

血管紧张素原基因 M235T 多态性在云南彝族人群中的分布

龙莉¹⁾, 杨榆玲¹⁾, 瞿秋²⁾, 吴玲²⁾, 张彦¹⁾

(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** 研究云南省晋宁县彝族人群 AGT 基因 M235T 多态性分布的情况, 为探讨 AGT 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 173 例彝族健康个体的 AGT 基因 M235T 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 AGT 基因的 MM、MT、TT 基因型频率分别为 7.51%、39.31% 和 53.18%, M 和 T 等位基因频率分别为 27.17% 和 72.83%. 此位点多态性分布与不同人群比较, 除汉族外, 差异均有统计学意义 ($P < 0.01$). **结论** AGT 基因 M235T 多态性分布存在民族、种族差异.

[关键词] AGT 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) 11-0004-04

Distribution of the Angiotensinogen Gene M235T Polymorphism in a Yi Nationality Population of Yunnan Province

LONG Li¹⁾, YANG Yu-ling¹⁾, QU Qiu²⁾, WU Ling²⁾, ZHANG Yan¹⁾

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

[Abstract] **Objective** To investigate the angiotensinogen (AGT) gene M235T polymorphism in a Yi nationality population of Yunnan province, and to provide evidence for the research of AGT related diseases. **Methods** We recruited 173 healthy subjects of Yi nationality in rural area of Jinning, Yunnan province. The AGT M235T polymorphism was determined by polymerase chain reaction-restriction fragment (PCR-RFLP) technique. The genotype frequencies and allele frequencies were obtained and compared with that were collected from other population. **Results** In healthy Yi people of Yunnan province, frequencies for the MM, MT and TT genotypes were 7.51%, 39.31% and 53.18%. Derived allele frequencies for the M and T allele were 27.17% and 72.83%. The distribution of AGT genotypes and the allele frequencies in Yunnan Yi people were similar to Han populations ($P > 0.05$), while were significantly different from that in other nationalities ($P < 0.01$). **Conclusion** The distribution of the allele of AGT M235T polymorphism is different significantly in different ethnic populations.

[Key words] AGT gene; Genetic polymorphism; Yi nationality; Distribution

血管紧张素原 (angiotensinogen, AGT) 基因是肾素 - 血管紧张素系统 (renin angiotensin system, RAS) 的重要组成部分, 其编码的 AGT 是

RAS 系统唯一的初始底物. 人 AGT 基因位于染色体 1q42-43 位点, 长 12 kb, 系单拷贝基因, 由 5 个外显子和 4 个内含子组成^[1]. 其中第二外显子内

[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)

[作者简介] 龙莉 (1969~), 女, 四川雅安市人, 理学硕士, 教授, 主要从事分子遗传学研究工作. 杨榆玲和龙莉对本文有同等贡献.

[通讯作者] 张彦. E-mail: yzha37@163.com

存在一种分子变异, 即核苷酸 704 处胸腺嘧啶 (T) 被胞嘧啶 (C) 代替后, 编码产物第 235 号氨基酸由蛋氨酸 (M) 变异为苏氨酸 (T). 1992 年 Jeunemaitre^[2] 等对原发性高血压 (essential hypertension, EH) 家系成员进行高血压相关基因对比研究, 发现 AGT 基因 M235T 变异与 EH 的发生有关. 本研究应用 PCR-RFLP 技术对云南省晋宁县彝族健康人群 AGT 基因 M235T 多态性进行分析, 探讨 AGT 基因在不同人群中的基因频率分布规律, 为进一步研究 AGT 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

所有样本采自云南省昆明市晋宁县双河彝族乡, 均为该地区彝族. 受试者均对调查和检测项目知情同意. 173 例受试者, 其中男 67 例, 女 106 例, 年龄 (58.96 ± 12.7) 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 °C 保存.

1.2.2 目的片段的 PCR 扩增 引物序列^[3]: P1 5'-CGTTTGTGCAGGGCCTGGCTCTC-3'; P2 5'-AG-GGTGCTGTCCACACTGGACCC-3' (AC 为非配对碱基, 进行错配 PCR 扩增, 上海生工生物工程技术服务有限公司合成). 反应体系: 总体系 10 μ L, 模版 DNA 40 ng, 引物各 0.2 μ M, dNTP 各 0.2 mM, MgCl₂ 1.5 mM, 10 \times PCR Buffer 1 μ L, Taq DNA 聚合酶 0.25U (宝生物工程(大连)有限公司). PCR 反应条件: 90 °C 预变性 4 min; 94 °C 变性 1 min, 68 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 10 个循环; 94 °C 变性 30 s, 68 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 30 个循环; 最后 72 °C 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 μ L: PCR 产物 2.5 μ L, 限制性内切酶 Tth111I 7 U (TaKaRa 公司), 10 \times Buffer 1 μ L, 双蒸水补足体系. 65 °C 酶切 4 h. 酶切产物在 3% 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 统计学分析

采用 SPSS 软件进行数据处理. 计算基因型及等位基因频率, χ^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

AGT 基因 M235T 多态性分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($\chi^2 = 0.008$, $P = 0.929$), 具有群体代表性.

