

· 论 著 ·

血清 ANP 水平及 ANP 基因多态性与缺血性脑卒中相关性的 Meta 分析

王谋龙 李爱红 曲良锁

【摘要】目的 探讨血清心房钠尿肽(ANP)水平及 ANP 基因多态性与缺血性脑卒中(IS)发作风险的关系。方法 计算机检索 PubMed、CISCOM、CINAHL、Web of Science、EBSCO、Cochrane Library 等英文数据库,以及中国期刊全文数据库、中国生物医学文献数据库、维普中文期刊数据库和万方数据库等中文数据库,纳入 2014 年之前有关血清 ANP 水平和 ANP 基因多态性与 IS 相关性的病例对照研究,对符合条件的数据用 Stata 12.0 软件进行 Meta 分析。结果 纳入 12 项研究,包括 1 285 例 IS 和 1 088 例健康对照。ANP 2238T/C 多态性可能增加 IS 的风险(C 与 T 比较:OR=2.26;95% CI 1.59~3.23;P<0.01;TC+CC 与 TT 比较:OR=2.26;95% CI 1.34~3.81;P=0.002)。ANP 1837 G/A 和 664 G/A 的多态性与 IS 的发生无相关性。IS 血清 ANP 水平显著高于健康对照组(SMD=3.12;95% CI 1.16~5.07;P=0.002)。结论 血清 ANP 水平和 ANP 基因多态性与 IS 的发生有相关性,血清 ANP 水平和 ANP 基因多态性可能是 IS 发生的危险因素。

【关键词】缺血性脑卒中;心房钠尿肽;基因多态性;血清水平;Meta 分析;相关性

【文章编号】1009-153X(2018)03-0161-04 【文献标志码】A 【中国图书资料分类号】R 743

Meta-analysis of relativity of ANP serum levels and genetic polymorphisms with ischemic stroke risk

WANG Mou-long, LI Ai-hong, QU Liang-suo. Department of Neurosurgery, Central Hospital, Shandong Energy Zibo Mining Group Co. Ltd, Zibo 255120, China

【Abstract】Objective To evaluate the relativity of the serum level and genetic polymorphism of atrial natriuretic peptide (ANP) with the risk of ischemic stroke (IS). Methods The databases including PubMed, CISCOM, CINAHL, Web of Science, EBSCO, Cochrane Library, CBM, VIP and Wanfang were searched for the original articles of random-control study of the relationship of the serum levels and genetic polymorphism of ANP with the risk of IS and published before 2014. A meta-analysis was performed with Stata 12.0 software. Results Twelve original articles about clinical study of the relationship of the serum levels and genetic polymorphism of ANP with the risk of IS including 1,285 patients with IS and 1,088 healthy subjects serving as control were acquired from the above-mentioned databases. Meta-analysis showed that ANP 2238 T/C polymorphism might increase the risk of IS (C allele vs. T allele: OR=2.26, 95% CI: 1.59~3.23, P<0.01; TC+CC vs. TT: OR=2.26, 95% CI: 1.34~3.81, P=0.002; respectively) and ANP 1837 G/A and 664 G/A polymorphisms were insignificantly related to IS risk. The level of serum ANP was significantly higher in the patients with IS than that in the healthy subjects (SMD=3.12, 95% CI: 1.16~5.07, P=0.002). Conclusion It is suggested that the serum levels and genetic polymorphism of ANP was associated with IS.

【Key words】Atrial natriuretic peptide; Ischemic stroke; Genetic polymorphism; Serum; Meta-analysis

缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)占全部脑卒中的 60%~80%,具有高发病率、高致残率和高病死率的特点^[1]。IS 的危险因素包括高龄、高血压、糖尿病、吸烟和房颤等。研究发现心房钠尿肽(atrial natriuretic peptide, ANP)与血管的舒张关系密切且被认为是 IS 的易感因素^[2],ANP 基因型的变异可改变其生物学功能从而影响 IS 的发生、发展过程^[3,4]。此外,流行病学研究表明显著升高的血清 ANP 水平

与 IS 也有密切联系^[5]。本文应用 Meta 分析方法系统评价血清 ANP 水平及 ANP 基因多态性与 IS 的相关性,为 IS 临床诊治提供参考。

1 资料与方法

1.1 数据来源 计算机检索 PubMed、CISCOM、CINAHL、Web of Science、EBSCO、Cochrane Library 等英文数据库,以及中国期刊全文数据库(CNKI)、中国生物医学文献数据库(CBM)、维普中文期刊数据库(VIP)和万方数据库等中文数据库。

