

血管紧张素原基因多态性与原发性高血压关系的研究

刘静波 张幼辰 俞顺章

【摘要】 目的 探索血管紧张素原(AGT)的 M235T 多态性与上海市嘉定区望新乡原发性高血压的关系。方法 以人群为基础进行高血压病例-对照研究,应用 PCR-RFLP 技术,分析 AGT 的 M235T 多态性。结果 望新乡高血压病例组中 AGT 基因 TT 基因型频率显著高于对照组,分别为 42.8% 和 33.0%。相对于 MM 基因型,暴露于 TT 基因型的 OR 值为 3.61。病例组中 T 等位基因的频率也显著高于对照组,分别为 73.89% 和 60.31%。随着等位基因 T 的增加,患高血压的危险性显著增加,趋势检验 $P < 0.05$ 。病例组中体质指数按 MM、MT、TT 基因型的顺序依次增大,各组差异有显著性。结论 TT 基因型可能是望新乡原发性高血压的易感基因型。

【关键词】 高血压;血管紧张素原基因

The relationship between polymorphism of angiotensinogen gene and essential hypertension LIU Jingbo, ZHANG Youchen, YU Shunzhang. The Institute of Preventive Medicine, Shanghai Medical University, Shanghai 200032, China

【Abstract】 Objective To study the renin-angiotensin system (RAS) involvement in the hormonal regulation of BP and blood volume and the relationship between angiotensinogen (AGT) was the sole preliminary acting materials in the RAS. **Method** Population-based case-control study was conducted using PCR-RFLP techniques to explore the relationship between the M235T polymorphism of AGT and EH in Wangxin township, Jiading District of Shanghai. **Results** The frequency of TT genotype in EH cases was significantly higher than in controls (42.8% and 33.0%). The odds ratio (OR) for those exposed to TT genotype was 3.61, comparing with MM genotype. It was suggested that TT genotype be the susceptible genotype of EH in Wangxin. The frequency of allele T in EH cases was 73.89%, significantly higher than that of 60.31% in controls. With the increase of allele T, the risk of EH also increased ($P < 0.05$). In EH cases, the BMI increased in the order of MM, MT and TT, and significant differences between the groups were observed. **Conclusion** TT genotype is the susceptible genotype of EH in Wangxin.

【Key words】 Hypertension; Angiotensinogen gene

高血压是一种严重影响人类健康的世界性常见慢性疾病,是心、脑、肾等器官损伤的主要危险因素,具有明显的家族聚集倾向,遗传因素与高血压发病密切相关,一般认为原发性高血压(EH)是在遗传易感性的基础上与许多环境因素的共同作用下发生的^[1-4]。肾素-血管紧张素系统(RAS)是调节血压和血容量的激素系统^[5],也是一个复杂的血压反馈系统,RAS由血管紧张素原(AGT)、肾素(RESIN)、血管紧张素 I、血管紧张素转化酶(ACE)、血管紧张素 II(A II)、血管紧张素 II受体组成^[6]。其中 A II 是强有力的血管平滑肌收缩剂,通过对周围小动脉和前毛细血管平滑肌的直接作用,引起血管收缩,是形成

高血压的重要原因^[7]。AGT 是 RAS 系统中的唯一初始底物,血浆中 AGT 水平的高低,直接影响着 RAS 系统活性的强弱^[8],AGT 基因被认为是高血压的候选基因之一,它位于人染色体 Iq42-43 处编码区,由 5 个外显子和 4 个内含子构成^[9],其中由于碱基的错义突变(T→C)导致了编码第 235 氨基酸由甲硫氨酸突变成苏氨酸(M235T)^[10]。本研究是以上海市嘉定区望新乡人群为基础的病例-对照研究,应用 PCR-RFLP 技术,分析 AGT 的 M235T 多态性,目的在于探索 AGT 的 M235T 多态性与望新乡原发性高血压的关系。

材料与方法

1. 病例组 :于 1997 年对上海市嘉定区望新乡进行全人群高血压普查 ,共查出高血压患者 758 人 ,分布于望新乡的 11 个自然村庄中。我们以每个村庄作为一个抽样点 ,按该村高血压患者名单 随机抽样 (男:女 = 1:1) 。根据高血压患者的既往病史 ,排除继发性高血压 ,11 个村庄中共抽样高血压患者 90 例。

2. 对照组 :按性别、年龄相匹配的原则 ,在同一村庄中 ,选择与高血压患者性别相同、年龄相差小于 5 岁的血压水平正常的人 (收缩压 < 140 mmHg ,舒张压 < 90 mmHg) ,作为对照组。

二、方法

1. 流行病学调查 :对所有研究对象 均按统一调查表 ,由经过专门培训的调查员 ,以面对面的方式直接进行问卷调查。调查的内容包括 :性别、民族、婚姻状况、文化程度、职业、经济收入、卫生知识水平、高血压及脑卒中家族史、各种危险因素 (吸烟、饮酒、饮食) 暴露水平等。在调查的同时进行测量身高、体重、血压水平并空腹静脉抽血 5 ml ,离心分离血清 ,血清用于作血糖、血清总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白和低密度脂蛋白等生化指标 ,血凝块用于基因组 DNA 的抽提^[1]。

