

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

周琳¹, 袁耀明¹, 罗仁², 袁方¹ 第一军医大学南方医院¹ 内分泌科袁中医内科袁广东 广州 501515 冤

摘要目的 探讨血管紧张素转换酶ACE基因插入 / 缺失D多态性与 2 型糖尿病伴高血压之间的相互关系遥方法以 ACE 基因为候选基因袁应用 PCR 方法袁检测 81 例 2 型糖尿病伴高血压患者及 117 例 2 型糖尿病无高血压患者的 ACE 基因遥结果 2 组研究对象 DD尧D/I尧II 基因型分布频率分别为 27.16% vs 20.51%尧1.98% vs 41.88%尧0.86% vs 37.61%尧尧等位基因携带率分别为 48.15% vs 41.45%尧1.85% vs 58.55%尧均有显著性差异 (P<0.05)遥提示 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遥糖尿病患者中 ACE 基因 I/D 多态呈 DD 型者发生高血压的风险率为 II 型者的 1.32 倍袁且糖尿病伴高血压患者病程显著延长遥正常血压糖尿病患者 ACE 基因 I/D 多态性与单纯收缩压渊BP冤升高患者 ACE 基因 I/D 多态性之间无显著差异袁而与单纯舒张压渊BP冤升高患者 ACE 基因 I/D 多态性之间显著相关遥结论 ACE 基因 I/D 多态性参与 2 型糖尿病伴高血压的发病尧等位基因可能是 2 型糖尿病并发高血压的一个危险因子袁且 DBP 升高在糖尿病伴高血压的发生中起重要作用遥

关键词血管紧张素转换酶基因插入 / 缺失多态性 糖尿病袁 型 高血压

中图分类号 578.1:R541.3 文献标识码 文章编号 000-2588 渊002 冤 9-0808-03

Association of insertion/deletion polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene with hypertensive type 2 diabetes mellitus

ZHOULin¹, XUEYao-ming¹, LUORen², GAO Fang¹

DepartmentsofEndocrinology¹ andTraditionalChineseMedicine², NanfangHospital, First Military MedicalUniversity, Guangzhou510515, China

Abstract: Objective To elucidate the interaction between the insertion/deletion (I/D) polymorphism in angiotensin converting enzyme (ACE) gene and hypertensive type 2 diabetes mellitus. Method I/D polymorphism in ACE gene was determined with PCR technique in 82 hypertensive and 117 non-hypertensive patients with type 2 diabetes. Results The comparison between the 2 groups revealed a significant difference in DD/DI/II genotype distribution and D/I allele carrying (P=6.41, P<0.05), indicating an association of DD genotype and D allele carrying with the occurrence of hypertensive type 2 diabetes. Diabetic patients with I/D polymorphism in ACE gene complicated by hypertension had 1.32 times higher risk than non-hypertensive type 2 diabetic patients, and the course of hypertensive type 2 diabetes was significantly lengthened. No significant difference of I/D polymorphism in ACE gene was identified between normotensive diabetic patients and diabetic patients with elevated diastolic blood pressure, but the close correlation was found between normotensive diabetic patients and diabetic patients with elevated systolic pressure. Conclusions I/D polymorphism in ACE gene contributed to development of hypertensive type 2 diabetes. D allele might be an important risk factor for hypertensive type 2 diabetes, and elevation of diastolic blood pressure plays an important role in the occurrence of hypertensive type 2 diabetes.

