

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.021

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.021>

eNOS 基因 G894T 多态性与糖尿病肾病易感性的荟萃分析

胡玲, 王思思, 周乐汀, 孙铸兴

(南京医科大学附属无锡市人民医院肾内科, 江苏 无锡 214023)

[摘要] 目的: 系统评价内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)基因G894T多态性与糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)易感性之间的关系。方法: 全面检索建库以来至2019年6月与eNOS基因G894T多态性及DN易感性相关的文献, 通过纽卡斯尔渥太华(Newcastle-Ottawa Scale, NOS)标准对纳入文献进行质量评价。采用Stata 15.0进行统计学分析, 通过计算发病风险比值比(odds ratio, OR)及95%置信区间(confidence interval, CI)来评估eNOS基因G894T多态性与DN易感性之间的关系。结果: 共纳入29项病例对照研究, 包含实验组5 345例, 对照组4 827例。分析结果显示eNOS基因G894T多态性可显著增加DN发病风险[等位基因模型T vs G: OR=1.39(95%CI: 1.19~1.64), $P<0.001$; 纯合子模型TT vs GG: OR=1.34(95%CI: 1.02~1.77), $P=0.038$; 显性遗传模型TT+GT vs GG: OR=1.48(95%CI: 1.21~1.81), $P<0.001$; 隐性遗传模型TT vs GG+GT: OR=1.30(95%CI: 1.04~1.63), $P=0.022$; 杂合子模型TG vs GG: OR=1.43(95%CI: 1.17~1.75), $P=0.001$]。结论: eNOS基因G894T多态性可明显增加DN易感性。

[关键词] 内皮型一氧化氮合酶基因; G894T多态性; 糖尿病肾病; 易感性

Associations between eNOS gene G894T polymorphism and susceptibility to diabetic nephropathy: A Meta-analysis

HU Ling, WANG Sisi, ZHOU Leting, SUN Zhuxing

(Department of Nephrology, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi Jiangsu 214023, China)

Abstract **Objective:** To assess the relationship between endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene G894T polymorphism and the susceptibility to diabetic nephropathy (DN) via Meta-analysis. **Methods:** Articles related to eNOS gene G894T polymorphism and susceptibility to DN were comprehensively retrieved from the establishment of the database to June 2019, and the quality of the included articles was evaluated according to the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) standard. The STATA15.0 was used to evaluate the association between eNOS gene G894T polymorphism and the susceptibility to DN by calculating the incidence risk odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI). **Results:** A total of twenty-nine studies were eligible for the Meta-analysis, including 5 345 cases in the experimental group and 4 827 cases in the control group. The result showed that eNOS gene

收稿日期 (Date of reception): 2019-11-22

通信作者 (Corresponding author): 孙铸兴, Email: wuxisunzx@126.com

基金项目 (Foundation item): 无锡市卫生计生委科研项目 (Q201761). This work was supported by the Wuxi Health and Family Planning Commission Project, China (Q201761).

G894T polymorphism significantly increase the susceptibility to DN [allele model T vs G: OR=1.39 (95%CI: 1.19 to 1.64), $P<0.001$; homozygous model TT vs GG: OR=1.34 (95%CI: 1.02 to 1.77), $P=0.038$; dominant model TT+GT vs GG: OR=1.48 (95%CI: 1.21 to 1.81), $P<0.001$; recessive model TT vs GT+GG: OR=1.30 (95%CI: 1.04 to 1.61), $P=0.022$; heterozygote model GT vs GG: OR=1.43 (95%CI: 1.17 to 1.75), $P=0.001$]. **Conclusion:** The data suggests that the eNOS gene G894T polymorphism could increase the susceptibility to DN significantly.

Keywords eNOS gene; G894T polymorphism; diabetic nephropathy; susceptibility

DN是糖尿病最常见的微血管并发症之一,也是终末期肾病的主要病因^[1]。在肾脏中一氧化氮(nitric oxide, NO)可对肾血流动力学及肾小管重吸收功能进行调节,对维持肾结构和功能起重要作用。当生物体内NO合成受抑制或是NO浓度降低时,可引起肾血流量的减少,肾血流及供氧受到一定影响,从而引起肾损害^[2]。内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)是NO合成过程中的关键酶。人类eNOS基因位于第7号染色体,包含26个外显子及25个内含子,全长21 kb^[3]。G894T多态性是eNOS基因第7外显子中第894位碱基G突变为T,导致编码蛋白产物由谷氨酸变为天冬氨酸,蛋白质结构由螺旋型变成紧密圈型,从而影响eNOS活性及NO的生成,成为DN易感性的重要因素^[4]。

目前已有许多关于eNOS基因G894T多态性与DN发病风险的相关研究,但结果仍存在争议。本研究采用荟萃分析对已发表的相关研究进行整合分析,从而获得更可靠的循证医学证据。

1 资料与方法

1.1 文献检索策略

系统检索PubMed、Embase、Medline、中国知网、维普数据库、万方数据库、中国生物医学文献数据库等全文数据库,检索建库以来至2019年6月发表的相关中英文文献。英文数据库检索关键词主要包括: endothelial nitric oxide synthase、eNOS、NOS3、G894T、rs1799983、eNOS polymorphism及diabetic nephropathy、DN。中文数据库检索关键词主要包括eNOS、NOS3、G894T、rs1799983、eNOS基因多态性、内皮型一氧化氮合酶、基因多态性、糖尿病肾病、糖尿病相关肾脏疾病及DN,由主要检索词两两结合进行检索。

