文章编号:1000-5404(2007)10-0945-03

论著

心力衰竭患者心肌组织ACE2和ACE基因表达

王 江,田 颖,宋 熔,聂 凌,谭红梅,祝善俊 (第三军医大学新桥医院全军心血管病研究所,重庆 400037)

提 要:目的 观察心力衰竭(简称心衰)患者不同心功能状态下血管紧张素转换酶2(angiotensin converting enzyme, ACE2)和ACE基因表达变化,探讨其与心衰患者心功能的关系。**方法** 通过手术取材,采用RT-PCR技术检测30例瓣膜病所致不同程度心衰患者和5例正常人心肌组织中ACE2和ACE mRNA表达。**结果** 瓣膜病所致心衰患者心肌组织ACE2和ACE mRNA表达均较正常组明显升高($P<0.01$),其中中重度心衰患者升高尤为显著($P<0.01$)。轻度心衰患者心肌组织ACE2/ACE mRNA比值较正常组升高,中重度心衰时ACE2/ACE mRNA比值下降。**结论** 心衰患者心肌组织ACE2和ACE基因表达明显增强。轻度心衰患者ACE2/ACE mRNA比值升高可能是心脏的代偿机制,促进AngⅡ降解,增加Ang1-7合成,保护残存的心功能。中重度心衰患者ACE2/ACE mRNA比值降低,引起AngⅡ过度激活,加速心衰恶化。

关键词:心力衰竭;血管紧张素转换酶2;血管紧张素转换酶
中图法分类号:R322.11;R394.2;R541.6 **文献标识码**:A

ACE2 and ACE gene expression in myocardium of congestive heart failure

WANG Jiang, TIAN Ying, SONG Rong, NIE Ling, TAN Hong-mei, ZHU Shan-jun (Cardiovascular Disease Research Center, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To explore the ACE2 and ACE gene expression in patients of congestive heart failure (CHF), and the relationship between ACE2/ACE mRNA ratio and heart function. **Methods** Pathologic and morphologic studies on myocardial tissues of 30 CHF patients due to valvular heart diseases who admitted to our hospital from March 2005 to June 2006 and 5 control subjects who were voluntary organ donors were carried out by using optical microscopy. ACE2 and ACE mRNA expressions in myocardial tissues were analyzed by RT-PCR. **Results** ACE2 and ACE mRNA expressions increased in the CHF patients than in the control subjects ($P<0.01$). The ACE2/ACE mRNA ratio increased in the patients with grade Ⅱ CHF according to the cardiac functional grading of NYHA than control subjects, but it decreased in the patients with grade Ⅲ-Ⅳ CHF. **Conclusion** The expressions of ACE2 and ACE gene were up-regulated in CHF patients. The increased ACE2/ACE mRNA ratio in the patients with grade Ⅱ CHF, may be due to cardiac compensation, indicating the promotion of Ang Ⅱ degradation. The decreased ACE2/ACE mRNA ratio in the patients with grade Ⅲ-Ⅳ CHF suggested that Ang Ⅱ level increased in myocardium of CHF patients.

Key words: congestive heart failure; angiotensin convering enzyme2; angiotensin convering enzyme

肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)过度激活是心力衰竭(简称心衰)发病的启动环节,血管紧张素转换酶(angiotensin converting enzyme, ACE)作为RAS的核心酶,催化产生RAS最关键的效应因子血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, AngⅡ)。2000年Donoghue等[1,2]首先发现ACE的同系物,命名为ACE2,ACE2的主要生物学效应是将AngⅡ转化为Ang1-7。由此看来,ACE和ACE2是一对功能效应相反的酶。我们设想,ACE2和ACE的基因表达失衡参与了心衰的发病。本试验通过手术取材,采用RT-PCR方法检测心肌组织局部ACE2和ACE的基因表达,探讨其与心衰患者心功能的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选择2005年3-6月在本院心血管外科住院的瓣膜病需接受二尖瓣置换术的心衰患者30例。其中男性18例,女性12例,年龄26~61岁,平均41岁。根据纽约心脏病协会(NYHA)心功能分级标准,心功能Ⅱ级6例,心功能Ⅲ级18例,心功能

