

血管紧张素转化酶基因多态性对血清血管紧张素转化酶水平及血脂的影响

张赛丹¹, 桂庆军¹, 裴志芳¹, 唐仁斌², 秦建明³, 李慧颖¹

(1. 中南大学湘雅医院心内科, 湖南省长沙市 410008;

2. 永州职业技术学院医学院; 3. 永州市第四人民医院心内科, 湖南省永州市 425000)

[关键词] 内科学; 血管紧张素转化酶基因多态性影响血清血管紧张素转化酶水平和血脂; 基因多态性, 血管紧张素转化酶; 总胆固醇; 低密度脂蛋白; 高密度脂蛋白; 高血压患者

[摘要] 为探讨血管紧张素转化酶基因多态性对本地人群高血压患者和正常人血清血管紧张素转化酶及血脂水平的影响, 采用聚合酶链反应技术, 对 118 例高血压患者和 98 例正常人的血管紧张素转化酶基因插入/缺失多态性进行分型, 并检测血清血管紧张素转化酶活性及血脂含量。结果发现, 高血压组血管紧张素转化酶三种基因型(缺失纯合子型、插入纯合子型和杂合子型)及插入/缺失等位基因的频率与正常对照组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.468, P = 0.791; \chi^2 = 0.379, P = 0.538$)。血清血管紧张素转化酶活性在三种基因型之间差异有显著性意义($F = 17.107, P = 0.000$)。高血压组总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、脂蛋白(a)高于正常对照组($P < 0.05$); 高血压组三种基因型之间血脂各指标含量及正常对照组三种基因型之间总胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇和载脂蛋白 B 含量差异有显著性意义($P < 0.05$)。此结果提示, 血管紧张素转化酶基因多态性与血清血管紧张素转化酶活性及血脂含量有关, 缺失纯合子型高血压患者血清血管紧张素转化酶活性最高且易患高脂血症。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Effect of Angiotensin Converting Enzyme Gene Polymorphism on Level of Serum Angiotensin Converting Enzyme and Blood Lipid

ZHANG Sai-Dan¹, GUI Qing-Jun¹, PEI Zhi-Fang¹, TANG Ren-Bin², QIN Jian-Ming³, and LI Hui-Ying¹

(1. Department of Cardiology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008; 2. Medical School of Yongzhou Vocational-Technical College; 3. Department of Cardiology, The Fourth People's Hospital of Yongzhou 425000, China)

[KEY WORDS] Gene Polymorphism, Angiotensin Converting Enzyme; Total Cholesterol; Lipoprotein, LDL; Lipoprotein, HDL; Hypertension Patients

[ABSTRACT] **Aim** To explore frequency of angiotensin converting enzyme (ACE) gene insertion/deletion (I/D) polymorphism and effect of ACE gene polymorphism on level of serum ACE and blood lipid in patient with essential hypertension and healthy subjects. **Methods** 216 subjects (98 healthy subjects and 118 hypertensives) were collected for the determination of the I/D genotype in intron 16 of ACE gene by polymerase chain reaction (PCR) and the level of serum ACE, total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDLC), high density lipoprotein cholesterol (HDL), lipoprotein (a) [Lp(a)], apolipoprotein AI (ApoAI), apolipoprotein B (ApoB). **Results** The frequency of I/D genotypes and D and I alleles of the ACE gene had no significant difference between hypertensives and healthy subjects ($\chi^2 = 0.468, P = 0.791; \chi^2 = 0.379, P = 0.538$, respectively). The level of serum ACE activity in deletion homozygotes (genotype DD) was the highest among three genotypes, and the lowest in insertion homozygotes (genotype II), and intermediate in heterozygotes (genotype ID) ($F = 17.107, P = 0.000$). Hypertensives had significantly higher TC, LDL, Lp(a) than those of control group ($P < 0.01$). The level of blood lipid was significantly different among genotype DD, genotype ID, and genotype II in hypertensives group ($P < 0.01$). The level of TC, LDL, HDL, ApoB was significantly different among three genotypes in control group ($P < 0.05$).

Conclusions ACE gene polymorphism is associated with level of serum ACE and blood lipid. The level of serum ACE and blood lipid is higher in genotype DD than in genotype ID and genotype II.

