·临床检验研究论著·

河北沧州健康人群血管紧张素转换酶基因多态性分析*

尤雪剑[1]，郭书芹[1]，王慧玲[1]，张骞云[2]，张海燕[1]，许晓琳[1]
（1. 沧州医学高等专科学校，河北沧州 061001；2. 沧州市中心医院，河北沧州 061001）

摘　要：目的　探讨河北沧州地区汉族健康人群血管紧张素转换酶（ACE）基因多态性的分布及其与血清 ACE 水平的相关性。**方法**　采用聚合酶链反应技术（PCR）检测 107 例健康受检者 ACE 基因 I/D 多态性，应用酶联免疫吸附法测定其血清 ACE 的浓度。**结果**　河北沧州健康人群 ACE 基因多态性中基因型 DD 占 18.69%，ID 型占 50.47%，II 型占 30.84%；等位基因 I 和 D 的分布频率分别为 56.07%和 43.93%；血清 ACE 水平 DD 型最高，ID 型其次，II 型最低。**结论**　ACE 基因的 I/D 多态性与血清 ACE 水平相关。

关键词：肽基二肽酶 A；　多态现象，遗传；　聚合酶链反应
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2012.23.004　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2012)23-2824-02

The studies on the angiotensin converting enzyme gene polymorphism in the healthy population in Cangzhou of Hebei province*

You Xuejian[1], *Guo Shuqin*[1], *Wang Huiling*[1], *Zhang Qianyun*[2], *Zhang Haiyan*[1], *Xu Xiaolin*[1]
(1. *Cangzhou Medical College*, *Cangzhou*, *Hebei* 061001, *China*;
2. *Central Hospital of Cangzhou*, *Cangzhou*, *Hebei* 061001, *China*)

Abstract: Objective　To investigate the distribution of angiotensin converting enzyme(ACE) gene polymorphism and ACE activity in the healthy population of Han nationality in Cangzhou of Hebei province. **Methods**　ACE genotype of I/D of 107 samples was determined by polymerase chain reaction(PCR), and the ACE activity of the serum was measured by ELISA method. **Results**　The genotype frequencies of DD, ID and Ⅱ were 18.69%, 50.47% and 30.84%, respectively; the I and D allele frequencies were 56.07% and 43.93%; the highest serum ACE activity was in genotype DD, followed by genotype ID and II. **Conclusion**　ACE gene polymorphism is important factor to determine the ACE activity.

Key words: peptidyl-dipeptidase A;　polymorphism, genetic;　polymerase chain reaction

血管紧张素转换酶（ACE）是肾素-血管紧张素系统的关键酶，是 1 种构成血管内皮细胞的与膜结合的糖蛋白，催化血管紧张素Ⅰ转化为血管紧张素Ⅱ。已有研究表明：ACE 基因具有 I/D 基因多态性。本文旨探讨河北沧州汉族健康人群 ACE 基因多态性的分布及与血清水平的关系。

1　资料与方法

1.1　一般资料　选择河北沧州地区汉族 107 例健康献血者，其中男 58 例，女 49 例，年龄 50～72 岁，平均(60.8±4.3)岁。

1.2　方法

1.2.1　提取全血基因组 DNA　取受检者肘正中静脉血 2 mL，置入 EDTA 抗凝管，－80 ℃保存。应用北京天根生产的血液基因组 DNA 提取试剂盒（0.5～5 mL）提取全血基因组 DNA。

1.2.2　提取 ACE 基因　采用聚合酶链反应（PCR）法由全血基因组 DNA 中提取 ACE 基因片段。PCR 引物[1]，引物 1：5′-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3′，引物 2：5′-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3′，由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 反应体系总体积 25 μL，其中模板 DNA 2 μL，上下游引物各 1 μL，DNA 聚合酶 12.5 μL（选用普洛麦格公司生产的绿色体系），去离子水 8.5 μL，离心混匀后放入 PCR 仪。反应条件为：95 ℃，预变性 5 min，95 ℃变性 1 min，59 ℃退火 1 min，72 ℃延伸 1 min，以及最后延伸 72 ℃7 min，共进行 30 个循环。PCR 扩增产物在 100 V 电压下经 2%琼脂糖凝胶电泳 30 min，紫外光下观察，拍照记录，等位基因扩增产物分别为 I 490 bp、D 190 bp，基因型扩增产物分别为：II 490 bp、DD 190 bp、ID 490/190 bp。

