

# 冠心病患者血管紧张素转换酶基因多态性及其与血清血管紧张素转换酶水平的关系

谈红 张国元<sup>①</sup> 尤乃祯 黄超<sup>②</sup> 刘建平

(济南军区总医院内科, 济南 250031)

## Gene Polymorphism Analysis of ACE in Patients with Coronary Heart Disease and the Relation of the Genotypes to ACE Serum Level

TAN Hong, ZHANG Guo-Yuan<sup>①</sup>, YOU Nai-Zhen, HUANG Chao<sup>②</sup> and LIU Jian-Ping

(Department of Cardiology, General Hospital of Jinan Army, Jinan 250031, China)

### ABSTRACT

**Aim** To determine angiotensin converting enzyme (ACE) gene insertion/deletion (I/D) polymorphism in patients with coronary heart disease (CHD) and its relation with serum ACE levels.

**Methods** ACE genotypes of 61 patients with CHD and 63 healthy people were detected by PCR, and their serum ACE levels were concomitantly measured by microcolorimetric assay.

**Results** The frequency of DD genotype in patients with CHD was significantly higher than that in control group and patients with DD genotype have higher serum ACE levels.

**Conclusion** ACE gene polymorphism is closely related to serum ACE level and DD genotype of ACE gene may be the independent risk factor of coronary heart disease in Chinese.

**KEY WORDS** Angiotensin-converting enzyme; Gene polymorphism; Coronary heart disease

**摘要** 为研究冠心病患者血管紧张素转换酶(ACE)基因插入/缺失(I/D)多态性分布及其与血清ACE水平的相关性,应用多聚酶链反应方法测定了61例冠心病患者和63例健康人群的ACE基因I/D多态性,并采用微量比色法测定其血清ACE水平。结果发现,冠心病患者ACE基因DD型出现频率显著高于对照组,且DD基因型者具有较高的血清ACE水平。提示ACE基因I/D多态性与血清ACE水平密切相关,DD型ACE基因可能是中国人冠心病发病的独立危险因子。

**关键词** 血管紧张素转换酶; 基因多态性; 冠心病

血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)在肾素—血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)中具有重要作用,可促使血管紧张素Ⅱ的产生和醛固酮的降解,从而通过调节血管张力和平滑肌细胞增殖来参与冠心病的发病过程。近年研究发现人类ACE基因第16内含子中一段长度为287 bp的插入片段<sup>[1]</sup>,造成ACE基因的插入/缺失(insertion/deletion, I/D)多态性。我们对经冠状动脉造影证实的冠心病患者的ACE基因多态性分布及其与血清ACE水平的相关性进行了研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究对象

**1.1.1 实验组** 冠状动脉粥样硬化性心脏病患者来自1996年1月~1996年12月间上海长征医院和济南军区总医院的住院患者,共61例,均经冠状动脉造影证实患者存在单支、双支或双支以上冠状动脉病变,狭窄程度≥50%。

**1.1.2 对照组** 63名健康个体来自上海长征医院1996年10月门诊体检者。心电图、胸部X线片及腹部

①上海长征医院心内科, 上海 200003

②上海长征医院临床免疫中心, 上海 200003

B超检查均无异常。

同时检测两组人群的年龄、体重指数、收缩压、舒张压、总胆固醇、高密度脂蛋白和空腹血糖等指标,并调查其吸烟史和其他病史。以上各因素除年龄外,实验组与对照组相比较均无统计学差异,排除了这些因素对ACE基因多态性的影响,两组具有可比性。

1.2 血清血管紧张素转换酶测定

取外周静脉血,2 000 r/min 离心 10 min,分离血清,-70℃保存,3 月内检测。ACE 测定采用微量比色测定法<sup>[2]</sup>。以马尿酸甘氨酸为底物,反应产物马尿酸经对二甲氨基苯甲醛(DAB)-吡啶溶液显色后,在 458 nm 处进行比色。1 个 ACE 活性单位定义为在 37℃下,每分钟每毫升血清酶反应产生 1 nmol 马尿酸。

$$ACE(u) = \frac{(A_T - A_B) \times 76.62}{A_S}$$

$A_T$ 、 $A_B$  和  $A_S$  分别为测定管、空白管及标准管在 458 nm 处光密度值(OD)。

1.3 血管紧张素转换酶基因 I/D 多态性检测

以蛋白酶 K 方法抽提外周血白细胞染色体 DNA。参照 Rigat<sup>[1]</sup>设计一对引物,上游引物为 5'-CTGGA-GACCACTCCCATCCTTTCT-3',下游引物为 5'-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-5',扩增反应在 PE9600 PCR 扩增仪中进行。98℃预变性 5 min,DNA 扩增 35 个循环,设置 93℃变性 30 s,66℃退火和延伸 1 min,以 PCR Marker 作为参照进行多态性分析。反应产物为 190 bp 长的缺失片段(D 等位基因)及 490 bp 长的插入片段(I 等位基因),产生 DD、DI 及 II 三种基因型。