流行病学研究发现, 原发性高血压 (essential hy-

pertension, EH) 是一种多基因遗传性疾病, 遗传与环境因素共同参与 EH 发病。血管紧张素转化酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 是肾素-血管紧张素系统 (renin-angiotensin system, RAS) 的关键酶, 催化血管紧张素 (angiotensin, Ang) I 转化成血管紧张素 II (Ang II), 在心血管疾病尤其高血压病的发生发展

[收稿日期] 2004-02-09 [修回日期] 2004-05-15

[作者简介] 张赛丹, 博士, 主任医师, 教授, 硕士研究生导师, 联系电话 13787123404, E-mail 为 zhangsaidan@263.net, 主要从事高血压、冠心病、心脏超声的基础与临床研究。桂庆军, 硕士, 教授, 主要从事高血压和冠心病的基础与临床研究。裴志芳, 主管技师, 主要从事心血管病实验与心电图的研究。

中起重要作用。编码 ACE 蛋白的基因,根据其第 16 内含子中 287 bp 片段的存在与否表现为插入(insertion, I)/缺失(deletion, D)多态性,经研究证实存在三种基因型:即缺失纯合子型(DD 型),插入纯合子型(II 型)及杂合子型(ID 型)^[1]。为探讨高血压患者 ACE 基因 I/D 多态性对血清 ACE 水平及血脂含量的影响,我们以当地高血压患者与正常人为研究对象,采用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)技术进行基因分型,检测血清 ACE 及血脂水平。

1 对象与方法

1.1 研究对象

收集本院高血压患者 118 例,其中男 74 例,女 44 例,年龄 51.5 ± 9.1 岁;对照组 98 例,其中男 59 例,女 39 例,年龄 50.2 ± 6.3 岁,为本院健康体检者。两组年龄性别差异无统计学意义。高血压诊断按 JNC VII 标准,即收缩压 ≥ 140 mm Hg 或舒张压 ≥ 90 mm Hg。服药者,停用 ACE 抑制剂或血管紧张素受体拮抗剂或降脂药 2 周后进行检测。

1.2 血管紧张素转化酶基因型检测

清晨抽空腹静脉血 5 mL,乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA)抗凝,分离淋巴细胞后置 -75°C 保存,用 10% 十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)12.5 μL 破核膜,加 20 g/L 蛋白酶 K 12.5 μL 消化蛋白质,加 TES 缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L EDTA Na_2 , pH 8.0)200 μL 后,混匀,放置 55°C 水浴过夜消化,取出过夜样本,以 12 kr/min 离心,抽提基因组 DNA,运用 PCR 技术扩增 ACE 基因第 16 内含子目的片段。引物核苷酸序列为:正向 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3',反向 5'-GAT GTG GCC ATC ACA TIC GTC AGA T-3',脱氧核苷酸,耐热 DNA 聚合酶(TaqDNA: Polymerase)由上海赛尔生物技术公司提供。PCR 程序: 94°C 预变性 10 min 后开始循环, 94°C 变性 30 s \rightarrow 65°C 退火 30 s \rightarrow 72°C 延伸 1 min,经 35 次循环后,反应在 72°C 延伸 10 min,PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝

胶电泳分析。

1.3 血清血管紧张素转化酶水平检测

空腹采血 2 mL,分离血清后置 -75°C 保存,成批测定。采用海军总医院提供的 ACE 测定(比色法)试剂盒进行检测,取待测血清 10 μL 加底物液(马尿酸甘氨酸甘氨酸 30 mmol/L)0.1 mL,混匀后置 37°C 水浴 30 min 后,加 100 g/L 钨酸钠液,0.33 mmol/L 稀硫酸各 0.1 mL,置室温 5 min,加蒸馏水 1.0 mL,以 4 kr/min 离心 10 min,吸上清液 0.75 mL,再加 0.1 mmol/L 的硼酸缓冲液 1.0 mL,最后加 2,4,6-三硝基苯磺酸钠 0.05 mL 显色,以 420 nm 波长读取吸光度(A420)值,ACE 活性按公式计算。

1.4 血脂测定

采空腹血 2 mL,2 h 内分离血清,脂蛋白(a)及血脂各指标采用日立 7170A 型全自动生物化学分析仪与日本第一化学株式会社试剂测定。脂蛋白(a)采用免疫比色法。血清甘油三酯(triglycerides, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、载脂蛋白 AI 和载脂蛋白 B 采用双试剂酶法。

1.5 统计学处理

数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较采用 t 检验,多个样本均数比较采用方差分析和 q 检验。以 $P < 0.05$ 为检验水准。全部资料应用 SPSS10.0 软件统计分析。