2. AGT 基因多态性分析 :引物设计参照文献^[7]设计 ,AGT 基因的扩增引物 ,由上海 Sangon 公司合成 ,引物序列如下 :Primer1 : 5' - CAGGGTGCTGTCCACACTGGACCCC - 3' ; Primer2 : 5' - CCGTTTGTGCAGGGCCTGGCTCTCT-3' , PCR 扩增反应总体积 50 μl ,反应终浓度 MgCl₂ 为 2.5 mmol/L ,dNTPs 为 100 μmmol/L ,引物为 1 μmmol/L ,模板为 3 ~ 100 ng ,Taq 酶 2 U。循环条件 :94℃ 1 min ,68℃ 1 min ,72℃ 1 min。10 个循环之后 ,按以下条件 :90℃ 1 min ,68℃ 1 min ,72℃ 1 min ,再反应 30 个循环 ,72℃ 延伸 10 min。反应产物用限制性内切酶 Tth III 进行酶切反应 ,12 h ,于 2.5% 的琼脂糖凝胶进行电泳分离 ,电压 20 V ,时间 3 h。然后在紫外光下检测 ,AGT 的 M235T 基因扩增片段长度为 165 bp ,如果在第 235 位上存在 T→C 的突变 ,则扩增产物在限制性内切酶 Tth III 的作用下被切成两部分 :141 bp 和 24 bp ;如果第 235 位上没有发生突变 ,则扩增片段长度保持不变 ,由此产生两个等位基因 T、M ,分别形成三个基因型 :TT(141 bp) ,MT(141 bp 和 165 bp) ,MM(165 bp)。

三、统计分析

所有资料均在 EPIS 软件中建立数据库 ,输入电脑 ,用 SPSS 软件分析。

结 果

一、研究对象的一般情况

本次研究对象共 187 例 ,男性 95 例 ,女性 92 例 ,病例组和对照组均为汉族人 ,其中原发性高血压患者 90 例 (男 47 例 ,女 43 例) ,正常对照 97 人 (男 48 人 ,女 49 人) 。病例组和对照组男女性别差异无显著性 ($\chi^2 = 0.770 , P = 0.410$) ,病例组平均年龄是 (60.60 ± 11.38) 岁 ,对照组平均年龄是 (56.77 ± 16.26) 岁 ,两组差异无显著性 ,说明病例和对照两组研究对象是具有可比性的。

二、研究对象的临床生化指标

病例组体质指数显著高于对照组 ,从各生化指标水平来看 ,病例组血清总胆固醇、甘油三酯显著高于对照组 ,而高密度脂蛋白则显著低于对照组 ,其他各项指标两组差异均无显著性 (表 1)。

表1 高血压病例组-对照组临床生化指标

生化指标	病例组(90例)	对照组(97例)	P 值
性别 男/女)	47/43	48/49	> 0.05
年龄(岁)	60.60 ± 11.38	56.77 ± 16.26	> 0.05
血清总胆固醇 (mmol/L)	4.44 ± 0.76	4.22 ± 0.75	< 0.05
甘油三酯 (mmol/L)	1.65 ± 0.72	1.40 ± 0.71	< 0.05
高密度脂蛋白 (mmol/L)	1.65 ± 0.40	1.76 ± 0.35	< 0.05
低密度脂蛋白 (mmol/L)	2.03 ± 0.82	1.83 ± 0.70	> 0.05
血糖 (mmol/L)	5.02 ± 1.26	4.74 ± 0.85	> 0.05
体质指数 (kg/m ²)	24.29 ± 3.38	21.86 ± 2.79	< 0.001

三、AGT 基因各基因型在原发性高血压病例组和对照组中的分布

由表 2 可见 ,AGT 基因 MM、MT、TT 各基因型在病例组、对照组中的分布分别为 9.1%、48.1% 和 42.8% ;12.4%、54.6% 和 33.0%。病例组中 TT 基因型的频率显著高于对照组 ,而 MM 基因型频率显著低于对照组 ,如果以基因型 MM 为参考则暴露于 MT 基因型的 OR 值是 1.68 ,而暴露于 TT 基因型的 OR 值为 3.61。可见随着等位基因 T 的增加 ,患高血压的危险性显著增加 ,趋势检验 : $\chi^2 = 8.453 , P < 0.05$ 。

四、AGT 基因各等位基因在病例组和对照组中的分布

AGT 基因的 M、T 两等位基因频率在病例组中分别为 26.11% 和 73.89% ;在对照组中分别为 39.69% 和 60.31% ,可见 ,病例组 T 等位基因频率显

