

· 临床研究 ·

血管紧张素转换酶基因多态性与冠脉病变严重程度的相关性研究

邱春光 樊晓寒 樊红霞 李凌 刘瑞云

【摘要】 目的 探讨血管紧张素转换酶(ACE)基因 I/D 多态性与冠心病及冠脉病变严重程度的关系。方法 对 122 例冠心病患者进行冠状动脉造影,判定冠脉病变支数(狭窄程度 $\geq 75\%$)和危险记分。用聚合酶链式反应(PCR)技术检测病例组和 80 例健康人群 ACE 基因多态性。结果 ACE 基因型分布和等位基因频率在病例组和对对照组间差异有显著性,病例组 DD 基因型(38.5%)和 D 等位基因频率(55%)显著高于对照组(13.7%, 41%; $P < 0.05$)。冠脉病变支数和危险记分在 ACE 基因型间差异无显著性($P > 0.05$)。结论 ACE 基因多态性中 DD 型和 D 等位基因是冠心病发病的独立危险因素,但与冠脉病变严重程度不相关。

【关键词】 血管紧张素转换酶;多态性;冠心病;冠状动脉造影

Relationship between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and the severity of coronary artery stenosis

QIU Chunguang, FAN Xiaohan, FAN Hongxia, et al

Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

【Abstract】 Objective To explore the relationship between angiotensin-converting enzyme(ACE) gene polymorphism and the severity of coronary artery stenosis. Methods One hundred and twenty two CHD patients underwent coronary angiography were selected to determine the number of affected coronary vessels ($> 75\%$ stenosis) and coronary score. The insertion/deletion polymorphism of ACE gene was examined by means of polymerase chain reaction(PCR) in CHD patients and 80 control subjects. Results DD genotype and D allele of ACE were more frequent in CHD group than in control group($P < 0.001$). Neither the number of affected coronary vessels nor the coronary score differed between the ACE I/D genotypes($P > 0.05$). Conclusion DD genotype and D allele should be risk factors for CHD and MI in Chinese people from Zhongyuan area, and not be related to the severity of the coronary artery stenosis.

【Key words】 angiotensin-converting enzyme; polymorphism; coronary heart disease; coronary angiography

冠状动脉粥样硬化病变与高血脂、高血压、糖尿病、吸烟等危险因素相关,但遗传因素也具有促进作用。血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)是肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)的重要组成部分,近年来许多研究已证实 ACE 基因多态性和冠心病、心肌梗死存在相关性。本文旨在探讨中国人群中 ACE 基因多态性与冠状动脉病变严重程度的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象 冠心病(CHD)患者 122 例来源于

2002 年 9 月至 2003 年 4 月在我院心内科住院患者,男 80 例,女 42 例,年龄(64 ± 11)岁(42~79 岁),其中不稳定心绞痛(UAP)53 例,心肌梗死(MI)69 例,均经冠状动脉造影检查确诊。对照组 80 例,为同期门诊健康体检者,男 57 例,女 23 例,年龄(59 ± 10)岁(44~68 岁),经详细询问病史、体格检查、胸片、心电图、B 超及血生化检查排除 CHD,无心脑血管病或糖尿病家族史。本研究人群个体之间无血缘关系。

1.2 方法 (1)冠脉病变严重程度的判定:对 CHD 组进行冠状动脉造影,依据 AHA(American Heart Association)^[1]制定的标准来确定冠脉病变支数,局限狭窄程度 $< 75\%$ 为 0 支,狭窄程度 $\geq 75\%$ 者分为 1 支、2 支及 3 支病变。依据对冠脉病变进行危险记分^[2],最高分为 12 分。(2)ACE 基因多态性检测:以酚-氯仿抽提法提取外周血白细胞 DNA。采用 PCR 扩增技术检测 ACE 基因多态性。ACE-I/D 多态是位于 ACE 基因内含子 16 的一个 287 bp 的 ALU 顺序插

