

232 - 236

- 4 Khan RN, Smith SK, Morrison JJ, *et al.* Properties of large conductance K⁺ - channels in human myometrium during pregnancy and labour. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*, 1993, 251:9 - 15
- 5 Khan RN, Smith SK, Ashford ML. Contribution of calcium - sensitive potassium channels to NS1619 - induced relaxation in human pregnant myometrium. *Hum Reprod*, 1998, 13:208 - 213
- 6 Helen CD, Diarmaid DH, Nandini R, *et al.* Human Chorionic Gonadotrophin Relaxation of Human Pregnant Myometrium and Activation of the BK_{Ca} Channel. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2003, 88, (9):4310 - 4315
- 7 Raheela NK, Balwir MB, Sabaratnam A, *et al.* Potassium channels in

the human myometrium. *Experimental Physiology*, 2001, 86 (2):255 - 264

- 8 Helen C, Doheny, Caoimhe M, *et al.* Functional coupling of 3 - adrenoreceptors and large conductance calcium - activated potassium channels in human uterine myocytes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90 (10):5786 - 5796
- 9 Helen CD, Diarmaid DH, Nandini R, *et al.* Human Chorionic Gonadotrophin Relaxation of Human Pregnant Myometrium and Activation of the BK_{Ca} Channel [J]. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2003, 88, (9):4310 - 4315

(收稿:2009 - 10 - 10)

血管紧张素转移酶基因多态性与脑卒中的关系

李 峰 窦会东 肖占森 赵润田 陈 廓 陶晓明 孙玉晶 侯淑琴 邱长春

摘 要 **目的** 探讨血管紧张素转换酶 (ACE) 基因插入/缺失 (I/D) 多态性与北京房山地区汉族人群脑卒中的易感相关性。**方法** 采用聚合酶链反应 (PCR) 方法分析 63 例脑出血患者、713 例脑梗死患者和 235 例正常对照组 ACE 基因的插入/缺失多态性, 观察 DD、ID、II 基因型频率及其等位 D、I 基因频率, 以及其与血糖、血脂水平的联系。**结果** 房山地区汉族人群脑出血组、脑梗死组和正常对照组相比较, 3 组的 DD、ID、II 基因型频率和 D、I 等位基因频率无显著性差异。ID、II 基因型的脑出血患者和脑梗死患者的血糖水平显著高于正常对照组 ($P < 0.01$), DD 基因型脑梗死患者的血糖水平也高于正常对照组 ($P < 0.05$)。DD 基因型脑梗死患者的三酰甘油水平、ID 型脑出血患者的总胆固醇水平均高于正常对照组, 差异有统计学意义 (分别为 $P < 0.01$, $P < 0.05$)。**结论** ACE 基因插入/缺失多态性不是脑出血和脑梗死的独立危险因素。但可能影响人血糖、三酰甘油和总胆固醇的水平。

关键词 脑出血 脑梗死 血管紧张素转换酶 基因 多态性

Association Between Angiotensin - converting Enzyme and Stroke. Li Feng, Dou Huidong, Xiao Zhansen, Zhao Runtian, Chen Kuo, Tao Xiaoming, Sun Yujing, Hou Shuqin, Qiu Changchun. Key National Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences/Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

Abstract Objective To investigate the correlation between ACE gene polymorphisms and stroke of Han nationality people in Fangshan district of Beijing. **Methods** The Insertion/Deletion (ID) polymorphisms of ACE gene were detected in 63 patients with cerebral hemorrhage, and 713 patients with cerebral infarction and 235 health control by polymerase chain reaction (PCR). We observed the frequencies of genotype of deletion homozygote (DD), insertion homozygote (II) and insertion/deletion heterozygote (ID) and the alleles of D and I. Also we analyzed the association among I/D polymorphisms of ACE gene with serum glucose (GLU), triglyceride (TG), cholesterol (TC) levels. **Results** There was no significant difference in the frequencies of both genotypes of DD, ID, II and alleles of D and I in three groups. The serum GLU levels in patients carrying ID, II genotype were higher than those in healthy control ($P < 0.01$), so were the cerebral infarction patients with DD genotype ($P < 0.01$). As compared to healthy control, the TG levels of cerebral infarction patients with DD genotype and the TC levels of cerebral hemorrhage patients with ID genotype were both higher ($P < 0.01$, $P < 0.05$, respectively). **Conclusion** ACE gene polymorphisms (I/D) is not an independent risk factor for stroke of Han nationality in Fangshan. But it might have association with the serum glucose, triglyceride and cholesterol levels.