1.2 检索策略 检索 CNKI、CBM、VIP 以及万方数据库,主题词采用“心房钠尿肽或 ANP”和“基因多态性

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2018.03.007
作者单位:255120 山东淄博,山东能源淄博矿业集团中心医院神经外科(王谋龙、李爱红、曲良锁)

或 SNP”和“缺血性脑卒中”；检索 PubMed、CISCOM、CINAHL、Web of Science、EBSCO、Cochrane Library，主题词采用“SNP” or “mutation” or “genetic polymorphism” or “variation” or “polymorphism” or “single nucleotide polymorphism” or “variant”和“brain infarction” or “cerebral infarction” or “ischemic stroke”和“atrial natriuretic peptide” or “ANP” or “atrial natriuretic factor” or “ANF” or “atrial natriuretic hormone” or “ANH”。检索时间均为建库至 2014 年 1 月，检索语种限制为中、英文，并对入选的参考文献进行扩大检索。

1.3 纳入和排除标准 纳入标准：①原创性设计良好的病例对照研究；②研究内容为 ANP 血清水平和基因多态性与 IS 的关系；③符合 IS 的诊断标准；④研究提供足够的 ANP 基因多态性频数和血清 ANP 水平数据；⑤对照组基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡(HWE)。排除标准：①非人类实验研究；②无法获取有效数据文献。

1.4 质量评价和数据提取 文献由 2 名独立评价员分别按照其文题、摘要进行初筛，然后阅读全文按照纳入及排除标准进行筛选，并根据文献质量评价量表(Newcastle-Ottawa Scale, NOS)^[6]对文献的研究质量进行评价：①主题的选择 0~4 分；②主题的可比性 0~2 分；③研究结果 0~3 分。NOS 评分≥6 分为高质量研究，如意见不一致，双方讨论解决或咨询第三位评价者。提取纳入文献数据包括第一作者、出版年份、国家、语言、研究设计类型、研究样本量、研究样本来源、等位基因频数、基因多态性的检测方法、血清

ANP 水平等。

1.5 统计学方法 应用 Stata 12.0 软件进行分析，用优势比(odds ratio, OR)或标准平均差(standard mean difference, SMD)以及 95% 可信区间(confidence interval, CI)表示效应量并行 Z 检验， $P<0.05$ 为差异有统计学意义。用 I^2 评估纳入文献数据的异质性，如果 $P<0.05$ 或 $I^2>50\%$ ，表明异质性显著，选用随机效应模型，否则选用固定效应模型。用 Begger’s 漏斗图和 Egger’s 线性回归评价发表偏倚。

2 结果

2.1 文献检索结果 检索相关文献 219 篇，其中中文 92 篇，英文 127 篇，通过阅读文章的标题和摘要排除 129 篇，深入阅读全文排除 78 篇，最终纳入 12 篇文献进行 Meta 分析，其中中文 9 篇，英文 3 篇。

2.2 纳入文献的基本特征 本文纳入 12 篇文献^[7-18]，研究设计均为病例对照研究，发表时间从 1994 年到 2011 年，共有 2 373 例受试者，其中包括 1 285 例 IS 和 1 088 例健康对照。研究评估 ANP 的三种常见的基因多态性，包括 1837G/A、2238T/C 和 664G/A。9 篇文献来源于中国，意大利、英国、西班牙各 1 篇，纳入文献 NOS 得分均≥6，文献研究基本信息见表 1。

2.3 Meta 分析结果 按照 ANP 基因多态性行分层分析。在亚组分析中，ANP 基因 2238T/C 多态性位点与 IS 有相关性(图 1)，各研究间有明显异质性($P=0.371$ ， $I^2=0.00\%$)，采用随机效应模型计算合并效应值，合并分析结果：等位基因模型(C vs. T:OR=2.26; 95% CI: 1.59~3.23; $P<0.01$ ，图 1A)和显性模型(TC+