收稿日期:2003-11-03

作者单位:450052 郑州市,郑州大学医学院第一附属医院心内科(邱春光、樊晓寒、李凌、刘瑞云);100036 北京市,北京空军总医院放射科(樊红霞)

作者简介:邱春光,男,1965 年 8 月生,河南商丘市人,医学硕士,副主任医师,副教授。Tel:0371-6862151

入(I)和缺失(D)多态标志。如存在 ALU 插入顺序(I), PCR 产物长度为 490 bp, 称之为插入型(II); 没有 ALU 插入顺序, PCR 产物长度为 90 bp, 称之为缺失型(DD); 如一等位基因有 ALU 插入顺序, 另一等位基因无 ALU 插入顺序, 则 PCR 产物为同时拥有 190 bp D 片段和 490 bp I 片段的 DI 型杂合子。引物参照 Rigat 等^[3]设计。PCR 反应终体系 25 μ l, 反应条件: 预变性 95 $^{\circ}$ C 5 min, 扩增 35 个循环(95 $^{\circ}$ C 30 s, 58 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 50 s)延伸 72 $^{\circ}$ C 8 min。扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色, 紫外摄影观测结果。可见 ACE 基因 I/D 多态性的三种类型: DD 型纯合子(图 1 中 B 泳道), II 型纯合子(图 1 中 A 泳道), 及 DI 型杂合子(图 1 中 C 泳道)。由于 PCR 有优先扩增 D 等位基因和对 I 等位基因扩增不足的缺陷, 约有 10% 的 DI 杂合子基因型可能被误认为 DD 纯合子基因型。因此参照 Lindpaintner 等^[4]设计另一对特异性引物, 5'-TGG GAC CAC AGC GCC CGC CAC TAC-3' 和 5'-TCG CCA GCC CTC CCA TGC CCA TAA-3'。采用上述 PCR 反应体系和条件, 对每一例 DD 基因型 PCR 产物再次扩增, 扩增产物有 335 bp 基因片段(图 2 中 I 泳道), 则含等位基因 I, 是伪 DD 型, 实为 DI 型杂合子, 不含 335 bp 基因片段(图 2 中 D 泳道), 则为真 DD 型。

1.3 统计分析 ACE 基因型与等位基因频率采用频率计数法计算, 组间频数比较采用 χ^2 检验, 两组间均数比较采用 t 检验, 三组间均数比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 计量资料两组比较采用 Mann-whitney U 检验, 计量资料三组比较采用 Kruskal-wallis 单项秩方分析。检验水准 α 为 0.05。

2 结果

2.1 各项临床资料的比较 除了可预见的 CHD 组中一些传统危险因素如总胆固醇、低密度脂蛋白和空腹血糖高于对照组($P < 0.05$), 两组间年龄、性别及体重指数、甘油三酯等临床指标略有差异, 但无统计学意义, 两组间具有可比性。

2.2 ACE 基因型分布与冠心病 ACE 基因型在对照组和冠心病组的分布见表 1。两组 ACE 基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡, 表明样本来源于同一人群。CHD 组与对照组之间整体基因型分布差异有显著性($P < 0.001$), 等位基因频率差异也有显著性($P = 0.008$), 在 DI 与 II 之间两组并无显著差异($P = 0.257$), 而 DD 与非 DD 基因型间则差异有显著性($P < 0.001$), CHD 组 DD 基因型和 D 等位基因

