

## 血管紧张素原基因 T174M 和血管紧张素转换酶基因 I/D 多态性与急性心肌梗死的相关性

孙烈, 胡文志, 杨季明, 洪梅, 蒋振忠, 杨富, 张博晴, 周海波

(南京医科大学附属第二医院心内科, 江苏省南京市 210011)

[关键词] 内科学; 肾素-血管紧张素系统基因多态性与急性心肌梗死的关系; 聚合酶链反应; 血管紧张素原; 血管紧张素转换酶; 急性心肌梗死

[摘要] 目的 探讨中国汉族人群血管紧张素转换酶和血管紧张素原基因型的分布及其与急性心肌梗死的关系。方法 应用聚合酶链反应技术, 对 112 例急性心肌梗死患者、128 例非冠心病患者血管紧张素转换酶 I/D 多态性及血管紧张素原 T174M 多态性进行检测。结果 血管紧张素转换酶基因型分布及等位基因频率在病例组及对照组间差异有显著性 ( $P < 0.01$ )。病例组和对照组血管紧张素原基因型及等位基因频率总体分布差异亦有显著性 ( $P < 0.05$ )。联合基因分析显示, 急性心肌梗死组血管紧张素转换酶 DD 基因型+ 血管紧张素原 174MM 基因型频率显著高于对照组 ( $P < 0.01$ ), 具有该联合基因型者发生冠心病的风险比数比 (OR= 8.467) 明显高于单独具有血管紧张素转换酶 DD 基因型 (OR= 2.558) 或血管紧张素原 174MM 基因型 (OR= 6.176) 者。结论 血管紧张素原 T174M 基因多态性中 M 等位基因和血管紧张素转换酶 I/D 基因多态性基因中的 D 等位基因是中国汉族人群冠心病发病的危险因素之一。同时具有血管紧张素转换酶 DD 型及血管紧张素原 174MM 型发生冠心病的相对风险显著高于单基因血管紧张素转换酶 DD 型及单基因血管紧张素原 174MM 型。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Association of the Angiotensin Converting Enzyme I/D and Angiotensinogen T174M Gene Polymorphism with Acute Myocardial Infarction

SUN Lie, HU Wen Zhi, YANG Ji Ming, HONG Mei, JIANG Zhen Zhong, YANG Fu, ZHANG Bo Qing, and ZHOU Hai Bo  
(Department of Cardiology, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, China)

[KEY WORDS] Angiotensinogen; Angiotensin Converting Enzyme; Acute Myocardial Infarction; Gene Polymorphism; Polymerase Chain Reaction

[ABSTRACT] **Aim** To evaluate the association between the molecular variants of rennin angiotensin system and the risk of acute myocardial infarction (AMI) in Chinese Han population. **Methods** Insert/deletion (I/D) of angiotensin converting enzyme (ACE) and angiotensinogen (AGT) T174M polymorphisms were determined by the means of polymerase chain reaction (PCR) in 112 AMI patients and 128 patients without AMI. **Results** The frequencies of DD genotype and D allele in patients with AMI were higher than those without AMI ( $P < 0.01$ ). The frequencies of MM genotype and M allele in patients with AMI were higher than those without AMI ( $P < 0.05$ ). In combined genotype analysis, the genotype of ACE DD+ AGT 174MM was significantly higher in patients with AMI than those without AMI ( $P < 0.01$ ). The odds ratio estimated by the combined analysis of the ACE DD and AGT 174MM genotypes (OR= 8.467) was markedly increased compared with that estimated separately from the ACE DD (OR= 2.558) or AGT 174MM (OR= 6.176) genotype. **Conclusion** The study suggests that AGT 174M allele and ACE D allele should be a risk factor for AMI in Chinese Han population and combined analysis of the ACE DD and AGT 174MM genotype may enhance the predictability of AMI.

