

[文章编号] 1007-3949(2004)12-01-0057-04

•临床研究•

珠海地区人群血管紧张素 AT_1 型受体基因多态性等易患因素与高血压及其左心室重构的相关性

彭 健¹, 方 明², 龚五星³

(1. 中山大学附属第五医院心内科, 广东省珠海市 519000; 2. 广东省人民医院急危重症医学部, 广东省广州市 510080; 3. 暨南大学附属第三医院分子生物中心, 广东省珠海市 519000)

[关键词] 内科学; 高血压和左心室重构与血管紧张素 AT_1 型受体基因多态性的关系; 聚合酶链反应—限制片段多态性检测法; 基因多态性, 血管紧张素 AT_1 型受体; 高血压; 左心室重构; 受体, 血管紧张素 AT_1 型

[摘要] 为探讨血管紧张素 AT_1 型受体基因 A1166/C 多态性与不同血清总胆固醇水平高血压病及其左心室重构的关系, 测定 148 名高血压病患者和 164 名正常血压对照者的血压、身高、体重、空腹血糖、总胆固醇、甘油三酯浓度; 测定高血压患者的左心室重量指数; 聚合酶链反应—限制片段多态性法鉴定血管紧张素 AT_1 型受体基因 1166 位点基因型; 卡方检验分析病例组与对照组间基因型及等位基因频率, 危险因素分析采用 Logistic 回归。结果发现, 高血压组血管紧张素 AT_1 型受体基因 AC/CC 基因型频率高于对照组 (0.203 比 0.0104, $P < 0.05$, OR 为 1.998, 95% CI 为 1.073~3.581), 1166C 等位基因频率显著高于对照组 (0.111 比 0.055, $P < 0.05$)。按总胆固醇水平进行分组统计时发现, 在总胆固醇增高的高血压组血管紧张素 AT_1 型受体 AC/CC 基因型频率显著高于正常血压对照组 (0.26 比 0.092, $P < 0.01$, OR 为 3.46, 95% CI 为 1.29~9.29)。此结果表明, AC/CC 基因型是高血压病的危险因素; 该基因型及总胆固醇是高血压左心室重构的危险因素; 胆固醇与血管紧张素 AT_1 型受体基因 AC/CC 基因型在高血压及其左心室重构的发生发展中可能存在协同作用, 对血脂、血压的有效控制可能减少高血压靶器官损伤。

[中图分类号] R544.1

[文献标识码] A

The Relationships between Angiotensin AT_1 Type 1 Receptor Gene Polymorphism, Serum Total Cholesterol Levels, and Hypertension, and Left Ventricular Remodeling

PENG Jian¹, FANG Ming², and GONG Wu-Xing³

(1. Cardiology Department of the 5th Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Zhuhai, Guangdong 519000; 2. Emergency Center of Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou, Guangdong 510080; 3. Molecular Biological Center of the 3rd Affiliated Hospital of Jinan University, Zhuhai, Guangdong 519000, China)

[KEY WORDS] Hypertension; Left Ventricular Remodeling; Serum Total Cholesterol; Receptor, Angiotensin AT_1 Type 1; Gene Polymorphism, Restriction Fragment Length

