

• 临床检验研究论著 •

特发性肺纤维化患者血管紧张素转换酶基因多态性与其血清浓度的关系*

尤雪剑¹, 张骞云², 刘 霞³, 王慧玲¹, 张海燕¹, 郭书芹¹, 许晓琳¹

(1. 沧州医学高等专科学校, 河北沧州 061001; 2. 沧州市中心医院, 河北沧州 061001;
3. 阜城县人民医院, 河北衡水 053700)

摘 要:目的 探讨特发性肺纤维化(IPF)患者血管紧张素转换酶(ACE)基因多态性与其血清 ACE 浓度的关系。方法 采用聚合酶链反应(PCR)技术检测 ACE 基因 I/D 多态性,应用 ELISA 法测定血清 ACE 的浓度。结果 IPF 患者的血清 ACE 浓度与对照组比较明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),其基因多态性与血清 ACE 水平有关,ACE 水平由高到低依次为:II 基因型、ID 基因型、DD 基因型。结论 ACE 基因多态性是决定 IPF 患者血清 ACE 水平的重要因素。

关键词:肺纤维化; 血管紧张素转换酶; 基因多态性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.21.002 文献标识码:A 文章编号:1673-4130(2012)21-2563-02

Association between angiotensin converting enzyme gene polymorphism and angiotensin converting enzyme activity in idiopathic pulmonary fibrosis patients*

You Xuejian¹, Zhang Qianyun², Liu Xia³, Wang Huiling¹, Zhang Haiyan¹, Guo Shuqin¹, Xu Xiaolin¹

(1. Cangzhou Medical College, Cangzhou, Hebei 061001, China; 2. Cangzhou Central Hospital, Cangzhou, Hebei 061001, China; 3. People's Hospital of Fucheng County, Hengshui, Hebei 053700, China)

Abstract:Objective To study the association between angiotensin converting enzyme(ACE) gene polymorphism and ACE activity in idiopathic pulmonary fibrosis patients. **Methods** ACE genotype of I/D was determined by polymerase chain reaction (PCR), and the ACE level of the serum was measured by ELISA method. **Results** Compared with control group, the serum ACE level of the IPF patients was decreased significantly($P<0.05$), ACE gene polymorphism was associated with the ACE activity of the serum, the highest serum ACE activity was in genotype II, followed by genotype ID and gene DD. **Conclusion** ACE gene polymorphism is important factor to determine the ACE activity in idiopathic pulmonary fibrosis patients.

Key words: pulmonary fibrosis; angiotensin converting enzyme; gene polymorphism

特发性肺纤维化(IPF)是病因未明的慢性进展性纤维化型间质性肺炎的一种特殊类型,好发于老年人,病变局限于肺部,组织病理学和(或)影像学表现具有普通型间质性肺炎(UIP)的特征^[1-2]。目前,其发病机制尚不明确,缺乏有效的治疗手段,本研究旨在通过对 IPF 患者血管紧张素转换酶(ACE)基因多态性与其血清浓度的关系研究,探讨其发病机制,从而为临床选择有效的治疗手段奠定基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 按照美国胸科学会(ATS)、欧洲呼吸学会(ERS)、日本呼吸学会(JRS)及拉丁美洲胸科协会(ALAT)共同发表的特发性肺纤维化诊断及治疗国际性循证指南制定的诊断标准,选择特发性肺纤维化患者 102 例作为病例组(其中男性 56 例,女性 46 例),年龄 52~78 岁,平均(61.4±7.2)岁。对照组 107 例(其中男性 58 例,女性 49 例),年龄 50~72 岁,平均(60.8±4.3)岁。

1.2 方法

1.2.1 ACE 基因多态性的测定 应用 PCR 法扩增 ACE 基因内含子 16 上的目的片段。首先采用北京 TIANGEN 生产的血液基因组 DNA 提取试剂盒(0.5~5 mL)提取全血基因组 DNA,而后应用上海生工公司合成的引物 1:5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3';引物 2:5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3'^[3],通过 PCR 反应体系扩增 ACE 基因,扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳,紫外光下观察其基因型,扩增产物只有 1 条 490 bp 片段的为插入型纯合

