

## 原发性高血压的易感基因

邱长春<sup>#</sup>, 周文郁

(中国医学科学院 中国协和医科大学 基础医学研究所医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100005)

**摘要:** 原发性高血压 (EH) 是遗传因素和环境因素相互作用引发的复杂疾病, 明显的家族聚集现象、同卵双生子发病一致性等研究结果, 揭示了 EH 的多基因遗传性质。鉴定 EH 易感基因不仅有助于阐明其病因学, 也有助于探索预防途径和研制新的治疗药物。本文主要介绍 EH 易感基因研究策略和已发现的基因变异; 分析 EH 易感基因研究存在的问题和理想样本选择对成功鉴定 EH 易感基因的作用。

**关键词:** 原发性高血压; 遗传力; 隔离人群; 易感基因

中图分类号: R544.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-503X(2006)02-0284-05

## Susceptible Genes of Essential Hypertension

QIU Chang-chun<sup>#</sup>, ZHOU Wen-yu

(National Laboratory of Medical Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, CAMS and PUMC, Beijing 100005, China)

**ABSTRACT:** Essential hypertension (EH) is a complex multifactorial disorder with genetic and environmental factors contributing to its prevalence. The genetic features have been revealed from the significant familial aggregation and the consistence among twins. Therefore, identification of EH susceptibility genes will be helpful to understand the pathophysiology of the disease, identify populations with potential risks of developing the disease, and select antihypertensive drugs. The present article introduces the search strategies of EH susceptibility genes and some genetic variants related to EH; meanwhile, it tries to analyze the difficulties and the role for samples in identifying susceptibility genes to EH.

**Key words:** essential hypertension; heritability; isolate population; susceptibility genes

*Acta Acad Med Sin*, 2006 28(2) 284-288

原发性高血压 (essential hypertension, EH) 占高血压病的 90% ~ 95%, 是常见的心血管疾病, 也是脑卒中、心肌梗死和晚期肾功能衰竭等致死性疾病的独立危险因素。EH 系多基因、多因素引起的高度异质性疾病, 具有遗传迟滞性、易感基因外显不完全及基因型和表型不相对应等临床特点。因此对 EH 这类“复杂性状”疾病的遗传学研究较单基因遗传病难得多。本文主要概述近年 EH 相关基因研究中的一些问题。

### 遗传因素在 EH 发病中的作用

遗传因素在 EH 发病中起重要作用。首先, EH 发病有明显家族聚集性, 但不同种族或民族群体间 EH 患病率差异很大<sup>[1]</sup>, 我国彝族 EH 患病率仅 2% ~ 3%, 而藏、蒙族高达 20% 以上<sup>[2]</sup>。第二, 孪生子 EH 发病具有一致性, 1994 年 Hong 等<sup>[3]</sup>调查了 298 对瑞典人双胞胎血压变化, 按年龄分层后发现, 遗传因素对收缩压的影响随年龄的增长趋于降低, 小于 65 岁人为 0.62, 大于 65 岁人为 0.12。第三,

<sup>#</sup> Corresponding author Tel: 010-65296429, Fax: 010-65138482, E-mail: Dr.qiu@163.com

家系内同胞患病风险率与群体患病率的比值  $\lambda_s$  ( $\lambda_s = \text{prevalence of affected sibpair within family} / \text{prevalence in population}$ ) 均在 2 以上, 但各家报告数据不尽相同, 卓玛次仁等<sup>[4]</sup>报告藏族人 EH 的  $\lambda_s$  约为 2.2 ~ 2.4。第四, EH 的遗传力是估计遗传因素在 EH 发病中作用的量化标准, 据国外报告, EH 某些生化特征的遗传力为 65% ~ 80%<sup>[5]</sup>。我国不同民族 EH 遗传力也不同, 以藏族最高, 汉族稍低<sup>[4, 6]</sup>。但遗传因素在 EH 发病中的作用, 最终有赖于易感基因的鉴定。随着人类基因组计划的完成和功能基因组计划的实施及多种遗传标记的发现, 鉴定 EH 易感基因已成为可能。