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationships between essential hypertension, hypertensive left ventricular remodeling, serum total cholesterol and the polymorphism of angiotensin AT_1 type 1 receptor (AT1R) gene. **Methods** A case-control study was carried out using 148 hypertensive and 164 normotensive subjects. Blood pressure, body mass index, fasting serum glucose, serum total cholesterol (TC) and triglyceride (TG) were measured in all subjects, and LVMI of the hypertensives were measured. The A/c variant at position 1166 of the AT1R gene was identified by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR/RFLP) analysis. The frequencies of AC/CC genotypes and 1166C allele of AT1R gene between hypertensives and normotensives were analyzed by Chi-Square test. **Results** The frequencies of AC/CC genotypes and 1166C allele of AT1R gene in hypertensives were higher than that in control (AC/CC genotypes 0.203: 0.0104, $P < 0.05$; C allele 0.111: 0.055, $P < 0.05$), the OR is 1.998 (95% CI: 1.073~3.581). More statistically significant of C1166 allele frequency and the AC genotype distribution were obtained in subjects with hypercholesterolemia when serum TC level was hierarchically analyzed (AC/CC genotypes 0.26: 0.092, $P < 0.01$; C allele 0.144: 0.046, $P < 0.01$), the OR reach to 3.46 (95% CI: 1.29~9.29). AC/CC genotypes were risk factors to hypertension, and such genotypes and TC were risk factors to hypertensive left ventricular remodeling. **Conclusions** 1166AC/CC genotypes of AT1R gene and TC have additive relation with essential hypertension and hypertensive left ventricular remodeling, the effective control of TC and blood pressure might decrease the damage of target organs.

血管紧张素 AT_1 型受体 (angiotensin AT_1 receptor, AT1R) 基因 A1166/C 多态性是目前原发性高

[收稿日期] 2003-09-01

[修回日期] 2004-01-17

[基金项目] 广东省医学科技研究基金项目 (A2000632) 资助

[作者简介] 彭健, 教授, 主任医师, 硕士研究生导师, 主要从事心血管病临床研究, 联系方式: 中山大学附属第五医院心内科, zhuhaipj@163.com。方明, 硕士, 联系地址为广东省人民医院急危重症医学部, wellfm@sina.com。

血压(essential hypertension, EH)研究领域的热点之一,国内外针对不同种族人群的流行病学研究表明^[1],该基因多态性与高血压及其靶器官可能存在相关性。同时,临床研究发现,高血脂与高血压常合并存在且有正相关关系^[2],二者间存在共同的代谢异常,并在多种机制上互相影响,互为因果。本研究在对我国南方汉族人群该基因多态性进行流行病学调查的基础上,进一步分析胆固醇水平与遗传背景对高血压的影响,为高血压病及其靶器官损伤的遗传机制和个体化防治提供实验及理论依据。

1 对象与方法

1.1 对象

参照文献[3],纳入1-2级高血压的标准是收缩压140~179 mm Hg,舒张压90~109 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)。参照文献[4],将空腹血清总胆固醇(total cholesterol, TC)>5.72 mmol/L定义为高胆固醇血症。高血压病组来自2001年8月~2002年6月中山大学附属第五医院与珠海市人民医院专家门诊及住院病人,共148例,其中男性83例,女性65例,年龄30~69岁,均为广东籍汉族居民,有高胆固醇血症者73例。对照组为同期来医院门诊作常规健康检查血压正常的广东籍汉族居民共164例,其中男93例,女71例,年龄为29~69岁,有高胆固醇血症者65例。两组年龄、性别以及其余基本条件均相匹配。所有研究个体之间无血缘关系,排除严重肝肾功能损害、继发性高血压、糖尿病、冠心病和脑血管意外及其他心脑血管疾患。

1.2 临床资料的检测

所有研究对象均测定收缩压、舒张压、体质指数(body mass index, BMI)、空腹血糖(BS);酶法测定空腹血清TC、甘油三酯(triglyceride, TG)浓度。以左心室质量指数(left ventricular mass index, LVMI)作为左心室重构指标, $LVMI = \text{左心室质量}(\text{left ventricular mass, LVM}) / \text{体表面积}(\text{body surface area, BSA})$ 。采用HP 2000彩色多普勒显像仪,探头频率为2.5 MHz,在胸骨旁左心室长轴行M型超声检查,测定舒张期末室间隔厚度(interventricular septum thickness, IVST)、左心室后壁厚度(left ventricular posterior wall thickness, LVPWT)、左室内径(left ventricular diastolic diameter, LVDD),按照Devereux公式计算LVM: $LVM(g) = 1.04 \times [(LVDD + IVST + LVPWT)^3 - LVDD^3] - 13.6$; BSA按照公式 $BSA(m^2) = 0.0061 \times \text{身高} + 0.0124 \times \text{体重} - 0.0099$ 计算^[5]。参照 Ganau

