

血管紧张素转换酶基因插入/缺失多态性与康巴藏族心功能的关系研究

巴桑卓玛 尼玛玉珍 欧珠罗布 央 啦 达瓦普赤 边 巴 索 曲
毕卫忠 普 布 丹 增 丁玲辉 崔超英

摘 要 **目的** 研究血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)基因的插入/缺失(insertion/deletion, I/D)多态性与康巴藏族心功能的关系,以探讨康巴藏族是否具有优于其他地区藏族的遗传素质及体能。**方法** 将昌都地区的类乌齐和芒康两个县小学随机抽取的119名11~12岁儿童作为实验组,日喀则地区的白朗县和山南地区的曲松县抽取112名同年龄儿童作为对照组。应用聚合酶链反应(PCR)对ACE基因16内含子I/D(rs1799752)多态性进行检测;超声心动图测量左室每搏输出量、射血分数、心排出量等心功能指标;采用SPSS16.0软件进行统计分析。**结果** 男生组心排出量、每搏输出量等心功能指标实验组高于对照组,心率对照组高于实验组;女生组心排出量、每搏输出量、射血分数实验组均高于对照组。以上差异 P 值均小于0.05,有统计学意义。对照组ACE基因I/D多态性位点DD、ID、II基因型频率分布符合Hardy-Weinberg平衡;实验组与对照组的基因型频率和等位基因频率均没有统计学意义。II型个体每搏输出量、射血分数实验组均高于对照组;收缩压、心率对照组高于实验组;DD型个体每搏输出量实验组高于对照组;ID型个体其心排出量、每搏输出量、射血分数实验组均高于对照组,心率对照组高于实验组;以上差异均具有统计学意义。**结论** 说明实验组康巴藏族的心功能在高原环境下强于对照组;但是该差异与ACE基因I/D多态性无关。

关键词 康巴藏族 血管紧张素转换酶基因 基因多态性 插入/缺失

Association Between Insertion/deletion Polymorphism of Angiotensin Converting Enzyme Gene and Cardiac Function in the Kangba Tibetan Children. Basang Zhuoma, Nima Yuzhen, Ouzhu Lobu, Yang La, Dawa Puchi, Bian Ba, Suo Qu, Bi Weizhong, Pu Bu, Dan Zeng, Ding Linghui, Cui Chaoying. Tibet Medical College, Tibet University, Xizang 850002, China

Abstract Objective To investigate the association between insertion/deletion (I/D) polymorphism in the angiotensin converting enzyme(ACE) gene and cardiac function of children in the area of the Kangba Tibetan. **Methods** 119 Tibetan children aged 11~12 years old were enrolled randomly from Qamdo district and 112 matched children from Shigatse district were as control. The genotypes of I/D polymorphism in intron 16 of the ACE gene were detected by polymerase chain reaction(PCR). Clinical parameters including left ventricular stroke volume(LVSV), cardiac output(CO), ejection fraction(EF) were measured with echocardiography. **Results** Cardiac function parameters(LVSV and CO) of boys in Qamdo district were higher than those in Shigatse district($P < 0.05$). The parameters, including LVSV, CO and EF, of girls in Qamdo district were also higher than those in Shigatse district($P < 0.05$). However, there was no significant difference in ACE(I/D) genotype and allele distributions between the two districts. **Conclusion** The cardiac function of Kangba Tibetan children in Qamdo district was better than that of children in Shigatse district. But the Kangba Tibetan children's I/D polymorphism of ACE gene was not associated with their cardiac function.

Key words Kangba Tibetan; Angiotensin converting enzyme; Polymorphism; Insertion/deletion

随着西部大开发战略和我国奥运会战略的实施,体育界有学者提出要在中国的西部建立中国体育发

展的人才资源库。研究表明世居藏族青少年相对于同龄移居汉族青少年有较大的氧供给能力,从而使得藏族青少年具有相对高的运动能力和氧耗量^[1]。西藏平均海拔在4000m以上,地形地貌复杂多样,可分为四个地带:一是藏北高原,二是藏南谷地,三是藏东高山峡谷,四是喜马拉雅山地。藏民族作为青藏高原特定地域的一个少数民族群体,尤其是处于昌都地区以及芒康和类乌齐等县三角地带的康巴藏族,在其体