## EH 易感基因筛查的策略

**候选基因途径** 凡可参加与血压调节机制的蛋白质的编码基因都可作为候选基因, 包括功能候选基因、图位候选基因和表达候选基因。但利用无血缘关系的病例对照样本在杂合人群中完成相关分析, 结果重复性较小, 也不易鉴定出致病基因和所有欲鉴定基因的多态性。

**全基因组扫描** 全基因组扫描是利用基因组内存在的大量间隔分布的遗传标志——短串联重复多态性标志 (short tandem repeat, STR) 或单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 确定家系中所有成员染色体 DNA 各标志位点基因型, 通过连锁分析寻找出与疾病连锁的基因位点。Krushkal 等<sup>[7]</sup>应用全基因组扫描已鉴定出 2q22.1-2q21、5q33.3-5q34、6q23.1-6q24.1 和 15q25.1-15q26.1 等 4 个区域与收缩压连锁。Sharma 等<sup>[8]</sup>应用受累同胞对分析鉴定 11 号染色体的 11q 的 D11S975、D11S4463、D11S933 位点与高血压连锁。本研究室应用全基因组扫描对房山汉族 180 对受累同胞进行连锁分析, 结果显示 1 号染色体 D1S149 附近存在与汉族 EH 易感相关位点<sup>[9]</sup>。而 Ranada 等<sup>[10]</sup>应用全基因组扫描在中国和日本人群中未发现与高血压连锁的单一位点, 表明不同的结果可能与被研究人群的种族和基因杂合度有关。

**中介表型途径 (intermediate phenotype)** 中介表型系指高血压发展过程中早期出现的特征, 较高血压表型本身更适合筛查易感基因。Williams 等<sup>[11]</sup>在一组 EH 患者中发现一种被称为“非调节” (non-modulation) 的中介表型, 它以血管紧张素 II 调

节醛固酮分泌和肾血流的功能丧失为特征, 现代研究表明, 这种表型与血管紧张素原基因 M235T 基因型相关。另一个中介表型的例子是尿液中游离肾上腺皮质素浓度增高, 这种中介表型与盐敏感性高血压相关联<sup>[12]</sup>。

**比较基因组学** 比较基因组学是将从动物研究获得的与血压相关的数据应用于人类。Julier 等<sup>[13]</sup>研究显示大鼠 10 号染色体与血压相关的位点与人 17 号染色体血压相关位点同源, D17S183 和 D17S934 两个微卫星标志与 EH 明显相关, 而且接近血管紧张素转换酶 (angiotensin-converting enzyme, ACE) 基因。此后研究也显示这两个 STR 位点与 ACE 基因连锁<sup>[14]</sup>。但是, 放大样本研究未显示 EH 与 17 号染色体存在明显连锁<sup>[15]</sup>。近来, 根据大鼠和人之间 QTLs (quantitative trait loci, QTLs) 的对应关系提出人类高血压候选基因位点的比较基因组图, 推测在人类基因组的 26 个染色体区域均含有高血压相关基因<sup>[16]</sup>。

## 已发现的高血压相关基因

**肾素-血管紧张素-醛固酮系统 (renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)**、G-蛋白/信号传导系统、去甲肾上腺、离子通道和免疫-炎症等系统作为迄今研究最为广泛的、直接参与血压调节机制的候选基因被研究并取得进展<sup>[17]</sup>。

**RAAS** 1992 年, Jeunematre 等<sup>[18]</sup>以美国盐湖城和法国巴黎 215 对同胞对为研究对象, 发现血管紧张素原 (angiotensinogen, AGT) 基因 M235T 变异增加欧美白种人高血压的危险性, 而不是对黑人、亚洲人乃至澳大利亚 Anglo-Celtic 白种人。此后, 通过家系受累成员连锁分析显示, AGT 基因与高血压连锁, 但不是 M235T 位点<sup>[19]</sup>。ACE 基因存在多种多态性, 其第 16 内含子中的 287 bp 片断插入/缺失 (insertion/deletion, I/D) 多态性可影响男性血压水平<sup>[20, 21]</sup>。根据男、女混合大样本的定量分析显示, ACE 位点和男性高血压存在较弱的遗传连锁<sup>[22]</sup>。另有研究显示 D 等位基因可能是高血压/2 型糖尿病的危险因子<sup>[23]</sup>。近年, 相继发现肾素基因第 1、7、9 内含子 1063 位的 A→G 变异是沙特阿拉伯酋长国 Emirati 人群原发性高血压的危险因素<sup>[24]</sup>。此外, 血管紧张素 II 1 型受体 (Angiotensin II type 1 receptor, AT<sub>1</sub>R) 基因的 A1166C 变异、醛固酮合成酶

