

新疆汉族和哈萨克族人群内皮型一氧化氮合酶基因 T786C 和 G894T 多态性与原发性高血压的相关分析

张强¹, 邓峰美¹, 何芳¹, 王树人², 卢贤贵¹, 王刚¹, 邹放君¹, 钟华¹, 唐斌³

(1. 石河子大学医学院病理生理学教研室 石河子大学新疆地方与民族高发病教育部重点实验室, 新疆石河子市 832002;

2. 四川大学基础与法医学院, 四川省成都市 610044; 3. 石河子大学医学院第一附属医院, 新疆石河子市 832008)

[关键词] 内皮型一氧化氮合酶; 原发性高血压; 新疆汉族; 哈萨克族; 基因多态性

[摘要] **目的** 探讨新疆汉族和哈萨克族内皮型一氧化氮合酶基因 G894T、T786C 多态性与原发性高血压的相关性。**方法** 选取新疆塔城地区哈萨克族高血压患者 363 人和正常血压者 370 人, 选取汉族高血压患者 346 人, 正常血压者 385 人, 运用多重单碱基延伸分型技术进行内皮型一氧化氮合酶基因 G894T、T786C 多态性分析, 阐明两民族基因型、等位基因频率分布、连锁不平衡模式及构建的单体型与原发性高血压的相关性。**结果** 超重、肥胖、甘油三酯异常及年龄 51 岁以上是两民族患高血压的共同相关危险因素。总人群、原发性高血压组及正常血压组中两民族内皮型一氧化氮合酶基因 G894T、T786C 位点等位基因频率分布差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 两位点间不存在强连锁不平衡。汉族和哈萨克族人群内皮型一氧化氮合酶基因两位点共构成 4 种单体型: GT(75.3% 和 79.6%)、GC(10.8% 和 10.5%)、TT(5.7% 和 9.8%) 及 TC(8.2% 和 0.1%)。两民族单体型频率分布最高为 GT, 汉族和哈萨克族人群单体型频率分布最低分别是 TC、TT, 且两民族间单体型 GT、TT、TC 频率分布差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 新疆汉族和哈萨克族人群内皮型一氧化氮合酶基因 G894T、T786C 位点多态可能与原发性高血压不相关。

[中图分类号] R18

[文献标识码] A

Association of G894T, T786C Polymorphisms of eNOS Gene with Essential Hypertension in the Han and Kazakh Populations in Xinjiang

ZHANG Qiang¹, DENG Feng-Mei¹, HE Fang¹, WANG Shu-Ren², LU Xian-Gui¹, WANG Gang¹, ZOU Fang-Jun¹, ZHONG Hua¹, and TANG Bin³

(1. Department of Pathophysiology & Key Laboratory of Xinjiang Endemic and Ethnic Diseases, Ministry of Education of China, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832002, China; 2. West China School of Preclinical and Forensic Medicine, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610044, China; 3. First Affiliated Hospital, College of Medicine, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832008, China)

[KEY WORDS] Endothelial Nitric Oxide Synthase; Essential Hypertension; Han Population in Xinjiang; Kazakh; Gene Polymorphism

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the association of the G894T, T786C polymorphism of the endothelial nitric synthase (eNOS) gene with essential hypertension (EH) in the Han and Kazakh populations in Xinjiang. **Methods**

Based on the case-control study, 346 patients with essential hypertension (EH group) and 385 healthy people (NT group) in Han Chinese population, and 363 patients with essential hypertension (EH group) and 370 healthy people (NT group) in the Kazakh population were selected from Tacheng Region of China by random cluster sample. After physical examination and questionnaire, blood samples were selected, the G894T, T786C polymorphisms of eNOS gene were detected with SNaPshot system. Genotype frequency, allele frequency, linkage disequilibrium (LD) and haplotypes were calculated and compar-

[收稿日期] 2011-07-15

[基金项目] 国家自然科学基金(30860102 和 30860079)资助

[作者简介] 张强, 硕士研究生, 主要从事心血管疾病的病理生理学研究, E-mail 为 zhqiang0922@163.com。通讯作者唐斌, 主任医师, 主要从事群体遗传学、血管及心脏超声研究。邓峰美, 博士, 教授, 主要从事心血管疾病的病理生理学、分子遗传学研究。何芳, 博士, 教授, 主要从事心血管病细胞水平及离子通道研究。

ed. **Results** Overweight, obesity, triglycerides disorder, age 51 and over are risk factors of EH in Han and Kazakh populations. Distribution of allele frequencies G894T, T786C polymorphism of eNOS gene, the total population in EH and NT group are significantly different between two ethnic ($P < 0.05$). G894T and T786C polymorphism do not have strong LD. It constituted four kinds of haplotypes of GT (75.3% and 79.6%), GC (10.8% and 10.5%), TT (5.7% and 9.8%), TC (8.2% and 0.1%) in Han and Kazakh populations. The maximum distribution of haplotypes frequencies was GT in two ethnic, and the minimum are TC (Han), TT (Kazakh). The formation of haplotypes (GT, TT, TC) frequency was significantly different between two ethnic ($P < 0.05$). **Conclusions** The polymorphism of eNOS gene G894T, T786C may not be associated with the essential hypertension in the Han and Kazakh populations in XinJiang.

