

# ACE 基因多态性与异常体液型乳腺癌的易感性

彭晓梅<sup>1,2</sup>, 哈木拉提·吾甫尔<sup>3</sup>, 宋曼曼<sup>4</sup>, 迪丽努尔·木塔力甫<sup>1</sup>, 多力坤·买买提玉素甫<sup>1</sup>

1. 新疆大学生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046
2. 乌鲁木齐市第七十一中学, 乌鲁木齐 830006
3. 新疆医科大学维吾尔医药系, 乌鲁木齐 830011
4. 首都医科大学公共卫生与家庭医学学院, 北京 100069

**摘要** 为探讨血管紧张素转换酶(ACE)基因插入/缺失(I/D)多态性与新疆汉族人群乳腺癌的相关性,按维吾尔医将乳腺癌患者分为4种体液型,采用聚合酶链式反应(PCR)技术对新疆汉族139例乳腺癌患者和72例正常对照组ACE基因I/D多态性进行检测,比较各组间等位基因和基因型频率分布的差异。结果显示,异常黏液乳腺癌患者组II基因型频率( $P=0.018$ )和I等位基因频率( $P=0.004$ )都显著高于正常对照组;异常黏液质乳腺癌患者组I等位基因频率显著高于异常黑胆质乳腺癌患者组( $P=0.012$ )。由此得出,ACE基因I等位基因和II基因型可能增加新疆汉族维吾尔医异常黏液质型乳腺癌的发病风险。

**关键词** 异常体液型;乳腺癌;血管紧张素转换酶;多态性

中图分类号 Q39

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2014.36.010

## Polymorphism and Susceptibility of Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Gene to Breast Cancer with Abnormal Hilit

PENG Xiaomei<sup>1,2</sup>, UPUR Halmurat<sup>3</sup>, SONG Manshu<sup>4</sup>, MUTALLIP Dilnur<sup>1</sup>, MAMATYUSUPU Dolikun<sup>1</sup>

1. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China
2. The Seventy-first Middle School in Urumqi, Urumqi 830006, China
3. Department of Uygur Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China
4. School of Public Health and Family Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China

**Abstract** This paper investigates the relationship between the polymorphisms of ACE gene and the breast cancer with abnormal Hilit in Chinese Han population in Xinjiang. The breast cancer patients are divided into four groups according to body fluids based on the Uighur medicine theory, the polymerase chain reaction technique is employed to detect the genotype and the allele frequencies of the I/D polymorphism in the ACE gene in 124 breast cancer patients with abnormal Hilit and 72 normal control subjects in the Han population in Xinjiang. It is shown that the frequency of the I allele and the II genotype is significantly higher in the breast cancer patients with abnormal balgham Hilit than in the control ( $P=0.004$ ;  $P=0.018$ ); the frequency of the I allele is significantly higher in the breast cancer patients with abnormal balgham Hilit than in the breast cancer patients with abnormal black Savda ( $P=0.012$ ). It is concluded that the I allele and the II genotype in ACE gene may increase the risk of breast cancer with Uighur medicine abnormal balgham Hilit.

**Keywords** abnormal Hilit; breast cancer; norepinephrine transporter gene; polymorphisms

收稿日期: 2014-08-19; 修回日期: 2014-10-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31460285); 新疆维吾尔自治区科技支撑项目(201191247); 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2013211A016); 新疆地方病分子生物学重点实验室开放项目基金(XJDX0208-2009-05); 国家自然科学基金青年科学基金项目(30901238)

作者简介: 彭晓梅, 硕士, 研究方向为人类分子遗传学, 电子邮箱: pxmdyx@sina.cn; 多力坤·买买提玉素甫(通信作者), 教授, 研究方向为人类分子遗传学, 电子邮箱: duolikunm@xju.edu.cn

引用格式: 彭晓梅, 哈木拉提·吾甫尔, 宋曼曼, 等. ACE 基因多态性与异常体液型乳腺癌的易感性[J]. 科技导报, 2014, 32(36): 65-68.