1.4 统计学处理

冠心病组与对照组之间 ACE 基因 I/D 多态性分布比较采用 R×C 表双向无序  $\chi^2$  检验,各基因型间 ACE 活性比较采用方差分析。

2 结果

2.1 血管紧张素转换酶基因 I/D 多态性分布的比较

由附表(Table)及图 1 和图 2(Figure 1,2)中可以看出,冠心病患者 ACE 基因 DD 基因型出现频率明显增高,与对照组比较有显著差异( $P<0.01$ )。冠心病组 27 例单支病变患者中,DD 基因型占 48.1%,34 例双支或双支以上病变患者中,DD 基因型占 44.1%,两者比较无明显差异。

2.2 血管紧张素转换酶基因型与其血清水平的相关性

健康人群和冠心病患者中三种基因型血清 ACE 水平比较见图 3(Figure 3)。经完全随机设计资料的方差分析,三种基因型患者的血清 ACE 水平之间有显著差异,其差异主要由 DD 型与 DI、II 型之间的差异所造成。血清 ACE 水平 DD 型者最高,DI 型者次之,II 型者最低。在健康人群中,基因型的不同所造成的血清 ACE 活性差值为 42 u,占总体 ACE 活性均值的 55%,因此,ACE 基因 I/D 多态性可解释 55% 的血清 ACE 总变异。

Table. ACE gene I/D polymorphism distribution in CHD and control group.

Groups	n	DD(%)	II(%)	DI(%)
Control	63	13(20.6)	21(33.3)	29(46.0)
CHD	61	28(45.9)*	11(18.0)*	22(36.1)*
Single vessel	27	13(48.1)	5(18.5)	9(33.3)
Multiple vessels	34	15(44.1)	6(17.6)	13(38.2)

a:  $P<0.01$ , compared with control group.

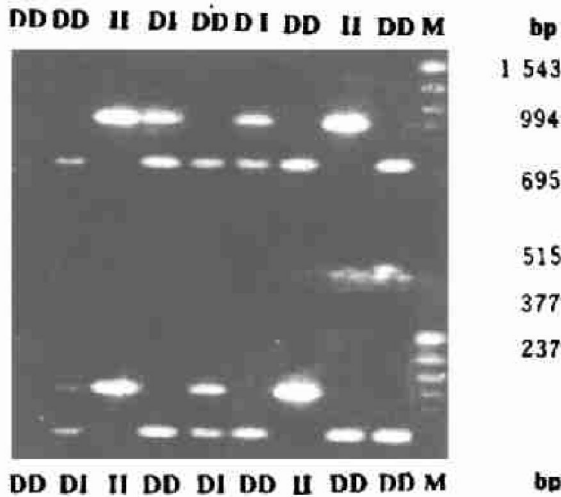


Figure 1. ACE genotypes in CHD group.

3 讨论

冠心病作为发达国家首位致死病因,其发病有明显的家族性,但除遗传性脂质代谢异常可引起冠状动脉粥样硬化外,导致冠心病的其它发病机制尚知之甚少。ACE 基因是心血管疾病的候选基因,为冠心病的研究提供了一个新

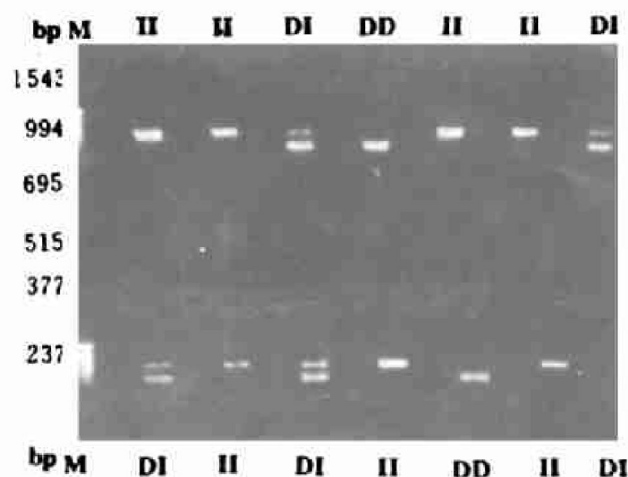


Figure 2. ACE genotypes in control group.

