

· 临床研究 ·

# 济南战区陆勤干部血管紧张素转换酶基因多态性分析\*

王 菁, 丁茗敏, 张冬梅, 于丽华<sup>△</sup>

(济南军区青岛第一疗养院检验科, 山东青岛 266071)

**摘要:**目的 对济南战区陆勤干部血管紧张素转换酶(ACE)基因多态性分布情况进行调查分析。方法 采用罗氏 Cy-cler480II 型荧光定量 PCR 分析仪进行基因型判断。同时随机抽样进行琼脂糖凝胶电泳分型进行对比分析。结果 济南战区陆勤干部 ACE 基因 DD 型占 23.3%, ID 型占 43.2%, II 型占 33.5%, D 和 I 等位基因频率分别为 0.44 和 0.56; 济南战区陆勤干部女性 ACE 基因 II 型频率最高, 而男性 ACE 基因 ID 型频率最高, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 男性与女性等位基因频率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 济南战区陆勤干部 ACE 基因多态性以 II 型和 I 型等位基因占优势; 进行 ACE 基因调查对于早期发现和及时预防某些相关疾病有十分重要的意义。

**关键词:** 陆勤干部; 肽基二肽酶 A; 多态现象, 遗传; 基因

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.36.009

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2013)36-4385-02

**Analysis on the situation of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in military service officers of Jinan theater\***

Wang Jing, Di Mingmin, Zhang Dongmei, Yu Lihua<sup>△</sup>

(the First Qingdao Sanatorium, Jinan Military Command Area, Qingdao, Shandong 266071, China)

**Abstract:** Objective To investigate and analysis the situation of angiotensin-converting enzyme (ACE) gene polymorphism in military service officers of Jinan theater. **Methods** Roche Cycloer480II fluorescence quantitative PCR analyzer was used to detected ACE genotype. Meanwhile, some samples were randomly analyzed by agarose gel electrophoresis. **Results** ACE DD genotype accounted for 23.3% in the military service officers of Jinan theater cadres, ID type accounted for 43.2%, II type accounted for 33.5%, D and I allele frequencies were 0.44 and 0.56, respectively; type II ACE gene frequency was highest in female cadres, while frequency of ID type was highest in male cadres, the difference was statistically significant between two groups ( $P < 0.05$ ); the difference of allele frequency between men and women was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** ACE gene polymorphism with type II and I allele were dominant in the military service officers of Jinan theater cadres; ACE gene polymorphism survey is important for early detection and timely prevention of certain related diseases.

**Key words:** the military service officer; peptidyl-dipeptidase A; polymorphism, genetic; gene

人类基因组计划全部核酸测序虽已完成, 基因功能的秘密却吸引着人们继续深入地对其进行研究。通过基因多态性的研究, 阐明基因型与表型之间的联系, 在认识疾病的发生机理、预测疾病的转归等方面起着重要的作用<sup>[1-2]</sup>。许多研究发现, 血管紧张素转换酶(angiotensin-converting enzyme, ACE)基因 I/D 的多态性与糖尿病、高血压、心肌梗死等疾病有一定的相关性<sup>[3-4]</sup>。为此, 作者对济南战区陆勤干部的 ACE 基因 I/D 多态性的分布情况进行调查研究, 从基因水平探讨某些疾病在不同性别和不同种族间发生率的差异。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 为来本院健康体检的陆勤干部 206 例, 均为汉族, 其中男 103 例, 女 103 例; 年龄 24~53 岁, 平均年龄 (38±6.3) 岁。

## 1.2 方法

**1.2.1 DNA 提取** 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>) 抗凝血 5 mL, 使用天根生物人类基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱型)进行 DNA 提取, 操作过程严格遵守试剂盒说明书要求。

**1.2.2 引物设计** 通过互联网 Genbank 数据库查找到公开

发表的 ACE 基因序列, 委托南京金斯瑞生物科技有限公司合成引物。引物序列如下, 正向引物: 5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3'; 反向引物: 5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3'。

