

一。另外,正如前文所述,DMEM 更适合具有成骨能力的细胞增生和矿化,因此它能更为广泛地适用于牙周韧带细胞、成骨细胞、骨膜细胞、牙髓干细胞的培养。其通用性决定了它较宽的应用范围。再者,近些年来关于组织工程干细胞的培养,研究更多地集中于培养基中添加成分的作用,在基础培养基培养功效相似的情况下,研究侧重于诸如细胞因子(生长因子的定向诱导)、营养条件(血清的种类、糖的含量)等方面的研究^[10]。因此,作为一种通用型的培养基,DMEM 与上述添加成分的联合应用也就日渐广泛。本实验还发现,在培养成功率方面,血清的作用比培养基的作用似乎更大。使用国产的新生牛血清和澳洲胎牛血清的培养成功率均不高,而只有在使用高品质的 Hyclone 胎牛血清时,其培养成功率最为稳定。究其原因,可能是此类培养基中的生长因子以及其他营养成分浓度较高所致。I 型胶原是牙龈结缔组织中的主要成分,其主要由牙龈成纤维细胞合成,I 型胶原稳定的合成和代谢是健康牙龈组织的重要保障^[11]。本研究发现,两种培养基对细胞在体外 I 型胶原的表达无差异。因此,DMEM 和 RPMI1640 两种培养基均适合 Beagle 犬牙龈成纤维细胞的体外培养。

参考文献

1 Nakahara T, Nakamura T, Kobayashi E, *et al.* In situ tissue engineering of periodontal tissue by seeding with periodontal ligament - derived cells[J]. *Tissue Eng*, 2004, 10(3-4): 537-544

- 2 钟泉,闫福华,李艳芬,等. Beagle 犬牙龈成纤维细胞的体外培养[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2008,12(50):9801-9805
- 3 司徒镇强,吴军正. 细胞培养[M],2 版,西安:世界图书出版西安公司,2007:41-45
- 4 Leopez - Cazuax S, Bluteau G, Magne D, *et al.* Culture medium modulates the behaviour of human dental pulp - derived cells; technical note[J]. *Eur Cell Mater*, 2006,11: 35-42
- 5 Wu X, Lin M, Li Y, *et al.* Effects of DMEM and RPMI 1640 on the biological behavior of dog periosteum - derived cells[J]. *Cytotechnology*, 2009, 59(2):103-111
- 6 李瑾,蒋春梅,孙卫斌. 人牙周膜成纤维细胞体外培养条件的优化[J]. *临床口腔医学杂志*, 2003, 19(6): 333-335
- 7 白忠诚,司徒镇强,刘斌,等. RPMI1640, DMEM 及不同生长因子对大鼠颌下腺细胞生长作用的观察[J]. *口腔颌面外科杂志*, 2003, 13(3): 196-199
- 8 Hou LT, Li TI, Liu CM, *et al.* Modulation of osteogenic potential by recombinant human bone morphogenic protein - 2 in human periodontal ligament cells; effect of serum, culture medium, and osteoinductive medium[J]. *J periodontal Res*, 2007, 42(2):244-252
- 9 须珏华,胡静波,周燕,等. 培养基对兔骨髓间充质干细胞扩增与分化的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(3): 467-470
- 10 Sant'Ana AC, Margues MM, Barroso TE, *et al.* Effects of TGF- β 1, PDGF-BB, and IGF-1 on the rate of proliferation and adhesion of a periodontal ligament cell lineage in vitro[J]. *J Periodontol*, 2007, 78(10): 2007-2017
- 11 Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS. Molecular and cell biology of the gingiva[J]. *Periodontology*, 2000,2000,24(1):28-55

(收稿:2010-03-28)

(修回:2010-05-26)

α ENaC 基因 T663A 和 T3593C 多态性与新疆哈萨克族血压及血电解质相关研究

李南方 徐 红 周 玲 杨 进 罗文利

摘 要 目的 研究 α ENaC 基因 T663A 与 T3593C 多态性及联合基因型与哈萨克族人血压、电解质的关系。**方法** 采集 252 例原发性高血压(EH 组)、105 例血压正常(NT 组)哈萨克族牧民遗传标本,检测血清 K^+ 、 Na^+ 水平,用 PCR-RFLP 方法,鉴定 T663A 与 T3593C 多态。分析两多态基因型及联合基因型分布及其与该民族血压、电解质的关系。**结果** 该人群 T663A 多态 AA、AG、GG 基因型频率各为 15.7%、51%、33.3%,A、G 等位基因频率各为 41.18%、58.82%;T3593C 多态 TT、TC、CC 基因型频率各为 88.6%、10.6%、0.8%,A、G 等位基因频率各为 93.84%、6.16%。两组间上述基因型、等位基因频率均无统计学差异($P > 0.05$)。T3593C 基因型 TT 对象年龄水平低于 CC,T663A GG + AG + T3593C TT 基因型对象年龄水平低于其他联合基因型;而