原发性高血压(EH)是一种常见的严重危害世界各国人民健康的慢性疾病,是由于遗传和环境因素共同作用导致的。EH是心血管疾病重要的危险因素之一,血压的异常变化能明显增加冠心病、心力衰竭、脑卒中以及终末期肾病的危险性,致死、致残率高,给人类的健康带来严重的危害。因此,EH的早期防治和控制已经成为目前重要的公共卫生问题。

研究认为,内皮型一氧化氮合酶(eNOS)异常可影响血浆中一氧化氮水平,而一氧化氮是心血管系统内皮依赖性舒张的一种重要调节因子^[1],因此eNOS的异常可能导致慢性高血压的发生^[2]。人类eNOS基因位于7p35-p36区,在外显子7的G/T突变,启动子区域转录起始点上游-786的T/C突变,与EH发病的相关性研究较多,并且在不同地区或不同民族中有所差异。为了解新疆汉族及哈萨克族EH与eNOS基因G894T、T786C多态性关系,本研究选取新疆塔城地区的哈萨克族居民与同居地的汉族居民,进行了eNOS基因G894T、T786C多态性的观察和比较分析。

1 材料和方法

1.1 研究对象

采用分层整群抽样方法,选取新疆天山北麓塔城地区沙湾县博尔通古乡牧区的下西湾村、加尔苏瓦提村、阔克黑牙村、齐勒窝则村、喀拉巴斯陶村年龄18岁以上哈萨克族及汉族居民进行流行病学调查。共抽取哈萨克族和汉族EH患者分别为363例、346例,正常血压的哈萨克族和汉族分别为370例、385例。EH诊断采用1999年WHO/ISH关于高血压的诊断标准收缩压 ≥ 140 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa)和(或)舒张压 ≥ 90 mmHg,排除继发性高血压、心肌病、瓣膜性心脏病、先天性心脏病、肝肾功能不全以及孕妇、哺乳期及口服避孕药女性。

1.2 问卷调查

由受过培训的乡卫生院医护人员、研究生、医学

本科3~4年级的哈萨克族和汉族大学生进行问卷调查、体检和采血。采用统一的调查表以面对面的方式直接进行问卷调查和记录流行病学调查资料。y询问基本情况,按标准方法测量血压、身高、体重、腰围(WC)、臀围(HC),计算体质指数(BMI)和腰臀比(WHR);同时采集空腹血液标本10 mL,肝素和乙二胺四乙酸盐抗凝,现场分离血浆,血浆当日进行生化检测,其余血样用于提取基因组DNA。

1.3 生化指标检测

采集空腹外周静脉血,用Olympus AU2700全自动生化仪检测总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白、高密度脂蛋白及载脂蛋白等。

1.4 eNOS基因多态性检测

1.4.1 eNOS基因目的片段的扩增 用Primer3软件设计PCR引物及延伸引物(上海生工生物工程技术服务有限公司合成)。G894T上游引物5'-CAC TCC CCA CAG CTC TGC ATT-3',下游引物5'-GTC AAT CCC TTT GGT GCT CAC G -3';T786C上游引物5'-ATG CCC AGC TAG TGG CCT TTC T-3',下游引物5'-ACT AGG GCT GAG GCA GGG TCA-3'。PCR体系:总体系20 μ L,1 μ L DNA模板,0.2 μ L Hotstar TaqDNA聚合酶(QIAGEN产品),1.2 μ L 25 mmol/L MgCl₂,0.6 μ L dNTP(Generay Biotech产品),2 μ L 10 \times buffer,2 μ L 多重PCR引物,13 μ L 去离子水。利用美国应用生物公司(ABI公司)的2720型PCR扩增仪预变性94 $^{\circ}$ C 5 min后,进行35个循环,每个循环94 $^{\circ}$ C变性30 s,59 $^{\circ}$ C退火40 s,72 $^{\circ}$ C延伸45 s,最后72 $^{\circ}$ C持续10 min延伸。