(CYP11B2) 基因 C-344T 多态性等与高血压的相关性也有报告。<sup>[25~27]</sup>

**G 蛋白/信号传导系统** 信号传导系统通过激素和神经递质的作用调节血压。G-蛋白信号调节因子可与多种心血管激素(如血管紧张素Ⅱ、内皮素Ⅰ、凝血噻烷 A 和去甲肾上腺素)偶连。G-蛋白亚基编码基因多态性对心血管系统有明显影响。其中 G-蛋白  $\beta_3$  亚基基因多态性被认为是研究心血管药物基因组学最佳候选基因。Siffert 等<sup>[26]</sup>研究显示, G-蛋白  $\beta_3$  亚基基因第 10 外显子 825 位存在 C→T 核苷酸转换, 825T 等位基因与白种人高血压相关。C825T 变异可导致 G-蛋白  $\beta_3$  亚基转录过程中剪切位点改变, 致使 G- $\beta_3$  亚基第 167~197 氨基酸缺失, 变异 G- $\beta_3$  信号传导活性增强, 继而使高血压患者的  $\text{Na}^+/\text{H}^+$  交换泵异构体活性升高。此后, Izawa 等<sup>[27]</sup>对大样本日本人分析也显示 G- $\beta_3$  的 C825T 与男性高血压相关。另有研究显示  $\text{Gs}\alpha$  基因 T393C 多态性在白种人病例对照的频率分布明显不同<sup>[28]</sup>, 而在日本人两组间频率只有微小差异<sup>[31]</sup>。

**去甲肾上腺、离子泵和免疫—炎症系统** 去甲肾上腺、离子泵和免疫-炎症系统基因多态性与高血压的关系亦有较多研究, 来自不同种族人群的结果不尽相同<sup>[17]</sup>。去甲肾上腺  $\beta_2$  受体的 Arg16Gly、Glu27Gln 和 Thr164Ile 多态性仅与欧洲血压正常个体的血压水平相关, 而与欧洲及日本人群高血压发病无关<sup>[32]</sup>。钠泵  $\beta$  亚基 T594M 突变是黑人高血压发病的危险因素, 而对日本人则很少影响<sup>[33, 34]</sup>。2005 年, Tuula 等<sup>[35]</sup>发现上皮钠泵  $\beta$  亚基 G589S 和  $\gamma$  亚基 V546L 多态性与芬兰人高血压易感性及血浆肾素和醛固酮水平明显相关。免疫系统中广为研究的为内皮一氧化氮合成酶基因 (endothelial nitric oxide synthase, eNOS), 不同种族人群研究结果表明, 该基因第 7 外显子 Glu298Asp 多态性与高血压发病及其治疗有关<sup>[36, 37]</sup>。其他基因如肾素结合蛋白 (renin binding protein, RnBP) 基因、低密度脂蛋白受体 (low density lipoprotein receptor, LDLR) 基因、脂蛋白脂酶 (lipid lipase, LL) 基因、缓激肽受体<sup>[30]</sup>以及血浆同型半胱氨酸基因等也可能是 EH 的易感基因<sup>[30]</sup>。

但上述诸多变异基因与高血压相关的结果都缺少重复性, 有时即使相关, 在病例对照组间的统计学强度也很低。因此, 依据目前高血压遗传分析所得结果的复杂性、不一致性和不可重复性, 很难得

出哪一个特异基因与高血压关联的结论。分析其原因可能与实验设计、种族不同、研究人群的大小、遗传统计方法的应用及检测基因给予的信息量等多种因素相关。样本可能是成功鉴定高血压易感基因的关键因素。