基金项目:国家体育总局专项基金资助项目(2009-1)

作者单位:850002 拉萨,西藏大学医学院(巴桑卓玛、欧珠罗布、央啦、达瓦普赤、边巴、索曲、普布、丹增、崔超英);西藏自治区第一人民医院(尼玛玉珍);西藏大学农牧学院(毕卫忠);西藏大学科研处(丁玲辉)(注:巴桑卓玛和尼玛玉珍为并列第一作者)

通讯作者:崔超英,电子邮箱:cuisangmu@yahoo.com.cn

质特征、生理功能和运动素质与区内其他地区人群相比有其独特的优势。然而,生活在这一地区的藏族的遗传素质与心功能之间的内在联系,从未有学者对其进行过研究。循环系统和运动系统是限制人体运动能力的两大因素,循环系统是限制人类有氧耐力的主要因素。良好的心血管功能包括心脏功能和动脉顺应性是保证优秀运动员成功的关键。Bielen 等人研究发现,心脏结构及功能受许多相关基因影响,而运动耐力及对运动训练的适应性反应也可能与许多基因相关联^[2]。

肾素-血管紧张素系统(RAS)在调节血压和体液及电解质平衡方面发挥着重要作用。ACE 作为 RAS 的关键酶之一,其作用能促进无活性的血管紧张素 I (Ang I) 转化为具有收缩心肌和血管功能,调节体液平衡的血管紧张素 II (Ang II),并有效降解缓激肽,降低其生物学功能。成人 ACE 血浆水平非常稳定,并与许多环境、代谢因素和激素水平无关。分子遗传学研究发现,ACE 基因第 16 内含子有一段 287bp 的重复序列为标记构成 ACE 基因的插入/缺失多态性。研究认为 ACE 基因多态性影响了体内 ACE 的酶活性和(或)水平。目前,有关 ACE 基因 I/D 多态性与机体耐力素质关联具体机制还不是非常清楚,但是普遍认为,ACE 基因主要通过影响人体的心肺功能及肌肉力量从而影响着人体的有氧耐力素质。并且 Rigat 等研究认为,DD、ID、II 3 种基因型与 ACE 水平之间有显著差异,DD 型个体的 ACE 水平最高, ID 型次之, II 型最低^[3]。因此,ACE 基因 I/D 多态性的分析与研究有助于从分子水平阐明其与人类优秀运动能力的关系。本研究以康巴藏族儿童作为研究对象,探讨 ACE 基因 16 内含子 I/D 多态性与人体心功能之间的相关性。

资料与方法

1. 对象:选取 2006 年在昌都地区芒康和类乌齐县和日喀则地区的白朗县和山南地区的曲松县进行体质特征流行病学调查的资料,并对采集的 11~12 岁儿童的血样进行研究,分

组如下:实验组 119 例,其中男性 58 例,女性 61 例;对照组 112 例,其中男性 58 例,女性 54 例。

2. 内容与方法:(1)问卷调查:自制流行病学调查表进行问卷调查,调查内容包括一般情况、既往史、家族遗传病史等,调查之前需获得受试者的知情同意。(2)人体基本参数测定:测定基本形态学指标、利用超声心动图测量左心室每搏输出量、射血分数、心排出量等心功能指标。血压测量采用标准台式血压计坐位连续测量 3 次,每次间隔 1min,以 3 次均值作为个体血压水平。(3)生化指标测定:生化指标测定调查对象均抽取过夜空腹静脉血,离心取血清,进行肝功能及其他各项生化指标检查。血样剩余部分-20℃ 冻存以供提取基因组 DNA。(4)DNA 提取:DNA 提取首先将样本水浴解冻,传统的酚氯仿抽提法提取基因组 DNA。(5)ACE 基因 16 内含子 I/D 多态性基因分型:采用根据参考文献[3]设计引物:上游 5'CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT3',下游 5'GATGTGGCC AT-CACATTCGTCAGAT3'。PCR 扩增体系为 20μl,其中 10×PCR buffer 2μl,上下游引物各 200pmol/L, dNTPs 200μmol/L,基因组 DNA10ng, Taq 酶 U, MgCl₂ 5mmol/L。使用 AB 公司的 Thermalcycler2720 型 PCR 仪进行扩增,条件如下:94℃ 预变性 5min,94℃ 变性 45s,58℃ 退火 45s,72℃ 延伸 60s,共 35 个循环,最后 72℃ 延伸 10min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳后,用凝胶成像仪观察并记录结果。