基金项目:新疆维吾尔自治区科技攻关和重点科技项目[200633129(3)]

作者单位:830001 乌鲁木齐,新疆维吾尔自治区人民医院高血压科/新疆维吾尔自治区高血压研究所

通讯作者:李南方,电子信箱:lnanfang@yahoo.com.cn

T663A 基因型 AA Na^+ 水平高于 GG, T663A GG + T3593C TT 基因型 Na^+ 水平低于其他联合基因型 ($P < 0.05$)。结论 该人群存在 T663A 与 T3593C 多态性。T663A AA 及 T663A GG + T3593C TT 基因型可能与该民族血钠水平相关, 年龄偏低的哈萨克族人中 T3593C 多态以 TT 型偏多, 而两多态及联合基因型可能与该民族血压水平不相关。

关键词 上皮细胞钠通道基因 哈萨克族 单核苷酸多态性 联合基因型

The Relationship between αENaC Gene T663A and T3593C Polymorphisms and Blood Pressure and Serum Electrolyte of Kazakhs in Xinjiang. Li Nanfang, Xu Hong, Zhou Lin, Yang Jin, Luo Wenli. Hypertension Unit, the People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, the Hypertension Institute of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Xinjiang 830001, China

Abstract Objective To investigate the association of T663A and T3593C single nucleotide polymorphisms (SNPs) in epithelial sodium channel α subunit (αENaC) gene and their united genotypes with blood pressure and serum electrolyte levels of Kazakhs. **Methods** 357 Kazakhs who lived in Xinjiang pasture area were recruited by cluster sampling in this study. A case-control study was conducted in this study, including 252 patients with documented essential hypertension (EH) and 105 normotensive subjects (NT). We identified T663A and T3593C genetic polymorphisms by PCR-RFLP. Serum sodium and potassium ions were measured. The distribution of genotypes, alleles and the united genotypes of these two SNPs were analyzed, and the association of them with serum sodium and potassium ions was investigated. **Results** The frequencies of the genotypes and allele were 15.7%, 51%, 33.3% and 41.18%, 58.82% for T663A and 88.5%, 10.6%, 0.8% and 93.84%, 6.16% for T3593C. The distribution of genotypes and alleles to these two polymorphisms had no significant differences between two groups. There were no statistical differences in levels of blood pressure and potassium ions, sodium/potassium among genotypes of two polymorphisms ($P > 0.05$), except that the levels of Na^+ of T663A AA genotype group were lower and T663A GG + T3593C TT united genotype group were higher than those of the other genotype groups and that the mean age of T3593C TT genotype and T663A GG + AG + T3593C TT united genotype groups was younger than that of the other genotypes groups. **Conclusion** T663A and T3593C genetic polymorphisms were found in Kazakhs. There was no association between T663A and T3593C polymorphisms and the levels of blood pressure of Kazakhs. The levels of Na^+ of T663A AA genotype group were lower and T663A GG + T3593C TT united genotype group were higher than those of the other genotype groups.

Key words Epithelial sodium channel gene; Kazakhs; Single nucleotide polymorphism; The united genotype

作为肾脏钠转运体之一的上皮细胞钠通道 (epithelial sodium channel, ENaC) 是醛固酮、血管加压素等激素和 Na^+ 、 Ca^{2+} 、pH 值、第 2 信使、附属蛋白等多种因子调节血压的核心效应器, 在维持机体 Na^+ 平衡、细胞外液容量和血压调节中起关键作用, 因此, ENaC 基因作为原发性高血压 (essential hypertension, EH) 的重要候选性基因之一被广泛关注^[1,2]。由于 α 亚单位对通道功能起主导作用, 因此 αENaC 基因变异与 EH 间的关系成为近年研究的热点。