纳入标准: 1)纳入研究为病例对照研究; 2)研究对象为人类; 3)实验组为DN患者,对照组为糖尿病非肾病患者; 4)等位基因和基因型分布可在文献中获得; 5)文献语种为中文或英文。排除标

准: 1)文献中数据不完整,等位基因及基因型分布数据无法获得的; 2)无可用信息的文献; 3)重复发表的文献; 4)讲座或综述类文献。

1.2 数据提取与质量评价

由2名研究者独立完成文献筛选及资料提取,如出现意见不一致时通过讨论决定或由第3位研究者协助解决。提取资料包括作者信息、文献发表时间、样本量、样本地区、基因及基因型分布情况、基因检测方法等。应用NOS标准^[5]对纳入文献进行质量评价,该标准包含纳入人群的选择、群体可比性和暴露3个部分,总分为9。得分高于7被认为是高质量文献,得分4~7为中等质量文献。

1.3 统计学处理

采用Stata15.0软件进行分析,将实验组及对照组在等位基因模型(T vs G)、纯合子模型(TT vs GG)、显性遗传模型(TT+GT vs GG)、隐性遗传模型(TT vs GT+GG)、杂合子模型(GT vs GG)上进行比较,通过计算OR及95%CI评估G894T多态性与DN易感性的关系。采用Q检验进行异质性分析,若 $P>0.1$,提示研究之间异质性较小,采用固定效应模型进行分析,反之选用随机效应模型。通过Bgger's检验评估发表偏倚,若 $P>0.05$ 提示本研究不存在发表偏倚。

2 结果

2.1 文献检索结果

根据检索策略检出文献329篇,经过严格筛选最终纳入29篇文献^[6-34],详见文献筛选流程图(图1)。纳入文献均为病例对照研究(包括5 345例DN患者及4 827例糖尿病非肾病患者),其中英文文献17篇,中文文献12篇。纳入样本地区包括中国、印度、埃及、澳大利亚、瑞典、芬兰、埃及、日本、韩国、巴西、伊朗、突尼斯、沙特阿拉伯。纳入的文献通过NOS标准评分,评分在6~7之间,考虑纳入文献质量可靠(表1)。

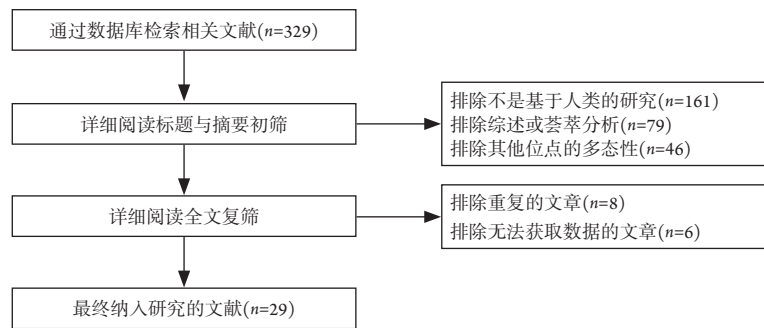


图1 文献筛选流程

Figure 1 Flowchart of the study selection process

表1 eNOS基因G894T多态性在实验组及对照组的分布

Table 1 Distribution of eNOS gene G894T polymorphism in the experimental group and the control group

第一作者	发表年份	地区/ 人种	糖尿病 类型	G894T基因多态性分布										HWE P	NOS 评分
				实验组					对照组						
				GG	GT	TT	G	T	GG	GT	TT	G	T		
Ahluwalia ^[6]	2008	南亚	2型	82	81	32	245	145	125	105	25	355	155	0.669	6
El-Din Bessa ^[7]	2011	非洲	2型	10	18	12	38	42	17	19	4	53	27	0.694	6
Cai ^[8]	1998	白种	2型	65	44	7	174	58	148	109	27	405	163	0.295	6
Cheema ^[9]	2013	南亚	2型	118	150	51	386	252	240	201	49	681	299	0.470	6
Ezzidi ^[10]	2007	非洲	2型	185	247	81	617	409	165	195	41	525	277	0.131	7
Huo ^[11]	2015	东亚	2型	373	54	4	800	62	315	92	13	722	118	0.057	6
Mollsten ^[12]	2006	白种	1型	492	365	89	1349	543	268	232	51	768	334	0.938	6
Mollsten ^[13]	2009	白种	1型	293	133	32	719	197	182	121	16	546	153	0.471	6
Mackawy ^[14]	2014	西亚	2型	15	15	10	45	35	16	17	7	49	38	0.508	6
Narne ^[15]	2014	南亚	2型	85	64	3	234	76	114	46	2	274	50	0.263	7
Rahimi ^[16]	2012	西亚	2型	68	45	13	185	71	39	17	7	95	31	0.030	6
Shoukry ^[17]	2012	南亚	2型	66	94	40	226	174	99	77	24	275	125	0.141	7
Santos ^[18]	2011	白种	2型	176	166	32	518	230	118	95	22	331	139	0.651	7
Shin ^[19]	2004	东亚	2型	95	23	0	213	23	52	7	0	111	7	0.628	7
Tamemoto ^[20]	2008	东亚	未及	104	18	2	226	22	181	27	3	389	33	0.130	7
Tiwari ^[21]	2009	南亚	2型	144	45	7	333	59	147	59	14	353	87	0.020	6
Moguio ^[22]	2017	非洲	2型	105	46	12	256	70	16	18	2	50	22	0.285	7
安新焕 ^[23]	2015	东亚	2型	58	15	13	131	41	110	26	9	246	44	<0.001	6
程洁 ^[24]	2016	东亚	2型	23	18	0	64	18	22	12	0	56	12	0.211	6
董砚虎 ^[25]	2005	东亚	2型	39	30	0	108	30	49	15	0	113	15	0.288	7
戴红双 ^[26]	2012	东亚	2型	31	29	0	91	29	44	16	0	104	16	0.233	6
付正菊 ^[27]	2007	东亚	2型	33	28	0	94	28	64	14	0	142	14	0.384	6
李长贵 ^[28]	2002	东亚	2型	44	34	1	122	36	49	15	0	113	15	0.288	7
李长贵 ^[29]	2004	东亚	2型	57	37	0	151	37	85	15	0	185	15	0.417	7
吕文山 ^[30]	2002	东亚	2型	44	34	1	122	36	49	15	0	113	15	0.228	6
吕淑云 ^[31]	2003	东亚	2型	27	18	0	72	18	42	10	0	94	10	0.443	7
马金荣 ^[32]	2006	东亚	2型	125	42	0	292	42	115	17	0	247	17	0.429	6
饶高峰 ^[33]	2012	东亚	2型	22	17	0	54	24	38	11	0	86	12	0.376	7
王谦 ^[34]	2005	东亚	2型	33	28	0	94	28	64	14	0	142	14	0.384	6

