

計劃編號：DOH88-TD-1090

行政院衛生署八十八年度科技研究發展計劃

計劃名稱--血管張力轉化酵素基因型態與金山地區心臟
血管病相關之流行病學研究—台灣族群之五年前瞻性研
究Epidemiology on Angiotensin Converting Enzyme
Genotypings Association with Cardiovascular Diseases in
Chin-Shan Community—A 5-year Prospective Study in
Taiwan Population

研 究 報 告

執行機構： 台大醫學院 內科

計劃主持人： 李源德 教授

研究人員： 李源德、林瑞雄、許秀卿、唐基川、簡國
龍、何奕倫、蘇大成、黃玉真

執行期間： 87 * 年 7 月 1 日至 88 年 6 月 30 日

****本研究報告僅供參考，不代表本署意見****

目 錄

	頁 碼
封面	
目錄	
摘要	
中文摘要	(3)
英文摘要	(4)
本文	
前言	(5)
材料與方法	(10)
結果	(16)
討論	(20)
結論和建議	(22)
參考文獻	(23)
圖表	(30)
附錄	
總共頁數	(46)

中文摘要

關鍵詞：血管張力素轉化酵素、基因多元性、心臟血管病、基因流行病學研究。

有關基因流行病學正在蓬勃發展中，遺傳基因流行病學研究可分析心臟血管疾病潛在危險因子，並可瞭解疾病發生罹患率及預後趨勢判斷。血管張力素轉化酵素是最重要的候選基因，ACE之基因在第十六不連續基因有納入/剷除多元型態 在臨床上可作為心臟血管病之標記。世界各地族群調查發現：在法國、德國、英國及澳洲的研究有謂DD型基因較易與冠狀動脈病、心肌梗塞、心肌肥厚、高血壓暨末期擴張性心肌病變有相關；但在日本的研究卻發現高血壓與DD型基因無明顯相關。因此ACE基因型在東方人是一個有趣且甚重要的研究課題。有關國人之大型研究計劃尚付闕如，零星的研究報告，難與其他種族做對照者。吾人已在台北縣金山鄉持續進行金山社區血管病研究，有豐富經驗，以系列調查研究，期能了解ACE基因型態與冠狀動脈病、腦中風、高血脂、糖尿病、高血壓及其他重要之心血管病危險因子的相關性。並據此以做為疾病之治療及預防之參考。

本計劃已達成國人3000人ACE基因型態分析，國人之ACE基因型及對偶基因表現頻率，分別為II/ID/DD = 47.00/40.06/12.93，D/I = 0.33/0.67。以金山地區族群人口研究顯示在男性得到CAD患者比正常者有較高的I對偶基因出現頻率高。而且血漿Apo A₁數值在DD/ID/II三組間也具統計意義差別，以具DD基因型組具有較高的Apo A₁值，由社區女性族群研究之結果分析顯示，在血漿Lp(a)含量較多的人群中，其I對偶基因之出現頻率高，當以multiple logistic regression模式來計算ACE基因型對血脂異常之間的勝算比，也都表現出男性ApoA₁低的II基因型的比率多其勝算比為當DD對II時其值為0.496，P=0.03，在女性則為Lp(a)多的II基因型比率多，當DD對II時其勝算比為0.505，P=0.03。評估降脂藥物效用則發現在無療效組的I對偶基因出現頻率具統計意義的多。由社區族群人口研究ACE基因特性值得進一步探索其原因與作用機制。

Abstract

Key word: Angiotension convert enzyme, Genotype, Coronary artery disease, polymorphism.

Cardiovascular diseases turned to be a major cause of mortality in Taiwan recently. Molecular biological and biochemical measurements have opened a new era in our understanding of pathophysiology in these diseases. Angiotensin converting enzyme (ACE) mediates the conversion of the inactive angiotensin I into the potent vasoconstrictor angiotensin II which participates in the pathogenesis of many cardiovascular diseases such as hypertension, left ventricular hypertrophy, Coronary artery disease (CAD) and even myocardial infarction. The ACE gene has been mapped to chromosome 17q23, and an insertion/deletion polymorphism has been located to intron 16. It has been established that the D/D genotype of the I/D polymorphism is associated with higher level of circulating ACE compared with the I/D genotype. D/D genotype is more frequent in patients with myocardial infarction, hypertrophic, ischemic and dilated cardiomyopathies and with left ventricular hypertrophy. However, there are controversial results in essential hypertension among reports from Japan, Australia and USA. Ethnic difference seems to exist.

This project has studied the polymorphism in ACE gene of 3000 subjects from National Taiwan University Hospital and Chin-Shan Community Cardiovascular study. The D/I alleles frequency in Taiwan inhabitants was 0.33/0.66 which was different from those reported by Western populations. In man, the frequency of I allele was higher in coronary artery disease patients than in healthy persons. In female, the higher I allele frequency was, the higher lipoprotein(a) concentration is. The D/I frequency was associated with the efficacy of hypolipidemic drug; I allele frequency was higher in non-efficient group. Based on these finding, it is worthwhile to identify the underline mechanisms.

本文

前言

隨著我國的經濟發展及社會文明之進步，心臟血管病之罹病率隨之加昇。吾人在金山之調查研究冠狀動脈病之盛行率有4.1%，與民國63年曾文賓教授在三芝鄉之0.6%頗有差異⁽¹⁾，近年同地區之研究已拔昇至3.1%⁽²⁾，曾氏研究群80年更在台北城中調查冠狀動脈病之盛行率也在3.0%⁽³⁾。此等盛行率之變異，應可斷言心臟血管病在台灣無分城鄉頗為盛行。

由於心臟血管疾病一直是台灣地區十大重要的死因領前的一種。從來疾病的有效治療，有賴早期的診斷及預防。分子生物醫學有助了解疾病的致病機轉，在疾病的預防上頗能防微杜漸。最近分子生物醫學在腎素-血管張力轉化酵素系統(Angiotensin converting enzymes, ACE)的研究上有明顯的突破與了解⁽⁴⁾。血液或是組織中的腎素-血管張力素系統對鈉離子恒定、血管的張力、及心肌的重塑性 (remodeling) 上有居有病理生理主導意義。以血管張力素轉化酵素尤其重要。血管張力素轉化酵素(ACE)將第一型血管張力素(Angiotensin I)轉化為第二型血管張力素(Angiotensin II)，而後者正是身體中最重要的血管收縮劑。ACE除了在血管的收縮上有明顯的作用外、在動脈粥狀硬化上也頗為相關。餵食高膽固醇食物的兔子常可發生動脈粥狀硬化，如若在同時服用血管張力素轉化酵素抑制劑 (ACE inhibitor) 後，粥狀硬化隨著消失⁽⁵⁾；在人體觀察長期處在高血清濃度的 ACE 時，總頸動脈的動脈粥狀硬化也會變得明顯⁽⁶⁾。是以ACE在心臟血管疾病上有舉足輕重的地位⁽⁷⁻⁸⁾。

在人體中定量ACE的濃度，研究發現人與人之間的差異很大；其濃度差甚至可到五倍之多⁽⁹⁻¹¹⁾。在同一個人身上ACE的濃度卻是固定的；法國的Nancy Study⁽¹²⁾發現家族中ACE 的量也很相近(intrafamilial resemblance)。家族中的ACE基因被認為是主宰這種相關性的重要因素。ACE基因研究發現ACE基因是位於人體第十七對染色體的長臂上(17q23)⁽¹³⁻¹⁶⁾。這個基因由25個不連續基因(Intron)分隔成26等分(Exon)⁽¹⁷⁾。就在第十六個不連續基因(16th intron)上，產生了ACE基因的多元性。當第十六個不連續基因上多一段 250 bp的基因時，我們稱之為納入型(Insertion allele)，當第十六個不連續基因上少一段250 bp的基因時，我們稱之為剷除型(Deletion allele)。是以人的 ACE 基因可存在三種不同的基因型式 (Polymorphism of genotype)：DD型；ID型；II型⁽¹⁸⁾。血清中的 ACE 濃度隨三種基因型不同而有統計學上明顯的差異：DD型的 ACE濃度為 $494.1 \pm 88.3 \text{ ug/l}$ ；ID型為 $392.6 \pm 66.8 \text{ ug/l}$ ；II型為 $299.3 \pm 49 \text{ ug/l}$ 。世界各地報告的ACE基因多元性如下⁽¹⁹⁻²³⁾：法國的研究顯示：D/I = 0.59/0.41、而 DD：ID：II = 0.27：0.53：0.2。澳洲的研究顯示：D/I = 0.59/0.41、而 DD：ID：II = 0.39：0.38：0.23。英國的研究顯示：D/I = 0.58/0.42、而 DD：ID：II = 0.35：0.46：0.19。日本的研究顯示：D/I = 0.39/0.61、而 DD：ID：II = 0.19：0.42：0.39。在這些報告中只有日本與其他歐美國家不同，顯示不同種族間的基因遺傳有不同的分佈。有關華人之研究尚付闕如。台灣地區居民同為東方民族，其基因遺傳型式是一個值得研究的課題。

