

论著·临床研究

ACE 基因插入或缺失多态性与 NICU 新生儿左心室质量的关系

韩彤妍 王新利 崔蕴璞 叶鸿瑁 李在玲 童笑梅 朴梅花 李松

(北京大学第三医院儿科,北京 100191)

[摘要] 目的 探讨新生儿重症监护病房(NICU)新生儿血管紧张素转化酶(ACE)基因型插入/缺失(I/D)多态现象与生后早期左心室质量的关系。方法 72例入住NICU的新生儿纳入研究。生后3d取末梢血提取DNA,确定ACE基因型,生后1d进行危重病例评分,并在生后1~3d进行超声心动检查。结果 72例新生儿中,DD基因型11例,ID基因型31例,II基因型30例,3基因型间临床特征、出生情况、体格测量及病情轻重差异均无统计学意义。DD基因型的左心室质量指数(LVMI)($29 \pm 4 \text{ g/m}^2$)显著低于ID+II基因型($35 \pm 8 \text{ g/m}^2$)($t = 2.383, P < 0.05$)。结论 ACE基因型不同LVMI有显著差异,表现为DD基因型携带者的LVMI显著低于ID+II基因型携带者,提示D等位基因与左心室肌肉生长发育有相关性。[中国当代儿科杂志,2010,12(10):767-770]

[关键词] ACE基因多态性;左心室质量指数;新生儿重症监护病房;新生儿

[中图分类号] Q754 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2010)10-0767-04

Relationship between ACE gene insertion or deletion polymorphism and left ventricular mass in newborns admitted to the neonatal intensive care unit

HAN Tong-Yan, WANG Xin-Li, CUI Yun-Pu, YE Hong-Mao, LI Zai-Ling, TONG Xiao-Mei, PIAO Mei-Hua, LI Song. Department of Pediatrics, Peking University Third Hospital, Beijing 100191, China (Wang X-L, Email: xinli_wang1217@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective To study the relationship between angiotensin converting enzyme (ACE) gene insertion/deletion (I/D) polymorphism and left ventricular mass (LVM) in newborns admitted to the neonatal intensive care unit (NICU). **Methods** Seventy-two newborns admitted to the NICU were enrolled. ACE genotypes were determined by genomic DNA which was isolated from heel-prick blood. Disease status of the newborns was evaluated by the Neonatal Critical Score (draft) on postnatal day 1. LVM and LVM index (LVMI) were evaluated by echocardiography on postnatal days 1-3. **Results** DD genotype was identified in 11 cases, ID genotype in 31 cases, and II genotype in 30 cases. There were no significant differences in clinical characteristics, critical score and body measurements in newborns with different genotypes. The DD genotype group showed significantly lower LVMI than the group with ID + II genotypes ($29 \pm 4 \text{ g/m}^2$ vs $35 \pm 8 \text{ g/m}^2$; $P < 0.05$). **Conclusions** ACE gene polymorphism is associated with the LVMI in newborns admitted to the NICU. The LVMI of DD genotype carriers is significantly lower than that of ID + II genotypes carriers, which suggests that D allele may be associated with the growth and development of left ventricular.

[Chin J Contemp Pediatr, 2010, 12 (10):767-770]

Key words: ACE polymorphism; Left ventricular mass index; Neonatal Intensive Care Unit; Newborn

血管紧张素转化酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)是肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)的关键酶,在机体的血压、水电解质稳态方面的调节起着重要的作用,是RAS以及激肽-缓激肽系统的重要调节因素,影响人体多种生理机能。一系列的研究表明RAS系统与心血管疾

病相关^[1],作为原发性高血压和左心室肥厚的候选基因,对ACE基因的广泛研究多集中在成人疾病领域。ACE基因位于17号染色体长臂2区3带(17q23),其16内含子长度为287 bp的Alu序列的插入(insertion, I)或缺失(deletion, D)使ACE基因呈现插入/缺失(I/D)的限制性片断长度多态现象,

[收稿日期]2009-12-20; [修回日期]2010-02-19

[基金项目]高等学校博士学科点专项科研基金(批准号200800011126)。

[作者简介]韩彤妍,女,博士,主治医师。

[通信作者]王新利,研究员。

即存在 I 和 D 两种等位基因以及 3 种基因型: DD、ID 和 II。ACE 基因调控 ACE 的血浆浓度和活性,影响组织局部的 ACE 浓度,从而影响心肌组织局部 RAS 系统的活性。本研究针对新生儿重症监护病房(neonatal intensive care unit, NICU)的新生儿 ACE 基因 I/D 多态性及生后左心室质量(left ventricular mass, LVM)关系进行研究,观察由于 ACE 基因型的不同而产生的出生后左心室质量之间的关系。