3. 统计学处理:所有数据分析采用 SPSS16.0 软件包,基因型频率与等位基因频率和组间计数资料采用 χ^2 检验;研究组(实验/对照)形态和生理特性的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间的计量资料用 *t* 检验;实验组和对照组样本基因型的数量均与预期值比较验证是否符合 Hardy-Weinberg 平衡;*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 实验组和对照组临床资料比较:研究组(实验/对照)形态和生理特性的分布及其差异显著性检验结果见表 1。通过对两组进行比较,发现男生组心排出量、每搏输出量等心功能指标实验组高于对照组,差异有统计学意义。男生组心率对照组高于实验组,差异有统计学意义。女生组心排出量、每搏输出量、射血分数实验组均高于对照组,差异有统计学意义。说明实验组的心功能在高原环境中要强于对照组。

表 1 实验/对照形态和生理特性的资料比较

项目	男性(<i>n</i> = 116)		女性(<i>n</i> = 115)	
	实验组(<i>n</i> = 58)	对照组(<i>n</i> = 58)	实验组(<i>n</i> = 61)	对照组(<i>n</i> = 54)
收缩压	93.1 ± 8.3	96.1 ± 8.7	93.4 ± 8.3	95.6 ± 7.5
舒张压	56.8 ± 6.7	57.5 ± 7.2	57.9 ± 6.8	58.9 ± 7.3
心率	79.3 ± 10.7 *	87.6 ± 11.4	86.4 ± 14.2	91.4 ± 12.8
心排出量	4.1 ± 1.2 *	3.5 ± 0.9	3.7 ± 1.3 [△]	3.2 ± 1.0
每搏输出量	51.3 ± 14.2 *	39.5 ± 9.4	43.0 ± 14.3 [△]	34.5 ± 11.6
射血分数	79.2 ± 3.9	78.6 ± 4.1	79.1 ± 4.3 [△]	76.3 ± 5.0

男性间 *P* < 0.05 用 * 表示,女性间 *P* < 0.05 用 [△] 表示

2. 两组间基因型频率和等位基因频率分布比较:实验组和对照组 ACE 基因 I/D 多态 DD、ID、II 基因型频率分布均符合 Hardy - Weinberg 平衡;实验组与

对照组相比较,基因型频率分布差异没有统计学意义($P>0.05$);两组等位基因频率比较差异亦没有统计学意义($P>0.05$)(表 2)。

表 2 实验组和对照组基因型和等位基因频率分布比较[n(%)]

组别	基因型			P	等位基因		P
	II	ID	DD		I	D	
实验组	49(41.2)	38(31.9)	32(26.9)	0.8	136	102	0.9
对照组	43(38.4)	41(36.6)	28(25.0)		127	97	

3. 两组间按 ACE 基因 I/D 基因型分布分层后一般情况比较:研究发现实验组 II 型个体的每搏输出量、射血分数高于对照组,收缩压、心率对照组高于实验组,其差异具有统计学意义($P<0.05$);DD 型个体

其每搏输出量实验组高于对照组,差异具有统计学意义;ID 型个体其心排出量、每搏输出量、射血分数实验组均高于对照组,心率对照组高于实验组,差异具有统计学意义(表 3)。