维吾尔医学认为,人体的健康成长须要4种体液质,即血液质,黏液质,胆液质、黑胆质,这4种体液的数量和质量及正常自然状态过程,是人体健康的重要条件;4种体液平衡的失调则是疾病产生的基础<sup>[1]</sup>。异常黑胆质作为胆液质、血液质、黏液质和黑胆质被“燃烧”,继而“沉淀”的最终产物或表现形式,最难成熟和清除,所需的时间也较长。

维吾尔医学认为黑胆质的失衡或正常体液的过度燃烧都会导致异常黑胆质,这是身体对某些疾病易感性增加的主要原因,而异常黑胆质乳腺癌患者在脂肪代谢方面也出现异常,同时有研究发现,eNOS基因多态性与异常黑胆质冠心病有关联<sup>[2,3]</sup>。血管紧张素转化酶(ACE)是肾素—血管紧张素系统中的重要调节因子。了解ACE基因多态性与维吾尔医学异常体液型乳腺癌发生、发展的关系,对维吾尔医学异常体液型乳腺癌的诊治和早期预防起到帮助作用。ACE基因位于17号染色体(17q23)上,长度21 kb,包括26个外显子和25个内含子。在16位内含子中存在着两种基因片段,即190个碱基组成的无插入型(缺失型,等位基因D)片段和490个碱基组成的插入型(插入型,等位基因I)片段。所以ACE基因可表现为II、ID和DD的多态性,而血清中ACE浓度与ACE基因的I/D多态性有关,随着ACE中D等位基因的数目增多,血浆中ACE浓度也增高,而II则相反,ID则介于二者之间<sup>[4]</sup>。病理学研究指出,高血压和相关激素与癌症发病率相关,有研究表明怀孕和绝经后高血压与乳腺癌的发病风险呈正相关<sup>[5,6]</sup>。女性使用ACE抑制剂和其他抗高血压药物具有降低乳腺癌的风险,但研究结果并不完全一致<sup>[7-9]</sup>。人群中个体ACE水平相对保持稳定,但存在个体差异。研究证明,血浆ACE水平受主基因(16内含子)控制。ACE DD等位基因的个体缩血管作用比较强,体内各系统疾病的发生在很大程度上与ACE DD基因型呈正相关,且ACE基因频谱分布有明显种族和地区差异<sup>[10]</sup>。有报道DD基因型的心肌梗死危险系数较高<sup>[11]</sup>。目前,关于ACE基因I/D多态性与维吾尔医学异常体液型乳腺癌关联方面的研究还未见文献报道。本研究对139例异常体液型乳腺癌患者进行了ACE基因型检测,探讨异常体液型乳腺癌与ACE基因多态性的相关关系。

## 1 材料与与方法

### 1.1 研究对象

乳腺癌患者共139例,平均年龄为42±15岁,包括27例异常黏液质、44例胆液质、64例异常黑胆质和4例血液质(均符合维吾尔医学诊断标准和WHO诊断标准)为2007年5月至11月在新疆医科大学附属肿瘤医院就诊或手术治疗确诊的病例,均为新疆汉族乳腺癌患者。72例新疆汉族健康人作为健康对照组,平均年龄为(40±15)岁,这72例标本均来自新疆医科大学第一附属医院体检中心的体检人群,且在检查中未发现肿瘤及癌前病变、无其他肿瘤病史和遗传病史。每份样品均为3代以内无异族通婚史且无亲缘关系的血液标本,并

与受检者签署知情同意书。以上资料均由新疆医科大学附属肿瘤医院提供的。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标本采集及DNA提取

抽取外周静脉血5 mL,EDTA抗凝,采用盐析法提取外周血白细胞中的DNA。

#### 1.2.2 PCR扩增

参照Rigat等<sup>[12]</sup>报道的方法,采用扩增片段长度多态性(Amp-FLP)技术,用PCR对ACE基因扩增。PCR引物由上海生物工程技术服务有限公司设计合成,上游引物为:5'-CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT-3';下游引物为:5'-GAT GTG GCC ATC ACA TTC GTC AGA T-3'。

PCR反应体系:100 ng模板DNA,1 U TaqDNA聚合酶(TaKaRa大连宝生物工程有限公司),引物各5 pmol,dNTP200 μmol/L,1×buffer 2.5 μL,0.1 mg/mL BSA 2.5 μL,25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 2 μL,加去离子水补至终体积25 μL。PCR反应条件为:94℃预变性5 min,94℃,1 min,58℃,30 s,72℃延伸1 min,共35个循环。最后在72℃下延伸10 min。