表 1 纳入文献的基本特征

文献	发表年份	国家	语言	种族	样本量		标记物	基因多态性检测 方法	NOS 评分
					病例组	对照组			
Estrada <i>et al</i> ^[7]	1994	西班牙	英语	白种人	37	36	ANP	ELISA	6
罗玉敏等 ^[8]	1998	中国	汉语	黄种人	35	34	ANP	ELISA	7
Hassan <i>et al</i> ^[9]	2001	英国	英语	白种人	436	295	ANP	PCR-RFLP	8
赵勇等 ^[10]	2001	中国	汉语	黄种人	121	104	ANP	PCR-RFLP	8
Rubattu <i>et al</i> ^[11]	2004	意大利	英语	白种人	206	236	ANP	直接测序	8
闵连秋等 ^[12]	2004	中国	汉语	黄种人	36	33	ANP	ELISA	7
刘举珍等 ^[13]	2006	中国	汉语	黄种人	76	30	ANP	ELISA	6
谢向东等 ^[14]	2006	中国	汉语	黄种人	52	50	ANP	ELISA	7
张永利等 ^[15]	2007	中国	汉语	黄种人	104	100	ANP	PCR-RFLP	8
张永利等 ^[16]	2007	中国	汉语	黄种人	114	104	ANP	PCR-RFLP	8
李锐等 ^[17]	2010	中国	汉语	黄种人	33	35	ANP	ELISA	6
苑杰等 ^[18]	2011	中国	汉语	黄种人	35	31	ANP	ELISA	7

注：ANP. 心房钠尿肽；ELISA. 酶联免疫吸附试验分析；PCR-RFLP. 聚合灭链式反应-限制性片段长度多态性

CC vs. TT; OR=2.26; 95% CI: 1.34~3.81; $P=0.002$, 图 1B), 表明 ANP 2238T/C 与 IS 有正相关性, 但是 ANP 基因 1837G/A 和 664G/A 的多态性位点与 IS 无明显相关性。

对血清 ANP 水平与 IS 风险的 Meta 分析见图 2, 各研究间有明显异质性 ($P<0.01$, $I^2=98.5\%$), 采用随机效应模型计算合并效应值, 合并分析结果显示 $SMD=3.12$; 95% CI 1.16~5.07; $P=0.002$ 。表明 IS 血清 ANP 水平显著高于健康对照组。

2.4 发表偏倚评估 Begger's 漏斗图评估发表性偏倚见图 3, 漏斗图中各点分布对称性均良好, 说明不存在显著的发发表性偏倚。Egger's 检验结果示: ANP 基因多态性 ($t=-0.63$, $P=0.555$) 和血清 ANP 水平 ($t=1.96$, $P=0.098$) 显示亦无明显发表偏倚。

3 讨论

人 ANP 由 28 个氨基酸组成, 主要有 α 、 β 、 γ 三种形式, 其中 α -ANP 是最主要的形式且活性最强。ANP 主要在心房肌细胞生成, 以 proANP 形式储存于心房肌细胞高尔基体附近的分泌颗粒内, 在受到相应刺激时被释放出并经过蛋白水解等加工过程, 变成具有 24~28 个氨基酸的肽类激素参与血液循环。ANP 参与人体多种生理学活动, 具有多重生物学效应, 包括利钠利尿、舒张心血管及降低血压等, 在维持心脑血管稳态方面有重要作用^[19]。越来越多的证据表明 ANP 可控制心肌的发生、发展过程, 而 ANP 基因的遗传变异或血清 ANP 水平升高可抑制体内血管内皮细胞生长、促进内皮细胞凋亡, 因此, 调控 ANP 基因可增加斑块破裂和缺血性事件的风险^[20]。

本文 Meta 分析评估 ANP 基因多态性和血清 ANP 水平与 IS 发生的敏感性, 其中纳入 12 个独立的病例对照研究, 包含 1 285 例 IS 和 1 088 例健康对照; 分析结果表明, ANP 2238T/C 多态性与 IS 的发生有显著相关性, 表明 ANP 2238T/C 多态性可能是 IS 的易感因素, 但是 ANP 1837G/A 和 664G/A 的多态性与 IS 发生风险无相关。尽管 ANP 基因在 IS 的发生、发展过程中的确切功能和机制还没有完全清楚, 但是目前最可能的解释是, ANP 基因型的改变可改变其在调节水和电解质平衡、稳定心脑血管内环境及调节内皮细胞增殖的功能, 进而影响其在血管性疾病中的作用^[21]。既往研究表明, 突变型 ANP 参与血管内皮细胞损伤和功能障碍, 可增加个体缺血的易感性, 特别是与 IS 的发生密切相关, 而且进一步分析发现 IS 病人血清 ANP 水平和健康对照组存在显著性