2.2 荟萃分析结果

*eNOS*基因G894T多态性在所有模型中, DN组与对照组相比均存在明显统计学差异: 等位基因模型(T vs G): OR=1.39(95%CI: 1.19~1.64), $P<0.001$; 纯合子模型(TT vs GG): OR=1.34(95%CI: 1.02~1.77), $P=0.038$; 显

性模型(TT+GT vs GG): OR=1.48(95%CI: 1.21~1.81), $P<0.001$; 隐性模型(TT vs GG+GT): OR=1.30(95%CI: 1.04~1.63), $P=0.022$; 杂合子模型(TG vs GG): OR=1.43(95%CI: 1.17~1.75), $P=0.001$ (表2)。以等位基因模型T vs G为例, 森林图如图2。

表2 *eNOS*基因G894T多态性与DN易感性的荟萃分析(根据不同地区及人种)

Table 2 The Meta-analysis results of the association between *eNOS* gene G894T polymorphism and susceptibility to diabetic nephropathy (according to different regions and races)

模型	分组	文献数量	I^2	P_Q	OR	95%可信区间	P
T vs G 等位基因模型	总体	29	78.3%	<0.001 (RE)	1.39	1.19~1.64	<0.001
	亚洲	22	77.1%	<0.001 (RE)	1.61	1.29~1.99	<0.001
	西亚	2	0.0%	0.690 (FE)	1.11	0.76~1.62	0.605
	南亚	5	75.6%	0.003 (RE)	1.35	1.03~1.77	0.027
	东亚	15	80.9%	<0.001 (RE)	1.89	1.31~2.73	0.001
	非洲	3	76.9%	0.013 (RE)	1.18	0.68~2.05	0.551
	白种	4	0.00%	0.695 (FE)	0.95	0.85~1.06	0.377
TT vs GG 纯合子模型	总体	29	53.1%	0.003 (RE)	1.34	1.02~1.77	0.038
	亚洲	22	50.6%	0.022 (RE)	1.46	0.97~2.21	0.068
	西亚	2	0.0%	0.652 (FE)	1.23	0.57~2.66	0.591
	南亚	5	53.7%	0.071 (RE)	1.73	1.08~2.76	0.022
	东亚	15	63.9%	0.026 (RE)	1.24	0.35~4.36	0.734
	非洲	3	31.0%	0.235 (FE)	1.86	1.25~2.76	0.002
	白种	4	0.00%	0.610 (FE)	0.96	0.73~1.25	0.744
TT+GT vs GG 显性模型	总体	29	79.0%	<0.001 (RE)	1.48	1.21~1.81	<0.001
	亚洲	22	76.5%	<0.001 (RE)	1.77	1.37~2.29	<0.001
	西亚	2	0.0%	0.691 (FE)	1.29	0.78~2.15	0.324
	南亚	5	72.6%	0.006 (RE)	1.43	1.03~1.99	0.033
	东亚	15	81.0%	<0.001 (RE)	2.08	1.38~3.14	0.000
	非洲	3	77.0%	0.013 (RE)	1.04	0.49~2.23	0.914
	白种	4	15.0%	0.317 (FE)	0.88	0.77~1.02	0.088
TT vs GT+GG 隐性模型	总体	29	37.1%	0.053 (RE)	1.30	1.04~1.63	0.022
	亚洲	22	34.7%	0.113 (FE)	1.45	1.15~1.82	0.002
	西亚	2	0.0%	0.472 (FE)	1.17	0.57~2.42	0.670
	南亚	5	29.7%	0.224 (FE)	1.58	1.21~2.07	0.001
	东亚	15	58.2%	0.048 (RE)	1.18	0.37~3.76	0.779
	非洲	3	0.00%	0.412 (FE)	1.77	1.22~2.55	0.003
	白种	4	0.0%	0.452 (FE)	1.00	0.78~1.30	0.978
TG vs GG 杂合子模型	总体	29	77.1%	<0.001 (RE)	1.43	1.17~1.75	0.001
	亚洲	22	73.5%	<0.001 (RE)	1.73	1.35~2.23	<0.001
	西亚	2	0.0%	0.436 (FE)	1.30	0.75~2.28	0.352
	南亚	5	61.5%	0.034 (RE)	1.37	1.02~1.84	0.035
	东亚	15	79.0%	<0.001 (RE)	2.04	1.37~3.04	<0.001
	非洲	3	73.3%	0.024 (RE)	0.88	0.42~1.85	0.743
	白种	4	43.8%	0.149 (FE)	0.87	0.75~1.01	0.067

RE: 随机效应模型; FE: 固定效应模型。

RE: Random effect model; FE: Fixed effect model.

