

• 临床检验研究论著 •

## 过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 及其共激活子 $1\alpha$ 与蒙古族高血压的关系\*

董海荣<sup>1</sup>, 韩富秋<sup>2</sup>, 苏秀兰<sup>2△</sup>

(1. 呼和浩特市第一医院检验科, 内蒙古呼和浩特 010030; 2. 内蒙古医学院附属医院临床医学研究中心, 内蒙古呼和浩特 010050)

**摘要:**目的 探讨过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)- $\gamma$ 2 基因脯氨酸 12 丙氨酸(Pro12Ala)多态性及其共激活子(PGC)- $1\alpha$  基因甘氨酸 482 丝氨酸(Gly482Ser)多态性与蒙古族人群高血压发病的关系。方法 随机选取蒙古族高血压患者 182 例(高血压组)、蒙古族健康者 245 例(对照组), 采用聚合酶链反应(PCR)限制性片段长度多态性(RFLP)技术进行基因型检测, 并用直接测序法加以证实。结果 (1)高血压组与对照组 PPAR- $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性基因型均以 PP 基因型为主, 组间基因频率比较无统计学差异( $P > 0.05$ ); (2)高血压组与对照组 PGC- $1\alpha$  基因 Gly482Ser 多态性基因型均以 GA 基因型为主, 但基因频率比较有统计学差异( $P < 0.05$ )。结论 PPAR- $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性和 PGC- $1\alpha$  基因 Gly482Ser 多态性存在种族差异; 在蒙古族人群中, PGC- $1\alpha$  基因 Gly482Ser 多态性可能是高血压发病的遗传学因素, 而 PPAR- $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性可能与高血压发病无关。

**关键词:** 少数民族; 过氧化物酶体增殖物激活受体; Q 多态现象, 遗传; 高血压

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.004

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)22-2698-03

### The relationship between peroxisome proliferator-activated receptor $\gamma$ and its coactivated $1\alpha$ and mongolian hypertension\*

Dong Hairong<sup>1</sup>, Han Fuqiu<sup>2</sup>, Su Xiulan<sup>2△</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory, Huhhot First Hospital, Hohhot, Inner Mongolian 010030, China; 2. Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Inner Mongolian Medical University, Hohhot, Inner Mongolian 010050, China)

**Abstract:** Objective To investigate the relationship between peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)- $\gamma$ 2 gene Pro12Ala polymorphism and its coactivator(PGC)- $1\alpha$  gene Gly482Ser polymorphism and hypertension in Mongolian. **Methods** 182 Mongolian cases with hypertension (hypertension group) and 245 healthy Mongolian cases(control group) were randomly selected. Polymerase chain reaction(PCR) restriction fragment length polymorphism (RFLP) technology was performed for genotype testing, and direct sequencing to confirm. **Results** (1) PPAR- $\gamma$ 2 gene Pro12Ala polymorphism genotype of hypertension group and control group was PP genotype. There was no difference between the two groups( $P > 0.05$ ). (2) PGC- $1\alpha$  gene Gly482Ser polymorphism genotype of the two groups was GA genotype. There was Significant difference between the two groups( $P < 0.05$ ). **Conclusion** PPAR- $\gamma$ 2 gene Pro12Ala polymorphism and PGC- $1\alpha$  gene Gly482Ser polymorphism might have ethnic differences. In Mongolian population, PGC- $1\alpha$  gene Gly482Ser polymorphism might be the genetic factors of the hypertension, while the PPAR- $\gamma$ 2 gene Pro12Ala polymorphism might have no correlation with hypertension.

**Key words:** minority groups; PRAR gamma; polymorphism, genetic; hypertension

过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)是一类由配体激活的核转录因子, 属于核内受体超家族成员<sup>[1]</sup>。PPAR- $\gamma$ 2 基因位于 3 号染色体, 其许多遗传变异体已经确定, 其中脯氨酸 12 丙氨酸(Pro12Ala)多态性是由于 PPAR- $\gamma$ 2 基因 B 外显子的 12 密码子 CCA 错义突变为 GCA。人类 PPAR- $\gamma$  协同激活因子- $1\alpha$ (PGC- $1\alpha$ )则是新近发现的核转录因子。本研究旨在探讨蒙古族人群 PPAR- $\gamma$ 2 Pro12Ala 多态性和 PGC- $1\alpha$  甘氨酸 482 丝氨酸(Gly482Ser)多态性与高血压的关系。

#### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 蒙古族人群分别来自乌蒙四子王旗和锡盟东乌旗(纳入对象三代均为蒙古族, 且在当地居住 3 年以上)。高血压组 182 例, 男 80 例, 女 102 例; 健康对照组 245 例, 男 67 例, 女 178 例。高血压诊断标准参照 1999 年世界卫生组织/高血压专家委员会(WHO/ISH)诊断标准。

**1.2 方法** 采用 Kit 法提取受试对象外周血基因组 DNA<sup>[2]</sup>, 采用聚合酶链反应(PCR)限制性片段长度多态性(RFLP)技术进行 PPAR- $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性及 PGC- $1\alpha$  基因 Gly482Ser 多态性检测。PCR 引物参照文献<sup>[1]</sup>进行设计, 由宝生物工程(大连)有限公司合成。选择 PCR 检测为纯合子及杂合子的标本, 重新扩增后进行 DNA 序列鉴定。

**1.3 统计学处理** 用 SPSS13.0 统计软件进行资料分析。组间均数比较采用  $t$  检验, 组间频数比较用  $\chi^2$  检验, 多因素分析采用 logistic 回归分析。显著性检验水准为  $\alpha = 0.05$ 。

#### 2 结果

**2.1 临床指标比较** 高血压组与对照组比较, 年龄、体质指数(BMI)、空腹血糖(FPG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、三酰甘油(TG)无统计学差异( $P > 0.05$ ), 高血压组收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇

\* 基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金重点资助项目(2010Zd26)。 △ 通讯作者, E-mail: xlsu@hotmail.com。

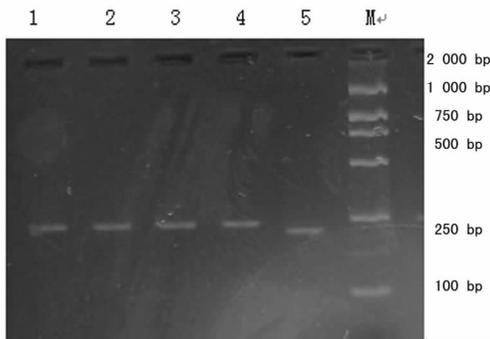
(LDL-C)均高于对照组( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 两组临床指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

临床指标	高血压组( $n=182$ )	对照组( $n=245$ )
年龄(岁)	48.60±13.33	38.48±10.93
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	25.50±4.75	22.93±3.45
SBP(mmHg)	145.99±23.94*	115.13±14.45
DBP(mmHg)	96.18±11.78*	75.28±8.08
FPG(mmol/L)	5.06±1.18	4.97±1.15
HDL-C(mmol/L)	1.54±0.44	1.57±0.45
TC(mmol/L)	5.12±1.16*	4.76±0.94
TG(mmol/L)	1.88±1.88	1.44±1.51
LDL-C(mmol/L)	3.33±0.94*	2.92±0.78

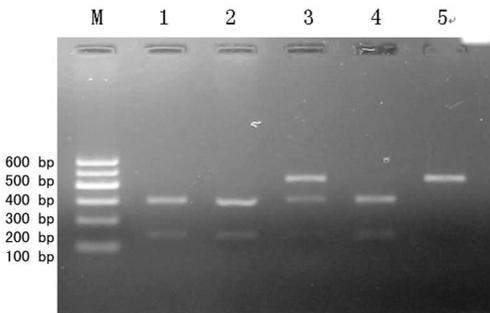
\*:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

**2.2 琼脂糖凝胶电泳** 经 PCR 扩增及酶切,共检出 3 种 PPAR- $\gamma 2$  基因型:野生型纯合子(PP 型),无酶切位点,电泳条带为 244 bp;突变型纯合子(AA 型),DNA 的 2 条链上均有酶切位点,产生 223、21 bp 条带;杂合子(PA 型)为其中 1 条 DNA 链上有酶切位点,产生 244、223 和 21 bp 条带(见图 1,21 bp 的片段未显示)。经 PCR 扩增及酶切,检出 3 种 PGC-1 $\alpha$  基因型:野生型纯合子(GG),无酶切位点,电泳条带为 452 bp;突变型纯合子(AA 型),DNA 的 2 条链上均有酶切位点,产生 310、142 bp 条带;杂合子(GA 型)为其中 1 条 DNA 链上有酶切位点,产生 452、310、142 bp 条带(见图 2)。PCR 产物测序鉴定结果与酶切检测结果相符。



