



ACE基因的插入/缺失多态性与2型糖尿病伴高血压的相互关系

临床和流行病学研究发现2型糖尿病、心血管疾病和高血压病常集结出现,提示可能有某种未知的遗传因素在起作用[1]。肾素-血管紧张素(renin-angiotensin system, RAS)系统是调节血压、维持体内电解质平衡的重要因素,其在高血压发病中的作用已受到肯定。血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)是RAS的关键酶,其基因插入/缺失(insertion/ deletion, I/D)多态性与高血压关系密切,研究认为ACE基因是高血压病的候选基因之一[2]。由于2型糖尿病患者高血压的发病率远远高于一般人群,高血压的发生也与胰岛素抵抗有关,故认为2型糖尿病与高血压有共同的遗传背景。因此,我们在一群中国汉族2型糖尿病患者中进行ACE基因I/D多态性研究,旨在寻找2型糖尿病伴高血压与该基因多态性之间的相互关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象

198例1997年~1999年在我院住院的2型糖尿病患者,按1985年WHO糖尿病诊断标准确诊,男性105例,女性93例,年龄43~77岁,病程1~17年。根据患者血压水平分组,以收缩压(SBP)≥18.6 kPa和/或舒张压(DBP)≥12.0 kPa为糖尿病伴高血压组,共81例;收缩压<18.6 kPa和舒张压<12.0 kPa为无高血压糖尿病组,共117人。排除库欣综合征、醛固酮增多症、肢端肥大症、嗜铬细胞瘤、甲状腺功能亢进和更年期综合征等引起的继发性高血压,无过度饮酒、肝肾疾病史。

1.2 研究方法

1.2.1 ACE基因型检测 用标准酚/氯仿法由周围血白细胞内提取基因组DNA,以PCR扩增患者基因组DNA中ACE基因第16内含子I/D多态性,正、负引物为:5' CTGGAGACCACTCCCATAATTTCT3'和5' GATGTGGCCATCACACATTCGTCAGAT3' [3]。在50 μl的反应体系中含以上引物各50 pmol/L、5 μl的10× buffer、5 μl 1.25 mmol/L的dNTP、2.5 U Taq酶,在PCR自动循环仪(复日FR-900)上按以下条件进行循环反应:变性94 °C, 300 s;退火50 °C, 120 s;延伸72 °C, 120 s,完成30个循环后,在72 °C充分延伸10 min,取扩增产物10 μl,与III型加样缓冲液2 μl适当混合,10%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳(恒压120 V,电泳液为1×TBE),0.5 μg/ml EB染色45 min后紫外灯下观察结果,可见190 bp的缺失型片段(DD型),490 bp的插入型片段(II型)以及插入/缺失型片段(DI型)。

1.2.2 其他检查 取空腹静脉血测糖化血红蛋白(HbA1c,液相色谱法),应用全自动生化测定仪测定胆固醇(Ch)、甘油三酯(TC)、血糖(Glu),测晨8:00~9:00坐位右上臂肱动脉血压3次,取平均值。

1.3 统计分析

计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用方差分析及t检验,组间ACE基因及等位基因频率比较用 χ^2 检验,用SPSS统计软件处理数据。

2.1 各组临床特征比较

糖尿病伴高血压组的病程、SBP、DBP水平均明显高于糖尿病无高血压组($P<0.001$), 其余临床资料在各组间无显著性差异($P>0.05$, 表1)。

表 1 糖尿病伴与不伴高血压患者临床资料比较 ($\bar{x}\pm s$)Tab.1 Comparison of clinical data between hypertensive and normotensive diabetic patients ($Mean\pm SD$)

Item	Diabetic patients	
	Normotensive	Hypertensive
Number of cases	117	81
Gender (male/female)	60/57	41/40
Age (years)	54.47 \pm 12.08	55.06 \pm 11.69
Course of disease (years)	4.88 \pm 5.08	7.05 \pm 5.87*
BMI (kg/m ²)	22.56 \pm 4.27	23.01 \pm 4.18
SBP (kPa)	16.11 \pm 1.61	21.23 \pm 2.50*
DPB (kPa)	9.78 \pm 1.91	11.97 \pm 1.67*
Ch (mmol/L)	5.06 \pm 1.49	5.59 \pm 1.25
TC (mmol/L)	2.39 \pm 5.27	2.42 \pm 2.39
Glu (mmol/L)	10.19 \pm 4.29	10.90 \pm 3.83
HbA _{1c} (%)	9.63 \pm 2.6	9.57 \pm 3.70