作者简介:王 江(1973-),女,重庆市人,博士研究生,主治医师,主要从事心力衰竭发病机制方面的研究。电话:(023)68774601,E-mail:a65223875@cta.cq.cn
通讯作者:祝善俊,电话:(023)68755701
收稿日期:2006-11-17;修回日期:2007-01-22

Ⅳ级6例。摄胸部X线片测量心胸比率(HTR),HP500型彩色多普勒超声心动图仪于患者术前1周测定左心室舒张末内径(LVED)、左心室射血分数(LVEF)和左心室短轴缩短率(FS)。所有患者均排除急慢性感染、糖尿病、自身免疫性疾病、恶性肿瘤、严重的肝肾功能障碍、急性心肌梗死等。

正常对照组5例来自意外死亡的器官捐献者,性别及年龄与疾病组比较无显著差异($P>0.05$)。

1.2 心肌取材

二尖瓣置换术患者于术中夹取少量左心室乳头肌,意外死亡者于死亡后2 h内夹取少量左心室乳头肌,立即置入液氮中冻存进行RT-PCR检测,或多聚甲醛固定、石蜡包埋进行病理检测。所有标本均于3个月内同批检测。

1.3 反转录PCR(RT-PCR)

RT-PCR检测心肌组织中ACE2和ACE mRNA表达。ACE2引物(赛百盛合成):上游5′-CATTGGAGCAAGTGTTG-GATCTT-3′,下游5′-GAGCTAATGCATGCCATTCTCA-3′,扩增片段为108 bp。ACE引物(赛百盛合成):上游5′-CCGATCTG-GCAGAACTTC-3′,下游5′-GTGTTCCAGATCGTCCTC-3′,扩增片段为408 bp。GAPDH(赛百盛合成):上游5′-CGGATTTGGTCG-TATTGGG-3′,下游5′-TCTCGCTCCTGGAAGATGG-3′,扩增片段为216 bp。按下列条件进行扩增:94 ℃预变性2 min,98℃变性10 s→53 ℃退火30 s→68 ℃延伸1 min,循环35次,4 ℃保存。即可进行琼脂糖凝胶电泳,重复6次,凝胶成像系统分析光密度值,并与内参照GAPDH的比值作为半定量指标。

1.4 统计学处理

计量资料以$x\pm s$表示,用SPSS 13.0统计软件进行t检验。

2 结果

2.1 心衰患者一般临床资料

心衰患者临床资料显示,NYHA心功能分级较差的,心胸比率和左心室舒张末内径较大,左心室射血分数和左心室短轴缩短率也较小(表1)。

表1 不同程度心力衰竭患者临床资料($x\pm s$)

组别	n	HTR	LVED(mm)	LVEF(%)	FS(%)
Ⅱ/NYHA	6	0.45±0.04	47.2±5.3	55.2±3.0	29.4±3.7
Ⅲ/NYHA	18	0.58±0.05	53.5±6.4	47.5±5.2	28.1±4.9
Ⅳ/NYHA	6	0.65±0.08	60.7±5.9	39.7±7.9	21.2±5.3

2.2 心肌组织病理改变

正常对照组心肌细胞排列整齐,连接紧密。心衰患者随着心功能恶化,心肌细胞排列紊乱,早期心肌细胞代偿性肥大,晚期出现局灶性坏死,间质胶原结缔组织增生,纤维化,瘢痕形成。

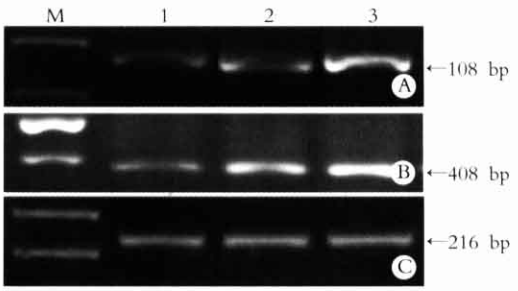
2.3 心肌组织RT-PCR结果

与正常对照组比较,心衰患者ACE2和ACE mRNA表达量明显升高($P<0.01$),中重度心衰患者(NYHA Ⅲ-Ⅳ级)升高更为显著($P<0.01$)。轻度心衰患者(NYHA Ⅱ级)ACE2/ACE mRNA比值升高,中重度心衰患者ACE2/ACE mRNA比值下降(表2、图1)。