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是冠心病的严重类型。不同种族和民族冠心病的发病率不同。肾素-血管紧张素系统 (rennin-angiotensin system, RAS) 在心肌细胞生长调节、维持体内水

电解质平衡和调节血压中有重要作用, 而血管紧张素转化酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 与血管紧张素原 (angiotensinogen, AGT) 是 RAS 的主要成员, 因此, ACE 和 AGT 基因成为冠心病研究的候选基因。本研究在分析 AMI 患者 ACE 基因插入/缺失 (insertion/deletion, I/D) 多态性与 AGT 基因 T174M 多态性分布的基础上, 进一步明确两基因协同作用对 AMI 的影响。

[收稿日期] 2006-02-11 [修回日期] 2006-07-21

[作者简介] 孙烈, 主任医师, 副教授, 主要从事冠心病及其介入治疗研究。胡文志, 硕士, 主治医师, 主要从事冠心病及心功能衰竭的研究。杨季明, 副主任医师, 副教授, 主要从事冠心病研究。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

112 例 AMI 患者,男 84 例,女 28 例,年龄  $66 \pm 7$  岁,依据 2001 年 AMI 诊断和治疗指南。对照组 128 例,男 97 例,女 31 例,年龄  $64 \pm 8$  岁,来自健康汉族人群及冠状动脉造影排除冠心病者,家族史中无心肌梗死或脑梗死。

### 1.2 一般资料收集

调查所有研究对象的吸烟、高血压、糖尿病及高血脂史,测量身高、体重,计算体质指数(body mass index, BMI),并检测空腹血糖及血脂水平。

### 1.3 基因组 DNA 提取

用酚-氯仿抽提法抽提、纯化 DNA。

### 1.4 血管紧张素原基因多态性测定

引物序列分别为 5'-TAC AGG CAA TCC TGG GTG TTC CTT G-3' 及 5'-AGC AGA GAG GTT TGC CTT ACC TTG-3',由华美生物工程公司合成。PCR 扩增 AGT 174 基因片段反应体系 25  $\mu$ L,包括基因组 DNA 0.5~1  $\mu$ g,引物各 0.25  $\mu$ L,浓度 30  $\mu$ mol/L, 10  $\times$  Buffer 5  $\mu$ L, dNTP (1 mmol/L) 10  $\mu$ L, MgCl<sub>2</sub> (25 mmol/L) 15  $\mu$ L。TaqDNA 聚合酶(Promega 公司)1 u, DNA 模板 (50 mg/L) 1  $\mu$ L, 双蒸水补足总量。95  $^{\circ}$ C 预变性 120 s, 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s  $\rightarrow$  63  $^{\circ}$ C 退火 40 s  $\rightarrow$  72  $^{\circ}$ C 延伸 40 s, 共 40 个循环,最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。取 PCR 产物 8  $\mu$ L 用 NcoI (0.75 u) 酶水解,总体积 20  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C 过夜。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳,溴乙锭染色后紫外灯下观看结果。当仅为 405 bp 一条带时,为 AGT 174MM 型; 259 bp 及 146 bp 时,为 174IT 型; 405 bp、146 bp 及 259 bp 时,为 174IM 型。

### 1.5 血管紧张素转换酶基因多态性测定

引物序列分别为 5'-CTG GAG ACC ACT CC2 CAT CCT TTC T-3' 及 5'-GAT GTG GCC ATC A2C ATT CGT CAG AT-3'。反应终末体系 25  $\mu$ L,其中 DNA 模板 0.15~1.10  $\mu$ g、引物为 0.18  $\mu$ mol/L、dNTP 0.12 mmol/L、Mg<sup>2+</sup> 1.15 mmol/L、0.18 u Taq polymerase(以上除 DNA 外均由大连 Takara 公司提供)。反应程序: 95  $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 94  $^{\circ}$ C 变性 1 min  $\rightarrow$  60  $^{\circ}$ C 退火 1 min  $\rightarrow$  72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 扩增 30 个循环, 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物经琼脂糖凝胶电泳,溴乙锭染色后紫外灯下观看结果。当两条带分别为 190 bp 和 190 bp 时,ACE 基因型为 DD 型; 190 bp 和 490 bp 时,为 ID 型; 490 bp 和 490 bp 时,为 II 型。

