论著

文章编号:1000-5404(2007)05-0448-03

内皮细胞一氧化氮合成酶多态性与血压、血脂和血糖的关系研究

唐忠志,李军尧,杨剑虹 (中国人民解放军广州军区武汉总医院急诊科,武汉 430070)

提 要:目的 研究内皮细胞一氧化氮合成酶(endothelial nitric oxide synthase gene, eNOS)298Glu/Asp多态性与血压、血脂和血糖代谢的关系。**方法** 采用PCR-RFLP方法检测184例原发性高血压患者和196例血压正常对照者中eNOS 298 Glu/Asp多态性的分布,并分析在不同eNOS 298 Glu/Asp多态性下,血压与总胆固醇、TG、HDL、LDL、血糖等危险因素的相互关系。**结果** eNOS 298 Glu/Asp多态性在不同血压组和不同性别组中的分布没有显著差异。但不同年龄、舒张压、BMI组eNOS 298 Glu/Asp多态性分布有显著性差异($P<0.05$);eNOS 298突变型(Asp/Asp)和高血清胆固醇患者(血清总胆固醇5.4 mmol/L以上)患高血压的相对危险度(OR)显著高于其他患者。**结论** eNOS 298 Glu/Asp多态性与血脂对舒张压有明显的联合作用,eNOS 298突变型(Asp/Asp)能明显增加血清总胆固醇5.4 mmol/L以上患者患高血压的危险性。eNOS 298 Glu/Asp多态性与血清总胆固醇水平结合,可用于预测和分析不同个体患高血压的危险性。

关键词:内皮细胞;eNOS 298 Glu/Asp多态性;高血压;血脂;血糖

中图法分类号:R544.1;R589 **文献标识码**:A

Relationship of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism with blood pressure, lipid profile and blood sugar level

TANG Zhong-zhi, LI Jun-yao, YANG Jian-hong (Department of Emergency, Wuhan General Hospital, Guangzhou Command of PLA, Wuhan 430070, China)

Abstract: Objective To study the relationship of the polymorphism of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene and blood pressure, lipid profiles and blood sugar level. **Methods** Totally 184 essential hypertension patients and 196 matched health individuals with normal blood pressure were subjected in this study. Their age, sex and BMI were recorded and eNOS Glu 298 Asp gene polymorphism were detected in using PCR-RFLP. Lipid profiles, including triglycerides (TG), total cholesterol (CHO), HDL, LDL, and blood sugar level were also detected. **Results** Significant difference of the percentage of eNOS Glu 298 Asp gene were observed in age, systolic blood pressure, BMI group ($P<0.05$). Asp/Asp genotype significantly increased the risk of high systolic blood pressure in individuals with CHO above 5.4 mmol/L ($P=0.03$, $OR=2.65$). **Conclusion** eNOS Glu 298 Asp may modulate blood pressure by associating with lipid levels. eNOS 298 Asp/Asp increases the risk of hypertension in those with serum CHO over 5.4 mmol/L. eNOS 298 Glu/Asp polymorphism and serum total CHO together may be used to predict and analyze the risk of having hypertension.

Key words: endothelial cells; eNOS 298 Glu/Asp polymorphism; hypertension; serum lipid; blood sugar

内皮细胞一氧化氮合成酶(endothelial nitric oxide synthase gene, eNOS)是内皮细胞合成一氧化氮(NO)的关键酶,内皮细胞分泌的NO具有减少血管平滑肌细胞增殖和迁移、抑制血小板和白血球黏附于内皮细胞、清除氧自由基等能力。同时,NO与脂代谢功能也密切相关。因此,eNOS在心血管疾病的发生和发展中具有重要的意义。

目前已经有多个关于eNOS第298氨基酸(298Glu/Asp)多态性与心血管疾病的关系研究[1-5]。部分研究认为该突变与高血压、冠心病、心肌梗塞等心血管疾病有关,但部分研究认为无关。这些有争议的结论显示eNOS 298 Glu/Asp多态性与心血管疾病之间的关系比较复杂。目前的流行病学研究已经证实,血脂浓度与NO和内皮功能密切相关[6]。因此,内皮NO很可能参与血脂对血压的调节作用。本研究拟系统分析eNOS 298 Glu/Asp多态性与血压、血脂和血糖的关系,以探讨eNOS 298 Glu/Asp多态性在心血管疾病发生中的作用。

