维普资讯 http://www.cqvip.com

231-237
文章编号：0253-3626(2000)03-0231-03

ACE基因多态性，血清水平与2型糖尿病，2型糖尿病半高血压的关系

曾昭淳[1]、蒋 涛[2]、汪恕萍[2]

（1. 重庆医科大学基础医学院生化教研室 400016；2. 重庆医科大学临床学院内分泌科 400016）

摘 要： **目的** 我们在一组116例糖尿病及糖尿病伴高血压的重庆地区汉族人中研究血管紧张素转换酶(Angiotensin-I Converting Enzyme，ACE)基因内含子插入/缺失（I/D）多态性，ACE血清水平及其与糖尿病及糖尿病伴高血压的关系。**方法** 用PCR扩增ACE基因第16内含子I/D片段，用电泳法确定其多态性；用分光光度法测定血清ACE的活性。**结果** 糖尿病伴高血压组D等位基因的频率分别为0.63、糖尿病组0.51、健康对照组0.48。糖尿病伴高血压组D等位基因的频率明显高于糖尿病组和健康对照组（$F<0.05$和$F<0.025$）。糖尿病组和健康对照组的D等位基因频率无明显差异（$F>0.05$）。DD基因型的血ACE水平高于DI基因型和II基因型，在二种基因型之间具有非常明显的差异（$F=121.73$、$F<0.01$）。糖尿病伴高血压组、糖尿病组和健康对照组之间的血清ACE活性，也有非常显著性差异（$F=32.57$、$F<0.01$）。**结论** ACE活性与ACE基因第16内含子D等位基因的频率；高的血压和高的血清ACE活性有关。ACE的D等位基因可能是导致血清高ACE活性和高血压因素之一。

关键词： 糖尿病；血管紧张素转换酶；高血压
中国图书分类法分类号： R587.1；R541.3 **文献标识码：** A **收稿日期：** 2000-03-08

The relationship between the gene polymorphism, the serum activities of angiotensin-I converting enzyme and type 2 diabetes, type2 diabetes with hypertension

ZENG Zhao-chun, et al
Department of Biochemistry, College of Basic Medicine

Abstract: **Objective** We investigated the serum activities of ACE and the insertion/deletion(I/D)polymorphism of ACE gene in 116 Han diabetics with or without hypertension. **Methods** I/D of the allele was amplificated by PCR, analyzed by electrophorysis; serum ACE activities were determined by spectrophotometry. **Results** Frequencies of D allele were 0.63 in diabetic group with hypertension, 0.51 in diabetic group, and 0.48 in control. The frequency of D allele in diabetic group with hypertension was significantly higher than those of the two other groups($F<0.05$ and $F<0.025$). The frequencies of D allele between diabetic and control groups were not different significantly($F>0.05$). The serum activities with DD genotype were higher than those of both DI and II genotype of ACE .Among the three genotypes the serum activities of ACE were different significantly($F=121.73$,$F<0.01$). It was also the case with the three groups the serum activities of ACE also were significantly different ($F=32.57$,$F<0.01$). **Conclusion** In the three groups, the high serum activities of ACE were related to the deletion in the 16th intron of ACE gene. The higher activities of ACE, the higher blood pressure. Deletion of the 16 intron of ACE gene was probably one of the factors which caused high serum activities of ACE and hypertension.

Key Words: Diabetes; Angiotension-I converting enzyme; Hypertension

血管紧张素转换酶 (ACE, E.C.3.4.15.1)参与两个主要的血管活性肽血管紧张素和舒缓激肽的代谢，起着十分重要的作用。2型糖尿病患者常出现高血压、冠心病等心血管疾病的并发症。这些并发症的高易感性很难简单地用糖尿病本身的病理改变来加以说明，被认为既受共同的或不同的遗传信息调控；又受环境因素的影响。我们在一组116例糖尿病及糖尿病伴高血压的重庆地区汉族人中研究ACE血清水平和其基因内含子I/D多态性与糖尿病及糖尿病伴高血压的关系，以明确ACE基因的I/D多态性是否是导致血清高水平的ACE活性和导致这些疾