## 理想样本的选择

### 影响连锁和关联分析的群体特征

**群体创始时的大小:** 当创始者较少时, 致病基因起源于单一或少数个体, 在该群体后代中所共享的基因组区域较长, 有利于进行连锁和关联分析。而当群体有太多的创始者时, 就会在群体中存在多个古老致病基因起源, 导致群体中不同患者间致病基因座位所共享的基因组区域较小, 只有采用高密度的遗传标记才能检测到。

**群体的代数 (离最近共同祖先的代数):** 在群体遗传学中, 同一染色体上两遗传座位间发生重组事件的概率是由繁殖代数和两座位间的染色体遗传距离所决定。由于两座位间的重组可以消除原有的连锁关系, 干扰对连锁不平衡的分析, 欲消除其影响, 需分析更多的样品, 从而增大工作量。

**群体的层化程度:** 层化将造成所分析群体的有效人口数量的减少和遗传标记位点与疾病表型间的假阳性关联。

**群体的稳定性:** 不同群体间的混合会产生新的连锁不平衡, 干扰对原有群体的连锁分析。

### 理想的高血压易感基因分析样本

**遗传背景单一的隔离群体:** 对多基因疾病的致病基因进行全基因组扫描定位时, 首先选择最近创始、创始者人数少于 100、历史上经历了一个人口迅速增长的时期 (population expansions), 而后保持相对稳定并在地理分布、文化、语言、习惯上与其他群体相对隔离、群体遗传背景比较单一的隔离群体 (isolated population) 和家系作为研究对象, 以便对致病基因进行染色体初步定位, 得到阳性的结果<sup>[32, 33]</sup>。由于在这种特殊群体的家系中不同个体间所共享的基因组区域较长, 也便于选用微卫星 DNA 作为遗传标记来进行连锁及连锁不平衡分析。对来自这样群体的家系材料进行连锁不平衡分析之前, 首先应对该群体样本进行群体背景连锁不平衡分析, 以确定有效的连锁不平衡在染色体上的跨度上限, 这对于选择适当的遗传标记位点及其密度是非常必

要的<sup>[34]</sup>。比如芬兰、冰岛、撒丁岛和日本等最近创始、人口迁移较少、数量相对稳定的群体,适合用于鉴定单基因遗传病的致病基因。但对多基因疾病来说,由于群体的创始者数目大于1 000,致病基因可能有多个不同起源,在染色体上有效的连锁不平衡跨度可能小于1 cM(厘摩尔根),要鉴定出古老的共享基因组区域内的致病基因,必须采用高密度的遗传标记进行基因组扫描,才可能得到有意义的结果<sup>[38,39]</sup>。

长时期保持群体数量相对稳定的小群体与其他群体相比较,发生遗传飘变的几率较大。导致致病基因与其附近的遗传标记等位基因相连锁,即由这种遗传飘变效应所产生的连锁不平衡,相当于将致病基因在染色体上发生连锁不平衡的跨度范围进行了延伸(大约10 cM)而起了放大效应。由于群体数量较小,致病基因的不同等位基因之间短时期内不会快速达到平衡来消除这种效应,因此也有助于对复杂多基因疾病的致病基因定位<sup>[40]</sup>。

近亲婚配的群体:对于存在主效基因的寡基因病,患病风险等位基因间发生分离,而得到极端表型以及多个中间表型的个体可显示出不同的疾病易感性。由于降低了致病基因的数量和等位基因的杂合度,使得对主效基因的研究变得相对容易,但这种样本现在已很难获得。

混合群体:理想的混合群体,在患者和正常对照组之间处在致病基因附近的遗传标记位点将显示出不同的等位基因频率。在当代的城市群体中,由于人口的大量流动,高度层化的群体间的混合将导致产生比较高的、新的连锁不平衡,即所谓混合不平衡,并由此可能破坏群体各自原有的连锁不平衡关系。以此类标本为研究对象,对其结果的解释应谨慎。此外,当应用病例对照相关分析鉴定高血压易感基因时,对照组应设定年龄界限,以排除可能混杂的易感者。

家系的选择 因为在群体中较低频率的致病等位基因可能会在家系中得到富集,因此,研究常见的多基因疾病,为了更好地富集致病基因,提高其在决定疾病表型上所占的比重,并尽量消除非遗传因素对分析结果的影响,在家系选择时必须遵循以下原则:(1)选择患者更为年轻且症状较严重的家系;(2)选择患者性别相同并属于同一疾病亚型的患者家系;(3)选择来自同一环境、地理分布上相对隔离的同一群体的家系<sup>[41]</sup>。家系资料应尽可能完