表2 心力衰竭患者心肌组织ACE2和ACE的mRNA表达

组别	n	ACE2/GAPDH($x\pm s$)	ACE/GAPDH($x\pm s$)	ACE2/ACE
正常对照组	5	0.82±0.02	1.04±0.03	0.79
Ⅱ/NYHA组	6	1.13±0.04[a]	1.36±0.05[a]	0.83
Ⅲ/NYHA组	24	1.31±0.04[ab]	1.83±0.06[ab]	0.72

a:$P<0.01$,与正常对照组比较;b:$P<0.01$,与Ⅱ/NYHA组比较



A:ACE2;B:ACE;C:GAPDH

M:标准;1:正常组;2:轻度心衰组;3:中重度心衰组

图1 心肌组织ACE2和ACE mRNA电泳图

3 讨论

目前公认RAS的过度激活是心衰发生、发展的重要决定因素,并因此已成为心衰治疗的主要靶点。ACE是RAS的核心酶,其催化产物AngⅡ是RAS的核心效应因子,发挥血管收缩、细胞增殖、促进心肌重构的作用。2000年Donoghue[1]和Tipnis[2]首先报道ACE的同源物,命名为ACE2。ACE2在结构上有42%的成分与ACE保持一致[3],主要表达于心脏、肾脏和睾丸。既往研究多注意循环中RAS成员水平升高对靶器官的影响,近年来越来越多的研究报道认为心脏局部产生的RAS对靶器官的影响更大。本研究利用RT-PCR方法检测心衰患者心肌组织ACE2和ACE的基因表达,发现心衰患者ACE2和ACE mRNA表达均增强,且心功能越差,ACE2和ACE mRNA升高越显著。

自发现ACE2以来,越来越多的证据显示,ACE2在调节心脏和血管生理功能方面发挥重要作用[4],其表达异常可导致心血管系统的病理改变,其中最有意义的研究来自于Crackower等[5]的实验。该实验建立了小鼠的ACE2基因敲除模型,发现ACE2基因敲除小鼠心功能受损,超声检查显示左心室壁变薄、左心室舒张末直径增大,左心室收缩功能减退,且呈进行性加重趋势,表明ACE2是心功能的重要调节因子。Yamamoto等[6]报道,ACE2基因敲除小鼠在压力超负荷的情况下更容易出现严重的心腔扩大和心功能障碍,同时心肌AngⅡ水平明显升高。Diez-Freire等[7]通过转基

因技术使自发性高血压大鼠心肌组织高表达 ACE2,发现 ACE2 可减轻心肌重构,改善心功能。Huentelman 等[8]报道心肌局部高表达 ACE2 的基因转染大鼠,可明显对抗 AngⅡ刺激引起的心肌重构和心衰。

ACE2 对心脏的保护效应主要是通过降解 AngⅡ产生 Ang1-7 实现的[9],与 AngⅡ的效应相反,Ang1-7 具有舒张血管、抗增生、抗炎症的作用,对衰竭心脏有保护作用。由此看来,ACE2 和 ACE 是一对功能效应相反的酶,因为不仅 ACE2 可以降解 ACE 的催化产物,而且二者的催化产物的功能效应截然相反。本研究表明衰竭心肌 ACE mRNA 表达增强,这符合心衰时心肌组织局部 RAS 激活的观点。ACE2 mRNA 表达亦显著升高,其功能意义可能在于对抗心肌局部过度激活的 AngⅡ。本研究结果还提示,轻度心衰患者心肌组织 ACE2/ACE mRNA 比值升高,这可能是机体的一种代偿反应,通过 ACE2 促进 AngⅡ降解,产生更多的对心肌有保护作用的 Ang1-7,保护残存的心功能。而中重度心衰患者 ACE2/ACE mRNA 比值下降,可能是机体的失代偿,此时 ACE2 已经不能对抗过度激活的 ACE,因此心肌组织 AngⅡ大量产生,加速心衰的恶化。

