

## 血管紧张素 II 1 型受体 A1166C 多态性在云南彝族人群中的分布

杨榆玲<sup>1)</sup>, 龙莉<sup>1)</sup>, 瞿秋<sup>2)</sup>, 吴玲<sup>2)</sup>, 何永蜀<sup>1)</sup>, 张彦<sup>1)</sup>

(1) 昆明医科大学细胞生物学及遗传学教研室, 云南昆明 650031; 2) 昆明医科大学第一附属医院干疗科, 云南昆明 650032)

**[摘要]** **目的** 了解云南省晋宁县彝族人群 AT1R 基因 A1166C 多态性分布的情况, 为研究 AT1R 基因相关性疾病的发病机制奠定基础. **方法** 采用 PCR-RFLP 技术对居住在云南省晋宁县 180 例彝族健康个体的 AT1R 基因 A1166C 多态性进行分析, 获得其基因型频率和等位基因频率分布情况, 并与其他人群该位点多态性进行比较. **结果** 云南省晋宁县彝族 AT1R 基因的 AA、AC、CC 基因型频率分别为 95.6%、4.4% 和 0%, A、C 等位基因频率分别为 97.8% 和 2.2%. 此位点多态性分布与不同人群比较, 除凉山彝族外, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ). **结论** AT1R 基因 A1166C 多态性分布存在民族、种族差异.

**[关键词]** AT1R 基因; 遗传多态性; 彝族; 分布

**[中图分类号]** R181.3\*6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 05 - 0043 - 04

## Distribution of Angiotensin II Type 1 Receptor Gene A1166C Polymorphism in Yi Nationality Population in Yunnan Province

YANG Yu - ling<sup>1)</sup>, LONG Li<sup>1)</sup>, QU Qiu<sup>2)</sup>, WU Ling<sup>2)</sup>, HE Yong - shu<sup>1)</sup>, ZHANG Yan<sup>1)</sup>

(1) Dept. of Cell Biology and Genetics, Kunming Medical University, Kunming Yunan 650031; 2) Dept. of Geriatrics, The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunan 650032, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the angiotensin II type 1 receptor (AT1R) gene A1166C polymorphism in a Yi nationality population in Yunnan province, and to provide evidence for the research of AT1R related diseases. **Methods** We recruited 180 healthy subjects of Yi nationality in rural area of Jinning, Yunnan province. The AT1R A1166C polymorphism was determined by polymerase chain reaction- restriction fragment (PCR-RFLP) technique. The genotype frequencies and allele frequencies were obtained and compared with those collected from other population. **Results** In healthy Yi people of Yunnan province, frequencies for the AA, AC and CC genotypes were 95.6%, 4.4% and 0%. Derived allele frequencies for the A and C allele were 97.8% and 2.2%. The distribution of AT1R genotypes and the allele frequencies in Yunnan Yi people were significantly different from other nationality ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The frequency of the genotype or the allele of AT1R A1166C polymorphism is different significantly in different ethnic populations.

**[Key words]** AT1R gene; Genetic polymorphism; Yi nationality; Distribution

血管紧张素 II 1 型受体 (angiotensin II type 1 receptor, AT1R) 是肾素 - 血管紧张素系统 (renin angiotensin system, RAS) 的重要成员. 这一系统的主要生物学活性物质——血管紧张素 II

(angiotensin II, Ang II) 只有通过与其受体 (主要为 AT1R) 结合才能发挥生物学作用. 现已克隆出 AT1R 基因, 它位于人染色体 3q21-25, 属单拷贝基因, 编码一种具有 7 个疏水跨膜片段的 G 蛋白

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (81160164); 云南省自然科学基金资助项目 (2008CD117); 昆明医科大学大学生创新性实验计划项目 (CX201116)

**[作者简介]** 杨榆玲 (1978~), 女, 云南大理市人, 理学硕士, 讲师, 主要从事分子遗传学研究工作.

**[通讯作者]** 张彦. E-mail: [yzha37@163.com](mailto:yzha37@163.com)

藕联受体, 包括 5 个外显子和 3 个内含子<sup>[1]</sup>。1994 年, Bonnardeanx<sup>[2]</sup>等使用 PCR 方法扩增并检测出 AT1R 的 5 个多态性 (T573 →C, A1062 →G, A1166 →C, G1517 →T, A1878 →G)。本研究应用 PCR-RFLP 技术对云南省晋宁县彝族健康人群 AT1R 基因 A1166C 多态性进行分析, 探讨 AT1R 基因在不同人群中的基因频率分布规律, 为进一步研究 AT1R 基因的群体遗传学及其相关疾病的发病机制奠定基础。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

