

醛固酮合成酶基因多态性与肥厚型心肌病相关性研究

陈爱华¹ 张文秀¹ 李志樑¹ 唐晓明¹ 陆青¹ 钱学贤¹ 李留洋¹ 孙家珍² 第一军医大学珠江医院心内科袁广东 广州 510282 广东省心血管病研究所袁广东 广州 510100 冤

摘要目的 观察中国华南地区汉族人群醛固酮合成酶 CYP11B2 基因 -344C/T 多态性与肥厚型心肌病 HCM 的相关性遥方法 以 15 例 HCM 患者和 18 例正常对照为研究对象袁采集血样本并提取白细胞和基因组 DNA 遥应用 PCR 限制性内切酶方法检测 CYP11B2 基因的多态性分布遥结果 HCM 组 CYP11B2 基因 -344C/T 多态性与对照组比较袁 T 基因型分布有显著性差异遥结论 CYP11B2 基因 -344CT 基因型可能是部分人群 HCM 发生的因素之一遥

关键词 甾类羟化酶类 多态现象 心肌病 肥大性

中图分类号 R345.47;R392.2;R542.2 文献标识码 文章编号 000-2588(2002)08-0704-03

Association between aldosterone synthase gene polymorphism and hypertrophic cardiomyopathy
CHEN Ai-hua¹, ZHANG Wen-xiu¹, LI Zhi-liang¹, TANG Xiao-ming¹, LU Qing¹, QIAN Xue-xian¹, LI Liu-yang¹, SUN Jia-zhen²

¹Department of Cardiology, Zhujiang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510282, China; ²Institute of Cardiovascular Diseases of Guangdong Province, Guangzhou 510100, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphism and hypertrophic cardiomyopathy (HCM). Methods Fifteen HCM patients and 18 healthy subjects were enrolled in this study. Peripheral blood samples were collected from these subjects to extract genome DNA. PCR and Hae III restriction endonuclease digestion were employed to study -344C/T polymorphism of CYP11B2 gene. Results CYP11B2 genes showed a significant difference in CT genotype distribution in HCM groups as compared with that in the control groups ($P < 0.05$). Conclusion CT genotype of CYP11B2 gene may be one of factors responsible for the pathogenesis of HCM in a proportion of patients.

Key words: steroid hydroxylases; gene polymorphism; cardiomyopathy, hypertrophic

肥厚型心肌病 HCM 是常染色体显性遗传性疾病袁呈家族性或散发性发病袁预后较差袁首位死亡原因为猝死袁 50% 袁主要死于恶性心率失常遥目前认为 HCM 与多种基因突变有关袁其中肾素 - 血管紧张素 - 醛固酮系统参与介导心肌细胞增殖袁刺激心肌胶原合成和成纤维细胞增生袁导致心肌肥厚和纤维化^[1-5]遥所以编码该系统的各个基因就成为研究心肌肥厚和 HCM 遗传基础的基因遥本研究探讨醛固酮合成酶 CYP11B2 基因 -344C/T 多态性与 HCM 的关系遥观察 CYP11B2 基因 -344C/T 多态性是否影响 HCM 肥厚基因型的表达遥

1 对象和方法

1.1 研究对象

HCM 组选自我院心内科住院病人袁符合 HCM 诊断标准袁下述超声诊断指标袁排除其他心血管内分泌及脑血管疾病袁共 15 例袁男 10 例袁女 5 例袁年龄 3.5 依 6.4 岁遥

正常对照组随机选择我院门诊健康查体者袁询问病史袁体检袁实验室检查袁心电图及 X 线检查袁排除各类心血管内分泌及脑血管等疾病袁 18 例袁男 11 例袁女 7 例袁年龄 2.2 依 5.4 岁遥

1.2 实验材料

PCR 反应缓冲液尧脱氧核糖三磷酸 NTP尧 Taq DNA 聚合酶尧 IAamp DNA Kit 均为 Gene 公司产品袁 Hae III 限制性内切酶尧 UC19 DNA Marker 为 MBI 公司产品袁 00bp DNA Marker 为 New England 公司产品遥