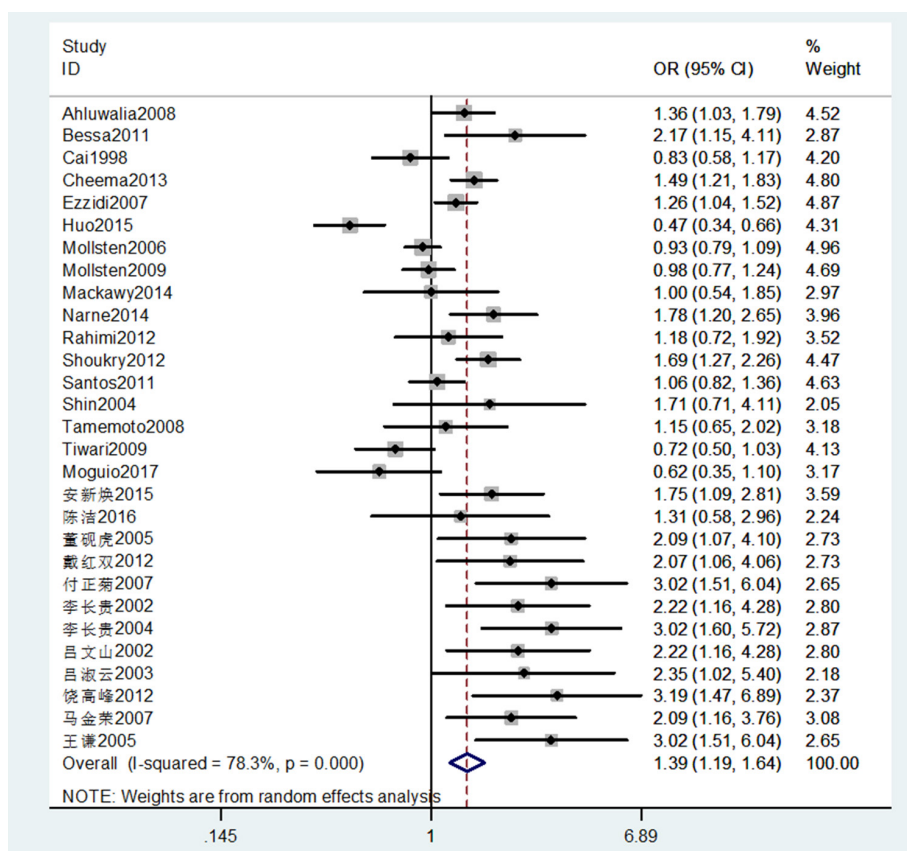


图2 eNOS G894T基因多态性与DN易感性的森林图(等位基因模型: T vs G)

Figure 2 Forest map of eNOS G894T gene polymorphism and susceptibility to DN (allele model: T vs G)

对地区进行亚组分析, 有22篇基于亚洲人群的研究, 结果发现除纯合子模型外, DN组与对照组在其他遗传模型上差异均存在统计学意义[等位基因模型(T vs G): OR=1.61(95%CI: 1.29~1.99), $P<0.001$; 显性模型(TT+GT vs GG): OR=1.77(95%CI: 1.37~2.29), $P<0.001$; 隐性模型(TT vs GG+GT): OR=1.45(95%CI: 1.15~1.82), $P=0.002$; 杂合子模型(TG vs GG): OR=1.73(95%CI: 1.35~2.23), $P<0.001$]。而在白种人群中, 未发现eNOS基因G894T多态性与DN易感性相关($P>0.05$)。共5篇文章研究地区为南亚, 结果显示eNOS基因G894T多态性可显著增加南亚地区人群罹患DN的风险[等位基因模型(T vs G): OR=1.35(95%CI: 1.03~1.77), $P=0.027$; 纯合子模型(TT vs GG): OR=1.73(95%CI: 1.08~2.76), $P=0.022$; 显性模型(TT+GT vs GG): OR=1.43(95%CI: 1.03~1.99), $P=0.033$; 隐性模型(TT vs GG+GT): OR=1.58(95%CI: 1.21~2.07), $P=0.001$; 杂合子模型(TG vs GG): OR=1.37(95%CI: 1.02~1.84), $P=0.035$; 表2]。

将糖尿病类型进行亚组分组, 分析结果显示eNOS基因G894T多态性能显著增加2型糖尿病患者中DN的易感性[等位基因模型(T vs G): OR=1.48(95%CI: 1.23~1.77), $P<0.001$; 纯合子模型(TT vs GG): OR=1.41(95%CI: 1.01~1.96), $P=0.042$; 显性模型(TT+GT vs GG): OR=1.60(95%CI: 1.28~1.99), $P<0.001$; 隐性模型(TT vs GG+GT): OR=1.33(95%CI: 1.01~1.75), $P=0.043$; 杂合子模型(TG vs GG): OR=1.55(95%CI: 1.24~1.92), $P<0.001$; 表3]。

2.3 敏感性分析及发表偏倚

本研究分别在5种遗传模型上进行敏感性分析。以等位基因模型T vs G为例, 逐一剔除每一项纳入研究后, 合并OR结果相似, 提示结论具有较强的稳定性, 不容易受相关因素影响(图3)。

通过Begger's检验进行分析, 结果显示在所有遗传模型中均 $P>0.05$, 提示该研究无明显的发表偏倚。

表3 eNOS基因G894T多态性与DN易感性的荟萃分析(根据糖尿病类型)