Key words Cerebral hemorrhage; Cerebral infarction; ACE; Gene; Polymorphism

基金项目:国家自然科学基金(30393130);美国中华医学基金(CMB:96 - 657);北京市自然科学基金重点项目(7001004)

作者单位:100005 中国医学科学院基础医学研究所/北京协和医学院基础学院(李峰、陈廓、陶晓明、孙玉晶、邱长春);北京市房山第一医院(窦会东、肖占森、赵润田、侯淑琴);李峰、窦会东为并列第一作者

通讯作者:邱长春,电子邮箱:qiucc712@IBMS.PUMC.cn

近些年来,随着我国经济的发展与腾飞,人民生活水平的提高,我国心脑血管疾病的发病率也逐年上升,其总的发病率与病死率已经接近或超过许多发达国家^[1]。众多的研究已经揭示,肾素-血管紧张素系统与心脑血管疾病的发生发展有着密切的联系。血管紧张素转换酶(angiotension-converting enzyme, ACE)作为肾素-血管紧张素系统中的关键酶之一,受到研究人员的关注。本研究通过病例-对照关联分析,探讨 ACE 基因插入/缺失多态性与脑血管疾病发生的关系。

资料与方法

1. 研究对象:以北京房山地区汉族人群为研究对象,病例组都来自于房山第一医院 2003~2009 年的脑卒中住院患者,其中脑出血患者 63 例(男性 41 例,女性 22 例),脑梗死患者 713 例(男性 487 例,女性 226 例)。正常对照组 235 例(男性 125 例,女性 110 例),均选自同期同地区体检人群,年龄、性别与病例组相匹配,各项指标均正常。本研究获得中国医

学科学院基础医学研究所/北京协和医学院基础学院医学伦理委员会批准。

2. 诊断标准:所有患者均根据 CT/MRI 和神经系统检查确诊(图 1),并诊断符合第 4 届全国脑血管病会议修订的标准^[2]。对照组通过常规体检和各项生化指标测定排除高血压、冠心病、代谢性疾病、肝肾功能不全及胃部疾病。

3. 方法:采用病例-对照关联分析。所有受试者采空腹肘静脉血 5ml,2% EDTA 抗凝,-80℃ 保存。采用酚氯仿抽提法提取基因组 DNA,其纯度 OD260/280 在 1.80~2.00。并利用 PCR 法进行 ACE 基因插入/缺失多态性分析。根据参考文献^[3]设计引物:上游 5'CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT3'。下游 5'GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T3'。上述引物由北京奥科生物科技有限公司合成。PCR 反应程序:94℃ 预变性 300s;然后 94℃ 变性 45s,58℃ 退火 45s,72℃ 延伸 45s,共循环 30 次;最后 72℃ 终末延伸 300s。用 Gene Amp PCR System9600 型 PCR 仪(PERKIN ELMER, USA)扩增 DNA 片段,PCR 产物经 3% 琼脂糖凝胶电泳后,用溴化乙锭染色,在紫外灯下观察并记录结果。