2 结果

2.1 血管紧张素转化酶基因型及 I 和 D 等位基因频率分布

经 PCR 扩增后,ACE 基因型分为 DD 型(490 bp 片段)、ID 型(190 bp 片段)、II 型(具有 490 bp 和 190 bp 两片段),三种基因型及 I 和 D 等位基因在高血压组与对照组的分布频率差异无统计学意义(表 1, Table 1)。

表 1. 高血压组与对照组血管紧张素转化酶基因型和等位基因分布频率[n(%)]

Table 1. comparison of frequency of angiotensin converting enzyme 3 genotypes and insertion and deletion alleles

分 组	n	基因型			等位基因	
		DD	ID	II	D	I
对照组	98	21(0.21)	46(0.47)	31(0.32)	88(0.55)	108(0.45)
高血压组	118	21(0.18)	57(0.48)	40(0.34)	99(0.58)	137(0.42)

$P > 0.05$, 两组等位基因频率比较。

2.2 不同基因型血清血管紧张素转化酶水平

血清 ACE 水平以 DD 型 ACE 活性最高, II 型最低, ID 型居中, 经方差分析三种基因型血清 ACE 水平差异具有统计学意义(表 2, Table 2)。

表 2. 三种基因型血清血管紧张素转化酶活性比较 ($\bar{x} \pm s$, ku/L)

Table 2. Comparison of activity of angiotensin I-converting enzyme in different genotypes

基因型	n	ACE 活性(ku/L)
DD	42	309.8 ± 54.2
ID	103	285.1 ± 45.2
II	71	260.4 ± 34.9

$F = 17.107, P = 0.000$, 组间比较。

2.3 血管紧张素转化酶基因多态性与血脂相关

高血压组 TC、LDLC 和脂蛋白(a)含量高于对照组($P < 0.01$), 而 TG、HDLc、载脂蛋白 AI 和载脂蛋白 B 含量两组差异无显著性意义(表 3, Table 3)。

表 4. 各血管紧张素转化酶基因型高血压组与对照组血脂比较

Table 4. comparison of level of blood lipid indices in different genotypes of hypertension and controls

指 标	对照组 (n = 98)				高血压组 (n = 118)			
	DD	ID	II	P	DD	ID	II	P
TC (mmol/L)	4.99 ± 0.48	4.49 ± 0.67	4.35 ± 0.69	<0.01	5.51 ± 0.60 ^b	5.16 ± 0.63 ^b	4.56 ± 0.52	<0.01
TG (mmol/L)	1.83 ± 0.64	2.01 ± 0.76	1.78 ± 0.90	>0.05	2.46 ± 1.21 ^a	1.88 ± 0.58	1.77 ± 0.46	<0.01
LDLC (mmol/L)	2.86 ± 0.61	2.31 ± 0.62	2.21 ± 0.59	<0.01	3.57 ± 0.76 ^b	2.98 ± 0.66 ^b	2.44 ± 0.51 ^a	<0.01
HDLc (mmol/L)	1.22 ± 0.26	1.32 ± 0.24	1.41 ± 0.24	<0.05	1.13 ± 0.17	1.31 ± 0.25	1.32 ± 0.24	<0.01
载脂蛋白 AI (mmol/L)	1.71 ± 0.65	1.95 ± 0.54	1.61 ± 0.20	>0.05	2.06 ± 0.59 ^a	1.61 ± 0.17	1.55 ± 0.22	<0.01
载脂蛋白 B (mmol/L)	1.9 ± 0.65	1.20 ± 0.23	1.26 ± 0.27	<0.01	1.63 ± 0.24	1.29 ± 0.30	1.33 ± 0.31	<0.01
脂蛋白(a) (mg/L)	151.0 ± 37.3	160.3 ± 45.3	151.1 ± 27.0	>0.05	208.2 ± 81.3 ^b	179.6 ± 49.0 ^a	147.9 ± 20.8	<0.01

1. 表中 P 值为各组三种基因型之间血脂方差分析; 2. a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与对照组比较

3 讨论

血管紧张素转化酶(ACE)基因位于染色体 17q23, 包括 26 个外显子与 25 个内含子, 总长度为 21 kb, 其编码顺序长度为 4.3 kb, 在 16 内含子由于存在或缺失一个 287 bp 的 DNA 片段而有 I/D 多态性。Tiret 等^[2]研究提示, ACE 基因型等位基因 D 与较高血清 ACE 水平有关, 等位基因 I 与较低血清 ACE 水平有关。胡福莉等^[3]研究表明血清 ACE 活性 DD 型 > ID 型 > II 型。这样从遗传角度可部分解释血清 ACE 浓度不同个体之间存在相当大差别的原因, 本研究亦支持这一观点, 并发现三种基因型及 I、D 等位基因分布频率在高血压组与正常对照组差