近來 Liporprotein(a)被發現與粥狀動脈硬化有關⁽²⁴⁻²⁹⁾，而ACE也被認為與粥狀硬化動脈有關。Liporprotein(a)與 ACE 這二者之間的關係，據研究顯示也有相關⁽²⁴⁾：DD 基因型的人其 Lipoprotein(a)的濃度

也比 ID 或 II 型基因來的高，分別是 95 mg/l、77 mg/l、41 mg/l。由此認定：病人的ACE 基因型與Lipoprotein(a)對於家族史中有無冠狀動脈病同樣具有相關性($p<0.0042$)。

將ACE 基因多元性與心血管疾病有許多的關聯性，有成為心血管病之危險因子。從死於心肌梗塞的病人身上取心肌細胞作分析發現，DD、ID 型遠較II型為多；(odds ratio = 2.2 for DD vs II, odds ratio = 1.8 for ID vs II ; $p=0.01$)⁽²⁷⁾，法國的 ECTIM 研究顯示⁽³¹⁾，DD基因型與心肌梗塞有明顯相關；具有 DD 或ID 型基因之病人，其家族史中有心肌梗塞的比率也比 II型基因高(Odds ratio=2.6 for DD vs II, Odds ratio=1.9 for ID vs II)^(21, 28)。Cambien 等人的研究⁽²⁰⁾發現，沒有明顯冠心病危險因子之男性心肌梗塞的病人，其 ACE 基因型常為 DD 型。根據英國的 Caerphilly Heart Study⁽²³⁾研究 1226 位病人亦有類似發現，在低膽固醇的病人DD型基因與冠狀動脈病的相關最為明顯($p<0.0053$)。美國國家科學研究院研究⁽³²⁾顯示在非胰島素依賴型糖尿病病患中具有 DD 型基因時，冠狀動脈疾病會比具有其他型ACE 基因的病人早發生。在高血壓研究方面，有歐美研究⁽¹⁹⁾顯示 DD 或 ID 型基因與高血壓有正相關，然而，日本的 Koichi⁽¹⁸⁾等人卻發現日本人的高血壓與 ACE 基因多元性沒有相關。國外之研究報告均突顯ACE之DD型基因與心血管病之發生有重大相關。研究我國心血管病與ACE基因型態，將有助於危險因子之釐定。

據研究，左心室肥厚也與 ACE 基因多元性有關。德國的 Schunkrt等人⁽³³⁾研究 290 位病人的心電圖發現：心電圖上有左心室肥厚的病人；尤其是血壓正常的男性病人，他們與 DD 型基因的關聯性最強($p<0.001$)。日本的 Ohishi⁽³⁴⁾及 Naoharu⁽³⁵⁾等人利用心臟超音波診斷的左心室肥厚來研究，也發現 DD 型基因與正常血壓的病人

關聯性最強。由此可知：血清中的 ACE 濃度本身便具有刺激心肌生長的能力，而不需經由高血壓的步驟來造成左心室肥厚。

在自發性擴張性心肌病變或末期缺氧性心臟衰竭的病人身上也可發現與 DD 基因型的關聯性⁽³⁶⁾。有報告指出末期自發性擴張性心肌病變的病人有 35.7% 具有 DD 型基因 ($p=0.008$ vs control); 而末期缺氧性心臟衰竭的病人有 39.2% 具有 DD 型基因 ($p=0.008$ vs control)。

遺傳基因流行病學研究可分析心臟血管疾病潛在的危險因子，特別是在臨床上沒有明顯危險因子的病人，可幫助吾人了解疾病發生率、罹患率、及預後趨勢判斷，具有實用之研究價值。同時心臟血管流行病學應具有種族及族群特性，得據以選擇最適合國人的治療方式及藥物。

全程之研究計劃之目的

- (一)第一年建立分子遺傳學實驗室並對現有147位冠狀動脈病人及腦中風病人與年齡校正之正常人(未有冠心病、腦中風、糖尿病、高血壓、高血脂)做對照，期能顯明 II, ID, DD 之重要性。同時在台大醫院對冠心病的病人做出他們的ACE基因之多元性，以比較急性冠狀動脈阻塞與慢性冠狀動脈狹窄這兩種疾病的ACE基因差異。
- (二)第二年研究國人正常人(未有冠心病、腦中風、糖尿病、高血壓、高血脂)之ACE基因型態之常態分佈，以作為心臟血管病之前瞻研究之基本資料。並比較台灣地區族群與新加坡華人、日本人、及歐美地區之亞利安、高加索人種等之ACE基因型態的異同。此外，性別及年齡之影響亦將予以分辨。
- (三)第三年研究高血壓病人之ACE基因型態之特質。

(四) A) 第四年研究高血脂及糖尿病人之ACE基因型態之特質。

B) 第四年研究ACE基因型態多元性與 Lipoprotein(a) 之血清濃度之相關。

C) 第四年研究ACE基因型態多元性與總頸動脈之內膜粥狀動脈硬化程度之相關。

D) 第四年研究並分析糖尿病患之心血管變化與ACE基因型態之相關。

E) 第四年研究並分析高血脂病患對降血脂藥物反應與ACE基因型態之相關。從而利用分子生物學找出臨床醫學上可供參考之治療指標。

(五) 第五年綜合分析ACE基因型態 II, ID, 及 DD 與我國之冠心病、腦中風、糖尿病、高血壓、高血脂發生率及預後之相關性。

目前，本計劃已達成全程之目標完成總計3,000位國人ACE基因分析，已綜合分析ACE基因型態與疾病發生之相關性關於與預後相關性將於89、90年度逐年觀察分析，此外在接下來兩年(89、90年度)，本計劃預計將族群人口研究延展為家族研究，預計達成。

A：89年度

a. 尋找具心血管疾病或高脂血症等危險因子的指標個案，以及相對應符合自由取樣的控制組個案。

b. 完成高危險群及控制組受試者之家族登錄(預做總人數N=600人，包括家族問卷、家族地位、病史)。

c. 完成受試者400人次的血漿，血球收集，並完成生理檢查(包括測量身高、體重、血壓、心電圖、超音波等檢查)。

d.完成400人次血漿、三酸甘油酯、膽固醇，低密度脂蛋白、
包密度脂蛋白、原脂蛋白A、原脂蛋白B、脂蛋白(a)、血糖、
胰島素分析。

e.完成400人次的ACE基因分析。

B：90年度

a.完成家族資料200人次的問卷、登錄。

b.完成受試者200人次的血漿，血球收集，並完成生理檢查(包
括測量身高、體重、血壓、心電圖、超音波等檢查)。

c.完成200人次血漿、三酸甘油酯、膽固醇，低密度脂蛋白、
包密度脂蛋白、原脂蛋白A、原脂蛋白B、脂蛋白(a)、血糖、
胰島素分析。

d.完成200人次的ACE基因分析。

e.分析疾病預後與ACE基因相關性。

f.藉由家族性資料，綜合分析ACE基因對於環境影響下可能
對心血管疾病脂血異常影響比率。

材料與方法

壹、金山地區心血管疾病調查

(一)一般心血管疾病研究

本研究對象將包括七年來登錄在金山社區內之 3081個案全部列
管為長期追蹤研究群 (Cohort sample)。利用寒暑假動員醫學院學生
在金山進行挨戶 (house to house)之地毯式調查，從鄰至里，全部列入
調查名單。