云南省昆明市晋宁县双河彝族乡彝族健康个体 180 人。受试者均对调查和检测项目知情同意。其中男 69 例, 女 111 例, 年龄 (60 ± 13.1) 岁。经病史、体检、实验室和心电图等检查排除冠心病、高血压、心肌病、瓣膜性心脏病和先天性心脏病者。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 基因组 DNA 提取** 取静脉血 2 mL, EDTA 抗凝, 白细胞分离, 低渗溶血, 酚-氯仿有机抽提法提取基因组 DNA, TE 缓冲液溶解, 4℃ 保存。

**1.2.2 目的片段的 PCR 扩增** 引物序列<sup>[3]</sup>: P1 5'-ATAATGTAAGCTCATCCACC-3'; P2:5'-GAG A-TTGCATTTCTGTCACT-3' (上海生工生物工程技术服务有限公司合成)。反应体系: 总体积 10 μL, 模版 DNA 40 ng, 引物各 0.2 μM, dNTP 各 0.2 mM, MgCl<sub>2</sub> 1.5 mM, 10 × PCR Buffer 1 μL, Taq DNA 聚合酶 0.25 U (宝生物工程有限公司)。PCR 反应条件: 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 40 s, 57℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 45 s, 35 个循环; 最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物在 2% 琼脂糖凝胶上电泳, Gel view 染色, 紫外灯下观测结果。

**1.2.3 基因型鉴别** RFLP 检测。酶切体系 10 μL: PCR 产物 5 μL, 限制性内切酶 DdeI 5 U (Promega 公司), 10 × Buffer 1 μL, Acetylated BSA (10 μg/μL) 0.1 μL, 双蒸水补足体系。37℃ 水浴酶切 4 h。酶切产物在 2% 琼脂糖凝胶上电泳, Gel view 染色, 凝胶成像仪下观察并保存酶切结果。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 软件进行数据处理。计算基因型及等位基因频率,  $\chi^2$  检验确认是否符合 Hardy-Weinberg 平衡。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 Hardy-Weinberg 平衡检测

AT1R 基因 A1166C 多态性分布符合 Hardy-Weinberg 平衡 ( $\chi^2 = 0.093$ , P = 0.76), 具有群体代表性。

### 2.2 基因型鉴定

PCR 扩增产物为 360 bp 片段。AT1R 基因 1166 位点的 A 如被 C 替代, 则出现 DdeI 酶切位点 (C▼TNAG), 酶切后产生 220 bp 和 140 bp 的 2 个片段; 如果在 1166 位点没有发生突变, 则扩增片段长度不变。由此产生 2 个等位基因 A、C, 形成 3 种基因型: 无突变纯合子 AA (360 bp)、突变杂合子 AC (360 bp、220 bp、140 bp)、突变纯合子 CC (220 bp、140 bp)。本研究未检出 CC 基因型, 见图 1。

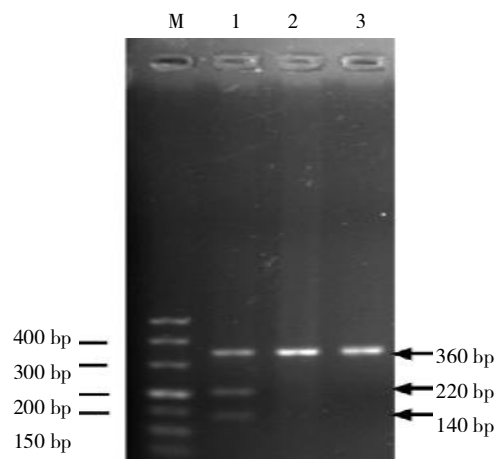


图 1 PCR 扩增产物及 DdeI 酶切后电泳图

Fig. 1 Agarose electrophoresis image showing PCR products and digested by restriction enzyme DdeI

M:Marker; 1:AC; 2:AA; 3:PCR 扩增片段。

### 2.3 AT1R 基因 A1166C 多态性在云南彝族人群中的分布

在 180 例云南省晋宁县双河乡彝族健康人群中, 基因型为 AA、AC 和 CC 的分别有 172、8 和 0 例, 相应基因型频率为 95.6%、4.4% 和 0%, A 和 C 等位基因频率分别为 97.8% 和 2.2%。在不同性别中该位点多态性分布差异无统计学意义 (P > 0.05), 见表 1。