等^[6]的方法,将男性 $LVMI \geq 126 g/m^2$, 女性 $LVMI \geq 118 g/m^2$ 定义为存在左心室重构。

1.3 血管紧张素Ⅱ型受体1166位点基因型鉴定

参照文献[7],采用聚合酶链反应—限制片长多态性(PCR-RFLP)法进行AT1R基因DNA的提取、目的片段的扩增及PCR产物的酶切和基因型判断。

1.4 统计学处理

采用SPSS 8.0统计软件。对照组与高血压组之间临床资料的比较采用单因素方差分析,基因频率比较采用卡方检验;将高血压组和对照组按血清TC水平进行分层分析,卡方检验比较高TC者中AT1R基因型及等位基因频率。高血压病及其左心室重构的多危险因素分析采用非条件Logistic回归。所有计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 原发性高血压组与对照组基因型频率及等位基因频率的比较

164名对照中发现AA型147例,AC型16例,CC型1例;148名EH病人中AA型118例,AC型27例,CC型3例。因检测出的CC基因型数量较少,统计时将CC型与AC型合并。经过卡方检验,EH组与对照组AC/CC基因型及C等位基因频率有统计学差异(表1、图1和图2, Table 1, Figure 1 and 2)。

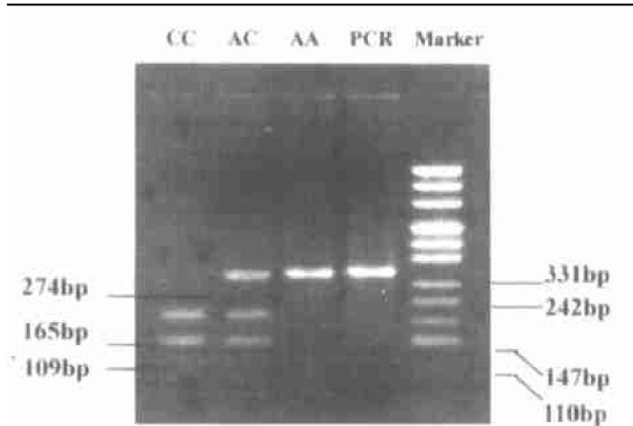


图1. 血管紧张素Ⅱ型受体基因PCR及限制酶切后片段

Figure 1. PCR and restriction enzyme cutting results of AT1R gene

2.2 按胆固醇水平分层分析血管紧张素Ⅱ型受体1166位点基因型和C等位基因频率

原发性高血压(EH)组中高胆固醇血症者有AC型17例,CC型2例,AC+CC基因型频率为0.260;对照组中高胆固醇血症者有AC型6例,未发现CC

型, AC+ CC 基因型频率为 0.082; C 等位基因频率在高血压组为 0.144, 对照组为 0.046, 经过卡方检验, $P < 0.01$ (表 2 和图 2, Table 2 and Figure 2)。AC/CC 基因型对高血压病的 OR 为 3.46 (95% CI 为 1.29~ 9.29)。

表 1. 原发性高血压组与对照组基因型及等位基因频率分布
Table 1. The distribution of AT1R genotype and gene frequencies in hypertensives and controls

分 组	基因型			等位基因	
	AA	AC	CC	A	C
对照组	147(0.896)	16(0.098)	1(0.006)	310(0.945)	18(0.055)
高血压组	118(0.797)	27(0.182)	3(0.021)	263(0.889)	33(0.111)