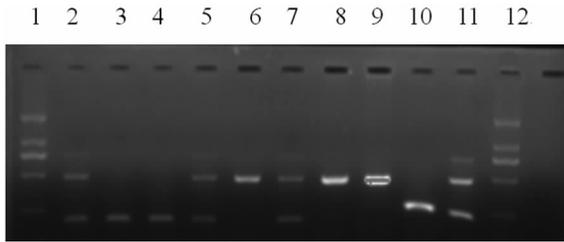
**1.2.3 PCR 扩增条件** 20 μL 反应体系, 包括宝生物工程(大连)有限公司生产的 SYBR Premix Ex Taq(2x) 反应液 10 μL, PCR 上游引物(10)1 μL, PCR 下游引物(10)1 μL, DNA 模板 2 μL, 去离子水 6 μL。94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min。

**1.3 ACE 基因型判断及鉴定** 采用罗氏 Cycloer480 II 型荧光定量 PCR 分析仪进行基因型判断。同时随机抽样进行琼脂糖凝胶电泳分型进行对比分析。PCR 扩增产物由南京金斯瑞生物科技有限公司进行基因测序, 结果证实该产物与目的基因的片段长度一致。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS11.0 软件进行数据处理。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用  $t$  检验; 计数资料采用率表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验, 检验水准  $\alpha = 0.05$ , 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

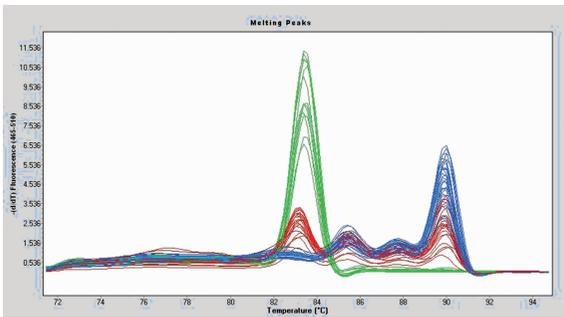
## 2 结 果

**2.1 琼脂糖凝胶电泳 ACE 多态性检测结果** 采用罗氏 Cycler480 II 型荧光定量 PCR 分析仪进行基因型判断。同时随机抽样进行琼脂糖凝胶电泳分型进行对比分析。PCR 扩增产物由南京金斯瑞生物科技有限公司进行基因测序,结果证实该产物与目的基因的片段长度一致,见图 1、2。



1:DNA 分子标志物;2:ID 型;3、4、10:DD 型;5、6、7、8、9、11:II 型;12:DNA 分子标志物。

图 1 部分样本 ACE 多态性检测电泳结果



荧光定量完整 PCR ACE 基因型,绿色峰为 II 型;蓝色峰为 DD 型;红色峰为 ID 型。

图 2 部分标本荧光完整 PCR ACE 基因型分析结果

**2.2 济南战区陆勤干部男性与女性 ACE 基因多态性的比较** 济南战区陆勤干部女性 ACE 基因 II 型频率最高,而男性 ACE 基因 DI 型频率最高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );男性与女性等位基因频率差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 济南战区陆勤干部男性与女性 ACE 基因多态性的比较

组别	n	基因型[n(%)]			等位基因频率(%)	
		DD	ID	II	D	I
女性	103	26(25.3)	37(35.9)	40(38.8)	0.42	0.58
男性	103	22(21.4)	52(50.5) <sup>a</sup>	29(28.1) <sup>a</sup>	0.46	0.54
总体	206	48(23.3)	89(43.2)	69(33.5)	0.44	0.56

<sup>a</sup>: $P < 0.05$ ,与男性比较。

**2.3 济南战区陆勤干部 ACE 基因分布情况** 总体 ACE 基因 DD 型 23.3%,ID 型占 43.2%,II 型占 33.5%,D 和 I 等位基因频率分别为 0.44 和 0.56;济南战区陆勤干部女性 ACE 基因 II 型频率最高,而男性 ACE 基因 ID 型频率最高,二者间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );济南战区陆勤干部男性与女性等位基因频率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 3 讨 论

21 世纪是一个分子生物学的世纪,人们对疾病的研究进入到分子阶段,基因研究在其研究中扮演重要角色。由于

ACE 广泛存在于脉管系统内,因此认为全身各个系统中都有 ACE 的存在,即 ACE 在每个系统中都发挥作用。肾素-血管紧张素(RAS)系统是一种参与心血管功能与体液调节的重要内分泌系统。ACE 是 RAS 的关键酶之一,主要位于血管内皮细胞内,同时以循环形式存在于几种生物体液中,成人血浆 ACE 水平非常稳定、并与许多环境、代谢因素和激素水平无关,但个体之间可达 5 倍差别<sup>[5]</sup>。

