

• 临床研究 •

[文章编号] 1007-3949(2009)17-12-1018-03

原发性高血压血管紧张素原、血管紧张素转化酶、心房钠尿肽基因多态性分析

熊玮¹, 骆瑜², 杨纯玉², 梁旭²

(暨南大学医学院附属第二医院 深圳市人民医院, 1. 急诊科, 2. 老年病科, 广东省深圳市 518000)

[关键词] 原发性高血压; 基因多态性; 血管紧张素原; 血管紧张素转化酶; 心房钠尿肽

[摘要] 目的 研究中国南方汉族人群中血管紧张素原、血管紧张素转化酶及心房钠尿肽基因多态性与原发性高血压的关系。方法 选择原发性高血压患者 81 例及对照者 120 例, 采用基因芯片技术检测血管紧张素原、血管紧张素转化酶及心房钠尿肽基因多态性, 并比较其基因型及等位基因频率。结果 高血压组血管紧张素原 TT 基因型频率为 53.1%, 与对照组 (45.8%) 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 高血压组患者血管紧张素转化酶 DD 基因型频率为 48.1%, 与对照组 (4.2%) 比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$); 高血压组心房钠尿肽 CC 基因型频率为 6.1%, 与对照组 (8.3%) 相比, 差异亦无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 血管紧张素转化酶基因多态性可能与原发性高血压的发生有相关性。

[中图分类号] R541

[文献标识码] A

The Gene Polymorphisms of Angiotensinogen, Angiotensin Converting Enzyme and Atrial Natriuretic Peptide in Essential Hypertension

XIONG Wei¹, LUO Yu², YANG Chun-Yu², and LIANG Xu²

(1. Department of Emergency, 2. Department of Gerontology, The Second Affiliated Hospital of JNan Medical College of JNan University, Shenzhen People's Hospital Shenzhen 518000 China)

[KEY WORDS] Essential Hypertension; Gene Polymorphism; Angiotensinogen; Angiotensin Converting Enzyme; Atrial Natriuretic Peptide

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the association between the polymorphisms of angiotensinogen gene (AGT_{235}), angiotensin converting enzyme gene ($ACE_{1/D}$), atrial natriuretic peptide gene (ANP_{2238}) and essential hypertension in a southern Chinese Han population. **Methods** Performed by gene chip technology, the genotypes of 81 essential hypertensive people and 120 control people were measured to analyze the polymorphisms of AGT_{235} , $ACE_{1/D}$ and ANP_{2238} .

Results A significantly higher frequency of $ACE_{1/D}$ DD genotype was observed in hypertensive group (48.1% vs 4.2%, $P < 0.001$) than in control group. In hypertensive group, the frequency of AGT_{235} TT genotype and ANP_{2238} CC genotype was respectively 53.1% and 6.1%, while it was respectively 45.8% and 8.3% in control group. No significant differences were observed ($P > 0.05$). **Conclusion** The polymorphism of $ACE_{1/D}$ gene is related to essential hypertension.

原发性高血压 (essential hypertension, EH) 是遗传和环境因素相互作用所致的复杂性疾病, 是多种心脑血管病的独立危险因素。研究 EH 的易感基因有助于阐明 EH 的病因, 为其防治提供依据。国内外的研究显示, 血管紧张素原 (angiotensinogen, AGT_{235})、血管紧张素转化酶 (angiotensin converting enzyme, $ACE_{1/D}$) 和心房钠尿肽 (atrial natriuretic peptides, ANP_{2238}) 的基因多态性与 EH 具有相关性, 但结果尚不一致^[1]。本研究采用基因芯片技术, 检测