著高于对照组 ,OR 值为 1.86 ,95% 的可信区间是 1.17 ~ 2.96 ($P < 0.05$)。

表2 血管紧张素原(AGT)各基因型在病例组 - 对照组中的分布

基因型	病例组		对照组		OR 值	95% CI	P 值
	例数	频率 (%)	例数	频率 (%)			
MM	5	9.1	12	12.4	1.00		
MT	37	48.1	53	54.6	1.68	0.49 ~ 6.01	>0.05
TT	48	42.8	32	33.0	3.60	1.04 ~ 13.12	<0.05
合计	90	100.0	97	100.0			

注 趋势检验 $\chi^2 = 8.453$, $P = 0.0036$;ACE 各基因型频率符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律

五、高血压患者中不同 AGT 基因型各生化指标比较

由表 3 可见 ,以 MM、MT、TT 基因型的顺序 ,血清中甘油三酯水平逐渐增高 ,体质指数也逐渐增大 ,各组差异有显著性 ($P < 0.05$)。血清总胆固醇水平也在逐渐升高 ,但差异无统计学意义。

表3 不同 AGT 基因型的高血压患者各生化指标比较

生化指标	AGT 基因型			P 值
	MM	MT	TT	
血清总胆固醇 (mmol/L)	3.86 ± 0.99	4.32 ± 0.66	4.59 ± 0.77	>0.05
甘油三酯 (mmol/L)	0.93 ± 0.35	1.52 ± 0.73	1.82 ± 0.68	<0.05
高密度脂蛋白 (mmol/L)	1.61 ± 0.43	1.71 ± 0.34	1.60 ± 0.45	>0.05
低密度脂蛋白 (mmol/L)	1.83 ± 0.73	1.90 ± 0.57	2.16 ± 0.97	>0.05
血糖 (mmol/L)	5.02 ± 1.03	4.79 ± 1.08	5.19 ± 1.40	>0.05
体质指数 (kg/m ²)	23.18 ± 0.01	23.20 ± 3.01	25.23 ± 3.47	<0.05

参 考 文 献

- 1 Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev Y, et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. Cell, 1992, 7: 169-180.
- 2 Hata A, Namikawa C, Sasaki M, et al. Angiotensinogen as a risk factor for essential hypertension in Japan. J Clin Invest, 1994, 93: 1285-1287.
- 3 Zee RYL, Lou Y, Griffiths LF, et al. Association of a polymorphism of the angiotensin converting enzyme (ACE) gene with essential hypertension. Biochem Biophys Res Commun, 1992, 184:9-15.
- 4 Bennett Cl, Schrader Ap, Morris BJ. Cross-sectional analysis of MET235-THR variant of angiotensinogen gene in severe, familial hypertension. Biochem Biophys Res Commun, 1993, 197:833-839.
- 5 毛换元,杨心田,主编. 心脏病学. 北京:人民卫生出版社, 1995. 714-720.
- 6 孙宁玲,朱继红,张瑞军,等. 高胰岛素血症的高血压患者肾素 - 血管紧张素 - 醛固酮系统的变化. 中国循环杂志, 1995, 10:587-590.
- 7 Dene HI. Restriction fragment length polymorphism for the resin gene in

讨 论

AGT 是 RAS 系统中的唯一初始底物^[7],血浆中 AGT 水平的高低,直接影响着 RAS 系统活性的强弱。动物实验表明,携带有鼠 AGT 基因的转基因鼠,如果 AGT 基因过度表达就会引起鼠的高血压^[12]。Jeunemaitre 等^[1]报道 AGT 基因的 M235T 多态性与人类原发性高血压相关联。本次调查发现,AGT 基因的 MM、MT、TT 基因型频率在高血压和正常人群中分别为 9.1%、48.1%、42.8%;12.4%、54.6%、33.0%。病例组中 TT 基因型的频率显著高于对照组,如果以基因型 MM 为参考则暴露于 MT 基因型的 OR 值是 1.68,而暴露于 TT 基因型的 OR 值为 3.61。可见随着等位基因 T 的增加,患高血压的危险性显著增加,趋势检验 $P < 0.05$ 。提示 AGT 的等位基因 T 可能是上海市嘉定区望新乡原发性高血压的遗传易感标记,此结果与有关报道相符^[9,10,13]。

- 8 Dahl rats. J Hypertens, 1989, 7:1221-1224.
- 9 Russ AP, Maerz W, Ruzicka V, et al. Rapid detection of the hypertension-associated Met235-Thr allele of the human angiotensinogen gene. Human Mol Gen, 1993, 2:609-610.
- 10 Caulfield MP, Lavender M, Farrall P, et al. Linkage of the angiotensinogen to essential hypertension. N Engl Med, 1994, 330: 1629-1633.
- 11 刘静波,俞顺章,张幼辰,等. 利用血凝块进行 ApoE 基因分型的 PCR-RFLP 分析方法的建立. 上海医科大学学报, 1998, 4:52-54.
- 12 Ohkubo H, Kawakami H, Kakehi Y, et al. Generation of transgenic mice with elevated blood pressure by introduction of the rat renin and angiotensinogen genes. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87:5153-5157.
- 13 孟华,邱长春,朱席琳. 血管紧张素原基因调控序列多态性与原发性高血压相关性分析. 中国医学科学院院报, 1996, 18: 343-347.