近年研究表明机体 ACE 水平受遗传控制即受控于 ACE 基因,并且发现 ACE 遗传变异与体内某些系统疾病的发生相联系,其多态性与多种血管疾病有关<sup>[6-7]</sup>。例如 1998~1990 年,欧洲组织认为 ACE I/D 多态性为 MI 的一项独立的危险因素且无种族、地区间差异<sup>[8]</sup>。ACE DD 等位基因的个体缩血管作用比较强,体内各系统疾病的发生在很大程度上与 ACE DD 基因型呈正相关<sup>[9]</sup>。同时国内也有 ACE 基因多态性与某些疾病相关性的报道。

大量研究表明,不同种族间 ACE 基因 I/D 多态性的分布是不同的。欧美人群中以 ID 型频率最高,以 II 型频率最低,而日本人群调查结果显示,II 型频率最高,DD 型频率最低,II>I>DD<sup>[10-11]</sup>。本研究发现:济南战区陆勤干部与日本正常人群 ACE 基因型分布和等位基因频率无明显差异;而与欧美正常人群 ACE 基因型分布和等位基因频率有明显差异;济南战区陆勤干部 ACE 基因多态性以 II 型和 I 型等位基因占优势。

ACE 基因多态性为很多疾病遗传机制方面提供了新思路<sup>[12]</sup>,鉴于此,本研究对高危人群进行 ACE 基因调查,这对于早期发现和及时预防某些相关疾病有十分重要的意义。中国是个多民族国家,研究基因的多态性显得尤为重要,它不仅为疾病的预防提供依据,而且为整个民族身体素质的提高提供了基因分子基础。

## 参考文献:

- [1] Bernstein KE, Shen XZ, Gonzalez-Villalobos RA, et al. Different in vivo functions of the two catalytic domains of angiotensin-converting enzyme (ACE) [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2011, 11(2): 105-111.
- [2] Ahmed AZ, El-Shahaly HA, Omar AS, et al. Patterns of angiotensin converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism among an Egyptian cohort of patients with rheumatoid arthritis [J]. *Int J Rheum Dis*, 2013, 16(3): 284-290.
- [3] Mathew J, Basheeruddin K, Prabhakar S. Differences in frequency of the deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene in different ethnic groups [J]. *Angiology*, 2001, 52(6): 375-379.
- [4] Bray PF, Cannon CP, Goldschmidt-Clermont P, et al. The platelet P1 (A2) and angiotensin-converting enzyme (ACE) D allele polymorphisms and the risk of recurrent events after acute myocardial infarction [J]. *Am J Cardiol*, 2001, 88(4): 347-352.
- [5] Alence-Gelas F, Richard J, Courban D, et al. Distribution of plasma angiotensin-converting enzyme(下转第 4389 页)

期,均以无排卵为多见,其次为小卵泡排卵及卵泡黄素化未破裂,对无排卵者及小卵泡破裂者均可通过促排卵治疗得到解决<sup>[12]</sup>。卵泡未破裂黄素化者,可于卵泡成熟之时予 HCG 5 000~10 000 U 肌肉注射促进卵泡的进一步成熟及排出,无效者还可采取 B 超引导下经阴道刺破卵泡的方法使卵子排出,以增加受孕的机会<sup>[13-14]</sup>,若仍无效可考虑行宫腔内配子移植(gametes intrauterine transfer, GIUT)<sup>[15]</sup>体外受精-胚胎移植(in vitro fertilization and embryo transfer, IVF-ET)助孕治疗。

#### 参考文献:

- [1] 李治安. 临床超声诊断学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2003.
- [2] 王慧春,刘慧文,刁艳霞,等. 阴道 B 超监测不明原因反复自然流产患者排卵的临床意义[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(19):2973-2975.
- [3] Thessaloniki ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome[J]. Fertil Steril, 2008, 89(3):505-522.
- [4] Thessaloniki ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome[J]. Hum Reprod, 2008, 23(3):462-477.
- [5] Tredway D, Schertz JC, Bock D, et al. Anastrozole vs. clomiphene citrate in infertile women with ovulatory dysfunction: a phase II, randomized, dose-finding study[J]. Fertil Steril, 2011, 95(5):1720-1724.
- [6] Johnson NP, Bontekoe S, Stewart AW. Analysis of factors predicting success of metformin and clomiphene treatment for women with infertility owing to PCOS-related ovulation dysfunction in a randomised controlled trial[J]. Aust

N Z J Obstet Gynaecol, 2011, 51(3):252-256.