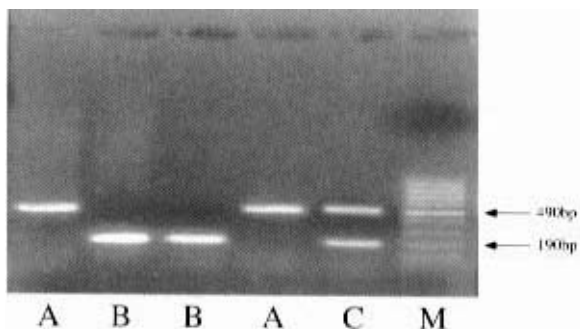


图 1 PCR 扩增 ACE 基因片段电泳结果

M: Marker; A: II 型, 片段长度为 490 bp; B: DD 型, 片段长度为 190 bp; C: DI 型

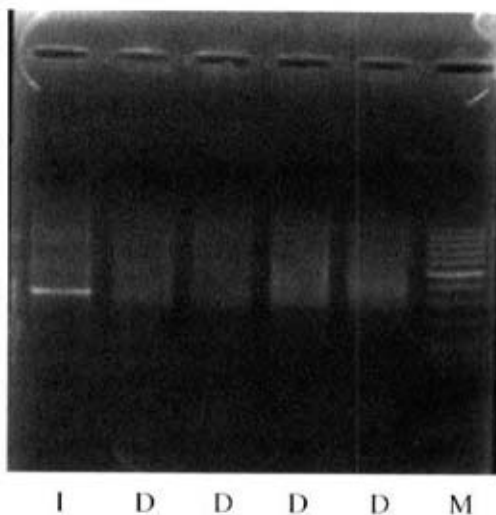


图 2 PCR 扩增 DD 型电泳结果

M: 100 bp 的 ladder(Mark); I: 可见 335 bp 基因片段为 DI 型; D: 无 335 bp 基因片段为 DD 型

频率显著高于对照组。MI 组和 UAP 组与对照组分别比较, DD 基因型在两组中均显著高于对照组($P = 0.001$, $P = 0.03$), D 等位基因频率也显著高于对照组($P = 0.049$, $P = 0.008$)。本研究正常人群中 DD 基因型低于其他不同种族的报道^[5]。

2.3 ACE 基因多态性与常规危险因素 年龄、性别、吸烟、血压、血糖、体重指数、总胆固醇水平、低密度脂蛋白和高密度脂蛋白水平在 CHD 组的 ACE 三种基因型间差异均无显著性($P > 0.05$)。

2.4 ACE 基因型与冠脉病变严重程度 CHD 组中 ACE 各基因型间冠脉病变支数和冠脉危险记分差异均无显著性($P > 0.05$), DD 型与非 DD 基因型间差异也无显著性($P > 0.05$), 说明 ACE 基因 I/D 多态性与冠脉病变严重程度可能无关(表 2)。

表 1 病例组 and 对照组 ACE 基因型分布及等位基因频率 (例, 频率)

组 别	例数	基因型			等位基因	
		DD(%)	DI(%)	II(%)	D(%)	I(%)
对照组	80	11(13.7)	43(53.8)	26(32.5)	65(41)	95(59)
冠心病组	122	47(38.5)**	39(31.9)	36(29.6)	133(55)*	111(45)
心肌梗死组	69	26(37.7)*	20(28.9)	23(33.4)	72(52)*	66(48)
心绞痛组	53	21(39.6)*	19(35.8)	13(24.6)	61(58)*	45(42)

注: **与对照组比较 $P < 0.001$, * 与对照组比较 $P < 0.05$

表 2 不同基因型冠脉病变支数和冠脉危险记分比较

基因型	不同冠脉病变支数(例数)					冠脉病变支数中位数(M)	冠脉危险记分均数
	0	1	2	3	总数		
DD	5	15	11	16	47	1.0	7.21 ± 3.85
DI	5	8	9	17	39	1.0	7.24 ± 3.93
II	6	11	7	12	36	1.0	6.81 ± 3.73
$\chi^2 = 2.564$	$P = 0.861$					0.848***	$F = 0.582$ $P = 0.561^*$
DD	5	15	11	16	47	1.0	7.21 ± 3.85
非 DD	11	19	16	29	75	1.0	7.04 ± 3.87
$\chi^2 = 1.03$	$P = 0.794$					0.691****	$t = 0.833$ $P = 0.406^{**}$

注: * Ony-way-ANOVA test, ** t test, *** Kruskal-Wallis test, **** Mann-Whitney U test