M:DNA 分子标记物;1~4:PP 基因型;5:PA 基因型。

图 1 PPAR- $\gamma 2$  基因 PCR 产物 Hap II 酶切后电泳图



M:DNA 分子标记物;1,2,4: AA 基因型;3:GA 基因型;5:GG 基因型。

图 2 PGC-1 $\alpha$  基因 PCR 产物 BsTU I 酶切后电泳图

**2.3 PPAR- $\gamma 2$  基因型及等位基因频率分布比较** 所调查人群基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡(对照组  $\chi^2 = 0.001$ ,  $P > 0.05$ ;高血压组  $\chi^2 = 0.117$ ,  $P > 0.05$ ),说明研究对象具有

群体代表性。高血压组与对照组 PPAR- $\gamma 2$  基因型及等位基因频率分布比较均无统计学差异( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 2 PPAR- $\gamma 2$  基因型及等位基因频率分布比较[ $n$  或  $n(\%)$ ]

组别	$n$	基因型			等位基因频率	
		PP	PA	AA	P	A
高血压组	124	122(98.4)	2(1.6)	0(0.0)	246	2
对照组	178	177(99.4)	1(0.6)	0(0.0)	355	1

**2.4 PGC-1 $\alpha$  基因型及等位基因频率分布比较** 所调查人群的基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡(对照组  $\chi^2 = 0.002$ ,  $P > 0.05$ ;高血压组  $\chi^2 = 0.11$ ,  $P > 0.05$ ),说明研究对象具有群体代表性。高血压组与对照组 GG、GA 基因型频率及 G、A 等位基因频率分布有统计学差异( $P < 0.05$ ),见表 3。

表 3 PGC-1 $\alpha$  基因型及等位基因频率分布比较[ $n$  或  $n(\%)$ ]

组别	$n$	基因型			等位基因频率	
		GG	GA	AA	G	A
高血压组	124	48(26.4)*	61(33.5)*	17(9.3)	157*	95*
对照组	178	53(21.6)	115(46.9)	31(12.7)	221	177

\*:  $P < 0.05$ , 与对照组比较。

**2.5 高血压组内临床指标与 PPAR- $\gamma 2$  基因 Pro12Ala 变异的关系** 高血压组中,PP 基因型亚组、PA 基因型亚组仅年龄有统计学差异( $P < 0.05$ ),其他指标比较无统计学差异( $P > 0.05$ ),见表 4。高血压组中,肥胖组和正常体质量组 BMI、FPG、HDL-C 有统计学差异( $P < 0.05$ ),其他指标均无统计学差异( $P > 0.05$ ),见表 5。肥胖组与非肥胖组基因型均以 GG 为主。肥胖组与非肥胖组间 GG、AA 基因型频率及 G、A 等位基因频率分布有统计学差异( $P < 0.05$ ),见表 6。

表 4 高血压组内 PP 和 PA 基因型亚组临床指标比较( $\bar{x}$  或  $\bar{x} \pm s$ )

临床指标	PP 基因型亚组	PA 基因型亚组
年龄(岁)	47.32±12.97*	70.50±3.54
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	25.93	28.36
SBP(mmHg)	141.34	160.00
DBP(mmHg)	93.79	90.00
FPG(mmol/L)	5.33	7.10
HDL-C(mmol/L)	1.55±0.44	1.28±0.09
TC(mmol/L)	5.13±1.17	4.85±0.88
TG(mmol/L)	1.89±1.89	1.31±0.27
LDL-C(mmol/L)	3.33±0.94	3.40±0.65