整,除先证者外,包含的受累亲属成员越多越好。

## 参 考 文 献

- Hunt SC, Sandra JH, Kuida H, *et al.* Genetic heritability and common environmental components of resting and stressed blood pressures, lipids, and body mass index in UTAH pedigrees and twins. *Am J Epidemiol*, 1988, 3(127):625-638.
- 刘治全. 高血压病诊断治疗学. 北京:中国协和医科大学北京医科大学联合出版社, 1998. 7.
- Hong YL, Faire U, Heller DA, *et al.* Genetic and environmental influences on blood pressure in elderly twins. *Hypertension*, 1994, 24(6):663-670.
- 卓玛次仁, 庄兰平, 崔超英, 等. 藏族原发性高血压的遗传学. *中华医学杂志*, 2002, 82(15):1009-1012.
- Williams RR, Hunt SC, Hasstedt ST, *et al.* Are there interactions and relations between genetic and environmental factors predisposing to lung blood pressure? *Hypertension*, 1991, 18(1):29-37.
- 张健, 张兰, 苏庆力, 等. 原发性高血压遗传度的研究. *高血压杂志*, 1995, 22:90-94.
- Krushkal J, Ferrell R, Mockrin SC, *et al.* Genome-wide linkage analyses of systolic blood pressure using highly discordant siblings. *Circulation*, 1999, 99(11):1407-1410.
- Sharma P, Fatibene R, Ferraro F, *et al.* A genome-wide scan search for susceptibility loci to human hypertension. *Hypertension*, 2000, 35(6):1291-1296.
- Zheng Y, Qiu CC, Hou SQ, *et al.* Evidence for association of D1S249 locus on human chromosome 1 with the susceptibility to essential hypertension in Han Chinese. *Sci China*, 2001, 44(1):106-112.
- Ranade K, Hinds D, Hsiung CA, *et al.* A genome scan for hypertension susceptibility loci in populations of Chinese and Japanese origins. *Am J Hypertens*, 2003, 16(2):158-162.
- Williams SM, Addy JH, Phillips JA, *et al.* Combinations of variations in multiple genes are associated with hypertension. *Hypertension*, 2000, 36(1):2-6.
- Litchfield WR, Hunt SC, Jeunemaitre X, *et al.* Increased urinary free cortisol: a potential intermediate phenotype of essential hypertension. *Hypertension*, 1998, 31(2):569-574.
- Julier C. Genetic susceptibility for human familial essential hypertension in a region of homology with blood pressure linkage on rat chromosome 10. *Hum Mol Genet*, 1997, 6(12):2077-2085.
- Levy D, Destefano AL, Larson MG, *et al.* Evidence for a gene influencing blood pressure on chromosome 17. Genome scan linkage results for longitudinal blood pressure phenotypes