作者介绍： 曾昭淳（1949- ），男，副教授，硕士

维普资讯 http://www.cqvip.com

病的发病因素之一。

1 材料和方法

1.1 研究对象 164例重庆地区汉族人，分成正常对照组；糖尿病组；糖尿病伴高血压组。正常对照组48例，男28例，女20例；平均年龄50.3岁(39～68岁)，均排除心、血管疾病和糖尿病。116例按WHO标准确诊为2型糖尿病的患者，男60例，女56例，平均年龄52.3岁（38～72岁）病程2～21年，血糖浓度为10.3±3.3mmol/L(6.3～15.9mmol/L)，HbA1c平均11.6%±3.8%(5.6%～16.8%)，将收缩压>21.3kPa；舒张压>12.6kPa纳入糖尿病高血压组，共65例；其余51例为糖尿病组。

1.2 方法

1.2.1 血清ACE活性的测定 从三组病人空腹采血。以马尿酰甘氨酰甘氨酸为底物，在ACE的催化下，该底物被水解成甘氨酰甘氨酸。用2.4.6-三硝基苯磺酸显色，在420nm波长下测光吸收值，以在37℃下，每ml血清生成的1nmol甘氨酰甘氨酸为一个酶的活性单位。

1.2.2 聚合酶链反应(PCR) 按常规方法提取血液白细胞的DNA[11]。PCR扩增ACE基因引物分别为5`-CTGGAGACCACT CCCATCCTT-3`和5`-GATGTGGCCATCACATT CGTCAGAT -3`[12]由中国科学院上海细胞所合成。反应体积25μl，包括DNA模板1g、dNTP100μmole，引物5ng，0.5%NP-40。用美国PE公司的热循环仪进行扩增，94℃变性10min后，加TaqDNA聚合酶1U，按以下条件循环：94℃ 45s，58℃ 45s，72℃1min。循环30次后、接72℃ 10min，最后终止反应。电泳在2%的琼脂糖凝胶上用TEB缓冲液进行，溴化乙啶染色，ACE基因的产物在紫外灯下纯合插入为490bp片段，纯合缺失则为190bp片段。为I/D的杂合型时同时出现上述两种片段。

1.2.3 血糖测定用氧化酶法 试剂盒由浙江温州东瓯生物工程公司提供。

1.2.4 HbA1c的测定采用微柱法 微柱由伯乐太平洋公司提供。

1.3 数据处理

等位基因频率比较应用 x^2 检验，ACE水平的分析用 F 检验。

表1 糖尿病伴高血压组、糖尿病组和健康对照组ACE基因型与等位基因的频率(例%)

组别	例数	ACE基因型			等位基因频率	
		DD	DI	II	D	I
(1)糖尿病伴高血压	65	32(49.2)	18(28.8)	15(23.1)	0.63	0.37
(2)糖尿病组	51	15(29.4)	21(41.2)	15(29.4)	0.51	0.49
(3)健康对照组	48	13(27.1)	20(41.7)	15(31.3)	0.48	0.52

注：D为有缺失的等位基因，I为具有插入顺序的等位基因。DD基因型的两条等位基因均有缺失，DI基因型的两条等位基因一条有缺失，另一条有插入。II基因型的两条等位基因均有插入。(1)和(2)比较,D等位基因的频率 x^2=4.0388，P<0.05；1)和(3)比较,D等位基因的频率 x^2=5.2229 P<0.025；(2)和(3)比较,D等位基因的频率 x^2=0.0867，P>0.05

表2 糖尿病伴高血压组、糖尿病组和健康对照组血清ACE的水平

组别	血清ACE的水平（nmol/min/ml血清）		
	DD	DI	II
糖尿病伴高血压组	40.4±6.5	33.8±5.1	29.8±7.0
糖尿病组	35.4±4.0	31.3±5.3	26.5±6.7
健康对照组	34.6±3.9	30.1±5.9	24.5±6.6
平均	36.8±8.7	31.7±7.7	26.9±9.3

表3 血清ACE活性方差分析表

变异来源	自由度	离均差平方和	均方	方差(F)	P
总变异	8	187.55	73.04		<0.01
基因型间	2	146.07	19.54	121.73	<0.01
疾病组间	2	30.08	0.60	32.57	
误差	4	2.40			

2 结 果

2.1 ACE等位基因和ACE的基因型频率 三组的D等位基因的频率分别为0.63、0.51和0.48，见表1。糖尿病伴高血压组D等位基因的频率明显高于糖尿病组和健康对照组（F < 0.05和F < 0.025）。糖尿病组和健康对照组的D等位基因频率无明显差异（F > 0.05）。

