

[文章编号] 1007-3949(2002)10-05-0431-03

•临床研究•

血管紧张素转换酶基因多态性与 高血压微量蛋白尿的关系

毛建华¹, 徐岩¹, 王道霞², 陆俊钢²

(1. 安徽医科大学临床心血管病研究所, 安徽省合肥市 230022; 2. 安徽省马钢医院, 安徽省马鞍山市 243000)

[关键词] 高血压; 血管紧张素转换酶; 基因; 蛋白尿, 微量

[摘要] 为研究血管紧张素转换酶基因插入/缺失(I/D)多态性与高血压微量蛋白尿的关系,应用聚合酶链反应方法扩增 50 例正常人、50 例高血压伴有微量蛋白尿患者和 49 例高血压不伴有微量蛋白尿患者的白细胞血管紧张素转换酶基因上 287 bp 片段,根据插入(I)或/缺失(D)来判断其多态性。用放射免疫法测定所有对象的尿微量白蛋白。结果发现,微量蛋白尿组与健康对照组相比,其 D 等位基因及 DD 基因型显著升高。微量蛋白尿组与单纯高血压组相比,其 D 等位基因及 DD 基因型显著升高。单纯高血压组与健康对照组相比,血管紧张素转换酶基因型和等位基因频率无显著性差异。以上提示,血管紧张素转换酶基因多态性与高血压微量蛋白尿有关联性,DD 基因型可能与高血压早期肾脏损害有关。

[文献标识码] R544.1

[中图分类号] A

The Relationship between Angiotensin-Converting Enzyme Gene Polymorphism and Microalbuminuria in Patients with Essential Hypertension

MAO Jianhua¹, XU Yan¹, WANG Daoxia², and LU Jun-gang²

(1. Cardiovascular Diseases Institute, Anhui Medical University, Hefei 230022; 2. Magang Hospital 243000, China)

[MeSH] Hypertension; Angiotensin Converting Enzyme; Genes; Microalbuminuria

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between angiotensin converting enzyme (ACE) gene polymorphism and microalbuminuria in patients with essential hypertension. **Methods** Polymerase chain reaction (PCR) was used to determine the genotypes for an insertion/deletion polymorphism of the ACE gene in 50 hypertensive patients with microalbuminuria and 49 hypertensive patients without microalbuminuria and 50 healthy controls. Urine MAlb concentrations were determined by radioimmunoassay. **Results** There was significant difference in the frequencies of D allele and DD genotype between hypertensive patients with microalbuminuria and healthy controls. The frequencies of D allele and DD genotype was higher in hypertensive patients with microalbuminuria and lower in those without microalbuminuria. However, ACE I/D polymorphism did not differ in hypertensive patients with normicroalbuminuria and healthy controls. **Conclusion** ACE gene polymorphism was closely related with hypertensive microalbuminuria. DD genotype was possibly involved in the renal injury in patients with hypertension.

原发性高血压(essential hypertension, EH)肾脏损害是 EH 的三大合并症之一。微量蛋白尿尤其是微量白蛋白尿(microalbuminuria, MCA)可视为 EH 的早期肾脏损害^[1],特别是对肾小球损害有早期诊断价值^[2]。在 EH 早期肾脏损害的发生中,肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin system, RAS)起着重要的作用,血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)是 RAS 的关键酶,人类血浆 ACE 水平受控于 ACE 基因。近年来,众多的研究显示 ACE 基因多态性与血浆 ACE 水平密切相关^[3],且与多种心脑血管疾病有关联。本研究应用聚合酶链

反应(polymerase chain reaction, PCR)方法扩增 50 例正常人、50 例高血压伴有微量蛋白尿患者和 49 例高血压不伴有微量蛋白尿患者的 ACE 基因上 287 bp 片段,根据 ACE 基因多态性来探讨其与高血压微量蛋白尿的关联性。

1 对象及方法

1.1 对象

选择我院住院和门诊高血压患者 99 例,均符合 WHO 高血压诊断标准,入选标准为:3 次非同日血压均为收缩压(SBP) ≥ 140 mm Hg(1 mm Hg= 0.133 kPa),或舒张压(DBP) ≥ 90 mm Hg,体格检查和实验室检查排除继发性高血压、内分泌系统疾病和高血压心、脑并发症,化验血肌酐和尿素氮在正常范围。按尿微量白蛋白排泄率将其分为 2 组:一组尿微量