- in subjects from the Framingham Heart Study. *Hypertension*, 2000, 36(4):477-483.
- 15 Rutherford S, Johnson MP, Curtain RP, *et al.* Chromosome 17 and the inducible nitric oxide synthase gene in human essential hypertension. *Hum Genet*, 2001, 109(4):408-415.
  - 16 Stoll M, Kwitek-Black AE, Cowley AW, *et al.* New target regions for human hypertension via comparative genomics. *Genome Res*, 2000, 10(4):473-482.
  - 17 Tanira M, Balushi K. Genetic variations related to hypertension: a review. *J Hum Hypertens*, 2005, 19:7-19.
  - 18 Jeunemaitre X, Soubrier F, Kotelevtsev YV, *et al.* Molecular basis of human hypertension: role of angiotensinogen. *Cell*, 1992, 71(1):169-180.
  - 19 Caulfield M, Lavender P, Farrall M, *et al.* Linkage of angiotensinogen gene to essential hypertension. *NEJM*, 1994, 330(23):1629-1633.
  - 20 Taittonen L, Vhari M, Kontula K, *et al.* Angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism, angiotensinogen gene polymorphisms, family history of hypertension and childhood blood pressure. *Am J Hypertens*, 1999, 12(9 part 1):858-866.
  - 21 O'Donnell CJ, Lindpaintner K, Martin G, *et al.* Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting enzyme locus with hypertension and blood pressure in men but not women in the Framingham heart study. *Circulation*, 1998, 97(18):1766-1772.
  - 22 Pan L, Gross KW. Transcriptional regulation of renin-angiotensin system update. *Hypertension*, 2005, 45(1):3-8.
  - 23 周琳, 薛耀明, 罗仁, 等. ACE基因的插入/缺失多态性与2型糖尿病伴高血压的相互关系. *第一军医大学学报*, 2002, 22(9):808-810.
  - 24 Usman A, Danish S, Awais B, *et al.* Strong association of a renin intronic dimorphism with essential hypertension. *Hypertens Res*, 2005, 28(4):339-344.
  - 25 Barbato A, Russo P, Siani A, *et al.* Aldosterone synthase gene (CYP11B2) C-344T polymorphism, plasma aldosterone, rennin activity and blood pressure in a multi-ethnic population. *J Hypertens*, 2004, 22(10):1895-1901.
  - 26 Siffert W, Rosskopf D, Siffert G, *et al.* Association of human G-protein beta-3 subunit variant with hypertension. *Nat Genet*, 1998, 18(1):45-48.
  - 27 Izawa H, Yamada Y, Okada T, *et al.* Prediction of genetic risk for hypertension. *Hypertension*, 2003, 41(5):1035-1040.
  - 28 Jia H, Hingorani AD, Sharma P, *et al.* Association of the G (s) alpha gene with essential hypertension and response to beta-blocked. *Hypertension*, 1999, 34(1):8-14.
  - 29 Iwai N, Tago N, Yasui N, *et al.* Genetic analysis of 22 candidate genes for hypertension in the Japanese population. *J Hypertens*, 2004, 22(6):1119-1126.
  - 30 Cui J, Melista E, Chajaro I, *et al.* Sequence variation of bradykinin receptors B1 and B2 and association with hypertension. *J Hypertens*, 2005, 23(1):55-62.
  - 31 Abe M, Nakura J, Yamamoto M, *et al.* Association of GNAS1 gene variant with hypertension depending on smoking status. *Hypertension*, 2002, 40(3):261-265.
  - 32 Risch NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium. *Nature*, 2000, 405(6788):847-856.
  - 33 Wright AF, Carothers AD, Pirastu M, *et al.* Population choice in mapping genes for complex diseases. *Nat Genet*, 1999, 23(4):397-404.
  - 34 Slatkin M. Linkage disequilibrium in growing and stable populations. *Genetics*, 1994, 137(1):331-336.
  - 35 Tuula HH, Kimmo K, Ilkka T, *et al.* Common variants of the beta and gamma subunits of the epithelial sodium channel and their relation to plasma renin and aldosterone levels in essential hypertension. *BMC Medical Genetics*, 2005, 6(4):223-236.
  - 36 Shoji M, Tsutaya S, Saito R, *et al.* Positive association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism with hypertension in northern Japan. *Life Sci*, 2000, 66(26):2557-2562.
  - 37 Jachymova M, Horky K, Bultas J, *et al.* Association of the Glu298Asp polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene with essential hypertension resistant to conventional therapy. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 284:426-430.
  - 38 Peltonen L. Positional cloning of disease genes: advantages of genetic isolates. *Hum Hered*, 2000, 50(1):66-75.
  - 39 Terwilliger JD, Zöllner S, Laan M, *et al.* Mapping genes through the use of linkage disequilibrium generated by genetic drift: 'Drift mapping' in small populations with no demographic expansion. *Hum Hered*, 1998, 48(3):138-154.
  - 40 Baima J, Nicolaou M, Schwartz F, *et al.* Evidence for linkage between essential hypertension and a putative locus on human chromosome 17. *Hypertension*, 1999, 34(1):4-7.
  - 41 Stoll M, Kwitek AE, Cowley J, *et al.* New target region for human hypertension via comparative genomics. *Genome Research*, 2000, 10(4):473-482.

(2005-10-19 收稿)