表 3 实验组和对照组 ACE 基因 I/D 基因型分布分层后一般情况比较

项目	实验组			对照组		
	II(n=49)	DD(n=32)	ID(n=38)	II(n=43)	DD(n=28)	ID(n=41)
收缩压	93.7±8.6*	93.4±8.8	92.6±7.6	97.1±6.9	95.9±10.7	94.4±7.3
舒张压	56.8±6.4	57.8±7.5	57.6±6.6	59.1±7.5	55.9±7.6	58.8±6.4
心率	83.0±10.8*	84.7±16.5	81.5±12.6 [○]	90.1±12.7	89.3±13.3	89.0±11.1
心排出量	3.8±1.2	3.4±1.1	4.4±1.4 [○]	3.4±1.0	3.2±0.9	3.4±1.0
每搏输出量	45.7±14.1*	41.2±12.3 [△]	53.8±15.2 [○]	38.3±107	34.7±10.9	37.4±10.8
射血分数	79.3±3.9*	78.7±4.9	79.5±3.7 [○]	77.4±4.8	78.4±3.6	77.0±5.1

在 II 中实验组与对照组间 $P<0.05$ 用 * 表示,在 DD 中实验组与对照组间 $P<0.05$ 用[△]表示,在 ID 中实验组与对照组间 $P<0.05$ 用[○]表示

讨 论

本研究选取的对象均为长期居住于高原地区的藏族,研究结果显示作为实验组的康巴藏族男生组心排出量、每搏输出量等心功能指标高于对照组、心率对照组高于实验组;女生组心排出量、每搏输出量、射血分数实验组均高于对照组,以上差异均具有统计学意义。以往研究认为青藏高原世居藏族具有比移居汉族更好的氧转运能力,我们的研究显示处于昌都地区以及芒康和类乌齐等县三角地带的康巴藏族,其生理功能和心脏功能与区内其他地区藏族相比更有其独特的优势。

国外研究表明,基因多态性频率分布有明显的种族和地区差异,白种人中以 ID 型频率最高,以 II 型频率最低,其 D 等位基因分布频率大多较亚洲裔黄种人高,而 I 等位基因频率大都低于黄种人。近年来有关 ACE 基因在运动方面的研究主要集中在 ACE 基因与耐力运动以及运动性心脏两个方面,ACE 基因是决定人体有氧耐力素质的关键因素,该基因不但影响人体有氧耐力素质的最佳水平,还影响人体对耐

力训练的敏感度。ACE 基因 I/D 多态性与肌肉力量也存在一定关联。ACE 基因主要影响人体的心肺功能,从而影响人体的有氧耐力素质,但优秀的耐力能力也可能与 ACE 基因对心脏结构及功能的调控,以及肌肉力量有关。1998 年, Montgomery 等对 ACE 基因的 I/D 多态性与心脏结构及功能乃至运动能力的关系进行了一系列的关联研究,发现登山运动员该位点多为 II 型,从而提示这可能是影响人类体能的一个特殊的遗传因素, I 等位基因可能会增强高原人群的体能^[4]。Oadar 等对高原人 Ladakhis 的 ACE 基因 I/D 多态性进行了分析,结果发现在高原人群中 II 和 ID 基因型显着高于 DD 型, I 等位基因的频率高于平原对照组,表明 II 基因型可能与高原适应有关^[5]。但后来一些研究对此提出了质疑。1999 年 Talor 选择了 120 名混合项目运动员,但是并没有观察到 I 等位基因与杰出耐力相关。与其相似, Rankinen 的研究增加了样本量,研究结果虽然不支持 Montgomery 的研究结论,但是混合项目却给分析带来了一定了困难。另外,有研究认为, ACE 基因对心脏结构及功

能、体内激素水平和能量代谢水平的调控发挥着一定的功效,而 ACE 基因多态性又影响了体内 ACE 的活性和(或)水平^[6,7]。我们的研究发现对照组 ACE 基因 I/D 多态性位点的 DD、ID、II 基因型频率分布符合 Hardy - Weinberg 平衡,说明选取样本具有群体代表性;实验组与对照组的基因型频率、等位基因频率均没有统计学意义。但进一步分层发现实验组 II 型个体的每搏输出量、射血分数均高于对照组、收缩压、心率对照组高于实验组;实验组 DD 型个体其每搏输出量高于对照组;ID 型个体其心排出量、每搏输出量、射血分数实验组均高于对照组,心率对照组高于实验组,以上差异均具有统计学意义。以往研究发现,ACE 基因的两种等位基因形式 I 和 D 中,形式 I 个体血液中的 ACE 水平较低,形式 D 则相反。并且 ACE 基因中拥有至少 1 个 I 等位基因的个体,其耐力比 ACE 基因中拥有两个 D 等位基因的个体要强。由此推测,I 等位基因可能增强机体肌肉吸收营养成分和氧分的能力,这样有助于增强人的有氧耐力。但我们的研究发现康巴藏族更好的心功能状态与 ACE 基因 I/D 多态性无相关性,这可能是由于高原低氧环境下,人体循环系统和氧吸收、运输及利用涉及许多环节,多条通路和众多基因,而非单一 ACE 基因所能决定。当然,本研究的样本量相对较少,需要更大样本量进行验证。因此,ACE 基因的 I/D 多态性与心功能的关系还有待进一步研究。

