

原发性高血压伴肥胖患者血浆 RAAS 激素水平和 CYP11B2 - 344C/T 基因多态性的相关性

田国平¹, 罗剑¹, 程红¹, 陈元¹, 孙莎艳¹, 袁中华², 曾俊中¹, 周正伟¹

(1. 南华大学附属第二医院, 2. 南华大学心血管病研究所 动脉硬化湖南省重点实验室, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 原发性高血压; 肥胖; 醛固酮合成酶; 基因多态性; 肾素-血管紧张素-醛固酮系统

[摘要] **目的** 通过检测原发性高血压伴肥胖患者血浆肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)激素水平和醛固酮合成酶 CYP11B2 - 344C/T 基因多态性,探讨原发性高血压伴肥胖患者 CYP11B2 - 344C/T 易患基因型以及基因多态性与 RAAS 的关系。**方法** 随机选取 1~2 级原发性高血压患者 60 例,其中高血压伴肥胖者 30 例,单纯高血压者 30 例;同期体检中心体检者 60 例,其中单纯肥胖者 30 例,健康者 30 例。采用 PCR-RFLP 和琼脂糖凝胶电泳等方法检测 CYP11B2 - 344C/T 基因多态性,用放射免疫法检测血浆 RAAS 水平。**结果** TT 基因型例数与 TC + CC 基因型例数进行多重比较,有显著差异($P < 0.05$),其中以原发性高血压伴肥胖组差异最为显著;T 与 C 等位基因例数进行多重比较,有显著差异($P < 0.05$),其中以原发性高血压伴肥胖组差异最为明显。按基因型分组统计分析各组血浆肾素、血管紧张素 II 及醛固酮水平,TT 基因型组显著高于 TC、CC 基因型组($P < 0.05$)。**结论** 原发性高血压伴肥胖患者 CYP11B2 - 344C/T 基因型以 TT 基因型为主,等位基因以 T 等位基因为主。TT 基因型血浆 RAAS 激素水平各组份比 TC、CC 基因型显著升高,TT 基因型可能为原发性高血压伴肥胖患者易感基因型。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Correlation Between Plasma RAAS Hormone Levels and CYP11B2 - 344C/T Gene Polymorphism in Essential Hypertension Patients with Obesity

TIAN Guo-Ping¹, LUO Jian¹, CHENG Hong¹, CHEN Yuan¹, SUN Sha-Yan¹, YUAN Zhong-Hua², ZENG Jun-Zhong¹, and ZHOU Zheng-Wei¹

(1. Second Affiliated Hospital of University of South China, 2. Institute of Cardiovascular Disease, University of South China & Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] Essential Hypertension; Obesity; Aldosterone Synthase; Gene Polymorphism; Renin-angiotensin-aldosterone System

[ABSTRACT] **Aim** To study renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) hormone levels and CYP11B2 - 344C/T gene polymorphism in essential hypertension patients with obesity, discuss genetic susceptibility of CYP11B2 - 344C/T genotype and the correlation between susceptible gene and RAAS levels. **Methods** 60 cases of patients with 1~2 grade essential hypertension (30 cases essential hypertension patients with obesity, 30 cases essential hypertension patients without obesity), and 60 people from the Examination Center (30 cases obesity people without hypertension, 30 cases healthy people) were enrolled randomly. CYP11B2 - 344C/T gene polymorphisms were analyzed using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism and agarose gel electrophoresis methods, plasma RAAS concentration were detected by radioimmunoassay. **Results** Multi-compared with number of cases of TT and TC + CC genotype, there were significant differences ($P < 0.05$). And differences in essential hypertension with obesity group was the most significant; multi-compared with the number of T and C alleles, significant differences were found ($P < 0.05$), and differences in essential hypertension with obesity group was predominant. Plasma renin, angiotensin II, aldosterone concentrations in genotype TT cases were much higher than those of TC and CC genotype ($P < 0.05$), but there was no signifi-