EH 人群 AGT_{235} 、 $ACE_{1/D}$ 以及 ANP_{2238} 3 种基因的多态性, 分析 EH 的易感基因。

1 对象和方法

1.1 研究对象

201 例病例均来自 2006 年 4 月 ~ 2009 年 4 月深圳市人民医院保健体检部和老年病科的就诊患者。EH 患者 81 例, 诊断符合 WHO 关于 EH 的诊断标准, 年龄 56 ~ 93 岁, 平均 76.79 ± 6.96 岁, 男 62 例, 女 19 例。对照组 120 例, 年龄 38 ~ 59 岁, 平均 50.91 ± 5.59 岁, 男 105 例, 女 15 例。经相关检查除外引起继发性高血压的疾病, 以及糖尿病、慢性肝病、慢性肾病、恶性肿瘤等。所有病例均为无血缘关系的华南地区汉族人群。

[收稿日期] 2009-10-29

[修回日期] 2009-12-15

[作者简介] 熊玮, 博士研究生, 主治医师, 研究方向为心血管病学, E-mail 为 xw1012@sina.com。骆瑜, 主治医师, 研究方向为老年病学。通讯作者梁旭, 主任医师, 研究方向为老年病学, E-mail 为 liangxu916@hotmail.com。

1.2 血脂、血糖检测

所有受试者空腹 8 h 以上,于清晨取卧位肘静脉血常规测定总胆固醇 (total cholesterol TC)、甘油三酯 (triglyceride TG)、低密度脂蛋白 (low density lipoprotein LDL)、高密度脂蛋白 (high density lipoprotein HDL) 及血糖 (blood glucose BG)。

1.3 基因多态性分析

抽取受检者肘静脉血 3 mL, 乙二胺四乙酸 (ethylenedinitrioltetraacetic acid EDTA) 抗凝, 快速裂解法提取基因组 DNA。分别在各扩增液管中加入 Taq 酶溶液 0.8 mL; 在各扩增液管中分别加入阴性对照管溶液、阳性对照管溶液或抽提的样品上清液, 混匀; 在聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 仪中按下列条件扩增: 94℃ 25 s, 56℃ 25 s, 74℃ 25 s, 40 个循环后 72℃ 25 s。取各管 PCR 扩增产物于 98℃ 热变性 5 min, -20℃ 保存; 在杂交舱进行杂交; 加入显色液, 44℃ 放置 44 min。BaD 基因芯片识读仪检测, 图像经 Array Doctor 软件分析, 检测 AGT₂₃₅、ACE_{I/D} 及 ANP₂₂₃₈ 基因多态性位点。BaD 基因芯片识读仪和基因芯片检测所需的试剂由上海百傲公司提供。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 16 软件包进行统计学处理。血脂、血糖以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, AGT₂₃₅、ACE_{I/D} 及 ANP₂₂₃₈ 基因型及等位基因频率之间的比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 高血压组和对照组的一般资料

两组的血脂和血糖相比, 差异无显著性 ($P > 0.05$, 表 1)。

表 1 高血压组和对照组的一般资料

项目	高血压组 (n = 81)	对照组 (n = 120)
总胆固醇 (mmol/L)	4.65 ± 1.06	4.38 ± 1.24
甘油三酯 (mmol/L)	1.64 ± 1.14	1.29 ± 0.78
低密度脂蛋白 (mmol/L)	2.78 ± 1.29	2.86 ± 1.25
高密度脂蛋白 (mmol/L)	1.13 ± 0.37	1.25 ± 0.43
血糖 (mmol/L)	5.6 ± 0.4	5.2 ± 0.6

2.2 高血压组和对照组的基因型及等位基因分布

高血压组和对照组的基因型频率适合度检测均

符合 Hardy-Weinberg 平衡。高血压组及对照组 AGT₂₃₅ TT 基因型频率分别为 53.1% 和 45.8%, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 5.96, P > 0.05$, 表 2)。高血压组 ACE_{I/D} DD 基因型频率为 48.1%, 与对照组 (4.2%) 比较, 差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 56.76, P < 0.001$)。两组 D 等位基因频率分别为 59% 和 30%, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 31.6, P < 0.01$; 表 3)。高血压组及对照组 ANP₂₂₃₈ CC 基因型频率分别为 6.1% 和 8.3%, 差异无统计学意义 ($\chi^2 = 3.46, P > 0.05$, 表 4)。