### 1.6 统计学处理

采用 SPSS10.0 统计分析软件。用 Hardy-Wein-

berg 平衡确认其群体代表性。相对风险率以 OR 及其 95% 可信区间表示。两组均数间比较采用成组 *t* 检验,频数间比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 临床特征比较

AMI 组总胆固醇、低密度脂蛋白及空腹血糖水平高于对照组 ( $P < 0.05$ ),但其他指标两组间无显著性差异(表 1)。

表 1. 一般临床资料

指 标	急性心肌梗死组 ( <i>n</i> = 112)	对照组 ( <i>n</i> = 128)
年龄 (岁)	66 $\pm$ 7	64 $\pm$ 8
男/女 (例)	84/28	97/31
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.7 $\pm$ 3.0	23.9 $\pm$ 3.7
身高 (cm)	165 $\pm$ 6	167 $\pm$ 7
吸烟 (例)	48	59
高血压 (例)	58	65
空腹血糖 (mmol/L)	5.8 $\pm$ 1.9 <sup>a</sup>	5.1 $\pm$ 1.1
TC (mmol/L)	5.2 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	4.3 $\pm$ 1.1
TG (mmol/L)	2.0 $\pm$ 0.9	2.1 $\pm$ 0.8
LDL (mmol/L)	3.7 $\pm$ 1.0 <sup>a</sup>	2.8 $\pm$ 1.1
HDL (mmol/L)	1.0 $\pm$ 0.4	1.0 $\pm$ 0.3

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

### 2.2 血管紧张素原基因 T174M 基因多态性分布

基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡。两组基因型构成比差异有显著性 ( $P = 0.032$ )。AMI 组 174MM 基因型频率显著高于对照组 (OR = 6.176, 95% CI 为 1.324~28.824,  $P = 0.009$ ), M174 等位基因频率也较对照组显著增高 ( $P = 0.02$ )。见表 2。

### 2.3 血管紧张素转换酶基因 I/D 多态性分布

基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡。两组基因型构成比差异有显著性 ( $P = 0.005$ )。AMI 组 DD 基因型频率显著高于对照组 (OR = 2.558, 95% CI 为 1.375~4.757,  $P = 0.003$ ), D 等位基因频率也较对照组显著增高 ( $P = 0.000$ )。见表 3。

### 2.4 血管紧张素转换酶与血管紧张素原基因联合分析

单基因分析显示, ACE DD 基因型、174MM 基因型患者发生 AMI 的风险比数比分别为 2.558 与 6.176, 但联合分析 ACE 与 AGT 基因多态性显示,

AMI 组中同时具有 ACE DD+ 174MM 基因型者明显多于对照组 ( $P = 0.046$ ), 与其他基因型组合相比, 具有该联合基因型者发生 AMI 的风险比数比增加

到 8.467; 而非 DD、非 174 MM 患者相比, 具有该联合基因型者发生 AMI 的风险比数比增加到 11.229 (表 4)。

表 2. 两组血管紧张素原基因型与等位基因频率比较

分 组	n	基因型			等位基因	
		174MM	174TM	174TT	M174	T174
急性心肌梗死	112	10 (8.9%)	18 (16.1%)	84 (75%)	38 (17%)	186 (83%)
对照组	128	2 (1.6%)	21 (16.2%)	105 (82.2%)	25 (9.8%)	231 (90.2%)

表 3. 两组血管紧张素转换酶基因型与等位基因频率比较

分 组	n	基因型			等位基因	
		DD	ID	II	D	I
急性心肌梗死	112	36 (32.1%)	39 (34.8%)	37 (33.1%)	111 (49.6%)	113 (50.4%)
对照组	128	20 (15.6%)	46 (35.9%)	62 (48.5%)	86 (33.6%)	170 (66.4%)