1 对象和方法

1.1 研究对象

2008 年 2 月至 2009 年 2 月在生后 24 h 内进入本院 NICU 病房的新生儿。入选标准: ①新生儿危重病例评分分值 >90 分者; ②家长签署知情同意书,同意留取血样和进行超声心动检查者。剔除标准: ①新生儿危重病例评分分值 ≤90 分者; ②存在先天畸形者。共入选 72 例新生儿,其中早产儿 56 例,极低出生体重儿 11 例,男 40 例,女 32 例;平均胎龄(34 ± 3 周);平均出生体重(2 121 ± 619 g)。本研究经北京大学第三医院伦理委员会同意,所有检查均经患儿父母知情同意。

1.2 方法

1.2.1 新生儿危重病例评分 入院 24 h 内,检查心率、血压、呼吸、动脉血 pH 值、动脉血氧分压、血钾、血钠、血尿素氮、红细胞压积、胃肠道表现(有无腹胀或消化道出血)等,并按参考文献^[2]进行新生儿危重病例评分。

1.2.2 ACE 基因型 新生儿生后 3 d 取足跟血 300 μL, DNA 提取试剂盒(Wizard® Genomic DNA Purification Kit)购自美国普洛麦格公司,按说明书提取 DNA。PCR 扩增的上游引物为 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3', 下游引物为 5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA-3', 由北京赛百盛基因技术有限公司合成。由于 D 等位基因常优先扩增,用上游引物 5'-TGG GAC CAC AGC GCC CGC CAC TAC-3' 和下游引物 5'-TCG CCA GCC CTC CCA TGC CCA TAA-3' 进行二次 PCR 确证,约 5% 的 ID 基因型被误分为 DD 基因型。

1.2.3 左心室质量 采用 HP-SONO S1500 型电子超声成像诊断仪,探头频率 3.0 MHz。于生后 24 h ~ 3d 内行超声心动检查。采用美国超声心动

图协会推荐的测量方法,连续测取 3 个心动周期的左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVDd)、舒张期室间隔厚度(interventricular septum thickness, IVST)、左室后壁厚度(posterior wall thickness, PWT)和左室收缩末内径(left ventricular end-systolic dimension, LVDs)、主动脉根部径(aortic root dimension, ARd)、射血分数(ejection fraction, EF),分别取其平均值,根据 Devereux 公式计算左心室质量(left ventricular mass, LVM)^[3]。LVM(g) = 0.8 × 1.04 × [(LVDd + IVST + PWT)³ - (LVDd)³] + 0.6。左室质量指数(left ventricular mass index, LVMI)为左室质量与体表面积的比值计算得到^[3],新生儿体表面积(body surface area, BSA)计算按 Meban 公式: BSA(m²) = 6.4954 × 体重(g)^{0.562} × 身高(cm)^{0.320}/10 000^[4]。LVMI 计算公式: LVMI(g/m²) = LVM/BSA^[3]。

1.3 统计学分析

应用 SPSS 10.0 统计软件进行统计学分析。计数资料用 χ^2 检验;计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较用方差分析(ANOVA),并用 LSD Post-Hoc 检验进行两两比较;两组间比较用 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ACE 基因 I/D 多态性

72 例患儿中,DD 基因型 11 例(15%),ID 基因型 31 例(43%),II 基因型 30 例(42%);D 等位基因频率 37%,I 等位基因频率 63%;经确认符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律($\chi^2 = 0.127, P = 0.938$)。

2.2 ACE 3 种基因型临床情况比较

ACE 3 种基因型间临床情况、出生情况、体格测量及病情轻重等差异均无统计学意义。

2.3 ACE 3 种基因型超声心动检查结果

经过方差分析,发现 DD、ID 和 II 基因型 3 组间的 LVMI 差异无统计学意义(*P* = 0.066),见表 1。

由于以往研究证实,ACE 活性在 ≥1 个 I 等位基因的个体中是相似的,因此我们沿用文献中的方法将 ID + II 基因型组合并^[5],共计 61 例,与 DD 基因型(11 例)比较,发现 DD 基因型携带者的 LVMI 为 29 ± 4 g/m²,显著低于 ID + II 基因型携带者(35 ± 8 g/m²)(*t* = 2.383, *P* = 0.027)。