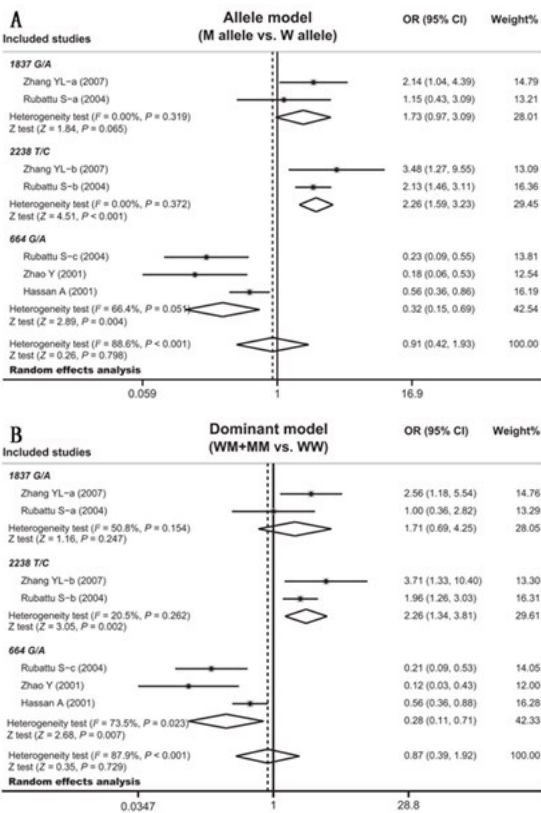


图 1 心房钠利尿基因多态性与缺血性脑卒中的相关性 A. 等位基因模型; B. 显性模型

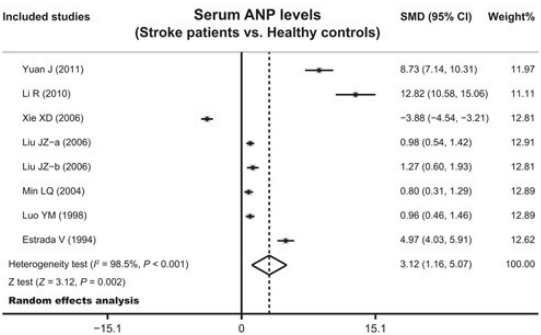


图 2 血清心房钠利尿水平与缺血性脑卒中的相关性

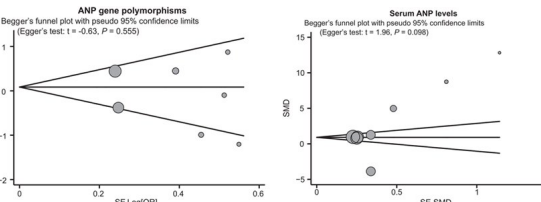


图 3 发表偏倚检验的 Begger's 漏斗图

差异, 表明血清 ANP 的变化可能是缺血性疾病复杂病理生理学变化的一个方面^[22]。总之, 我们的分析结果与之前的研究结果相一致, 表明 ANP 基因多态性以及血清 ANP 高水平与个体 IS 的高易感性有明显相关性, 并且其有可能成为临床预测 IS 的生物学指标。

但是本研究仍然有一定的局限性。首先,纳入的总体样本量较小,且原始文献仅涉及欧洲和亚洲人群,而未涉及其他人群(如非洲人群),所以不能有效的代表总体人群;其次,回顾性研究可能存在选择性偏差,从而影响结果的可靠性;第三,本研究未能获得各评估研究的原始数据,而限制分析结果准确性;最后,在所有的纳入研究中病例和对照的纳入标准没有精确的定义和限定,所以会影响评估结果的准确性。

总之,本研究表明血清 ANP 水平和 ANP 基因多态性与 IS 的发生风险有关联。因此,血清 ANP 水平和 ANP 基因多态性可能是早期检测 IS 发生的潜在生物标记物。然而,由于上述局限性,将来需要 we 开展大样本量、多中心、设计良好的临床研究,同时兼顾相关基因之间、基因与环境之间的交互作用,更新系统评价,以作进一步详细研究和验证。