戶口調查將包括所有辨識資料、教育程度、職業、家族病史、個
人嗜好、體能活動度、過往病史包括心雜音、心臟病診斷、高血壓、

肺疾病、甲狀腺病、糖尿病等，既往手術住院紀錄及其它心臟病症狀。理學檢查包括身高體重、老人環 (arcus senilis)、黃色瘤 (xanthelasma & xanthoma)、心肺疾患、脊椎異常、心臟大小、心雜音、心律、血壓、腹部檢查、末梢血行、靜脈屈張、及動脈脈跳等。另外除了12導極心電圖、心臟超音波也列入常規檢查：利用 Hewlett-Packard Sono 1500 ,醫師在應檢者躺臥時從事腔室、心肌及其間之血行力學之詳細檢查。此外應檢者也將檢查其總頸動脈內膜(intima)厚度，利用 7.5 Mega Hz 的探頭在應檢者之總頸動脈分支前一公分處測量其內膜厚度。並採血測量血球比容 (Hematocrit)、血球計數、血糖、尿酸、膽固醇、三酸甘油脂、高密度脂蛋白 (HDL)、低密度脂蛋白 (LDL)、apoprotein 、lipoprotein (a) 及 ACE 基因多元性等。另外也將於金山地區群體醫療中心進行複檢，由其他醫師共同會診，如有必要將轉台大進行其他繁複且精準之檢查務必確定資料及診斷，以保持優良品質管制(Quality control)。若不能應檢，將有負責醫師前往實地進行社區訪視 (Field visit)，詢問病史及理學檢查，同時所有生化檢查樣品均雙套并檢，對受檢樣品也有定期抽檢，所有檢驗項目將已貯留已知濃度樣品濃度重覆校正 (Calibration)。鑑於長期縱列代研究 (Longitudinal study)之精準有賴巨細彌遺得收集所有人口之罹病及死亡，且必需建立審察系統 (Surveillance system)；所以按季 (Quarter)從事書信尋查；寒暑假由工讀生針對"失聯"(Non-respondents)人口訪查，並從金山地區診所醫院定期收集列管居民之病歷資料。並從金山戶政事務所收集死亡証書按期召開罹病審查 (Morbidity surveillance)及死亡審查 (Mortality surveillance)，按照既定診斷根據 (Diagnostic criteria)，建立診斷及死因。所有診斷根據將參考 Framingham , New York Heart Association 命名、世界衛生組織、美國心臟學會及美國公

共衛生醫療服務單位所公佈之診斷根據，其中包括之命名定義將有：高血壓、缺血性、梅毒性、先天性、肺疾病、腦血管病、末梢血管病。

“心臟衰竭”以有心臟括大、呼吸困難、肺囉濕音、心跳過速、頸靜脈怒張、水腫、第三心音、及使用心臟衰竭藥物等至少三項以上之異常者。在前面「計劃目的」項下所述做ACE研究所需之樣本均系金山居民，高血壓、高血酯、糖尿病、中風及冠狀心病等均由追縱得來。

(二)ACE基因多元性研究

如計劃目的項下所述，ACE基因多元性研究，由於實驗室過程耗費時間，將分五年完成。第一年以建立分子遺傳實驗室為目標，先對現有147位冠狀動脈病人及79位腦中風病人及年齡相近之正常人對照做ACE基因之分析。第二年將對所有無心血管疾病之正常居民做普查形式的ACE基因分析。第三年則以518名高血壓病人為對象，第四年以610名高血酯及325名糖尿病患為對象做ACE基因分析。每年各組病人之對照將由第二年所得之正常人資料，配合性別及年齡抽取相同人數，如果在這過程中發現，原來歸類為正常的人發生所要研究之心血管疾病，則應將他門登歸為病例組。在研究期間，研究小組將可能對病患進行阻介治療，如果因此改善病人情況或恢復正常，此病患仍將隸屬病例組。

資料分析

本計劃所得資料將會併入原金山社區心臟血管病(CCC)研究之資料檔。原資料檔含有所有參加居民的有關社會、經濟、人口、生理、其它心血管等檢查之基本及追蹤資料，可利於資料分析。資料分析將就ACE基因型等做單元及二元分析找尋其與高血壓、冠狀動脈病、中風、糖尿病等之關係。ACE除了計算不同因子之ACE基因型及分佈差異外，將以ACE基因DD型為主體計算對各種心血管疾病之關係，包

括粗 Odds ratios 及以 logistic regression 校正其它因子之校正 Odds ratios。

樣本大小

依據Higashimori等之研究日本人正常血壓及高血壓為19.2%及21.1%，(21)Tiret等則發現父親無心肌梗塞者與有心肌梗塞者之比為27.1%及36.4%。本實驗實則在預試驗時發現D-Alleles在正常人為27.0%，在有高血壓和CAD的病人，或有高血壓和高血脂的病人則均為17.0%，由於樣本稍小，無法肯定DD百分比，但II值在正常人為53.3%在病例為69.2%。如以ACE基因II型或DD型為主因變項，比較各種心血管疾病與正常人之差異，以 P0 代表正常，P1 代表病例，則所需最低樣本大小可依據下表決定。如相差在 15%約需100到150人，如相差在10%則需180人到320人。

	P ₀				
P ₀ -P ₁	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
0.4	20	23	23	23	20
0.3	37	40	40	37	32
0.2	83	87	83	74	59
0.15	147	150	141	122	92
0.10	326	326	301	251	177

CCC計劃中各組病例中除腦中風樣本可能較小，其餘均應有80%的檢定力($p \leq 0.05$ 時)。其中高血壓及高血脂之檢定力可達90%以上。至於腦中風之比較，我們將以增加對照組人數至二倍之方式增進檢定力。吾人亦將觀察腦中風病中高血脂及非高血脂之差異，但檢定力恐不夠大。

貳、台大醫院心肌梗塞病人

- (一)臨床病史、心電圖、及心肌酵素 (CPK/CKMB)變化符合心肌梗塞診斷者。
- (二)紀錄家族病史、個人嗜好、體能活動度、過往病史包括心雜音、心臟病診斷、高血壓、肺疾病、甲狀腺病、糖尿病等，既往手術住院紀錄及其它心臟病症狀。理學檢查包括身高體重、老人環 (Arcus senilis)、黃色瘤 (xanthelasma & xanthoma)、心肺疾患、脊椎異常、心臟大小、心雜音、心律、血壓、腹部檢查、末稍血行、靜脈屈張、及動脈脈動等。
- (三)除了12導極心電圖、心臟超音波也列入常規檢查：利用 Hewlett-Park Sono 1500,醫師在應檢者躺臥時做從腔室、心肌收縮及其間之血行力學之詳細檢查。
- (四)採血測量血球比容 (Hematocrit)、血球計數、血糖、尿酸、膽固醇、三酸甘油脂、高密度脂蛋白 (HDL)、低密脂蛋白 (LDL)、Apoprotein、Lipoprotein (a) 及 ACE 基因多元性。
- (五)每位病人並施予冠狀動脈攝影檢查。
- (六)資料分析：本組病人有關ACE基因型態之分析將以其分佈為主，並與所有CCC正常群比較、觀察實際值和預期值之差異。

參、ACE 基因型態多元性之實驗室分析

(一)分離 Genomic DNA

將自全血中分離之Buffy coat，儲存在零下70℃備用。當要分離 Genomic DNA之際；再將之融解。融解後加入30毫升、pH7.5的緩衝液(0.32 mmol/l蔗糖、10 mmol/l Tris、5mmol/l MgCl₂、1% [v/v] Triton X-100)混合後，以 10℃，10000g 來離心15分鐘。離心液再加入4.5 毫升0.075 mmol NaCl-EDTA、250微升的SDS(10g/dl)、100微升的 proteinkinase (10mg proteinkinase)。該懸浮液在 37℃ 下孵化

(incubation)16個小時之後，加入5毫升 water-saturated phenol一起離心。離心後用[v/v] 20:1的Chloroform/Phenol 溶液5毫升萃取上層水性液面來分離DNA。然後以 0.5 毫升 pH5.2的ammonium acetate及10毫升的ethanol來使DNA沉澱。沉澱後的DNA再以70% ethanol 沖洗並以 pH 7.6 的 Tris-EDTA 緩衝液 0.5 毫升 (10mmol Tris/liter , 1mmol EDTA/liter)溶解之。溶解後存放在4℃48小時後、復存放於零下20℃收藏。

(二)由已知的血管張力素轉化酵素之基因序列合成寡核苷酸用來作為聚合酵素鏈反應之引子聚合酵素鏈反應之引子可利用核苷酸合成儀合成。再以 Sephadex G-25 column來純化。引子的序列如下：

sense oligo	5'CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT3'
anti-sense oligo	5'GATGTGGCCATCACATTTCGTCAGA3'

(三)聚合酵素鏈反應⁽²⁰⁾

將上述引子加入下列反應溶液：3mM MgCl₂、50mMKCl、10mMTris-HCl pH 8.4、0.1 mg/ml gelatin、dNTP、Taq polymerase 而形成最終溶液的體積為50微升。利用PCR機器(Perkin Elmer 9600)來進行聚合酵素鏈反應：DNA以94℃加熱進行變性 (denaturation)；以58℃加熱進行配對(annealing)；再以72℃延長合成(extension)。反覆進行以得到足夠的DNA來分析。可用1% 瓊膠電泳來判讀聚合酵素鏈反應的產物：如果DNA是一段190 bp長度者，稱為DD基因型；而產物若是一段 490 bp長度者，稱為 II 基因型；二者皆有，稱為ID基因型。

方法二：適用於採血不易，取得血量較少之病人全血檢體（內含5mM EDTA）以200 μ l等份分裝冷藏於-20℃。使用時解凍取出50 μ l並加入等量甲醇，置於Beckman titer plate 中，以55℃熱風吹乾後加入100 μ l蒸餾水，經膠膜覆蓋後以100℃加熱25分鐘、此溶於水中之DNA（4