Table 3 Meta-analysis results of the association between eNOS gene G894T polymorphism and susceptibility to diabetic nephropathy (according to the types of diabetes mellitus)

模型	分组	文献数量	I ²	P _Q	OR	95%可信区间	P
T vs G	2型	26	77.8%	<0.001 (RE)	1.48	1.23~1.77	<0.001
等位基因模型	1型	2	0.00%	0.710 (FE)	0.94	0.82~1.08	0.382
TT vs GG	2型	26	54.8%	0.004 (RE)	1.41	1.01~1.96	0.042
纯合子模型	1型	2	0.00%	0.473 (FE)	1.02	0.74~1.41	0.897
TT+GT vs GG	2型	26	76.8%	<0.001 (RE)	1.60	1.28~1.99	<0.001
显性模型	1型	2	0.00%	0.398 (FE)	0.83	0.70~0.98	0.031
TT vs GT+GG	2型	26	42.4%	0.038 (RE)	1.33	1.01~1.75	0.043
隐性模型	1型	2	0.00%	0.360 (FE)	1.11	0.81~1.52	0.506
TG vs GG	2型	26	74.1%	<0.001 (RE)	1.55	1.24~1.92	<0.001
杂合子模型	1型	2	27.4%	0.241 (FE)	0.79	0.68~0.95	0.012

RE: 随机效应模型; FE: 固定效应模型。

RE: Random effect model; FE: Fixed effect model.

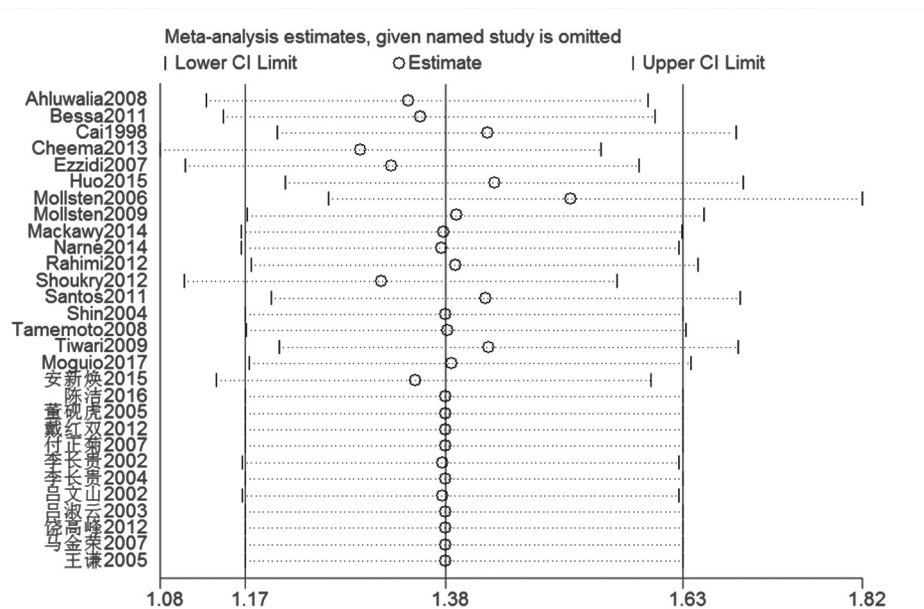


图3 通过移除每一项纳入研究获得的敏感性分析结果(等位基因模型: T vs G)

Figure 3 Sensitivity analysis results obtained by removing each inclusion study (allele model: T vs G)

3 讨论

内皮功能损伤在DN发生发展中起重要作用^[35], 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与NO偶联被称为VEGF-NO轴, 此轴对维持肾小球内皮细胞功能起积极作

用^[36]。VEGF-NO轴解偶联被认为是DN的重要发病机制^[37]。Nakagawa等^[38]用链脉佐菌素诱导野生型小鼠及eNOS基因敲除小鼠获得糖尿病模型, 发现eNOS基因敲除小鼠出现更严重的肾脏病理损害, 且临床表现为大量蛋白尿及肾功能减退, 并伴有肾VEGF表达显著升高。随后又有研究^[39]发现:

DN大鼠肾VEGF含量显著增加、NO含量明显减少,且DN病变程度与NO缺乏程度呈正相关,提示DN大鼠肾脏VEGF-NO轴功能存在异常。

既往研究^[40]证实eNOS基因的表达可从转录、信使核糖核酸(messenger ribonucleic acid, mRNA)稳定性以及蛋白磷酸化水平等3个层面进行调控。激烈运动、细胞内剪切力以及缺氧等均可在转录水平上调eNOS的表达水平^[40],而脂多糖和肿瘤坏死因子 α 则是通过破坏eNOS mRNA的稳定性下调eNOS基因表达^[40]。本研究发现G894T多态性在各遗传模型上均能够增加DN的易感性,其根本原因在于eNOS基因第7外显子中第894位碱基G突变为T,在蛋白质编码过程中天冬氨酸替代了谷氨酸,蛋白质结构的改变进而影响了eNOS活性,最终导致NO的生成量及生物活性下降,此过程与DN的发生发展密切相关。