表 4. 血管紧张素转换酶和血管紧张素原基因及其联合基因型的比数比

	ACE 基因		AGT 基因		ACE 基因+ AGT 基因		ACE 基因+ AGT 基因	
	DD	非 DD	174MM	非 174MM	DD+ 174MM	其他	DD+ 174MM	非 DD+ 非 174MM
急性心肌梗死	36 (32.1%)	76 (67.9%)	10 (8.9%)	102 (91.1%)	7 (6.3%)	105 (93.7%)	7 (12.7%)	48 (87.3%)
对照组	20 (15.6%)	108 (84.4%)	2 (1.6%)	126 (98.4%)	1 (0.78%)	127 (99.22%)	1 (1.3%)	77 (98.7%)
OR	2.558		6.176		8.467		11.229	
95% CI	1.375~ 4.757		1.324~ 28.824		1.025~ 69.917		1.340~ 94.121	

### 3 讨论

冠心病的发生发展与多种危险因素有关, 除了吸烟、高血压、糖尿病、高胆固醇血症、肥胖等传统危险因素外, 一些新的危险因素如 RAS 基因多态性越来越受到重视。

Rigat 等<sup>[1]</sup>在 1992 年的实验中证实人体内血浆和细胞中 ACE 水平主要受到 ACE 基因多态性的调节, 即 ACE DD 型的个体比 ID、II 型有较高的 ACE 水平。在血浆和内皮细胞的表面, ACE 可使不活跃的十肽血管紧张素 iv 转化为高效的具有血管活性、拟醛固酮性的八肽血管紧张素 ⑤ 又因其具有缓激肽降解酶的活性, ACE 可使缓激肽降解。ACE 与 RAS 的其他成分在冠状动脉壁是存在的, 且 ACE 浓度通常在心肌细胞与血管壁的损伤后有显著性增加, 从而加速了平滑肌细胞增殖和受累动脉痉挛, 故可推测 ACE DD 型的个体易患 AMI。

研究已证实 ACE 基因多态性与心肌梗死的发生有密切联系<sup>[2-5]</sup>。在低危人群中 ACE 基因多态性

与心肌梗死是相关的 ( $P < 0.05$ ), 心肌梗死的高发性只存在 DD 个体中; 并推测在通常标准的前提下, ACE 基因多态性是心肌梗死发生的独立的危险因素之一, 也对心肌梗死的发展及预后产生重要影响。其中对中国人群的研究也认为 ACE 基因型多态性是冠心病发生的一个独立的危险因素。我们的研究发现 AMI 组 ACE 基因 DD 基因型和 D 等位基因的频率显著高于对照组, 与上述研究结果相似。

随着对 RAS 系统研究的深入, 血管紧张素的前体, 唯一的肾素作用底物 AGT 与心血管疾病的联系日益受到重视, AGT 经肾素分解, 形成不具生物活性的十肽激素前体—血管紧张素 iv, 再经 ACE 的作用, 形成具生物活性的八肽, 血管紧张素 ⑤ 后者可引起血管收缩, 刺激血管平滑肌细胞生长, 心肌细胞和内膜增生, 提高交感神经活性, 增加冠状动脉阻力, 甚至可能诱发心律失常。AGT 基因为单拷贝基因, 位于染色体 Iq42-43 由 5 个外显子和 4 个内含子组成, 整个基因组序列长度大约为 13 kb。国外报道<sup>[6-7]</sup>提示 AGT 基因的 174MM 基因型与冠心病的发

生密切相关,其发病机制尚待进一步研究。我们发现AMI组174MM基因型和M174等位基因的频率显著高于对照组,提示中国汉族人群AGT基因T174M多态性与AMI发生有关。

冠心病是多基因疾病,仅分析单个基因获得的信息量少,结果不可靠。对冠心病病因的研究应进行多基因联合分析,本文联合分析了ACE I/D和AGT T174M基因多态性与冠心病的关系,发现同时具有ACE DD型和174MM型者较单基因ACE DD型和单基因174MM型发生冠心病的风险率显著增高,且ACE DD型和174MM型有相互协同作用,表明同时具有ACE DD型和AGT 174MM型是中国苏皖地区人群发生冠心病的一个危险因素。