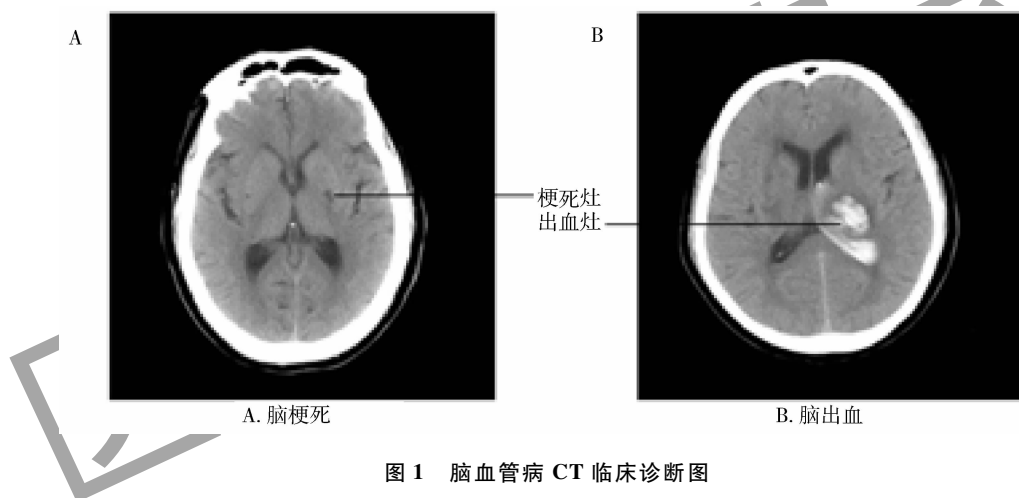


图 1 脑血管病 CT 临床诊断图

4. 数据分析:所有数据分析采用 SPSS13.0 软件包。计量资料采用两组均数间的 t 检验,多组间单因素的方差分析,计数资料应用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。

结 果

1. ACE 基因片段的 PCR 扩增结果:用本实验设计的引物对 ACE 基因进行 PCR 扩增,出现两种不同长度的目的条带,分别为 490bp 和 190bp。只有 490bp 片段为插入纯合基因型(II 型);只有 190bp 片段为缺失纯合基因型(DD 型);同时有 490 和 190bp 片段者为插入/缺失杂合基因型(I/D 型)(图 2)。

2. ACE 基因片段多态性检测结果:ACE 3 种基因型在 3 个研究对象组的分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡(表 1),具有群体代表性。ACE 基因型和 I/D 等位基因分布频率在 3 组中均没有显著差异。

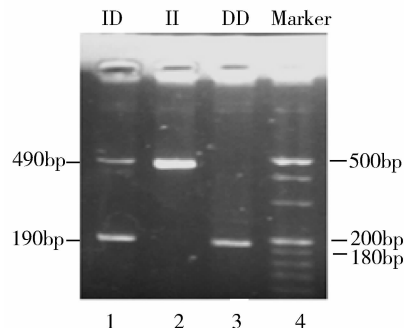


图 2 ACE 基因 PCR 产物电泳分离图

1. ID 杂合基因型;2. II 纯合基因型;3. DD 纯合基因型;4. TAKARA 20bp DNA Ladder Marker 作为判断扩增片段大小的分子标志

3. ACE 基因型与临床指标的关系:ID、II 基因型的脑出血患者和脑梗死患者的血糖水平显著高于正

表 1 ACE 基因型及 I、D 等位基因分布频率[*n*(%)]

	基因型			等位基因	
	DD	ID	II	D	I
脑出血	9(14.3)	34(54.0)	20(31.7)	52(41.3)	74(58.7)
脑梗死	103(14.4)	353(49.5)	257(36.0)	559(39.2)	867(60.8)
正常	34(14.5)	122(51.9)	79(33.6)	190(40.4)	280(59.6)
χ^2		0.905			0.376
<i>P</i>		0.924			0.829

常对照组 ($P < 0.01$), DD 基因型脑梗死患者的血糖水平也高于正常对照组 ($P < 0.05$)。DD 基因型脑梗死患者的三酰甘油水平、ID 型脑出血患者的总胆固醇水平均高于正常对照组, 差异有统计学意义(分别为 $P < 0.01, P < 0.05$, 表 2)。

讨 论

脑血管疾病发病机制复杂, 它是遗传因素和环境

表 2 ACE 基因型与临床指标的关系($\bar{x} \pm s$)