表1 ACE 3种基因型超声心动测量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	PWT(mm)	IVST(mm)	LVDd(mm)	LVDs(mm)	ARd(mm)	EF	LVM(g)	LVMI(g/m ²)
DD	11	2.6 ± 0.4	3.0 ± 0.6	15.1 ± 2.3	9.4 ± 1.6	8.3 ± 1.1	66 ± 8	4.7 ± 1.5	29 ± 4
ID	31	2.7 ± 0.6	3.1 ± 0.6	15.7 ± 2.6	10.9 ± 2.3	8.3 ± 1.8	68 ± 7	5.8 ± 1.7	35 ± 8
II	30	2.6 ± 0.5	2.9 ± 0.6	15.8 ± 2.4	9.9 ± 1.9	7.7 ± 1.7	70 ± 7	5.5 ± 1.8	35 ± 8
F值		0.709	0.374	0.362	0.911	1.057	1.072	1.689	2.823
P值		0.496	0.690	0.698	0.419	0.354	0.349	0.192	0.066

3 讨论

本研究选取72例新生儿研究ACE基因多态性与生后早期左心室质量的关系,发现ACE基因型不同LVMI有显著差异,表现为DD基因型携带者的LVMI显著低于ID+II基因型携带者,这一结果提示D等位基因与左心室肌肉生长发育有相关性。

本研究作为小样本的试探性研究,选取进入NICU的危重病评分大于90分的新生儿作为研究对象,原因在于此研究人群需要进行超声心动的检查,进行检查不会影响患儿的治疗,同时亦不会增加经济负担。虽然可能存在一定的研究对象选择偏倚,但是本研究群体的基因型分布符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律,可以认为研究样本具有群体代表性;其中DD、ID和II基因型频率分别是15%、43%和42%,D等位基因频率37%,I等位基因频率63%,与其他国内报道的ACE基因型频率接近^[6]。

近年来,胎盘中所含的RAS影响胎儿生长并且在胎盘滋养层有RAS受体的观点越来越受到重视^[7]。RAS通过血管紧张素受体调节子宫胎盘血流和蜕膜化、胎盘形成和植入的过程,并且有效调节前列腺素合成和雌二醇分泌^[8]。胎盘RAS功能紊乱可能引起出血、子宫胎盘血流减少、先兆子痫和胎儿宫内发育迟缓等^[9]。Hindmarsh等^[10]提出较低ACE活性的II基因型携带者有出生体重高于DD基因型的趋势。Uma等^[7]提出ACE基因多态性与早产和新生儿出生体重相关。他们发现较多的早产儿携带DD基因型,而出生体重与ACE活性无相关性。可能的机制是DD基因型的血管紧张素原在蜕膜层螺旋动脉高表达,且ACE通过释放组织因子影响胎盘血管化。本研究中ACE3种基因型携带者出生体重无显著差异,可能是我们未发现基因型不同而产生左心室质量差异的原因。

根据“程序化”理论,生命早期胎儿生长发育阶段的刺激导致器官功能和结构的远期改变^[11]。Schwartz等^[12]提出宫内发育受限可能对心脏和大

血管的发育有着远期影响。Jiang等^[13]对216例9岁儿童进行超声心动检查,发现出生体重较小的儿童冠状动脉直径、主动脉根部径和左心室流出道直径明显减小。Martyn等^[14]提出生命早期心脏和主动脉的机械和物理特性的微小差异对于成年期心血管危险有着不同程度的影响。

以往动物研究中,有较多关于ACE基因型与左心室关系的研究。Reini等^[15]研究绵羊胎儿心脏生长过程中的个体发育基因的影响,发现左、右心室ACE水平随着孕龄的增加而逐渐增加,到分娩前迅速增高,孕足月(孕龄145d时)ACE水平是孕龄80d时的5倍,提示在孕晚期,ACE表达迅速增加。此前,Tian等^[16]证实大鼠心脏ACE过度表达时,会导致心肌肥大。据此推论,DD基因型携带者ACE水平较高,应具有相对大的LVMI,这与本研究中DD基因型出生时LVMI较小的结果有矛盾。分析其原因,考虑为本组研究对象病情不严重,体格生长相对较好,在相对良好的宫内环境下,DD基因型携带者的左心室发育相对欠佳。在出生后,DD基因型携带者的适应性相对欠佳^[5]。在体育锻炼、血液透析和心肌梗塞等外界刺激存在时,ACE基因对于左心室肌肉的影响更加显著,DD基因型携带者尤其突出的表现为左心室重量增加^[17-18]。Nakahara等^[19]研究443例成年病人尸体解剖的结果发现,ACE基因与心脏重量相关,DD基因型携带者的心脏重量明显高于另外两个基因型携带者。因此,在生后相对不良的环境压力下,DD基因型携带者远期易出现心血管疾病。

综上所述,本研究针对NICU新生儿研究ACE基因插入/缺失多态性与生后早期左心室质量的关系,发现DD基因型的新生儿生后早期LVMI比ID+II基因型携带者显著降低,而左心室质量、射血分数、主动脉根部径等无显著差异。这些数据对于我们理解ACE基因作为心血管疾病的候选基因,与成年期原发性高血压、左心室肥厚、心肌梗塞等多种心血管系统疾病相关有重要提示:是否正是由于DD基因型携带者宫内发育相对差,在生后不良环境压

力作用下,发生心血管系统疾病的机率更高呢?这一假设有待大样本长期随访研究得到确证的结论。

[参 考 文 献]

[1] Silva GJ, Moreira ED, Pereira AC, Mill JG, Krieger EM, Krieger JE. ACE gene dosage modulates pressure-induced cardiac hypertrophy in mice and men[J]. *Physiol Genomics*, 2006, 27(3): 237-244.