1.4.2 PCR产物的纯化、延伸及基因分型 PCR产物纯化反应:在10 μ L PCR产物中加入1 U SAP酶(Promega产品)和1 U外切酶,37 $^{\circ}$ C温浴1 h,然后75 $^{\circ}$ C灭活15 min。PCR产物延伸反应:延伸反应体系(10 μ L)包括5 μ L SNaPshot Multiplex Kit(ABI产品),2 μ L 纯化后PCR产物,1 μ L 延伸引物,2 μ L 超纯水。置2720 Thermal Cycler(ABI产品)中,96 $^{\circ}$ C预变性1 min,再按如下条件循环28次,96 $^{\circ}$ C变性

10 s, 50°C 退火 5 s, 60°C 延伸 30 s, 末次循环后, 60°C 延伸 1 min, 4°C 保存。延伸产物纯化: 在 10 μ L 延伸产物中加入 1 U SAP 酶, 37°C 温浴 1 h, 然后 75°C 灭活 15 min。取 0.5 μ L 纯化后的延伸产物, 与 0.5 μ L Liz120 SIZE STANDARD, 9 μ L Hi-Di (ABI 产品) 混匀, 95°C 变性 5 min 后上 ABI3130XL 测序仪。ABI3130XL 测序仪上收集的原始数据用 GeneMapper 4.0 来分析。

1.5 统计学方法

以 Hardy-Weinberg 平衡检验确认群体代表性, 单因素与高血压相关的因素采用非条件 Logistic 分析, 等位基因直接计数, 分析比较采用 χ^2 检验、危险

度估计用 OR 值、连锁不平衡分析采用 Dataanalyzer0.34 软件、单体型用 phase2.1 软件构建。

2 结果

2.1 一般情况

两民族中, EH 组收缩压、舒张压、平均动脉压、脉压、体质指数、腰臀比、总胆固醇及低密度脂蛋白均高于正常血压组 ($P < 0.05$), 高密度脂蛋白、载脂蛋白 A1 及载脂蛋白 B 差异均无显著性。而甘油三酯在两组哈萨克族人群中差异有显著性 ($P < 0.05$; 表 1)。

表 1. 两组一般情况

Table 1. The general situation in the two groups

项 目	汉族		哈萨克族	
	EH 组 ($n = 346$)	正常血压组 ($n = 385$)	EH 组 ($n = 363$)	正常血压组 ($n = 370$)
年龄 (岁)	54.66 \pm 12.76	46.60 \pm 12.95	49.64 \pm 12.05	48.46 \pm 11.91
男/女 (例)	148/198	142/243	156/207	153/217
饮酒 (例)	84	92	77	73
吸烟 (例)	54	67	75	92
体质指数 (kg/m^2)	67.69 \pm 11.52 ^b	63.19 \pm 10.14	27.38 \pm 4.82 ^b	23.99 \pm 4.11
腰臀比	0.90 \pm 0.06 ^b	0.87 \pm 0.606	0.89 \pm 0.96 ^b	0.87 \pm 0.08
收缩压 (mmHg)	148.01 \pm 18.13 ^b	114.40 \pm 12.42	154.82 \pm 23.41 ^b	115.29 \pm 11.80
舒张压 (mmHg)	94.54 \pm 9.97 ^b	78.05 \pm 7.38	100.27 \pm 13.43 ^b	76.11 \pm 7.58
平均动脉压 (mmHg)	112.36 \pm 10.22 ^b	90.17 \pm 8.09	118.45 \pm 15.26 ^b	89.17 \pm 8.03
脉压 (mmHg)	53.47 \pm 17.92 ^b	36.35 \pm 10.02	54.55 \pm 17.76 ^b	39.18 \pm 9.56
总胆固醇 (mmol/L)	4.77 \pm 1.14 ^b	4.42 \pm 0.92	5.01 \pm 1.37 ^b	4.65 \pm 1.30
甘油三酯 (mmol/L)	1.68 \pm 1.51	1.43 \pm 4.23	1.63 \pm 5.53 ^a	0.96 \pm 1.01
低密度脂蛋白 (mmol/L)	3.17 \pm 0.97 ^b	2.81 \pm 0.83	3.23 \pm 1.06 ^b	2.99 \pm 1.18
高密度脂蛋白 (mmol/L)	1.40 \pm 0.35	1.41 \pm 0.36	1.44 \pm 0.43	1.46 \pm 0.41
载脂蛋白 A1 (g/L)	1.47 \pm 0.28	1.44 \pm 0.29	1.47 \pm 0.38	1.44 \pm 0.32
载脂蛋白 B (g/L)	0.99 \pm 0.24	1.04 \pm 3.17	1.16 \pm 4.32	0.83 \pm 0.26

a 为 $P < 0.05$, b 为 $P < 0.01$, 与同民族正常血压组比较。

2.2 多因素分析

将单因素与高血压相关的因素通过非条件 Logistic 进行多因素分析, 采用前进法, 按变量 (年龄、体质指数、腰臀比、总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、载脂蛋白 A1 及载脂蛋白 B 等)

