腺癌很易发生骨转移^[4-7]。发射型计算机断层显像(ECT)核素骨扫描反映骨骼的血流和骨质代谢状况,具有早于 X 线发现骨转移病灶和全身显像的优点^[8-10]。

本文资料显示,前列腺癌极易发生骨转移,达 64.5%,与 PSA 呈正相关。PSA>100 时其发生骨转移概率达到 82.3%,另有 3 例大于 300 全部发生骨转移。

本文同时调查并比较了 98 例前列腺癌患者和 88 例健康人群的血清 fPSA、tPSA 和 fPSA/tPSA 水平。组间比较结果显示,随着骨转移程度的加重,tPSA 和 fPSA 水平均有明显上升,差异均有统计学意义($P<0.05$),fPSA/tPSA 明显下降($P<0.05$)。ROC 曲线分析结果显示,fPSA、tPSA 和 fPSA/tPSA 水平在前列腺癌骨转移诊断中有较好的准确性(AUC 面积分别为 0.84、0.79、0.74)。

综上所述,fPSA、tPSA 和 fPSA/tPSA 在前列腺癌骨转移的早期诊断、疗效监测、预后判断中均有着较高的临床应用价值;联合测定血清 fPSA、tPSA 和 fPSA/tPSA 浓度有助于肺癌骨转移的早期诊断。

参考文献

[1] 宋刚,周利群,那彦群,等.血清 PSA 与前列腺癌分期分期的关系[J].国际泌尿系统杂志,2006,26(2):219-222.
 [2] 李跃进,李登清,谭湘芳,等.血清 T-PSA、F-PSA 水平和 F/T 比值与前列腺癌病理分级的相关性[J].实用预防医学,2007,14(2):344-345.
 [3] Catalona WJ,Partin AW,Stawin KM,et al. Use of percentage of free prastate specific antigen to enhance differ-

entiation of prostate cancer from benign prostatic disease: a prospective multicenter clinical trial[J]. JAMA, 1998, 279(19):1542-1547.

[4] Ciatto S,Bonardi R,Lombardi C,et al. Predicting prostate biopsy outcome by findings at digital rectal examintion, transrectal ultrasonograpy PSA, PSA density and free-to total PSA ratio in a popcilationbased screening setting [J]. Int Biol Markers,2001,16(3):179-182.
 [5] 王志刚,沈瑞林.前列腺特异性抗原的表达及临床应用[J].国外医学:临床生物化学与检验学分册,2002,23(5):285-286.
 [6] 龚玉芳.游离 PSA 对筛选前列腺癌价值的探讨[J].实用医学杂志,2005,21(7):729-730.
 [7] 王行环,胡礼泉.前列腺增生症患者血清前列腺特异抗原升高的病理学研究[J].武汉大学学报,2003,25(3):321-326.
 [8] Speights VO,Brawn PN. Serum prostate specific antigen levels in non-specific granulomators prostatitis [J]. Brj urol,2005,77(3):408-410.
 [9] 吴昊文,张之芳,邓守真,等. PSA 诊断前列腺癌骨转移的临床价值[J].中华泌尿外科杂志,1999,20(2):99-101.
 [10] 侯龙敏,谢有兰.前列腺癌骨转移患者血清 PSA 测定的临床价值[J].河南大学学报:医学版,2007,26(2):70-71.

(收稿日期:2011-04-02)

• 临床研究 •

AT1 受体基因多态性与老年高血压易感性关系的研究

廖 蓉(重庆医科大学附属第一医院第一分院心内科,重庆 400015)

【摘要】 目的 研究高血压相关基因和高血压的易感性(包括环境易感性、疾病易感性、药物易感性等)在临床研究中的意义。**方法** 肾素-血管紧张素(RAS)系统的过度兴奋是高血压发生、发展和并发症的重要病理生理原因,I 型血管紧张素 II (Ang II) 是 RAS 系统的主要效应物质,本研究通过运用单链构象多态性(SSCP)技术、临床生化检验、影像学等方法意在探讨 I 型血管紧张素 II 受体基因(Ang II AT1R)多态性与高血压发生、发展过程中易感性的相关性的问题。**结果** 研究发现 AT1R 基因 A1166C 在高血压患者与健康对照组差异无统计学意义,可能 AT1R 基因 A1166C 频率在黄种人中极低,导致检出率低;AT1R 基因与高血压的发生、发展可能存在生物学关联,有一个组织特异性范畴,并提示 AT1R 基因多态性可能通过间接方式,如在环境易感性、疾病易感性等各种因素情况下增加组织血浆肾素的摄取或活化,引起局部 RAS 的激活。**结论** 高血压的易感性问题和高血压相关基因在疾病发展过程中一样至关重要。