流行病学调查显示新疆哈萨克族 EH 高发, 其发生与水盐代谢及离子转运机制失调关系密切^[3]。我们研究该 αENaC 基因 T663A 和 T3593C 多态与血压及血电解质的关系, 初步探讨该民族高血压的易感机制。

对象与方法

1. 对象: 生活在新疆牧区的哈萨克族牧民 357 名, 平均 46.36 ± 7.72 岁。依据 2005 年中国高血压防治指南制定的高血压诊断标准, EH 组 252 例, 男性 111 例, 女性 141 例, 平均 47.67 ± 7.76 岁。正常对照 (NT) 组 105 例, 男性 43 例, 女性 62 例, 平均 43.24 ± 6.69 岁。排除有肝、肾、甲状腺、糖尿病和药源性疾病及服用避孕药的对象。

2. 方法: (1) 基因组 DNA 制备: 抽取空腹静脉血置于 EDTA 抗凝管中, 使用 SK1252 试剂盒提取 DNA (上海生物工程技术服务有限公司), 溶于 TE 溶液中, 放置 -20°C 。(2) DNA 片段的扩增: 采用 PCR 扩增 αENaC 目的基因片段。1) 引物的设计: 应用 Primer3.0 设计, 由上海生工合成。引物序列见表 1。2) αENaC 基因两 SNPs 位点目的基因片段扩增: T663A 位点及 T3593C 多态目的基因片段分别采取直接 PCR 反应和巢式-PCR 反应扩增: ① T663A 位点 PCR 反应: 反应体系: DNA 模板 $0.2\mu\text{g}$ 、上下游引物各 0.16pmol 、 MgCl_2 2.0mmol/L 、dNTP $150\mu\text{mol/L}$ 、TaqDNA 聚合酶 2.5U (西安华美生物工程有限公司), 加灭菌去离子水至 $50\mu\text{L}$ 。反应条件: 94°C 预变性 5min 进入 35 个循环 (94°C 变性 1min , 56°C 退火 1min , 72°C 延伸 1min), 最后 72°C 延伸 7min ; ② G3593C 位点 PCR 反应: 外层 PCR 反应体系: 含 GoTaq 试剂混合液 $25\mu\text{L}$ (Promega 公司)、DNA 模板 $1\mu\text{L}$ 、上下游引物各 $1.25\mu\text{L}$, 加灭菌去离子水至 $50\mu\text{L}$ 。反应条件: 95°C 预变性 5min 进入 35 个循环 (95°C 变性 30s , 58°C 退火 45s , 72°C 延伸 1.5min), 最后 72°C 延伸 7min 。内层 PCR 反应体系: 除模板及引物成分外, 反应体系同该位点外层 PCR 反应。反应条件: 95°C 预变性 5min 进入 35 个循环 (95°C 变性 30s , 60°C 退火 45s , 72°C 延伸 1min), 最后 72°C 延伸 7min 。3) 取 PCR 终产物 $3 \sim 5\mu\text{L}$ 点样在含溴乙锭的 0.8% 或 2.0% 的琼脂糖凝胶上, 进行水平电泳, 紫外灯下观察扩增结果。4) 基因型判定: ① T663A 多态性基因型: 每个酶切体系

含 PCR 产物 6 μ l, 10 $\times$ Buffer 2 μ l, Xcm I 限制性内切酶 3U (NEB 公司), 加灭菌去离子水至 20 μ l。37 $^{\circ}$ C 水浴 4h, 取酶切产物在 1.5% 琼脂糖凝胶上电泳, 紫外灯下观察结果, 检测基因型; ②G3593C 多态性基因型: 每个酶切体系含 PCR 产物

6 μ l, 10 $\times$ Buffer 2 μ l, 牛血清 0. 2 μ l, BsrS I 限制性内切酶 5U (Promega 公司), 加灭菌去离子水至 20 μ l。65 $^{\circ}$ C 水浴 4h, 取酶切产物在 3.0% 琼脂糖凝胶上电泳, 紫外灯下观察结果, 检测基因型。

表 1 ENaC 基因两 SNPs 位点的 PCR 扩增引物

SNP 位点	rs 数	外层 PCR 扩增引物序列(5' - 3')	内层 PCR 扩增引物序列(5' - 3')
T663A	rs2228576		上游: 5' - AACCCTCTGTCCCATCGT - 3'
			下游: 5' - AGCCTTACCCATCTTGC - 3'
T3593C	rs3782727	上游: 5' - TGCCTCAACTTCAGACAGACA - 3'	上游: 5' - AGGGCATCTCAGGTTAGCAG - 3'
		下游: 5' - CCTAAACCGTTCCTGGGACT - 3'	下游: 5' - TCAGTGCTTTGTCCCCTTC - 3'

