

血管紧张素转换酶基因插入/缺失多态性与维吾尔族人群高血压病的关系

王芬¹, 王束玫¹, 吕明^{1,2,3}, 王笑峰³, 金力³, 汪师贞⁴, 王俊杰³

(山东大学 1. 公共卫生学院流行病学与卫生统计学教研室, 2. 齐鲁医院临床流行病学研究室, 山东省济南市 250012; 3. 复旦大学生命科学院遗传学研究所, 上海市 200433; 4. 新疆医科大学附属第一医院中心实验室, 新疆乌鲁木齐市 830054)

[关键词] 流行病学; 血管紧张素转换酶; 高血压; 基因多态性; 插入/缺失; 维吾尔族

[摘要] 目的 探讨血管紧张素转换酶基因的插入/缺失多态性与新疆维吾尔族人群高血压病之间的关系。方法 应用聚合酶链反应对 361 例维吾尔族高血压病患者和 400 例正常血压者的血管紧张素转换酶基因 16 内含子插入/缺失多态性进行检测, 测定血清总胆固醇、甘油三酯、血糖和总胆红素等生物化学指标, Logistic 回归分析各基因型和等位基因频率与新疆维吾尔族原发性高血压的关系。结果 将维吾尔族人群用 Logistic 回归模型校正年龄、性别、肥胖指数、腰围、臀围、盐摄入量、血糖、甘油三酯及总胆固醇之后, 血管紧张素转换酶基因插入/缺失多态性与高血压病的发生相关, 偏回归系数 β 值为 0.246 ($P = 0.0302$), 携带突变型纯合子 DD 个体患高血压的风险为 II 基因型的 1.51 倍 ($P = 0.038$)。结论 血管紧张素转换酶基因插入/缺失多态性与新疆维吾尔族人群高血压发病相关, DD 基因型可能是维吾尔族人群高血压发病的风险因子。

[中图分类号] R18

[文献标识码] A

Association Study on Insertion/Deletion Polymorphism of Angiotensin Converting Enzyme Gene with Essential Hypertension in Xinjiang Uyigur Group

WANG Fen¹, WANG Shu-Mei¹, LV Ming², WANG Xiao-Feng³, JIN Li³, WANG Shi-Zhen⁴, and WANG Jun-Jie³

(1. Department of Statistics and Epidemiology, 2. Qilu Hospital, Shandong University, Jinan 250012, China; 3. Institute of Genetics, STCol of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China; 4. Central Laboratory, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China)

[KEY WORDS] Angiotensin Converting Enzyme; Hypertension; Insertion/Deletion; Polymorphism; Uyigur

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether the insertion/deletion (I/D) polymorphism in the angiotensin converting enzyme (ACE) gene is associated with essential hypertension in Xinjiang Uyigur isolated population. **Methods** The study covered 361 hypertension patients and 400 normotensive controls, the variant of ACE I/D was determined by polymorphism chain reaction (PCR). Some biochemical index such as serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), glucose (GLU) and total bilirubin (TBIL) were also measured. **Results** Using logistic regression analysis, adjusted for age, sex, body mass index (BMI), waist circumference, hip circumference, intake of salt, GLU, TC, TG, there was a relationship between hypertension and ACE gene I/D polymorphism, and the parameter β is 0.246 ($P = 0.0302$). The odds ratio for hypertension of DD versus II homozygote individuals was 1.51 ($P = 0.038$). **Conclusions** The results suggest that the I/D polymorphism of ACE gene is associated with the hypertension in the Uyigur population of Xinjiang. And the DD genotype may be the risk factor of hypertension.

原发性高血压是当今世界最常见的心血管疾病,且可引起多种并发症,目前其病因尚不完全清楚,发病机制也较为复杂。现公认的原发性高血压是一种多基因遗传疾病,也受到环境因素的影响。不同地区、不同人群因为遗传结构及环境暴露因子的不同而使高血压的发病情况不同。血管紧张素转化酶(angiotensin conversion enzyme, ACE)是肾素—血

管紧张素—醛固酮系统重要的酶,是血管紧张素 iv (angiotensin iv, Ang iv) 转换为血管紧张素 Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ) 和缓激肽灭活的关键酶。ACE 基因位于染色体 17q23,其 16 内含子中有一段 287 bp 序列的插入/缺失(insertion/deletion, I/D)多态性,在不同民族的原发性高血压人群之间有不同报道^[1-4],而国内亦有较多相关研究报道,但结论不一致^[5-7],说明基因多态性的分布具有种族及地区特异性。本研究以我国新疆维吾尔族高血压病患者作为研究对象,探讨 ACE 基因 16 内含子 I/D 多态性是否与新疆维吾尔族人群原发性高血压相关联。