#### 1.2.3 扩增产物片段长度多态性分析

PCR产物在经溴化乙锭染色的2%琼脂糖凝胶上电泳55 min后,凝胶成像系统照相并保存结果,确定基因型。

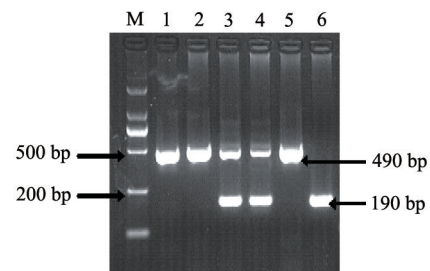
### 1.3 统计学分析

利用SPSS 13.0软件进行统计处理。分别计数各组ACE基因频率,经Hardy-Weinberg遗传平衡定律检验,表明各基因频率已达到遗传平衡,具有群体代表性。各组间频率比较,采用χ<sup>2</sup>检验,当理论数小于5时,则改为Fisher精确概率法。*P*<0.05为有统计学意义。用比值比(Odds ratio, OR)代表疾病与ACE基因的相关性强度。*P*<0.05为有统计学意义。

## 2 结果与分析

### 2.1 ACE基因I/D位点电泳结果

由图1可见,经PCR反应得到3种基因型:DD型(缺失纯合子,只含190 bp片段)、ID型(缺失与插入杂合子,含190 bp和490 bp片段)和II型(插入纯合子,只含490 bp片段)。



M为2000 bp DNA Marker分子量标准;1,2,5为DD型;3,4为ID型;6为II型

图1 ACE基因PCR扩增产物

Fig. 1 ACE gene PCR amplification products

## 2.2 异常体液型乳腺癌患者和对照组ACE基因多态性比较

从表1可看出,异常黑胆质乳腺癌患者组和异常胆液质乳腺癌患者组的ACE基因型频率和等位基因频率与正常对照组无显著性差异;异常黏液质乳腺癌患者组II基因型频率

( $P=0.018$ )和I等位基因频率( $P=0.004$ )都显著高于正常对照组。由此可见,ACE基因的I等位基因可能增加异常黏液质型乳腺癌的发病风险。

表1 异常体液型乳腺癌患者和对照组ACE基因多态性频率比较

Table 1 Breast cancer with abnormal Hilit and the control group of ACE gene polymorphism frequency comparison

| 变量    | 对照组 |    | 黑胆质组  |                    |    | 胆液质组  |                    |    | 黏液质组  |                    |  |
|-------|-----|----|-------|--------------------|----|-------|--------------------|----|-------|--------------------|--|
|       | 例数  | 例数 | $P$   | OR(95%CI)          | 例数 | $P$   | OR(95%CI)          | 例数 | $P$   | OR(95%CI)          |  |
| DD    | 36  | 31 |       |                    | 21 |       |                    | 8  |       |                    |  |
| ID    | 19  | 16 | 0.957 | 0.978(0.431~2.221) | 10 | 0.829 | 1.108(0.438~2.826) | 6  | 0.564 | 0.704(0.213~2.326) |  |
| II    | 17  | 17 | 0.723 | 1.161(0.508~2.653) | 13 | 0.555 | 0.763(0.310~1.877) |    | 0.018 | 0.291(0.101~0.833) |  |
| ID+II | 36  | 33 | 0.491 | 1.267(0.646~2.485) | 23 | 0.812 | 0.913(0.431~1.934) | 19 | 0.069 | 0.421(0.163~1.085) |  |
| D     | 91  | 78 |       |                    | 52 |       |                    | 22 |       |                    |  |
| I     | 53  | 50 | 0.706 | 0.909(0.556~1.484) | 36 | 0.533 | 0.841(0.489~1.449) | 32 | 0.004 | 0.400(0.211~0.759) |  |

注:由于异常血液型乳腺癌患者只有4例,故无法与正常对照组比较。

## 2.3 异常黑胆质型乳腺癌患者组与其他异常体液型乳腺癌患者组ACE基因多态性比较

从表2可看出,异常黑胆质型乳腺癌组与异常胆液质型乳腺癌患者组的ACE基因型频率和等位基因频率没有显著

差异;异常黑胆质乳腺癌患者组I等位基因频率显著低于异常黏液质乳腺癌患者组( $P=0.012$ )。由此可见,ACE基因的I等位基因可能与异常黑胆质型乳腺癌无关。