3. 统计学处理: 采用 SPSS15.0 软件进行统计分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 均数间比较采用 t 或 t' 检验及方差分析, 组间频数比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. T663A 位点扩增片段为 571bp, 该产物包含 1 个 Xcm I 酶切位点, 当 A 被 G 替换, Xcm I 酶切位点消失。理论上在人群中有 3 种基因型: AA、AG 和 GG。纯合子 AA 存在 404bp 和 167bp 两条酶切片段; 杂合子 AG 存在 571bp、404bp 和 167bp 3 条酶切片段; 纯合子 GG 存在 571bp 1 条酶切片段。在本研究中检测到了这 3 种基因型(图 1)。

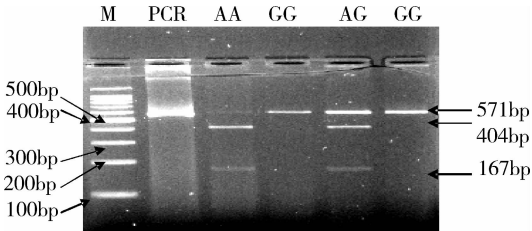


图 1 T663A 位点扩增及酶切结果

M. 标记; PCR. 557bp 扩增产物; AA. 野生纯合子; AG. 杂合子; GG. 突变纯合子

2. T3593C 位点扩增片段为 441bp, 该产物包含 1 个 BsrS I 酶切位点, 当 T 被 C 替换时, 产生 BsrS I 酶切位点, 理论上在人群中有 TT、TC 和 CC 3 种基因型。野生纯合子 TT 存在 332bp、139bp 2 条酶切片段; 杂合子 TC 存在 441bp、332bp、109bp 3 条酶切片段; 突变纯合子 CC 存在 441bp 一条酶切片段。在本研究中检测到了这 3 种基因型(图 2、图 3)。

3. EH 组和 NT 组临床资料比较: 在两组间除性别差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 年龄、体重指数 (BMI)、收缩压 (SBP)、舒张压 (DBP)、脉压 (PP)、平均动脉压 (MAP)、 K^+ 、 Na^+ 及 Na^+/K^+ 水平均存在统计学差异 ($P < 0.05$) (表 2)。