μ l) 經轉載至96孔微量分析盤上，於室溫蒸發乾燥，以備聚合酵素鏈反應 (PCR)。

結果

金山社區心臟血管疾病研究計劃，(簡稱為CCC Study)，自民國79年開始，持續迄今，已有九年之久，主要的目的是探討台灣地區成年人心臟血管疾病各種盛行率、發生率及相關危險因子分佈的情形。針對3602個登錄有案的鄉民作詳細的檢查，建立居民基本的身體健康資料，且做詳細的追蹤檢查。除了每年暑假以心臟科醫師及醫學系高年級的見習醫師作訪視及檢查之外，同時在學期之中作各種疾病之阻介治療的研究，也對當地鄉民提供轉診、就醫，及後送、特殊檢查的服務。

有關金山地區心臟血管病及其危險因素之盛行率，以高脂血症最盛行，膽固醇 $\geq 240\text{mg/dl}$ 有16.9%，低密度脂蛋白 $\geq 160\text{mg/dl}$ 有27.1%，高密度脂蛋白 $< 35\text{mg/dl}$ 有13.5%，三酸甘油脂 $\geq 150\text{mg/dl}$ 有24.1%。次為高血壓盛行率15.0%，糖尿病有8.6%，冠狀動脈心臟病及腦中風之盛行率分別為4.1%及2.2%。以二年為期之發生率，冠心病、腦中風、高血壓及糖尿病分別為3.74%、1.03%、8.66%及3.60%。台灣之心臟血管病確有日趨嚴重之勢也。(見表一、二)

吾人尚且針對血清脂代謝及脂蛋白(a)型【Lp(a)】之盛行分布呈偏斜狀 (Skew distribution)以低濃度為多。Lp(a)之血清濃度在金山居民之平均濃度男、女分別如表三。

有關金山之心臟血管之險向之因素分析如次：家族史中有冠心病或腦中風者男性有3.17%或10.10%；女性2.99%及6.92%。男性抽煙者有61.6% 肥胖者(BMI > 27)男女分別為10.8及17.57%。男女糖尿病(血

糖 $>140\text{mg/dl}$ 或陽性病史)為8.46% 及8.60% ,高血壓有14.99% (男女分別為14.09及15.78%)。在所有可矯正危險因素如家族史,抽煙,高血壓,高密度脂蛋白 35mg/dl ,糖尿病及陰性危險因素($\text{HDL-C}>60\text{ mg/dl}$)再加年齡,3602金山居民有35.2% 有一個危險因素、二個危險因素15.43% 、三個危險因素有4.5% 、四個危險因素有4.5% 。

在金山居民之死因分析中(1990-1993)共有134名死亡。其整體死亡率為 $1237/10^5/\text{year}$,其中心臟血管病因死亡為 $345/10^5/\text{year}$ 。其死亡危險因素之odds ratio:抽煙(2.19)(95% CI 1.08-4.48),高血壓6.18(3.08-12.41),糖尿病4.72(2.17-10.09),冠心病8.08(3.47-18.33),中風7.83(2.59-21.91)都具統計學上意義。多向分析亦顯現高血壓、冠心病、中風、糖尿病都是獨立警告因子,而 $\text{HDL-C}\geq 35\text{mg/dl}$ 為有意義保護因子。

以上均是經由分析整理金山研究對台灣地區有關心臟血管疾病有初步廣泛、詳細的認識。尤其重要的是對日後長期追蹤研究發生率及影響因子,建立了良好的資料庫,將會對日後進一步的研究提供紮實的基礎。同時針對篩選出來具有危險因子的居民進一步作阻介治療,在完整的人力、物力的支援下,金山社區研究勢必成為研究心臟血管疾病的重要的里程碑。本研究計劃自獲得衛生署補助以來,已順利儲存預受試者之Genomic DNA。並找出擴大ACE基因的聚合酵素鏈反應操作的適當條件,如流程(一)所示。此鏈反應產物在經明膠電泳分析,可清晰的判讀DD、ID或II型基因(圖一)。

本計劃已達成國人3000人ACE基因型態分析,國人之ACE基因型及對偶基因表現頻率如表四所示,分別為II/ID/DD = 47.00/40.06/12.93, D/I = 0.33/0.67此種allele出現頻率有別於英國的

0.54/0.42，法國的0.59/0.41及澳洲的0.51/0.49，較接近日本的0.39/0.61和新加坡華人0.30/0.70。

當以金山社區族群人口來研究 ACE 基因在正常人與冠狀動脈疾病(CAD)、腦血管疾病(CVA)、高血壓(HTN)、糖尿病(DM)、左心室肥厚(LVH)、動脈內膜肥厚(IMT)等疾病之基因型分佈及對偶基因頻率差異，如表五所示在各型疾病的 ACE 基因型分佈與正常組並無統計意義差別，進一步看對偶基因出現頻率(表六)則得到 CAD 患者比正常者有較高的 I 對偶基因出現頻率($P=0.03$)，此種現象和已有報告認為 D 對偶基因出現頻率易罹患 CAD 是相反結果。據此，吾人檢測 DD/ID/II 三種基因型的生理生化參數值差異。如表七顯示 Apo A₁ 值在三組間具有統計意義差別($P=0.04$)，而以 DD 組較高(DD/ID/II 分別為 147 ± 41 mg/dl, 142 ± 38 mg/dl, 141 ± 40 mg/dl)，此種結果也是從來未被發現，但與前項發現 I 對偶基因出現頻率，易罹患 CAD 卻能相吻合，前後呼應可信度提高。接著利用 GLM 模式(General Linear Model)來檢示 Apo A₁ 與 ACE 基因相關性。利用年齡、性別調整過的血脂質為變數，以 ACE 基因型 II、ID、DD 作為分層，分別研究各種血脂與 ACE 基因關連，結果得到 Apo A₁ 與 ACE 基因相關其估算參數(Estimate Parameta EP)為 2.48 $P=0.026$ ；當以 ACE 基因型定出 2 個 dummy variables(即是以 II 為基礎，ID 比 II)來檢定其與 Apo A₁ 相關性，結果得到 ID 比 II 無意義，而 DD 比 II 具統計意義 $P=0.0089$ ，EP=6.36。再以 pearson correlation 方法將男女分開來探討 ACE 基因型(分 II、ID、DD 三層)與生理生化相關性。表八所示於男性 Apo A₁ 值與 ACE 基因相關($P=0.04$)，而於女性則不顯示此種相關性(表九)。在國人中具有 II 之 ACE 基因型者有較低的 Apo A₁ 數值，此現象也許可以解釋何以具有 I 對偶基因者，容易罹患 CAD，因為許多研究皆已證實低的 Apo A₁ 值容易罹患 CAD。

再根據血脂質分佈情形，分別定出脂質異常臨界值，或以美國膽固醇教育協會(NCEP)的標準，以膽固醇大於 240 mg/dl，三酸甘油酯大於 200 mg/dl、HDL 小於 35 mg/dl、以及 LDL 大於 160 mg/dl SBP 以大於 160 mmHg、DBP 以大於 95 mmHg 作為分界，而 Apo A₁ 以小於 10th 百分比、Apo B、Lipoprotein(a)、血糖、胰島素值等則以大於 90th 百分比為切點，分別定出各個血脂肪的正常及異常值，分別檢測正常與異常組間之基因型分佈、對偶基因出現頻率差異，再利用相關分析作統計檢定 ACE 基因型與血脂異常的相關性。表十顯示男性之各種生化生理參數在正常與異常組之 ACE 基因分佈，兩組間並無發現具統計意義($p < 0.05$)的分佈差異，在女性也是同樣(表十一)。值得注意的是在男性組中依 Apo A₁ 區分兩個正常與不正常組間的統計差異機率 $P = 0.07$ ，而依飯前胰島素值區分的兩組統計差異機率為 $P = 0.06$ ，在女性組中若依 Lipoprotein (a)區分則 $P = 0.08$ 較接近統計差別。進一步觀察 D/I 對偶基因頻率在男性 Apo A₁ 異常組(即 Apo A₁ 低組)之 D 對偶基因頻率較正常組低(表十二)，即是 I allele 於 Apo A₁ 低組的出現頻率高，而女性則是 LP(a)異常組(LP(a)高組)之 D 對偶基因頻率較正常組低，即是 I allele 在 LP(a)高組的出現頻率多(表十三)。進一步利用 spearman correlation 分析來檢測 ACE 基因和血脂質關係，同樣得到在男性的 Apo A₁ 與 ACE 基因相關($r = -0.06$ ， $P = 0.02$)，女性的 LP(a)和 ACE 基因相關($r = -0.05$ ， $P = 0.02$)。接著以單變數分析(Univariate Analysis)來探討在男性組中與 Apo A₁ 相關聯之變數，及女性組與 Lp(a)的相關變項，接著同時考慮年齡、抽煙的因素，依 multiple logistic regression 模式計算 ACE 基因型對血脂異常之間的勝算比(odds ratio)，如表十四所示在男性 Apo A₁ 低的 II 基因型比率高(odds ratio = 0.496 for DD vs II, $P = 0.03$)，在女性 Lp(a)高的 II 基因型比率高(odds

ratio = 0.505 DD vs II, $P = 0.03$)。

就因懷疑罹患冠狀動脈疾病而住院病人分析其ACE基因分佈與血脂質的關係，如表十六、十八所示，男性DD/ID/II基因型分佈及D/I對偶基因頻率於正常與異常組間並無顯著差異，而在女性則有顯著的分佈差異(表十七、十九)，I對偶基因在血脂異常(高CHOL、LDL、Apo B以及低Apo A₁組)表現頻率較正常組高，利用Spearman相關分析(表二十、二十一)得到在女性ACE基因和CHOL、LDL、Apo B、APO A₁異常具統計意義相關。