表2 异常黑胆质型乳腺癌组与其他异常体液型乳腺癌组ACE基因频率分布

Table 2 Frequency distribution of ACE gene with the abnormal Savda type breast cancer patients and other abnormal Hilit breast cancer patients

| 变量    | 黑胆质组     | 胆液质组     | $\chi^2$ | $P$   | 黏液质组     | $\chi^2$ | $P$   |
|-------|----------|----------|----------|-------|----------|----------|-------|
| DD    | 31(48.4) | 21(47.7) |          |       | 8(29.6)  |          |       |
| ID    | 16(25.0) | 10(22.7) |          |       | 6(22.2)  |          |       |
| II    | 17(26.6) | 13(29.6) | 0.142    | 0.931 | 13(48.1) | 4.312    | 0.116 |
| ID+II | 33(51.6) | 23(52.3) | 0.005    | 0.942 | 19(70.4) | 2.743    | 0.098 |
| D     | 78(60.9) | 52(59.1) |          |       | 22(40.7) |          |       |
| I     | 50(39.1) | 36(40.9) | 0.074    | 0.785 | 32(59.3) | 6.258    | 0.012 |

注:由于异常血液型乳腺癌患者只有4例,故无法与黑胆质组比较;括号内数字为不同基因型和等位基因频率。

## 3 讨论

维吾尔医体液论是维医疾病诊断和治疗的主要依据之一。异常体液是指超出肝脏产生的正常状态,并且在数量和质量上有了变化,对人体无益或有害的体液。根据其变化的程度和所起的反作用及产生的症状,导致的疾病类型,对体液失调的疾病首先作体液分型,分为异常胆液质、异常血液质、异常黏液质组和异常黑胆质4种。然后根据导致疾病的异常体液的性质,先后使用相应的成熟剂和清除剂使异常体液成熟和排除体外,达到平衡体液的目的,为本脏和治疗奠定基础,然后对疾病作针对性治疗<sup>[13,14]</sup>。

本研究采用分子生物学的方法和维医分型的方法对乳

腺癌患者组的样本进行基因频率分析,探讨血管紧张素转换酶(ACE)基因插入/缺失(I/D)多态性与新疆汉族人群乳腺癌的相关性。本实验结果表明,中国异常黏液质乳腺癌与II基因型和I等位基因存在明显关联( $OR=0.291$ ,95%CI为0.101~0.833; $OR=0.400$ ,95%CI为0.211~0.759)。异常黏液质体液一般倾向于干寒气质,较为浓稠,沉淀力较强。人体如形成这种异常体液会引发正常黏液质的生理功能出现紊乱,致使人体新陈代谢活动淡化,使体液浓稠,导致血管壁先天性湿度减少,使血管的弹性下降。人体器官中如出现这种异常状况,会使组织之间水分浓稠,使新陈代谢中形成的废物排除体外受阻。于是,乳腺组织细胞的供血受阻,造成局部细胞

坏死或出现畸形等病变。

此外,通过对异常黑胆质型乳腺癌与异常胆液质型乳腺癌、异常黏液质型乳腺癌的ACE插入/缺失(I/D)多态性进行比较,发现异常黑胆质型乳腺癌的I等位基因的频率显著低于异常黏液质型乳腺癌( $\chi^2=6.258, P=0.012$ ),而与异常胆液质型乳腺癌差异无显著性。这些结果表明,ACE基因的I等位基因可能与异常黑胆质型乳腺癌不存在关联。本研究值得进一步增大样本量验证,而最终结论的确定将对高危人群的判断,实施有目的的预防和干预有重要的价值。