1.2.3　ACE 基因的 2 次 PCR　为防止 D 等位基因短片段优先扩增而导致基因型错分，所有 PCR 产物中对只有 190 bp 条带和 490 bp 条带不清楚的样本以插入片段内特有引物（引物序列：5′-TTT GAG ACG GAG TCT CGC TC-3′）来替代原下游引物进行 2 次扩增[2]，产物经 1%琼脂糖凝胶电泳判断，I 等位基因可见一 408 bp 条带，而 D 等位基因则无扩增产物。

1.2.4　血清 ACE 浓度测定　抽取受检者肘正中静脉血 1 mL，离心分离血清，在－80 ℃保存，采用 ELISA 法测定血清 ACE 浓度。

1.3　统计学处理　数据用 SPSS13.0 统计分析软件进行分析。计数资料采用多个样本率比较的 χ^2 检验；计量资料用（$\bar{x}\pm s$）表示，采用多样本均数比较的单因素方差分析（one-way-ANOVA）；$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

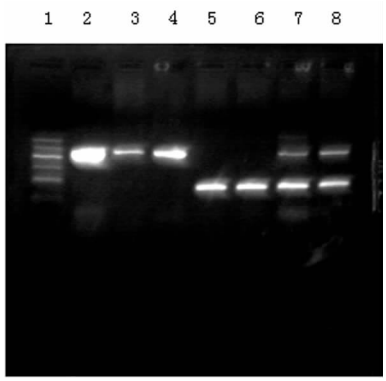
2.1　ACE 基因型　人类 ACE 基因位于 17 号染色体，存在 287 bp 片段的插入/缺失，所以 PCR 扩增产物电泳结果出现 3 种类型：II 纯合子为 490 bp 片段，DD 纯合子为 190 bp 片段，ID 杂合子为 490 bp 和 190 bp2 个片段，见图 1；二次扩增见图 2。

2.2　ACE 基因型及等位基因分布　在河北沧州的 107 例健康汉族人中，基因型 DD 有 20 例，占 18.69%，ID 型有 54 例，占 50.47%，Ⅱ型有 33 例，占 30.84%；等位基因 I 和 D 的分布

*　基金项目：河北省科学技术研究与发展计划项目（112761153）。

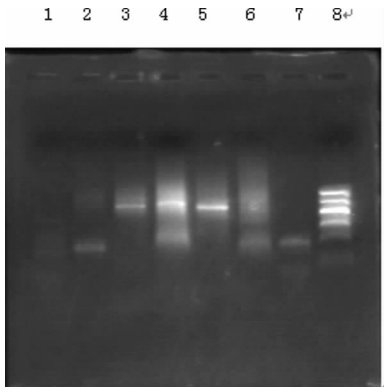
频率分别为 56.07%和 43.93%。

2.3　ACE 各基因型与血清 ACE 浓度的关系　从受检的 107 例健康人群的血清 ACE 水平比较,DD 型最高,ID 型其次,II 型最低(F=14.543,$P<0.01$)。见表 1。



1:DNA 标准带;2～4:II 型(490 bp);5～6:DD 型(190 bp);7～8:ID 型(490 bp/190 bp)。

图 1　ACE 基因型



3～5:II 型(408 bp);8:DNA 标准带。

图 2　ACE 基因型二次扩增

表 1　ACE 各基因型与血清 ACE 浓度的关系

基因型	n	ACE 浓度(ng/mL)
DD	20	197.87±13.71*
ID	54	179.21±19.64
II	33	168.88±20.49

*:$P<0.01$,与其他基因型比较。

3　讨　论

已有研究表明 ACE 基因具有基因多态性,它由 4 024 个碱基对构组成,位于第 17 号染色体长臂 2 区 3 带(17q23),以第 16 位内含子内部是否含有一段以 ALU 重复序列组成的 287 个碱基的 DNA 片断为标志,确定 ACE 基因是插入型还是缺失型,因此 ACE 基因有两种等位基因,即等位基因 I(由 490 个碱基组成的插入型)和等位基因 D(由 190 个碱基组成的缺失型);以及三种基因型:DD 型、II 型、ID 型[3]。导致 ACE 基因型多态性的本质是缺失而不是插入。本研究结果表明,沧州地区汉族健康人群的 ACE 基因型分布频率为 ID 型最高,II 型其次,DD 型最少,这与新加坡、韩国的亚洲人基因型分布相似,也与我国的研究结果一致,但与欧美国家则不同,其白种人的 D 等位基因频率明显高于 I 等位基因,这说明 ACE 基因多态性存在着种族、地区差异[4-6]。