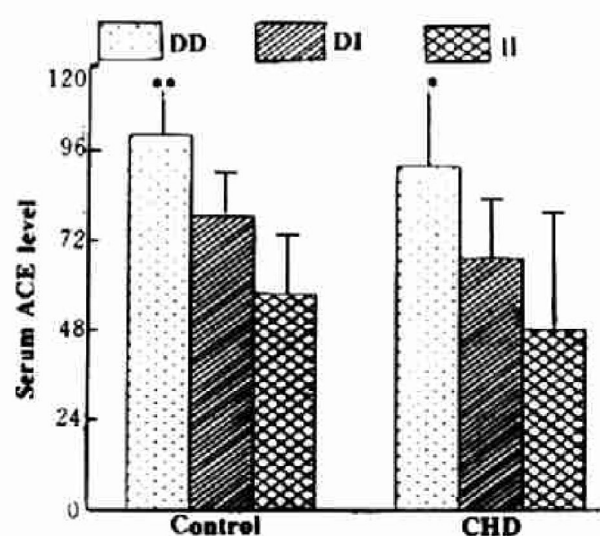


Figure 3. Serum ACE levels in three kind of ACE genotypes. \*:  $P < 0.001$ , \*\*:  $P < 0.01$ , compared with DI and II genotype.

思路。近年来国外许多研究表明白种人中 ACE 基因 D 等位基因与冠心病密切相关<sup>[4-6]</sup>,在低危人群中其相关性更为密切,为冠心病发病的独立危险因素。

我们调查的冠心病患者全部为无血缘关系的汉族人,大部分籍贯为上海地区,少数来自山东江浙等地,并全部经冠状动脉造影证实有冠状动脉病变。冠心病组与对照组之间除年龄外,其它与冠心病发病有关的因素均未见明显差异,而基因型对具体个体来讲是稳定的,不会随年龄的改变而发生变化,排除了对 ACE 基因多态性影响的可能。本实验研究结果提示在中国人群中,冠心病人群和健康人群的 ACE 基因 I/D 多态性分布有显著差异,DD 型基因与冠心病

密切相关,是冠心病发病的危险因子,但似乎与冠状动脉狭窄程度无关。

我们还发现,ACE 基因 I/D 多态性与无血缘个体间血清 ACE 水平的差异有关,DD 型者血清 ACE 水平最高,II 型者最低,基因多态性可解释 55% 的血清 ACE 总变异。由此推论,ACE 基因多态性可能通过影响 ACE 水平而导致冠心病的发病。ACE 可使血管紧张素 I 转变为血管紧张素 II,血管紧张素 II 是一种强效血管收缩剂,并可刺激肾上腺皮质球状带细胞分泌醛固酮,导致水钠储留。另外,ACE 还与缓激肽的降解有关,从而通过促进血管平滑肌细胞增殖,过多细胞间质堆积及急性慢性血管痉挛等多个环节,加速冠状动脉粥样硬化进程。上述发现为临床上对冠心病患者 ACE 抑制剂的应用提供了一个新依据,对提高冠心病的诊断、治疗和预防水平可能具有意义。

#### 参考文献

- Hubert C, Houot AM, Corvol P, et al. Structure of the angiotensin 1-converting enzyme gene. *J Bio Chem*, 1991, 266(23): 15 377~383.
- 李少华, 吴中立. 血清血管紧张素转化酶的微量比色测定法. 第二军医大学学报, 1986, 7(6): 437~440.
- Rigat B, Hubert C, Corvol P, et al. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin-converting enzyme gene. *Nucl Acids Res*, 1992, 20(6): 1 433.
- Nakai K, Itoh C, Miura Y, et al. Deletion polymorphism of the angiotensin 1 converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese. *Circulation*, 1994, 90(5): 2 199~202.
- Mattu PK, Needham EWA, Galton DJ, et al. A DNA variant at the angiotensin converting enzyme gene locus as sociates with coronary artery disease in the carefully heart study. *Circulation*, 1995, 91(2): 270~274.
- Wang XL, Mc Credie RM, Wilcken DEL. Genotype distribution of angiotensin-converting enzyme polymorphism in Australian healthy and coronary populations and relevance to myocardial infarction and coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, 16(1): 115~119.

(1997-12-03 收到, 1998-05-12 修回)