

· 临床研究 ·

## NADPH氧化酶p22phox亚基基因多态性与高血压左心室肥厚的相关性

池小钜<sup>1\*</sup>, 吕卓<sup>2</sup>, 岑变<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>广西医科大学第一附属医院肿瘤内科, 南宁 530021; <sup>2</sup>广西江滨医院内科, 南宁 530021)

**【摘要】目的** 探讨中国汉族人群中NADPH氧化酶p22phox亚基C242T基因多态性与高血压左心室肥厚(LVH)的相关性。**方法** 连续收入初诊汉族原发性高血压患者286例, 超声心动图评估并计算患者左心室质量指数, 将患者分为单纯高血压和高血压合并LVH, 并记录体质量指数、血压、血糖和血脂等。同时, 采用限制性片段长度多态性鉴定p22phox亚基C242T基因型。**结果** 全部患者中均未检出TT基因型, 而高血压合并LVH的患者中CT基因型( $P = 0.002$ )和T等位基因出现的频率( $P = 0.005$ )均显著高于单纯高血压患者。Logistic回归分析显示p22phox亚基C242T多态性与性别、收缩压同为高血压合并LVH的独立影响因素, 存在T突变的高血压患者合并LVH的风险降低63%( $P = 0.007$ )。**结论** CYBA C242T多态性与中国汉族高血压患者LVH相关, T等位基因可能是LVH的保护因素。

**【关键词】** 左心室肥厚; NADPH氧化酶; 基因多态性

**【中图分类号】** R592; R544.1

**【文献标识码】** A

**【DOI】** 10.3724/SP.J.1264.2013.00109

## Correlation of p22phox gene polymorphism of NADPH oxidase with left ventricular hypertrophy in hypertensive patients

CHI Xiao-Jyu<sup>1\*</sup>, LYU Zhuo<sup>2</sup>, CEN Luan<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Oncology, First Affiliated Hospital, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China; <sup>2</sup>Department of Internal Medicine, Jiangbin Hospital, Nanning 530021, China)

**【Abstract】 Objective** To investigate the correlation of the C242T polymorphism of NADPH oxidase p22-phox gene with left ventricular hypertrophy (LVH) in Chinese Han hypertensive subjects. **Methods** A total of 286 consecutive patients of Han nationality with newly diagnosed essential hypertension admitted in our hospital from January 2008 to December 2011 were enrolled in this study. They were all evaluated with echocardiography for left ventricular mass index, and were divided into hypertension with or without LVH. Body mass index (BMI), blood pressure, fasting blood glucose, triglycerides and total cholesterol were documented. P22-phox C242T polymorphism was analyzed by restriction fragment length polymorphism (RFPL). **Results** The frequencies of CT genotype and T allele were significantly higher in the patients with LVH patients than those without LVH ( $P = 0.002$ ,  $P = 0.005$ ), but no any case of TT genotype was found. Logistic analysis showed that the C242T polymorphism in NADPH oxidase p22phox, as well as female sex and systolic blood pressure were independent risk factors for LVH. Compared to patients with CC genotype, the risk of LVH was decreased by 63% in those with CT genotype ( $P = 0.007$ ). **Conclusion** The C242T polymorphism in NADPH oxidase p22phox is correlated with LVH in Chinese hypertensive patients. The T allele might be protective factor for LVH.

**【Key words】** left ventricular hypertrophy; NADPH oxidase; polymorphism

左心室肥厚(left ventricular hypertrophy, LVH)是心脑血管事件的独立危险因素, 高血压患者一旦合并LVH则心力衰竭的风险明显增高<sup>[1]</sup>。研究发现, 氧化应激在高血压并发LVH的病理生理过程中有重要作用, 而NADPH氧化酶是血管壁氧自由基的主要来源, 因此其在LVH的发生中具有重要的意义<sup>[2]</sup>。P22phox是NADPH氧化酶的一个重要亚单

位, 研究证实P22phox的编码基因是CYBA, 其第242基因C→T突变可导致NADPH氧化酶活性改变, 从而影响血管壁自由基生成, 导致心血管风险的变化<sup>[3]</sup>。本研究通过限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism, RFLP)方法探讨CYBA C242T基因多态性与高血压患者LVH的相关性。

