226	81	3	91.4/8.6	1.87	1.14~3.08	9.65
	对照组(151)	126	24	1	86/14			
4	高血压(124)	108	11	5	92/8	0.84	0.39~1.79	6.72
	对照组(100)	85	14	1	92/8			
5	高血压(103)	54	44	5	73.8/26.2	2.63	1.37~5.03	7.84
	对照组(74)	55	19	0	87.2/12.8			
6	高血压(192)	76	89	27	62.76/32.24	1.06	0.67~1.68	10.09
	对照组(122)	50	49	23	60.24/39.76			
7	高血压(226)	147	50	29	76/24	1.25	0.84~1.85	10.98
	对照组(226)	158	52	16	81/19			
8	高血压(100)	70	27	3	83.5/16.5	3.14	1.21~8.16	5.14
	对照组(50)	44	5	1	93/7			
9	高血压(277)	233	40	4	91.3/8.7	1.12	0.75~1.67	10.89
	对照组(547)	468	74	5	92.3/7.7			
10	高血压(203)	165	37	1	90/10	0.66	0.41~1.07	9.87
	对照组(190)	141	45	4	86/14			
11	高血压(375)	212	106	57	70.67/29.33	1.49	1.12~1.99	12.32
	对照组(414)	273	93	48	77.17/22.83			

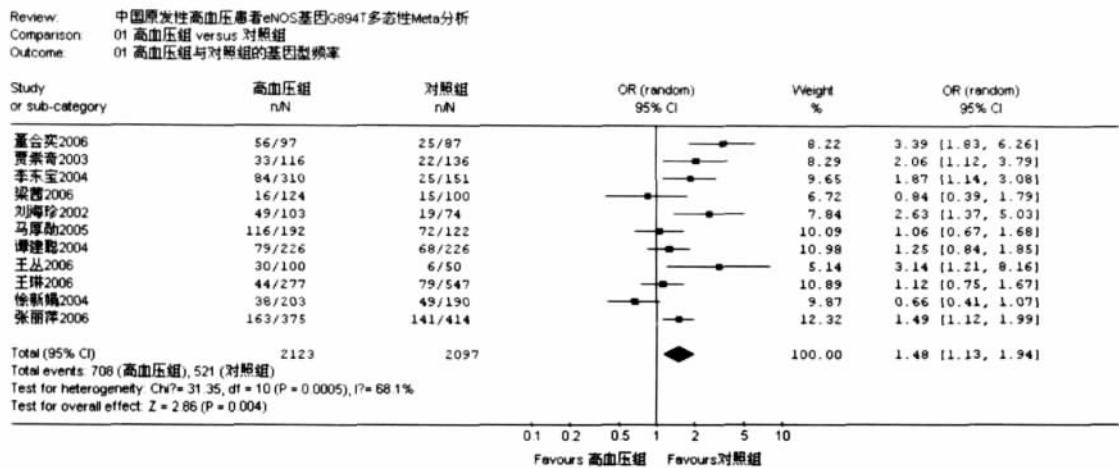


图 1 中国人 eNOS 基因 G894T 多态性与原发性高血压相关性研究森林图

压相关, 高血压患者带 894T 等位基因明显高于正常对照组, 在高血压患者中带 894T 等位基因的舒张压和平均压显著高于不带 894T 等位基因者。但也有相反研究结果, Kato 等<sup>[20]</sup>对 594 例原发性高血压和 513 例正常对照组研究发现 G894T 变异与原发性高血压无相关性。在本次纳入的研究中也存在上述情况, 如其中 2 个研究<sup>[8,11]</sup>为汉族人群, 结果均显示 eNOS 基因 G894T 多态性与原发性高血压无相关性, 而少数民族人群<sup>[12-15]</sup>的单项研究则提示存在相关性。我们通过对 11 篇有关中国人群 eNOS 基因 G894T 多态性与原发性高血压相关性的病例-对照研究的 Meta 分析, 结果显