* $P<0.001$ vs normotensive group; BMI: Body mass index

表1 糖尿病伴与不伴高血压患者临床资料比较 ($\bar{x}\pm s$)Tab.1 Comparison of clinical data between hypertensive and normotensive diabetic patients ($Mean\pm SD$)

* $P<0.001$ vs normotensive group; BMI: Body mass index

2.2 各组ACE基因型及等位基因频率的比较

糖尿病伴高血压组与糖尿病正常血压组比较, 其DD型基因的频率和D等位基因的携带率明显增高($P<0.05$ 和 $P<0.01$), 而II型基因的频率和I等位基因的携带率明显降低($P<0.001$ 和 $P<0.05$)。在糖尿病高血压组中, 单纯SBP增高组与单纯DBP增高组之间无显著差异($P>0.05$)。单纯SBP增高组与糖尿病正常血压组之间无显著差异($P>0.05$), 而单纯DBP增高组与糖尿病正常血压组比较, 二组之间各基因型的频率、等位基因的携带率均有显著性差异($P<0.05$, 表2)。

表 2 糖尿病伴与不伴高血压患者ACE 基因型及等位基因分布频率

Tab.2 Frequency distribution of ACE genotype and allele in normotensive and hypertensive diabetic patients

Group	n	Genotype			Allele	
		DD	DI	II	D	I
Normotensive	117	0.20(24)	0.42(49)	0.38(44)	0.41(97)	0.59(137)
Hypertensive	81	0.27(22)*	0.42(34)	0.31(25)**	0.48(78)*	0.52(84)
SBP \geq 18.6 kPa	75	0.24(18)	0.40(30)	0.36(27)	0.44(66)	0.56(84)
DBP \geq 12.0 kPa	55	0.27(15)*	0.42(23)	0.31(17)*	0.48(53)*	0.52(57)

* $P<0.05$, ** $P<0.001$ vs normotensive group

表2 糖尿病伴与不伴高血压患者ACE基因型及等位基因分布频率

Tab.2 Frequency distribution of ACE genotype and allele in normotensive and hypertensive diabetic patients * $P<0.05$, ** $P<0.001$ vs normotensive group

3 讨论

糖尿病和高血压是两种常见疾病，二者关系密切，均为导致心、脑、肾血管粥样硬化的独立危险因素，在糖尿病病人中高血压的患病率明显高于非糖尿病病人。近年来，糖尿病、高血压、冠心病被认为是一类具有共同遗传背景的疾病[1]，ACE基因多态性是目前研究血管疾病的主要候选基因，ACE基因多态性与冠心病的关系研究比较多，结论也比较一致，认为具有D等位基因的2型糖尿病患者，尤其是携带DD基因型的患者，有较高的冠心病易感性，D等位基因是2型糖尿病并发冠心病的一个独立且具有高度危险的相关因素[4]。关于ACE基因多态性与2型糖尿病并发高血压的关系，Pujia等[5]研究发现，在2型糖尿病患者中，DD基因型的个体高血压患病率明显高于DI基因型，认为ACE基因多态性在2型糖尿病并发高血压的出现中起一定的作用，检测基因类型有助于确定和监护那些对高血压易感的糖尿病患者。在芬兰，对2型糖尿病患者的大范围研究也发现，高血压的患病率在II基因型的患者中是最低的，II基因型患者的收缩压低于DI或DD型的患者[6]。本研究通过检测ACE基因多态性作为探讨2型糖尿病并发高血压的遗传易感基因的重要手段，研究结果显示患者ACE基因DD型及D等位基因与2型糖尿病并发高血压的发生有相关性。

