

血管紧张素转化酶基因插入/缺失多态性与冠心病的关系

胡福莉^① 白玉茹 伍严安^② 陈发文^② 陈慧 胡锡衷

(福建省立医院心内科, ②检验科, 福州 350001)

Association between Angiotensin Converting Enzyme Gene Insertion/Deletion Polymorphism and Coronary Artery Disease

HU Fu-Li^①, BAI Yu-Ru^①, WU Yan-An^②, CHEN Fa-Wen^②, CHEN Hui^① and HU Xi-Zhong^①

(①Department of Cardiology, ②Department of Laboratory, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China)

ABSTRACT

Aim To study the association between insertion/deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene and coronary artery disease.

Methods The insertion/deletion of a 287 base pairs segment in 16 intron of angiotensin converting enzyme gene in 79 coronary artery disease patients and 68 healthy subjects was detected by polymerase chain reaction. The subjects were divided into three groups: homozygotes for the deletion, homozygotes for the insertion and heterozygotes, according to its presence or absence. The serum angiotensin converting enzyme activity was also detected.

Results The deletion genotype frequency in coronary artery disease group was marked higher than in controls ($P < 0.05$). The frequency of deletion allele was also greater than that in controls ($P < 0.05$). The serum angiotensin converting enzyme activity between coronary artery disease patients and controls was similar. But it was significantly different among different genotypes in two groups. The deletion genotype had the highest, insertion genotype had the

lowest.

Conclusion The insertion/deletion polymorphism of angiotensin converting enzyme gene is associated with coronary artery disease, and the deletion genotype perhaps is a risk factor for coronary artery diseases. The elevated serum angiotensin converting enzyme level may contribute to the generation of coronary artery disease in patients who have deletion genotype.

KEY WORDS Angiotensin converting enzyme; Gene polymorphism; Coronary artery disease

摘要 为探讨血管紧张素转化酶基因插入/缺失多态性与冠心病的关系,用多聚酶链反应方法检测79例冠心病患者和68例健康人血管紧张素转化酶基因第16内含子中长度为287 bp碱基片段的插入/缺失情况,按其存在与否将研究对象分为缺失型纯合子、插入型纯合子和杂合子,同时检测血清血管紧张素转化酶活性。结果发现冠心病组中缺失型基因频率显著高于对照组($P < 0.05$),缺失型等位基因频率较对照组亦明显增高($P < 0.05$)。对照组与冠心病组间血清血管紧张素转化酶活性比较无明显差别,但两组内不同基因型之间血管紧张素转化酶活性均存在显著差别,缺失型最高,插入型最低。以上结果提示,血管紧张素转化酶基因插入/缺失多态性与冠心病有关,缺失型可能是冠心病发生的危险因素之一,血管紧张素转化酶基因缺失型者冠心病的发生可能与其较高的血清转化酶水平有关。

关键词 血管紧张素转化酶; 基因多态性; 冠心病

近年来随着分子生物学技术的发展,人们对血管紧张素转化酶(angiotensin converting enzyme, ACE)基因进行深入研究发现,以其16内含子中长度为287 bp的Alu片段的存在与否为标志,ACE基因存在多态性,并证实其

福建省卫生厅科研资助项目(96011)

①研究生,现在河北省人民医院心内科, 050000

多态性与循环 ACE 水平有关,负责 47% 的血清 ACE 水平变异^[1]。由于 ACE 是肾素-血管紧张素系统中一个重要的酶,在高血压病和冠心病(coronary artery disease)等心血管疾病的发生中具有重要作用,因而有学者对 ACE 基因插入/缺失(insertion/deletion, I/D)多态性与一些心血管疾病间的关系进行研究,发现 ACE 基因缺失型等位基因是高血压病、冠心病、心肌病等心血管疾病的危险因素^[2-4],但亦有结果表明缺失型等位基因与心血管疾病的发生无关^[5-6]。因而本文将探讨在我国人群中,ACE 基因 I/D 多态性与冠心病发生之间的关系。

1 对象与方法

1.1 对象

冠心病组患者 79 例,男性 40 例,女性 39 例,平均年龄 62.08 ± 6.55 岁,其中不稳定型心绞痛(unstable angina pectoris, UA)患者 43 例,均有典型心绞痛症状,动态心电图及放射性核素心肌断层显像检查均有缺血性改变。心肌梗塞(myocardial infarction, MI)病人 36 例,其中陈旧性 MI 者 27 例,急性 MI 者 9 例,均有典型临床症状,并经心电图及酶学检查所证实。