示, 两组(GT+TT) / GG 合并 OR 值 (95% CI) 为 1.48 (1.13~1.94; P=0.004), 说明 eNOS 基因 G894T 多态性与中国人群原发性高血压易感性相关, T 等位基因可能是原发性高血压的遗传危险因素。但由于本次纳入研究的文献中半数以上在纳入病例时未区分民族, 故未能进一步行分层分析。此外, 希腊学者 Zintzaras 等<sup>[21]</sup>对有关 eNOS 基因多态性与高血压相关性的 Meta 分析显示, 在涉及总人数为 7 779/10 498 (病例组/对照组) 的 eNOS 基因 G894T 多态性与高血压的研究中提示两者无相关性, 与我们的研究结果不一致, 考虑可能与观察人群的种族及遗传背景不同有关。

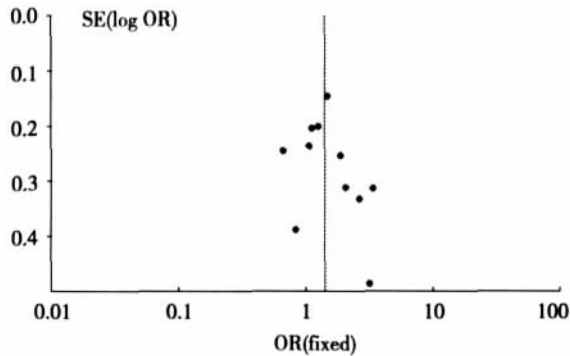


图 2 中国人群 eNOS 基因 G894T 多态性与原发性高血压相关性研究漏斗图

现有的研究显示 G894T 错义突变使 eNOS 合成功能异常,而使血管局部 eNOS 活性及含量下降,导致 NO 合成减少,最终是血管内皮功能失调,促进原发性高血压发生。也有有关动物试验及临床研究证实,eNOS 由胰岛素调节,经 P13K 途径合成。eNOSG894T 变异可能导致胰岛素抵抗、胰岛素水平升高,高胰岛素血症反过来也可能引起非代谢异常,造成内皮损害,使 eNOS 合成减少,导致高血压。而血管紧张素转换酶和  $\beta$  肾上腺素受体等基因都与胰岛素抵抗有关,也就是说高胰岛素血症可能是 eNOSG894T 变异与原发性高血压研究中的混杂因素。由此,如果在上述研究病例纳入时不注意高血压组和对照组中胰岛素水平的平衡,可能影响结果的准确性,这是上述列举的研究及 Zintzaras 等<sup>[21]</sup>的 Meta 分析结果不一致的又一可能原因。

另外,到目前为止发现的 eNOS 主要的基因变异达 8 处之多,其中研究较多的并且与高血压及冠心病关系密切的除了上述第 7 外显子区的 G894T 突变外,还有:①第 4 内含子处 27 个碱基重复序列的不同,重复 4 次为 a 等位基因,重复 5 次为 b 等位基因;②启动子区 T786→C 替代。对 eNOS 基因多位点的联合研究具有更重要的意义。但是目前国内上述相关位点基因多态与高血压的相关性研究数量较少,故本次研究未对上述位点的文献进行 Meta 分析。

本研究所收集的文献中,包括汉族、哈萨克族、维吾尔族和蒙古族,由于种族不同及各研究人群的遗传背景不同,可能影响本研究结果的准确性。本研究采用漏斗形图判断是否存在发表偏倚。尽管纳入研究不多,但从漏斗图上粗略判断,该 meta 分析的发表偏倚不明显。

#### 参考文献:

[1] 鞠振宇,黄晓红. 高血压致病与相关基因研究的策略和方法[J]. 中国分子心脏病学杂志,2001,1(1):49-53.  
 [2] Gardiner SM, Compton AM, Bennett T, et al. Control of regional blood flow by endothelium-derived nitric oxide [J]. Hypertension, 1990, 15(5):486-492.  
 [3] Rudic RD, Sessa WC. Nitric oxide in endothelial dysfunction and vascular remodeling: clinical correlates and experimental links [J]. Am, J Hum Genet, 1999, 64(3):673-677.  
 [4] 狄群,占伊扬,程蕴琳,等. 老年人群血管内皮型一氧

化氮合酶基因 Glu298Asp 多态性与原发性高血压病的关系[J]. 中国全科医学, 2002, 5(5):355-357.