ACE是血管紧张素II形成过程中的一个重要限速酶，通过催化血管紧张素I转换为血管紧张素II(Ang II)和灭活缓激肽，影响机体内水钠平衡、血管收缩和血管平滑肌细胞增殖，这些均是导致心血管疾病发生的关键因素。个体ACE不同的基因型其血液循环中ACE的水平是不一样的。在正常群体中，ACE基因为DD基因型者其血液循环ACE水平最高，DI型次之，II型最低。因此，推测等位基因D在ACE基因表达调控方面起活化作用，而等位基因I则起抑制作用。也可能与一个致ACE表达量上调的基因紧密连锁不平衡，其结果导致血循环和器官组织内Ang II含量升高和缓激肽降解增加，促使高血压、糖尿病肾病的发生和发展[7]。本实验结果表明，有高血压并发症的糖尿病患者基因呈DD型频率(27.16%)比非高血压的糖尿病患者(20.51%)高，糖尿病患者中ACE基因多态性呈DD型者发生高血压的风险率为II型者的1.32倍，且糖尿病伴高血压患者病程显著延长。正常血压糖尿病患者与单纯SBP升高患者ACE基因I/D多态性之间无显著差异，而与单纯DBP升高患者显著相关，表明DBP升高在糖尿病伴高血压的发生中起重要作用。

由于糖尿病、高血压为多基因疾病，它们的发生受多种因素影响，发病机制远较单基因疾病复杂，因此，为了进一步探明二者相互间的关系，应该扩大样本数，同时增加候选基因如肾素基因、血管紧张素原基因作进一步的研究，有可能得到更详细的结果。

参考文献:

- [1] Stern MP. Do non-insulin-dependent diabetes mellitus and cardiovascular disease share common antecedents[J]? *Ann Int Med*, 1996, 124(1 pt 2): 110-6.
- [2] Hilbert P, Lindpaintner K, Beckmann JS, et al. Chromosomal mapping of two genetic loci associated with blood-pressure regulation in hereditary hypertensive rats[J]. *Nature*, 1991, 353(6344): 521-9.
- [3] Rigat B, Hubert C, Corvol P, et al. PCR detection of the insertion/ deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1)[J]. *Nucleic Acids Res*, 1992, 20: 1433-5.
- [4] Huang XH, Rantalaiho V, Wirta O, et al. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and diabetic albuminuria in patents with NIDDM followed up for 9 years[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 1998, 13: 1807-10.
- [5] Pujia A, Gnasso A, Irace C, et al. Association between ACE-D/D polymorphism and hypertension in type II diabetic subjects[J]. *J Hum Hypertens*[J], 1994, 8(9) : 687-91.
- [6] Ukkola O, Savolainen MT, Salme PT, et al. Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene associated with macroangiopathy and blood pressure in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus[J]. *J Mol Med*, 1995, 76(2): 307- 11.
- [7] Camibient F, Poirier O, Lecerft L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin converting enzyme is a potent risk factor for MI[J]. *Nature*, 1992, 359(6658): 641-4.

参考文献:

- [1] Stern MP. Do non-insulin-dependent diabetes mellitus and cardiovascular disease share common antecedents[J]? *Ann Int Med*, 1996, 124(1 pt 2): 110-6.
 - [2] Hilbert P, Lindpaintner K, Beckmann JS, et al. Chromosomal mapping of two genetic loci associated with blood-pressure regulation in hereditary hypertensive rats[J]. *Nature*, 1991, 353(6344): 521-9.
 - [3] Rigat B, Hubert C, Corvol P, et al. PCR detection of the insertion/ deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase 1)[J]. *Nucleic Acids Res*, 1992, 20: 1433-5.
 - [4] Huang XH, Rantalaiho V, Wirta O, et al. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and diabetic albuminuria in patents with NIDDM followed up for 9 years[J]. *Nephrol Dial Transplant*, 1998, 13: 1807-10.
 - [5] Pujia A, Gnasso A, Irace C, et al. Association between ACE-D/D polymorphism and hypertension in type II diabetic subjects[J]. *J Hum Hypertens*[J], 1994, 8(9) : 687-91.
 - [6] Ukkola O, Savolainen MT, Salme PT, et al. Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene associated with macroangiopathy and blood pressure in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus[J]. *J Mol Med*, 1995, 76(2): 307- 11.
 - [7] Camibient F, Poirier O, Lecerft L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin converting enzyme is a potent risk factor for MI[J]. *Nature*, 1992, 359(6658): 641-4.
-