进入模型的先后顺序依次得到汉族、哈萨克族与高血压相关危险因素有统计学意义的因素如表 2。超重、肥胖、甘油三酯异常及年龄 51 岁以上是两民族共同的相关危险因素。哈萨克族人群中, 年龄在 31 岁以上, 其患高血压的危险性增高。

表 2. 高血压相关危险因素的 Logistic 回归分析

Table 2. Multiple Logistic regression analysis on risk factors for essential hypertension

因素		β	SE	Wald	<i>P</i>	OR	95% CI
汉族	体重(对照正常 <24 kg/m ²)						
	超重	0.647	0.185	12.268	0.000	1.910	1.330 ~ 2.743
	肥胖	1.011	0.234	18.712	0.000	2.749	1.739 ~ 4.347
	甘油三酯(对照 <2.3 mmol/L)						
	甘油三酯	0.550	0.224	6.005	0.014	1.733	1.116 ~ 2.689
	年龄(对照 18 ~ 30 岁)						
	31 ~ 40 岁	0.526	0.492	1.143	0.285	1.691	0.645 ~ 4.433
	41 ~ 50 岁	0.633	0.497	1.618	0.203	1.882	0.710 ~ 4.989
	51 ~ 60 岁	1.159	0.496	5.458	0.019	3.188	1.205 ~ 8.434
	60 岁以上	1.589	0.491	10.456	0.001	1.564	1.110 ~ 2.203
哈萨克族	体重(对照正常 <24 kg/m ²)						
	超重	0.777	0.209	13.868	0.000	2.175	1.445 ~ 3.274
	肥胖	1.478	0.228	41.888	0.000	4.385	2.803 ~ 6.861
	甘油三酯(对照 <2.3 mmol/L)						
	甘油三酯	1.215	0.386	9.885	0.002	3.370	1.580 ~ 7.188
	年龄(对照 18 ~ 30 岁)						
	31 ~ 40 岁	1.124	0.330	11.597	0.001	3.078	1.612 ~ 5.878
	41 ~ 50 岁	2.030	0.328	38.200	0.000	7.616	4.000 ~ 14.498
	51 ~ 60 岁	2.594	0.361	51.485	0.000	13.377	6.587 ~ 27.165
	60 岁以上	2.647	0.390	46.082	0.000	14.110	6.571 ~ 30.299

2.3 遗传平衡检验

经 Hardy-Weinberg 平衡检验,两个民族 EH 组、正常血压组、合计人数的 eNOS 基因 G894T、T786C 的基因型频率分布均无统计学意义($P > 0.05$),符合遗传平衡定律,提示该人群有较好代表性。

2.4 总人群、EH 组及正常血压组基因型和等位基因频率在两民族中的分布

G894T 位点在总人群、EH 组中两民族基因型 GG、GT、TT 的频率分布差异有显著性($P < 0.05$),而在正常血压组中差异无显著性($P > 0.05$);总人群、EH 组及正常血压组中两民族等位基因频率分布差异有显著性($P < 0.05$)。T786C 位点在总人群、EH 组及正常血压组中两民族基因型 TT、CT、CC 的频率分布差异有显著性($P < 0.05$);总人群、EH 组及正常血压组中两民族等位基因频率分布差异有显著性($P < 0.05$;表 3)。

2.5 基因型及等位基因频率在 EH 组与正常血压组中的分布

汉族和哈萨克族 EH 组与正常血压组 G894T、T786C 基因型和等位基因频率组间组内分布差异无显著性($P > 0.05$;表 4)。

2.6 单体型分析

汉族和哈萨克族 eNOS 基因 G894T、T786C 共

构成 4 种单体型: GT (75.3%、79.6%)、GC (10.8%、10.5%)、TT(5.7%、9.8%)及 TC(8.2%、0.1%),汉族和哈萨克族人群单体型频率最高的是 GT,汉族和哈萨克族人群单体型频率最低的分别是 TT、TC,且两民族单体型 GT、TT、TC 频率分布差异有显著性($P < 0.05$)。两民族在 EH 组与正常血压组也构成 4 种同样的单体型,汉族人群中, EH 组 GT、GC、TC 单体型频率低于正常血压组,TT 单体型频率在 EH 组和正常血压组间各有 1 例,无统计学差异($P > 0.05$);哈萨克族人群中, EH 组 GC、TT 单体型频率高于正常血压组, EH 组 GT、TC 单体型频率低于正常血压组,但差异无统计学意义($P > 0.05$;表 5 和 6)。