2.2 基因型鉴定

PCR 扩增产物为 163 bp 片段. 若外显子 2 第 235 号密码子 ATG 变为 ACG, 则产生一个适合 Tth111I 酶切半位点 (GACN NNGTC), 另一半位点则通过错配 PCR 中存在非配对碱基的引物引导合成 (CTGNN \blacktriangle NCAG), 酶切后产生 140 bp 和 23 bp 的 2 个片段, 电泳仅显示 140 bp 片段; 如果在该位点没有发生突变, 则扩增片段长度不变. 由此产生 2 个等位基因: 不能被酶切者定义为 M (163 bp), 能酶切者定义为 T (140 bp), 形成 3 种基因型: 无突变纯合子 MM (163 bp)、突变杂合子 MT (163 bp、140 bp)、突变纯合子 TT (140 bp), 见图 1.

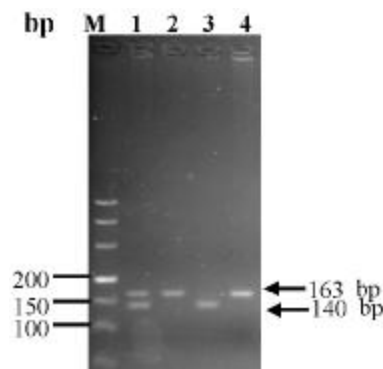


图 1 PCR 扩增产物及 Tth111I 酶切后电泳

Fig. 1 Agarose electrophoresis image showing PCR products and digested by restriction enzyme Tth111I

M: Marker; 1:MT; 2:MM; 3:TT; 4: PCR 扩增片段.

2.3 AGT 基因 M235T 多态性在云南彝族人群中的分布

在 173 例云南省晋宁县双河乡彝族健康人群中, 基因型为 MM、MT 和 TT 的分别有 13、68 和 92 例, 相应基因型频率为 7.51%、39.31% 和

族^[5]、黎族^[6]、蒙古族^[7]及美国白种人^[8]、丹麦人^[9]、西班牙人^[10]、捷克人^[11]，低于加拿大土著人^[12]，数

据相比均有显著性差异 ($P < 0.01$)，见表 2。

表 1 彝族 AGT 基因 M235T 多态性分布 [n(%)]

Tab. 1 Distribution of AGT gene M235T polymorphism in a Yi nationality population [n(%)]

分组	n	基因型			等位基因	
		MM	MT	TT	M	T
男性	67	2(2.99)	28(41.79)	37(55.22)	32(23.88)	102(76.12)
女性	106	11(10.38)	40(37.74)	55(51.89)	62(29.25)	150(70.75)
合计	173	13(7.51)	68(39.31)	92(53.18)	94(27.17)	252(72.83)

53.18%，M 和 T 等位基因频率分别为 27.17% 和 72.83%。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 AGT 基因 M235T 多态性分布与其它文献报

道比较

分析结果显示，云南彝族 AGT 基因 M235T 多态性分布与报道的汉族^[4]接近 ($P > 0.05$)。TT 基因型分布和 T 等位基因频率高于报道的哈萨克

表 2 不同人群 AGT 基因 M235T 多态性基因型频率和等位基因频率 [n(%)]

Tab. 2 Comparison of genotype frequency and gene frequency of AGT gene M235T polymorphism between Yi nationality and other populations [n(%)]

群 体	n	基因型频率			等位基因频率	
		A MM	A MT	A TT	A M	A T
彝族	173	13(7.51)	68(39.31)	92(53.18)	94(27.17)	252(72.83)
汉族	509	25(4.9)	208(40.9)	276(54.2)	258(25.3)	760(74.7)
哈萨克族	75	40(53.33)	35(46.67)	0(0)*	115(76.67)	35(23.33)*
黎族	162	134(82.7)	16(9.9)	12(7.4)*	284(87.7)	40(12.3)*
蒙古族	108	32(29.63)	66(61.11)	10(9.26)*	130(60.19)	86(39.81)*
美国白种人	11 384	4 000(35.14)	5 568(48.91)	1816(15.95)*	13568(59.59)	9200(40.41)*
丹麦人	8 811	3 094(35.12)	4 266(48.42)	1451(16.06)*	10454(59.32)	7168(40.68)*
加拿大土著	497	20(4.02)	69(13.88)	408(82.09)*	109(11)	885(89)*
西班牙人	75	21(28)	33(44)	21(28)*	75(50)	75(50)*
捷克人	202	57(28.22)	105(51.98)	40(19.8)*	219(54)	185(46)*

