

C-反应蛋白及其基因多态性与缺血性脑卒中的研究进展

王平平¹ 罗玉敏¹ 高利¹ 谢雁鸣²

¹首都医科大学宣武医院, 北京 100053; ²中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 北京 100700

通信作者: 谢雁鸣, Email: datamining5288@163.com

【摘要】 C-反应蛋白(CRP)作为一种急性炎症标志物,在动脉粥样硬化、组织损伤、凝血和血栓形成过程中起重要作用,具有检测快速、简便、费用低廉和敏感度高的优点,是缺血性脑卒中研究中重要的生物标志物。但CRP特异性差、受多种因素影响的属性限制了其在临床的应用价值。而CRP基因多态性具有稳定的属性,两者结合可以更好地应用于缺血性脑卒中研究领域,对脑卒中的诊断、病情评价和预后监测起重要作用。现就近年来CRP及其基因多态性与缺血性脑卒中的研究情况进行概述。

【关键词】 缺血性脑卒中; C-反应蛋白; 基因多态性; 研究进展

基金项目: 首都卫生发展科研专项(首发2018-3-1031);北京市属医院科研培育计划(2018-PZ2018006);宣武医院临床课题(2017-XW2017010);首都医科大学重点实验室开放研究课题(2018)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2020.03.035

Research progress of C-reactive protein and its gene polymorphism on ischemic stroke Wang Pingping¹, Luo Yumin¹, Gao Li¹, Xie Yanming²

¹Xuanwu Hospital of Capital Medical University, Beijing 100053, China; ²Institute of Basic Research in Clinical Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

Corresponding author: Xie Yanming, Email: datamining5288@163.com

【Abstract】 As an acute inflammatory marker, C-reactive protein (CRP) plays an important role in the process of atherosclerosis, tissue damage, coagulation and thrombosis. It is rapid and simple, and has the advantages of low cost and high sensitivity. It is an important biomarker in ischemic stroke research. However, its poor specificity and properties influenced by many factors limit its clinical application. CRP gene polymorphism has stable properties. The combination of CRP and its gene polymorphism can better serve the field of ischemic stroke, and play an important role in the diagnosis, disease evaluation and prognosis monitoring of stroke. In this paper, researches on CRP and its genetic polymorphism on ischemic stroke studies in recent years are summarized.

【Key words】 Ischemic stroke; C-reactive protein; Gene polymorphism; Research progress

Fund program: Capital Medical Development Research Fund (2018-3-1031); Beijing Municipal Hospital Research and Cultivation Program (2018-PZ2018006); Xuanwu Hospital Academy Project (2017-XW2017010); Key Laboratory of Capital Medical University Open Research Project (2018)

DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2020.03.035

脑卒中是人类致死和致残的主要疾病之一,已成为全球性的公共卫生问题。我国脑卒中发生率居世界首位,多数患者为缺血性脑卒中(ICVD)^[1-2]。ICVD是多种因素共同作用的一种综合性疾病,研究显示,多种炎症因子在ICVD的发生发展过程中起到重要作用^[3]。C-反应蛋白(CRP)作为一种急性炎症标志物,在动脉粥样硬化、组织损伤、凝血和血栓形成的过程中起到重要作用,是脑卒中研究中一种重要的生物标志物,对脑卒中患者的诊断、病情评价和预后判断起重要作用,是目前国内外的研究热点之一^[4-5]。现将CRP及其基因多态性与ICVD的研究进展情况综述如下。

1 脑卒中中的流行病学研究现状

在我国脑血管疾病发病率高,2018年全球疾病负担研究(GBD)在*Lancet Neurology*杂志上发表的一项研究指出,在2016年新发的1370万例脑卒中患者中,中国占555万例,成为全球脑卒中发病人数最多的国家^[1,6]。2019年《新英格兰医学》杂志发表的一项基于世界脑卒中疾病的调查显示,26年来全球成年人25岁后的终生卒中风险上升了8.9%,中国人总体及男性终生脑卒中风险均居于首位^[7]。Wu等^[8]的研究表明,我国脑卒中发病率在过去20年呈现上升趋势,

现患人数居于世界首位,呈现北高南低、农村高于城市的特点,且由于我国人口老龄化程度持续加剧、高血压等危险因素控制欠佳、专业化脑卒中医疗资源地域和城乡分布不平衡等问题,使脑卒中的负担持续增高。