2.7 连锁不平衡分析

对两个多态位点分别在两民族总人群、EH 组、正常血压组进行连锁不平衡分析,采用 Dataanalyser 0.34 软件,当 $D' > 0.8$ 且 $r^2 > 0.3$ 时认为两位点间存在强的连锁不平衡。研究显示,总人群和正常血压组中 G894T 与 T786C 位点在汉族的连锁不平衡系数大于哈萨克族,而在 EH 组相反;总人群、EH 组及正常血压组中两位点间的相关系数在汉族都大于哈萨克族。但 eNOS 基因 G894T、T786C 位点在汉族、哈萨克族中均不存在强连锁不平衡(表 7)。

表 3. 汉族与哈萨克族 eNOS 基因 G894T、T786C 位点基因型与等位基因频率分布 (例)

Table 3. Distribution of G894T, T786C genotypes and alleles of eNOS Gene of Han and Kazakh populations in Xinjiang

eNOS 基因位点	基因型/等位基因	汉族 (n = 731)	哈萨克族 (n = 733)	χ^2 值	P 值	
G894T	总人群	GG	592(81.0%)	543(74.1%)	13.661	0.001
		GT	132(18.1%)	169(23.1%)		
		TT	7(1.0%)	21(2.9%)		
	EH 组	T	144(9.9%)	211(14.4%)	14.080	0.000
		G	1316(90.1%)	1255(85.6%)		
		GG	280(80.9%)	265(73.0%)		
		GT	62(17.9%)	85(23.4%)		
		TT	4(1.2%)	13(3.6%)		
		T	68(9.9%)	111(15.3%)		
	正常血压组	G	622(90.1%)	615(84.7%)	9.460	0.002
		GG	312(81.0%)	278(75.1%)		
		GT	70(18.2%)	84(22.7%)		
TT		3(0.8%)	8(2.2%)			
T		76(9.9%)	100(13.5%)			
G		694(90.1%)	640(86.5%)			
T786C	总人群	TT	583(79.8%)	476(64.9%)	41.996	0.000
		CT	140(19.2%)	233(31.8%)		
		CC	8(1.0%)	24(3.3%)		
	EH 组	C	156(10.7%)	281(19.2%)	41.627	0.000
		T	1306(89.3%)	1185(80.8%)		
		TT	278(80.3%)	234(64.5%)		
		CT	64(18.5%)	115(31.7%)		
		CC	4(1.2%)	14(3.9%)		
		C	72(10.4%)	143(19.7%)		
	正常血压组	T	620(89.6%)	583(80.3%)	23.783	0.000
		TT	305(79.2%)	242(65.4%)		
		CT	76(19.7%)	118(31.9%)		
CC		4(1.0%)	10(2.7%)			
C		84(10.9%)	138(18.6%)			
T		686(89.1%)	602(81.4%)			

表 4. eNOS 基因 G894T、T786C 位点基因型和等位基因频率在 EH 组与正常血压组中的分布

Table 4. Distribution of G894T, T786C genotypes and alleles of eNOS gene in EH group and normal blood pressure group

eNOS 基因位点	民族	分组	基因型(例)			等位基因(例)	
G894T	汉族	EH 组 (n = 346)	GG	GT	TT	G	T
			正常血压组 (n = 385)	312(81.0%)	70(18.2%)	3(0.8%)	694(90.1%)
	哈萨克族	EH 组 (n = 363)	265(73.0%)	85(23.4%)	13(3.6%)	615(84.7%)	111(15.3%)
			正常血压组 (n = 370)	278(75.1%)	84(22.7%)	8(2.2%)	640(86.5%)
T786C	汉族	EH 组 (n = 346)	TT	TC	CC	T	C
			正常血压组 (n = 385)	305(79.2%)	76(19.8%)	4(1.0%)	686(89.1%)
	哈萨克族	EH 组 (n = 363)	234(64.5%)	115(31.7%)	14(3.8%)	583(80.3%)	143(19.7%)
			正常血压组 (n = 370)	242(65.4%)	118(31.9%)	10(2.7%)	602(81.4%)

表 5. 汉族和哈萨克族人群单体型频率分布

Table 5. Estimated haplotype frequency distribution in Han and Kazakh populations

单体型	汉族(例)	哈萨克族(例)	χ^2	<i>P</i>	OR(95% CI)
GT	1165(79.6%)	1105(75.3%)	7.768	0.005	0.781(0.657~0.930)
GC	154(10.5%)	159(10.8%)	0.075	0.784	1.003(0.835~1.306)
TT	143(9.8%)	83(5.7%)	17.437	0.000	0.554(0.418~0.733)
TC	2(0.1%)	121(8.2%)	119.833	0.000	65.665(16.205~266.091)
合计	1464	1468			

注:单体型的构成顺序为 G894T、T786C。

表 6. 汉族和哈萨克族人群在 EH 组与正常血压组间单体型频率分布及单体型患病风险评估

Table 6. Estimated haplotype frequency distribution in EH group and normal blood pressure group of Han and Kazakh populations, the risk of essential hypertension in Han and Kazakh populations