#### 4 结论

ACE基因I等位基因可能增加新疆汉族女性异常黏液质型乳腺癌的发病风险,而与异常黑胆质型乳腺癌无关。

#### 参考文献(References)

- [1] 哈木拉提·吾甫尔. 维吾尔医学体液论及其现代研究[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 2003.  
Upur Halmurat. Therapy of Mizaj and Hilit in Uyghur medicine and modern study[M]. Urumqi: Science and Technique Publishing Company in Xinjiang, 2003.
- [2] 巴吐尔·买买提明, 孙凤, 阿里木江·克里木, 等. 维医异常黑胆质证与肿瘤患者血浆脂肪酸含量变化的相关性[J]. 科技导报, 2014, 32(18): 62-66.  
Mamtimin Batur, Sun Feng, Kelimu Alimujiang, et al. Correlation analysis of plasma fatty acid levels in patients with tumor and abnormal Savda in Uyghur medicine[J]. Science & Technology Review, 2014, 32(18): 62-66.
- [3] 阿不都热依木·玉苏甫, 阿衣木姑·阿布拉, 哈木拉提·吾甫尔, 等. 维医异常体液型冠心病与ACE、eNOS、FV II及ICAM-1基因多态性关系的研究[J]. 科技导报, 2009, 27(5): 19-27.  
Yusup Abdiryiml, Abila Ayimgull, Upur Halmurat, et al. Association between ACE, eNOS, FV II and ICAM-1 gene polymorphism and coronary heart disease with abnormal humour syndrome in Uighur medicine[J]. Science & Technology Review, 2009, 27(5): 19-27.
- [4] Hung J, McQuillan B M, Palmer L J, et al. Angiotensin converting enzyme gene polymorphism and carotid wall thickening in a community population [J]. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 1999, 19(8): 1969.
- [5] Talamine R, Franceschi S, Favero A, et al. Selected medical conditions

- and risk of breast cancer[J]. British Journal of Cancer, 1997, 75(11): 1699-1703.
- [6] Peeters P H, van Noord P A, Hoes A W, et al. Hypertension and breast cancer risk in a 19-year follow-up study (the DOM cohort). Diagnostic investigation into mammarian cancer[J]. Journal of Hypertension, 2000, 18(3): 249-254.
- [7] Mack T M, Henderson B E, Gerkins V R, et al. Reserpine and breast cancer in a retirement community[J]. The New England Journal of Medicine, 1975, 292(26): 1366-1371.
- [8] Lever A F, Hole D J, Gillis C R, et al. Do inhibitors of angiotensin-I-converting enzyme protect against risk of cancer[J]. Lancet, 1998, 352(9123): 179-184.
- [9] Meier C R, Derby L E, Jick S S, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors, calcium channel blockers, and breast cancer[J]. Archives of Internal Medicine, 2000, 160: 349-353.
- [10] Sugnella G A, Rothwell M L, Onipinia A K, et al. A population study of ethnic variations in the angiotensin converting enzyme I/D polymorphisms: Relationships with gender, hypertension and impaired glucoes metabolism[J]. Hypertens, 1999, 17: 657-664.
- [11] 裴娟慧, 韩丽莎, 秦文斌. ACE基因多态性与疾病发生关系的研究进展[J]. 包头医学院学报, 2005, 21(4): 104-106.  
Pei Juanhui, Han Lisha, Qin Wenbin. Progress in research on the relationship between ACE gene polymorphism and disease[J]. Journal of Baotou Medical College, 2005, 21(4): 104-106.
- [12] Rigat B, Hubert C, Corvol P, et al. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidyl carboxypeptidase1) [J]. Nucleic Acids Research, 1992, 20(6): 1433.
- [13] 阿依努尔·买提斯迪克, 尼加提·热合曼, 哈木拉提·吾甫尔. 异常黑胆质载体动物模型下丘脑-垂体-肾上腺轴组织形态学观察[J]. 新疆医科大学学报, 2006, 29(10): 914-916.  
Maitisidike Ayinuer, Zechman NiGguti, Upur Halmurat. Animal model of abnormal Savda syndrome of hypothalamic pituitary adrenal axis morphology observation[J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2006, 29(10): 914-916.
- [14] 买买提依明·沙比尔. 维吾尔医学诊断学[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1993.  
Sabir Mamatimin. Diagnostics of Uyghur medicine[M]. Urumqi: Science and Technique Publishing Company in Xinjiang, 1993.

(责任编辑 吴晓丽)

#### 《科技导报》“研究论文”栏目征稿

“研究论文”栏目专门发表自然科学、工程技术领域具有创新性的研究论文,要求学术价值显著、实验数据完整、具有原始性和创造性,同时应重点突出、文字精炼、引证及数据准确、图表清晰,并附中、英文摘要以及作者姓名、所在单位、通信地址、关键词等信息。在线投稿:www.kjdb.org。