

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.15.009

临床研究

慢性阻塞性肺疾病稳定期患者肺肾气虚证与血管紧张素转换酶基因单核苷酸多态性的相关性

吴孝政¹, 王振兴², 王依澜², 康雯霖², 卿世花², 王飞², 陈敏^{3*}

(1. 贵州中医药大学基础医学院, 贵州省贵阳市花溪区花溪大学城栋青南路, 550025; 2. 成都中医药大学临床医学院; 3. 成都市第三人民医院)

摘要 目的 探讨血管紧张素转换酶 (ACE) 基因单核苷酸多态性 (SNP) 插入/缺失 (I/D) (rs4646994) 与慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 稳定期肺肾气虚证的相关性。方法 选取 COPD 稳定期患者 95 例为病例组, 依据中医辨证标准分为肺肾气虚证组 (37 例) 和非肺肾气虚证组 (58 例), 另选取同期健康体检者 82 例为对照组。提取所有受试者全基因组 DNA 并采用 PCR 法对 ACE 基因 SNP (I/D) 进行检测, 采用 Pearson 相关性分析进行组间比较, 最后多态性采用 SNP 序列查询进行验证。结果 95 例病例组患者 II、ID、DD 基因型分布频率分别为 44 例 (46.32%)、38 例 (40.00%)、13 例 (13.68%), 对照组分别为 33 例 (40.24%)、40 例 (48.78%)、9 例 (10.98%)。肺肾气虚证组分别为 16 例 (43.24%)、17 例 (45.95%)、4 例 (10.81%), 非肺肾气虚证组分别为 28 例 (48.28%)、21 例 (36.21%)、9 例 (15.52%)。各组受试者 ACE 基因 SNP (I/D) (rs4646994) 组间相关性分析结果差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。SNP 序列查询结果示, rs4646994 是一个 289bp 重复序列的 I/D 突变, 但已知的突变频率小于 1%。结论 ACE 基因 SNP (I/D) (rs4646994) 作为 COPD 稳定期肺肾气虚证的遗传标记物证据尚不足, 仍需要大样本进行验证。

关键词 慢性阻塞性肺疾病; 肺肾气虚证; 血管紧张素转换酶; 单核苷酸多态性

慢性阻塞性肺疾病 (chronic obstructive pulmonary disease, COPD) 的发病机制目前尚未完全阐明, 2017 版 COPD 全球倡议指出遗传因素是引起 COPD 发病的重要危险因素之一^[1]。目前国外学者对 COPD 遗传易感性研究较多, 包括血管紧张素转换酶 (ACE) 基因在内的多个候选基因被认为与 COPD 的发病相关^[2-3]。ACE 的表达受 ACE 基因调控, 由 ACE 活化产生的血管紧张素 II (Ang II) 除了能够促进血管的增生, 使血管收缩, 升高血压, 调节水盐代谢 (保钠排钾) 等, 还是一个强烈的致炎因子^[4-5]。ACE 基因位于染色体 17q23, 其中最重要的多态性是插入/缺失 (I/D) (rs4646994), 人体内有一半的 ACE 基因受其调节和控制, 如果 ACE 基因产生单核苷酸多态性

(SNP) I/D 的突变, ACE 的功能与活性将会改变, 可使 ACE 水平增高且活性增强, 从而刺激肺部炎症发展导致 COPD 的发病^[6-7]。Meta 分析发现, 该基因多态性与亚洲黄种人 COPD 发病相关^[8]。中医学认为, COPD 初病在肺, 久病入肾, 与肺、肾两脏的虚损关系密切, 而肺肾气虚证是 COPD 稳定期主要的中医证型^[9]。本研究探讨 ACE 基因 SNP (I/D) (rs4646994) 和 COPD 稳定期肺肾气虚证的相关性, 探索该基因多态性是否可能作为 COPD 稳定期肺肾气虚证的遗传标记物。

1 资料与方法

1.1 诊断标准

西医诊断标准参照 2017 版慢性阻塞性肺疾病全球倡议^[1]。中医辨证标准参照《慢性阻塞性肺疾病中医证候诊断标准 (2011 版)》^[10]、《中医内科常见病诊疗指南中医病证部分》^[11]及《中医虚证

基金项目: 国家自然科学基金 (81373597); 成都市科技局项目 (2015-HM01-00378-SF); 成都中医药大学科技发展基金 (ZRQN1562)

* 通讯作者: 150325684@qq.com

辨证参考标准》^[12] 拟定, 肺肾气虚证: 1) 喘息、气短, 动则加重; 2) 乏力或自汗, 动则加重; 3) 易感冒, 恶风; 4) 腰膝酸软; 5) 耳鸣或头昏或面目虚浮; 6) 小便频数、夜尿多, 或咳而遗溺; 7) 舌质淡、舌苔白, 脉沉细或细弱。具备 1) 2) 3) 中的 2 项, 加 4) 5) 6) 7) 中的 2 项, 即可诊断。