2 CRP及其基因多态性的相关性研究

2.1 CRP及其基因多态性的生物学性质:1930年Tillett等^[9]研究发现,大叶性肺炎患者血清中有一种物质在钙离子存在的条件下,能与肺炎链球菌的荚膜C多糖结合,形成一种沉淀物质,当时命名为C反应素。10年后Macleod等^[10]研究证实,C反应素是一种蛋白质成分,正式将这种蛋白质命名为CRP。González-Giraldo等^[11]研究发现,CRP属于穿透素蛋白家族成员,在肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL-1、IL-6)等炎症因子的刺激下主要由肝细胞合成,是一种非特异性炎症反应标志物,健康人血清中仅存在微量CRP。随着检测技术的提高,乳胶增强免疫散射比浊法及酶联免疫吸附试验(ELISA)可以更准确地检测出浓度更低的CRP,被称为超敏CRP(hs-CRP)。基因多态性又称为遗传多态性。单核苷酸基因多态性(SNP)作为目前研究显示的变异性最高的一种形式,约占90%。研究显示,CRP基因中

SNP与血清CRP水平有关,个体CRP水平受遗传因素的影响可达到22%~56%^[12]。CRP作为炎症反应过程中的敏感性指标,其血清水平个体间存在差异,且易受多种因素的影响,导致将CRP应用于预测ICVD受到限制。有研究表明,基因多态性与血清CRP水平有密切联系^[13-14]。对个体而言,由于SNP有更加稳定的属性,因此,可更好地为评价ICVD提供有价值的线索。

2.2 CRP与CRP基因多态性的关系:CRP参与了炎症、组织损伤、内皮损害、凝血和血栓形成等多方面的病理生理过程,具有检测快速、简便、费用低廉和敏感度高的优点,基因具有明显的地域、人种和性别差异,目前遗传因素即CRP基因多态性对血清CRP循环水平的影响尚未明确,国内外不同疾病、不同种族研究所选取的基因位点多样,即使针对某单一疾病选取的基因位点亦不同,未来仍需进行更多研究以获得循证医学证据。Williams等^[15]对维生素干预预防卒中试验(VISP)研究和Metastroke队列研究(12389例缺血性卒中和62004例对照者)进行基因组扫描,结果显示,CRP的SNP与循环CRP水平之间存在一定联系,其中与rs2592902的变异最为相关;结果还表明,AKR1D1位点、rs2589998变异与血清CRP水平有关。有研究在探讨CRP基因多态性与汉族大动脉粥样硬化脑卒中的研究中选取rs876537、rs2794520、rs3093059、rs7553007、rs11265260 5个位点,结果表明,rs2794520、rs3093059和rs11265260与急性ICVD升高的CRP显著相关^[16-17]。赵中焱等^[18]在ICVD患者与同期健康对照者的研究中检测CRP基因rs1130864、rs1205、rs2794521、rs3093059、rs876537 5个位点,结果表明,在健康人中rs1205、rs3093059、rs876537与CRP浓度有关。

3 CRP及其基因多态性与ICVD的研究

ICVD患者外周血中能检测到大量的生物标志物,这些标志物参与脑卒中的病理生理过程,为脑血管疾病的诊断和预后判断提供了有价值的线索。CRP是在脑卒中领域被广泛关注和研究的炎症因子,研究显示,CRP及其基因多态性与卒中的发病、预后、复发预测等密切相关^[19]。

3.1 CRP及其基因多态性与ICVD的发病有关:早在2001年,Stroke就发表了著名的弗雷明汉(Framingham)研究,为CRP血清水平预测脑血管缺血事件的发生奠定了基础。弗雷明汉研究纳入1980年至1982年健康体检者1462例,经12年~14年的随访,共196例健康体检志愿者发生了缺血性脑卒中或短暂性脑缺血发作(TIA),提示CRP水平是缺血性脑血管事件发生的独立预测因素^[20];同时提示,对健康人群进行CRP调控,可能对脑血管事件的一级预防有效^[21]。Shoamanesh等^[22]研究表明,CRP、TNF受体2(TNFR2)、同型半胱氨酸(Hcy)和血管内皮生长因子(VEGF)4种生物标志物水平升高可增加缺血性脑卒中的风险。一项来自中国的大样本研究通过对90517例健康人群进行为期中位时间49个月的随访发现,hs-CRP基础水平越高,发生脑卒中的风险越高,这一趋势在非致死性缺血性脑卒中、男性及高血压患者中更明显^[23]。赵中焱等^[18]选择378例缺血性脑卒中患者及同期613例健康志愿者进行的研究发现,血清CRP