【关键词】 高血压; 基因; 易感性; 老年

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.14.049 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)14-1757-03

我国是高血压大国,由于目前治疗模式存在不足,以及“三率”(知晓率、治疗率、控制率)低下,大多数患者就诊时已经出现合并症和靶器官损伤,从临床实践看,我国心脑血管事件远高于欧美国家。目前,中国提出“重视差异,优化实践”为主题的理念,我国与欧美国家不管是在地域、人群、文化背景、生活环境习惯都有差异,这就使得药物应用在我国与欧美国家高血压患者身上,未必有同样的疗效,其中高血压相关基因和高血压的易感性问题(包括环境易感性、疾病易感性、药物易感性

等)孰轻孰重呢?同时,肾素-血管紧张素(RAS)系统的过度兴奋是高血压发生、发展和发生并发症的重要病理生理原因,I 型血管紧张素 II (Ang II) 是 RAS 系统的主要效应物质,Ang II 必须通过受体发挥作用,研究表明其受体有 4 种表型,即 AT1、AT2、AT3、AT4,以 AT1、AT2 为主,存在于人体大多组织中,但功能不同^[1]。故本研究意在探讨 I 型血管紧张素 II 受体基因(Ang II AT1R)多态性与高血压发生、发展过程中易感性的相关性的问题。本研究运用单链构象多态性(SSCP)技

术、临床生化检验、影像学和高血压药物干预等方法意在发现老年高血压发生、发展中与 AT1 受体(AT1R)基因多态性的相关性的研究,评价 AT1R 受体基因以及多种危险因素对高血压发生、发展的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取 150 例来自重庆地区各大医院门诊、体检和住院的高血压患者,均为汉族患者,男 78 例,女 72 例。年龄 60~90 岁,平均 75 岁。采用《1999WHO/ISH 高血压治疗指南》的分类诊断标准,排除糖尿病和继发性高血压。健康对照组 120 例来自健康体检汉族人,排除糖尿病和继发性高血压病史。其中 50 例为小于 60 岁的人群,70 例为大于 60 岁老年人群。

1.2 主要试剂 PCR 试剂及引物合成(上海博亚生物技术有限公司),蛋白酶 K(德国 Merck 公司),琼脂糖(中国科学院上海药物研究所制药厂),Marker 采取 500 bp 的 DNA ladder(上海生工公司)。

1.3 方法

1.3.1 聚合酶链反应-单链构象多态性(PCR-SSCP)和 Ddel 酶解法检测 AT1R 基因的表达。

1.3.1.1 基因组 DNA 的提取 提取外周二胺四乙酸(ED-TA)抗凝的静脉血 500 μL,进行白细胞分离、破膜,蛋白酶 K 消化,饱和盐析法提取 DNA,TE 保存。

1.3.1.2 目的片段扩增 PCR 引物序列^[2]为上游 5-ATA ATG TAA GCT CAT CCA CC-3;下游 5-GAG ATT TGC ATT TCT GTC AGT-3。PCR 扩增反应:反应总体积为 25 μL;10×buffer 2.5 μL,Dnto 200 μmol/L,上下游引物各 20 pmol,模板 DNA3 μL,Taq DNA 聚合酶 1 μL。应用 PE-2400 扩增仪(美国 PE 公司)进行扩增反应。94 °C 变性 5 min,期间加入 Taq DNA 聚合酶 1 μL;进入循环:94 °C 变性 30 s,60 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 45 s,共进行 35 个循环,最后 72 °C 延伸 5 min,取出 4 °C 贮存备用。扩增产物用 2% 的琼脂糖凝胶电泳,溴乙锭染色,紫外灯下检测。

1.3.1.3 PCR-SSCP 配制终体积为 12 mL 的 8% 丙烯酰胺凝胶液取 PCR 扩增产物 5 μL 与 10 μL 载样缓冲液混匀,95 °C 变性 3 min,迅速冰浴 10 min,上样;取 DNA Marker 2 μL 加入 2 μL 载样缓冲液混合,上样;接通电源,电压初设为 120 V,电泳约 14 h,以健康人的 PCR 产物作为正常对照。

1.3.1.4 染色与凝胶成像 电泳结束后,凝胶银染,与健康对照组相比,出现游动变位带者为突变阳性。凝胶成像仪中进行扫描,并摄像。

1.3.2 PCR/Ddel 酶解法

1.3.2.1 基因组 DNA 的提取 基因组 DNA 的提取方法采用上述 PCR-SSCP 法。

1.3.2.2 目的片段扩增 PCR 引物序列及目的片段扩增方法与 1.3.1.2 相同。

1.3.2.3 Ddel 酶解法 取 6 μL PCR 产物,Ddel 内切酶 6 单位,限制性内切酶 Ddel(Promega 公司),10×buffer 1.5 μL,灭菌的去离子双蒸水 6.9 μL,反应总体积 15 μL。在 37 °C 酶切 4 h。产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳,稳压电泳,电压 60 V,电泳 45 min,EB 染色,紫外灯下检测并拍照。