3 讨 论

CHD 许多新的可能的危险因素越来越受到重视。近年来对于 ACE 基因 I/D 多态性与冠心病的关系,国内外做了大量的研究,结果却不尽相同。Samani 等^[6]分析了 14 个对白种人和日本人的相关研究,结果进一步支持 DD 基因型增加心肌梗死的危险性。Agerholm 等^[7]对 47 个大小样本的研究进行了 meta 分析,但没有发现增加 MI 和 CHD 的危险性。国内对于 ACE 基因多态性与冠脉病变严重程度的研究较少,结果尚有争论。

本研究的结果显示, ACE 基因 DD 型和 D 等位基因与冠心病密切相关,而且 CHD 组常规危险因子在三种基因型间差异无显著性,进一步说明 DD 型是独立于 CHD 常规危险因子之外的危险因子。在本研究的正常人群中, DI 型 > II 型 > DD 型, I 等位基因频率 > D 等位基因频率,这与日本和南亚及国内的研究相似,表明我国汉族人 D 等位基因频率低于 I 等位基因频率,而欧美人群中则 D 等位基因频率占优势,且欧美 CHD 发病率高于东方,基因分布差异可能是原因之一。基因差异可能主要与种族、地区、遗传背景有关。另外本研究进一步扩增 DD 型 PCR 产物的方法,使一部分伪 DD 型纯合子确定为 DI 型杂合子(误认比例为 8.5%),国内外此类研究中尚少见应用此方法的报道,DD 型比例可能会有误差。

本研究中 ACE 基因 I/D 多态性与 CHD, MI 明显

相关,但与冠脉病变支数和冠脉危险记分无关。这可能是由于造影观察到的冠脉狭窄严重程度主要与阻塞冠脉管腔的斑块程度相关,而除了严重的狭窄外,血栓、血管痉挛等同样也导致和促进冠心病及心肌梗死的发生。由于 DD 基因型与血循环中高 ACE 水平显著相关,进而可影响血管紧张素 II (Ag II) 水平,通过 Ag II 强大的血管收缩和其他生理作用导致血管痉挛或影响冠脉斑块稳定,从而与冠心病密切相关,但与动脉粥样硬化斑块进展程度的关系可能并不密切。此结果表明, DD 基因型可能与血栓因素和(或)血管痉挛因素相关,而与动脉硬化的危险因素无关。因此, ACEI 药物的应用对冠心病患者可能有益,而 ACE 基因多态性与体内凝血纤溶平衡的关系,则有待进一步研究。

参 考 文 献

1 American Heart Association. Committee report: a reporting system on patients evaluated for coronary artery disease. Circulation, 1975, 51(4 Suppl): 5-40.

2 Callif RM, Phillips HR III, Hindman MC, et al. Prognostic value of a coronary artery jeopardy score. J Am Coll Cardiol, 1985, 5: 1055-1063.

3 Rigat B, Hubert C, Corvol P, et al. PCR detection of the inserting/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1). Nucl Acids Res, 1992, 20: 1433-1437.

4 Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, et al. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymor-

- phism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med*, 1995,332:706-711.
- 5 Hernandez OE, Medina FA, Rodriguez EFJ, et al. The involvement of rennin angiotensin system gene polymorphism in coronary heart disease. *Rev Esp Cardiol*, 2002,55:92-99.
- 6 Samani NJ, Thompson JR, O'Toole L, et al. A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. *Circulation*, 1996,94:708-712.
- 7 Agerholm L, Nordestgaard B, Tybjaerg HA. ACE gene polymorphism in cardiovascular disease: meta analysis of small and large studies. *Arterioscl Thromb Vasc Biol*, 2000,20:484-492.