# 1 对象与方法

## 1.1 对象

连续收入2008年1月至2011年12月在武警广东省总队医院心血管内科门诊就诊的初诊汉族原发性高血压患者。高血压诊断标准依据《中国高血压防治指南》2005年修订版，即坐位收缩压（systolic blood pressure, SBP） $\geq 140$ mmHg（1mmHg = 0.133kPa）和（或）舒张压（diastolic blood pressure, DBP） $\geq 90$ mmHg。排除具有如下任一情况患者：继发性高血压、糖尿病、冠心病、瓣膜性心脏病、先天性心脏病和其他器质性心脏病、恶性肿瘤、免疫系统疾病、以及肝肾功能异常。最终入选初诊汉族原发性高血压286例，年龄（60.42 ± 10.64）岁，其中男性和女性各143例。其后，根据超声心动图结果将其分为单纯高血压组和高血压合并LVH组。

## 1.2 方法

1.2.1 临床资料采集 记录受试者年龄、性别、血压、身高、体质量和实验室检查数据，包括空腹血糖（fasting blood glucose, FBG）、甘油三酯（triglycerides, TG）、总胆固醇（total cholesterol, TC）等。计算体质量指数（BMI）= 体质量（kg）/[身高（m）]<sup>2</sup>。

1.2.2 超声心动图检查 采用GEVivid7彩色多普勒超声诊断仪（美国），探头频率1.7~3.4MHz测定左心室舒张末期内径（left ventricular end-diastolic dimension, LVEDD）、舒张期室间隔厚度（interventricular septal thickness, IVST）、舒张期左心室后壁厚度（left ventricular posterior wall thickness, LVPWT）。根据Devereux公式计算左心室质量（left ventricular mass, LVM）和左心室质量指数（left ventricular mass index, LVMI）。LVH定义为：男性LVMI > 125g/m<sup>2</sup>，女性LVMI > 120g/m<sup>2</sup>。

1.2.3 DNA提取和基因型检测 采取外周血提取基因组DNA。应用RFLP方法检测CYBA C242T多态性。PCR正义引物：5'-TGCTTGTGGGTAACCAAGGCCGGTG-3'；反义引物：5'-AACACTGAGGTAAGTGGGGGTGGCTCCTGT-3'（北京宝杰罗生物科技有限公司合成）。PCR产物经琼脂糖凝胶电泳鉴定。采用Rsa I酶切，酶切产物点样于2%的琼脂糖凝胶，100V电泳90min，鉴定基因型。

## 1.3 统计学处理

应用SPSS17.0统计软件进行统计学分析。计量资料以均数 ± 标准差表示，组间比较采用t检验；计数资料计算百分率并采用 $\chi^2$ 检验进行比较。等位基因和基因型频率采用直接计数法统计， $\chi^2$ 检

验评估全部患者队列和两组患者队列中C、T等位基因的Hardy-Weinberg平衡偏离度。多因素非条件logistic回归分析评估CYBA C242T基因突变和其他危险因素与LVH相关性。双侧P < 0.05为差异有统计学意义。

# 2 结果

## 2.1 一般临床资料比较

高血压合并LVH组SBP显著高于单纯高血压组 [(159.57 ± 15.12) vs (155.75 ± 13.73) mmHg, P = 0.031]，DBP两组差异无统计学意义（P > 0.05）。同时，两组的年龄、性别组成、病程、BMI、FBG和血脂差异均无统计学意义（P > 0.05；表1）。

表1 两组一般临床资料比较  
Table 1 Comparison of general clinical data between two groups

项 目	单纯高血压组 (n = 174)	高血压+LVH组 (n = 112)
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	60.10 ± 10.71	60.90 ± 10.53
男性[n(%)]	81 (46.6)	62 (55.4)
病程(年, $\bar{x} \pm s$ )	14.20 ± 2.60	14.70 ± 2.83
BMI(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x} \pm s$ )	24.15 ± 4.71	24.72 ± 5.02
SBP(mmHg, $\bar{x} \pm s$ )	155.75 ± 13.73	159.57 ± 15.12*
DBP(mmHg, $\bar{x} \pm s$ )	95.58 ± 10.29	97.84 ± 11.41
FBG(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	5.68 ± 1.22	5.62 ± 1.15
TC(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	4.35 ± 1.25	4.41 ± 1.35
TG(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	1.48 ± 0.79	1.41 ± 0.88

LVH: 左心室肥厚; BMI: 体质量指数; SBP: 收缩压; DBP: 舒张压; FBG: 空腹血糖; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯。1mmHg = 0.133kPa。与单纯高血压组比较, \*P < 0.05

## 2.2 基因型和等位基因分布频率比较

全部患者中检出CC基因型215例、CT基因型71例，未检出TT基因型。全部患者和两组患者经Hardy-Weinberg平衡定律检验均为遗传平衡群体。高血压合并LVH组与单纯高血压组比较，基因型（P = 0.002）和等位基因（P = 0.005）分布在两组间差异均存在统计学意义。单纯高血压组CT基因型（31.0% vs 15.2%）和T等位基因携带率（15.5% vs 7.6%）均显著高于高血压合并LVH组（P < 0.01；表2）。