就社區中符合美國國家膽固醇教育計劃(NCEP-ATP II)成人治療指引II中所定需要接受飲食受飲食(或加上藥物)治療標準以上的高膽固醇血症病人。有295位居民在接受醫師和營養師的高脂血症飲食治療教育。並於三個月後回中心接受抽血，驗收療效及接受飲食問卷面談，以查驗其飲食習慣的變化，並分析包括治療前後的血脂值來評估療效。以膽固醇降低5%以上者為有效治療組，共有137位，其他的158位則歸為無效治療者此兩組的ACE基因型分佈如表三十二所示ACE基因型的分佈和飲食阻介療效並不具統計意義的差別，在飲食阻介無效的人群中有39位接受降脂藥物的三個月治療並完成血液追蹤評估，仍所以膽固醇降低5%以上做為評定標準，其間有6位為無效者，33位皆可有效地達到降低膽固醇效用，其基因型與對偶基因頻率分佈如表二十三所示，兩組間基因型分佈不具統計意義差別，而對偶基因頻率則是無療效組的I對偶基因出現的頻率高($P < 0.02$)。

討論

一、以金山地區族群人口研究顯示在男性得到CAD患者比正常者有較高的I對偶基因出現頻率高，此種現象和已有報告認為D對偶基

因出現頻率容易罹患CAD是相反結果。而且血漿Apo A₁數值在DD/ID/II三組間也具統計意義差別，以具DD基因型組具有較高的Apo A₁值，此種結果是目前已有報告所未見，但與前項發現I對偶基因出現頻率高易罹患CAD卻能相吻合。在國人中具有II之ACE基因型者有較低的ApoA₁數值，此現象可以解釋，可以具有I對偶基因者，容易罹患CAD，因為在許多研究皆已証實低的ApoA₁值容易罹患CAD。

二、由社區女性族群研究之結果分析顯示，在血漿Lp(a)含量較多的人群中，其I對偶基因之出現頻率高，當利用spearman correlation來檢測ACE基因和血脈質關係也得到P=0.02具統計意義的相關性。

三、當以multiple logistic regression模式來計算ACE基因型對血脂異常之間的勝算比，也都表現出男性ApoA₁低的II基因型的比率多其勝算比為當DD對II時其值為0.496，P=0.03，在女性則為Lp(a)多的II基因型比率多，當DD對II時其勝算比為0.505，P=0.03。上述的分析結果皆顯示由社區族群人口研究ACE基因型與男性ApoA₁低多女性Lp(a)高的相關性是相當一致，十分肯定，也值得進一步探索其原因與作用機制。

四、當就因懷疑罹患冠狀動脈疾病而住院經心導管檢查的人，分析其ACE基因分佈與血脂質異常的相關性，所得到之結果與社區族群人口分析的結果迥異，在男性則其D/H對偶基因頻率分佈於血脂異常或正常組間並無顯著差異，而在女性則有顯著的分佈差異，I對偶基因在高CHOL，LDL，ApoA₁以及低ApoA₁組之表現頻率較正常組高，而spearman相關分析也表現出統計意義的相關。

五、此種由社區族群人口研究與醫院病人為基本的研究結果差異，可能是源自於社區族群人口的危險因子分佈為常態分布，而醫院病人之會到醫院進行檢查，表示其為具多危險因子的族群，其分佈型態本身就有偏頗，以致於二個不同對象選擇的結果會有差異。

六、以飲食阻介方式來達到降低血漿膽固醇效用時，其效用有無與ACE基因型分佈或對偶基因出現頻率無關，若評估降脂藥物效用則發現在無療效組的I對偶基因出現頻率具統計意義的多。

結論

就目前資料分析顯示存在ACE基因與血脂異常關連性這些特質是國人特有，如何進一步尋求解答，將是必要。無論就社區人口或醫院住院病人所顯示ACE對偶基因出現頻率與血脂異常關連之研究工作要延續，利用家族分析則是探求答案的不二法門。本計劃針對國人ACE基因分析，已得到屬於國人特有結果，此現象是目前已有關ACE基因分析所未見，吾人將本著目前超前執行計劃動力延續下一年度血脂異常者之家族ACE基因分析工作，冀望能針對ACE基因與脂血異常相關性，提供說明。

而近年來報告也指出DD型基因和非胰島素依賴型糖尿病病患者之腎病變、動脈內膜厚度、心肌肥厚具有相關⁽⁴²⁻⁴⁵⁾；同時和中風後病人之存活期長短相關⁽⁴⁶⁾。雖然目前結果顯示ACE基因除了和冠狀動脈病相關外，與高血壓、糖尿病、心肌肥厚、動脈內膜厚度等疾病並不相關，但持續觀察ACE基因與疾病預後關連，仍是本計劃的預定目標。

參考文獻

1. 中國人動脈硬化性心臟病及腦血管疾病之流行病學研究---三芝鄉居民之心臟病血管病流行病學研究---六十三年度研究報告。
2. 中國人動脈硬化性心臟病及腦血管疾病之流行病學研究---三芝鄉居民之心臟病血管病流行病學研究---八十一年度研究報告。
3. 中國人動脈硬化性心臟病及腦血管疾病之流行病學研究---八十年度研究報告。
4. Kathy K. Griendling, T.J.Murphy, R.Wayne Alexander. Molecular Biology of the Renin-Angiotensin System. *Circulation* 1993;87:1816-28
5. Schuh JR, Blehm DJ, Friedlich GE, McMahon EG, Blaine EH. Differential effects of renin-angiotensin system blockade on atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *J Clin Invest.*1993;91:1453-8
6. Claire Bonithon-Kopp, Pierre Ducimetiere, Pierre-Jean Touboul, Jean-Marc Feve, Eliane Billaud, Dominique Courbon, Veronique Heraud. Plasma angiotensin-converting enzyme activity and carotid wall thickness. *Circulation* .1994;89:952-4
7. Pfeffer MA, Braunwald E, Moye LA, Basta L, Brown EJ Jr, Cuddy TE, Davis BR, Geltman EM, Goldman S, Flaker GC, Klein M, Lamas GA, Packer M, Rouleau J, Rouleau JL, Rutherford J, Wertheimer JH, Hawkins CM on behalf of the SAVE investigators. Effect of captopril on mortality after myocardial infarction. *N Engl J Med.*1992;327:669-77
8. Yusuf S, Pepine CJ, Garces C, Pouleur H, Salem D, Kostis J, Benedict C, Rousseau M, Bourassa M, Pitt B. Effect of enalapril on myocardial infarction and unstable angina in patients with low ejection fraction. *Lancet.* 1992; 340 : 1173-8.