由于 ACE2 能降解 AngⅡ、升高 Ang1-7 和抑制缓激肽降解,因此 ACE2 的活性非常类似于临床上广泛应用的 ACE 抑制剂。ACE 抑制剂是临床治疗心衰的一个成功典范,因此以激活 ACE2 为目的的药物和基因治疗可能对心衰患者有益。ACE2 的发现,使 RAS 变得非常复杂,我们还需要对 RAS 的效应因子进行更加深入的研究,以明确其在心衰发病机制中的地位,为临床治疗提供理论依据。

参考文献:

[1] Donoghue M, Hsieh F, Baronas E, *et al*. A novel angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase (ACE2) converts angiotensin I to angiotensin 1-9[J]. Circ Res, 2000, 87(5): E1 - E9.

[2] Tipnis S R, Hooper N M, Hyde R, *et al*. A human homolog of angiotensin-converting enzyme. Cloning and functional expression as a captopril-insensitive carboxypeptidase[J]. J Biol Chem, 2000, 275(43): 33238 - 33243.

[3] Towler P, Staker B, Prasad S G, *et al*. ACE2 X-ray structures reveal a large hinge-bending motion important for inhibitor binding and catalysis [J]. J Biol Chem, 2004, 279(17): 17996 - 18007.

[4] 王　江,田　颖,聂　凌,等. 不同严重程度心力衰竭患者心肌组织 ACE 和 AngⅡ蛋白的表达[J]. 第三军医大学学报, 2007, 29(5): 445 - 447.

[5] Crackower M A, Sarao R, Oudit G Y, *et al*. Angiotensin-converting enzyme 2 is an essential regulator of heart function[J]. Nature, 2002, 417(6891): 822 - 828.

[6] Yamamoto K, Ohishi M, Katsuya T, *et al*. Deletion of angiotensin-converting enzyme 2 accelerates pressure overload-induced cardiac dysfunction by increasing local angiotensin II[J]. Hypertension, 2006, 47(4): 718 - 726.

[7] Diez-Freire C, Vazquez J, Correa-De-Adjounian M F, *et al*. ACE2 gene transfer attenuates hypertension-linked pathophysiological changes in the SHR[J]. Physiol Genomics, 2006, 27(1): 12 - 19.

[8] Huentelman M J, Grobe J L, Vazquez J, *et al*. Protection from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and fibrosis by systemic lentiviral delivery of ACE2 in rats[J]. Exp Physiol, 2005, 90(5): 783 - 790.

[9] Vickers C, Hales P, Kaushik V, *et al*. Hydrolysis of biological peptides by human angiotensin-converting enzyme-related carboxypeptidase [J]. J Biol Chem, 2002, 277(17): 14838 - 14843.

(编辑　龙　亮)

关于数字的用法

在各种出版物上数字的用法总的原则是:凡是可以使用阿拉伯数字,而且又很得体的地方均应使用阿拉伯数字。以下两种情况必须使用阿拉伯数字。

1　公历世纪、年代、年、月、日和时刻　　例如:公元前 5 世纪、20 世纪 90 年代、1995 年 6 月 8 日 14 时 30 分。

表示年份要写全称,1995 年不能写成 95 年或 95 年;1953 - 1958 年不能写成 1953 - 58 年。年月日可以写成 1995-06-08。时刻用":"分隔的形式。如:13 时 45 分 8 秒可以写成 13:45:08。

2　计数和计量(整数、小数、分数、百分数、均数)包括序数、编号　　4 位和 4 位以上的数字采用三位分节法,不用"千分撇",节与节之间留半个阿拉伯数字的空隙(如 2 431 改为 2 431)。年份、部分代号、仪器型号等非计量数字不用分节,也不加千分撇。尾数"0"多,5 位以上的数字,可以用"万""亿"表示,但不得以十、百、千、百万、十亿等汉字表示,例如 3 579 000 可写成 357.9 万但不能写成 3 百 57 万千或 357 万 9 千。

本刊编辑部