【参考文献】

- [1] Ling X, Zheng Y, Tao J, *et al.* Association study of polymorphisms in the ABO gene with ischemic stroke in the population [J]. BMC Neurol, 2016, 16(1): 146.
- [2] Ventura NM, Jin AY, Tse MY, *et al.* Maternal hypertension programs increased cerebral tissue damage following stroke in adult offspring [J]. Mol Cell Biochem, 2015, 408(1-2): 223-233.
- [3] Ventura NM, Peterson NT, Tse MY, *et al.* Molecular adaptations in vasoactive systems during acute stroke in salt-induced hypertension [J]. Mol Cell Biochem, 2015, 399(1-2): 39-47.
- [4] Gupta T, Yang W, Iovannisci DM, *et al.* Considering the vascular hypothesis for the pathogenesis of small intestinal atresia: a case control study of genetic factors [J]. Am J Med Genet A, 2013, 161A(4): 702-710.
- [5] Smith P, Tuomisto MT, Blumenthal J, *et al.* Psychosocial correlates of atrial natriuretic peptide: a marker of vascular health [J]. Ann Behav Med, 2013, 45(1): 99-109.
- [6] Choi J, Jun JH, Lee JA, *et al.* Yoga for health care in Korea: a protocol for systematic review of clinical trials [J]. J Acupunct Meridian Stud, 2016, 9(4): 213-219.
- [7] Estrada V, Tellez MJ, Moya J, *et al.* High plasma levels of endothelin-1 and atrial natriuretic peptide in patients with acute ischemic stroke [J]. Am J Hypertens, 1994, 7(12): 1085-1089.
- [8] 罗玉敏,黄洁,张德英. 脑梗死患者血浆内皮素和心钠素含量变化[J]. 中国危重病急救医学, 1998, 10(11): 684-685.
- [9] Hassan A, Ali N, Dong Y, *et al.* Atrial natriuretic peptide gene G664A polymorphism and the risk of ischemic cerebrovascular disease [J]. Neurology, 2001, 57(9): 1726-1728.
- [10] 赵勇,马丽媛,刘力生. ANP 基因 G664A 多态性与出血性脑卒中的关系[J]. 高血压杂志, 2001, 9(3): 47-48.
- [11] Rubattu S, Stanzione R, Di Angelantonio E, *et al.* Atrial natriuretic peptide gene polymorphisms and risk of ischemic stroke in humans [J]. Stroke, 2004, 35(4): 814-818.
- [12] 闵连秋,马维艳,杨丽,等. 内皮素-1 和心钠素在脑梗死中的作用研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2004, 2(2): 86-88.
- [13] 刘举珍,李润今. 血浆心房钠尿肽的变化与急性脑卒中的关系[J]. 神经损伤与功能重建, 2006, 1(4): 217-218.
- [14] 谢向东,胡爱平,姬松波,等. 脑梗死患者血浆 TXA2、PGI2 和 ANP 含量的测定[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2006, 9(5): 88-89.
- [15] 张永利,杨期东,唐震宇,等. 心钠素基因 G1837A 多态性与出血性脑卒中的关系[J]. 卒中与神经疾病, 2007, 14(2): 76-78.
- [16] 张永利,杨期东,申向民,等. 心房利尿钠肽基因 T2238C 多态性与缺血性脑卒中的关系[J]. 实用医学杂志, 2007, 23(1): 17-18.
- [17] 李锐,孙庆荣,排立平,等. ACI 患者治疗前后血浆 ET-1 与血清 ANF、BNP 和 TXB2 检测的临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2010, 23(3): 280-282.
- [18] 苑杰,王静. 急性脑梗死患者血脑钠素 N 端前体肽的水平及意义[J]. 山东医药, 2011, 51(36): 64-65.
- [19] Song W, Wang H, Wu Q. Atrial natriuretic peptide in cardiovascular biology and disease (NPPA) [J]. Gene, 2015, 569(1): 1-6.
- [20] Rubattu S, Sciarretta S, Volpe M. Atrial natriuretic peptide gene variants and circulating levels: implications in cardiovascular diseases [J]. Clin Sci (Lond), 2014, 127(1): 1-13.
- [21] Kerkel R, Ulvila J, Magga J. Natriuretic peptides in the regulation of cardiovascular physiology and metabolic events [J]. J Am Heart Assoc, 2015, 4(10): e002423.
- [22] Katan M, Moon YP, Paik MC, *et al.* Procalcitonin and midregional proatrial natriuretic peptide as markers of ischemic stroke: the northern manhattan study [J]. Stroke, 2016, 47(7): 1714-1719.

(2017-06-25 收稿, 2018-01-07 修回)