每升高1倍,缺血性脑卒中的危险性就增加12%;CRP基因rs1130864与缺血性脑卒中的发病有关。Chang等^[24]对725例心房纤颤(AF)患者进行为期超过10年的纵向随访研究,这是目前已有的遗传数据最长和最大的AF随访队列,结果显示,CRP水平较高的AF患者发生血栓栓塞性脑卒中的可能性高于CRP较低者,携带A-390或T-390等位基因患者发生缺血性脑卒中的风险更高。

3.2 CRP及其基因多态性与缺血性脑卒中的预后有关:多项研究揭示,CRP及其基因多态性与缺血性脑卒中预后密切相关。Mittal等^[25]连续纳入188例缺血性脑卒中患者,随访19个月,结果显示,发热(体温>37.2℃)、低氧血症[脉搏血氧饱和度(SpO₂)<0.94]、白细胞计数(WBC)升高、美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分>15分、改良Rankin量表(mRS)评分>3分、格拉斯哥昏迷评分(GCS)<8分、高血糖(随机血糖>11.1mmol/L)、hs-CRP(>10mg/L)是预测缺血性脑卒中预后的独立危险因素。仇睿颖等^[26]对718例小动脉闭塞型脑卒中患者进行3个月的随访发现,hs-CRP升高是预后不良的独立危险因素,但该指标仅对<75岁的人群有预测作用,对≥75岁的人群中没有预测作用。

有研究表明,CRP基因rs3093059和rs11265260与汉族人群首次卒中3个月不良结局有关^[16-17]。日本进行的一项临床研究显示,CRP基因rs1800947的CC、GC变体是缺血性脑卒中的独立危险因素,rs1800947和C-C-C单倍型亦是缺血性脑卒中预后的遗传标志物^[27]。

3.3 CRP及其基因多态性可预测缺血性脑卒中复发:大量的证据表明,CRP及其基因多态性对预测缺血性脑卒中复发有一定价值。有研究对源自73个中心3044例患者进行hs-CRP的检测,并随访90d,结果显示,hs-CRP>3.0mg/L时,脑卒中的复发风险有所上升;同时缺血性脑卒中、复合血管事件、不良预后的风险亦增加;随访1年显示,hs-CRP高水平同样是预测复发性脑卒中的独立危险因素^[28]。

Williams等^[15]的研究确定了变异的3个基因位点rs3093068、rs16842599和rs11265260与复发性卒中及卒中亚型有关;小动脉病变与rs12068753有关,大动脉病变rs16842559有关。Arenillas等^[21]以首次发生脑缺血事件的患者为研究对象,检测血中CRP浓度和CRP基因C1444T SNP,随访23个月发现,CRP基线水平升高和CRP C1444T SNP中T等位基因的存在与复发性缺血事件风险增加有关。

3.4 CRP及其基因多态性在缺血性脑卒中研究中的争议:现有的生物学标志物在诸多研究中尚有争议,在临床实际应用中受到限制。研究显示,没有一种生物标志物能预测非致命性血管事件的风险^[29]。Segal等^[30]的研究表明,炎症生物标志物之间及细胞损伤和血栓形成亚群之间有中度相关性;与早期复发性脑卒中风险的相关性较弱,仅限于IL-6和CRP与早期复发性脑卒中显著相关,表明炎症、血栓形成和细胞损伤生物标志物对预测早期复发性脑卒中的价值有限。Liu等^[31]的一项Meta分析显示,未证实CRP基因-717A>G和-286C>T>A多态性与缺血性卒中发病有遗传易感性。

4 CRP 及其基因多态性与缺血性脑卒中关系研究的局限性

目前关于 CRP 及其基因多态性与缺血性脑卒中关系的研究尚存在以下几个问题:① CRP 及其基因多态性与多种疾病有关,诸多因素之间复杂的联系使研究结果的特异性和敏感性均降低,故其结论外延值得商榷。② 关于基因多态性的研究多集中于比较单个等位基因频率在患病群体和健康对照者间是否有差异,观察各种基因型在不同人群中分布的变化情况。而人体是一个复杂的系统,缺血性脑卒中为多基因、多因素共同作用的结果,单一基因变异的影响可能被其他因素掩盖,导致其研究结论缺乏说服力。③ 人类疾患相关基因多态性的作用机制尚未完全明确,其深层关系尚待进一步探讨。