单体型		EH 组(例)	正常血压组(例)	χ^2	<i>P</i>	OR(95% CI)
汉族						
	GT	551(79.6%)	611(79.4%)	0.017	0.897	1.017(0.789~1.311)
	GC	71(10.3%)	83(10.8%)	0.104	0.747	0.946(0.677~1.323)
	TC	69(10.0%)	75(9.7%)	0.022	0.882	1.026(0.727~1.448)
	TT	1(0.1%)	1(0.1%)	0.006	0.940	1.113(0.069~17.826)
	合计	692	770			
哈萨克族						
	GT	532(73.28%)	563(76.08%)	1.523	0.217	0.862(0.681~1.091)
	GC	83(11.43%)	77(10.41%)	0.398	0.528	1.111(0.800~1.544)
	TC	60(8.26%)	61(8.24%)	0.000	0.988	1.003(0.691~1.455)
	TT	51(7.03%)	39(5.27%)	1.958	0.162	1.358(0.883~2.088)
	合计	726	740			

注:单体型的构成为 G894T、T786C。

表 7. 汉族和哈萨克族 eNOS 基因 G894T、T786C 位点间的连锁不平衡分析

Table 7. Pair-wise linkage disequilibrium of eNOS gene in Han and Kazakh populations

		汉族		哈萨克族	
		G894T	T786C	G894T	T786C
总人群	G894T	-	0.4305	-	0.3327
	T786C	0.1271	-	0.0014	-
EH 组	G894T	-	0.3424	-	0.4587
	T786C	0.0863	-	0.0027	-
正常血压组	G894T	-	0.4580	-	0.2029
	T786C	0.1430	-	0.0006	-

注:对角线下方为相关系数 r^2 ; 对角线上方为连锁不平衡系数 D' 。

3 讨论

据流行病学调查研究发现,新疆哈萨克族和汉族高血压患病率分别为 18.97%、13.88%,哈萨克族不仅明显高于汉族,且高于我国 EH 平均患病率 11.88%^[3],2005 年、2007 年分别对新疆沙湾及乌鲁木齐南山牧场调查数据显示,哈萨克族发病率分别为 39.14%^[4]、52.39%^[5]。历年我国新疆高血压流行病学调查数据显示,哈萨克族人群是 EH 易感人群,该民族发病率明显或者成倍地高于同一居住区及不同居住区的其他民族,同时高血压的患病年龄明显前移,其平均血压值显著高于其他民族,是我国 EH 发病率较高的民族之一,居全国各民族的前 5 位^[3]。有鲜明的民族群体聚集性和高发病率特征,

很有可能提示新疆哈萨克族是否具有与其他民族不同的遗传或环境背景。高血压是一种遗传因素和环境因素共同作用所致的复杂性多因素疾病,遗传因素在高血压的发病机制中对血压变化的影响占 30%~50%^[6]。而环境因素、生活方式、饮食结构同样对高血压的发病起一定的作用,许多研究显示人群年龄增大、超重、肥胖及血脂异常与血压升高密切相关^[7-9],是高血压的相关危险因素,与本课题研究结果^[10-12]及国外的报道相一致^[9,13]。所以控制体重、降低甘油三酯,有助于预防高血压的发生。

eNOS 基因 G894T 位点突变导致相应蛋白产物氨基酸的替换而影响 eNOS 活性^[14]。Lacolley 等^[15]在法国高加索人群中首次针对 G894T 变异与 EH 关系进行调查,发现 EH 组 G 等位基因频率明显高于正常血压组。研究发现 G894T 突变可能是 EH 的一种遗传易感性指标^[16-20]。也有研究发现与 EH 无相关性^[21-23]。位于启动区的 T786C 突变可能通过影响 eNOS 基因转录的起始过程,使 eNOS 合成减少,从而影响血压变化^[24]。研究发现 T786C 位点的基因多态性与 EH 相关^[25],而另有研究发现 T786C 突变对高血压的易感性无影响^[21,26]。以上研究中,G894T、T786C 与 EH 的相关性结论不相一致,其主要原因可能是由于种族的差异造成,以及生活环境的影响。本研究选取新疆塔城地区同一居住地的哈萨克族与汉族,在相同的气候、交通环境等的影响下,具有较大的均一性,可进一步阐明种族差异与 EH 间的关系。本研究中,汉族与哈萨克族人群中,G894T、T786C 位点所选总人群、EH 组及正常血压组等位基因频率分布有统计学意义,说明种族间存在基因多态性的差异,与其以上研究报道相一致。这种差异可能是基因突变、环境及地理因素所造成,说明基因的分布在各种人群中是不一致的,与疾病相关的基因突变也有差异。研究还发现汉族和哈萨克族 EH 组与正常血压组 G894T、T786C 基因型及等位基因频率组间组内分布差异无统计学意义,可能与 EH 不相关。