两组基因型比较: $\chi^2 = 5.965$, $P = 0.015$; 等位基因比较: $\chi^2 = 6.643$, $P = 0.010$

2.3 多因素 Logistic 回归分析高血压易患因素

以是否发生高血压为应变变量, 用 Enter 法建立非条件 Logistic 回归模型, 进行多因素分析, 得到的 Lo-

gistic 回归方程为: 暴露在致病因素作用下发生 EH 的概率 $P(1) = 1/[1 + e^{8.599 - 0.774x_1 - 0.470x_2 - 0.769x_3}]$, 表明基因型(x_1)、年龄(x_2)和 BMI(x_3)均参与增加研究人群 EH 发生概率, 该三种因素与发病的相对危险度(OR)分别为 1.998 (95% CI 为 1.073~ 3.851), 1.041 (95% CI 为 1.015~ 1.067), 2.238 (95% CI 为 1.633~ 5.253), 此三种因素可分别看作为 EH 发生的独立危险因素。

表 2. 两组中高胆固醇血症患者基因型及等位基因频率比较
Table 2. The distribution of AT1R genotype and gene frequencies in hypertensives and controls with hypercholesterolemia.

分 组	基因型			等位基因	
	AA	AC	CC	A	C
对照组	59(0.908)	6(0.082)	0(0)	124(0.954)	6(0.046)
高血压组	54(0.740)	17(0.233)	2(0.027)	125(0.856)	21(0.144)

两组高胆固醇血症者基因型比较: $\chi^2 = 6.539$, $P = 0.011$; 等位基因比较: $\chi^2 = 7.435$, $P = 0.006$

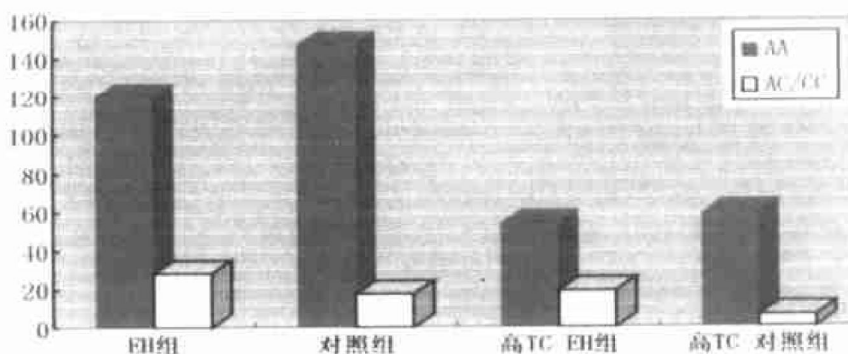


图 2. 按胆固醇水平分层前后两组中血管紧张素 ① 型受体基因型的分布 分层前 $P < 0.05$, 分层后 $P < 0.01$ 。

Figure 2. The distribution of AT1R genotype in hypertensives and controls/in hypertensives and controls with hypercholesterolemia

2.4 多因素 Logistic 回归分析高血压患者左心室重构易患因素

以 EH 组的基因型、病程、收缩压、舒张压、TC 和 TG 等作为自变量, 以是否发生左心室重构为因变量, 用 Enter 法建立非条件 Logistic 回归模型, 得到的 Logistic 回归方程如下: EH 患者左心室重构发生的概率 $P(1) = 1/[1 + e^{13.502 - 1.212x_1 - 0.762x_2 - 0.213x_3 - 1.346x_5}]$ 。该方程表明, 基因型(x_1)、病程(x_2)、收缩压水平(x_3)、TC 水平(x_5)均参与增加左心室重构的发生概率, OR 分别为 3.216 (95% CI 为 1.195~ 9.753)、5.327 (95% CI 为 2.725~ 15.043)、3.218 (95% CI 为 1.331~ 7.309)和 2.076 (95% CI 为 1.550~ 6.548), 可看作是 EH 左心室重构的危险因素。