5 启示与展望

CRP 水平测定是患者常规检测的一部分,具有简单易行、敏感性高、可操作性强的特性,但所受影响因素较多。多技术联用,采用基因组学技术寻找相对稳定的 CRP 基因表达谱,汲取国外先进的理念和技术,结合脑血管病流行病学、生理特点等差异,进行多中心、大样本生物标志物验证,建立适合我国人群特色的基因库,使研究结果更全面、精准、可靠,既可实现对健康人群的预测,又可对急性期缺血性脑卒中患者进行监测,将对生命科学产生积极推动作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] GBD 2016 Stroke Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke, 1990–2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016 [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18 (5): 439–458. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30034-1.
- [2] Brainin M. Stroke epidemiology in China: which are the next steps? [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18 (4): 325–326. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30023-7.
- [3] Piccardi B, Giraldo D, Bustamante A, et al. Blood markers of inflammation and endothelial dysfunction in cardioembolic stroke: systematic review and meta-analysis [J]. *Biomarkers*, 2017, 22 (3–4): 200–209. DOI: 10.1080/1354750X.2017.1286689.
- [4] 周伟君, 董建菁, 叶静, 等. 超敏 C-反应蛋白与脑血管疾病危险因素的相关性研究 [J]. *中华危重病急救医学*, 2007, 19 (6): 325–328. DOI: 10.3760/j.issn.1003-0603.2007.06.003.
- [5] Zhou WJ, Tong JJ, Ye J, et al. Clinical study on the correlation between high sensitivity C-reactive protein and risk factors in cerebral vessel disease [J]. *Chin Crit Care Med*, 2007, 19 (6): 325–328. DOI: 10.3760/j.issn.1003-0603.2007.06.003.
- [6] 曹仕健, 刘妮, 黄为, 等. 黄芩抗栓胶囊对急性脑梗死患者炎症因子的影响 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2017, 24 (3): 246–248. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.03.006.
- [7] Cao SJ, Liu N, Huang W, et al. Effect of Huangxiong Kangshuan capsule on inflammatory factors in patients with acute cerebral infarction [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 2017, 24 (3): 246–248. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2017.03.006.
- [8] Gorelick PB. The global burden of stroke: persistent and disabling [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18 (5): 417–418. DOI: 10.1016/S1474-4422(19)30030-4.
- [9] GBD 2016 Lifetime Risk of Stroke Collaborators, Feigin VL, Nguyen G, et al. Global, Regional, and Country-Specific Lifetime Risks of Stroke, 1990 and 2016 [J]. *N Engl J Med*, 2018, 379 (25): 2429–2437. DOI: 10.1056/NEJMoa1804492.
- [10] Wu S, Wu B, Liu M, et al. Stroke in China: advances and challenges in epidemiology, prevention, and management [J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18 (4): 394–405. DOI: 10.1016/S1474-4422(18)30500-3.
- [11] Tillett WS, Francis T. Serological reactions in pneumonia with a non-protein somatic fraction of pneumococcus [J]. *J Exp Med*, 1930, 52 (4): 561–571. DOI: 10.1084/jem.52.4.561.
- [12] Macleod CM, Avery OT. The occurrence during acute infections of a protein not normally present in the blood: II. isolation and properties of the reactive protein [J]. *J Exp Med*, 1941, 73 (2): 183–190. DOI: 10.1084/jem.73.2.183.
- [13] González-Giraldo Y, Barreto GE, Fava C, et al. Ischemic stroke and six genetic variants in CRP, EPHX2, FGA, and NOTCH3 genes: a Meta-analysis [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2016, 25 (9): 2284–2289. DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.05.020.
- [14] Kathiresan S, Larson MG, Vasan RS, et al. Contribution of clinical correlates and 13 C-reactive protein gene polymorphisms to interindividual variability in serum C-reactive protein level [J]. *Circulation*, 2006, 113 (11): 1415–1423. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.591271.
- [15] Liu ZY, Wang ZD, Li LZ, et al. Association of CRP gene polymorphisms with CRP levels, frailty and co-morbidity in an elderly Chinese population: results from RuLAS [J]. *Age Ageing*, 2016, 45 (3): 360–365. DOI: 10.1093/ageing/afw041.
- [16] Miller MW, Maniates H, Wolf EJ, et al. CRP polymorphisms and DNA methylation of the AIM2 gene influence associations between trauma exposure, PTSD, and C-reactive protein [J]. *Brain Behav Immun*, 2018, 67: 194–202. DOI: 10.1016/j.bbi.2017.08.022.