对照组患者 68 例,男性 30 例,女性 36 例,平均年龄 56.33 ± 6.64 岁。

以上两组对象均经严格检查排除心肌病、心脏瓣膜病、结缔组织病、肺脏疾病、肝肾疾病、糖尿病及其它内科疾病。

1.2 方法

1.2.1 ACE 基因型检测 取 2 mL 静脉血,常规分离白细胞,提取 DNA 进行多聚酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)。PCR 引物为:

正向 5' CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT 3',
反向 5' GATGTGGCCATCACATTGTCAGAT 3'。
程序设计为:94℃变性 1 min → 58℃退火 1 min → 72℃延伸 2 min,循环 30 次。PCR 反应产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,溴乙酰胺染色观察^[7]的结果如图 1(Figure 1)。在图 1(Figure 1)中,只有一条 190 bp 片段的为缺失型纯合子(homozygotes for the deletion, DD),只有一条 490 bp 片段的为插入型纯合子(homozygotes for the insertion, II),既有 190 bp 片段,又有 490 bp 片段的为杂合子(heterozygotes, ID)。

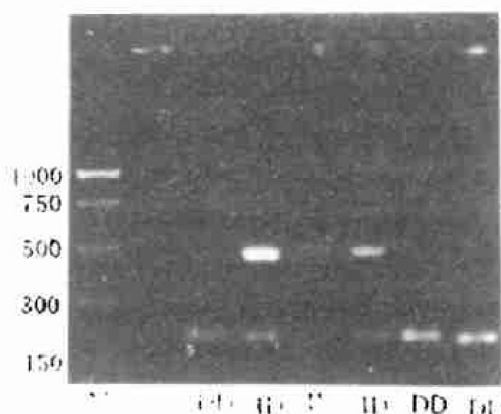


Figure 1. PCR products from amplification of the polymorphic region in intron 16 of the ACE gene. M: molecular weight makers, DD: homozygotes for the deletion, II: homozygotes for the insertion, ID: heterozygotes.

1.2.2 血清 ACE 活性测定 药盒购自中国人民解放军海军总医院。操作步骤按药盒说明书进行。采用紫外法测定 ACE 活性。

1.2.3 统计方法 两组间不同基因型及等位基因频率比较采用卡方检验,不同组间 ACE 活性比较按要求进行 *t* 检验或方差分析, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

2 结果

2.1 血管紧张素转化酶基因插入/缺失多态性与冠心病关系

冠心病组 DD 基因型显著高于对照组 ($\chi^2 = 4.71, P < 0.05$), D 等位基因型亦较对照组显著增高 ($\chi^2 = 6.53, P < 0.05$)。

2.2 不稳定型心绞痛组与心肌梗塞组血管紧张素转化酶基因型分布

不稳定型心绞痛(UA)组 ACE DD 基因型及 D 等位基因频率较 MI 组均有所增高,但差异未达显著水平 ($P > 0.05$)。

2.3 血管紧张素转化酶基因型与血清转化酶活性的关系

对照组血清 ACE 活性为 25.87 ± 5.38 u, 冠心病组为 27.32 ± 4.54 u, 两者比较无显著差别。但两组内不同基因型之间 ACE 活性均存在明显差别, ID 型较 II 型, DD 型较 ID 型显著增高, ($P < 0.05$), DD 型较 II 型极显著增高 ($P <$

0.01)。

Table 1. Genotype distribution and relative allele frequencies in coronary artery disease patients and controls.

Groups	n	ACE genotype			Allele	
		II	ID	DD	I	D
Control	68	28(0.41)	22(0.32)	18(0.26)	78(0.57)	58(0.43)
CAD	79	22(0.28)	23(0.29)	34(0.43) ^a	67(0.42)	91(0.58) ^a

a: $P < 0.05$, compared with control group. DD: homozygotes for the deletion, II: homozygotes for the insertion, ID: heterozygotes.

Table 2. Genotype distribution and relative allele frequencies in unstable angina pectoris patients and myocardial infarction patients.

Groups	n	ACE genotype			Allele	
		II	ID	DD	I	D
UA	43	11(0.26)	12(0.28)	20(0.46)	34(0.40)	52(0.60)
MI	36	11(0.305)	11(0.305)	14(0.39)	33(0.46)	39(0.54)

DD: homozygotes for the deletion, II: homozygotes for the insertion, ID: heterozygotes.