3 讨论

本课题研究了珠海地区部分广东籍汉族人群中 AT1R A1166/C 基因多态性与 EH 的关联关系, 结果发现 EH 患者 AC/CC 基因型频率及 C 等位基因频率均高于正常对照组 ($P < 0.05$), 表明 AT1R 基因 A1166/C 多态性与该地区 EH 成正相关, 同时进行多因素 Logistic 回归分析, 显示 AT1R AC/CC 基因型是 EH 的独立危险因素, OR 值为 1.998 (95% CI 为 1.073~ 3.851)。这与文献 [8, 9] 的报道相符。同时, Logistic 回归结果表明, EH 左心室重构受环境及遗传等多种因素的影响, 该基因型也是 EH 左心室重构的重要危险因素, OR 值为 3.216 (95% CI 为 1.195~ 9.753)。相关的机制目前尚在研究之中。van Geel 等^[10]报道, C 等位基因能增加 AT1R 对 Ang ① 的反应, 表现为血管收缩更强烈, 这可能部分解释流行病学的相关结果。AT1R 是肾素—血管紧张素系统

(RAS)最后作用于靶细胞的共同通路。实验发现,过度表达 AT1R 的心肌细胞即能出现心肌肥厚和重构效应^[11-13],而不同的 AT1R 遗传背景对 AT1R 的功能存在影响。俄罗斯^[8]、意大利^[14]的学者以及我们之前的研究^[15]均发现,携带 C 等位基因的高血压患者更易发生左心室重构。此结果对高血压及其左心室重构的个体化预防和治疗筛选有潜在的指导价值。

此前按样本的血清 TC 水平分层分析,得到 C 等位基因能明显增加高 TC 者患 EH 的危险性的结论^[15],在扩大样本量后,我们得到类似的结果,即高 TC 的高血压组与对照组之间 AT1R AC/CC 基因型频率和 C 等位基因频率的差别比分层前更为显著 ($P < 0.01$),其患 EH 的风险性是 AA 型者的 3.46 倍 (95% CI 为 1.29~ 9.29),此结果与日本学者 Tsuyoshi 等^[16]相似。近年来的研究表明,高血压病不仅是单纯的血流动力学异常疾病,而且常与脂肪、血糖等代谢紊乱共存,被称为代谢综合征,其中胆固醇由于与冠心病的密切联系,其控制与调节倍受重视^[17]。高血压病及高脂血症常合并存在,两者间存在共同的代谢异常,并在多种机制上互相影响,互为因果。临床和流行病学研究证实,血 TC 水平与血压成正相关^[2],但相关性的机制仍未明了。基础研究发现,Ang Ⅱ在 AT1R 的介导下能上调内皮细胞和巨噬细胞的氧化型低密度脂蛋白(ox-LDL)受体,并且高 TC 水平、ox-LDL 受体与 AT1R 之间存在正反馈作用^[18]。血脂对 AT1R 的上调必然提高其与配体 Ang Ⅱ结合的效率。研究还发现^[11],C 等位基因能显著增加 AT1R 对 Ang Ⅱ的血流动力学反应,由此多种效应的叠加产生更强的血流动力学影响,诸如促进血管收缩、水钠潴留,最终引起血压增高。本研究尚提示血清 TC 也是高血压左心室重构的危险因素之一,目前尚缺乏解释这一现象的理论基础。如前文所述,胆固醇对 AT1R 有上调作用,且 AT1R 基因多态性与血清 TC 水平亦有内在联系,AT1R 基因 AC/CC 型及 C 等位基因可增加高 TC 者患高血压病的危险性,推测 TC 对 LVMI 的这种作用是 TC 及遗传因素共同导致 RAS 功能亢进的结果。值得注意的是,在高血压病的多因素分析中,TC 不是该疾病的独立危险因素,而参与 EH 左心室重构的形成与发展。是否表明,TC 水平的影响主要针对高血压的靶器官损伤? 这需要进一步研究。

本研究发现,AT1R 基因 1166 位点多态性与血清 TC 水平有内在联系,AC/CC 基因型可增加高 TC

患者罹患高血压病的危险性,提示对这类病员予以早期有效的调脂干预,可能有望减少高血压病的发生与发展。同时我们的研究结果表明,EH 左心室重构的成因是来自环境因素、遗传因素多方面的,对 EH 患者进行有效的降压及调脂等多重危险因素联合干预,将有望更好保护 EH 的重要靶器官。