Key words: angiotensin-converting enzyme gene; insertion/deletion polymorphism; diabetes, type 2; hypertension

临床和流行病学研究发现 2 型糖尿病尧心血管疾病和高血压病常集结出现袁提示可能有某种未知的遗传因素在起作用遥肾素 - 血管紧张素渊renin-angiotensin system, RAS 冤系统是调节血压尧维持体内电解质平衡的重要因素袁其在高血压发病中的作用已受到肯定遥血管紧张素转换酶 (angiotensin converting enzyme, ACE) 是 RAS 的关键酶袁其基因插入 / 缺失 (insertion/deletion, I/D) 多态性与高血压关系密切袁研究认为 ACE 基因是高血压病的候选基因之一遥由于 2 型糖

尿病患者高血压的发病率远远高于一般人群袁高血压的发生也与胰岛素抵抗有关袁我们认为 2 型糖尿病与高血压有共同的遗传背景遥因此袁我们在一群中国汉族 2 型糖尿病患者中进行 ACE 基因 I/D 多态性研究袁旨在寻找 2 型糖尿病伴高血压与该基因多态性之间的相互关系遥

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 型糖尿病患者袁按 1985 年 WHO 糖尿病诊断标准确诊袁男性 105 例袁女性 93 例袁年龄 43~77 岁袁病程 1~17 年遥根据患者血压水平分组袁以收缩压渊BP冤逸 18.6kPa 和 /

收稿日期 002-02-07

基金项目 广东省重点攻关项目基金渊9GDZ009 冤

作者简介 周琳 渊969- 冤女袁袁西吉安人袁2000 年毕业于第一军医大学袁士袁主治医师袁电话 20-61641635

或舒张压 ≥ 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主动脉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肾脏疾病史

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 多态性引物为 5'-CTGGAGACCACTCCCATAATTTCT3' 和 5'-GATGTGGCCATCACACATTCGTCAGAT3' 在 50 滋的反应体系中含以上引物各 50 pmol/L 的 10 倍 buffer 1.25 mmol/L 的 dNTP 0.5 U Taq 酶在 PCR 自动循环仪上按以下条件进行循环反应变性 94 益 0.5 s 退火 50 益 2.0 s 延伸 72 益 2.0 s 完成 30 个循环后在 72 益充分延伸 10 min 取扩增产物 10 滋与芋型加样缓冲液 2 滋适当混合 0% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳 电压 120 V 电泳液为 1 伊 BE 0.5 滋/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 D 型 90 bp 的插入型片段 I 型以及插入 / 缺失型片段 II 型

1.2.2 其他检查 取空腹静脉血测糖化血红蛋白 bA1c 液相色谱法应用全自动生化测定仪测定血胆固醇 甘油三酯 空腹血糖 晨 8 时 ~ 9 时 坐位右上臂肱动脉血压 3 次取平均值

1.3 统计分析

计量资料以均数依标准差 (\bar{x} 依) 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字检验用 SPSS 统计软件处理数据

2 结果

2.1 各组临床特征比较

糖尿病伴高血压组的病程 ≥ 10 年 BP 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

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 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

表 1 糖尿病伴与不伴高血压患者临床资料比较 (\bar{x} 依)

Tab.1 Comparison of clinical data between hypertensive and normotensive diabetic patients (Mean 依 D)

Item	Diabetic patients	
	Normotensive	Hypertensive
Number of cases	117	81
Gender (male/female)	60/57	41/40
Age (years)	54.47 依 2.08	55.06 依 1.69
Course of disease (years)	4.88 依 0.08	7.05 依 0.87*
BMI (kg/m ²)	22.56 依 2.27	23.01 依 1.18
SBP (kPa)	16.11 依 0.61	21.23 依 0.50*
DPB (kPa)	9.78 依 0.91	11.97 依 0.67*
Ch (mmol/L)	5.06 依 0.49	5.59 依 0.25
TC (mmol/L)	2.39 依 0.27	2.42 依 0.39
Glu (mmol/L)	10.19 依 0.29	10.90 依 0.83
HbA _{1c} (%)	9.63 依 0.6	9.57 依 0.70

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

与糖尿病正常血压组比较二组之间各基因型的频率及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 ≥ 18.6 kPa	75	0.24(18)	0.40(30)	0.36(27)	0.44(66)	0.56(84)
DBP ≥ 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

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 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 基因型的患者具有较高的冠心病易感性 I 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关于 ACE 基因多态性与 2 型糖尿病并发高血压的关系 Fujia 等研究发现 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^{〔1〕}。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^{〔2〕}。

