

雄激素受体基因 CAG 重复序列多态及雄激素水平与男性盐敏感性高血压相关性的临床研究^{*}

尚 亮, 卫 娜, 马 庆, 刘延梅, 张 静, 时 晔, 苗 青 (陕西省人民医院西院二病区, 西安 710068)

摘要:目的 研究男性盐敏感性高血压患者雄激素受体基因 CAG 重复序列多态及雄激素水平的相关性。方法 通过口服盐水负荷试验及速尿缩容法将男性高血压组人群分为盐敏感者(SS组)及盐不敏感者(SR组),对61例SS组和40例SR组患者及60例年龄匹配的男性正常对照组采用测序方法分析(CAG)_n的重复数,并采用电化学发光法测定血清中总睾酮(TT)、游离睾酮(FT)水平。结果 161例研究对象的CAG重复次数介于14~34次,平均 22.4 ± 2.7 。SS、SR和健康对照组CAG重复次数分别为 23.5 ± 3.75 、 22.3 ± 3.17 和 21.8 ± 2.95 ,三组之间比较差异均有统计学意义($t=2.627 \sim 3.257$,均 $P<0.05$)。与健康对照组比较,SS、SR两组TT、FT水平下降,且SS组下降更明显,TT水平三组之间比较差异均有统计学意义($t=2.618 \sim 3.215$,均 $P<0.05$)。FT水平三组之间比较差异均有统计学意义($t=2.524 \sim 3.826$,均 $P<0.05$)。结论 雄激素受体基因 CAG 重复序列多态及雄激素水平与男性高血压特别是盐敏感性高血压发病有关,长CAG重复序列多态可能是高血压的遗传因素之一,血浆雄激素水平可能作为男性盐敏感性高血压的预测指标。

关键词:盐敏感性高血压;雄激素受体;雄激素

中图分类号:R544.1;Q786 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2017)04-047-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2017.04.013

Clinical Study of Androgen Receptor (CAG) Gene Polymorphism and Androgen in Male with Salt Sensitive Hypertension

SHANG Liang, WEI Na, MA Qing, LIU Yan-mei, ZHANG Jing, SHI Ye, MIAO Qing

(the Second Word of West Hospital, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between androgen receptor CAG gene polymorphism and androgen in male with salt sensitive hypertension. **Methods** Through the oral saline loading test and furosemide volume method male hypertension group were divided into salt-sensitive (SS group) and salt-insensitive (SR group). The samples from 161 males were selected in the study, including salt-sensitive hypertension patients (SS group, 61/161), salt-insensitive hypertension patients (SR group, 40/161) and age-matched healthy samples (control group, 60/161). All samples were sequenced with an analysis method (CAG) _n repeated polymorphism, and determined of total testosterone (TT) and free testosterone (FT) level in serum by electrochemiluminescence immunoassay. **Results** The number of CAG repeats was 14~34, average 22.4 ± 2.7 . The CAG repeats of SS, SR and control group were 23.5 ± 3.75 , 22.3 ± 3.17 and 21.8 ± 2.95 , respectively. There were significant differences among the three groups ($t=2.627 \sim 3.257$, all $P<0.05$). The level of TT and FT in SS and SR group were decreased compared with that of control group. At the same time, the level of SS group was lower, and there were significant differences among the three groups ($t=2.524 \sim 3.826$, all $P<0.05$). **Conclusion** The androgen receptor gene repeat length and androgen levels are associated with male hypertension, especially salt-sensitive hypertension. Long (CAG) _n repeat polymorphism maybe a genetic factor in the pathogenesis of hypertension. Plasma androgen levels may be used as a predictor of male salt-sensitive hypertension.