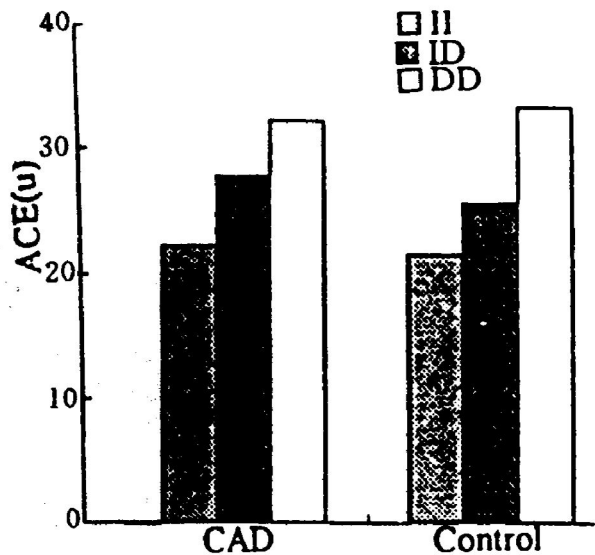


Figure 2. The serum angiotensin converting enzyme activity in different genotypes in two group.

3 讨论

血管紧张素转化酶(ACE)可以催化血管紧张素 I 的生成,加速缓激肽的灭活,使冠状动脉张力增加,平滑肌细胞增殖,与冠状动脉粥样硬化的形成有着密切联系。因而血管紧张素转化酶基因 I/D 多态性与冠心病发生之间的关系是目前国内外研究的热点。

1992年,Cambien 研究发现,心肌梗塞患者

血管紧张素转化酶基因 DD 型频率明显高于对照组,而且这种差异即使在低载脂蛋白 B、低体重指数人群中仍然显著,认为 DD 基因型是心肌梗塞的独立危险因素^[8]。但亦有人持相反的观点;认为两者间无明显关联^[5]。在本组研究中发现冠心病患者中 DD 基因型较对照组明显增高 ($P < 0.05$),D 等位基因频率亦高于对照组 ($P < 0.05$)。提示在我国人群中 DD 基因型是冠心病发生的危险因素之一。该结论与 Nakai 等^[9]对日本人群的报道一致。

由于 Morris^[10]等曾报道血管紧张素转化酶基因 DD 型者死亡危险增加,因而我们进一步比较了不稳定型心绞痛与心肌梗塞组间血管紧张素转化酶基因型分布情况。发现两组间血管紧张素转化酶基因型及等位基因分布均无显著差别,与 Morris 等观点不一致。其原因是由于心肌梗塞患者中有 75% 为陈旧性所致有待于进一步证实。

本研究对血清血管紧张素转化酶活性的比较发现对照组与冠心病组间血管紧张素转化酶活性无明显差别,提示血清血管紧张素转化酶活性不受心肌供血情况的影响。但在两组内 II、

ID 和 DD 不同基因型之间,血管紧张素转化酶活性依次升高,提示血管紧张素转化酶基因 I/D 是决定血清血管紧张素转化酶活性的重要因素。血管紧张素转化酶基因 DD 型者冠心病的发生可能与其较高的血清血管紧张素转化酶活性有关,其确切机制有待于进一步研究探讨。

参考文献

- 1 Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest*, 1990, **86**: 1 343~346.
- 2 Morris BJ, Zee RY, Ying LH, et al. Independent marked association of alleles of the insulin receptor and dipeptidyle carboxypeptidase-I gene with essential hypertension. *Clin Sci Colch*, 1993, **82**(2): 189~195.
- 3 Mattu RK, Edward WA, Galton DJ, et al. A DNA variant at the ACE gene locus associates with coronary artery disease in the gaerphillg heart study. *Circulation*, 1995, **91**: 270.
- 4 陆林, 于金德, 况少青, 等. 血管紧张素转化酶基因缺失多态性与肥厚型心肌病的关系. *临床心血管病杂志*, 1996, **12**: 137~139.
- 5 Lindpaintner K, Pfeffer MA, kreutz R, et al. A prospective evaluation of an angiotensin converting enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med*, 1995, **332**: 706.
- 6 Harrap SB, Davidson HR, Connor JM, et al. The angiotensin I converting enzyme gene and predisposition to high blood pressure. *Hypertension*, 1993, **21**(4): 455~460.
- 7 Rigat B, Hubert C, Corrol P, et al. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DP-1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1). *Nucleic Acids Res*, 1990, **20**: 1 443.
- 8 Cambien F, Poirier O, Lecerf L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk for myocardial infarction. *Nature*, 1992, **359**: 641.
- 9 Nakai K, Itoh C, Miura Y, et al. Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in Japanese. *Circulation*, 1994, **90**(5): 2 199~202.
- 10 Morris BJ, Zee RY, Schrader AP. Different frequencies of angiotensin converting enzyme genotypes in older hypertensive individuals. *J Clin Invest*, 1994, **94**: 1 085~089.

(1997-07-25 收到, 1997-11-30 修回)