连锁不平衡是指在某一群体中,在同一条单体型的不同 SNP 位点上某两个等位基因同时出现的频率与其预期的随机频率之间存在明显差异的现象。在关联性分析中起到关键作用,如果某致病基因座与疾病相关的遗传标记(等位基因)之间存在强连锁不平衡,通过比较患者与健康者之间的差异,确定该遗传标记是否与疾病的发生相关。本研究显示总人群和正常血压组中 G894T 与 T786C 位点间,汉族的连锁不平衡系数(D')大于哈萨克族,而 EH

组相反;总人群、EH 组及正常血压组中两位点间的相关系数(r^2)汉族都大于哈萨克族。可能在新疆汉族人群中,G894T 与 T786C 位点间存在一定的联系,有可能在大样本研究中可发现这两位点构成同一单体域在人群中遗传,这也可能是新疆汉族高血压的发病率高于内地汉族的一个重要原因,然而 eNOS 基因 G894T、T786C 位点在汉族、哈萨克族中均不存在强连锁不平衡。

单体型是指一条染色体上紧密相连的两个或两个以上基因座的一组等位基因组成的基因型,以单体型为基础进行关联分析,比利用单个 SNP 位点对每个基因的检测更为有效,可以增加灵敏性和全面性,更能全面地评价候选基因在疾病发生发展中的作用。本研究发现哈萨克族和汉族人群 eNOS 基因 G894T、T786C 共构成 4 种单体型:GT、GC、TT 和 TC,单体型频率最高的都是 GT,最低的分别是 TT(哈萨克族)、TC(汉族)。哈萨克族人群的单体型 TT 分布频率明显低于汉族,而 TC 分布频率明显高于汉族,而且在两民族间这两个单体型存在差异,有统计学意义。这说明,不同的种族间,存在着不同的遗传标记基因,所构成的单体域遗传率在种族间不同。但两民族在 EH 组和正常血压组间单型型的差异组间并无统计学意义,说明 G894T、T786C 基因型多态性可能不是 EH 的一个危险因素。那么,是否种族间存在的单体域遗传的差异,其与 EH 有没有关联,还需要不断的研究,扩大样本信息量,在不同人群中重复验证。EH 是非常复杂的疾病,可能有很多未知的影响因素参与,而且这些多态位点并不是单独的起作用,它们之间既有协调又有拮抗的作用^[27]。

总之,通过流行病学调查、基因检测筛选 EH 易感人群为新疆哈萨克族人群 EH 的防治提供新思路。不同的种族、环境、地区及饮食的影响可能是产生差异的原因,随着分子生物学技术的不断发展和进步,对基因的认识可能会更深入地进行动物模型研究。如果联合 EH 其他多个候选基因的标签进行关联研究分析,可能对阐明 EH 发生的遗传机制具有重要的作用。血压是一种数量性状,多个基因和环境等因素共同作用影响血压水平。单个基因对血压的影响是微弱的,进行设计多个基因和大样本的重复实验,对明确高血压的发病机制和为临床提供新的治疗方案有重要的意义。

[参考文献]