Keywords: salt sensitive hypertension; androgen receptor; androgen

原发性高血压(essential hypertension, EH)是多基因遗传与多种环境因素相互作用而导致正常血压调节机制失衡所引起,盐被认为是重要的环境因素之一,个体对限盐或盐负荷有着不同的血压反应,存在盐敏感性问题^[1]。国内外相关调查发现^[2],盐敏感性高血压约占总体高血压患者的50%,而我国盐敏感性高血压患者近60%,因此,研究盐敏感性高血压的病因机制和筛选预测指标对EH的防治具有重要意义。男性性别目前已成

为EH的独立危险因素,国外的动物实验研究表明,雄激素可以促进EH的产生及发展^[3],提示雄激素水平变化可能与男性EH存在一定关系。迄今为止,相关研究初步推测AR基因(CAG)_n重复序列多态可能与EH发病相关,长组(CAG)_n重复序列多态可能是EH发病的遗传因素。本文研究了男性盐敏感性高血压患者雄激素受体基因CAG重复序列多态及雄激素水平的变化,并分析其间相关性。

^{*} 基金项目:陕西省科技厅社发攻关项目(2014K11-03-01-06)。

作者简介:尚 亮(1974—),男,硕士,老年医学副主任医师,研究方向:高血压发病机制及老年病。

1 材料与方法

1.1 研究对象 按照世界卫生组织与国际高血压学会 2003 年颁布的高血压指南定义,收缩压 ≥ 140 mmHg(18.7 kPa)和/或舒张压 ≥ 90 mmHg(12.0 kPa),收集男性 EH 患者 101 例,年龄 60.5 ± 4.8 岁,排除继发性高血压、心脏瓣膜疾病、心肌病,并发糖尿病、脑梗死、脑出血、甲亢、心、肝、肾功能不全等慢性疾病及口服糖皮质激素患者。通过口服盐水负荷试验及速尿缩容法将男性高血压组人群分为盐敏感者(SS 组)及盐不敏感者(SR 组),同时收集体检健康的对照组男性 60 例,年龄 59.9 ± 5.9 岁,无 EH 家族史,体检、常规化验无异常。受试者均为汉族人群,记录年龄、血压和体重指数(BMI)=体重(kg)/身高(m)²。EH 组与对照组在年龄构成上差异无统计学意义。对照组 BMI (24.56 ± 2.79 kg/m²)与 SS 组(25.89 ± 2.99 kg/m²),SR 组(25.76 ± 3.24 kg/m²)比较差异均有统计学意义($t=2.897, t=2.658$, 均 $P<0.05$);SS, SR 两组间 BMI 比较差异无统计学意义。

1.2 仪器与试剂 i2000 化学发光免疫分析仪(美国 Abbott 公司);紫外分析仪及凝胶图像处理系统(GIS)(上海天能科技有限公司);DNA 循环扩增仪(486 型,美国 PE 公司);微量加样器(美国 Lab-net 公司);DYYIII 型电泳仪(北京六一仪器厂);ABI337 型全自动 DNA 测序仪(美国 ABI 公司)。基因组 DNA 提取试剂盒购于北京鼎国生物技术有限公司。

1.3 方法

1.3.1 血浆性激素水平测定:入选人群空腹 12 h 后,清晨静脉采血 5 ml,枸橼酸钠抗凝,3 000 r/min 离心 15 min。分离白细胞和血浆层,血浆用于免疫分析,白细胞用于提取基因组 DNA,保存标本于 -80°C ,统一检测。

1.3.2 AR 基因型检测:采用碘化钠法提取外周血白细胞基因组 DNA,参照试剂盒说明书进行操作,采用 ABI337 型基因测序仪测 PCR 产物长度:按次序取 PCR 产物 10 μl 加 2 μl 凝胶载样缓冲液,充分混匀上样,DNA 分子量标准选用 100bp DNA Ladder Marker。在 100V 电压下电泳 4~5 h。选取具有代表性片段的聚丙烯酰胺凝胶电泳图进行分析,测定 DNA 序列。标本 CAG 重复数目=(标本 DNA 片段长度-非重复序列长度)/3。

1.4 统计学分析 数据采用 SPSS15.0 统计软件包进行分析,计量资料用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,相关性分析采用多元回归分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组雄激素水平检测结果 与对照组对比,SS,SR 两组 TT,FT 水平下降,且 SS 组下降更明显;TT 水平三组之间比较差异均有统计学意义($t=2.618 \sim 3.215$, 均 $P<0.05$)。FT 水平三组之间比较差异均有统计学意义($t=2.524 \sim 3.826$, 均 $P<0.05$)。