总之,随着分子遗传学对运动医学的渗透,倘若

能探明这些表型的基因标记或定位这些基因,不仅有助于解决竞技体育的早期选材问题,而且可以从分子水平探讨人类运动能力的相关生理机制,进一步丰富运动生理学以及运动遗传学的内容。

参考文献

- 1 何子红. 探寻与运动能力有关的基因研究进展. 天津体育学院学报,2001,16(4):12-19
- 2 Bielen E C, Fagard R H, Amery A K. Inheritance of acute cardiac changes during bicycle exercise : an echocardiographic study in twin [J]. *Med Sci Sports Exerc*,1991,23 (11) :1254 - 1259
- 3 Rigat B, Hubert C, Alhenc G F, *et al.* An I/D polymorphism in the ACE gene accounting for half the variance of serum enzyme level [J]. *J Clin Invest*,1990,86:1343 - 13461
- 4 Montgomery HE, Marshall R, Hemingway H, *et al.* Human gene for physical performance. *Nature*,1998,393(6682):221 - 222
- 5 Qadar PMA, Khan AP, Kumar R, *et al.* Angiotensin converting enzyme insertion allele in relation to high altitude adaptation. *Ann Hum Genet*, 2001,65(Pt6):531 - 536
- 6 Taylor RR, Mamotte CDS, Fallon K, *et al.* Tlrit athletes and gene for angiotensin I - converting enzyme gene [J]. *J Appl physiol*,1999,87: 1035 - 1037
- 7 Rankinen T, Wolfarth B. No association between the angiotensin - converting enzyme ID polymorphism and elite endurance athlete status [J]. *J Appl physiol*,2000,88: 1571 - 1575
- 8 赵云,马力宏. 优秀有氧耐力运动员 ACE 基因 I/D 多态性与最大有氧能力及心脏结构与功能的关联研究. 天津体育学院学报,2001,16(4):9-11
- 9 张耀斌,李洁. ACE 基因多态性与有氧耐力的研究现状. 石家庄学院学报,2006,8(6):114-118

(收稿:2010-09-06)

低剂量环孢素治疗难治/复发免疫性血小板减少症的疗效及安全性分析

吴天勤 陈海飞 唐杰庆 朱晶晶 金玲娟 李征洋 沈红石 秦龙梅

摘要 **目的** 探讨环孢素 A(CyA)在难治/复发性免疫性血小板减少症(ITP)治疗中的临床疗效和不良反应。**方法** 36 例难治/复发 ITP 患者接受 3~5mg/(kg·d)的 CyA 治疗并观察疗效和不良反应。**结果** 中位随访 10 个月,完全反应(CR)13 例(36.1%),有效(R)15 例(41.7%),无效(NR)8 例(22.2%),总有效率为 77.8%。复发与难治两组疗效差异比较无统计学意义($P=0.083$)。常见的不良反应为胃肠道反应、头痛、血压升高及肝功能受损,多数患者能较好耐受。**结论** 低剂量的 CyA 治疗 ITP 是一种高效、安全的挽救性治疗方法,严重不良反应较少。

基金项目:全军医药卫生科研基金资助项目(08MA019)

作者单位:215007 苏州,解放军 100 医院血液科/南京军区血液肿瘤治疗中心

通讯作者:陈海飞,电子信箱:chhf1224@163.com