2002年李长贵等^[28]研究发现:eNOS基因第7外显子T等位基因与DN的发生密切相关,若同时合并eNOS基因第4内含子 α 等位基因, DN发病风险更高。饶高峰等^[33]选择88例中国南方2型糖尿病为研究对象,根据尿微量白蛋白排泄率分为DN组及对照组,结果发现DN组GT基因型及T等位基因高于对照组。Ahluwalia等^[6]在印度2型糖尿病患者群中发现携带TT突变基因型更易罹患DN,其发病风险增高1.8倍。Rahimi等^[16]在伊朗人群中发现携带T等位基因合并存在血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)基因的D等位基因可显著增加DN的发生率。Mackawy等^[14]对沙特阿拉伯糖尿病人群研究发现G894T多态性与DN发病率之间无明显关联。同时陈洁等^[24]针对汉族人群的研究发现DN组、糖尿病非肾病组、正常对照组间等位基因及基因型分布均无明显差异。

eNOS基因G894T多态性与DN易感性之间的关系仍存在争议。2014年Dellamea等^[2]对G894T多态性与DN发病风险进行荟萃分析,纳入12例研究,结果发现DN与糖尿病非肾病组相比仅在等位基因模型、杂合子模型上差异具有统计学意义。2015年Zhang等^[41]也进行了相关研究,共纳入25篇文献,其中22篇以DN为实验组、糖尿病非肾病患者为对照组,结果发现两组间仅在等位基因模型、显性模型、杂合子模型上差异具有统计学意义。

为获得eNOS基因G894T多态性与DN易感性更为可靠、准确的关联性数据,本研究严格按照纳入及排除标准,纳入29篇文献,以DN为实验组、糖尿病非肾病患者为对照组,通过荟萃分析发现eNOS基因G894T多态性与DN易感性密切相关,携

带T等位基因较G等位基因更易罹患DN,其风险增高1.39倍;携带TT基因型的糖尿病患者发生DN风险是GG基因型的1.34倍;携带TT或TG基因型较携带GG基因型的患者而言DN的发生风险增高1.48倍;携带TT基因型与携带GG或TG基因型的糖尿病患者相比DN发病率增高1.30倍;携带TG基因型比GG基因型患者更易发展为DN。同时在南亚人群中得到了类似结论,但在白种人群中发现两者无明显关联。行业组分析发现G894T多态性可明显增加2型糖尿病患者发生DN的风险。以上结果提示eNOS基因G894T多态性可影响DN的易感性,且与地区及糖尿病类型密切相关。

回顾既往相关的荟萃分析^[2,41],与2014年Dellamea等^[2]发表的荟萃分析相比,两项研究均以DN为实验组、糖尿病非肾病患者为对照组,控制了最重要的混杂因素,使实验组及对照组更具有可比性,结果更具说服力;但是本研究纳入文献数量较前者显著增加,从12篇增加至29篇,最终得出的结论更可靠、准确;此外本研究还增加了对亚洲、西亚、南亚地区人群的亚组分析,发现G894T多态性可显著增加南亚人群罹患DN的风险,数据更加全面、详尽。而详细阅读2015年Zhang等^[41]发表的荟萃分析,以DN为实验组、糖尿病非肾病患者为对照组的纳入文献共22篇,本文进一步增加了纳入文献数量,实验组及对照组纳入样本数分别增加了853例和1 190例,极大扩充了实验样本数量,结果更为可信;另外本研究首次证实所有遗传模型上G894T多态性均可增加DN易感性,更突出G894T多态性对于DN发病的重要性,而既往研究可能因为研究样本数量不足或发表偏倚,仅在部分遗传模型上证实G894T多态性对DN发病存在影响;同时本研究还设置了亚洲、东亚、南亚、西亚、非洲、高加索人群的亚组分析,全面而深入地探索了G894T多态性在不同地区人群中与DN易感性的关系。本研究中总体人群在5种遗传模型中存在较大的异质性,将地区、糖尿病类型进行亚组分析后非洲、白种、1型糖尿病群体异质性明显降低,但亚洲及2型糖尿病人群异质性仍较高,提示异质性主要来源于不同人种、地区及糖尿病类型。敏感性分析中通过逐一剔除每一项研究后进行统计分析可得出类似结论,提示研究结果较稳定。采用Begger's检验进行发表偏倚分析,结果显示本研究无明显发表偏倚。

本研究仍存在一定的局限性:1)主要对已发表的文章进行分析,部分文献基本信息的详细数

据无法获得, 无法对一些因素进行深层次分析。2) 纳入文献研究样本的性别、年龄、对照组匹配条件等因素存在差异。对照组大多来源于医院对照, 存在一定的选择偏倚。3) DN的发病是由多个基因与环境共同决定的, 本研究仅研究eNOS基因G894T多态位点与DN的易感性, 未考虑基因与基因或基因与环境之间的相互作用对研究结果的影响。4) 亚组分析中, 涉及白种、1型糖尿病的研究较少。因此仍需开展大样本、多中心、不同地区、不同人群、不同糖尿病类型的高质量研究, 进一步明确eNOS基因G894T多态性与DN易感性之间的关系, 这对DN的筛查、早期诊断、治疗及预后方面具有重要意义。