[收稿日期] 2013-06-26

[作者简介] 田国平, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为高血压防治, E-mail 为 pgtian555@hotmail.com。罗剑, 硕士研究生, 研究方向为高血压防治, E-mail 为 luojian411@126.com。通讯作者袁中华, 博士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向为泡沫细胞形成的分子机制, E-mail 为 yzh5555@163.com。

cant differences between CC and TC genotype cases ($P > 0.05$). **Conclusions** In CYP11B2 - 344C/T gene polymorphism, TT genotype may be susceptible genotype of essential hypertension patients without obesity, and T allele may be susceptible one of them. Each component of plasma RAAS hormone levels in the TT genotype cases was significantly higher than the CC and the TC genotype ones.

原发性高血压(essential hypertension, EH)已成为威胁人类健康的重要疾病之一,大多数研究者认为 EH 是遗传与环境相互作用所致的多基因遗传性疾病^[1]。目前研究发现成年人高血压中约有 60%~70% 伴有肥胖,超重和肥胖对高血压的发病率具有重要影响,两者所致的高血压相对危险度为 1.866^[2]。动物实验与临床实验已经证实高血压与肥胖关系密切^[3]。醛固酮(aldoosterone, ALD)是 RAAS 重要的组成部分之一,影响 ALD 合成的关键酶是醛固酮合成酶,即线粒体细胞色素 P450 氧化酶,现认为编码此酶关键的基因是 CYP11B2 基因, CYP11B2 基因是 EH 研究的一个重要候选基因, EH 与该基因启动子区域的 -344C/T 多态性位点有关^[4]。有两项关于欧洲人 CYP11B2 - 344C/T 基因多态性与 EH 关系研究显示:EH 与 -344T/C 基因多态性有显著的相关性^[5,6]。国内李庆祥等^[7]在对中国人 EH 与 CYP11B2 基因 -344C/T 多态性相关的研究中发现,中国人 EH 标志可能是 T 等位基因。本研究的目的旨在通过检测高血压伴肥胖患者 RAAS 激素水平和 CYP11B2 - 344C/T 基因多态性,探讨两者间的相关性,寻找基因易患型,为高血压伴肥胖患者的发病机制及治疗提供依据。

1 对象和方法

1.1 材料

血液基因小量提取试剂盒、引物(大连宝生物公司),PCR 缓冲液试剂盒、DNA Maker I、DNA Maker II(康为世纪生物科技有限公司),限制性内切酶 Hae III(美国 Fermentans 公司)。

1.2 研究对象

收集到南华大学附属第二医院就诊及体检者共 120 例,分为原发性高血压伴肥胖组、原发性高血压组、单纯肥胖组、健康对照组,每组 30 例。入选对象均为汉族人群,个体间不存在血缘关系。测定所有入选者体重、血压、身高、臀围、腰围,并计算体质指数(body mass index, BMI)及腰臀比(waist-to-hip ratio, WHR)。高血压诊断标准符合 2010 年世界卫生组织/国际高血压协会诊断标准判定,排除继发性高血压、其他心血管系统疾病、糖尿病、肝肾功能

不全。肥胖诊断标准符合《中国成人超重和肥胖症预防控制指南 2004》。排除血压 $\geq 180/110$ mmHg、心、脑血管疾病、肝肾功能不全、甲状腺、糖尿病、各种内分泌疾病、各种神经精神性因素及遗传性疾病所致的高血压及肥胖。

1.3 检测指标

入选者禁食 12 h 后在清晨采集 10 mL 空腹外周静脉血,取 2 mL 置于 EDTA 抗凝管中, -80°C 冰箱保存用于提取 DNA; 3 mL 送检测定空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)以及肝、肾功能等;另 5 mL 静脉血采用放射免疫法检测血浆肾素、血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)和醛固酮水平。采用 PCR-RFLP 和琼脂糖凝胶电泳检测 CYP11B2 - 344C/T 基因多态性,用限制性内切酶 Hae III 对 -344 位点的 PCR 产物进行酶切。