## 2.3 LVH危险因素的logistic回归分析

将全部研究对象视为一个队列人群，以是否合并LVH为自变量，年龄、性别、BMI、SBP、DBP、FBG、TC、TG以及是否存在C242T突变为因变量，进行logistic回归。表3结果显示，女性、SBP是LVH的独立危险因素，而T等位基因突变是LVH的保护因素，存在T突变的高血压患者合并LVH的风险降低63%。

表2 两组间基因型和等位基因频率分布

Table 2 Distribution of genotypes and alleles in two groups [n(%)]

组别	n	基因型		等位基因	
		CC	CT	C	T
单纯高血压组	174	120(69.0)	54(31.0)	294(84.5)	54(15.5)
高血压+LVH组	112	95(84.8)	17(15.2)**	207(92.4)	17(7.6)**

LVH: 左心室肥厚。与单纯高血压组比较, \*\*P < 0.01

表3 LVH危险因素的logistic回归分析

Table 3 Logistic regression analysis of risk factors of LVH

自变量	P	OR	95%CI
女性	0.043	1.40	1.12~1.75
SBP	0.019	1.76	1.10~2.83
T等位基因	0.007	0.37	0.18~0.76

LVH: 左心室肥厚; SBP: 收缩压

### 3 讨论

氧化应激可导致内皮功能紊乱、受损,是导致高血压及其靶器官损伤发生和发展的不可忽视的重要因素。NADPH氧化酶是ROS的主要来源,因此NADPH氧化酶在高血压炎症进程中具有重要的意义<sup>[2]</sup>。动物实验显示,NADPH氧化酶的活化在压力负荷诱导的LVH的发生中具有重要作用<sup>[3]</sup>。NADPH氧化酶存在于细胞膜上,主要催化O<sub>2</sub>从NADPH得到一个电子生成超氧阴离子O<sup>2-</sup>。NADPH氧化酶主要由5个亚基构成,当细胞处于静止期时,p40phox、p47phox和p67phox亚基形式复合体存在于细胞液中;p22phox和gp91phox于细胞膜上相互结合形成一个异二聚体,即细胞色素b558。当细胞受到刺激被激活后,p47phox磷酸化,带动复合体由胞液向细胞膜迁移,与胞膜上的细胞色素b558结合,形成有活性的NADPH氧化酶复合体,产生活性氧。该酶主要存在于吞噬细胞中,但也广泛存在于血管壁的内皮细胞、平滑肌细胞、成纤维细胞以及心肌细胞中<sup>[2]</sup>。

目前认为p22phox亚单位是维持NADPH氧化酶结构稳定和活化的一个关键亚单位<sup>[4]</sup>。其编码基因CYBA位于染色体16q24,由6个外显子和5个内含子组成。1990年Dinauer等发现CYBA C242T多态性。位于外显子242位的C→T突变,导致编码改变CAC→TAC,使p22phox亚基第72位组氨酸被酪氨酸代替。该改变可能影响该部位2个潜在的血红素结合位点,从而影响结合血红素的能力而失去氧化功能,导致血管壁氧自由基和氧化应激水平降低<sup>[2]</sup>。近10年来,临床对CYBA C242T多态性与动脉粥样硬化病变及其危险因素的相关性进行了广泛的研究<sup>[2,5]</sup>。Inoue等<sup>[6]</sup>的研究发现,在日本人

群中T等位基因可提供动脉粥样硬化保护作用。但是,一些在白种人群的研究提示,C242T多态性与冠心病的严重程度不相关<sup>[7,8]</sup>,甚至有一些研究提示T等位基因与心脑血管疾病的进展正相关<sup>[9,10]</sup>。关于C242T多态性与高血压相关性的研究较少。Moreno等<sup>[11]</sup>报道在白种人中,多态性与原发性高血压相关,T等位基因存在保护人群免于发生高血压的作用。同样,来自我国汉族人群中的研究也支持T等位基因为原发性高血压的保护基因<sup>[12]</sup>。而有关C242T多态性与高血压合并靶器官损害的相关性的报道则更少。

本研究发现,高血压合并LVH的患者中CT基因型频率和T等位基因频率均显著高于对照组,而纳入年龄、性别、血压、血脂和血糖等常见心血管危险因素的logistic回归结果证实,C242T多态性与高血压患者LVH独立相关,T等位基因存在保护LVH发生的作用。但与本研究结果相反,Schreiber等<sup>[13]</sup>对巴西高血压人群的分析结果显示C242T突变是LVH的危险因素。有观点认为,上述各研究对C242T突变是否具有保护性的结果的差异,与种族差异相关。同时,CYBA基因上还存在着其他一些可影响NADPH氧化酶功能的突变,这些突变之间于C242T突变可能存在相互作用<sup>[2]</sup>。进一步深入认识NADPH氧化酶的作用机制、其编码基因多态性对其功能的影响,可能能够帮助我们更好地理解多态性与心血管疾病的关系。