9. Liberman, J. Elevation of serum angiotensin-converting-enzyme (ACE) level in sarcoidosis. *Am.J.Med.* 1975;59:365-72.
10. Neels, H.M.S.L. Scharpe, M.E. Van Sande, R.M. Vervek, and K.J. Van Acker. Improved micromethod for assay of serum angiotensin converting enzyme. *Clin Chem.* 1982;28:1352-5
11. Alhenc-Gelas F., J.A. Weare, J.L. Johnson, Jr., and E.G. Erdos. Measurement of converting enzyme level by direct radioimmunoassay. *J Lab. Clin. Med.* 1983;101:83-96
12. F. Cambien, F. Alhenc-Gelas, B. Herbeth, J.L. Andre, Rakotovao, M.F. Gonzales, J. Allegrini, and C. Bloch. Familial resemblance of plasma angiotensin-converting enzyme level : the Nancy study. *J. Hum. Genet.* 1988;43:774-80
13. Brigitte Rigat, Christine Hubert, Francois Alhenc-Gelas, Francois Cambien, Pierre Corvol, and Florent Soubrier. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene accounting for half the variance of serum enzyme level. *J. Clin. Invest.* 1990;86:1343-6
14. Howard J. Jacob, Klaus Lindpaintner, Stephen E. Lincoln, Kenro Kusumi, Ruth K. Bunker, Yi-Pei, Mao, Detlev Ganten, Victor J. Dzau, and Eric S. Lander. Genetic mapping of a gene causing hypertension in the stroke-prone spontaneous hypertensive rat. *Cell*, 1991;67:213-24
15. P. Hilbert, K. Lindpaintner, J.S. Beckmann, T. Serikawa, F. Soubrier, C. Dubay, P. Cartwright, B. De Gouyon, C. Julier, S. Takahashi, M. Vincent, D. Ganten, M. Georges, & G.M. Lathrop. Chromosomal mapping of two genetic loci associated with blood-pressure regulation in hereditary hypertensive rats. *Nature* 1991;353:521-9

- 16.M.G.Mattei, C.Hubert , F. Alhenc-Gelas , N Roeckel , P Corvol , F Soubrier r.Angiotensin-I converting enzyme gene is on chromo-some 17. Cytogenet. Cell Genet 1989 :51:1041
- 17.Christine Hubert, Anne-Marie Houot, Pierre Corvol , and Florent Soubrier. Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene . J biological Chemistry 1990;266:15377-83
- 18.Pandall K. Saiki, David H. Gelfand, Susanne Stoffel , Stephen J.Scharf, Russell Higuchi, Glenn T. Horn, Kary B. Mullis, Henry A. Erlich. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a Thermostable DNA polymerase. Science 1988 , 239:487-91
- 19.Brigitte Rigat, Christine Hubert, Pierre Corvol and Florent Soubrier. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin converting enzyme gene (DCP1) (dipeptidylcarboxypeptidase 1) Nucleic Acid Research 1992;20:1433
- 20.Francois Cambien, Odette Poirer, Laure Lecerf, Alun Evans, Jean-Pierre Cambou, Dominique Arveiler, Gerald Luc, JeanMarie Bard, Lucienne Bara, Sylvain Ricard, Laurence Tired,Philippe Amouye, Francois Alhenc-Gelas, Florent Soubrier. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction . Nature . 1992 ; 359:641-4
- 21.Koichi Higashimori, Yi Zhao , Jitsuo Higaki , Atsushi Kamitani, Tomohiro Katsuya, Jun Nakura, Tetsuro Miki , Hiroshi Mikami ,Toshio Ogihara. Association analysis of a polymorphism of the angiotensin converting enzyme gene with essential hypertension in the Japanese population. Biochemical and Biophysical Research Communications 1993;191:399-404
- 22.Robert Y.L.Zee, Yi-Kun Lou, Lyn R.Griffiths and Brian J.Morris. Association of a polymorphism of the angiotensin converting I-

- enzyme gene with essential hypertension. Biochemical and Biophysical Research Communications. 1992, 184:9-15
23. Raj K. Mattu, Edward W.A. Needham, David J Galton, Evanthia Frangos; Adrian J.L. Clark, Mark Caufield. A DNA variant at the angiotensin-converting enzyme gene locus associated with coronary artery disease in the Caerphilly Heart Study. Circulation. 1995; 91:270-4
 24. Renee F. Badenhop, Xing Li Wang, David E.L. Wilcken. Angiotensin-converting -enzyme genotype in children and coronary events in their grandparents. Circulation 1995; 91:1655-8
 25. Gerd Utermann. The mysteries of lipoprotein(a). Science. 1989; 246:904-1026.
 26. David J. Moliterno, Richard A. Lange, Robert S. Meidell, John E. Willard, Carla C. Leffert, Robert D. Gerard, Eric Boerwinkle, Helen H. Hobbs, L. David Hollis. Relation of plasma lipoprotein(a) to infarct artery patency in survivors of myocardial infarction. Circulation 1993; 88:935-40
 27. David J. Grainger, Heide L. Kirschenlohr, James C. Metcalfe, Peter L. Weissberg, David P. Wade, Richard M. Lawn. Proliferation of human smooth muscle cells promoted by lipoprotein(a). Science. 1993; 260:1655-1659
 28. Katherine A. Hajjar, Dov Gavish, Jan L. Breslow, Ralph L. Nac hman. Nature. 1989; 339:303-5
 29. Wolfram Terres, Efstratios Tatsis, Rapid angiographic progression of coronary artery disease in patients with elevated lipoprotein(a). Circulation. 1995; 91:948-50
 30. A.E. Evans, O. Poirier, F. Kee, L. Lecerf, E. McCrum, T. Falconer, J. Crane, D.F. O'Rourke, F. Cambien. Polymorphism of the angiotensin-

- converting-enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. *Quarterly J Med.* 1994;87:211-4
31. Laurence Tiret, Frank Kee, Odette Poirier, Viviane Nicaud, Laurence Lecerf, Alun Evans, Jean-Pierre Cambou, Dominique Arveiler, Gerald Luc, Philippe Amouyel, Francois Cambien. Deletion polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene associated with parenteral history of myocardial infarction. *Lancet.* 1993;341:991-2
 32. Juan Ruiz, Helene Blanche, Nadine Cohen, Gilberto Velho, Francois Cambien, Daniel Cohen, Philippe Passa, Philippe Froguel. Insertion / deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene is strongly associated with coronary heart disease in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994;91:3662-5.
 33. Heribert Schunkert, Hans-Werner Hense, Stephan R. Holmer, Monica Stender, Siegfried Perz, Ulrich Keil, Beverly H. Lorell, Gunter A.J. Riegger. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme and left ventricular hypertrophy. *N. Engl J Med.* 1994;330:1634-8
 34. Mitsuru Ohishi, Hiromi Rakugi, Toshio Oihara. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin converting enzyme and the left ventricular hypertrophy (letter). *N Engl J Med.* 1994;331:1097
 35. Naoharu Iwai, Nobuyuki Ohmichi, Yasuyuki Nakamura, Masahiko Kinoshita. DD genotype of the angiotensin Converting enzyme gene is a risk factor for left ventricular hypertrophy. *Circulation.* 1994;90:2622-8
 36. Mary V Raynolds, Michael R Bristow, Erik W Bush, William T Abraham, Briand Lowes, Lawrence S Zisman, Cathy Sttaft, M

Benjamin Perryman. Angiotensin converting enzyme DDgenotype in patients with ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet*.1993;342:1073-5

37. Joseph Stocks , Hiroka Paul, David Galton. Haplotypes identified by DNA restriction -fragment-length polymorphism in the A-I , C-III gene region and hypertriglyceridemia . *Am J. Hum. Genet.* 1987;41:106-18
38. Evans AE, Poirier O, Kee F, Lecerf L, McCrum E, P Falconer T, et al. Polymorphisms of the angiotensin-converting enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. *Quart J Med* 1994; 87:211-4.
39. Day INM, Humphries SE. Electrophoresis for genotyping: devices for high throughput using horizontal acrylamide gels (H-Page) and microtitre array diagonal gel electrophoresis (MADGE). *Nature (Product Review)* June 1994; 36-37
40. Day INM, Humphries SE. Electrophoresis for genotyping: microtitre array diagonal gel electrophoresis (MADGE) on horizontal polyacrylamide(H-Page) gels, Hydrolink or agarose. *Anal biochem* 1994; 222:389-95
41. S D O'Dell, S E Humphries, I N M Day. rapid methods for population-scale analysis for gene polymorphisms: the ACE gene as an example. *Br Heart J* 1995;73:368-371.
42. Hosoi M, Nishizawa Y, Kogawa K, Kawagishi T, Konishi T, Maekawa K, Emoto M, Fukumoto S, Shioi A, et al. Angiotensin-Converting enzyme gene polymorphism is associated with carotid arterial wall thickness in non-insulin-dependent diabetic patients. *Circulation* 1996; 94:704-707.

43. Doi Y, Yoshizumi H, Yoshinai M, Iino K, Yamamoto M, Ichikawa K, Iwase M, Fujishima M. Association between a polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene and microvascular complications in Japanese patients with NIDDM. *Diabetologia* 1996; 39:97-102.
44. Ohno T, Kawazu S, and Tomono S. Association analyses of the polymorphisms of angiotensin-converting enzyme and angiotensinogen genes with diabetic nephropathy in Japanese non-insulin-dependent diabetics. *Metabolism* 1996; 45(2):218-222.
45. Lindpaintner K, Lee M, Larson MG, Rao S, Pfeffer MA, Ordovas J, Schaeffer EJ, Wilson AF, Wilson Peter WF, Vasan RS, Myers RH and Levy D. Absence of association or genetic linkage between the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular mass. *N Engl J Med* 1996, 334:1023-8.
46. Catto S, Carter AM, rett JH, Strickland M, Bamford J, Davies Grant Peter J. Angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and cerebrovascular disease. *Stroke* 1996; 27:435-440.