2 结果

2.1 一般临床资料比较 150 例来自重庆地区各大医院门

诊、体检和住院的高血压患者,总结分析临床资料发现,初诊或治疗不规律患者皆合并血脂异常、超重、吸烟,而且多数患者心脏肥大、顺应性减退,不同程度的心律失常,经临床疗效观察,需多种药物的联合治疗及其完善的二级预防方可保护靶器官,减少心血管事件。

2.2 检测结果 PCR 扩增产物为 360 bp 片段,若扩增片段中存在 A1166-C 基因替换,则产生 Ddel 切点,经酶切后产生 220 bp 和 140 bp 左右的 2 个片段,因此 AA 型只有一个片段,AC 基因型有 3 个片段,CC 基因型有 2 个片段。

2.3 遗传平衡定律检测 见表 1。

表 1 高血压组与对照组 AT1R A1166-C 基因型及等位基因频率

分组	基因型			均值	
	AA	AC	CC	A	C
高血压组	80	42	7	0.81	0.19
对照组	105	10	5	0.94	0.06

3 讨论

PCR-SSCP/PCR-Ddel 两种方法均可见 AT1R 基因突变条带,但 PCR-Ddel 法中 AT1R 基因突变条带明显比 PCR-SSCP 法多。说明用 PCR 技术检测原发高血压 AT1R 基因突变 PCR-Ddel 法比 PCR-SSCP 法敏感,同时,PCR-SSCT 法是一种简便有效的鉴定扩增 DNA 序列变异的技术,而 PCR-Ddel 法是通过简单变性和重新退火(通常是加热和冷却)形成部分互补 DNA 链。PCR-SSCP 法与 PCR-Ddel 法 AT1R 基因突变条带不完全一致,两种方法结合用来检测原发高血压外周血 AT1R 基因突变能达到检出率。本实验研究表明:SSCP 是一种简便有效的鉴定扩增 DNA 序列变异的技术。PCR 结合限制性内切酶酶切法亦是一种简单,费用少且准确可行的方法。本研究将 PCR-SSCP 和酶切法两种检测方法结合检测高血压 AT1R 基因变异性,能达到较高检出率。这样既高效、方便、又经济、快捷,对于大规模血液标本进行遗传标志物基因突变检测简便实用。

基因突变在疾病的发生、发展过程中起着重要的作用,其中点突变通常涉及的范围少,它是遗传病发生的主要分子改变。RAS 系统 in 高血压的发生、发展过程中起着重要作用,AT1R 基因是 RAS 系统的主要效应物质,主要分布于血管平滑肌上,机体除有经典的循环 RAS 系统外,很多组织,例如血管壁、心脏中枢神经、肾脏及肾上腺均有 RAS 各成分的 mRNA 的表达,并有血管紧张素 II (Ang II) 受体的存在^[1]。AT1R 基因定位于 3 号染色体上,其编码区全长 1 kb,只有一个外显子,无内含子结构,能编码 359 个氨基酸^[3]。Bonnardeaux 等用 PCR-SSCP 法检测到 AT1R 基因非翻译区的 5 种多肽性片段,但未发现影响 AT1R mRNA 的稳定性^[4]。本研究通过对 150 例高血压、120 例血压正常者的研究显示:PCR-SSCP 和 PCR-Ddel 酶切分析技术检测静脉血标本的 AT1R 基因的 A-C 频率和突变。AT1R 基因 A1166C 突变存在,但并未表明其有明显差异。

血脂异常、血压异常、糖尿病等疾病易感性、吸烟污染等环境易感性,在危险因素范畴,都可引起氧化应激,造成内皮功能损害及血管平滑肌的活化,这一系列反应后果是组织 ACE 的

