

· 信息研究 ·

血管紧张素 II 1 型受体基因多态性等多个因素与高血压左室重构的 Logistic 回归分析

王成山¹, 方明², 彭健¹, 彭澍³

(1. 中山大学 附属第五医院心内 II 科, 广东 珠海 519000; 2. 广东省人民医院急危重症医学部, 广东 广州 510080; 3. 暨南大学附属第三医院分子生物中心, 广东 珠海 519000)

摘要:【目的】探讨血管紧张素 II-1 型受体基因多态性等多个因素对高血压病患者左室重构的影响。【方法】测定 148 名高血压病患者血压、身高、体重、空腹血糖、总胆固醇、甘油三酯浓度; 测定高血压病患者的左室重量指数并记录病程; 多聚酶链式反应-限制性酶切法鉴定血管紧张素 II-1 型受体基因 1166 位点基因型; 用 Logistic 回归方法分析上述因素对左室重构的影响。【结果】回归方程表明, 血管紧张素 II-1 型受体 1166AC 基因型、收缩压水平、病程及血清胆固醇含量与高血压患者左室重构成正相关, OR 值分别为 3.216, 3.218, 5.327, 2.076。【结论】血管紧张素 II-1 型受体 1166 C 等位基因、收缩压、病程及血清胆固醇含量是高血压患者左室重构的危险因素。

关键词: 高血压; 左室重构; Logistic 回归; 血管紧张素; 受体; 多态性

中图分类号: R544.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2004)02- 封 2-04

The Logistic Regression Analysis of Multiple Risk Factors of Hypertensive Left Ventricular Remodeling

WANG Cheng-shan¹, FANG Ming², PENG Jian¹, PENG Shu³

(1. Department of Cardiology, The Fifth Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Zhuhai 519000, China; 2. Emergency Department of Guangdong Provincial People's Hospital, Guangzhou 510080, China; 3. Molecular Biological Center of the Third Hospital of Jinan University, Zhuhai 519000, China)

Abstract: 【Objective】To investigate the relationships between hypertensive left ventricular remodeling and those risk factors such as the polymorphism of angiotensin II type 1 receptor (AT1R) gene. 【Methods】Blood pressure, body mass index, fasting serum glucose, serum total cholesterol and triglyceride, left ventricular mass index and course were measured in 148 hypertensives. Polymerase chain reaction combined with restriction enzyme digestion was used to determine the polymorphism of the 1166 site of AT1R gene. The relationships between hypertensive left ventricular remodeling and risk factors were analyzed by Logistic regression. 【Results】The 1166 AC genotypes of AT1R gene, course, serum total cholesterol and systolic pressure were related to left ventricular remodeling, with an OR of 3.216, 3.218, 5.327 and 2.076 respectively. 【Conclusions】The 1166 C allele of AT1R gene, course, serum total cholesterol and systolic pressure are the risk factors for left ventricular remodeling in hypertensive.

Key words: hypertension; hypertensive left ventricular remodeling; Logistic regression analysis; angiotensin; receptor; polymorphism

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci) 2004 25(2) 封 2, 190-192]

(下转第 190 页 to page 190)

收稿日期 2003-08-11

基金项目 广东医学科技研究基金资助项目 (A2000632)

作者简介 王成山 (1958-) 男, 广东湛江人, 学士, 副主任医师. E-mail: wangchengshan@163.com

(上接封 2 from inside front cover)

左室重构是高血压病常见的病理变化和并发症。近年研究显示,高血压左室重构是心脏事件重要的独立危险因素,与心律失常、猝死、心力衰竭等紧密相关。既往认为,左室重构发生主要是较高的体循环压力长期作用于心血管的积累效应。随着研究不断深入,特别是分子生物学在临床的应用,神经-内分泌-细胞因子的激活在左室重构发生发展中的作用越来越受到重视;其中血管紧张素Ⅱ(angiotensin Ⅱ, Ang Ⅱ)及其 1 型受体蛋白(angiotensin Ⅱ type 1 receptor, AT1R)的作用,受到广大学者的密切关注^[1],提示高血压左室重构可能是多重危险因素共同作用下的结果。本研究用非条件 Logistic 回归模型分析影响高血压患者左室重构的多重危险因素,试图揭示左室重构的致病因子,为该疾病的个体化预防和干预提供依据。

1 对象与方法

1.1 对象

高血压患者 148 例,来源于 2001 年 8 月至 2002 年 6 月珠海市人民医院和中山大学附属第五医院心血管专家门诊病人和心内科住院病人,男 86 例,女 62 例,根据 1999 年 WHO/ISH 的诊断标准诊断高血压并作分级,纳入 1~2 级高血压(140~179/90~109) mmHg,排除继发性高血压、严重肝肾功能损害、糖尿病、冠心病、其他心血管疾病。所有患者为广东籍汉族,年龄(54±11)岁。