\*:  $P < 0.05$ , 与 PA 基因型亚组比较。

**2.6 高血压独立危险因素分析** (1)PPAR- $\gamma 2$  基因 Pro12Ala 突变与高血压发生的关系:以高血压组和对照组为研究对象,以有无高血压为应变变量,年龄、BMI、SBP、DBP、FPG、HDL-C、TC、TG、LDL-C、基因型为自变量,Logistic 回归分析显示,TC 为高血压发生的独立危险因素( $P < 0.05$ ),而 PPAR- $\gamma 2$  基因 Pro12Ala 突变不是高血压发生的独立危险因素( $P > 0.05$ )。(2)PGC-1 $\alpha$  基因 Gly482Ser 突变与高血压发生的关系:以高血

压组和对照组为研究对象,以有无高血压为应变量,年龄、BMI、SBP、DBP、FPG、HDL-C、TC、TG、LDL-C、基因型为自变量,Logistic 回归分析显示,PGC-1 $\alpha$  基因 Gly482Ser 突变不是高血压发生的独立危险因素( $P>0.05$ )。

表 5 高血压组内肥胖组与非肥胖组临床指标比较( $\bar{x}\pm s$ )

临床指标	肥胖组	非肥胖组
年龄(岁)	50.04 $\pm$ 12.12	46.84 $\pm$ 14.61
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	28.69 $\pm$ 3.16*	21.74 $\pm$ 1.85
SBP(mmHg)	148.30 $\pm$ 26.01	143.07 $\pm$ 21.18
DBP(mmHg)	96.79 $\pm$ 12.06	95.11 $\pm$ 11.31
FPG(mmol/L)	5.21 $\pm$ 1.23*	4.78 $\pm$ 0.99
HDL-C(mmol/L)	1.47 $\pm$ 0.41*	1.68 $\pm$ 0.46
TC(mmol/L)	5.18 $\pm$ 1.24	4.97 $\pm$ 0.92
TG(mmol/L)	2.10 $\pm$ 2.17	1.51 $\pm$ 1.26
LDL-C(mmol/L)	3.42 $\pm$ 0.97	3.13 $\pm$ 0.79

\*:  $P<0.05$ , 与非肥胖组比较。

表 6 肥胖组和非肥胖组 PGC-1 $\alpha$  基因型及等位基因频率分布比较[ $n$  或  $n(\%)$ ]

组别	$n$	基因型			等位基因频率	
		GG	GA	AA	G	A
肥胖组	72	31(43.1)*	36(50.0)	5(6.9)*	98*	46*
非肥胖组	51	16(31.4)	23(45.1)	12(23.5)	55	47

\*:  $P<0.05$ , 与非肥胖组比较。

### 3 讨 论

PPAR 是一类由配体激活的核转录因子,最早发现于 1990 年<sup>[3]</sup>。随着对 PPAR 多态性研究的深入,为进一步阐明高血脂、高血压、高血糖的发病机制提供了新的靶向研究。

在本研究中,PPAR- $\gamma$ 2 基因型以 PP 为主,A 等位基因频率为 0.8%,低于大连、上海及华南地区人群<sup>[4]</sup>,也低于芬兰<sup>[5]</sup>和加拿大<sup>[6]</sup>人群,说明 PPAR- $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性具有明显的种族差异。本研究结果显示,PPAR- $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性的基因型频率和等位基因频率与高血压无明显相关性。导致上述结果的原因,可能与研究对象的选择、人群的种族、样本量、临床观察变量及监测方法等不一致有关。PPAR- $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 变异对肥胖、高血脂、胰岛素抵抗、2 型糖尿病及其大血管病变的影响结论不一,除受研究对象种族、地域差异及其他环境因素影响外,不能排除其他已知或未知基因的协同或干扰作用,还有待于更进一步在不同地域和种族人群中进行大样本研究,甚至开展横向基因联合变异研究,以进一步明确其主要作用机制及其对人体的影响。

本研究结果显示,高血压患者与健康者 PGC-1 $\alpha$  基因 Gly482Ser 多态性基因型分布频率存在差异,Ser482Ser 纯合子变异基因型可导致更高的血压水平( $P<0.05$ ),说明 Ser482Ser 纯合子变异可增加高血压发病风险。Andersen 等<sup>[7]</sup>的研究发现 Ser/Ser 基因型人群具有较低的 SBP 和 DBP,而 Ser/Ser 携带者与 Gly/Gly 携带者相比,高血压发病风险显著降低。Chen 等<sup>[8]</sup>的研究显示,在中国人群中,PGC-1 $\alpha$  基因的单核苷酸多态性:+1302G>A 和 G482S 与高血压发病可能并无相关性,但欧洲男性 482S 等位基因与高血压发病率降低有关,认为这种差异与 482S 等位基因频率在中国人群中的分布高于白种人有