[收稿日期] 2007-01-11 [修回日期] 2007-04-20

[基金项目] 国家自然科学基金(30500291);山东省优秀中青年科学奖励基金(2006BS03022)资助

[作者简介] 王芬,硕士, E-mail 为 xiaofen81@126.com。通讯作者王束玫,博士,教授,研究方向为心血管流行病学研究。吕明,博士,副教授,研究方向为分子流行病学。

1 对象与方法

1.1 对象

选取新疆维吾尔族高血压患者 361 例, 其中男 124 例, 女 237 例, 年龄 54.27 ± 10.30 岁, 均符合 1999 年世界卫生组织/国际高血压协会诊断标准, 收缩压 ≥ 140 mmHg 和(或)舒张压 ≥ 90 mmHg, 调查前 2 周内服用降压药者及以往曾被诊断为高血压者也被纳入高血压组, 并排除继发性高血压、心肌病、先天性心脏病、风湿性心脏瓣膜病; 正常血压者 400 例, 其中男 155 例, 女 245 例, 年龄 51.38 ± 10.22 岁, 收缩压 < 140 mmHg, 且舒张压 < 90 mmHg, 无服用降压药史, 无高血压家族史, 排除心脑血管病、糖尿病、肝肾功能不全者。研究对象均来自新疆吐鲁番市二堡乡、三堡乡、几亚尔乡, 均没有血缘关系, 无异族通婚史。

1.2 问卷调查

在获得受试者知情同意的前提下, 使用统一的流行病学调查表, 调查内容包括吸烟饮酒史、钠盐每月摄入量、既往史、家族遗传病史等。

1.3 人体基本参数测定

测定身高、体重、腰围、臀围、血压等, 血压测量时静坐 10 min, 标准台式血压计坐位连续测量 3 次, 每次间隔 10 min, 取其均值。以体重/身高² 计算体质指数 (body mass index, BMI)。

1.4 生物化学指标测定

抽取空腹静脉血, 离心取血清, 采样当天生化分析仪检测空腹血糖、甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、总胆红素 (total bilirubin, TBIL) 等生物化学指标。其余血样 -20°C 冻存以供提取 DNA。

1.5 DNA 提取

取冷冻 EDTA-Na₂ 抗凝全血, 水浴解冻, 红细胞裂解液裂解红细胞, 经典酚-氯仿抽提法提取基因组 DNA, 电泳定量并标准化至 10 mg/L。

1.6 聚合酶链反应检测血管紧张素转换酶基因 16 内含子插入/缺失多态性

采用 Rigat 等^[8] 设计的 PCR 反应引物, 扩增体系 20 μL , 包括基因组 DNA 10 ng、TaqDNA 聚合酶 1 u、引物各 20 pmol、dNTP 200 $\mu\text{mol/L}$ 、MgCl₂ 5 mmol/L、5% DMSO 1 μL 。PCR 扩增条件: 94°C 预变性 5 min 后, 94°C 变性 45 s \rightarrow 58°C 退火 45 s \rightarrow 72°C 延伸 60 s, 35 个循环, 最后 72°C 延伸 10 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色, 凝胶成像仪成像。

1.7 统计学分析

采用 SAS9.0 软件进行统计分析。研究对象是否符合 Hardy-Weinberg 平衡定律; 计数资料采用 χ^2 检验; 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验; Logistic 多元回归分析不同基因型与原发性高血压的关系。

2 结果

2.1 临床资料比较

高血压组和正常血压组年龄、BMI、腰围、臀围、TG 及 TC 比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$; 表 1)。

表 1. 高血压组和正常血压组临床资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	高血压组 ($n = 361$)	对照组 ($n = 400$)
男/女 (例)	124/237	155/245
年龄 (岁)	54.27 ± 10.30^a	51.38 ± 10.22
BMI (kg/m^2)	28.03 ± 4.61^a	25.69 ± 4.17
腰围 (cm)	85.96 ± 11.02^a	90.22 ± 12.26
臀围 (cm)	102.79 ± 9.61^a	98.23 ± 8.68
空腹血糖 (mmol/L)	5.80 ± 1.67	5.79 ± 2.30
TC (mmol/L)	4.68 ± 1.22^a	4.40 ± 0.99
TG (mmol/L)	1.91 ± 1.37^a	1.63 ± 1.22
TBIL (mmol/L)	13.07 ± 6.08	12.86 ± 5.63