[2] 中华医学会急诊分会儿科学组,中华医学会儿科学分会急诊学组、新生儿学组. 新生儿危重病例评分法(草案)[J]. *中华儿科杂志*, 2001, 39(1): 42-43.

[3] Devereux RB, Reichek N. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic validation of the method[J]. *Circulation*, 1977, 55(4): 613-618.

[4] Meban C. The surface area and volume of the human fetus[J]. *J Anat*, 1983, 137(2): 271-278.

[5] Harding D, Dhamrait S, Marlow N, Whitelaw A, Gupta S, Humphries S, et al. Angiotensin converting enzyme DD genotype is associated with worse perinatal cardiorespiratory adaptation in preterm infants[J]. *J Pediatr*, 2003, 143(6): 746-749.

[6] 云美玲, 钟江华, 金水晶, 张勇, 周代锋, 王红霞, 等. 血管紧张素转化酶基因多态性在海南黎、汉族高血压人群的对比研究[J]. *临床心血管病杂志*, 2007, 23(11): 843-845.

[7] Uma R, Forsyth JS, Struthers AD, Fraser CG, Godfrey V, Murphy DJ. Correlation of angiotensin converting enzyme activity and the genotypes of the I/D polymorphism in the ACE gene with preterm birth and birth weight[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2008, 141(1): 27-30.

[8] Cooper AC, Robinson G, Vinson GP, Cheung WT, Broughton Pipkin F. The localization and expression of the rennin-angiotensin system in the human placenta throughout pregnancy[J]. *Placenta*, 1999, 20(5-6): 467-474.

[9] Nielsen AH, Schauser KH, Poulsen K. Current topic: the utero-placental renin-angiotensin system[J]. *Placenta*, 2000, 21(5-6): 468-477.

[10] Hindmarsh PC, Rodeck CH, Humphries SE. Polymorphisms in the angiotensin converting enzyme gene and growth in the first year of life[J]. *Ann Hum Gene*, 2007, 71(2): 176-184.

[11] Barker DJ. Fetal origins of coronary heart disease[J]. *BMJ*, 1995, 311(6998): 171-174.

[12] Schwartz ML, Goldberg SJ, Wilson N, Allen HD, Marx GR. Relation of Still's murmur, small aortic diameter and high aortic velocity[J]. *Am J Cardiol*, 1986, 57(15): 1344-1348.

[13] Jiang B, Godfrey KM, Martyn CN, Gale CR. Birth weight and cardiac structure in children[J]. *Pediatrics*, 2006, 117(2): e257-e261.

[14] Martyn CN, Greenwald SE. Impaired synthesis of elastin in walls of aorta and large conduit arteries during early development as an initiating event in pathogenesis of systemic hypertension[J]. *Lancet*, 1997, 350(9082): 953-955.

[15] Reini SA, Wood CE, Keller-Wood M. The ontogeny of genes related to ovine fetal cardiac growth[J]. *Gene Expr Patterns*, 2009, 9(2): 122-128.

[16] Tian XL, Pinto YM, Costerousse O, Franz WM, Lippoldt A, Hoffmann S, et al. Over-expression of angiotensin converting enzyme-I augments cardiac hypertrophy in transgenic rats[J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13(14): 1441-1450.

[17] Montgomery HE, Clarkson P, Dollery CM, Prasad K, Losi MA, Hemingway H, et al. Association of angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism with change in left ventricular mass in response to physical training[J]. *Circulation*, 1997, 96(3): 741-747.

[18] Osono E, Kurihara S, Hayama N, Sakurai Y, Ohwada K, Onoda N, et al. Insertion/deletion polymorphism in intron 16 of the ACE gene and left ventricular hypertrophy in patients with end-stage renal disease[J]. *Am J Kidney Dis*, 1998, 32(5): 725-730.

[19] Nakahara K, Matsushita S, Matsuoka H, Inamatsu T, Nishinaga M, Yonawa M, et al. Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene affects heart weight[J]. *Circulation*, 2000, 101(2): 148-151.

(本文编辑:王庆红)