2.2 血清ACE 活性 不同ACE基因型的糖尿病伴高血压、糖尿病患者和健康对照者的血清ACE 活性见表2：

血清的ACE水平是DD基因型高于DI基因型和II基因型。在重庆地区的汉族人中的DD、DI和II三种基因型之间血清ACE 的水平之间有非常明显的差异

维普资讯 http://www.cqvip.com

（F=121.73，P<0.01）。

糖尿病伴高血压ACE水平大于糖尿病组；糖尿病组大于健康对照组。三个组之间的血清ACE水平，有非常显著性差异（F=32.57, P<0.01）。

3 讨 论

血清ACE的基因是个含有21kb的基因，有26个外显子。在ACE基因的第十六内含子存在约300碱基的I/D多态性。本实验的结果显示。重庆地区汉族人也存在ACE I/D多态性。ACE基因的I/D多态性和血清ACE的水平有明显的关系：血清平均ACE水平在纯合缺失型（DD）最高；杂合型（ID）其次；纯合插入型最低。Bloem[3]等报导在白人青少年中血清ACE水平与ACE基因第十六内含子D/I多态性的关系与我们的结果一致。但在黑人青少年中三种ACE基因型之间，血清ACE的活性却没有明显的差异。在白、黄人种之间ACE基因的I/D多态和血清的ACE水平之间的关系有相似性。本研究中糖尿病伴高血压组的D基因频率明显高于糖尿病和健康对照组，提示D基因与糖尿病伴高血压的发病率密切相关。Bleom也发现了血清ACE的水平与高舒张压成明显的正相关。Cambien[4]等确认了白人ACE基因I/D多态性与血浆的ACE水平、心肌梗塞发作的危险性增高密切有关。我们研究的结果提示ACE基因的I/D多态性可能是与高血压有关的因素之一。ACE基因的第十六内含子为DD基因型的血清ACE活性高于ID基因型，而ID基因型又高于II基因型，表明ACE基因的I/D多态性与重庆地区汉族人血清ACE水平之间确实存在相关关系。而且糖尿病伴高血压组的血清ACE水平高于糖尿病组；糖尿病组高于对照组，提示ACE水平的增高可引起血管紧张素的增加，刺激小动脉平滑肌的收缩，导致高血压。临床上使用多种ACE 的抑制剂治疗高血压[5]，取得了较好的效果，也说明高血压状态ACE 水平之间是有关系的。另一方面，ACE基因型相同的人，其血清ACE水平之间也存在差异，提示血清ACE 的基因型不是影响ACE水平的唯一因素，而只是影响的因素之一。

在人体内，蛋白质可以进行非酶催化的糖化反应，生成糖化终末产物（advanced glycation end products AGE）[6]AGE一旦形成降解极慢，甚至不能降解。细胞外蛋白质包括小动脉壁都能进行非酶糖化反应生成ACE，导致小动脉壁的损伤、硬化。糖尿病时，这一过程因血糖增高而加速，进而引起血压的升高。这或许是引起ACE的I/D基因型的2型糖尿病患者血压升高的其它原因之一。

本研究中ACE基因的I/D多态性、血清ACE的活性与糖尿病伴高血压有相关性，DD基因型的糖尿病患者多患有高血压；糖尿病时血清ACE的水平高于对照组其机制尚不明了。糖尿病伴高血压出现有极其复杂的机制。随分子遗传学、分子生物学的发展，并深入到糖尿病的研究领域，ACE基因与糖尿病伴高血压发生发展的机制会逐渐被阐明。

参 考 文 献

[1] J. Sambrook, E.F.Fritsch& T.Maniatis Melecular Cloning [M]. 2th edition 1989; 金冬雁，黎孟枫，译. 科学出版社，1993;463-468.

[2] B Rigat, C Hubert, L.Lecerf et al PCR determination of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene[J]. Nucleic acid research 1992 20: 1433-1434.

[3] LJ Bloem, AK Manatunga & JH Pratt Racial difference in the relationship of an angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism to serum antiotensin I-converting enzyme activity [J]. Hypertension 1996 27 (1):62-66.

[4] F Canbien, O Poirier, L. Lecerf et al Deletion polymopyism inthe gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infration[J] . Nature 1992 359:641-643.

[5] LN Duc & HR Brunner trandolapril in hypertension overview of anew angiotension-converting enzyme inhibitor[J]. American J. Cardiology 70(12) 27D-34D.

[6] 胡伟新，唐 政. 糖基化终末产物的基础与临床[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志，1995;4(3):245-248.