1.3 实验方法

1.3.1 测定性别尧年龄尧血压等指标

1.3.2 心室肥厚的检测 采用 128XP Acuson 超声心动图仪尧美国 Acuson 公司袁应用 M 型超声心动图袁按 Sahn 等^[6]描述的标准方法测量舒张末期室间隔厚度 VST 尧舒张末期心室后壁厚度 VPWT 尧每个测量 3 次袁取平均值遥 HCM 诊断标准 VST 和 LVPWT ≥ 12 mm 且 IVST \geq VPWT 1.3 岁遥

1.3.3 基因组 DNA 的提取 采用 DNA Blood Mini Kit 尧 Gene 公司袁按说明书进行操作遥

1.3.4 CYP11B2 基因 -344C/T 多态性检测

1.3.4.1 引物的合成 根据 Kupari 等^[7]提供的序列袁由赛百盛公司合成引物遥上游序列 CAGGAGGAG

收稿日期 001-11-14

基金项目 广东省自然科学基金 0420 冤 1999 年军队回国人员启动基金

作者简介 陈爱华 1956- 冤男袁湖南衡阳人袁 1983 年毕业于第四军医大学袁士教授袁主任医师袁电话 20-61643016 袁 mail: chenaha@21cn.com

ACCCCATGTGAC3'下游序列随 CCT CCA CCC TGTTCAGCCC3'遥

1.3.4.2 目的基因扩增 PCR 反应体系 30 滋袁含有 10伊buffer3滋袁5mmol/L 的 MgCl₂ 1.2滋袁0mmol/L dNTP0.6滋袁上游引物和下游引物各 1滋袁aqDNA 聚合酶 1 U袁菌去离子水 22.2滋袁NA 模板 1滋袁扩增条件为 94 益预变性 5min 后袁进入 94 益变性 60 s袁 68 益退火 60 s袁2 益延伸 60 s袁共 35 个周期袁最后 72 益延伸 5min遥PCR 产物经 1.5%琼脂糖凝胶及 100V 电压持续电泳 30min遥紫外灯下观察电泳带遥

1.3.4.3 基因型检测 限制性酶切反应体系 30 滋袁包 含 PCR 扩增产物 10 滋袁Iae 芋内切酶 1 滋袁0伊buffer 3 滋袁菌去离子水 16 滋袁酶切条件为 37 益 2 h遥产物 经 2.5%琼脂糖凝胶及 70V 电压电泳 2.5 h遥紫外灯 下观察电泳带袁进行基因型分析遥

1.4 统计学分析

应用 SPSS 统计软件渊000 年版冤对资料进行分析处理遥临床参数组间比较采用 ANOVA 分析袁基因型及等位基因频率分布采用卡方检验遥

2 结果

2.1 HCM 组和对照组临床特征比较

两组间性别构成尧年龄及血压均无显著性差异 渊>0.05冤遥

2.2 CYP11B2 基因 -344C/T 多态性分析

CYP11B2 基因全长 537 bp渊图 1冤袁其变异是在 转录调节区 -344 部位发生胸腺嘧啶 渊冤与胞嘧啶 渊冤的互换袁即 T344C遥因 -344T 等位基因缺乏存在 于 -344C 等位基因上的 Hae 芋酶切位点袁所以酶切 后产生 202bp 的片段袁即 CC 型袁若不含酶切位点则 产生 273bp 的片段袁即 TT 型袁酶切后产生 202 和 273bp 片段为 CT 型遥各基因型均含有多个小片段 渊图 2冤袁与国外文献报道一致遥

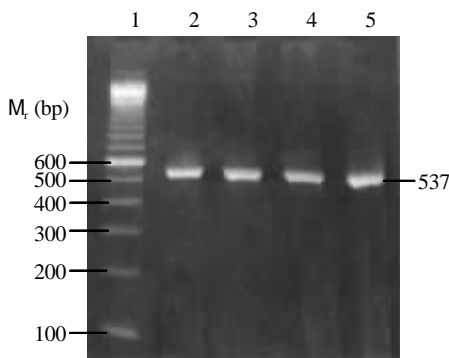


图 1 PCR 扩增 CYP11B2 基因的电泳图

Fig.1 Electrophoresis of CYP11B2 gene amplified by PCR Lane1:100bpDNAmarker;Lane2-5:CYP11B2 gene(537bp)