1.4 统计学方法

用 χ^2 检验确定各实验组和对照组的基因型频率是否符合 Hardy-Weinberg 平衡和群体代表性,计量资料分别进行单因素方差分析,两两比较采用 SNK-q 检验,计数资料采用 χ^2 检验,两两比较采用 Bonferroni 检验水准调整法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料比较

各组性别、年龄、FBG 水平比较均未见明显差异($P > 0.05$)。原发性高血压伴肥胖组和单纯性肥胖组 BMI、WHR、TC、TG、LDLC、HDLC 水平分别与原发性高血压组和健康对照组比较差异有显著性($P < 0.05$)。原发性高血压伴肥胖组和原发性高血压组收缩压、舒张压分别与单纯性肥胖组和健康对照组比较差异有显著性($P < 0.05$;表 1)。

2.2 血浆 RAAS 激素水平比较

原发性高血压伴肥胖组、原发性高血压组、单纯肥胖组血浆肾素、Ang II 及醛固酮水平分别与健

康对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$) ;原发性高血压伴肥胖组血浆肾素、Ang II 及醛固酮水平分别与原发性高血压组、单纯肥胖组比较差异有显著性 ($P < 0.05$;表 2)。

表 1. 各组临床资料比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Comparison of clinical data in each group

项 目	原发性高血压伴肥胖组 (<i>n</i> = 30)	原发性高血压组 (<i>n</i> = 30)	单纯肥胖组(<i>n</i> = 30)	健康对照组(<i>n</i> = 30)
男/女(例)	19/11	17/13	18/12	16/14
年龄(岁)	45. 27 ± 0. 93	45. 47 ± 1. 06	40. 77 ± 1. 87	40. 63 ± 1. 60
BMI(kg/m ²)	29. 53 ± 0. 19 ^{ab}	20. 77 ± 0. 23	29. 57 ± 0. 21 ^{ab}	20. 57 ± 0. 25
WHR	0. 940 ± 0. 004 ^{ab}	0. 810 ± 0. 009	0. 950 ± 0. 007 ^{ab}	0. 790 ± 0. 008
收缩压(mmHg)	167. 60 ± 1. 64 ^{ac}	164. 00 ± 1. 88 ^{ac}	124. 73 ± 1. 76	120. 672. 12
舒张压(mmHg)	100. 00 ± 0. 92 ^{ac}	98. 27 ± 0. 99 ^{ac}	77. 67 ± 1. 29	75. 13 ± 1. 37
TC(mmol/L)	7. 10 ± 0. 74 ^{ab}	4. 51 ± 0. 79	7. 02 ± 0. 68 ^{ab}	4. 48 ± 0. 74
TG(mmol/L)	2. 53 ± 0. 22 ^{ab}	1. 48 ± 0. 23	2. 50 ± 0. 20 ^{ab}	1. 43 ± 0. 28
LDLC(mmol/L)	5. 01 ± 0. 52 ^{ab}	3. 09 ± 0. 36	4. 00 ± 0. 47 ^{ab}	3. 00 ± 0. 90
HDLc(mmol/L)	0. 90 ± 0. 13 ^{ab}	1. 39 ± 0. 26	0. 95 ± 0. 11 ^{ab}	1. 45 ± 0. 21
FBG(mmol/L)	5. 27 ± 0. 56	5. 19 ± 0. 55	5. 14 ± 0. 60	4. 90 ± 0. 13

a 为 $P < 0.05$,与健康对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与原发性高血压组比较;c 为 $P < 0.05$,与单纯肥胖组比较。

表 2. 各组 RAAS 激素水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2. Comparison of RAAS hormone levels in each group