圖表

表一：金山社區之心臟血管疾病盛行率

	男 (1703)	女 (1899)	全部 (3602)
冠狀動脈心臟病	3.5%	4.6%	4.1%
腦中風	2.5%	1.9%	2.2%
高血壓(160/95 mmHg)	14.0%	15.8%	15.0%
糖尿病	8.5%	8.6%	8.6%
高脂血症			
膽固醇 $\geq$ 240 mg/dl	13.9%	19.6%	16.9%
低密度脂蛋白 $\geq$ 160 mg/dl	23.3%	30.5%	27.1%
高密度脂蛋白 $<$ 35 mg/dl	16.3%	11.0%	13.5%
三酸甘油酯 $\geq$ 150 mg/dl	25.2%	23.2%	24.1%

表二：二年之內發生率

	男 (1417)	女 (1664)	全部 (3081)
冠狀動脈心臟病	3.43%	4.01%	3.74%
腦中風	1.23%	0.92%	1.03%
高血壓	7.68%	9.52%	8.66%
糖尿病	3.99%	3.26%	3.60%

表三：金山居民之 LP(a)濃度(mg/dl)

年齡	男	女
35-44	11.9 ± 12.9	14.5 ± 15.4
45-54	13.2 ± 15.9	14.6 ± 15.5
55-64	14.3 ± 16.4	14.0 ± 14.9
65/74	16.0 ± 15.0	15.6 ± 16.4
≥ 75	17.2 ± 16.8	17.3 ± 16.7
Total	13.9 ± 15.4	14.9 ± 15.4

表四：國人基因型與對偶基因表現頻率

	No.	Genotypes			Alleles Frequencies	
		DD	ID (%)	II	D (%)	I
Total	3000	388 (12.93)	1202 (40.06)	1410 (47.00)	32.96	67.03
Male	1417	184 (12.98)	584 (41.21)	649 (45.80)	33.59	66.40
Female	1583	201 (12.69)	618 (39.04)	764 (48.26)	32.21	67.78

表五：金山社區族群之正常人和各組疾病之 ACE 基因型分佈

Group	DD	ID (%)	II	P
Normal	134 (13.37)	410 (40.92)	458 (45.71)	
CAD	4 (6.67)	21 (35.00)	35 (58.33)	0.114
CVA	7 (11.11)	22 (34.92)	34 (53.97)	0.447
HTN	57 (13.57)	167 (39.76)	196 (46.67)	0.919
DM	38 (12.34)	121 (39.29)	149 (48.38)	0.714
LVH	13 (11.11)	47 (40.17)	57 (48.71)	0.764
IMT	27 (12.73)	80 (37.73)	105 (49.95)	0.698

P: 表示和正常組相比較之統計機率

表六：金山社區族群之正常人和各組疾病之 ACE 對偶基因出現頻率

Group	D (%)	I	P
Normal	33.78	66.22	
CAD	24.17	75.83	0.030*
CVA	28.57	71.43	0.230
HTN	33.45	66.55	0.868
DM	31.98	68.02	0.410
LVH	31.30	68.80	0.517
IMT	31.6	68.4	0.396

P: 表示和正常組相比較之統計機率

*: 表示具統計意義差別

表七、三種ACE基因型的生理生化參數值

	DD	ID	II	P
Age	55.7±13.3	54.0±13.6	54.5±13.2	0.10
BH	158.0±8.4	158.7±8.6	157.6±8.3	0.20
BMI	24.1±3.2	24.0±3.5	24.2±3.5	0.66
BW	60.6±10.6	60.4±10.4	60.2±10.2	0.82
SBP	116.7±34.2	116.5±34.4	116.0±35.7	0.90
DBP	71.9±20.9	71.9±21.4	71.4±22.0	0.68
IMT	0.077±0.053	0.071±0.043	0.072±0.046	0.13
GLU	113.5±33.8	115.1±35.4	113.6±29.6	0.50
TG	123.7±130.6	115.9±99.7	117.3±111.3	0.51
CHOL	206±43	201±43	201±44	0.19
HDL-C	407±12.0	40.3±11.0	40.0±11.2	0.50
LDL-C	127±37	125±39	126±40	0.66
Apo A ₁	147±41	142±38	141±40	0.04*
Apo B	60±18	59±17	59±18	0.73
LP(a)	13.1±14.9	13.5±16.5	13.1±15.4	0.92
INSU	6.97±6.41	6.8±6.25	7.13±10.9	0.67

P: ACE 基因型各組間差異統計機率

*: 表示具統計意義差別

表八：男性 ACE 基因與生理生化參數之 pearson 相關分析

Parameter	r	P
Age	0.009	0.75
BH	-0.006	0.83
BW	0.04	0.18
BMI	0.04	0.13
SBP	-0.007	0.79
DBP	-0.02	0.47
IMT	0.002	0.93
GLU	0.02	0.46
TG	0.02	0.36
CHOL	0.05	0.056
HDL-C	0.01	0.71
LDL-C	0.03	0.21
Apo A1	0.06	0.04*
Apo B	0.02	0.34
LP(a)	0.02	0.39
INSU	0.03	0.25

r: 為相關係數; P: 統計機率; *: 具統計相關意義

表九：女性 ACE 基因 與生理生化參數之 pearson 相關分析

Parameter	r	P
Age	0.019	0.45
BH	0.017	0.51
BW	-0.031	0.23
BMI	-0.04	0.1
SBP	-0.018	0.49
DBP	-0.043	0.10
IMT	-0.042	0.10
GLU	-0.004	0.85
TG	-0.005	0.83
CHOL	0.013	0.59
HDL-C	0.04	0.11
LDL-C	-0.014	0.57
Apo A1	0.03	0.21
Apo B	-0.008	0.74
LP(a)	-0.020	0.43
INSU	-0.028	0.27

r: 為相關係數; P: 統計機率; *: 具統計相關意義

表十：國人男性之生理生化參數臨界值之正常與異常組之 ACE 基因分佈

Parameter (cut point)	Normal			Abnormal			P
	DD	ID	II	DD	ID	II	
SBP (160 mmHg)	13.42	42.51	44.07	18.87	37.74	43.40	0.50
DBP (95 mmHg)	12.30	42.42	44.31	18.99	40.51	40.51	0.35
Glu (140 mg/dl)	13.94	41.52	44.54	13.24	41.91	44.85	0.97
CHOL (240 mg/Dl)	13.81	40.94	45.25	14.11	45.40	40.49	0.49
TG (200 mg/dl)	13.96	41.39	44.65	12.75	42.95	44.30	0.89
HDL (35 mg/dl)	13.74	42.40	43.86	14.13	39.74	46.14	0.66
LDL (160 mg/dl)	14.06	40.82	45.12	13.30	44.68	42.02	0.61
Apo A1 (99 mg/dl)	14.49	41.86	43.66	8.72	39.60	51.68	0.07
Apo B (81 mg/dl)	13.65	41.74	44.61	14.39	40.29	45.32	0.94
LP(a) (13.23 mg/dl)	13.43	41.92	44.65	14.06	44.53	41.41	0.78
INSU (13.23 mg/dl)	13.30	41.95	44.76	22.35	35.29	42.35	0.06
IMT (0.1 mm)	13.94	41.52	44.53	13.46	41.67	44.87	0.98

表十一：國人女性之生理生化參數臨界值之正常與異常組之 ACE 基因分佈

Parameter (cut point)	Normal			Abnormal			P
	DD	ID	II	DD	ID	II	
SBP (160 mmHg)	12.59	38.91	48.50	14.61	43.82	41.57	0.44
DBP (95 mmHg)	13.10	38.70	48.20	6.90	47.13	45.98	0.13
Glu (140 mg/dl)	12.49	39.35	48.16	12.68	38.73	48.59	0.98
CHOL (240 mg/Dl)	12.17	39.73	48.10	13.89	37.50	48.61	0.65
TG (200 mg/dl)	12.58	39.47	47.95	11.84	38.16	50.0	0.88
HDL (35 mg/dl)	12.60	40.48	46.92	12.10	37.04	50.86	0.39
LDL (160 mg/dl)	12.58	39.74	47.69	11.67	38.67	49.67	0.81
Apo A1 (99 mg/dl)	12.46	38.99	41.54	12.09	47.25	40.66	0.27
Apo B (81 mg/dl)	12.41	39.11	48.49	12.77	43.26	43.97	0.57
LP(a) (13.23 mg/dl)	12.96	39.77	47.27	8.63	36.55	57.82	0.08
INSU (13.23 mg/dl)	12.79	38.91	48.29	10.67	42.70	46.63	0.54
IMT (0.1 mm)	12.15	39.93	47.93	14.81	32.41	52.78	0.28