### 2.4 AT1R 基因 A1166C 多态性分布与其它文献报道比较

本研究未检出 CC 基因型, 为增强统计分析效

力将 AC 与 CC 基因型合并分析. 结果显示, 云南彝族 AT1R 基因多态性分布与报道的凉山彝族<sup>[4]</sup>接近 ( $P>0.05$ ), 两项研究具有一致性. 基因型分布

和等位基因频率与报道的藏族<sup>[4]</sup>、哈萨克族<sup>[5]</sup>、维吾尔族<sup>[6]</sup>及欧洲白人<sup>[2]</sup>相比差异有统计学意义 ( $P<0.05$ ), 见表 2.

表 1 彝族 AT1R 基因 A1166C 多态性分布 [n(%)]

Tab. 1 Distribution of AT1R gene A1166C polymorphism in Yi nationality population [n(%)]

分 组	n	基因型			等位基因	
		AA	AC	CC	A	C
男 性	69	63 (91.3)	6(8.7)	0	132(95.7)	6(4.3)
女 性	111	109(98.2)	2(1.8)	0	220(99.1)	2(0.9)
合 计	180	172(95.6)	8(4.4)	0	352(97.8)	8(2.2)

表 2 不同人群 AT1R 基因 A1166C 多态性基因型频率和等位基因频率 [n(%)]

Tab. 2 Genotype frequency and gene frequency of AT1R gene A1166C polymorphism comparison between Yi nationality and other populations [n(%)]

群 体	n	基因型频率		等位基因频率	
		AA	AC/CC	A	C
本研究	180	172(95.6)	8(4.4)	352(97.8)	8(2.2)
凉山彝族	115	107(93)	8(7)	222(96.5)	8(3.5)
藏族	115	101(87.8)	14(12.2)*	216(93.9)	14(6.1)*
哈萨克族	220	179(81.4)	41(18.6)*	399(90.7)	41(9.3)*
维吾尔族	143	107(74.8)	36(25.2)*	250(87.4)	36(12.6)*
欧洲白人	298	153 (51.3)	145 (48.7)*	427(71.6)	169(28.4)*

与本研究比较, \* $P<0.05$ .

### 3 讨论

人类疾病是遗传因素和环境因素共同作用的结果. 不同民族和种族的遗传背景差异可能造成他们对某些疾病的易感性差异. 对人类基因多态性的研究可以帮助我们了解各种基因在不同人群中的分布及其与疾病的关系, 从基因水平更深刻地认识各种疾病在不同民族、种族中易感性差异和发病率差异的内在机理.

血管紧张素 II (Ang II) 作为一种激素能影响血管收缩和醛固酮的分泌, 并且可以通过多种生长因子和细胞内信息传导系统的介导促进血管平滑肌细胞的增殖. 此功能的实现需有特异性受体介导, 即 AT1R. 1994 年 Bonnardeanx<sup>[2]</sup>等扩增并检测出 AT1R 的 5 个多态性位点, 并发现其中的 A1166C 多态性与原发性高血压相关. 随后, 研究人员发现 A1166C 多态性还与其它多种疾病相关: 波兰 Buraczynska<sup>[7]</sup>研究认为 CC 基因型携带者更易发生糖尿病肾病; 我国研究人员发现 AC 基因型与 AA 基因型相比有着更高的动脉粥样硬化发生率<sup>[8]</sup>; Sekuric<sup>[9]</sup>等发现在土耳其人群中, C 等位基因与冠

心病存在相关性. 对 AT1R 基因 A1166C 多态性的深入分析, 将有助于一系列心血管疾病的研究.

本研究表明, 云南彝族 AT1R 基因 A1166C 多态性分布与藏族、哈萨克族、维吾尔族及欧洲白人相比存在统计学差异, 这与不同民族、种族的遗传背景不同有关. 而与凉山彝族相近, 因两者同为彝族, 虽然地域上有差异, 但遗传背景并没有太大改变. 两项研究具有一致性.

本研究就 AT1R 基因 A1166C 多态性在云南彝族中的分布情况进行初步探讨, 为研究该多态位点在不同民族、种族中的分布奠定基础, 也为进一步研究相关心血管疾病在不同民族、种族中表现出来的易感性差异及疾病的发病机制提供线索.

