

论著 · 临床研究

血管紧张素转换酶基因多态性与 儿童原发性高血压的关系

吴凡¹ 李国林¹ 宋小华¹ 苏海² 曹小春¹ 刘燕玲¹ 叶春风¹

(南昌大学第二附属医院 1. 儿科; 2. 心内科; 江西 南昌 330006)

〔摘要〕 **目的** 探讨血管紧张素转换酶(ACE)基因第16内含子中287 bp的插入/缺失(I/D)多态性与儿童原发性高血压的关系。**方法** 应用聚合酶链式反应(PCR)技术检测105例原发性高血压儿童(高血压组)及105例正常健康儿童(对照组)的ACE基因第16内含子中287 bp的I/D多态性。**结果** 高血压组及对照组儿童的ACE基因第16内含子均有I/D多态性,分为II、ID、DD 3种形态。高血压组DD型、ID型、II型基因型频率分别为30.5%、47.6%、21.9%,对照组DD型、ID型、II型基因型频率分别为14.3%、46.7%、39.1%,两组比较,DD型、II型基因型频率差异有统计学意义($P < 0.01$)。高血压组D等位基因的基因频率明显高于对照组(54.3% vs 37.6%, $P < 0.01$);而I等位基因的基因频率明显低于对照组(45.7% vs 62.4%, $P < 0.01$)。**结论** ACE基因存在II型、ID型、DD型多态性。儿童原发性高血压的发生可能与ACE基因中第16内含子287 bp的缺失相关。

[中国当代儿科杂志,2011,13(11):883-885]

〔关键词〕 高血压;血管紧张素转换酶;插入/缺失多态性;儿童

〔中图分类号〕 R725.4 **〔文献标识码〕** A **〔文章编号〕** 1008-8830(2011)11-0883-03

Relationship between angiotensin converting enzyme gene polymorphism and essential hypertension in children

WU Fan, LI Guo-Lin, SONG Xiao-Hua, SU Hai, CAO Xiao-Chun, LIU Yan-Ling, YE Chun-Feng. Department of Pediatrics, Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China (Li G-L, Email: liguolin0803@tom.com)

Abstract: Objective To study the relationship between insertion/deletion (I/D) polymorphism of 287 bp in the 16th intron of angiotensin converting enzyme (ACE) and essential hypertension in children. **Methods** I/D polymorphism of 287 bp in the 16th intron of ACE was detected using PCR in 105 children with essential hypertension and 105 normal children as control group. **Results** There was an I/D polymorphism in the 16th intron of ACE in the hypertension and the control groups: type II, type ID and type DD. The genotype frequencies of type DD, type ID and type II in the hypertension group were 30.5%, 47.6% and 21.9%, respectively. The genotype frequencies of type DD, type ID and type II in the control group were 14.3%, 46.7% and 39.1%, respectively. There were significant differences in the genotype frequencies of types DD and II between the two groups ($P < 0.01$). The allele frequency of type D (54.3% vs 37.6%) was significantly higher in the hypertension group; in contrast, the allele frequency of type I (45.7% vs 62.4%) was significantly lower than in the control group ($P < 0.01$). **Conclusions** Polymorphism of type II, type ID and type DD exists in ACE. The deletion of 287 bp in the 16th intron of ACE might be associated with the occurrence of essential hypertension in children.

[Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13 (11):883-885]

Key words: Hypertension; Angiotensin converting enzyme; Insertion/deletion polymorphism; Child

国内外流行病学资料显示,儿童高血压总体发病率为2%~5%^[1-2],儿童高血压的防治日益受到重视。原发性高血压为多基因多因素疾病,多种基因的多态性均会导致个体对原发性高血压的易感性和抵抗性^[3]。候选基因方法已用于原发性高血压相关基因研究,其中较为重要的是编码肾素-血管紧张素系统(renin angiotensin system,RAS)的基因。