表十二：國人男性之生理生化參數臨界值之正常與異常組之 ACE
對偶基因頻率

Parameter (cut point)	Normal		Abnormal		P
	D	I	D	I	
SBP (160 mmHg)	34.68	65.32	37.74	62.26	0.52
DBP (95 mmHg)	34.48	65.52	38.24	60.76	0.22
Glu (140 mg/dl)	34.70	65.30	34.19	65.81	0.86
CHOL (240 mg/Dl)	34.28	65.72	36.81	63.19	0.37
TG (200 mg/dl)	34.65	65.35	34.23	65.77	0.88
HDL (35 mg/dl)	34.94	65.06	34.00	66.00	0.64
LDL (160 mg/dl)	34.47	65.53	35.64	64.36	0.66
Apo A1 (99 mg/dl)	35.41	64.59	28.52	71.48	0.02*
Apo B (81 mg/dl)	34.52	65.48	34.53	65.47	0.99
LP(a) (13.23 mg/dl)	34.39	65.61	36.33	63.67	0.54
INSU (13.23 mg/dl)	34.27	65.73	40.00	60.00	0.13
IMT (0.1 mm)	34.70	65.30	34.29	65.71	0.88

P: 統計機率; *:具統計相關意義

表十三：國人女性之生理生化參數臨界值之正常與異常組之 ACE
對偶基因頻率

Parameter (cut point)	Normal		Abnormal		P
	D	I	D	I	
SBP (160 mmHg)	32.04	67.96	36.52	63.48	0.21
DBP (95 mmHg)	32.45	67.55	30.46	69.54	0.58
Glu (140 mg/dl)	32.17	67.83	32.04	67.96	0.96
CHOL (240 mg/Dl)	32.04	67.96	32.64	67.36	0.78
TG (200 mg/dl)	32.31	67.69	30.92	69.08	0.62
HDL (35 mg/dl)	32.84	67.16	30.62	69.38	0.25
LDL (160 mg/dl)	32.45	67.55	31.00	69.00	0.50
Apo A1 (99 mg/dl)	31.96	68.04	35.71	64.29	0.29
Apo B (81 mg/dl)	31.96	68.04	34.40	65.60	0.40
LP(a) (13.23 mg/dl)	32.84	67.16	26.90	73.10	0.01*
INSU (13.23 mg/dl)	32.25	67.75	32.02	67.98	0.93
IMT (0.1 mm)	32.11	67.89	31.02	68.96	0.74

P: 統計機率; *:具統計相關意義

表十四：國人男性之 Apo A₁ 相關參數的 Logistic Regression 分析

	Parameta	Odds		Confidence
Variable	Estimate	Ratio	P	Range
ACE (DD/ID)	-0.12	0.87	0.561	-
ACE (DD/II)	-0.70	0.49	0.03*	0.26 ~ 0.94
GLU	0.38	1.46	0.13	-
CHOL	-0.39	0.67	0.34	-
HDL	1.89	6.67	0.0001*	4.42 ~ 10.07
LDL	-0.81	0.44	0.02*	0.21 ~ 0.90

*具統計意義差別

表十五：國人女性之 LP(a) 相關參數的 Logistic Regression 分析

	Parameta	Odds		Confidence
Variable	Estimate	Ratio	P	Range
ACE (DD/ID)	-0.22	0.79	0.17	-
ACE (DD/II)	-0.55	0.57	0.04*	0.33 ~ 0.99
CHOL	0.48	1.62	0.04*	1.02 ~ 2.59
LDL	0.13	0.56	0.56	-

*具統計意義差別

表十六：冠心病住院男性之血脂正常與異常之 ACE 基因分佈

Lipid	Normal			Abnormal			P
	DD	ID	II	DD	ID	II	
	n=200			n=46			
TG	11.0	38.0	51.0	0.3	47.8	47.8	0.26
	n=215			n=31			
CHOL	10.7	38.6	50.7	3.23	48.39	48.39	0.32
	n=100			n=146			
HDL	6.0	37.0	57.0	12.3	41.7	45.8	0.12
	n=209			n=37			
LDL	10.0	38.2	51.6	8.1	48.6	43.2	0.49
	n=173			n=73			
Apo A ₁	10.9	38.7	50.2	6.8	42.4	50.6	0.58
	n=196			n=48			
Apo B	10.7	35.7	53.5	6.2	54.1	39.5	0.06
	n=113			n=50			
LP(a)	9.7	38.0	52.2	12.0	42.0	46.0	0.75

表十七：冠心病住院女性之血脂正常與異常之 ACE 基因分佈

Lipid	Normal			Abnormal			P
	DD	ID	II	DD	ID	II	
	n=73			n=25			
TG	16.4	34.2	49.3	20.0	32.0	48.0	0.91
	n=80			n=18			
CHOL	20.0	37.5	42.5	5.5	16.6	77.8	0.02*
	n=66			n=32			
HDL	15.1	34.8	50.0	21.8	31.2	46.8	0.70
	n=83			n=15			
LDL	19.2	37.3	43.3	6.61	13.3	80.0	0.03*
	n=89			n=9			
Apo A ₁	16.8	30.3	52.8	22.2	66.6	11.1	0.04*
	n=81			n=17			
Apo B	18.5	38.2	43.2	11.7	11.7	76.4	0.03*
	n=49			n=16			
LP(a)	14.2	30.6	55.1	18.7	25.0	56.2	0.86

P: 統計機率; *:具統計相關意義

表十八：冠心病住院男性之血脂正常與異常之 ACE 對偶基因頻率

Lipid	Normal		Abpormal		P
	D	I	D	I	
TG	30.0	70.0	28.2	71.7	0.74
CHOL	30.00	70.00	27.42	72.58	0.67
HDL	33.22	66.78	24.50	75.50	0.03*
LDL	29.19	70.81	32.43	67.57	0.57
Apo A ₁	28.08	71.92	30.35	69.65	0.61
Apo B	28.57	71.43	33.33	66.67	0.35
LP(a)	28.76	71.24	33.00	67.00	0.44

P: 統計機率; *:具統計相關意義

表十九：冠心病住院女性之血脂正常與異常之 ACE 對偶基因頻率

Lipid	Normal		Abpormal		P
	D	I	D	I	
TG	33.56	66.44	36.00	64.00	0.75
CHOL	38.75	61.25	13.89	86.11	0.004*
HDL	32.58	67.42	37.50	62.50	0.49
LDL	37.95	62.05	13.33	86.67	0.009*
Apo A ₁	55.56	44.44	32.02	67.98	0.04*
Apo B	37.65	62.35	17.65	82.35	0.02*
LP(a)	29.59	70.41	31.25	68.75	0.85

P: 統計機率; *:具統計相關意義

表二十：冠心病住院男性的 ACE 基因(DD/ID/II)與相關參數之 spearman 相關分析

Parameter	r	P
CAD	0.01	0.87
Vessel Occlusion	0.01	0.85
Gensini Score	0.12	0.04*
TG	-0.003	0.95
CHOL	-0.01	0.87
HDL	0.12	0.05
LDL	0.04	0.47
Apo A ₁	-0.02	0.74
Apo B	0.07	0.21
LP(a)	0.05	0.45

P: 統計機率; *:具統計相關意義

表二十一：冠心病住院女性的 ACE 基因(DD/ID/II)與相關參數之 spearman 相關分析

Parameter	r	P
CAD	0.08	0.42
Vessel Occlusion	0.01	0.25
Gensini Score	0.01	0.85
TG	0.02	0.81
CHOL	-0.26	0.007*
HDL	0.05	0.60
LDL	-0.24	0.01*
Apo A ₁	0.20	0.04*
Apo B	-0.22	0.02*
LP(a)	0.008	0.94

P: 統計機率; *:具統計相關意義

表二十二：食阻介中血漿膽固醇下降有效與無效組的 ACE 基因型分佈

飲食阻介	Genotype		
	DD	ID	II
無效組 n=137 (%)	20 (48.7)	60 (37.9)	78 (49.37)
有療效 n=158 (%)	21 (51.2)	50 (43.0)	57 (41.6)
P=0.404			

表二十三：降脂藥物治療後血漿膽固醇下降有、無療效組別之 ACE 基因型分佈與對偶基因頻率

療效	Genotype			Allel Frequency	
	DD	ID	II	D	I
有效 n=33	8 (24.2)	13 (39.4)	12 (36.3)	43.94	55.06
無效 n=6	0 (0)	1 (16.7)	5 (83.8)	8.33	91.67
P		0.093			0.02