关。Xie 等<sup>[9]</sup>的研究则发现 PGC-1 $\alpha$  基因 G482S 和 +2962A/G 多态性仅与重度高血压有关,而与普通高血压无关,表明重度高血压与遗传因素有着紧密的联系。

PGC-1 作为转录协同刺激因子,通过与 PPAR- $\gamma$ 、雌激素受体、糖皮质激素受体、NRF-1 等各种转录因子相结合而发挥转录调节功能。PGC-1 未与转录因子结合前活性很低,但当其与 PPAR- $\gamma$  等结合后,抑制作用减弱,且其构型发生变化,能够和组蛋白乙酰转移酶类固醇受体协同刺激因子-1 及 CREB 结合蛋白相结合,从而使其转录活性增强<sup>[10]</sup>。

PPAR- $\gamma$  的激活能够显著增加胰岛素敏感性,缓解高血压及脂代谢紊乱,改善 2 型糖尿病大血管和微血管病变,降低心血管病危险性。PPAR- $\gamma$  可降低阻力血管张力,其表达水平变化是否参与了高血压血管重塑的发生、发展尚有待进一步研究。PPAR- $\gamma$ 2 和 PGC-1 $\alpha$  基因多态性研究有助于从遗传学角度探讨其与代谢性疾病发病机制的关系,为疾病在基因水平的诊断、预防、治疗提供新思路。其中 PPAR- $\gamma$  作为一种血管保护因子,有望成为高血压基因治疗的靶分子,具有潜在临床应用价值。

### 参考文献

- [1] Nuclear Receptor Nomenclature Committee. A unified nomenclature system for the nuclear receptor superfamily[J]. Cell,1999,97(1):161-170.
- [2] 路文盛,张志利,王鲁梅,等. NOD/Lt 小鼠腹腔注射维生素 D<sub>s</sub> 诱发免疫耐受的机制[J]. 中华内分泌代谢杂志,2005,21(2):163-166.
- [3] King H, Aubert R, Herman WH, et al. Global burden of diabetes, 1995-2025: Prevalence, numerical estimates and projections[J]. Diabetes Care,1998,21(9):1414-1431.
- [4] 白然,刘加和,张寒,等. 过氧化物酶体增值激活型受体  $\gamma$ 2 基因多态性与 2 型糖尿病及其早期动脉粥样硬化的相关性[J]. 中国动脉硬化杂志,2005,13(3):604-607.
- [5] Douglas JA, Erdos MR, Richard M, et al. The peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$ 2 Pro12Ala variant: association with type 2 diabetes and trait differences[J]. Diabetes, 2001, 50(7): 886-890.
- [6] Hegele RA, Cao HN, Stewart B, et al. Peroxisome proliferator activated receptor- $\gamma$ 2 P12A and type 2 diabetes in Canadian Oji-Cree [J]. J Clin Endocrinol Metab,2000,85(15):2014-2019.
- [7] Andersen G, Wegne L, Jensen DP, et al. PGC-1 $\alpha$  Gly482Ser polymorphism associates with hypertension among danish whites[J]. Hypertension, 2005, 45(4): 565-570.
- [8] Chen S, Yan W, Huang J, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1alpha polymorphism is not associated with essential hypertension and type 2 diabetes mellitus in Chinese population[J]. Hypertens Res, 2004, 27(11): 813-820.
- [9] Xie G, Guo D, Liang S, et al. The impact of hypertension on association of PGC-1alpha gene with blood pressure and risk of hypertension[J/OL]. BMC Cardiovasc Disord (2007-10-31) [2012-03-20]. <http://www.biomedcentral.com/1471-2261/7/33>.
- [10] Puigserver P, Adelman G, Wu Z, et al. Activation of PPARgamma coactivator-1 through transcription factor docking[J]. Science, 1999, 286(16):1368-1371.