子(II 基因型),只有一条 190 bp 片段的为缺失型纯合子(DD 基因型),而既有 490 bp 片段又有 190 bp 片段的为杂合子(ID 基因型)。另外,为防止 D 等位基因优先扩增而致基因型错分,所有 PCR 产物只有 190 bp 片段及 490 bp 片段不清楚的样本以插入片段内特有引物(5'-TTT GAG ACG GAG TCT CGC TC-3')替代原下游引物进行 2 次扩增^[4],扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳,I 等位基因可见 1 条 408 bp 片段,D 等位基因则无扩增产物。

1.2.2 血清 ACE 浓度测定 采用 ELISA 法测定血清 ACE 的浓度。

1.3 统计学处理 用 SPSS13.0 统计分析软件进行统计学分析。数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,两样本均数比较采用 t 检验,多个样本均数比较采用方差分析(one-way-ANOVA), $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 IPF 组血清 ACE 浓度明显低于对照组($t=-3.924, P<0.01$),见表 1。

表 1 病例组和对照组血清 ACE 测定结果		
组别	例数(n)	ACE($\bar{x}\pm s$, ng/mL)
病例组	102	132.521±6.453
对照组	107	184.376±7.431

2.2 IPF 组各基因型间血清 ACE 浓度比较 血清 ACE 浓度

* 基金项目:河北省科学技术研究与发展计划资助项目(112761153)。

DD 型较 ID 型、II 型均明显降低($P<0.05$),见表 2。

表 2 IPF 组各基因型血清 ACE 浓度比较		
基因型	<i>n</i>	ACE 浓度($\bar{x}\pm s$,ng/mL)
DD	48	131.427±25.214
ID	30	147.597±26.687*
II	24	166.179±20.826*

*: $P<0.05$,与 DD 基因型比较。

3 讨 论

ACE 是一个 20 肽单链酸性糖蛋白,是肾素-血管紧张素-醛固酮系统中的一个重要酶,能催化血管紧张素 I 转换成血管紧张素 II。ACE 存在于多种细胞,以毛细血管内皮细胞最多见,而肺具有丰富的血管床,故成为合成和释放 ACE 的主要部位。已有研究证明,特发性肺纤维化是肺泡损伤和不正常损伤修复的结果^[5],肺损伤时血清 ACE 活性显著降低^[6]。Marshall^[7]研究也表明肺间质损伤和急性缺氧时,ACE 活性是明显降低的。国内李丹等^[8]的研究结果表明,严重急性呼吸综合征患者的血清 ACE 活性与健康对照组比较明显降低,降低程度与疾病严重程度密切相关。本研究应用 ELISA 法测定血清 ACE 浓度,结果表明,与对照组比较 IPF 患者血清 ACE 浓度显著降低($P<0.01$),这与文献报道一致。由此说明,IPF 患者存在的肺泡和肺间质损伤引起机体缺氧,从而导致血清 ACE 活性降低。

已有研究表明人类 ACE 基因具有基因多态性,它由 4 024 bp 构成,位于第 17 号染色体长臂 2 区 3 带(17q23)。ACE 基因有两类等位基因,即 490 bp 组成的插入型(等位基因 I)和 190 bp 组成的缺失型(等位基因 D);以及 3 种基因型:II 型、DD 型、ID 型。莫清江和王宏伟^[9]研究了 ACE 基因多态性及血清水平与脑梗死的关系,结果显示,血清 ACE 水平与 ACE 基因型相关,DD 型 ACE 水平最高,II 型最低,而 ID 型处于二者之间。而本研究表明:血清 ACE 水平与 ACE 基因型相关,DD 型 ACE 水平最低,II 型最高,而 ID 型处于二者之间。这与上述研究结果并不完全一致。分析原因可能与研究人群不同有关,本研究以 IPF 患者作为研究对象,而 IPF 患者存在的肺泡和间质损伤直接影响了血清 ACE 浓度。由此推断,IPF 患者血清水平与 ACE 基因型相关,随着 D 等位基因数目增多,相应基因型血清 ACE 浓度依次降低。