与彝族比较，* $P < 0.01$ 。

3 讨论

1992 年，Jeunemaitre^[2]在高血压同胞配对研究中首次发现 AGT 基因 M235T 变异与高血压有关，高血压患者 235T 等位基因的频率显著高于对照组。Ishigami 等^[3]研究发现 AGT 基因 M235T 多态性与冠心病发病显著相关，冠心病组 TT 基因型及 T 等位基因频率显著高于对照组。Lopez-Haldon J 等^[13]在西班牙人中发现 TT 基因型患者心肌肥厚和心脏事件发生率有升高趋势。对 AGT 基因 M235T 多态性的深入分析，将有助于一系列心血管疾病的研究。

笔者的研究结果显示，云南彝族 AGT 基因 M235T 多态性分布与报道的汉族接近 ($P > 0.05$)。TT 基因型与 T 等位基因频率与报道的哈萨克族、黎族、蒙古族及美国白种人、丹麦人、西班牙人、捷克人、加拿大土著人相比均有显著性差异 ($P < 0.01$)。这一结果与不同民族、种族的遗传背景不同有关。同时也提示，从分子进化的角度看，云南彝族和汉族 AGT 基因在进化上可能有共同祖先。

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笔者了解各种基因在不同人群

中的分布及其与疾病的关系. 本研究就 AGT 基因 M235T 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积累有意义的资料.

[参考文献]

- [1] FUKAMIZU A, TAKAHASHI S, SEOM S, et al. Structure and expression of the human angiotensinogen gene [J]. *Biochem*, 1990, 265: 7 576 - 7 582.
- [2] JEUNEMAITRE X, SOUBRIER F, KOTELEVITSEV Y V, et al. Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen [J]. *Cell*, 1992, 71 (1): 169 - 180.
- [3] ISHIGAMI T, UMEMURA S, IWAMOTO T, et al. Molecular variant of angiotensinogen gene is associated with coronary atherosclerosis [J]. *Circulation*, 1995, 91: 951 - 954.
- [4] 邢绣荣, 华琦, 刘荣坤, 等. 血管紧张素原基因 M235T 多态性对原发性高血压患者血管内皮功能的影响 [J]. *医学研究生学报*, 2007, 20(10): 1 112 - 1 114.
- [5] 李南方, 周玲, 殷晓娟, 等. 新疆哈萨克族人血管紧张素原基因 M235T 多态性与原发性高血压相关性研究 [J]. *科学技术与工程*, 2004, 4(3): 193 - 197.
- [6] 张勇, 吴慧, 金水晶, 等. 海南汉、黎族人群血管紧张素原基因 T174M、M235T 的多态性分布 [J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(7): 886 - 887.
- [7] 张春雨, 赵世刚, 呼日乐, 等. 蒙古族原发性高血压人群 ACE I/D、AGTM235T 及 CYP11B2 T-344C 多态性环境与遗传交互影响的联合分析 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2010, 18(2): 11 - 14.
- [8] NORAT T, BOWMAN R, LUBEN R, et al. Blood pressure and interactions between the angiotensin poly morphism AGT M235T and sodium intake: a cross-sectional population study [J]. *Am J Clin Nutr*, 2008, 88(2): 392 - 397.
- [9] SETHI A A, NORDESTGAARD B G, AGERHOLM-LARSEN B, et al. Angiotensinogen polymorphisms and elevated blood pressure in the general population: the copenhagen city heart study [J]. *Hypertension*, 2001, 37(3): 875 - 881.
- [10] FERNANDEZ-LLAMA P, POCH E, ORIOLA J, et al. Angiotensinogen gene M235T and T174M polymorphisms in essential hypertension: relation with target organ damage [J]. *Am J Hypertens*, 1998, 11(4 Pt 1): 439 - 444.
- [11] VASKU A, SOUCEK M, ZNOJIL V, et al. Angiotensin I-converting enzyme and angiotensinogen gene interaction and prediction of essential hypertension [J]. *Kidney Int*, 1998, 53(6): 1 479 - 1 482.
- [12] HEGELE R A, HARRIS S B, HANLEY A J, et al. Angiotensinogen gene variation associated with variation in blood pressure in aboriginal canadians [J]. *Hypertension*, 1997, 29(5): 1 073 - 1 077.
- [13] LOPEZ-HALDON J, GARCIA-LOZANO JR, MARTINEZ A, et al. The effect of polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes on the phenotypic expression of Spanish patients with hypertrophic cardiomyopathy [J]. *Med Clin (Barc)*, 1999, 113(5): 161 - 163.

(2012 - 09 - 17 收稿)