a 为 $P < 0.01$, 与正常血压组比较。

2.2 基因型频率和等位基因频率分布比较

I 等位基因扩增产物为 490 bp, D 等位基因扩增产物为 190 bp, 共得到 II、ID、DD 3 种基因型 (图 1)。

高血压组和正常血压组 DD、ID、II 基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡, 说明达到了遗传平衡, 具有群体代表性。两组基因型频率分布差异没有统计学意义 ($P = 0.35$), 两组等位基因频率比较亦没有统计学意义 ($P = 0.15$; 表 2)。

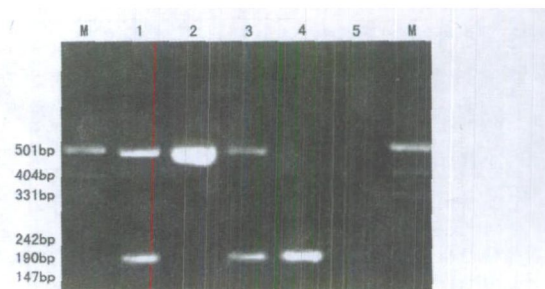


图 1. 血管紧张素转换酶基因插入/缺失多态性基因型凝胶电泳图 M 为 PUC19 DNA 分子质量标准, 1 和 3 为 ID 基因型, 2 为 II 基因型, 4 为 DD 基因型。

表 2. 高血压组和正常血压组基因型频率和等位基因频率分布比较

分 组	基因型			等位基因	
	II	ID	DD	I	D
高血压组	105 (29.09%)	173 (47.92%)	83 (22.99%)	383	339
正常血压组	131 (32.75%)	192 (48%)	77 (19.25%)	454	346

2.3 多元 Logistic 回归分析

由于两组之间高血压相关因素(如年龄、肥胖指数、腰围、臀围、盐摄入量和一些生物化学指标等)不均衡,因此将这些因素和基因型一起作 Logistic 回归分析,消除这些混杂因素的影响。逐步回归法拟合模型,变量选入和剔除水平均为 0.1,最终被选入方程的因素见表 3。在排除混杂因素作用之后,ACE I/D 基因多态性与高血压发病相关联($\chi^2 = 4.70, P = 0.0302, OR = 1.279$),将这三种基因型定义哑变量,II 为 1、0 和 0, ID 为 0、1 和 0, DD 为 0、0 和 1,再进行多元 Logistic 回归分析,携带 DD 基因型高血压患病风险是携带 II 基因型的 1.51 倍($\chi^2 = 4.31, P = 0.038, OR = 1.51, 95\% CI$ 为 1.02~ 2.23), ID 基因型携带者患病风险与 II 基因型携带者没有差别。

表 3. Logistic 回归分析

指 标	β	SE	χ^2	P	OR	95% CI
年龄	0.027	0.008	11.97	0.0005	1.028	1.012~ 1.044
ACE 基因型	0.246	0.114	4.70	0.0302	1.279	1.024~ 1.598
ID	0.142	0.187	0.576	0.448	1.152	0.799~ 1.661
DD	0.497	0.23	4.67	0.031	1.643	1.647~ 2.578
BMI	0.127	0.019	4.05	< 0.0001	1.135	1.093~ 1.179
腰围	- 0.036	0.008	21.754	< 0.0001	0.964	0.950~ 0.979
盐摄入量	0.323	0.183	3.13	0.077	1.382	0.965~ 1.978
总胆固醇	0.207	0.076	7.41	0.0065	1.230	1.060~ 1.428
总胆红素	0.034	0.014	5.71	0.017	1.035	1.006~ 1.064

3 讨论

近年来,关于 ACE 基因多态性与高血压关系的研究报道日趋多见,但其结论差异很大。在美国黑人^[9]及日本人^[10]中研究发现 ACE 基因多态性与高血压有关联,而在白人^[11]中则无关联。多数研究表明,ACE 基因多态性与高血压的关系存在着种族或民族差异,这就要求在探讨 ACE 基因多态性与高血压关系时,应在不同种族或民族间进行。