### [参考文献]

- [1] BRUNO B. Polymorphism in angiotensin II receptor genes and hypertension [J]. Exp Physiol, 2005, 90 (3):277 - 282.

- [2] BONNARDEAUX A, DAVIES E, JEUNEMAITRE X, et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension [J]. *Hypertension*, 1994, 24(1): 63 - 69.
- [3] KATSUYA T, KOIKE G, YEE T W, et al. Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease [J]. *Lancet*, 1995, 345(8965): 1600 - 1603.
- [4] 刘英, 单广良, 崔超英, 等. AT1R 基因 A1166C 多态性与汉、藏和彝族原发性高血压的遗传易感性[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2003, 20(3): 220 - 224.
- [5] 丁毓磊, 李娜, 孙凤, 等. AT1R 基因 A1166C 多态性与新疆哈萨克族原发性高血压的相关性[J]. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2008, 26(2): 143 - 145.
- [6] 张丽萍, 汪师贞, 赵学信, 等. 血管紧张素 II 1 型受体基因 A1166C 多态性与新疆维吾尔族高血压相关性研究[J]. *现代生物医学进展*, 2007, 7(5): 718 - 720.
- [7] BURACZYNSKA M, KSIAZEK P, LOPATYNSKI J, et al. Association of the renin - angiotensin system gene polymorphism with nephropathy in type II [J]. *Diabetes J Pol Arch Med Wewn*, 2002, 108(2): 725 - 730.
- [8] ZHU S, MENG Q H. Association of angiotensin II type receptor gene polymorphism with carotid atherosclerosis [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2006, 44(3): 282 - 284.
- [9] SEKURI C, CAM F S, ERCAN E, et al. Reninangiotensin system gene polymorphisms and premature coronary heart disease [J]. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2005, 6(1): 38 - 42.

(2012 - 04 - 09 收稿)

(上接第 39 页)

树鼯是体小、价廉的灵长类动物, 它的新陈代谢远比犬、鼠等动物更接近于人类, 大体解剖也近似于人类, 因此在医学生物学上可以有广泛的用途. 本实验测定结果表明树鼯全血胆碱酯酶活性绝对值的平均值大于小鼠的平均值, 两独立样本  $t$  检验  $P < 0.05$ , 差异具有显著性, 此结果是否与 2 种动物种属不同有关, 还是与年龄、体重、性别及其它因素有关还应该进行进一步研究. 经测定树鼯和小鼠全血胆碱酯酶活性测定值符合正态分布, 但树鼯组标准差较小鼠组小, 提示树鼯全血胆碱酯酶活性测定值个体差异较小, 用树鼯作该方面研究时比较稳定, 加之树鼯属于灵长类动物, 因此在实验动物选用上较具优势, 树鼯在全血胆碱酯酶活性相关研究方面是较好的实验动物. 因本实验样本量较低无法求得全血胆碱酯酶的正常参考值, 求得树鼯和小鼠全血胆碱酯酶活性 ( $\mu\text{mol/mL}$  全血,  $37^\circ\text{C}$ , 30 min) 总体均数的 95% 可信区间分别为表 1 所示, 为今后开展相关研究提供参考指标, 并为昆明医科大学实验动物中心进行树鼯基本生理指标的研究提供资料.

#### [参考文献]

- [1] 杨芳, 曹骥, 张晶晶, 等. 新生树鼯接种人乙型肝炎病毒的长期实验观察 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2009, 17(8): 580 - 584.
- [2] 秦雪, 代智, 崔杰峰, 等. 黄曲霉毒素 B1 诱发树鼯肝癌过程中的差异表达蛋白质分析 [J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(6): 538 - 542.
- [3] 角建林, 何保丽, 郑红, 等. 树鼯、恒河猴和大鼠脑发育的比较研究 [J]. *昆明医学院学报*, 2010, (5): 39 - 41.
- [4] 赵刚, 李树清. 树鼯皮层局部脑缺血时海马细胞微环境及氨基酸含量动态变化的研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2005, 21(4): 657 - 660.
- [5] 角建林, 何保丽, 郑红, 等. 树鼯、恒河猴和大鼠脑发育的比较研究 [J]. *昆明医学院学报*, 2010, 31(5): 39 - 41.
- [6] 秦雪, 代智, 崔杰峰, 等. 黄曲霉毒素 B1 诱发树鼯肝癌过程中的差异表达蛋白质分析 [J]. *中华检验医学杂志*, 2006, 29(6): 538 - 542.

(2012 - 02 - 01 收稿)