表 1 各组间 TT,FT 和 CAG 重复数目的比较($\bar{x} \pm s$)

项 目	对照组($n=60$)	SS 组($n=61$)	SR 组($n=40$)	t_1	t_2	t_3
TT(nmol/L)	17.12 ± 6.33	14.12 ± 5.78	15.33 ± 6.05	3.215	2.965	2.618
FT(pmol/L)	36.29 ± 9.23	32.91 ± 11.27	33.98 ± 12.9	3.826	3.159	2.524
CAG 重复数目	21.8 ± 2.95	23.5 ± 3.75	22.3 ± 3.17	3.257	2.649	2.627

注: t_1 :对照组与 SS 组, t_2 :对照组与 SR 组, t_3 :SS 组与 SR 组; P 均 <0.05 。

2.2 AR 基因 CAG 重复序列数目 见图 1。161 例研究对象的 CAG 重复序列数目介于 14~34,平均 22.4 ± 2.7 。三组之间比较差异均有统计学意义($t=2.627 \sim 3.257$, 均 $P<0.05$)。

2.3 CAG 重复序列数目与 TT,FT,BMI 的相关性 相关分析表明 CAG 重复序列数目和 TT,FT 水平呈负相关($r=-0.348, P<0.05$),和 BMI 数值呈正相关($r=0.287, P<0.05$)。

3 讨论 盐敏感性增加高血压病人的患病率是一个独立危险因素^[4]。流行病学调查中发现,高血压人群男性患病率高于女性。Yanes 等^[5]选用 Dahl 盐敏感大鼠,高盐食物喂养后,发现增高所有性别

大鼠血压,但是雄性大鼠比雌性大鼠血压升高明显;而雄性大鼠去势后可使高盐饮食导致的血压升高下降,去势大鼠补充睾酮后,血压又可升高。提示高盐饮食促进盐敏感大鼠的血压升高,而雄激素水平变化与盐敏感大鼠的血压升高密切相关。Hu 等^[6]进一步研究发现在去势组及使用雄激素受体阻滞剂组,同样高盐饮食,这两组大鼠的雄激素水平显著下降或生理作用受阻,其血压水平较正常对照组下降;补充睾酮后,血压继而升高,表明雄激素参与了盐敏感性高血压的发生过程,其机制可能与肾素血管紧张素系统(RAS)的激活有关,还有一些其他的可能机制也参与了雄激素引起的盐敏感性

高血压的血压升高。高盐饮食下雄性盐敏感大鼠, 主动脉血流速和内皮一氧化氮的释放均低于雌性大鼠^[7], 雄激素通过与其受体结合而发挥生理作用, 而雄激素受体的活性通过基因调控, Bayorh 等^[8]研究发现雄激素受体基因转录活性的细微调节由受体基因 N 端多聚谷氨酸的可变长度决定,

随着基因重复序列的延长, 基因转录功能下降, 但并不能完全消除其活性; 彭翠英等^[9]研究初步推测雄激素受体基因 CAG 重复多态可能与 EH 发病相关。显示长(CAG) $n(n>22)$ 重复序列多态及雄激素水平与男性高血压特别是盐敏感性高血压发病有关。