- [7] 赵军招,叶碧绿,林金菊,等. 二甲双胍在多囊卵巢综合征促排卵治疗中的作用[J]. 中华妇产科杂志, 2011, 38(9):545-548.
- [8] 周晓也,张建云. 二甲双胍对多囊卵巢综合征促排卵治疗的疗效分析[J]. 中国药物与临床, 2004, 4(8):635-636.
- [9] Casper RF, Mitwally MF. A historical perspective of aromatase inhibitors for ovulation induction[J]. Fertil Steril, 2012, 98(6):1352-1355.
- [10] Zadehmodares S, Niyakan M, Sharafy SA, et al. Comparison of treatment outcomes of infertile women by clomiphene citrate and letrozole with gonadotropins underwent intrauterine insemination [J]. Acta Med Iran, 2012, 50(1):18-20.
- [11] 王婕,赵丽萍,牟红新,等. 来曲唑联合促性腺激素用于行宫腔内人工授精的排卵障碍者的促排卵研究[J]. 生殖与避孕, 2009, 29(8):551-553.
- [12] 张利群,蔡知天,王艳丽,等. 卵泡黄素化不破裂综合征发生的相关因素及早期预测[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(25):3881-3882.
- [13] 李春洋,程静,吕杰强,等. 经阴道卵泡穿刺与孕激素治疗未破裂卵泡黄素化综合征临床结局的研究[J]. 中国妇幼保健, 2010, 25(19):2702-2703.
- [14] 戴芳芳,王春梅,郑波,等. 卵泡刺破治疗黄素化未破裂卵泡综合征不孕[J]. 中国优生与遗传杂志, 2009, 17(8):105-106.
- [15] 薛惠英,冯播,左阳花. 宫腔内配子移植治疗黄素化未破裂卵泡综合征所致不孕症疗效观察[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(6):871-872.

(收稿日期:2013-08-31 修回日期:2013-10-10)

(上接第 4386 页)

- levels in healthy men: relationship to environmental and hermonal parameters[J]. J Lab Clin Med, 1991, 117(1):33-99.
- [6] Martinez-Quintana E, Jaimes-Vivas R, Cuba-Herrera J, et al. Acute myocardial infarction secondary to catecholamine release owing to cocaine abuse and pheochromocytoma crisis[J]. Int J Endocrinol Metab, 2013, 11(1):48-51.
  - [7] Musial DC, Silva Júnior ED, da Silva RM, et al. Increase of angiotensin-converting enzyme activity and peripheral sympathetic dysfunction could contribute to hypertension development in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. Diab Vasc Dis Res, 2013, 10(6):498-504.
  - [8] Cambien F, Poirier O, Lecerf L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction[J]. Nature, 1992, 359(6396):641-644.

- [9] Sagnella GA, Rothwell MJ, Onipinia AK, et al. A population study of ethnic variations in the angiotensin-converting enzyme I/D polymorphism; relationships with gender, hypertension and impaired glucose metabolism [J]. Hypertens, 1999, 17(5):664-675.
- [10] Gayagay G, Yu B, Hambly B, et al. Elite endurance athletes and ACE I allele-the role of Genes in athletic performance[J]. Hum genet, 1998, 103(1):48-50.
- [11] Myerson S, Hemingway H, Budget R, et al. Human Angiotensin I-Converting Enzyme Gene and Endurance Performance[J]. J Appl Physiol, 1999, 87(4):1313-1316.
- [12] Jiang T, Gao L, Lu J. ACE2-Ang-(1-7)-Mas Axis in Brain; A Potential Target for Prevention and Treatment of Ischemic Stroke[J]. Curr Neuropharmacol, 2013, 11(2):209-217.

(收稿日期:2013-09-08 修回日期:2013-10-11)