[收稿日期] 2002-06-13 [修回日期] 2002-09-20

[作者简介] 毛建华,男,1960 年出生,汉族,副主任医师,安徽医科大学临床心血管病研究所硕士研究生,现在安徽省马钢医院心内科工作,研究方向为高血压病。

白蛋白排泄率正常(简称单纯高血压组),共49例,其中男31例,女18例,年龄28~75岁;另一组尿微量白蛋白排泄率异常(简称微量蛋白尿组),共50例,其中男30例,女20例,年龄35~78岁。正常健康对照组50例,为定期体检的科技人员和同期门诊体检健康人群,其中男33例,女17例,年龄22~71岁,排除高血压、糖尿病和冠心病等器质性疾病。

1.2 血压检测

患者坐位休息15 min,然后采用标准汞柱式血压计,充气后以每秒下降2 mm Hg的速度缓慢放气来测量收缩压(SBP)和舒张压(DBP),舒张压以Korotkoff第5音消失为准,连续测量3次,每次间隔2 min,取平均值。

1.3 尿微量白蛋白测定

尿微量白蛋白测定先查尿8项,蛋白阴性者则采用放射免疫法,所有受试者晨起第1次尿液混匀后取3 mL放入干试管内,置-20℃冰箱待查,每个对象查2次不同天尿液,取均值。药盒由北京中国原子能研究院提供,用上海核福光电仪器有限公司的SN-682型放射免疫γ计数器检测,Alb>15 mg/L为阳性^[4]。

1.4 血管紧张素转换酶基因上插入或缺失多态性的检测

所有对象采外周静脉血2 mL,柠檬酸钠抗凝,采用上海皓嘉科技发展有限公司提供的日本TaKaRa公司生产单管PCR试剂盒(Single-Tube PCR Kit)和PCR引物,引物序列为正引物:5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3',负引物:5'-GAT GTG GCC

ATC ACA TTC GTC AGA T-3',用美国MJ Research INC公司PTC200 DNA扩增仪进行扩增。将柠檬酸钠抗凝的全血10 μL加入含有基因Trap液(WB)100 μL的单管PCR试剂盒中,旋转数秒,室温放置10 min以上,WB在破坏血细胞的同时,与核酸形成电中性的复合物,沉淀回收此复合物,再向清洗后的沉淀中加入2倍的PCR液和引物,放入PCR扩增仪中,初期变性为94℃,20 min,继之进行30个循环,每个循环变性94℃,0.5 min;退火55℃,1 min;延伸72℃,1 min。取PCR产物8 μL,加入含有溴乙锭的2%琼脂糖凝胶中电泳(60 mV,30 min),经紫外灯下检测,PCR Marker作为参照,若只有190 bp扩增带者为缺失纯合型(DD型),只有490 bp扩增带者为插入纯合型(II型),190 bp和490 bp扩增带并存者为插入/缺失杂合型(ID型)。

1.5 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,基因计数法计算两组的基因型和等位基因频率,并且用 χ^2 检验判定差异,不同基因型临床及生物化学指标的组间比较用*t*检验, $P < 0.05$ 视为有统计学意义。

2 结果

2.1 各组临床及生物化学指标

单纯高血压组和微量蛋白尿组收缩压和舒张压高于正常组,微量蛋白尿组尿微量白蛋白高于单纯高血压组。结果见表1(Table 1)。

表1. 各组的临床及生物化学指标结果比较($\bar{x} \pm s$)。

Table 1. The results of clinic and biochemical index in three groups.

Index	Control	EH	EH+ MCA
<i>n</i>	50	49	50
Sex (male/female)	33/17	31/18	30/20
Age (years)	54 ± 10	56 ± 12	56 ± 12
SBP (mm Hg)	115 ± 13	151 ± 10 ^a	151 ± 10 ^a
DBP (mm Hg)	74 ± 8	90 ± 10 ^a	91 ± 11 ^a
BUN (mmol/L)	4.41 ± 0.98	4.47 ± 1.02	4.51 ± 0.89
Cr (μmol/L)	78 ± 11	74 ± 16	76 ± 12
UPT		(-)	(-)
Urine MAlb (mg/L)		6.16 ± 2.94	21.37 ± 4.19 ^b

: urinary protein test. $P < 0.05$, a: compared with control group; b: compared with EH group.