[参考文献]

- [1] 方明,彭健. 血管紧张素 Ⅱ型受体研究进展. 高血压杂志, 2002, 10: 385-388
- [2] Goode GK, Miller JP, Heagerty AM. Hyperlipidemia, hypertension, and coronary heart disease. *Lancet*, 1995, 345: 362-364
- [3] 中国高血压防治指南起草委员会. 中国高血压防治指南. 高血压杂志, 1999, 8: 94-102
- [4] 中华心血管杂志编辑委员会血脂异常防治对策专题组. 血脂异常防治建议. 中华心血管杂志, 1997, 25: 169-172
- [5] 胡咏梅,武晓洛,胡志红,任爱红,卫秀乾,王新朝,王雨若. 关于中国人体表面积公式的研究. 生理学报, 1999, 51: 45-48
- [6] Ganau A, Devereux RB, Roman MJ, et al. Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. *J Am Cardiol*, 1992, 19: 1550-1558
- [7] 方明,彭健,龚五星,赵艳,朱文艳. 血管紧张素 Ⅱ型受体基因多态性与高血压左心室重构的相关性研究. 临床心血管病杂志, 2003, 19: 80-83
- [8] Chistiakov DA, Kobalova ZD, Tereshchenko SN, Moiseev SV, Nosikov VV. Polymorphism of vascular angiotensin Ⅱreceptor gene and cardiovascular disorders. *Ter Arkh*, 2000, 72: 27-30
- [9] Dzida G, Sobstyl J, Puzniak A, et al. Polymorphisms of angiotensin converting enzyme and angiotensin Ⅱreceptor type 1 genes in essential hypertension in a Polish population. *Med Sci Monit*, 2001, 7: 1236-241
- [10] van Geel PP, Pinto YM, Voors AA, Buikema H, Oosterga M, Crijns HJ, van Gilst WH. Angiotensin Ⅱtype 1 receptor A1166C gene polymorphism is associated with an increased response to angiotensin Ⅱin human arteries. *Hypertension*, 2000, 35: 717-721
- [11] Paradis P, Dalrymple N, Paradis FW, Thibault G, Nemer M. Overexpression of angiotensin Ⅱtype I receptor in cardiomyocytes induces cardiac hypertrophy and remodeling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 931-936
- [12] 方明,彭健. 血管紧张素 Ⅱ型受体与高血压左心室重构. 中国动脉硬化杂志, 2002, 10: 457-460
- [13] 彭永平,江时森,陈锐华,李俊春. 血管紧张素 Ⅱ型受体拮抗剂与醛固酮受体拮抗剂对逆转高血压大鼠心肌重塑的作用. 中国动脉硬化杂志, 2002, 10: 408-410
- [14] Mettinano M, Roman-Spica V, Ianni A, Specchia M, Migneco A, Savi L. AGT and AT1R gene polymorphism in hypertensive heart disease. *Intern J Clin Pract*, 2002, 56: 574-577
- [15] 彭健,方明,龚五星. 血管紧张素 Ⅱ型受体基因多态性与不同胆固醇水平高血压患者的相关性分析. 中华医学杂志, 2003, 83: 249-251
- [16] Morisawa T, Kishimoto Y, Kitano M, Kawasaki H, Hasegawa J. Influence of angiotensin Ⅱtype 1 receptor polymorphism on hypertension in patients with hypercholesterolemia. *Clin Chim Acta*, 2001, 304: 91-97
- [17] Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. Executive summary of the third report of the national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel Ⅲ). *JAMA*, 2001, 285: 2486-497
- [18] Li D, Saldeen T, Saldeen T, Romeo F, Mehta JL. Oxidized LDL upregulates angiotensin Ⅱtype I receptor expression in cultured human coronary artery endothelial cells: the potential role of transcription factor NF-κB. *Circulation*, 2000, 102: 1970-976

(此文编辑 胡必利)