指 标	原发性高血压伴肥胖组 (<i>n</i> = 30)	原发性高血压组 (<i>n</i> = 30)	单纯肥胖组(<i>n</i> = 30)	健康对照组(<i>n</i> = 30)
肾素[$\mu\text{g}/(\text{L} \cdot \text{h})$]	6. 15 ± 0. 28 ^{abc}	5. 73 ± 0. 42 ^a	5. 67 ± 0. 58 ^a	2. 85 ± 0. 46
Ang II (ng/L)	122. 97 ± 1. 26 ^{abc}	97. 17 ± 1. 08 ^a	98. 90 ± 0. 95 ^a	64. 67 ± 1. 43
醛固酮(nmol/L)	0. 950 ± 0. 005 ^{abc}	0. 900 ± 0. 008 ^a	0. 890 ± 0. 009 ^a	0. 450 ± 0. 006

a 为 $P < 0.05$,与健康对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与原发性高血压组比较;c 为 $P < 0.05$,与单纯肥胖组比较。

2.3 CYP11B2 - 344C/T 基因型和等位基因频率分布

原发性高血压伴肥胖组、原发性高血压组、单纯肥胖组、健康对照组 CYP11B2 - 344C/T 位点的基因型分布频率期望值与观察值的差异均无统计学意义(原发性高血压伴肥胖组 $\chi^2 = 0.098$,原发性高血压组 $\chi^2 = 0.300$,单纯肥胖组 $\chi^2 = 0.317$,健康对照组 $\chi^2 = 0.287$, P 均 > 0.05),符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡。说明所选样本来自一个随机分配平衡群体,具有代表性,且无明显分层现象。

CC、TC 和 TT 基因型分布在原发性高血压伴肥胖组分别为 7%、13% 和 80%,在原发性高血压组分别为 10%、20% 和 70%,在单纯性肥胖组分别为

7%、20% 和 73%,在健康对照组分别为 27%、33% 和 40%。各组基因型分布比较差异有显著性 ($P < 0.05$)。原发性高血压伴肥胖组、原发性高血压组和单纯性肥胖组分别与健康对照组的 TT 基因型与 TC + CC 基因型进行多重比较,有显著性差异 ($P < 0.05$),其中以原发性高血压伴肥胖组差异最为显著。原发性高血压伴肥胖组、原发性高血压组和单纯性肥胖组分别与健康对照组的 T 与 C 等位基因进行多重比较,有显著性差异 ($P < 0.05$),其中以原发性高血压病伴肥胖组差异最为明显;而原发性高血压伴肥胖组与原发性高血压组、原发性高血压伴肥胖组与单纯性肥胖组、原发性高血压组与单纯性肥胖组进行比较,差异均无显著性 ($P > 0.05$;表 3)。

表 3. 各组 CYP11B2 – 344C/T 基因型和等位基因频率分布

Table 3. Distribution of CYP11B2 – 344C/T genotype and allele frequency in each group

分 组	基因型			等位基因	
	TT	TC	CC	T	C
原发性高血压伴肥胖组 (n = 30)	24(80%) ^a	4(13%)	2(7%)	52(87%) ^a	8(13%)
原发性高血压组 (n = 30)	21(70%) ^a	6(20%)	3(10%)	48(80%) ^a	12(20%)
单纯肥胖组 (n = 30)	22(73%) ^a	6(20%)	2(7%)	50(83%) ^a	10(17%)
健康对照组 (n = 30)	12(40%)	10(33%)	8(27%)	34(57%)	26(43%)

a 为 $P < 0.05$, 与健康对照组比较。

2.4 CYP11B2 – 344C/T 基因型与血浆 RAAS 激素水平的关系

TT 基因型组血浆肾素、Ang II 及醛固酮水平显著高于 TC、CC 基因型组 ($P < 0.05$), TC 基因型组血浆肾素、Ang II 及醛固酮水平与 CC 基因型组比较差异无显著性 ($P > 0.05$; 表 4)。

表 4. CYP11B2 – 344C/T 基因型与血浆 RAAS 激素水平关系 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4. The relationship between CYP11B2344C/T genotype and plasma levels of RAAS