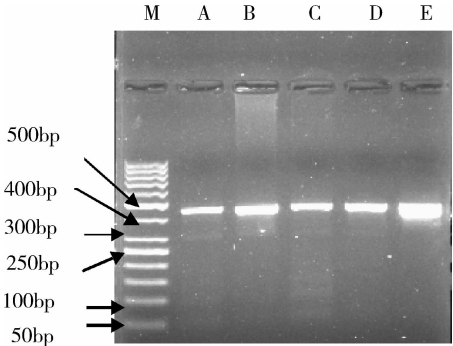


图 2 T3593 C 位点扩增结果

M. 标记; A ~ E. 441bp 产物

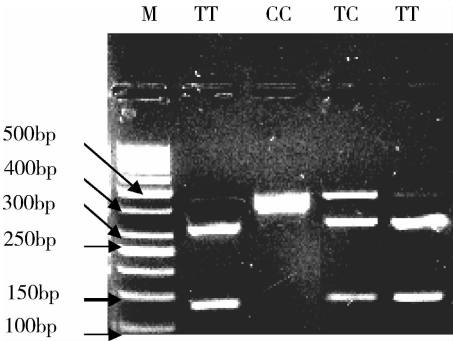


图 3 T3593 C 位点扩增酶切结果

M. 标记; TT. 野生纯合子; TC. 杂合子; CC. 突变纯合子

表 2 NT 组和 EH 组一般临床资料

项目	EN 组	NH 组	t 或 t'	P
性别 (男性/女性)	111/141	43/62	0.29	0.64
年龄 (岁)	47.62 $\pm$ 7.76	43.24 $\pm$ 6.69	-5.12	<0.001
BMI (kg/m ²)	26.22 $\pm$ 4.63	24.54 $\pm$ 4.26	-3.29	0.001
SBP (mmHg)	169.69 $\pm$ 24.99	113.17 $\pm$ 10.36	-30.2	<0.001
DBP (mmHg)	105.69 $\pm$ 14.81	71.67 $\pm$ 6.96	-29.48	<0.001
PP (mmHg)	64 $\pm$ 19.63	41.5 $\pm$ 10.17	-14.19	<0.001
MAP (mmHg)	127.02 $\pm$ 16.39	85.5 $\pm$ 6.72	-33.95	<0.001
K^+ (mmol/L)	4.48 $\pm$ 0.85	4.12 $\pm$ 0.60	-4.58	<0.001
Na^+ (mmol/L)	143.2 $\pm$ 10.57	140.23 $\pm$ 11.56	-2.35	0.02
Na^+/K^+	32.74 $\pm$ 4.85	34.44 $\pm$ 3.53	3.71	<0.001

4. α ENaC 基因 T663A 与 T3593C 多态性在 EH 组的分布均无统计学差异意义($P>0.05$)(表 3)。

组和 NT 组的分布:两组中,两位点基因型及等位基

表 3 T663A 和 T3593C 多态性在 EH 组和 NT 组分布[$n(\%)$]

组别	T663A 基因型			T663A 等位基因		T3593C 基因型			T3593C 等位基因	
	AA	AG	GG	A	G	TT	TC	CC	T	C
EH 组	42(16.7)	120(47.6)	90(35.7)	120(28.6)	300(71.4)	221(87.7)	29(11.5)	2(0.8)	471(93.5)	33(6.5)
NT 组	14(13.3)	62(59.1)	29(27.6)	90(30.6)	204(69.4)	95(90.4)	9(8.6)	1(1.0)	199(94.8)	11(5.2)
χ^2	3.88			0.35		0.69			0.44	
P	0.14			0.56		0.71			0.61	

5. α ENaC 基因 T663A 多态性各基因型间临床资料的比较:T663A 多态性除 AA 与 GG 基因型间 Na^+ 水平差异存在统计学意义($P<0.05$)外,3 种基因型

间在性别、年龄、BMI、SBP、DBP、PP、MAP、 K^+ 及 Na^+/K^+ 水平均无统计学差异($P>0.05$)(表 4)。

表 4 T663A 多态性各基因型间临床资料

项目	T663A 基因型			P
	AA	AG	GG	
性别(男性/女性)	20/36	80/102	54/65	0.46
年龄(岁)	47.79 $\pm$ 7.74	45.91 $\pm$ 7.89	46.39 $\pm$ 7.43	0.28
BMI(kg/m ²)	25.72 $\pm$ 4.66	25.76 $\pm$ 4.86	25.66 $\pm$ 4.13	0.98
SBP(mmHg)	153.4 $\pm$ 33.79	151.96 $\pm$ 34.75	154.6 $\pm$ 32.26	0.80
DBP(mmHg)	98.1 $\pm$ 21.55	94.77 $\pm$ 20.05	95.94 $\pm$ 19.96	0.56
PP(mmHg)	55.3 $\pm$ 17.69	57.19 $\pm$ 20.19	58.66 $\pm$ 21.29	0.58
MAP(mmHg)	116.53 $\pm$ 24.92	113.83 $\pm$ 24.08	115.49 $\pm$ 22.63	0.71
K^+ (mmol/L)	4.43 $\pm$ 0.75	4.38 $\pm$ 0.81	4.35 $\pm$ 0.82	0.84
Na^+ (mmol/L)	144.77 $\pm$ 13.39	142.77 $\pm$ 10.36	140.5 $\pm$ 10.30	0.04*
Na^+/K^+	33.34 $\pm$ 4.66	33.35 $\pm$ 4.61	33.03 $\pm$ 4.49	0.83

* 为 AA 与 GG 比较

6. α ENaC 基因 T3593C 多态性各基因型间临床资料比较:T3593C 多态性 TT 与 TC + CC 基因型间除在年龄水平差异存在统计学意义($P<0.05$)外,在性别、BMI、SBP、DBP、PP、MAP、 K^+ 、 Na^+ 及 Na^+/K^+ 水平均无统计学差异($P>0.05$)(表 5)。