本研究所选择的对象均为长期居住于新疆的维吾尔族农民,影响血压的环境因素,如生存环境、饮食习惯、生活方式和精神压力等均较为一致,有助于

阐明遗传与环境的相对作用。本研究共检测了 361 例高血压患者和 400 例正常血压者的 ACE 基因 I/D 位点的基因多态性,在校正了年龄、性别、肥胖指数、腰围、臀围、钠盐摄入量及空腹血糖、TC、TG、TBIL 等生物化学指标后,ACE 基因 I/D 多态性与高血压发病相关联,其 DD 基因型携带者高血压发病风险是 II 基因型发病的 1.51 倍,这与国内国外一些研究结果一致^[12-14]。屈会起等^[15]对中国原发性高血压患者 ACE 基因 I/D 位点多态性进行荟萃分析,认为国人 ACE I/D 多态性的 DD 基因型与原发高血压危险性增加有关联。一项对 684 志愿者进行 6 年的队列研究,其中 DD 基因型 225 例,高血压 42 例,高血压患病率为 18.3%; ID 基因型 335 例,高血压 16 例,高血压患病率为 4.7%; II 基因型 124 例,高血压 2 例,高血压患病率为 1.6%。表明 ACE 基因 DD 基因型与高血压的发生相关^[16]。Barbalic 等^[14]通过多元 Logistic 回归分析,引入模型的危险因素有性别、年龄、肥胖指数、TG、TC,最后发现 DD 基因型携带者其发生高血压病的危险是 II 基因型携带者的 2.5 倍(95% CI 为 1.19~ 5.25, $P = 0.02$)。

体内 ACE 水平受控于 ACE 基因,ACE 基因型不同导致个体循环中 ACE 水平的差异,目前实验证实 DD 基因型及含 D 等位基因的个体具有较高水平的 ACE 浓度,进而有较高水平的血管紧张素 II 影响机体内水钠平衡代谢、醛固酮的分泌、血管收缩和血管平滑肌增殖。这均是导致心血管疾病尤其是高血压发病的关键因素。

本研究有以下特点: ①样本量($n = 761$)已经达到了西方人发现此位点起作用的样本数; ②设计是病例对照研究,对照组抽样于病例组源人群,组内及组间同质性好; ③将血压作为分类资料,对其相关因素与 ACE 基因型一起作 Logistic 回归分析,因为高血压是遗传与环境相互作用的一种复杂疾病,这样可尽量避免一些外界环境的混杂因素影响,单独看该基因型分布是否与高血压发生相关联; ④选择的维吾尔族人群是现代维吾尔族有代表性的一支,遗传及环境因素相对一致,有效减少了遗传结构对关联分析结果造成的影响。

综上所述, ACE 基因的 DD 基因型可能与高血压有关。但该结论并不表示 D 基因就是维吾尔族人群原发性高血压的致病位点。ACE 基因的 D/I 等位基因是否与原发性高血压的其它致病基因存在紧密连锁关系也需要进一步研究。此外, 高血压是多基因遗传病, 受多种环境因素的影响, 本研究只是对肾素—血管紧张素—醛固酮系统中的 ACE 基因多态性与高血压的关系进行研究, 今后应从多个基因和多种环境因素共同作用的角度进行更深入的研究。

[参考文献]