- [17] Williams SR, Hsu FC, Keene KL, et al. Shared genetic susceptibility of vascular-related biomarkers with ischemic and recurrent stroke [J]. *Neurology*, 2016, 86 (4): 351–359. DOI: 10.1212/WNL.0000000000002319.
- [18] Ye Z, Zhang H, Sun L, et al. GWAS-supported CRP gene polymorphisms and functional outcome of large artery atherosclerotic stroke in Han Chinese [J]. *Neuromolecular Med*, 2018, 20 (2): 225–232. DOI: 10.1007/s12017-018-8485-y.
- [19] 叶祖森. C-反应蛋白血清水平及基因多态性与大动脉粥样硬化型脑梗死预后相关性研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2017.
- [20] Ye ZS. The relationship between serum level and gene polymorphism of C-reactive protein and prognosis of large atherosclerotic cerebral infarction [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2017.
- [21] 赵中焱, 刘迪, 孙琦, 等. CRP 基因多态性与缺血性脑卒中和血清 CRP 的关联研究 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2018, 10 (7): 810–812. DOI: CNKI:SUN:PZXX.0.2018-07-011.
- [22] Zhao ZY, Liu D, Sun Q, et al. The association between human CRP gene polymorphism and ischemic stroke (IS) and plasma CRP levels [J]. *Chin J Evidence-based Cardiovasc Med*, 2018, 10 (7): 810–812. DOI: CNKI:SUN:PZXX.0.2018-07-011.
- [23] Zhou Y, Han W, Gong D, et al. Hs-CRP in stroke: A meta-analysis [J]. *Clin Chim Acta*, 2016, 453: 21–27. DOI: 10.1016/j.cca.2015.11.027.
- [24] Rost NS, Wolf PA, Kase CS, et al. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study [J]. *Stroke*, 2001, 32 (11): 2575–2579. DOI: 10.1161/hs1101.098151.
- [25] Arenillas JF, Massot A, Alvarez-Sabín J, et al. C-reactive protein gene C1444T polymorphism and risk of recurrent ischemic events in patients with symptomatic intracranial atherosclerotic stenosis [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2009, 28 (1): 95–102. DOI: 10.1159/000222660.
- [26] Shoamanesh A, Preis SR, Beiser AS, et al. Circulating biomarkers and incident ischemic stroke in the Framingham Offspring Study [J]. *Neurology*, 2016, 87 (12): 1206–1211. DOI: 10.1212/WNL.0000000000003115.
- [27] Liu Y, Wang J, Zhang L, et al. Relationship between C-reactive protein and stroke: a large prospective community based study [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (9): e107017. DOI: 10.1371/journal.pone.0107017.
- [28] Chang SN, Lai LP, Chiang FT, et al. C-reactive protein gene polymorphism predicts the risk of thromboembolic stroke in patients with atrial fibrillation: a more than 10-year prospective follow-up study [J]. *J Thromb Haemost*, 2017, 15 (8): 1541–1546. DOI: 10.1111/jth.13735.
- [29] Mittal SH, Goel D. Mortality in ischemic stroke score: A predictive score of mortality for acute ischemic stroke [J]. *Brain Circ*, 2017, 3 (1): 29–34. DOI: 10.4103/2394-8108.203256.
- [30] 仇睿颖. HS-CRP 水平与小动脉闭塞型卒中结局的相关性研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2018.
- [31] Qiu RY. Association between hs-CRP levels and the outcomes of patients with small-artery occlusion [D]. Tianjin: Tianjin Medical University, 2018.
- [32] Morita A, Nakayama T, Soma M. Association study between C-reactive protein genes and ischemic stroke in Japanese subjects [J]. *Am J Hypertens*, 2006, 19 (6): 593–600. DOI: 10.1016/j.amjhyper.2005.11.015.
- [33] Li J, Zhao X, Meng X, et al. High-sensitive C-reactive protein predicts recurrent stroke and poor functional outcome: subanalysis of the clopidogrel in high-risk patients with acute nondisabling cerebrovascular events trial [J]. *Stroke*, 2016, 47 (8): 2025–2030. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.012901.
- [34] Greisenegger S, Segal HC, Burgess AI, et al. Biomarkers and mortality after transient ischemic attack and minor ischemic stroke: population-based study [J]. *Stroke*, 2015, 46 (3): 659–666. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.007624.
- [35] Segal HC, Burgess AI, Poole DL, et al. Population-based study of blood biomarkers in prediction of subacute recurrent stroke [J]. *Stroke*, 2014, 45 (10): 2912–2917. DOI: 10.1161/STROKEAHA.114.005592.
- [36] Liu Y, Geng PL, Yan FQ, et al. C-reactive protein -717A>G and -286C>T>A gene polymorphism and ischemic stroke [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2015, 128 (12): 1666–1670. DOI: 10.4103/0366-6999.158371.

(收稿日期: 2019-05-23)