基金项目:湖北省卫生厅科研基金(NX200421)
Supported by the Sci & Tech Research Project Foundation of Public Health Department of Hubei Province (NX200421)

作者简介:唐忠志(1966-),男,湖北省武汉市人,硕士,副主任医师,主要从事急诊医学方面的研究,发表论文16篇。电话:(027)68878111

收稿日期:2006-06-19;**修回日期**:2006-09-28

1　材料与方法

1.1　样本来源

选取2004年12月至2005年12月在广州军区武汉总医院体检的184例原发性高血压患者，所有患者符合新版WHO/ISH的1～2级高血压诊断标准，非同日3次血压测量值（坐位）：收缩压>140 mmHg和（或）舒张压>90 mmHg，排除继发性高血压、严重肝肾功能不全、孕妇及哺乳期妇女。另在本院体检人群中选取196例年龄、性别与原发性高血压患者配对的血压正常者作为阴性对照。2组人群分别测定血压、身高、体质量，并计算体质量指数（BMI）。同时收集吸烟等基本资料。

1.2　样本采集和处理

所有受检对象空腹采集血样，分离血清和血细胞。按照Sambrook等的方法，采用酚-氯仿抽提法从血细胞中提取DNA。同时采用酶法分别检测血清中的总胆固醇、脂蛋白分型、甘油三酯、血糖。诊断糖尿病标准采用1997年美国糖尿病学会制定的糖尿病诊断标准，并经胰岛素释放试验结果证实符合2型糖尿病诊断标准。肥胖诊断标准：肥胖评价指征采用体质量指数（BMI）。BMI＝体质量（kg）/身高^2（m^2）。根据2001年中国肥胖问题工作组推荐的中国成年人超重肥胖体质量指数诊断标准：24≤BMI<28为超重，BMI≥28为肥胖。

1.3　PCR-RFLP对eNOS 298位点分型

PCR引物为：引物1：5′-AAGGCAGGAGACAGTGGATGGA-3′；引物2：5′-CCCAGTCAATCCCTTTGGTGCTCA-3′。PCR反应条件为：95 ℃ 5 min进行变性，然后95 ℃ 1 min、60 ℃ 1 min、72 ℃ 1 min，重复35个循环后，72 ℃延伸9 min。PCR产物用*Mbo* Ⅰ酶37 ℃过夜酶切后，2%琼脂糖凝胶电泳分析eNOS 298 Glu/Asp位点多态性（切出158 bp和90 bp片段）。

1.4　统计学分析

采用SAS 8.1统计软件，组间差异分析采用非配对t检验，率的比较采用χ^2检验，多因素分析采用直线回归。

2　结果

2.1　eNOS 298 Glu/Asp多态性在不同血压人群中的分布特征

高血压是与年龄密切相关的疾病。根据平均年龄，以57岁为界值，分为2组。从表1可见，在高血压组和血压正常组中，各种基因型的分布无显著性差异（$P>0.05$），不同性别各种基因型的分布也没有显著性差异（$P>0.05$）。

表1　eNOS基因多态性在不同人群中的分布

指征	<57岁			≥57岁		
	Asp/Asp	Asp/Glu	Glu/Glu	Asp/Asp	Asp/Glu	Glu/Glu
正常血压	4	32	54	14	51	41
高血压	6	40	48	7	40	43
男	6	42	60	11	54	48
女	4	30	42	10	37	36

2.2　eNOS 298 Glu/Asp多态性与相关因素的关系分析

对原发性高血压的主要危险因素进行分类后，分别分析其与eNOS 298 Glu/Asp多态性的关系。结果见表2。单独对各个可能的危险因素进行分析，结果显示与eNOS 298 Glu/Asp多态性有关的主要危险因素有年龄、舒张压和BMI（$P>0.05$），其他指征未见与eNOS 298 Glu/Asp多态性有关（$P>0.05$）。