1.2 一般临床资料

测定血压(SBP、DBP)、体质量指数(BMI)、空腹血糖(BS)、总胆固醇(TC)、甘油三脂(TG)浓度,记录病例的病程。

1.3 测定病例组左室重量指数

左室质量指数(LVMI)=左室质量(LVM)/体表面积(S)。采用 HP 2000 彩色多普勒显像仪,探头频率为 2.5 MHz,在胸骨旁左室长轴行 M 超检查,测定舒张末期的室间隔厚度(IVST)、左室后壁厚度(LVPWT)、左室内径(LVDD),按照 Devereux 公式计算 LVM: $LVM(g) = 1.04 \times [(LVDD + IVST + LVPWT)^3 - LVDD^3] - 13.6$; S 按照如下公式计算^[2]: $S(m^2) = 0.0061 \times \text{身高} + 0.0124 \times \text{质量} - 0.0099$ 。参照 Ganau 的方法,将男性 $LVMI \geq 126 g/m^2$,女性 $LVMI \geq 118 g/m^2$ 定义为左室重构。

1.4 DNA 的提取

取肝素抗凝静脉血 2 mL,白细胞分离,低渗溶血,酚/氯仿法提取人血白细胞基因组 DNA,TE 溶解,-20℃保存待测。

1.5 目的片段的 PCR 扩增

上游引物:5'-CACCATGTTTTGAGGTTG-3',下游引物:5'-CGAGTTTCTGACATTGTTG-3'。PCR 反应体系总体积 20 μL,其中模板 DNA 1 μL,上、下游引物各 0.35 μmol/L, dNTP 200 μmol/L, Taq 酶 2 U(上海生工公司), 10×buffer(随购 Taq 酶缓冲液) 2 μL。应用 PE-2400 全自动基因扩增仪,PCR 反应参数为:95℃预变性 5 min,55℃(加入 Taq 酶)退火 3 min,72℃延伸 2 min,循环 1 次,然后 94℃变性 50 s,55℃退火 1 min,72℃延伸 1 min,循环 35 次,最后 72℃延伸 10 min,4℃保存。扩增产物通过 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳,EB 染色,紫外灯下检测。

1.6 PCR 产物的酶切

酶切体系总体积 20 μL,其中 PCR 产物 10 μL,限制性内切酶 DdeI 5 U,10×buffer(随购 DdeI 酶缓冲液) 2.5 μL,灭菌去离子双蒸水 7 μL,35℃下反应 20 h。产物通过 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳约 30 min,EB 染色,紫外灯下拍照。

1.7 基因型判断

PCR 扩增产物为 274 bp 的片段。AT1R 基因 1166 位点的 A 碱基如被 C 替代,则出现 1 个限制性酶切位点,可被限制性内切酶 DdeI 水解。酶切后的电泳带在紫外灯下鉴定,如两等位基因均无酶切位点,可见 1 条 274 bp 的荧光带,定义为无突变的纯合子 AA 型;均有酶切位点,可产生 2 条带(165 bp 和 109 bp),定义为有突变的纯合子 CC 型;仅 1 个等位基因含有酶切位点,则产生 3 条带(274 bp,165 bp,109 bp),定义为部分突变的杂合子 AC 型。

1.8 统计学处理

通过 SPSS 8.0 统计软件,采用 Logistic 回归方法分析病例组内基因型、病程、血压、血脂等因素与 LVMI 的关系,检验水准 α 取 0.05。

2 结果

检测出 3 种 AT1R-1166 位点基因型:AA、AC、CC(图 1)。其中 AC 型 27 例,CC 型 3 例。由于

本课题 CC 型者较少,且主要研究 C 等位基因对观察指标的影响,故将 AC 与 CC 组合并计数进行卡方检验。

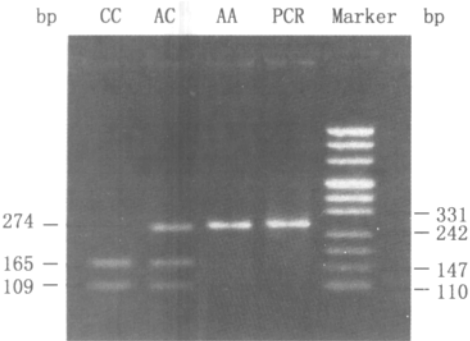


图 1 Dde 1 酶切后的 AT1R 基因片段

Fig. 1 AT1R gene fragment after being cut by Dde1

AA, AC, CC: three genotypes of the 1 166 site of AT1R gene;
PCR: AT1R gene fragment after polymerase chain reaction