项 目	TT (n = 78)	TC (n = 27)	CC (n = 15)
肾素 (ng/mL/h)	5.75 \pm 0.14 ^a	4.56 \pm 0.29	3.71 \pm 0.38
AngII (ng/L)	101.66 \pm 2.29 ^a	87.78 \pm 4.29	76.93 \pm 4.64
醛固酮 (nmol/L)	0.94 \pm 0.03 ^a	0.74 \pm 0.04	0.60 \pm 0.05

a 为 $P < 0.05$, 与 TC 基因型组或 CC 基因型组比较。

3 讨 论

EH 是心血管疾病中最常见的疾病之一。有资料表明肥胖和超重与血压之间存在着正相关, 是 EH 最主要的危险因素之一^[8]。RAAS 异常是高血压的主要发病机制, 肾素、Ang II 及醛固酮对血压的调节起着重要作用, 三者之间的任一因素异常都有导致血压异常的可能。醛固酮是 RAAS 重要的影响因素之一, 醛固酮的合成受其合成酶的调节, 有研究发现醛固酮合成酶 CYP11B2 – 344C/T 基因多态性对醛固酮的合成有着重要影响。

研究显示, 原发性高血压伴肥胖的大鼠脂肪组织中发现血管紧张素原 (angiotensinogen, AGT) 水平明显增高, 并且发现脂肪组织 AGT、血浆肾素和 ACE 的浓度及活性均与肥胖程度密切相关, 提示肥胖性高血压患者 RAAS 的主要来源^[9]是脂肪组织分

泌的 RAAS, 血循环中 RAAS 水平与肥胖的程度呈正比^[10,11]。本研究中, 高血压伴肥胖患者血浆 RAAS 各组份同样较对照组水平增高, 与此相符。分析 RAAS 系统, 可能通过如下机制引起肥胖相关性高血压: ①高血压伴肥胖患者体内增多的脂肪组织可能是引起醛固酮分泌水平增多的主要因素之一; ②通过刺激局部的肾上腺能神经末梢使去甲肾上腺素分泌增多, 使交感活性增强, 血管张力增加, 导致血压升高; ③肥胖者氧化应激反应明显增强, 使其活性氧增多, 导致内皮功能失调, 血管平滑肌细胞异常增殖、重塑, 引起血压异常升高; ④肾动脉增厚, 血压增高; ⑤肾脏对水钠的吸收增强, 均可引起血压增高。

从本研究中我们发现, CYP11B2 – 344C/T 基因多态性与原发性高血压伴肥胖患者的发生有关, T 为易患等位基因, TT 为易患基因型。Goodfriend 等^[12]通过对不同人群的 BMI 及醛固酮水平进行测量, 发现血浆醛固酮含量较高的人群是肥胖患者, 尤其以腹型肥胖为甚, 因此肥胖被认为是醛固酮增加的先兆。因为目前对于 CYP11B2 基因 C – 344T 多态性的研究范围、种族、性别等不同, 研究结果也不尽一致。杜志荣等^[13]发现哈萨克族高血压发病率高的主要因素可能与超重、高脂血症有关, 但 CYP11B2 基因 – 344C/T 多态性对高血压发生、发展是否有重要影响还不明确, 可通过扩大样本研究, 进一步寻找支持该观点的证据。

Nicod 等^[14]在对高血压患者的研究中表明: – 344T/C 基因多态性与血浆醛固酮水平相关, 与携带 – 344T 基因型密切相关; 而 Barbato 等^[15]在对多种族人群的研究中, 通过调整年龄、种族和性别后, TT 基因型的血浆醛固酮水平要比 CC 基因型高出约 14%, 舒张压和收缩压分别高出 2.1 mmHg 和 3.7 mmHg, 进一步证实 TT 基因型血浆醛固酮水平