Nadrous 等^[10]对 478 例 IPF 患者进行的一项回顾性分析结果表明,血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)的应用并未改善 IPF 患者的预后,而本研究结果表明 IPF 患者血清 ACE 浓度是降低的,这在一定程度上解释了 Nadrous 等的研究结论,即

ACEI 对于 IPF 患者治疗无效的原因。由此可以认为 ACEI 并不能成为 IPF 的一种新的有效治疗手段。

总之,本研究结果表明 IPF 患者的血清 ACE 浓度与其基因多态性相关,这对于进一步探明 IPF 的发病机制,了解其肺组织完整性和损害程度具有指导意义,并可通过血清 ACE 浓度测定,指导临床医师判断患者病情变化,提示疾病转归和预后。

参考文献

[1] Raghu G, Collard HR, Egan JJ, et al. An official ATS/ERS/JRS/ALAT statement: idiopathic pulmonary fibrosis: evidence-based guidelines for diagnosis and management[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 183(6):788-824.

[2] 美国胸科学会, 欧洲呼吸学会, 日本呼吸学会, 等. 特发性肺纤维化诊治循证指南(摘译本)[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2011, 34(7):486-494.

[3] Chan KC, Tang NL, Hui DS, et al. Absence of association between angiotensin converting enzyme polymorphism and development of adult respiratory distress syndrome in patients with severe acute respiratory syndrome: a case control study[J]. BMC Infect Dis, 2005, 5(1):26.

[4] Bengtsson K, Orho-Melander M, Lindblad U, et al. Polymorphism in the angiotensin converting enzyme but not in the angiotensinogen gene is associated with hypertension and type 2 diabetes: the Skaraborg Hypertension and diabetes project[J]. J Hypertens, 1999, 17(11):1569-1575.

[5] Selman M, King TE, Pardo A. Idiopathic pulmonary fibrosis: prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy[J]. Ann Intern Med, 2001, 134(2):136-151.

[6] Cziráki A, Horváth IG, Papp L. Endothelial function studies in pulmonary vascular disease: determination of angiotensin converting enzyme activity in humans(review)[J]. Int J Mol Med, 2002, 9(3):317-325.

[7] Marshall RP. The pulmonary renin-angiotensin system[J]. Curr Pharm Des, 2003, 9(9):715-722.

[8] 李丹, 敬华, 杨晋德, 等. SARS 患者血清血管紧张素转化酶活性测定的临床意义[J]. 临床检验杂志, 2004, 22(4):301.

[9] 莫清江, 王宏伟. 血管紧张素转换酶基因多态性及血清水平与脑梗死的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2009, 30(2):113-115.

[10] Nadrous HF, Ryu JH, Douglas WW, et al. Impact of angiotensin-converting enzyme inhibitors and statins on survival in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. Chest, 2004, 126(2):438-446.

(收稿日期:2012-10-08)

(上接第 2562 页)

参考文献

[1] Sato Y, Sato H. Development of acellular pertussis vaccines[J]. Biologicals, 1999, 27(2):61.

[2] Corbel MJ, Xing DK. Toxicity and potency evaluation of pertussis vaccines[J]. Expert Rev Vaccines, 2004, 3(1):89-101.

[3] Gaines-Das R, Horiuchi Y, Zhang SM, et al. Modified intra-cerebral challenge assay for acellular pertussis vaccines: comparisons among whole cell and acellular vaccines[J]. Vaccine, 2009, 27(49):6824-6832.

[4] 国家药典委员会. 中国药典(三部)[M]. 北京:中国医药科技出版

社, 2010:62-66.

[5] 王晓娟, 廖雪雁, 李河民. 百日咳疫苗加强免疫的探讨[J]. 中国疫苗和免疫, 2009, 15(5):477-479.

[6] 中华预防医学会疫苗可预防疾病儿童百日咳临床研究协作组. 持续性咳嗽儿童百日咳临床多中心调查研究[J]. 中华儿科杂志, 2010, 48(10):748-752.

[7] Scott LJ. Tdap5 vaccine (Covaxis): a review of its use as a single-booster immunization for the prevention of tetanus, diphtheria, and pertussis in children (aged 4 years), adolescents, and adults[J]. Bio Drugs, 2010, 24(6):387-406.

(收稿日期:2012-01-09)