参考文献

- Ilyas Z, Chaiban JT, Krikorian A. Novel insights into the pathophysiology and clinical aspects of diabetic nephropathy[J]. *Rev Endocr Metab Disor*, 2017, 18(1): 21-28.
- Dellamea BS, Pinto LC, Leitão CB, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and risk of diabetic nephropathy: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Med Genet*, 2014, 15: 9.
- Tsutsui M, Shimokawa H, Otsuji Y, et al. Nitric oxide synthases and cardiovascular diseases: insights from genetically modified mice[J]. *Circ J*, 2009, 73(6): 986-993.
- Wang CH, Li F, Hiller S, et al. A modest decrease in endothelial NOS in mice comparable to that associated with human NOS3 variants exacerbates diabetic nephropathy[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(5): 2070-2075.
- Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta analyses[J]. *Eur J Epidemiol*, 2010, 25(9): 603-605.
- Ahluwalia TS, Ahuja M, Rai TS, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes and diabetic nephropathy among Asian Indians[J]. *Mol Cell Biochem*, 2008, 314(1/2): 9-17.
- El-Din Bessa SS, Hamdy SM. Impact of nitric oxide synthase Glu298Asp polymorphism on the development of end-stage renal disease in type 2 diabetic Egyptian patients[J]. *Ren Fail*, 2011, 33(9): 878-884.
- Cai H, Wang X, Colagiuri S, et al. A common Glu298→Asp (894G→T) mutation at exon 7 of the endothelial nitric oxide synthase gene and vascular complications in type 2 diabetes[J]. *Diabetes Care*, 1998, 21(12): 2195-2196.
- Cheema BS, Kohli HS, Sharma R, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and renal responsiveness to RAS inhibition therapy in type 2 diabetic Asian Indians[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2013, 99(3): 335-342.
- Ezzidi I, Mtiraoui N, et al. Association of endothelial nitric oxide synthase Glu298Asp, 4b/a, and -786T>C gene variants with diabetic nephropathy[J]. *J Diabetes Complications*, 2008, 22(5): 331-338.
- Huo P, Zhang D, Guan X, et al. Association between genetic polymorphisms of ACE & eNOS and diabetic nephropathy[J]. *Mol Biol Rep*, 2015, 42(1): 27-33.
- Mollsten A, Wessman M, Svensson M, et al. Glu298Asp and NOS4b polymorphisms in diabetic nephropathy[J]. *Ann Med*, 2006, 38(7): 522-528.
- Mollsten A, Lajer M, Jorsal A, et al. The endothelial nitric oxide synthase gene and risk of diabetic nephropathy and development of cardiovascular disease in type 1 diabetes[J]. *Mol Genet Metab*, 2009, 97(1): 80-84.
- Mackawy AM, Khan AA, Badawy Mel-S, et al. Association of the endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism with the risk of diabetic nephropathy in Qassim region, Saudi Arabia-A pilot study[J]. *Meta Gene*, 2014, 2: 392-402.
- Narne P, Ponnaluri KC, Siraj M, et al. Polymorphisms in oxidative stress pathway genes and risk of diabetic nephropathy in South Indian type 2 diabetic patients[J]. *Nephrology*, 2014, 19(10): 623-629.
- Rahimi Z, Vaisi-Raygani A, Rahimi Z, et al. Concomitant presence of endothelial nitric oxide 894T and angiotensin II-converting enzyme D alleles are associated with diabetic nephropathy in a Kurdish population from Western Iran[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2012, 17(2): 175-181.
- Shoukry A, Shalaby AS, Abdelazim S, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the risk of diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2012, 16(6): 574-579.
- Santos KG, Crispim D, Canani LH, et al. Association of eNOS gene polymorphisms with renal disease in Caucasians with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 91(3): 353-362.
- Shin Y, Baek SH, Chang KY, et al. Relations between eNOS Glu298Asp polymorphism and progression of diabetic nephropathy[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2004, 65(3): 257-265.
- Tamemoto H, Ishikawa SE, Kawakami M. Association of the Glu298Asp polymorphism of the eNOS gene with ischemic heart disease in Japanese diabetic subjects[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2008, 80(2): 275-279.
- Tiwari AK, Prasad P, Thelma BK, et al. Oxidative stress pathway genes and chronic renal insufficiency in Asian Indians with Type 2 diabetes[J]. *J Diabetes Complications*, 2009, 23(2): 102-111.
- Moguib O, Raslan HM, Abdel Rasheed I, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene (T786C and G894T) polymorphisms in Egyptian patients with type 2 diabetes[J]. *J Genet Eng Biotechnol*, 2017, 15(2): 431.