激活血管紧张素 II 水平的升高, RAS 系统的活化。造成局部一氧化氮水平降低、各级炎症因子激活、血小板活化及儿茶酚胺释放, 全身组织出现血管收缩、血栓形成、炎症、斑块破裂、血管病变及重塑等病理变化, 最终结局是心、脑、肾、血管等靶器官受损, 临床事件发生。这似乎预示了一个论点, 即 AT1R 基因作为高血压的相关基因, 其与高血压的发生、发展可能存在生物学关联, 有一个组织特异性范畴, 而这个多态性可能与未知的致病性突变点存在连锁不平衡, AT1R 基因本身编码区未发生突变, C1166 可能参与调控 AT1R 的 DNA 或其他基因上的致病突变连锁不平衡, 这与 Van Deel 等^[5] 研究结果一致。Van Deel 等研究显示 AT1R 在大鼠心肌的过度表达并未引起心脏血管的结构改变, 并提示 AT1R 基因多态性可能通过间接方式, 如在境易感性、疾病易感性等各种因素情况下增加组织血浆肾素的摄取或活化, 引起局部 RAS 的激活; 同时, AT1R 基因 A1166C 在高血压患者与正常对照间差异无显著性, 这一定程序上可能是 AT1R 基因 A1166C 频率在黄种人中极低, 致检出率低。这更预示高血压的易感性问题(包括环境易感性、疾病易感性、药物易感性等)和高血压相关基因在疾病发生、发展过程中一样至关重要。

降压药的共同作用为降低血压, 不同类别降压药可能有降压以外作用的差别, 其表现在不同降压药体现出的器官受损的延缓、降低脑血管事件的获益、对心血管危险因素影响不同。因此, 目前中国专家提出“重视差异, 优化实践”为主题的理念, 作者认为主要应在临床治疗中考虑集中区分临床表型, 包括血压水平、血管改变、体质量、代谢特征、人种、年龄、性别及基因谱等, 作出治疗决策, 选择最适合的个体的优化的联合治疗方案^[6]。其中, 那是否预示高血压及其多因素的基因检测的研究更有待于广泛规范和标准化? 本研究也意在为此提供微薄的

贡献。本研究在临床实践中参照欧美国家指南的同时, 将循证医学证据与中国国情特点相结合, 对高血压的防治起一定的作用。

参考文献

- [1] 赵水平, 胡大一. 心血管病诊疗指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 179-180.
- [2] Katsuya T, Koite G, Yee TW, et al. Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease [J]. Lancet, 1995, 345 (8965): 1600-1603.
- [3] Furuta H, Guo DF, Inagami T, et al. Molecular Cloning and sequencing of gene encoding human angiotensin II type 1 receptor [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1992, 183(2): 8-13.
- [4] 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.
- [5] Van Deel PP, Pinto YM, Buikema H, et al. Is the A1166C polymorphism of the angiotensin II type 1 receptor involved in cardio-vascular disease? [J]. Eur Heart J, 1998, 19: G13-17.
- [6] 胡大一, 马长生. 心脏病学实践[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 130-132.

(收稿日期: 2011-05-16)

• 临床研究 •

联合应用诺和灵 30R 拜糖平 二甲双胍治疗 2 型糖尿病的临床观察

胡 茗¹, 冯 晖², 渠 莉¹, 田 刚^{3△} (1. 天津公安医院药剂科, 天津 300040; 2. 新疆维吾尔自治区人民医院特检科, 乌鲁木齐 830000; 3. 天津公安医院检验科, 天津 300040)

【摘要】 目的 比较诺和灵 30R、二甲双胍与拜糖平三联和优降糖、二甲双胍与拜糖平三联治疗初发 2 型糖尿病高血糖患者的临床效果。**方法** 2 型糖尿病初发高血糖患者 120 例, 随机分成 A 组 56 例, 采用诺和灵 30R, 二甲双胍与拜糖平三联治疗; B 组 64 例, 采用优降糖, 二甲双胍与拜糖平三联治疗; 治疗周期 12 个月; 测定患者空腹血糖(FBS)、餐后 2 h 血糖(PPBS)及糖化血红蛋白(HbA1c)。**结果** A 组和 B 组 FBS、PPBS、HbA1c 在用药后都有所下降; B 组治疗前后 HbA1c 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); A 组和 B 组治疗前后 FBS 和 PPBS 比较差异都有统计学意义 ($P < 0.01$); A 组控制血糖有效率为 92.85%, B 组为 31.25%。**结论** 初发 2 型糖尿病早期高血糖采用诺和灵 30R, 拜糖平, 二甲双胍联合治疗具有很好的疗效, 有推广价值。

【关键词】 2 型糖尿病; 诺和灵 30R; 拜糖平; 二甲双胍; 优降糖

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2011.14.050 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)14-1759-02

2 型糖尿病是危害人类健康的重大疾病之一, 临床医生使用的降糖药品种类繁多, 如何使用一种最佳的用药方案是摆在医患之间的难题。本研究针对 2 型糖尿病初发 1 个月内患者, 采用诺和灵 30R, 二甲双胍与拜糖平联合治疗。另外使用优降

糖, 二甲双胍与拜糖平三联治疗作对照。两种治疗方法应用于患者取得了不同的疗效, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 120 例初发 2 型糖尿病 1 个月的患者, 男 68

△ 通讯作者, E-mail: tiangang_chn@126.com.