血管紧张素转换酶(ACE)在RAS中发挥着重要作用,ACE基因位于第17号染色体长臂的第2区第3带(17q23),含26个外显子及25个内含子,在16内含子有一长度为287 bp的插入/缺失(I/D)多态性^[4]。有研究发现ACE基因中D等位基因数目增多与血浆ACE浓度呈正比,从而导致高血压的产生和发展^[5]。但是,目前国内外的研究结论并不一

[收稿日期]2011-06-27;[修回日期]2011-08-07
[基金项目]江西省卫生厅科技计划(0301071)。
[作者简介]吴凡,女,硕士,主治医师。现工作单位:南昌市第三医院儿科,邮编330009。
[通信作者]李国林,教授。

致^[6],为此本研究采用PCR技术,运用群体遗传学方法就ACE基因多态性与儿童原发性高血压的关系进行了初步探讨。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择南昌市区两所学校2000名6~13岁在校学生为研究对象,所有研究对象均征得家长同意并签署知情同意书。按照米杰等^[7-8]研究制定的中国儿童青少年血压参照标准,3次或3次以上(首次测量后3个月、6个月复查)测得的收缩压和/或舒张压大于或等于同性别、同年龄儿童血压第95百分位者诊断为高血压,并经病史、体格检查、辅助检查等排除肾脏、心脏、内分泌、风湿等系统疾病引起的继发性高血压。共筛选出原发性高血压儿童105例,其中男54例,女51例,平均年龄 8.2 ± 2.0 岁;有高血压家族史者26例,占24.8%。同时从上述2000名学生中随机选取105例6~13岁正常健康儿童为对照组,其中男52例,女53例,平均年龄 8.1 ± 2.0 岁;有高血压家族史者11例,占10.5%。两组儿童性别、年龄差异均无统计学意义。

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA的提取 两组儿童均抽取2 mL全血,加乙二胺四乙酸抗凝后置于冰箱4℃保存,采用苯酚/氯仿法提取DNA。

1.2.2 ACE基因的扩增 采用PCR技术对ACE基因第16内含子目的片段进行扩增,设计合成引物:上游引物5'-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3';下游引物5'-GATGTGGCCATCACATTCGT-CAGAT-3'。总反应体积为20 μL,应用480型DNA扩增仪扩增。

1.2.3 ACE基因型判定 取基因扩增产物在非变性聚丙烯酰胺凝胶中进行电泳,银染后在紫外灯下观察结果,并根据电泳结果判断ACE基因的I/D多态性。

1.3 统计学分析

应用SPSS 11.5版软件进行统计分析,计算原发性高血压儿童组与对照组ACE基因型和等位基因频率,两组间率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ACE基因分型结果

PCR检测显示高血压组及对照组儿童的ACE

基因第16内含子均有I/D多态性,分为II、ID、DD三型。根据电泳结果,仅有490 bp处出现亮带者为II型,仅有190 bp处出现亮带者为DD型,同时出现上述两条亮带者为ID型^[9]。见图1。

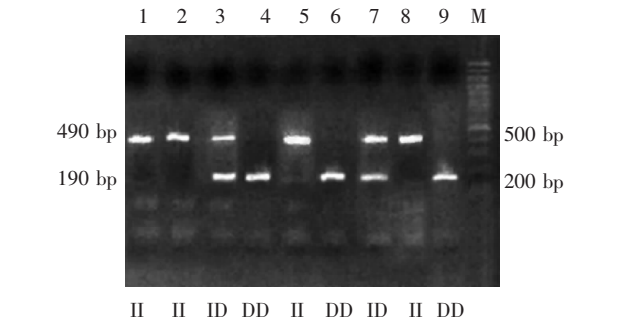


图1 ACE基因PCR扩增基因分型结果 M:Marker; 1~6:不同标本的PCR产物;7~9:ID、II、DD3种基因型PCR产物。

2.2 高血压组与对照组ACE基因型分布

两组ACE I/D基因型分布符合Hardy-Weinberg平衡。与对照组比较,高血压组DD型频率明显增高($P < 0.01$);II型频率明显下降($P < 0.01$),差异均有统计学意义。见表1。