23. 安新焕, 崔文龙, 宋滇平, 等. ACE和eNOS2个基因多态性并存与糖尿病肾病的相关性[J]. 昆明医科大学学报, 2015, 36(11): 12-16.
AN Xinhuan, CUI Wenlong, SONG Dianping, et al. The association of concomitant presence of endothelial nitric oxide synthase and angiotension converting enzyme polymorphism with diabetic kidney disease[J]. Journal of Kunming Medical University, 2015, 36(11): 12-16.
24. 程洁, 周宏久, 黄志清, 等. 汉族人群内皮细胞型一氧化氮合酶基因多态性与2型糖尿病肾病相关性[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2016, 30(1): 24-26.
CHENG Jie, ZHOU Hongjiu, HUANG Zhiqing, et al. Association of the polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene with type 2 diabetic nephropathy[J]. Journal of Chinese Practical Diagnosis and Therapy, 2016, 30(1): 24-26.
25. 董砚虎, 曲世平, 吕文山, 等. 染色体7q35区基因多态性与糖尿病肾病的易感性[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2005, 21(1): 47-50.
DONG Yanhu, QU Shiping, LV Wenshan, et al. Gene polymorphism in chromosome 7q35 and susceptibility to diabetic nephropathy[J]. Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism, 2005, 21(1): 47-50.
26. 戴红双, 张玉. MTHFR和eNOS基因多态性与糖尿病肾病的相关研究[J]. 中国伤残医学, 2012, 20(6): 4-6.
DAI Hongshuang, ZHANG Yu. An association study of MTHFR and eNOS genes polymorphism with diabetic nephropathy[J]. Chinese Journal of Trauma and Disability Medicine, 2012, 20(6): 4-6.
27. 付正菊, 李长贵, 汪中超, 等. 醛糖还原酶和内皮型一氧化氮合酶基因多态性并存与糖尿病肾病发病的相关性[J]. 中国组织工程研究与临床修复, 2007, 11(34): 6893-6896.
FU Zhengju, LI Changgui, WANG Zhongchao, et al. Coexistence of aldose reduction gene and endothelial nitric oxide synthase polymorphisms associates with diabetic nephropathy[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2007, 11(34): 6893-6896.
28. 李长贵, 董砚虎, 吕文山, 等. 内皮细胞型一氧化氮合酶基因多态性与糖尿病肾病的相关性研究[J]. 中华内科杂志, 2001, 40(11): 729-732.
LI Changgui, DONG Yanhu, LÜ Wenshan, et al. The association between polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene and diabetic nephropathy[J]. Chinese Journal of Internal Medicine, 2001, 40(11): 729-732.
29. 李长贵, 吕淑云, 綦玉琴, 等. eNOS基因第7外显子894G>T点突变与早期糖尿病肾病并高血压的关系[J]. 青岛大学医学院学报, 2004, 40(3): 200-202.
LI Changgui, LÜ Shuyun, QI Yuqin, et al. Association study of 894G>T mutation at exon 7 of endothelial nitric oxide synthase gene and diabetic nephropathy with hypertension[J]. Acta Academiae Medicinae Qingdao Universitatis, 2004, 40(3): 200-202.
30. 吕文山, 董砚虎, 王海燕, 等. 内皮细胞型NO合酶基因第7外显子894G>T点突变与糖尿病肾病相关性研究[J]. 中国糖尿病杂志, 2001, 10(2): 81-83.
LÜ Wenshan, DONG Yanhu, WANG Haiyan, et al. A study of the association between polymorphism of endothelial nitric oxide synthase gene and diabetic nephropathy[J]. Chinese Journal of Diabetes, 2001, 10(2): 81-83.
31. 吕淑云, 刑强强, 李长贵, 等. eNOS基因第7外显子894G>T多态与糖尿病肾病合并高血压的相关性研究[J]. 中国老年多器官疾病杂志, 2003, 2(4): 275-311.
LÜ Shuyun, XING Qiangqiang, LI Changgui, et al. Association between 894G>T polymorphism at exon 7 of endothelial nitric oxide synthase gene and diabetic nephropathy with or without hypertension[J]. Chinese Journal of Multiple Organ Diseases in the Elderly, 2003, 2(4): 275-311.
32. 马金荣, 于德民, 刘德敏. 内皮细胞固有型一氧化氮合酶基因G894T (G1u298Asp)变异与2型糖尿病微血管并发症的相关性[J]. 中国糖尿病杂志, 2007, 15(8): 471-473.
MA Jinrong, YU Demin, LIU Demin, et al. The relationship between the G894T mutation of the endothelial-constitutive nitric oxide synthase (ecNOS) and type 2 diabetic microangiopathies[J]. Chinese Journal of Diabetes, 2007, 15(8): 471-473.
33. 饶高峰, 陈恩福, 林海洋, 等. eNOS基因多态性与糖尿病肾病易感性相关关系[J]. 中国现代医生, 2012, 50(7): 49-50.
RAO Gaofeng, CHEN Enfu, LIN Haiyang, et al. The correlation of eNOS gene polymorphism and susceptibility to diabetic nephropathy[J]. China Modern Doctor, 2012, 50(7): 49-50.
34. 王谦, 肖争流, 胡斌, 等. eNOS基因第七外显子894G>T多态性与糖尿病肾病的相关性[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2005, 25(6): 424-426.
WANG Qian, XIAO Zhengliu, HU Bin, et al. Association between 894G>T polymorphism at 7 of endothelial nitric oxide synthase gene and diabetic nephropathy[J]. Acta Universitatis Medicinalis Nanjing. Natural Science, 2005, 25(6): 424-426.
35. Gilbert RE. The endothelium in diabetic nephropathy[J]. Curr Atheroscler Rep, 2014, 16(5): 410.
36. Liu X, Zang P, Han F, et al. Renal protective effects of induction of haem oxygenase-1 combined with increased adiponectin on the glomerular vascular endothelial growth factor-nitric oxide axis in obese rats[J]. Exp Physiol, 2015, 100(7): 865-876.
37. Nakagawa T. Is endothelial dysfunction more deleterious than podocyte injury in diabetic nephropathy? [J]. Kidney Int, 2013, 83(6): 1202-1203.
38. Nakagawa T, Sato W, Glushakova O, et al. Diabetic endothelial nitric oxide synthase knockout mice develop advanced diabetic

- nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2007, 18(2): 539-550.
39. Nakagawa T, Johnson RJ. Endothelial nitric oxide synthase[J]. Contrib Nephrol, 2011, 170: 93-101.
40. Chatterjee A, Black SM, Catravas JD. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation[J]. Vascul Pharmacol, 2008, 49 (4/516): 134-140.
41. Zhang Y, Xiao HQ, Zeng XT, et al. Associations between endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and risk of diabetic nephropathy: an updated meta-analysis[J]. Ren Fail, 2015, 37(10): 312-326.

本文引用: 胡玲, 王思思, 周乐汀, 孙铸兴. *eNOS*基因G894T多态性与糖尿病肾病易感性的荟萃分析[J]. 临床与病理杂志, 2021, 41(3): 623-632. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.021

Cite this article as: HU Ling, WANG Sisi, ZHOU Leting, SUN Zhuxing. Associations between *eNOS* gene G894T polymorphism and susceptibility to diabetic nephropathy: A Meta-analysis[J]. Journal of Clinical and Pathological Research, 2021, 41(3): 623-632. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2021.03.021