国外研究表明:ACE 基因多态性与血清 ACE 水平有关,DD 型的活性最强,ID 型次之,II 型最弱[7]。国内研究亦表明人体内血浆与组织 ACE 水平与其基因多态性明显相关,DD 基因型个体 ACE 水平最高,其次为杂合子 ID 型,而 II 型者最低[8]。本研究结果与上述结果相同,由此可以说明等位基因 D 与较高血清 ACE 水平相关,ACE 基因型是决定血清 ACE 活性的主要因素。基因型不同将导致血清 ACE 水平的差异,从而对血管紧张素Ⅱ形成和缓激肽的灭活产生作用,以致影响机体水钠代谢、醛固酮的分泌、血管收缩和血管平滑肌增殖,导致疾病的发生。

总之,本研究从分子生物学角度了解了 ACE 基因多态性的分布,对认识一些疾病在不同种族、不同地区表现出来的差异具有重要意义,为本地区 ACE 基因多态性与多种疾病(如特发性肺纤维化、冠心病、高血压等)的发生提供了依据[9-12]。

参考文献

[1] Chan KC,Tang NL,Hui DS,et al. Absence of association between angiotensin converting enzyme polymorphism and development of adult respiratory distress syndrome in patients with severe acute respiratory syndrome:a case control study[J]. BMC Infect Dis,2005,5:26.

[2] 刘丽霞,尤雪剑,张玉想,等. 血管紧张肽转换酶与食管癌术后发生急性呼吸窘迫综合征的相关性研究[J]. 中国急救医学,2009,29(1):66-69.

[3] Kim TH,Chang HS,Park SM,et al. Association of angiotensin I-converting enzyme gene polymorphisms with aspirin intolerance in asthmatics[J]. Clin Exp Allergy,2008,38(11):1727-1737.

[4] Koh WP,Yuan JM,Sun CL,et al. Angiotensin I-converting enzyme(ACE) gene polymorphism and breast cancer risk among Chinese women in Singapore[J]. Cancer Res,2003,63(3):573-578.

[5] Cheon KT,Choi KH,Lee HB,et al. Gene polymorphisms of endothelial nitric oxide synthase and angiotensin converting enzyme in patients with lung cancer[J]. Lung,2000,178(6):351-360.

[6] 李东杰,朴桂花,张东峰,等. 血管紧张素转换酶基因 I/D 多态性与腹型肥胖对原发性高血压的影响[J]. 中国动脉硬化杂志,2012,20(1):73-76.

[7] Felehgari V,Rahimi Z,Mozafari H,et al. ACE gene polymorphism and serum ACE activity in Iranians type Ⅱ diabetic patients with macroalbuminuria[J]. Mol Cell Biochem,2011,346(1/2):23-30.

[8] 高义,王玉敏,崔卫华,等. 高血压合并脑梗死发病的危险因素:血管紧张素转换酶基因的多态性与血清血管紧张素转换酶水平的关系[J]. 中国临床康复,2004,8(25):5304-5306.

[9] 杨珍旭,姜大钧,刘琨,等. ACE 基因多态性与冠心病的相关性研究[J]. 中国医药指南,2011,9(36):22-23.

[10] 尤雪剑,张骞云,王慧玲,等. 血管紧张素转换酶基因多态性与特发性肺纤维化的关系[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2012,10(5):631-632.

[11] 郎晓峰. 高血压脑出血与 ACE 基因多态性相关性[J] 中国实用医药,2011,6(27):80-82.

[12] 张奇山,杨期明. ACE 基因插入/缺失(I/D)多态性及临床意义[J]. 湘南学院学报:医学版,2011,13(1):76-78.

(收稿日期:2012-07-26)