表1 高血压组与对照组ACE基因型分布 [例(%)]				
组别	例数	DD	ID	II
对照组	105	15(14.3)	49(46.7)	41(39.0)
高血压组	105	32(30.5)	50(47.6)	23(21.9)
χ^2 值		7.922	0.019	7.282
P值		0.005	0.890	0.007

2.3 高血压组与对照组等位基因分布

高血压组D等位基因的基因频率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$);而I等位基因的基因频率明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表2。

表2 高血压组与对照组等位基因分布 [例(%)]			
组别	例数	D	I
对照组	105	79(37.6)	131(62.4)
高血压组	105	114(54.3)	96(45.7)
χ^2 值		11.744	11.744
P值		0.001	0.001

3 讨论

目前许多流行病学研究证实原发性高血压可能起源于儿童时期,且儿童血压存在一定程度的轨迹现象^[10]。因此,早期诊断儿童高血压并及早给予干预治疗至关重要。

众所周知,RAS 在高血压与心血管疾病的发病中起着重要的作用,作为 RAS 关键因素的 ACE 基因 I/D 多态性与高血压发病的关联近年来受到研究者的关注。ACE 基因的 16 内含子上有一个长度为 287 bp 的 I/D 多态性,分别为 I 型和 D 型,ACE 基因型因而分为 3 种:II、DD、ID。本研究通过 PCR 技术检测也显示 ACE 基因存在 II 型、ID 型、DD 型多态性。

ACE 基因的多态性与血中的 ACE 浓度有关^[11],个体内血浆 ACE 水平稳定,测量重复性好,而个体间差异大;环境、代谢和激素水平对 ACE 水平影响小。因此,血浆 ACE 水平可能是由遗传决定的。颜慕霞等^[12]应用 PCR 方法检测 100 例正常儿童 ACE 基因 I/D 多态性并同时用酶偶联法测定血清 ACE 活性,结果显示正常儿童 ACE 基因型中 DD 型血清 ACE 活性最高,显著高于 ID 型和 II 型。

Zak 等^[13]研究显示,ACE 基因多态性与多种心血管疾病有关,主要作用于血管水平,D 等位基因使血管的 ACE 水平增加,引起局部血管紧张素 II 活性增加,缓激肽失活,从而调节血管张力,维持机体血压稳定,因此,被认为是研究高血压状态的主要候选基因^[14]。

但目前有关 ACE 基因多态性与原发性高血压关系研究结论也并不一致。Gesang 等^[15]研究发现 I 与 D 等位基因的频率在原发性高血压组为 51% 和 49%,与正常对照组相比,其等位基因分布差异有统计学意义。韩秀玲等^[16]发现 ACE 基因不同基因型的原发性高血压患病率不同,DD、ID 基因型者的患病率高于携带 II 基因型者;高血压组的 D 等位基因频率高于非高血压组。本研究显示原发性高血压组与正常对照组比较,DD 型频率增高,II 型频率下降;原发性高血压组 D 等位基因基因频率高于对照组,与上述研究报道一致,提示儿童原发性高血压的发生可能与 ACE 基因中第 16 内含子 287 bp 的缺失相关。但何峰容等^[17]测定武汉地区 303 例健康对照和 398 例原发性高血压患者的 ACE 基因型,发现健康对照组各基因型频率与原发性高血压组间差异无统计学意义。导致不同研究之间存在差异的主要原因是不同种族、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;所研究的样本含量、入选标准及统计学的方法不同以及饮食习惯、居住环境不同都可能影响研究的结果。

原发性高血压是一种多基因多因素遗传性疾病,遗传和环境因素共同参与高血压的发病过程,因此,很难得出某种基因对于原发性高血压的发病是否起决定作用,研究者运用候选基因关联研究发现了多个与高血压或血压水平相关联的基因^[18-20]。对原发性高血压的研究需要考虑多种因素的协同作用,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,以便进一步阐明原发性高血压的发病机制,为原发性高血压的防治提供新策略。

[参 考 文 献]