表 3. 高血压组与正常对照组血脂含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3. Comparison of level of blood lipid indices in hypertension and controls

指 标	对照组 (n = 98)	高血压组 (n = 118)
TC (mmol/L)	4.56 ± 0.67	5.02 ± 0.68 ^b
TG (mmol/L)	1.90 ± 0.78	1.95 ± 0.74
LDLC (mmol/L)	2.37 ± 0.66	2.90 ± 0.74 ^b
HDLc (mmol/L)	1.33 ± 0.25	1.28 ± 0.24
载脂蛋白 AI (mmol/L)	1.69 ± 0.43	1.67 ± 0.35
载脂蛋白 B (mmol/L)	1.37 ± 0.46	1.37 ± 0.32
脂蛋白(a) (mg/L)	155.4 ± 38.5	173.9 ± 53.7 ^b

b: $P < 0.01$, 与对照组比较。

2.4 血脂的基因型差异

高血压组血脂含量及对照组 TC、LDLC、HDLc、载脂蛋白 B 含量在三种基因型中的差异有统计学意义(表 4, Table 4)。

异无统计学意义, 与国外 Gu 等^[4]的研究结果一致。

血管紧张素转化酶(ACE)基因多态性与心血管疾病关系密切^[5,6], 且与多种因素有关。文献^[7]报道, 高血压患者不同 ACE 基因型尿微量蛋白含量不一样。与血脂的相关性有不一致的报告结果。沈丹等^[8]研究发现高血压组与正常对照组三种基因型之间, TC、TG、LDLC、HDLc、脂蛋白(a)的血清水平差异无显著性意义, 推测 ACE 基因 DD 型不是通过血脂而是通过增加血清 ACE 水平致循环中 Ang II 的生成和增加缓激肽的灭活介导心血管疾病的发生与发展。洗苏等^[9]研究表明, 高血压并糖尿病患者 DD 型、ID 型、II 型之间血脂含量差异有显著性意义。

本研究发现高血压组 TC、LDLC、LP(a)含量高于对照组,无论高血压或正常人各基因型之间血脂含量差异有显著性意义,DD 型含量最高,提示 DD 型高血压患者更易患高脂血症。

【参考文献】

- [1] Alhenc-Gelas F, Richard J, Courbon D, Wamet JM, Corvol P. Distribution of plasma angiotensin I-converting enzyme levels in healthy men: relationship to environmental and hormonal parameters. *J Lab Clin Med*, 1991, 117 (1): 33-39
- [2] Tiret L, Rigat B, Visvikis S, Breda C, Corvol P, et al. Cambien F, Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet*, 1992, 51 (1): 197-205
- [3] 胡福莉, 齐晓勇, 谷剑, 李树仁, 程文杰, 缴涛, 等. 冠心病患者血管紧张素转化酶基因多态性与其血清活性及血管紧张素 II 水平的关系. *中国动脉硬化杂志*, 2003, 11 (4): 352-354
- [4] Gu XX, Spaepen M, Guo C, Fagard R, Amery A, Lijnen P, et al. Lack of association between the I/D polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene and essential hypertension in a Belgian population. *J Hum Hypertens*, 1994, 8 (9): 683-685
- [5] 胡福莉, 白玉茹, 伍严安, 陈发文, 陈慧, 胡锡衷. 血管紧张素转化酶基因插入/缺乏多态性与冠心病的关系. *中国动脉硬化杂志*, 1997, 5 (4): 300-303
- [6] 李刚, 陈运贞, 姚珍薇, 吴应珍, 柳青, 曾昭淳, 等. 缺失型血管紧张素转化酶基因与陈旧性心肌梗死患者胰岛素抵抗的关系. *中国动脉硬化杂志*, 1999, 7 (1): 48-50
- [7] 毛建华, 徐岩, 王道霞, 陆俊钢. 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. *中国动脉硬化杂志*, 2002, 10 (5): 431-433
- [8] 沈丹, 哈黛文. 高血压患者 ACE 基因多态性与血清 ACE 及血脂关系. *实用老年医学杂志*, 1999, 13 (2): 75-77
- [9] 沈苏, 廖蕴华, 罗佐杰, 郭宜, 张红, 陈宇明, 等. 2 型糖尿病合并高血压与血管紧张素转化酶基因多态性的相关性及其脂质代谢的研究. *广西医科大学学报*, 2002, 19 (4): 459-461

(此文编辑 胡必利)