	脑出血			脑梗死			正常对照		
	DD	ID	II	DD	ID	II	DD	ID	II
GLU (mmol/L)	6.49 ± 1.68	7.10 ± 2.65 [#]	7.09 ± 2.84 [#]	6.50 ± 2.97 [*]	6.36 ± 2.60 [#]	6.79 ± 3.07 [#]	4.54 ± 0.26	4.99 ± 1.46	4.54 ± 0.65
TG (mmol/L)	1.29 ± 0.54	1.17 ± 0.73	1.32 ± 1.03	1.52 ± 0.76 [#]	1.53 ± 1.36	1.64 ± 1.28	0.99 ± 0.39	1.32 ± 1.14	1.73 ± 1.77
TC (mmol/L)	4.71 ± 0.90	5.02 ± 0.92 [*]	4.84 ± 0.86	4.80 ± 0.87	4.56 ± 1.10	4.68 ± 1.04	4.65 ± 1.21	4.49 ± 1.11	4.78 ± 1.09

* 与正常对照相比, $P < 0.05$; #与正常对照相比, $P < 0.01$

因素共同引起的一种疾病, 并非单一基因直接作用的结果。在分子遗传学研究中尚未发现在各人群中被普遍证实的脑血管病的易感基因。目前公认高血压是脑血管疾病的独立危险因素之一^[4]。而高血压的发生与机体肾素-血管紧张素-醛固酮系统密切相关^[5]。血管紧张素转移酶(ACE)作为这个系统中的关键酶, 已经成为众多研究的热点。

血管紧张素转换酶(ACE)通过不同的遗传机制在心脑血管疾病的发生发展中起作用^[6]。ACE 通过增加血管紧张素 II 的形成及失活缓激肽, 导致血管收缩、平滑肌细胞增生, 血管壁增厚, 参与心脑血管疾病的发生与发展^[7]。血浆 ACE 浓度受控 ACE 基因, 因此 ACE 基因被认为是心脑血管疾病遗传易感性的主要候选基因。

目前, 国内外研究对 ACE 基因与脑梗死和脑出血的关系各家报道不一, 甚至截然相反。有研究认为, ACE 基因插入缺失多态性与卒中的发生机制无关^[8], 但大多数研究支持 ACE 基因多态性与脑梗死之间有关系^[9]。本研究发现, 无论是在脑出血组中, 还是脑梗死组中, 其基因型频率与基因频率与正常对照组没有显著性差异。可以推断在房山地区汉族人群中, ACE 基因插入缺失多态性不是脑卒中的独立危险因素。

此外, 通过相关临床资料分析, 脑出血和脑梗死患者的血糖、总胆固醇和三酰甘油水平均较正常人群高。尤其是具有 ID、II 基因型患者的血糖水平相对

正常对照有极显著差异。提示不同的基因型可能对这些指标有影响。虽然目前具体的机制并不明了, 现有的研究也很少有关于这方面的报道, 但至少可以为临床对脑卒中的诊断和预防提供一个新思路。

参考文献

1 田风华. 心脑血管疾病的预防. 中国自然医学杂志, 2008, 10(3): 191-192
2 中国神经学会. 各类脑血管病诊断要点. 中华神经杂志, 1996, 29(6): 379-380
3 Rigat B, Hubert C, Corvol P, *et al.* PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCPI). Nucleic Acids Res, 1992, 20: 1443
4 WHO. 预防慢性病是一项至关重要的投资. 中国慢性病预防与控制, 2005, 2(1): 1-3
5 Ruiz Ortega M, Lorenzo O, Ruprez M, *et al.* Role of the rennin-angiotensin system in vascular diseases: expanding the field. Hypertension, 2001, 38(10): 1382-1387
6 莫清江, 王宏伟. 血管紧张素转换酶基因多态性及血清水平与脑梗死的关系. 国际检验医学杂志, 2009, 30(2): 113-115
7 Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, *et al.* Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. Crit Care Med, 2006, 34(2): 344-353
8 Gormley K, Bevan S, Markus HS. Polymorphisms in genes of the rennin-angiotensin system and cerebral small vessel disease. Cerebrovasc Dis, 2007, 23(2-3): 148-155
9 Siowik A, Turaj W, Dziedzic T, *et al.* DD genotype of ACE gene is a risk factor for intracerebral hemorrhage. Neurology, 2004, 63: 359-361

(收稿: 2009-11-26)

(修回: 2009-11-30)