·论著摘要·

氢氯噻嗪与伊贝沙坦或依那普利联合应用 降压疗效和安全性的比较观察

张刚 祝之明 沐贤友 曹雪滨 黄雄 汪明慧

1 对象与方法

1.1 对象 原发性高血压患者 80 例,符合 1999 年 WHO 高血压诊断标准。经过 2 周安慰剂洗脱期后随机分成 A、B 两个治疗组。

1.2 方法 A 组服用伊贝沙坦(安博维)150 mg/d 和氢氯噻嗪 12.5 mg/d, B 组服用依那普利 20 mg/d 和氢氯噻嗪 12.5 mg/d。治疗前测血压 3 次,取其平均值,服药后每周复查 1 次,疗程 4 周。同时记录副作用。

1.3 疗效判断标准 显效:舒张压降至正常范围(< 90 mmHg 或下降 ≥ 20 mmHg 以上);有效:舒张压下降虽未达到 20 mmHg,但收缩压下降 ≥ 30 mmHg;无效:治疗后血压下降未达到有效标准。

1.4 统计学处理 采用 t 检验。

2 结果

经过 4 周的治疗,两组各时间点的血压值无显著差异($P > 0.10$,表 1)。第 4 周血压与基线值比较,两组降压幅度无显著差异($P > 0.10$)。A 组发生头痛 3 例(7.5%),肌肉疼

痛 1 例(2.5%)。B 组发生咳嗽 6 例(15%),头晕 3 例(7.5%)。A 组不良反应显著低于 B 组(10% vs 22.5%, $P < 0.01$)。

3 讨论

血管紧张素 II 受体阻滞剂(ARB)和血管紧张素转化酶抑制剂(ACEI)是目前治疗原发性高血压的两类重要药物。伊贝沙坦作为一种新型的强效非竞争性长时作用的 ARB,能特异性阻断肾素-血管紧张素-醛固酮途径,同时阻断非经典途径(心脏糜蛋白酶等)产生的血管紧张素 II(AT II)。依那普利则通过抑制 ACE 使 AT II 生成减少,同时影响体内缓激肽和 P 物质的灭活,导致体内缓激肽增多。本组研究显示,小剂量氢氯噻嗪与伊贝沙坦或依那普利联合治疗原发性高血压均有效,两者在疗效上无显著差异;但氢氯噻嗪和依那普利联合治疗产生的副作用(咳嗽)病例明显多于氢氯噻嗪和伊贝沙坦联合治疗,这可能与 ARB 和 ACEI 两类药物的作用机制不同有关。

总之,本研究表明:联合应用氢氯噻嗪和伊贝沙坦或依那普利治疗原发性高血压有效,尤其是老年性高血压,但伊贝沙坦和氢氯噻嗪具有更好的安全性和耐受性。

表 1 两治疗组各时间点血压值($\bar{x} \pm s$)

组别	血压(mmHg)	第 0 周	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
A 组 ($n = 40$)	收缩压	155.6 $\pm$ 14.4	151.6 $\pm$ 10.2	146.6 $\pm$ 9.7	141.6 $\pm$ 8.3	138.0 $\pm$ 7.2
	舒张压	100.2 $\pm$ 4.2	96.5 $\pm$ 7.4	92.9 $\pm$ 6.4	90.1 $\pm$ 6.3	87.9 $\pm$ 4.3
B 组 ($n = 40$)	收缩压	157.7 $\pm$ 13.6	152.5 $\pm$ 10.5	148.4 $\pm$ 10.1	142.1 $\pm$ 8.1	137.6 $\pm$ 6.9
	舒张压	100.3 $\pm$ 4.0	97.3 $\pm$ 7.7	93.1 $\pm$ 6.7	89.9 $\pm$ 6.8	88.2 $\pm$ 4.6

收稿日期:2002-03-04

作者单位:071000 保定市,解放军第 252 医院心肾内科(张刚、沐贤友、曹雪滨、黄雄、汪明慧);400042 重庆市,第三军医大学野战外科研究所大坪医院高血压内分泌科,重庆市高血压研究所(祝之明)

作者简介:张刚,男,1973 年 8 月生,河北省保定市人,在读医学硕士,主治医师。Tel:023-68757443