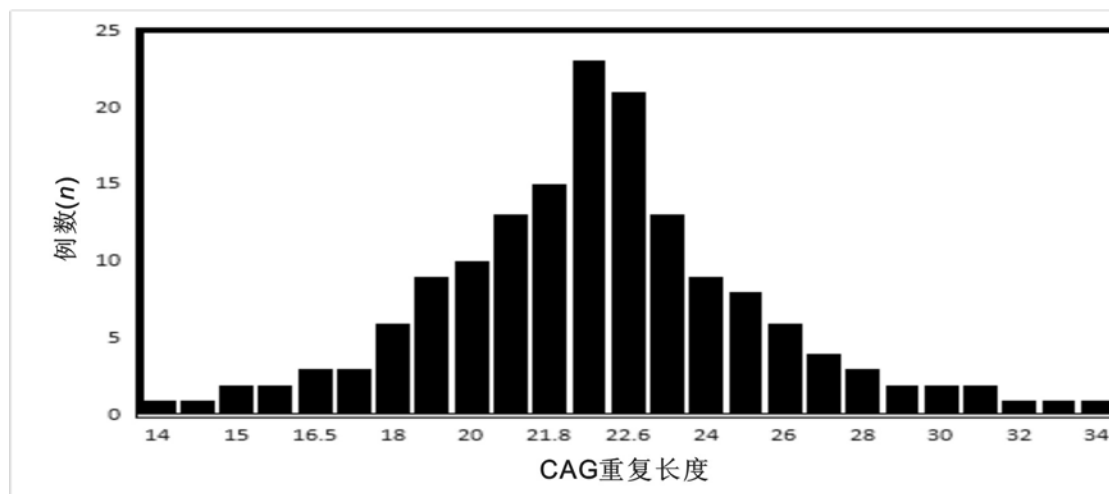


图1 AR基因重复序列数目分布图

本研究结果初步表明 SS, SR 两组 TT, FT 水平较对照组下降, 且 SS 组下降更明显, 三组间比较差异均具有统计学意义; SS, SR 和对照组 CAG 重复数目组间比较差异均有统计学意义; 而 CAG 重复数目和 TT, FT 水平呈负相关, 显示雄激素受体基因(CAG) $n(n>22)$ 重复序列数目及雄激素水平与男性高血压特别是盐敏感性高血压发病有关。研究盐敏感高血压遗传易感性可以更深入地认识高血压的个体差异, 进而寻找更为经济有效的防治手段。然而, 雄激素对于男性患高血压是否是一个独立危险因素, 雄激素水平的变化在男性高血压的产生和发展中所起到的作用, 还需要进一步的研究和探讨。因此, 雄激素受体基因长(CAG) $n(n>22)$ 重复序列多态, 可能是高血压的一个遗传因素, 可以把血浆雄激素水平作为男性盐敏感性高血压的预测指标之一, 进而为诊断、预防和治疗奠定基础。

参考文献:

- [1] de Wardener HE, MacGregor GA. Sodium and blood pressure[J]. Current Opinion in Cardiology, 2002, 17(4):360-367.
- [2] Bernardo RI, Nosratola DV. Salt-sensitive hypertension-update on novel findings Nephrol[J]. Dialysis Transplant, 2007, 22(1):1-4.
- [3] Baltatu O, Cayla C, Iliescu R, et al. Abolition of hypertension-induced end-organ damage by androgen receptor blockade in transgenic rats harboring the mouse ren-2[J]. J Am Soc Nephrol, 2002, 13(11):

2681-2687.

- [4] Morimoto A, Uzu T, Fujii T, et al. Sodium sensitivity and cardiovascular events in patients with essential hypertension[J]. The Lancet, 1997, 350(9093):1734-1737.
- [5] Yanes LL, Sartori-Valinotti JC, Iliescu R, et al. Testosterone-dependent hypertension and upregulation of intrarenal angiotensinogen in Dahl salt-sensitive rats [J]. Am J Physiol Renal Physiol, 2009, 296(4):F771-779.
- [6] Hu J, Tan S, Zhong Y. Effects of testosterone on renal function in salt-loaded rats[J]. Am J Med Sci, 2011, 342(1):38-43.
- [7] Eatman D, Wang M, Socci RR, et al. Gender differences in the attenuation of Salt-induced hypertension by angiotensin (1~7)[J]. Peptides, 2001, 22(6):927-933.
- [8] Bayorh MA, Socci RR, Eatman D, et al. The role of gender in salt-induced hypertension[J]. Clin Exp Hypertens, 2001, 23(3):241-255.
- [9] 彭翠英, 周翠兰, 易 岚. 雄激素受体 CAG 多态与男性原发性高血压的相关性[J]. 南华大学学报(医学版), 2010, 38(4):456-460.
Peng CY, Zhou CL, Yi L. The relationship between androgen gene (CAG) n polymorphism and essential hypertension[J]. Journal of University of South China (Medical Edition), 2010, 38(4):456-460.

收稿日期:2017-05-02

修回日期:2017-05-03