明显增高,与本研究大致相同。为何 TT 基因型 RAAS 处于明显激活状态,而不仅仅是血浆醛固酮浓度升高,还有待进一步研究。

目前对于原发性高血压伴肥胖患者的发病机制多从基因方面研究,期望能从源头治疗此疾病,本研究在联合 RAAS 激素水平与 CYP11B2 基因多态性对原发性高血压伴肥胖患者的影响中发现,原发性高血压伴肥胖人群 RAAS 激素水平的增高对于血压的发生、发展有着重要影响作用,而携带 CYP11B2 - 344T 型基因的患者更易患高血压病。本研究若进一步扩大样本,结论将更具有可靠性,能为原发性高血压伴肥胖患者的治疗提供依据,临床指导的意义更大。

原发性高血压伴肥胖患者 CYP11B2 - 344C/T 基因型以 TT 基因型为主,等位基因以 T 等位基因为主,TT 基因型血浆 RAAS 激素水平各组份比 TC、CC 基因型显著升高,TT 基因型可能为原发性高血压伴肥胖患者易感基因型。

[参考文献]

[1] Liu K, Liu Y, Liu J, et al. α -adducin Gly460Trp polymorphism and essential hypertension risk in Chinese: a meta-analysis[J]. *Hypertens Res*, 2011, 34: 389-399.

[2] 张长桂, 赵建华, 吴明光, 等. 超重、肥胖与血压、血糖关系的 Logistic 回归分析[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2006, 14 (2): 127-128.

[3] 叶菲. 脂肪组织局部肾素血管紧张素系统与代谢综合征[J]. *国际内科学杂志*, 2009, 36 (2): 142-145.

[4] Bellili NM, Foucan L, Fumeron F, et al. Associations of the -344 T > C and the 3097 G > A polymorphisms of CYP11B2 gene with hypertension, type 2 diabetes and metabolic syndrome in a French population[J]. *Am J Hypertens*, 2010, 23: 660-667.

[5] Brand E, Chatelain N, Mulatero P, et al. Structural analysis and evaluation of the aldosterone synthase gene in hy-

pertension[J]. *Hypertension*, 1998, 32 (2): 198-204.

[6] Davies E, Holloway CD, Ingram MC, et al. Aldosterone excretion rate and blood pressure in essential hypertension are related to polymorphic differences in the aldosterone synthase gene CYP11B2 [J]. *Hypertension*, 1999, 33: 703-707.

[7] 李庆祥, 张宇清, 靳风艳, 等. 醛固酮合成酶 (CYP11B2) 基因 T(-344)C 多态性与高血压病相关性研究[J]. *高血压杂志*, 2003, 11 (3): 53-55.

[8] 吴锡桂, 武阳丰, 周北凡, 等. 我国十组人群高血压发病率及其影响因素[J]. *中华医学杂志*, 1996, 76 (1): 24-29.

[9] Olivares-Reyes JA, Arellano-Plancarte A, Castillo-Hernandez JR. Angiotensin II and the development of insulin resistance: implications for diabetes[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 302 (2): 128.

[10] Cook S, Weitzman M, Auinger P, et al. Prevalence of a metabolic syndrome phenotype in adolescents [J]. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2003, 157 (8): 821.

[11] 姚春莉, 刘媛. 代谢综合征病因及发病机制研究进展[J]. *实用医学杂志*, 2008, 24 (20): 3 453.

[12] Goodfriend TL, Egan BM, Kelley DE. Aldosterone in obesity[J]. *Endocr Res*, 1998, 24: 789-796.

[13] 杜志荣, 张琳, 张彬, 等. 醛固酮合成酶基因多态性与哈萨克族人群高血压的关系[J]. *医学研究杂志*, 2011, 40 (1): 46-49.

[14] Nicod J, Bruhin D, Auer L, et al. A biallelic gene polymorphism of CYP11B predicts increased aldosterone to renin ratio in selected hypertensive patients[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88 (6): 2 495-500.

[15] Barbato A, Russo P, Siani A, et al. Aldosterone synthase gene (CYP11B2) C - 344T polymorphism, plasma aldosterone, rennin activity and blood pressure in a multi-ethnic population [J]. *Hypertens*, 2004, 22 (10): 1 895-901.

(此文编辑 文玉珊)