表 5 α ENaC 基因 T3593C 多态性各基因型间临床资料

项目	T3593C 基因型		P
	TT	TC + CC	
性别(男性/女性)	139/177	15/26	0.41
年龄(岁)	46.09 $\pm$ 7.88	48.46 $\pm$ 6.08	0.03
BMI(kg/m ²)	25.69 $\pm$ 4.58	25.97 $\pm$ 4.66	0.71
SBP(mmHg)	152.47 $\pm$ 33.79	157.61 $\pm$ 33.13	0.36
DBP(mmHg)	95.31 $\pm$ 20.31	98.52 $\pm$ 19.68	0.34
PP(mmHg)	57.16 $\pm$ 20.25	59.09 $\pm$ 19.79	0.57
MAP(mmHg)	114.37 $\pm$ 23.76	118.22 $\pm$ 23.18	0.33
K^+ (mmol/L)	4.38 $\pm$ 0.83	4.36 $\pm$ 0.63	0.89
Na^+ (mmol/L)	142.23 $\pm$ 11.09	143.07 $\pm$ 9.79	0.64
Na^+/K^+	33.23 $\pm$ 4.64	33.29 $\pm$ 3.98	0.93

间临床资料比较:T3593C 位点 C 等位基因检出率低,故对 T663A GG + T3593C TT 基因型与其他各联合基因型总合间及 T663A GG + AG 与 T3593C TT 基因型与其他各联合基因型总合间的临床资料进行比较,发现前者除 Na^+ 水平间而后者除年龄水平间存在统计学差异($P<0.05$)外,余指标在两组间均无统计学差异($P>0.05$)(表 6、表 7)。

表 6 T663A 及 T3593C 多态性基因型间临床资料

项目	T663A	T3593C	T663A 与 T3593C	P
	GG	TT	其他基因型总合	
性别(男性/女性)	49/59		105/114	0.33
年龄(岁)	46.38 $\pm$ 7.53		46.36 $\pm$ 7.82	0.98
BMI(kg/m ²)	25.79 $\pm$ 4.25		25.69 $\pm$ 4.73	0.84
SBP(mmHg)	153.02 $\pm$ 33.01		153.08 $\pm$ 34.08	0.99
DBP(mmHg)	94.87 $\pm$ 20.05		96.03 $\pm$ 20.36	0.62
PP(mmHg)	58.16 $\pm$ 21.51		57.05 $\pm$ 19.61	0.63
MAP(mmHg)	114.25 $\pm$ 22.98		115.05 $\pm$ 24.04	0.77
K^+ (mmol/L)	4.35 $\pm$ 0.85		4.39 $\pm$ 0.79	0.65
Na^+ (mmol/L)	140.38 $\pm$ 10.68		143.17 $\pm$ 10.96	0.03
Na^+/K^+	33.07 $\pm$ 4.61		33.31 $\pm$ 4.55	0.64

7. α ENaC 基因 T663A、T3593C 位点联合基因型

表 7 T663A、T3593C 多态性基因型间临床资料

项目	T663A	T3593C	T663A 与 T3593C	P
	AG + GG	TT	其他基因型总合	
性别(男性/女性)	117/138		37/65	0.06
年龄(岁)	45.84 ± 7.74		47.68 ± 7.57	0.04
BMI(kg/m ²)	29.79 ± 4.54		25.54 ± 4.69	0.65
SBP(mmHg)	151.82 ± 34.39		156.16 ± 31.91	0.27
DBP(mmHg)	94.52 ± 20.33		98.57 ± 19.82	0.09
PP(mmHg)	57.30 ± 20.92		57.59 ± 18.31	0.9
MAP(mmHg)	113.62 ± 23.92		117.77 ± 22.95	0.14
K ⁺ (mmol/L)	4.38 ± 0.84		4.37 ± 0.70	0.87
Na ⁺ (mmol/L)	141.81 ± 10.51		143.61 ± 11.90	0.16
Na ⁺ /K ⁺	33.14 ± 4.60		33.49 ± 4.49	0.51