- [1] 吴铁吉.我国儿童高血压的流行病学[J].中国实用儿科杂志,2004,19(8):449-451.
- [2] Sorof JM, Lai D, Turner J, Poffenbarger T, Portman RJ. Overweight, ethnicity, and the prevalence of hypertension in school-aged children[J]. Pediatrics, 2004, 113(3 Pt 1): 475-482.
- [3] 梅仁彪,王瑜.肾素血管紧张素系统中原发性高血压候选基因的研究进展[J].中华高血压杂志,2008,16(11):976-978.
- [4] 张阳东,田亚华,董振南,张丹,温新宁.汉族人群血管紧张素转换酶多态性及其血清水平的研究[J].中国实验诊断学,2010,14(7):1061-1063.
- [5] 吴寿岭,李云,王志彬,么太成,于清,刘秀荣,等. ACE 基因多态性与原发性高血压患者血清 ACE 及 Ang II 浓度的关系[J].高血压杂志,2004,12(3):214-217.
- [6] 赵东明,张荣秋,宋文宣. ACE 基因多态性与原发性高血压及左心室肥厚的关系[J].现代医药,2003,19(23):1526-1527.
- [7] 米杰,王天有,孟玲慧,朱广谨,韩少梅,钟燕,等.中国儿童青少年血压参照标准的研究制定[J].中国循证儿科杂志,2010,15(1):1-14.
- [8] 米杰.中国 3~17 岁儿童青少年血压评价标准[J].中国儿童保健杂志,2010,18(6):534.
- [9] 梁日明,杨希立. ACE 多态性与原发性高血压合并冠心病相关性研究[J].中国实用医药,2008,3(9):32-33.
- [10] 潘发明,祁红,陶芳标,曾广玉,周伟,刘旭祥.儿童血压轨迹现象的研究[J].中国当代儿科杂志,2003,5(2):127-129.
- [11] 周标,叶均,屠平光,舒国通,施达,梁伟健,等.原发性高血压患者 ACE 水平与基因多态性[J].现代预防医学,2010,37(11):2144-2146.
- [12] 颜慕霞,顾晓琼.正常儿童 ACE 基因多态性与血清 ACE 活性的关系[J].广东医学,2006,27(1):100-101.
- [13] Zak I, Niemiec P, Balcerzyk A, Krauze J. Combined "pro-atherosclerotic" variants of the ACE and APOE genes increase the risk of the coronary artery disease associated with the presence of cigarette smoking[J]. Acta Cardiol, 2008, 63(6): 741-747.
- [14] 罗浩军,廖晓岗,唐吟宇.中国汉族原发性高血压候选基因研究进展[J].医学综述,2008,14(8):1158-1161.
- [15] Gesang L, Liu G, Cen W, Qiu C, Zhuoma C, Zhuoma L, et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and its association with essential hypertension in a Tibetan population[J]. Hypertens Res, 2002, 25(3): 481-485.
- [16] 韩秀玲,沈志霞,李宏芬,张志纺,王贺永,张淑青,等.血管紧张素转换酶基因 I/D 多态性与血脂水平及原发性高血压的相关性探讨[J].基础医学与临床,2010,30(8):843-846.
- [17] 何峰容,程欣,沈关心,王夜明. ACE I/D 基因多态性与武汉地区原发性高血压代谢综合征关系的探讨[J].临床血液学杂志,2007,4(6):254-256.
- [18] Wang Y, O'Connell JR, McArdle PF, Wade JB, Dorff SE, Shah SJ, et al. From the cover: whole genome association study identifies STK39 as a hypertension susceptibility gene[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009, 106(1): 226-231.
- [19] Org E, Eyheramendy S, Juhanson P, Gieger C, Lichtner P, Klopp N, et al. Genome-wide scan identifies CDH13 as a novel susceptibility locus contributing to blood pressure determination in two European populations[J]. Hum Mol Genet, 2009, 18(12): 2288-2296.
- [20] Cho YS, Go MJ, Kim YJ, Heo JY, Oh JH, Ban HJ, et al. A large-scale genome-wide association study of Asian populations uncovers genetic factors influencing eight quantitative traits[J]. Nat Genet, 2009, 41(5): 527-534.

(本文编辑:邓芳明)