ACE 是血管紧张素域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, 影响体内水钠平衡、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, DD 型基因型者其血循环 ACE 水平最高, I 型次之, D 型最低。因此, DD 型等位基因 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^{〔3〕}。本实验结果表明, 有高血压并发的糖尿病患者基因呈 DD 型频率 7.16%, 比非高血压的糖尿病患者高 0.51%。在糖尿病患者中 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。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^{〔4〕}。

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^{〔5〕}。

参考文献

- 〔1〕 Stern MP, Donon-insulin-dependent diabetes mellitus and cardiovascular diseases share common antecedents. *Ann Int Med*, 1996, 124 (1pt2): 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. *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 I). *Nucleic Acids Res*, 1992, 20: 1433-5.
- 〔4〕 Huang XH, Rantalaiho V, Wirta O, et al. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and diabeticalbuminuria in patients with NIDDM followed up for 9 years. *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 2 diabetic subjects. *Hum Hypertens*, 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. *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 potential risk factor for MI. *Nature*, 1992, 359(6658): 641-4.

连接 807 页

变, 而使母体针对于优势毒株产生的抗体无法中和体内的弱势株。因此, 尽管该毒株在母体内含量很少, 由于缺乏抗体中和, 可以选择性成为婴儿体内优势株。Ojima 等^{〔1〕}发现 126 位苏氨酸比 126 位异亮氨酸更容易形成慢性感染, 可能也为苏氨酸成为婴儿优势株的原因。对于选择性传染, 亟待解决的问题是: 选择是发生于母婴传播过程中还是婴儿体内。为了解决这个问题, 需要对系列标本进行序列分析, 来显示优势株及弱势株在一段时间内连续的变化^{〔2〕}。

参考文献

- 〔1〕 Carman WF, Zanetti AR, Karayiannis P, et al. Vaccines induced escape mutant of Hepatitis B virus. *Lancet*, 1990, 336(2): 325-9.
- 〔2〕 Okamoto H, Yano K, Nozaki Y, et al. Mutations within the S gene of hepatitis B virus transmitted from mother to babies immunized with hepatitis B immune globulin and vaccine. *Pediatr Res*, 1992, 32 (4): 264-8.
- 〔3〕 Kathigesu VD, Allison LMC, Fortuin M, et al. A novel hepatitis B

- 〔4〕 virus variant in these sera of immunized children. *J Gen Virol*, 1994, 75(3): 443-8.
- 〔5〕 Oon CJ, Lim GK, Ye Z, et al. Molecular epidemiology of hepatitis B virus vaccine variant in Singapore. *Vaccine*, 1995, 13(4): 699-702.
- 〔6〕 Hou JL, Peter K, Jenny W, et al. A unique insertion in the S gene of surface antigen negative hepatitis B virus Chinese carriers. *Hepatology*, 1995, 21(2): 273-7.
- 〔7〕 Ngui SL, O'Connell S, Eglinton RP, et al. Low detection rate and maternal provenance of hepatitis B virus S gene mutants in cases of failed postnatal immunoprophylaxis in England and Wales. *Infect Dis*, 1997, 176(5): 1360-5.
- 〔8〕 von-Weizsacker F, Pult I, Geiss K, et al. Selective transmission of variant genomes from mother to infant in neonatal fulminant hepatitis B. *Hepatology*, 1995, 21(1): 8-13.
- 〔9〕 Ojima T, Nvitsuma H, Shan H, et al. HBs seroconversion and HBs mutation among Japanese hepatitis B virus carriers. *Hepatology*, 2001, 20(2): 172-81.
- 〔10〕 李端, 闫永平, 徐德忠, 等. 阳性孕妇血清中乙型肝炎病毒前 S/S 基因的相似株现象. *第四军医大学学报*, 2001, 22(12): 1122-4.
- 〔11〕 Li D, Yan YP, Xu DZ, et al. Quasispecies of HBV pre-S/S gene in HBsAg carrying pregnant women. *Forth Mil Med Univ*, 2001, 22(12): 1122-4.