讨 论

ENaC 的基本生理功能是对 Na⁺ 进行定向跨膜转运,负责机体 Na⁺ 限速重吸收,而 K⁺ 的分泌与 Na⁺ 的主动重吸收密切相关^[4]。ENaC 基因是目前发现的唯一一个突变后既可引起遗传性高血压又可引起遗传性低血压的基因。EH 是一复杂多基因疾病,对其候选基因几个位点多态联合分析较对单个位点分析对揭示 EH 的发病机制具有更重要的意义。 α ENaC 基因 T663A 多态性位于第 13 外显子,是单个碱基 A 变异为 G,使其编码的 663 位苏氨酸变异为丙氨酸。Ambrosius 等^[5] 首先报道了美国白人和黑人 T663A 多态 G 等位基因频率分别为 0.293、0.146,在 EH 患者和 NT 者中,白人 G 等位基因频率分别为 0.37 和 0.29,而黑人则为 0.23 和 0.15,无论白人还是黑人,该多态性均与正常血压强相关。随后 Sugiyama 等^[6] 报道日本人存在 T663A 多态性,G 等位基因频率为 0.58,高于白人,该多态性与醛固酮/肾素比值临界相关($P=0.02$),Iwai 等^[7] 也报道了日本人群存在 T663A 多态性,G 等位基因频率为 0.31,但均未发现其与 EH 相关,说明 EH 易感基因存在种族差异。 α ENaC 基因第 2 内含子 T3593C 多态为该基因第 2 个共同遗传单体型板块的标签 SNP,可能代表着更加丰富的遗传信息量,在汉族人群中该位点变异等位基因的频率为 11.1%,目前尚未见有关该位点多态单独或与其他位点联合作用对血压影响的研究报道。

本研究采用 PCR-RFLP 技术,证实新疆哈萨克族人存在 α ENaC T663A 和 T3593C 多态,两多态基因型和等位基因分布在 EH 和 NT 组间无差异,T663A G 等位基因频率分别为 0.714 和 0.694,远高于美国

人和日本人,但与哈萨克族人 EH 无关,说明不同人群、不同民族 T663A G 等位基因频率存在一定的差异。在所有研究对象中,除 T663A 基因型 AA 较 GG Na⁺ 水平高、T663A GG + T3593C TT 较其他联合基因型 Na⁺ 水平低,但对应的血压水平相比却无差异外,两多态基因型间及联合基因型在血压、血 K⁺、Na⁺/K⁺ 水平方面均无显著差异,认为 T663A 基因型 AA 及 T663A GG + T3593CTT 基因型可能仅与该人群血钠水平相关。在年龄水平方面,T3593C 基因型 TT 低于 CC,T663A GG + AG + T3593C TT 基因型低于其他联合基因型,说明可能在年龄偏低的哈萨克族人中 T3593C 基因型以野生纯合子 TT 型居多。

血压与电解质间的关系相当复杂,除与神经体液因素相关外,钠、钾、镁、钙等离子在其吸收与排泄、胞膜转运及细胞内浓度的稳定方面存在复合作用,血压波动也受心理活动、姿势、气候等影响,故电解质与血压的真正关系常被掩盖;另由于样本量较小,也不能排除假阴性的可能。EH 的发生是多个微效基因与环境因素联合作用的结果,如能进一步扩大样本,监测 24h 动态血压并联合尿中钠、钾、微量蛋白的排泄情况及血尿酸固酮、肾素及其比值的变化进行更为深入的探索,可能对本研究更有意义。

参考文献

1 Snyder PM, Olson DR, Kabra R, *et al.* cAMP and serum and glucocorticoid-inducible kinase (SGK) regulate the epithelial Na⁺ channel through convergent phosphorylation of Nedd4 - 2. *J Biol Chem*, 2004, 279:45753 - 45758

2 Babini E, Geisler HS, Siba M, *et al.* A new subunit of the epithelial Na⁺ channel identifies region involved in Na⁺ self-inhibition. *J Biol Chem*, 2003, 273:28418 - 28426

3 李南方,周玲,曹梅,等.新疆和丰县牧区高血压病流行病学调查报告. *现代预防医学*, 2003, 30(2):141 - 143

4 Peter M, Snyder MD. The epithelial Na⁺ channel: cell surface insertion and retrieval in Na⁺ Homeostasis and hypertension. *Endocrine Reviews*, 2002, 23:258 - 275

5 张月明,徐臻荣,贝仁礼.新疆不同民族膳食特点与高血压的关系. *营养学报*, 1982, 4:315 - 321

6 Sugiyama T, Kato N, Ishinagaa Y, *et al.* Evaluation of selected polymorphisms of the Mendelian hypertensive disease genes in the Japanese population. *Hypertens Res*, 2001, 24:515 - 521

7 Iwai N, Baba S, Mannami t, *et al.* Association of sodium channel alpha subunit promoter variant with blood pressure. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13:80 - 85

(收稿:2010-01-20)

(修回:2010-04-05)