表 2 血管紧张素原基因型及等位基因频率 (例)

组别	基因型			等位基因	
	TT	MT	MM	T	M
高血压组	43 (53.1%)	35 (43.2%)	3 (3.7%)	75%	25%
对照组	55 (45.8%)	48 (40.0%)	17 (14.2%)	66%	34%

表 3 血管紧张素转化酶基因型及等位基因频率 (例)

组别	基因型			等位基因	
	DD	DI	II	D	I
高血压组	39 (48.1%) ^a	17 (21.0%)	25 (30.9%)	59% ^b	41%
对照组	5 (4.2%)	63 (52.5%)	52 (43.3%)	30%	70%

a 为 $P < 0.001$, b 为 $P < 0.01$, 与对照组比较。

表 4 心房钠尿肽基因型及等位基因频率 (例)

组别	基因型			等位基因	
	CC	CT	TT	C	T
高血压组	5 (6.1%)	6 (7.4%)	70 (86.5%)	10%	90%
对照组	10 (8.3%)	7 (5.8%)	103 (85.9%)	11%	89%

3 讨论

肾素血管紧张素醛固酮系统在维持正常血压和电解质平衡中起着十分重要的作用, 对该系统基因的研究已成为 EH 易感基因研究的重点。AGT 基因位于 1q42-43, 包含 5 个外显子和 4 个内含子。AGT 基因在结构上存在多个多态性位点, 其中 M235T 位点被认为与 EH 的关系最密切^[1]。早在 1992 年, Jeunonaitre 等^[2]就发现在 EH 人群中 AGT 基因 M235T 的出现频率显著高于一般人群, 并与高血压存在连锁现象。Pereira 等^[3]也证实, AGT 基因 M235T 多态性是 EH 的独立危险因素, 其等位基因与血压呈正相关。Kato 等^[4]在研究中发现, 在 M235T 的 3 种基因型中, 携带 TT 基因型和 MT 基因型人群的血压较携带 MM 基因型者分别升高了

20%和10%。国内学者吴美华等^[5]对上海地区EH患者的研究也发现,AGT基因M235T变异与高血压发病相关联。刘艳等^[6]报道了185例高血压患者和185例正常血压者的研究结果,未发现两组之间M235T多态性的差异有统计学意义,但在女性中M235T的基因型分布存在显著差异,推测M235T多态性可能与女性EH的发病有关。AGT基因M235T多态性是否与EH具有相关性,结论尚不一致,有待进一步研究。

血管紧张素转化酶基因位于17q23,在16号内含子的重复序列中存在插入/缺失(I/D)多态性,这一多态性可以影响该基因的表达并产生不同的基因型。在人类3种ACE基因型中,DD基因型的血清ACE活性最强,II基因型ACE活性最弱,D等位基因可以增加血浆ACE的浓度,导致血压升高^[7]。目前的研究显示,ACE基因I/D多态性不仅与高血压发生相关,而且与高血压的多种并发症有关。在恶性高血压人群中,DD纯合子的比率是普通高血压人群的2倍,表明ACE_{I/D} DD基因型是恶性高血压的危险因素^[8]。Giner等^[9]的研究也显示ACE_{I/D}多态性与盐敏感性高血压有关,但其基因型以II和DI基因型为主,而非DD基因型。

对人类ANP基因多态性研究最多的是3个位点:C664G、G1837A和T2238C^[10]。1995年,国外学者John等^[11]首先报道ANP基因是盐敏感性高血压的易感基因,在基因敲除大鼠中也发现,敲除大鼠ANP基因后不仅会使血压升高,而且会加重心衰^[12]。Kato等^[13]在高血压人群中研究发现ANP基因C664G多态性与EH显著关联;Rubattu等^[14]对缺血性脑卒中患者进行研究,证实T2238C多态性可以增加缺血性脑卒中和再卒中的风险;但国内学者李南方等^[15]对ANP基因T2238C的多态性研究结果表明,ANP T2238C与新疆哈萨克族EH不具有相关性。