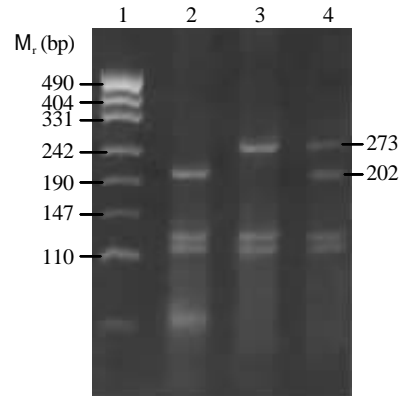


图 2 CYP11B2 基因 -344C/T 多态性的电泳图

Fig.2 Electrophoresis of CYP11B2 gene -344C/T polymorphism

Lane1:PUC19DNAMarker;Lane2:CCgenotype(202bp);Lane3: TTgenotype(273bp);Lane4:CTgenotype(273+202bp)

2.3 HCM 组和对照组 CYP11B2 基因型和等位基因 频率比较

HCM 组 CYP11B2 基因 -344C/T 多态性与对照 组相比袁T 基因型分布有显著性差异 渊<0.05冤袁表 1 冤遥

表 1 HCM 组与对照组间 CYP11B2 和等位基因频率的比较 Tab.1 CYP11B2 genotype and allele frequencies in HCM and control groups

	Controlgroup (n=18)	HCMgroup (n=15)	P
Genotypefrequency			
TT	10(0.56)	4(0.27)	0.095
CT	7(0.39)	11(0.73)	0.048
CC	1(0.05)	0(0.00)	
Allelefrequency			
C	9(0.25)	11(0.37)	0.304
T	27(0.75)	19(0.63)	

HCM:Hypertrophiccardiomyopathy

3 讨论

CYP11B2 是醛固酮合成的关键酶袁它是一种线 粒体内细胞色素 p450 氧化酶袁主要分布在肾上腺皮 质球状带袁相应的基因位于 8 号染色体上渊q22冤遥 CYP11B2 与一个编码类固醇 11 茁羟化酶的相关基 因相邻遥11 茁羟化酶是皮质醇生物合成所需要的酶袁 CYP11B2 有两种常见的基因变异院一是转录调节区 在 -344 部位袁一个被公认为 steroidogenicfactor-1 结 合位点袁发生胞嘧啶与胸腺嘧啶的互换袁另一个变异 为发生在第 2 个内含子的一种基因变换遥血浆醛固 酮水平不仅受血容量尧钾水平及肾素 - 血管紧张素 系统活力影响袁而且受 CYP11B 基因 -344C/T 多态性 的影响遥不同种族其多态性分布不同袁日本正常人群 T 和 C 等位基因频率分别为 0.68 和 0.32袁袁我国正 常人群一致遥袁而高加索白人正常人群 T 和 C 等位

基因频率分别为 0.53 和 0.47^响

关于肾素 - 血管紧张素 - 醛固酮系统内各基因多态性与 HCM 的关系袁日本人研究得较多遥 Ishanov 等^响研究认为血管紧张素源 T235 可能是 HCM 肥厚心肌的预测因子曰 Yoneya 等^响和 Kawaguchi 等^响均研究发现单发型 HCM 可能由基因位点决定袁 ACE 基因的 D 等位基因可能是心肌肥厚的预测因子遥但是 Patel^响证明心肌肥厚与 CYP11B2 基因 -344C/T 尧白介素 -6 尧胰岛素样生长因子 -2 尧转换生长因子 -茁 等的多态性无相关关系袁发现肿瘤坏死因子 -琢 AA 型可能是 HCM 的修饰基因遥

通过比较 HCM 组与对照组 CYP11B2 基因 -344C/T 多态性分布袁我们发现 HCM 组中 CT 的频率渊3% 冤明显高于对照组渊9% 冤袁 CT 基因型在两组间的分布频率有显著性差异 渊<0.05 冤袁提示 CYP11B2 基因 -344CT 基因型可能是个体对心室肥厚的易感性因素之一遥本文与 Patel^响的报道不一致袁可能与入种差异或例数偏少袁也可能与当前对 HCM 的成因和环境因素尚未完全清楚有关遥至于 CYP11B2 基因 -344C/T 多态性与 HCM 相关性的机制目前还不清楚袁动物实验揭示醛固酮可通过心肌细胞上的盐皮质激素受体而直接作用于动物心脏袁刺激心肌胶原合成和成纤维细胞增生袁导致心肌肥厚和纤维化^响