总之,本研究提示CYBA C242T多态性可能与中国高血压患者合并LVH相关,中国患者中T等位基因存在保护作用。因此检测其基因型可能对于筛查高危人群,早期发现及时防治,以减少患者靶器官损害有重要意义。但该结果仍有待于扩大样本中进一步比较证实。

#### 【参考文献】

- [1] Ruilope LM, Schmieder RE. Left ventricular hypertrophy and clinical outcomes in hypertensive patients[J]. Am J Hypertens, 2008, 21(5): 500-508.
- [2] San José G, Fortuño A, Beloqui O, et al. NADPH oxidase CYBA polymorphisms, oxidative stress and cardiovascular diseases[J]. Clin Sci (Lond), 2008, 114(3): 173-182.
- [3] Murdoch CE, Zhang M, Cave AC, et al. NADPH oxidase-dependent redox signalling in cardiac hypertrophy, remodelling and failure[J]. Cardiovasc Res, 2006, 71(2): 208-215.
- [4] Ambasta RK, Kumar P, Griendling KK, et al. Direct interaction of the novel Nox proteins with p22phox is required for the formation of a functionally active

- NADPH oxidase[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(44): 45935-45941.
- [5] Kraja AT, Hunt SC, Rao DC, *et al.* Genetics of hypertension and cardiovascular disease and their interconnected pathways: lessons from large studies[J]. *Curr Hypertens Rep*, 2011, 13(1): 46-54.
- [6] Inoue N, Kawashima S, Kanazawa K, *et al.* Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22phox gene in patients with coronary artery disease[J]. *Circulation*, 1998, 97(2): 135-137.
- [7] Gardemann A, Mages P, Katz N, *et al.* The p22phox A640G gene polymorphism but not the C242T gene variation is associated with coronary heart disease in younger individuals[J]. *Atherosclerosis*, 1999, 145(2): 315-323.
- [8] Zafari AM, Davidoff MN, Austin H, *et al.* The A640G and C242T p22phox polymorphisms in patients with coronary artery disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2002, 4(4): 675-680.
- [9] Nasti S, Spallarossa P, Altieri P, *et al.* C242T polymorphism in CYBA gene (p22phox) and risk of coronary artery disease in a population of Caucasian Italians[J]. *Dis Markers*, 2006, 22(3): 167-173.
- [10] Spence MS, McGlinchey PG, Patterson CC, *et al.* Investigation of the C242T polymorphism of NAD(P)H oxidase p22phox gene and ischaemic heart disease using family-based association methods[J]. *Clin Sci(Lond)*, 2003, 105(6): 677-682.
- [11] Moreno MU, San Jose G, Fortuno A, *et al.* The C242T CYBA polymorphism of NADPH oxidase is associated with essential hypertension[J]. *J Hypertens*, 2006, 24(7): 1299-1306.
- [12] 王兵, 袁晓, 王晓春. CYBA基因多态性与高血压病相关性的研究[J]. *实用预防医学*, 2007, 14(3): 623-624.
- [13] Schreiber R, Ferreira-Sae MC, Ronchi JA, *et al.* The C242T polymorphism of the p22-phox gene (CYBA) is associated with higher left ventricular mass in Brazilian hypertensive patients[J]. *BMC Med Genet*, 2011, 12: 114.
- (编辑: 周宇红)

## · 消 息 ·

### 《中华老年多器官疾病杂志》征稿、征订启事

《中华老年多器官疾病杂志》是由中国人民解放军总医院主管、解放军总医院老年心血管病研究所主办的医学期刊, 创办于2002年, 月刊。本刊是国内外唯一的一本反映老年多器官疾病的期刊, 主要交流老年心血管疾病, 尤其是老年心血管疾病合并其他疾病, 老年两个以上器管疾病及其他老年多发疾病的诊治经验与发病机制的研究成果。开设的栏目有述评、综述、临床研究、基础研究等。

本刊热忱欢迎从事老年病学及其相关领域的专家学者踊跃投稿并订阅杂志, 我们真诚期待您的关注和参与。

地址: 100853 北京市复兴路28号, 解放军总医院老年心血管病研究所

电话: 010-66936756

传真: 010-66936756

电子邮箱: zhIndqg@mode301.cn

在线投稿: <http://www.mode301.cn/ch/author/login.aspx>