[1] Ignarro LJ, Buga GM, Wood KS, et al. Endothelium-derived rela-

- xing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide [J]. *Proceedings of the National Academy Sciences of United States of America*, 1987, 84 (24): 9 265-269.
- [2] Thomas GD, Zhang W, Victor RG, et al. Nitric oxide deficiency as a cause of clinical hypertension: Promising new drug targets for refractory hypertension[J]. *The Journal of American Medical Association*, 2001, 285 (16): 2 055-057.
- [3] 刘力生, 龚兰生, 方 垢, 等. 中国 EH 防治指南[J]. *高血压杂志*, 2000, 8 (1): 94-97.
- [4] 李 娜, 郭淑霞, 张翼华, 等. 新疆哈萨克族居民高血压知识、态度、行为调查分析[J]. *石河子大学学报 (自然科学版)*, 2007, 25 (2): 203-206.
- [5] 代亚丽, 张庆华. 乌鲁木齐南山区哈萨克族人群 EH 患病情况及相关知识调查分析[J]. *护理研究*, 2008, 22 (29): 2 462-464.
- [6] Ward R. Familial aggregation and genetic epidemiology of blood pressure. *Hypertension: Pathophysiology, diagnosis and management*[M]. New York: Raven Press, 1990; 81-100.
- [7] Burgos MS, Reuter CP, Burgos LT, et al. Comparison analysis of blood pressure, obesity, and cardio-respiratory fitness in schoolchildren[J]. *Arq Bras Cardiol*, 2010, 94 (6): 788-793.
- [8] Li HL, Xu B, Zheng W, et al. Epidemiological characteristics of obesity and its relation to chronic diseases among middle aged and elderly men[J]. *Zhong Hua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 2010, 31 (4): 370-374.
- [9] Fox MD, Afroz A, Studebaker IJ, et al. The prevalence of elevated blood pressure among obese adolescents in a pediatric resident continuity clinic[J]. *J Okla State Med Assoc*, 2010, 103 (4-5): 111-114.
- [10] Deng FM, Hu QH, Tang B, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene intron 4, 27 bp repeat polymorphism and essential hypertension in the Kazakh Chinese population[J]. *Acta Biochimica & Biophysica Sinica*, 2007, 39 (5): 311-316.
- [11] 邹放君, 唐 斌, 何 芳, 等. 内皮型一氧化氮合酶基因 T786C 多态性与新疆汉族原发性高血压的相关性研究[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2011, 19 (2): 114-117.
- [12] 王 刚, 唐斌, 何 芳, 等. eNOS 基因 27 bpVNTR 多态性与新疆哈萨克族原发性高血压的相关性研究[J]. *石河子大学学报 (自然科学版)*, 2010, 21 (3): 335-339.
- [13] Chang MH, Yesupriya A, Ned RM, et al. Genetic variants associated with fasting blood lipids in the U. S. population: Third National Health and Nutrition Examination Survey[J]. *BMC Medical Genet*, 2010, 11 (62): 1-13.
- [14] Shoji M, Tsutaya S, Saito R, et al. Positive association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism with hypertension in northern Japan[J]. *Life Sci*, 2000, 66 (26): 2 557-562.
- [15] Lacolley P, Gautier S, Poirier O, et al. Nitric oxide synthase gene polymorphisms, blood pressure and aortic stiffness in normotensive and hypertensive subjects[J]. *J Hypertensions*, 1998, 16 (1): 31-35.
- [16] 马厚勋, 谢正祥, 牛永红, 等. 汉族人群 NOS3A-922G、NOS3T-786C 与 NOS3G894T SNP 的等位基因及其组合分布与高血压的相关性[J]. *遗传*, 2006, 28 (1): 3-10.
- [17] 张丽萍, 汪师贞, 赵学信, 等. 内皮型一氧化氮合酶基因 G894T 多态性与新疆维吾尔族原发性高血压的关联研究[J]. *中华心血管病杂志*, 2006, 34 (5): 403-407.
- [18] 徐新娟, 汪师贞, 林仁勇, 等. 新疆哈萨克族高血压患者内皮型一氧化氮合酶基因 G894T 多态性研究[J]. *高血压杂志*, 2004, 12 (2): 131-134.
- [19] Tang W, Yang Y, Wang B, et al. Association between a G894T Polymorphism of eNOS Gene and Essential Hypertension in Hani and Yi Minority Groups of China [J]. *Archives of Medical Research*, 2008, 39 (2): 222-225.
- [20] Srivastava K, Narang R, Sreenivas V, et al. Association of eNOS Glu298Asp gene polymorphism with essential hypertension in Asian Indians[J]. *Clin Chim Acta*, 2008, 387 (1-2): 80-83.
- [21] Zhao Q, Su SY, Chen SF, et al. Association study of the endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms with essential hypertension in northern Han Chinese[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2006, 119 (13): 1 065-071.
- [22] Kishimoto T, Misawa Y, Kaetu A, et al. eNOS Glu298Asp polymorphism and hypertension in a cohort study in Japanese[J]. *Prev Med*, 2004, 39 (5): 927-931.
- [23] Khawaja MR, Taj F, Ahmad U, et al. Association of endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism with essential hypertension in an adult Pakistani Pathan population[J]. *Int J Cardiol*, 2007, 116 (1): 113-115.
- [24] Senthil D, Raveendran M, Shen YH, et al. Genotype-dependent expression of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) and its regulatory proteins in cultured endothelial cells[J]. *DNA Cell Biol*, 2005, 24 (4): 218-224.
- [25] Nejatizadeh A, Kumar R, Stobdan T, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene haplotypes and circulating nitric oxide levels significantly associate with risk of essential hypertension [J]. *Free Radic Biol Med*, 2008, 44 (11): 1 912-918.
- [26] Tsujita Y, Baba S, Yamauchi R, et al. Association analyses between genetic polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase gene and hypertension in Japanese: the Suita Study[J]. *J Hypertens*, 2001, 19 (11): 1 941-948.
- [27] Salisbury BA, Pungliya M, Choi JV, et al. SNP and haplotype variation in the human genome [J]. *Mutat Res*, 2003, 526 (1-2): 53-61.

(此文编辑 文玉珊)