- [5] 董会奕,李秋荣,王勤,等. ACE 基因和 eNOS 基因多态性与原发性高血压的相关性研究[J]. 中国医师杂志, 2006, 8(8):1059-1061.  
 [6] 贾崇奇,赵仲堂,王立华,等. 一氧化氮合酶基因 G894T 变异与高血压病关系的研究[J]. 中华流行病学杂志, 2003, 24(1):36-39.  
 [7] 李东宝,华琦,皮林. 内皮型一氧化氮合酶基因 G894T 多态性与原发性高血压的相关关系[J]. 高血压杂志, 2004, 12(4):326-330.  
 [8] 梁茜,杨希立,杨光,等. 血管紧张素转换酶和内皮型一氧化氮合酶基因多态性与高血压病的相关性[J]. 临床和实验医学杂志, 2006, 5(7):861-862.  
 [9] 刘海珍,哈黛文. 内皮型一氧化氮合酶基因 894GyT 多态性与原发性高血压的关系研究[J]. 中国循环杂志, 2002, 17(5):361-363.  
 [10] 马厚勋,谢正祥,牛永红,等. 内皮源一氧化氮合酶基因单核苷酸多态性与高血压病相关性研究[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2005, 7(4):239-241.  
 [11] 谭建聪,祝之明,祝善俊,等. 重庆市部分高血压患者一氧化氮合酶基因 G894T 多态性与相关危险因素的研究[J]. 中华流行病学杂志, 2004, 25(2):158-161.  
 [12] 王丛,孙刚,闫旭龙,等. 蒙族高血压患者内皮型一氧化氮合酶(eNOS)基因多态性研究[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2006, 6(2):81-84.  
 [13] 王琳,陈丹,薛雨,等. 内皮型一氧化氮合酶基因 Glu298Asp 多态性与原发性高血压的关系[J]. 国际遗传学杂志, 2006, 29(5):336-340.  
 [14] 徐新娟,汪师贞,林仁勇,等. 新疆哈萨克族高血压患者内皮型一氧化氮合酶基因 G894T 多态性研究[J]. 高血压杂志, 2004, 12(2):131-134.  
 [15] 张丽萍,汪师贞,赵学信,等. 内皮型一氧化氮合酶基因 G894T 多态性与新疆维吾尔族原发性高血压的关联研究[J]. 中华心血管病杂志, 2006, 34(5):403-406.  
 [16] Lacolley P, Gautier S, Poirier O, et al. Nitric oxide synthase gene polymorphisms, blood pressure and aortic stiffness in normotensive and hypertensive subjects [J]. Hypertens, 1998, 16(1):31-35.  
 [17] Miyamoto Y, Saito Y, Kajiyama N, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene is positively associated with essential hypertension [J]. Hypertension, 1998, 32(1):3-8.  
 [18] Yasujima M, Tsutaya S, Shoji M. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism and hypertension [J]. Rinsho Byori, 1998, 46(12):1199-1204.  
 [19] Shoji M, Tsutaya S, Saito R, et al. Positive association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism with hypertension in northern Japan [J]. Life Sci, 2000, 66(26):2557-2562.  
 [20] Kato N, Sugiyama T, Morita H, et al. Lack of evidence for association between the endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension[J]. Hypertension, 1999, 33(4):933-936.  
 [21] Zintzaras E, Kitsios G, Stefanidis I. Endothelial NO synthase gene polymorphisms and hypertension: A meta-analysis [J]. Hypertension, 2006, 48(4):700-710.

(编辑 刘清海)