- [1] Matsubara M, Suzuki M, Fujiwara T, Kikuya M, Metoki H, Michimata M, et al. Angiotensin converting enzyme I/D polymorphism and hypertension: the Ohshima study [J]. *J Hypertens*, 2002, **20** (6): 1121-126.
- [2] Zhu X, Bouzekri N, Southam L, Cooper RS, Adeyemo A, McKenzie CA, et al. Linkage and association analysis of angiotensin I converting enzyme (ACE) gene polymorphisms with ACE concentration and blood pressure [J]. *Am J Hum Genet*, 2001, **68** (5): 1139-148.
- [3] Higaki J, Baba S, Katsuya T, Sato N, Ishikawa K, Mannami T, et al. Deletion allele of angiotensin converting enzyme gene increase risk of essential hypertension in Japanese men: the Suita study [J]. *Circulation*, 2000, **101** (17): 2060-065.
- [4] Wu S, Hong J, Li H, Feng S, Qiao D, Gao M, et al. No correlation of polymorphism of angiotensin converting enzyme genes with left ventricular hypertrophy in essential hypertension [J]. *Hypertens Res*, 2000, **23** (3): 261-264.
- [5] 崔国方, 何秉贤, 孟竹. ACE 基因多态性与原发性高血压及胰岛素抵抗关系的研究[J]. *中国心血管杂志*, 2004, **4** (9): 82-84.
- [6] 蒋素华, 李新立, 张海峰, 王震震, 德伟, 袁栋, 等. α 内收蛋白、ACE 基因多态性及环境因素与高血压病的关系[J]. *高血压杂志*, 2003, **11** (6): 563-566.
- [7] 王艳华, 佟伟军, 许群, 王健, 李永山, 方鸣武, 等. 蒙古族 ACE、AGT1235T 基因多态性与环境因素对高血压的交互作用[J]. *中华医学杂志*, 2005, **12** (49): 3509-513.
- [8] Rigat B, Hubert C, Corvo I P, Soubrier F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP I) [J]. *Nucl Acids Res*, 1992, **20** (6): 1433.
- [9] Duru K, Farrow S, Wang LM, Lockette W, Kurtz T. Frequency of a deletion polymorphism in the gene of angiotensin converting enzyme is increased in African Americans with hypertension [J]. *Am J Hypertension*, 1994, **7** (8): 759.
- [10] Higashimori K, Zhao Y, Higaki J, Kamitani A, Katsuya T, Nakura J, et al. Association analysis of a polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene with essential hypertension in the Japanese population [J]. *Biochem Res Commun*, 1993, **191** (2): 399-404.
- [11] Zee RY, Lou YK, Griffiths LR, Morris BJ. Association of a polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene with essential hypertension [J]. *Biophys Res Commun*, 1992, **184** (1): 9-15.
- [12] 胡爱华, 周文郁, 刘怡文, 周宪梁, 王文, 崔兆, 等. 中国汉族人血管紧张素转换酶基因 I/D 多态性与原发性高血压的关系[J]. *高血压杂志*, 1998, **6** (3): 163-165.
- [13] 叶琼, 吴可贵, 曾开其, 林经安, 林金秀. 血管紧张素转换酶基因多态性与原发性高血压之间的关系[J]. *高血压杂志*, 1998, **6**: 11-13.
- [14] Barbalic M, Skaric-Juric T, Cambien F, Barbaux S, Poirier O, Turek S, et al. Gene polymorphisms of the renin-angiotensin system and early development of hypertension [J]. *Am J Hypertens*, 2006, **19** (8): 837-842.
- [15] 屈会起, 卢杨, 林珊, 邱明才. 中国原发性高血压患者 ACE I/D 多态性荟萃分析[J]. *中国预防医学杂志*, 2001, **35** (6): 408-410.
- [16] Di Pasquale P, Cannizzaro S, Scalzo S, Maringhini G, P'ipitone F, Fasullo S, et al. Cardiovascular effects of I/D angiotensin converting enzyme gene polymorphism in healthy subjects. Findings after follow-up of six years [J]. *Acta Cardiol*, 2005, **60** (4): 427-435.

(此文编辑 文玉珊)

•读者•作者•编者•

关于 E-mail 投稿的要求及注意事项

本刊编辑部

由于网络的发展, E-mail 投稿已为越来越多的期刊编辑部采用, 本刊也不例外。与传统信函邮寄投稿相比较, E-mail 投稿具有快捷、方便、直观等特点, 且费用低廉。然而, 在接受 E-mail 投稿过程中我们发现, 稿件文本不一, 格式各异。有些甚至直接将文章放在书写窗口内, 经过传输, 文章早已面目全非, 又没有纸打印稿作对照, 不知文章里写了些什么, 尤其是当今计算机病毒肆虐, 新的病毒层出不穷, 一不小心染上病毒, 整个文件就要被删除。为规范 E-mail 投稿, 确保其安全性, 本刊特作如下规定:

1、E-mail 投稿时, 必须把文章作为附件发送, 严禁将文章放在 E-mail 书写窗口内。

2、附件中的文章应为 Word 格式。书写时, 进入 Word 界面后, 应首先进入页面设置窗口设置页面, 参数如下: ①纸型为 A4; ②页边距上为 2.0 mm, 下为 2.0 mm, 左为 2.2 mm, 右为 2.0 mm; ③文档网格为每行 45 个汉字, 每页 40 行; ④字体为中文宋体、常规、五号。然后点击选择其它参数, 如“单倍行距”、“两端对齐”、“页面显示”等。

3、插图粘贴于正文相应位置中, 表格直接在正文中绘制; 标题与注释直接写于正文相应位置, 严禁以文本框形式插入。

4、E-mail 投稿时, 严禁把科研基金资助项目批准书的复印件和单位介绍信扫描放入 E-mail 内, 请另用信函形式邮寄编辑部, 以方便存档。

5、请在 E-mail 附件内写明联系方式。