148 例病例中有左室重构者 69 例。按是否有左室重构分组,卡方检验和方差分析两组基因型分布及临床指标的差异,见表 1。经卡方检验,两组基因型分布有统计学差异 ($\chi^2 = 4.223, P = 0.040$); 两组间 BMI、SBP、病程、TC 有统计学差异 ($F = 7.69、9.221、4.776、5.253, P = 0.021、0.011、0.030、0.028$)。

以基因型 (x_1)、SBP 水平 (x_2)、病程 (x_3)、TC (x_4) 水平、BMI (x_5) 作为自变量,以是否发生左室

表 1 左室重构组与非左室重构组基因型分布和临床资料
Table 1 Comparison of genotype distribution and clinical data between left ventricular remodeling group and non-left ventricular remodeling group

	Left ventricular remodeling group	Non-left ventricular remodeling group
AA	50	68
AC/CC	19	11
BS (mmol/L)	5.36 ± 0.65	5.21 ± 0.73
BMI (kg/m ²)	26.52 ± 2.51	24.93 ± 2.05
SBP (mmHg)	165.84 ± 10.59	160.21 ± 13.37
DBP (mmHg)	94.63 ± 9.23	92.34 ± 8.54
Course (year)	5.43 ± 4.89	3.90 ± 3.61
TG (mmol/L)	2.11 ± 1.03	1.93 ± 1.21
TC (mmol/L)	6.14 ± 1.73	5.62 ± 1.58

重构为应变量,并定义计数资料 x_1 为分类变量, $x_2 \sim 5$ 为计量资料,逐步引入剔除法建立 Logistic 回归模型,进行多因素分析(表 2),结果 $x_1 \sim 4$ 被引入方程,表明 AC 基因型、SBP 水平、病程、TC 水平均参与增加高血压患者左室重构的发生概率,其中 $x_2 \sim 4$ 与发病的相对危险度 (OR) 分别为 3.218、5.327、2.026;以 AA 型作为对照,AC 型与发病的 OR 为 3.216,均可看作为高血压左室重构的危险因素。CC 型 OR 为 2 280.94, $P = 0.798$, BMI 的 OR 为 1.950, $P = 0.815$,被剔除。

表 2 高血压左室重构影响因素的 Logistic 回归

Table 2 Logistic regression analysis of multiple risk factors of hypertensive left ventricular remodeling

Variable	B	S. E	df	Sig	OR	OR 95% CI	
						Lower	Upper
Genotype (x_1)			2	0.022			
genotype1	1.212	0.411	1	0.035	3.216	1.195	9.753
genotype2	6.626	21.680	1	0.798	2 280.94		
SBP (x_4)	0.213	0.072	1	0.012	3.218	1.331	7.309
Course (x_5)	0.762	0.057	1	0.033	5.327	2.715	15.043
TC (x_6)	1.346	0.283	1	0.027	2.076	1.550	6.548
Constant	-13.502	4.925	1	0.011			

genotype1 = AC, genotype2 = CC

3 讨 论

高血压患者因心脏的前后负荷增加,血液动力学改变伴随神经内分泌异常,左室出现伴有组织学改变的心壁肥厚以及心腔扩大,此过程即为左室

重构。现有的研究显示,血流动力学本身及其动态变化、肾素-血管紧张素系统以及遗传背景等因素均参与左室重构的形成,而国内外相关研究的统计学分析大多应用单因素方差或卡方检验,往往不能控制其它混杂因素,而影响研究结果的准确性。