在本研究中,我们采用基因芯片技术,分析了201例EH和正常血压者的3个心血管基因的多态性。我们的结果显示,高血压组ACE_{I/D} DD基因型频率为48.1%,与对照组(4.2%)比较,差异具有统计学意义($P < 0.001$)。两组的D等位基因频率分别为59%和30%,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

该结果与Stefansson等^[8]的研究结果一致。而对AGT₂₃₅和ANP₂₂₃₈的研究发现,EH人群与对照组相比,两组基因的基因型和等位基因之间的差异并不显著。我们认为血压水平受基因因素和环境因素的共同影响。不同种族、人群的遗传背景差异很大,基因多态性位点的作用强度不同,以及饮食习惯、居住环境、疾病、样本量大小、统计方法选择等都可能影响研究的结果,导致不同研究之间存在差异。

[参考文献]

- [1] Rudnicki M, Mayer G. Significance of genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system in cardiovascular and renal disease [J]. *Pharmacogenomics* 2009 **10** (3): 463-476
- [2] Jeunemaitre X, Soubrier E, Kotelevtsev YV, et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen [J]. *Cell* 1992 **71** (1): 169-180
- [3] Pereira AC, Mota GF, Cunha RS, et al. Angiotensinogen M235T allele "dosage" is associated with blood pressure phenotypes [J]. *Hypertension* 2003 **41** (1): 25-30
- [4] Kato N, Sugiyama T, Morita H, et al. Angiotensinogen gene and essential hypertension in the Japanese: extensive association study and meta-analysis on six reported studies [J]. *J Hypertens* 1999 **17** (6): 757-763
- [5] 吴美华, 韩战营, 赵光胜, 等. 血管紧张素原基因M235T多态性对中国人瘦素、体脂与血压的影响 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2002 **19** (3): 262-263
- [6] 刘艳, 金玮, 盛辉, 等. 血管紧张素原基因T174M和M235T多态与EH的关系 [J]. *上海医学*, 2004 **127** (9): 662-665
- [7] Mayer B, Schunkert H. ACE gene polymorphism and cardiovascular diseases [J]. *Herz* 2000 **25** (1): 1-6
- [8] Stefansson B, Rikstein A, Rymo L, et al. Angiotensin converting enzyme gene I/D polymorphism in malignant hypertension [J]. *Blood Press* 2000 **9** (2-3): 104-109
- [9] Giner V, Poch E, Bragulat E, et al. Renin-angiotensin system genetic polymorphism and salt sensitivity in essential hypertension [J]. *Hypertension* 2000 **35** (1 Pt 2): 512-517
- [10] Woodard GE, Rosado JA. Recent advances in natriuretic peptide research [J]. *J Cell Mol Med* 2007 **11** (6): 1263-271
- [11] John SWM, Knege JH, Oliver PM, et al. Genetic decreases in atrial natriuretic peptide and salt-sensitive hypertension [J]. *Science* 1995 **267** (5198): 679-681
- [12] Melo LG, Steinhilber ME, Pang SC, et al. ANP in regulation of arterial pressure and fluid-electrolyte balance: lessons from genetic mouse models [J]. *Physiol Genomics* 2000 **3** (1): 45-58
- [13] Kato N, Sugiyama T, Morita H, et al. Genetic analysis of the atrial natriuretic peptide gene in essential hypertension [J]. *Clin Sci* 2000 **98** (3): 251-258
- [14] Rubattu S, Bigatti G, Evangelista A, et al. Association of atrial natriuretic peptide and type A natriuretic peptide receptor gene polymorphisms with left ventricular mass in human essential hypertension [J]. *J Am Coll Cardiol* 2006 **48** (3): 499-505
- [15] 李南方, 张艳敏, 李涛, 等. 新疆哈萨克族原发性高血压与心钠素基因T2238C多态性的关系 [J]. *临床心血管病杂志*, 2005 **21** (9): 513-515

(此文编辑 曾学清)