2.2 血管紧张素转换酶基因型和等位基因频率的分布

单纯高血压组和正常组的ACE基因型和等位基因频率无显著性差异,微量蛋白尿组DD基因型

及 D 等位基因频率显著高于正常组, 微量蛋白尿组 DD 基因型及 D 等位基因频率显著高于单纯高血压组。结果见表 2(Table 2)。

表 2. 各组血管紧张素转换酶基因型和等位基因频率的比较。

Table 2. The frequencies of ACE genotype and allele.

Groups	n	Genotype			Allele	
		DD	ID	II	D	I
Control	50	8(0.16)	22(0.44)	20(0.40)	38(0.38)	62(0.62)
EH	49	9(0.18)	21(0.43)	19(0.39)	39(0.40)	59(0.60)
EH+ MCA	50	21(0.42) ^a	17(0.34) ^a	12(0.24) ^a	59(0.59) ^b	41(0.41) ^b

a: $P < 0.05$; b: $P < 0.01$, compared with control and EH group.

3 讨论

本研究通过对 99 名高血压患者进行 ACE 基因多态性的分析, 观察到 DD 基因型及 D 等位基因的频率在高血压伴有微量蛋白尿患者中明显升高, 即在高血压合并早期肾功能损害中明显升高, 这与文献[5, 6]报道一致。不伴有微量蛋白尿的高血压患者其 ACE 基因型和等位基因频率与正常人相比, 差异无显著性 ($P < 0.05$), 这与文献[7, 8]报道相一致, 即 ACE 基因在人类不一定是高血压的候选基因, 很可能是微效基因^[9]。

众所周知, 引起高血压肾脏损害的因素很多, 在众多的因素中, 每一种因素在高血压肾脏损害的过程中或多或少地扮演了一定的角色。在本研究中, 两组高血压患者可能处于同一疾病的不同进程中, 我们认为具有 DD 基因型的患者更易导致其肾功能的损害, 且该因素是独立于高血压的因素。所以说, DD 基因型和 D 等位基因是高血压患者早期肾脏损

害的危险因素。

[参考文献]

- [1] 刘传民, 李景新. 微量蛋白尿与高血压靶器官损伤. 临床荟萃, 1999, 14: 417
- [2] 陈柄华, 易季莲, 周国强, 等. 原发性高血压早期肾脏损害微量蛋白尿的临床价值. 临床心血管病杂志, 2000, 16(6): 264-265
- [3] Cambien F, Alhenc-Gelas F, Herberth B, et al. Familial resemblance of plasma angiotensin converting enzyme level: the nancy study. *Am J Hum Genet*, 1988, 43: 774-780
- [4] 李惊子, 王海燕. 蛋白尿. 见: 王海燕主编. 肾脏病学. 第 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1997; 291-294
- [5] Kario K, Kanai N, Nishiuma S, et al. Hypertensive nephropathy and the gene for angiotensin converting enzyme. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, 17(2): 252-256
- [6] Rovira E, Chaves FJ, Julve R, et al. Insertion/deletion polymorphism of the gene encoding for angiotensin converting enzyme and microalbuminuria in essential arterial hypertension. *Med Clin*, 1999, 112(19): 726-730
- [7] Cambien F, Evans A. Angiotensin I converting enzyme gene polymorphism and coronary heart disease. *Eurp Heart J*, 1995, 16(Suppl K): 13
- [8] 张赛丹, 孙明, 周宏研, 等. 血管紧张素 I 转换酶基因多态性血清水平及血压相关性研究. 临床心血管病杂志, 1999, 15(5): 214-216
- [9] 李朝红. 高血压的基因诊断. 见: 罗超权主编. 基因诊断与基因治疗进展. 郑州: 河南医科大学出版社, 1999; 147-149

(此文编辑 朱雯霞)