Logistic 回归模型是分析疾病与致病因子间联系的

重要统计方法,能对混杂因素进行较好控制,更全面而确切地反映各因素对重构的影响程度。

本研究以 LVMI 作为左室重构的指标,以各临床因素和遗传背景作为自变量,建立非条件 Logistic 回归模型。结果发现,高血压左室重构的发生与收缩压的水平以及病程的长短有关,这表明压力负荷本身以及其作用的时间对左室的形态改变产生作用。研究显示^[3],高血压左室重构因为心脏的前后负荷增加,血液动力学改变伴随神经内分泌异常引起,而这些因素作用的时间与程度对该病理过程的影响必然是重要的。本研究中,AT1R 基因 1166 位 AC 基因型也作为危险因素之一出现在回归方程内。AT1R 是肾素-血管紧张素系统级联反应最后作用于靶细胞的共同通路,实验发现,过度表达 AT1R 的心肌细胞即能出现心肌肥厚和重构效应^[4]。新近的研究表明,Ang II 能在 AT1R 的介导下,直接与转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)、基质金属蛋白酶/金属蛋白酶组织抑制因子(MMPS/TIMPS)、整合素 $\alpha_v\beta_3$ 等细胞因子协同,通过复杂的信号级联反应共同组成庞大的神经-内分泌-细胞因子网络,对重构的发生有重要意义^[5-8]。而不同的 AT1R 遗传背景对 AT1R 的功能存在影响。俄罗斯学者和我们最近的研究发现,AT1R 基因 1166 位点的 A/C 多态性与高血压左室重构存在相关性,携带 C 等位基因的患者更易发生左室重构^[9,10]。相对纯合子 AA 型,CC 型的 OR 为 2.280.94,但没有作为危险因素进入方程,可能是 CC 型数量过少造成的,扩大样本量有望得到更准确的结果。本研究的结果进一步提示,AT1R-1166 C 等位基因是高血压左室重构的危险因素,此对高血压左室重构的个体化预防和治疗筛选应有潜在的指导价值。

本研究发现血清 TC 也是高血压左室重构的危险因素之一。目前尚缺乏解释这一现象的理论基础。有研究发现,AT1R 基因多态性与血清 TC 水平亦有内在联系,AT1R 基因 1166 位点 AC/CC 基因型及 C 等位基因可增加高 TC 患者罹患高血压病的危险性,推测 TC 的这种相关性可能是 RAS 功能亢进的结果,而 TC 是否直接参与高血压左室重构的形成与发展尚需要进一步研究^[11,12]。

本研究结果表明,高血压左室重构的成因是多方面的,是血压、血脂水平等环境因素与遗传因素共同作用的结果,对高血压患者进行有效的降压及调脂等多重危险因素联合干预,将有望减少高血压

左室重构的发生与发展。

参考文献:

- [1] 方明,彭健. 血管紧张素 II-1 型受体与高血压左室重构[J]. 中国动脉硬化杂志, 2002, 10(5): 457-60.
- [2] 胡咏梅, 武晓洛, 胡志红, 等. 关于中国人体表面积公式的研究[J]. 生理学报, 1999, 51(1): 45-8.
- [3] Stanley A G, Knight A L, Williams B. Mechanical strain sensitizes human vascular smooth muscle cells to angiotensin II [J]. Am J Hypertens, 2000, 13(suppl): 12A-5A.
- [4] Paradis P, Dali-Youcef N, Paradis F W, et al. Overexpression of angiotensin II type I receptor in cardiomyocytes induces cardiac hypertrophy and remodeling [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(2): 931-6.
- [5] Kim S, Yoshiyama M, Izumi Y, et al. Effects of combination of ACE inhibitor and angiotensin receptor blocker on cardiac remodeling, cardiac function, and survival in rat heart failure[J]. Circulation, 2001, 103(1): 148-54.
- [6] Laviades C, Varo N, Diez J. Transforming growth factor β in hypertensives with cardiorenal damage [J]. Hypertension, 2000, 36(4): 517-22.
- [7] Varo N, Iraburu M J, Varela M, et al. Chronic AT1 blockade stimulates extracellular collagen type I degradation and reverses myocardial fibrosis in spontaneously hypertensive rats [J]. Hypertension, 2000, 35(6): 1197-202.
- [8] Graf K, Neuss M, Stawowy P, et al. Angiotensin II and $\alpha_v\beta_3$ integrin expression in rat neonatal cardiac fibroblasts [J]. Hypertension, 2000, 35(4): 978-84.
- [9] Chistiakov D A, Kobalova Z D, Tereshchenko S N, et al. Polymorphism of vascular angiotensin II receptor gene and cardiovascular disorders [J]. Ter Arkh, 2000, 72(4): 27-30.
- [10] 方明,彭健,龚五星,等. 血管紧张素 II-1 型受体基因多态性与高血压左室重构的相关研究[J]. 临床心血管病杂志, 2003, 19(2): 80-3.
- [11] Morisawa T, Kishimoto Y, Kitano M, et al. Influence of angiotensin II type 1 receptor polymorphism on hypertension in patients with hypercholesterolemia [J]. Clinica Chimica Acta, 2001, 304(1-2): 91-7.
- [12] 彭健,方明,龚五星. 血管紧张素 II-1 型受体基因多态性与不同胆固醇水平高血压病的相关性分析[J]. 中华医学杂志, 2003, 83(3): 249-51.

(编辑 黄小延)