表2　eNOS基因多态性与高血压主要危险因素的关系

指征	Asp/Asp（n=31）	Asp/Glu（n=163）	Glu/Glu（n=186）	P
年龄（岁）	61.2±5.4	57.4±8.1	52.8±6.7	0.04
舒张压（mmHg）	86.3±5.9	88.2±6.6	86.1±5.8	0.04
收缩压（mmHg）	130.7±8.8	132.4±8.8	128.9±7.9	0.05
脉压（mmHg）	44.4±3.2	44.2±3.1	42.7±3.0	0.41
BMI（kg/m^2）	28.1±5.2	27.6±5.6	26.5±5.7	0.03
肥胖（%）	42.3	40.9	41.3	0.22
糖尿病（%）	8.1	7.9	8.3	0.31
血糖（mmol/L）	4.62±1.04	5.22±1.28	4.81±1.20	0.33
吸烟（%）	4.6	5.3	5.7	0.12
总胆固醇（TC，mmol/L）	5.63±1.70	5.41±1.58	5.87±1.82	0.13
甘油三酯（TG，mmol/L）	1.52±0.27	1.46±0.33	1.47±0.31	0.16
HDL（mmol/L）	1.65±0.27	1.49±0.38	1.52±0.47	0.09
LDL（mmol/L）	2.76±0.62	2.65±0.96	2.71±0.80	0.15

2.3　高舒张压主要危险因素的相关分析

为深入研究主要高舒张压影响因素与eNOS 298 Glu/Asp多态性的关系，并排除其他干扰因素的影响，利用直线回归方法，以舒张压为因变量，以总胆固醇、TG、HDL、LDL、血糖为自变量，分析在不同的eNOS 298 Glu/Asp多态性下，各危险因素对舒张压的影响。

表3　舒张压与主要危险因素的相关性

指征	回归系数		P
	Asp/Asp	Asp/Glu +Glu/Glu	
血糖（mmol/L）>5.8	0.137	0.102	0.54
总胆固醇（mg/dl）>5.4	0.215	0.094	0.02
TG（mg/dl）>1.7	21.35	41.28	0.03
HDL（mg/dl）>2.1	0.247	0.097	0.01
LDL（mg/dl）>2.8	0.152	0.108	0.32

表3显示，在去除其他干扰因素后，在不同的eNOS 298 Glu/Asp多态性下，总胆固醇、TG、HDL对舒张压的影响效果不同，显示eNOS 298 Glu/Asp多态性与血脂联合作用可明显影响舒张压。

2.4　eNOS 298 Glu/Asp多态性与血压的相对危险度

为深入研究eNOS 298 Glu/Asp多态性与何血脂因素对舒张压有确切的影响，分别计算在不同eNOS 298 Glu/Asp多态性下，不同危险因素与eNOS 298 Glu/Asp多态性联合作用对舒张压的相对危险度，结果见表4。

表4　eNOS基因多态性与血脂、血糖的关系

指征	相对危险度（OR）（95% CI）		P
	Asp/Asp	Asp/Glu +Glu/Glu	
血糖（mmol/L）>5.8	1.24（0.95～1.6）	1.28（0.82～1.4）	0.76
总胆固醇（mg/dl）>5.4	2.65（1.82～3.06）	1.52（1.27～1.72）	0.03
TG（mg/dl）>1.7	1.24（0.64～1.44）	1.19（0.89～1.32）	0.64
HDL（mg/dl）>2.1	1.17（0.51～1.43）	0.98（0.75～1.48）	0.52
LDL（mg/dl）>2.8	0.91（0.69～1.54）	0.82（0.66～0.98）	0.67

从表4可见，eNOS 298突变型(Asp/Asp)明显增加血清总胆固醇5.4 mmol/L以上患者患高血压的危险性($P<0.05$)。但对其他危险因素，增加患高血压的危险性不明显($P>0.05$)。

3 讨论

已经有大量的动物实验、临床研究和流行病学研究表明NO参与脂代谢和血管内皮细胞调节，NO水平与心血管疾病的发生有重要的作用[4,6]。在血管内皮细胞，eNOS催化生成的NO可通过激活血管平滑肌细胞中的G-蛋白激酶，从而导致血管扩张。NO减少极可能是高胆固醇血症引起血压升高的主要原因。在高胆固醇血症患者中，LDL在循环系统的长时间存在导致其氧化增加，引起血压升高，同时减少了eNOS的表达[1,2,4]。高胆固醇血症还可通过氧自由基的产生而导致NO减少。但目前的研究结果对eNOS 298 Glu/Asp多态性与高血压之间的关系仍存在较大的争议。