本研究结果对于 HCM 发病的遗传背景提供了一些有益的新认识袁但例数偏少袁自信随着样本数增加和研究的深入渊家族调查冤可能会找到 HCM 散发或家族遗传的相关基因遥

参考文献院

响暂 BrillaCG, MatsubaraLS, WeberKT. Anti-aldosterone treatment and the prevention of myocardial fibrosis in primary and secondary hyperaldosteronism 响暂 MolCellCardiol, 1993, 25(5):563-75.
响暂 YoungM, FullertonMJ, DilleYR, et al. Mineralocorticoids, hyperten-

sion and cardiac fibrosis 响暂 Clin Invest, 1994, 93(6):2578-83.
响暂 DzauVJ. Local expression and pathophysiological role of rennin-angiotensin in the blood vessels and heart 响暂 BasicResCardiol, 1993, 88(Suppl1):1-14.
响暂 KatwaLC, RatajaskaA, CleutjensJP, et al. ACE and kininase-II-like activities in cultured valvular interstitial cell of the heart 响暂 CardiovascRes, 1995, 29(1):57-64.
响暂 BrillaCG, MaischB. Regulation of the structural remodeling of the myocardium: from hypertrophy to heart failure 响暂 EurHeartJ, 1994, 15(Suppl):D45-52.
响暂 SahnD, DemaraoA, KissloJ, et al. The committee on M-mode standardization of the American Society of Echocardiography: results of a survey of echocardiographic measurements 响暂 Circulation, 1978, 58(6):1072-83.
响暂 Kupari M, HautanenA, Lankinen L, et al. Associations between human aldosterone synthase gene polymorphisms and left ventricular size, mass and function 响暂 Circulation, 1998, 97(6):569-75.
响暂 BrandE, ChatelainN, MulateroP, et al. Structural analysis and evaluation of the aldosterone synthase gene in hypertension 响暂 Hypertension, 1998, 32(2):198-204.
响暂 TamakiS, IwaiN, TsujitaY, et al. Genetic polymorphism of CYP11B2 gene and hypertension in Japanese 响暂 Hypertension, 1999, 33(1 Pt2):266-70.
响0 暂 陈爱华, 张文秀, 陆青, 等. CYP11B2 和 ACE 基因多态性与高血压病的相关性研究 响暂 解放军医学杂志, 2001, 26(增刊):129-30.
响1 暂 HautanenA, ToivanenP, ManttariM, et al. Joint effect of an aldosterone synthase gene polymorphism and classic risk factors on risk of myocardial infarction 响暂 Circulation, 1999, 100(22):2213-8.
响2 暂 Ishanov A, Okamoto H, Yoneya K, et al. Angiotensinogen gene polymorphism in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy 响暂 AmHeartJ, 1997, 133(2):184-9.
响3 暂 YoneyaK, OkamotoH, MachidaM, et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy 响暂 AmHeartJ, 1995, 130(5):1089-93.
响4 暂 KawaguchiH. Evaluation of cardiac function by biochemical and molecular biological techniques 响暂 KinshoByori, 1998, 46(4):354-8.
响5 暂 Patel R, LimDS, ReddyD, et al. Variants of trophic factors and expression of cardiac hypertrophy in patients with hypertrophic cardiomyopathy 响暂 MolCellCardiol, 2000, 32(12):2369-77.

责任编辑 黄开颜 冤

减少癌症发生的酶

苏格兰和威尔士研究人员发现缺少 MBD4 酶的小鼠更易患癌症袁该研究可能表明 MBD4 在减少人类癌症发病上也发挥同样重要的作用遥在哺乳动物中袁 MBD4 是遗传修复工尧要要修补 DNA 的突变热点片段袁即变异最频繁而导致遗传病和癌症发生的片段遥 CatherineB. Millar 和她的研究小组发现缺少 MBD4 酶小鼠发生破坏性变异的几率是正常小鼠的 3 倍遥当该缺陷型小鼠与有患癌症倾向的小鼠交配后袁其后代患结肠癌的几率要比正常小鼠高得多遥然而缺少 MBD4 的小鼠变异修复率仍保持在 88% 袁表明 MBD4 并不是唯一的野理工尧