#### [参考文献]

[1] Rigat B, Hubert C, Corvol P, Soubrier F. PCR detection of the inserting/de-

letion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) [J]. *Nucleic Acids Res*, 1992, **20** (6): 1 433-437

[2] Bautista LE, Ardila ME, Gamarrá G, Vargas CI, Arenas IA. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and risk of myocardial infarction in Colombia [J]. *Med Sci Monit*, 2004, **10** (8): 473-479

[3] Nakai K, Itoh C, Miura Y, Hotta K, Musha T, Itoh T, et al. Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese [J]. *Circulation*, 1994, **90** (5): 2 199-021

[4] Wu SS, Guo QM, Liu GL. The relationship of angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism with diabetic retinopathy and diabetes myocardial infarction [J]. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*, 2004, **21** (3): 283-285

[5] 毛以林,袁肇凯,黄献平,卢芳国,谭光波,胡志希. 湖南汉族冠心病患者与血管紧张素转化酶基因插入/缺失多态性的相关性[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2004, **12** (2): 95-97

[6] Babunova NB, Minushkina LO, Zateishchikov DA, Sidorenko BA, Nosikov VV. Association of the T174M and M235T polymorphisms of the angiotensinogen gene with myocardial ischemia in the Russian population of the city of Moscow [J]. *Mol Biol (Mosk)*, 2003, **37** (1): 57-60

[7] Gardemann A, Stricker J, Humme J, Nguyen QD, Katz N, Philipp M, et al. Angiotensinogen T174M and M235T gene polymorphisms are associated with the extent of coronary atherosclerosis [J]. *Atherosclerosis*, 1999, **145** (2): 309-314 (此文编辑 文玉珊)

欢迎投稿! 欢迎订阅! 欢迎引用! 欢迎刊登广告!

# 《中国动脉硬化杂志》

## 中国科技核心期刊

作为专业性极强的高级学术期刊,我刊主要报道国内外防治动脉硬化性疾病(如高脂蛋白血症、动脉粥样硬化、冠状动脉疾病、高血压、缺血性脑血管病和其它动脉硬化性疾病)中的研究论文(含流行病学研究、实验研究、临床研究和方法学研究)、诊治经验、研究综述、文献综述、病例报道、知识讲座等。其办刊宗旨是:通过报道防治动脉硬化性疾病的新理论、新观点、新疗法、新药物;介绍防治的新经验和新知识;既引导和弘扬我国的学术研究,促进国内外学术交流,将中国这一领域的研究推向世界和未来;又普及防治知识,提高全民的健康水平。我刊是科技部《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、中国科学院《中国科学引文数据库》来源期刊和《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊,被美国《化学文摘(CA)》、俄罗斯《文摘杂志(AJ)》和国内全部数据库收录。据中国科技期刊引证报告,我刊2004年的影响因子(IF)为0.953,位居当年全国1 608种统计源期刊中的第93位;总被引频次689,列第266位,这二项指标都进入优秀期刊行列。

我刊为月刊,每月26日出版,A4开本,高档双胶纸印刷。定价11元,全年132元。由湖南省报刊发行局发行,医药卫生类,邮发代号42-165。我刊热忱欢迎海内外同仁和社会各届朋友向《中国动脉硬化杂志》投稿,到当地邮局订阅。若错过邮局征订日期,可直接写信和邮汇订购费到编辑部补办订购手续。同时欢迎并采取下述措施激励广大同仁引用:凡在《中国科技论文统计源期刊》和《中国科学引文数据库来源期刊》上发表的文章中引用了我刊的文章者,凭当期封面、目次页和文章的复印件可获赠第二年全年刊物一份。

主编杨永宗教授和副主编兼编辑部主任胡必利教授率全体办刊人员向长期关心、爱护和支持《中国动脉硬化杂志》的海内外同仁和社会各界朋友致以衷心的感谢!祝愿您健康长寿,万事如意!