由于eNOS和NO与心血管系统以及脂代谢之间的复杂联系，考虑eNOS 298 Glu/Asp多态性与高血压之间的关系时，应充分分析eNOS 298 Glu/Asp多态性与血压、血脂和血糖之间的复杂联系，才能得到比较可靠的结论。

本研究分析了eNOS 298 Glu/Asp多态性与血压、血脂和血糖之间的相互关系。结果显示，eNOS 298 Glu/Asp多态性与高血压的发生有关，但这一相关性有其特殊性。eNOS 298 Glu/Asp多态性与总胆固醇、TG、HDL可联合作用调节舒张压。eNOS 298突变型(Asp/Asp)明显增加血清总胆固醇5.4 mmol/L以上患者患高血压的危险性。但对其他患者的危险性则无明显提高。因此，eNOS 298 Glu/Asp多态性只与血清总胆固醇5.4 mmol/L以上患者的血压增高有关。eNOS 298 Glu/Asp多态性与高血压、血脂之间的复杂关系很可能是前期部分研究结果互相冲突的主要原因。

总之，本实验对eNOS 298 Glu/Asp多态性与高血压的关系进行了研究，结果显示eNOS 298 Glu/Asp多态性对高血压有不同的复杂影响。由于NO在个体发生原发性高血压方面的密切关系，同时与血脂代谢也有密切的关系。因此，深入研究eNOS 298 Glu/Asp多态性与血脂、血糖、高血压等多个因素之间的复杂联系，可更好地利用eNOS 298 Glu/Asp多态性，预测和分析不同个体患高血压的危险性以及治疗的适应性等目前高血压研究中的关键问题。

参考文献：

[1] Pereira A C, Sposito A C, Mota G F, *et al*. Endothelial nitric oxide synthase gene variant modulates the relationship between serum cholesterol levels and blood pressure in the general population: new evidence for a direct effect of lipids in arterial blood pressure[J]. Atherosclerosis, 2006, 184(1): 193-200.

[2] Heltianu C, Costache G, Gafencu A, *et al*. Relationship of eNOS gene variants to diseases that have in common an endothelial cell dysfunction [J]. J Cell Mol Med, 2005, 9(1): 135-142.

[3] Wolff B, Grabe H J, Schluter C, *et al*. Endothelial nitric oxide synthase Glu 298 Asp gene polymorphism, blood pressure and hypertension in a general population sample[J]. J Hypertens, 2005, 23(7): 1361-1366.

[4] Yoon S, Shin C, Park H Y, *et al*. Endothelial nitric oxide synthase gene is associated with vessel stenosis in Korean population[J]. Clin Chim Acta, 2005, 353(2-2): 177-185.

[5] Kishimoto T, Misawa Y, Kaetu A, *et al*. eNOS Glu 298 Asp polymorphism and hypertension in a cohort study in Japanese[J]. Prev Med, 2004, 39(5): 927-931.

[6] Zhu H, Wang X, Dong Y, *et al*. Influence of the eNOS gene on development of blood pressure and left ventricular mass: longitudinal findings in multiethnic youth[J]. Pharmacogenet Genomics, 2005, 15(9): 669-675.

(编辑 陈聪连)

文献标识码的标识方法

为了便于文献的统计和期刊评价，确定文献的检索范围，提高检索结果的适用性，每篇文章或资料应标识1个文献标识码。一般设置以下5种标准：

A：理论与应用研究学术论文(包括综述报告)

B：实用性技术成果报告(科技)、理论学习与社会实践总结(社科)

C：业务指导与技术管理性文章(包括领导讲话、特约评论等)

D：一般动态性信息(通讯、报道、会议活动、专访等)

E：文件、资料(包括历史资料、统计资料、机构、人物、书刊、知识介绍等)

不属于上述各类的文章以及文摘、简讯、补白、广告、启事等不加文献标识码。

本刊编辑部