1.2 纳入标准

符合上述西医诊断标准者; 年龄 40 ~ 90 岁; 停用血管紧张素转换酶抑制剂 (ACEI) 药物 1 个月以上; 汉族, 并与其他入组患者无血缘关系; 四川地区出生, 并长期居住于四川地区; 签署知情同意书。

1.3 排除标准

合并活动性肺结核、肺部恶性肿瘤、支气管哮喘、支气管扩张等肺部疾病者; 合并肺间质纤维化、弥漫性泛细支气管炎或闭塞性细支气管炎等具有气流阻塞性肺部疾病者; 合并脑、肝、肾等其他严重疾病者; 合并心律失常、冠心病、心肌病等严重心脏疾病者; 合并有严重高血压 (血压 $\geq 160/100$ mmHg)、糖尿病者; 妊娠及哺乳期妇女; 合并严重呼吸衰竭或肺性脑病者; 合并精神类疾病者; 不能配合信息采集者。

1.4 一般资料

选取 2017 年 6 月至 2018 年 1 月就诊于成都中医药大学附属医院、成都市第一人民医院、成都市驷马桥社区医院的 COPD 稳定期患者 95 例为病例组。选取同期于成都市驷马桥社区医院健康体检者 82 例为对照组, 健康体检者血压正常, 无心、脑、肝、肾、肺等相关病史, 无家族遗传史。病例组患者根据中医辨证标准分为肺肾气虚证患者 37 例 (肺肾气虚证组) 和非肺肾气虚证患者 58 例 (非肺肾气虚证组)。病例组中男 55 例, 女 40 例; 年龄 47 ~ 87 岁, 平均 (73.51 $\pm$ 7.23) 岁; 病程 1 ~ 60 年, 平均 (13.39 $\pm$ 11.77) 年; 对照组中男 52 例, 女 30 例; 年龄 47 ~ 90 岁, 平均 (72.91 $\pm$ 7.30) 岁。肺肾气虚证组中男 26 例, 女 11 例; 年龄 59 ~ 83 岁, 平均 (73.86 $\pm$ 7.33) 岁; 病程 1 ~ 60 年, 平均 (14.62 $\pm$ 10.67) 年; 非肺肾气虚证组中男 32 例, 女 26 例; 年龄 47 ~ 87 岁, 平均 (72.5 $\pm$ 7.19) 岁; 病程 1 ~ 50 年, 平均 (12.86 $\pm$ 9.40) 年。病例组与对照组性别、年龄比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。肺肾气虚证组和非肺肾气虚证组患者性别、年龄、病程比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

1.5 观察指标及方法

受试者静脉采集 5 ml 血液样本, 样本采集后保存于实验室 -80℃ 专用冰箱。采用 PCR 扩增及电泳的方法对 ACE 基因第 16 内含子多态区 SNP (rs4646994) 的插入与缺失情况进行检测。引物 (上游 5'-CCC ATC CTT TCT CCC ATT T-3'; 下游 5'-TGC CCA TAA CAG GTC TTC ATA-3') 购自上海伯豪生物技术有限公司。提取全基因组 DNA。PCR 反应在 20 μ l 体系中进行。PCR 扩增程序为: 95℃ 变性 5 min, 然后 95℃ 变性 30 s, 50℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 60 ~ 90 s, 循环 35 次, 72℃ 延伸 60 ~ 90 s, 最后 4℃ 保存。采用 2% 琼脂糖凝胶电泳。多态性验证^[13] 采用测序进行, SNP 序列查询目的是验证 rs4646994 是否产生突变, 对 PCR 的结果进行进一步验证。

1.6 主要试剂及仪器

蛋白酶 K (货号 19133), QIAGEN 公司; 无核酸酶水 (货号 PNAM9932), Ambion 公司; PCR 缓冲液 (Mg²⁺ plus, 货号 R001A)、dNTP 混合物 (2.5 mmol/L)、TaqTM 聚合酶 (5 U/ μ l, 货号 R001A), TaKaRa 公司; 琼脂糖 ITM (货号 0710), Amresco 公司; FlashGel DNA 标志物 (50bp - 1.5kb, 货号 57033), Lonza 公司; QIAamp DNA 试剂盒 (货号 51306)、缓冲液 AW1 (货号 19081)、缓冲液 AW2 (货号 19072)、缓冲液 AL (货号 19075)、缓冲液 AE (货号 19077)、100% 乙醇 (货号 RTJ0794), 均为 QIAGEN 公司产品。Applied Biosystems R2720 热循环仪/PCR 仪 (美国 ABI 公司)。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件, 计量资料符合正态分布以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用单因素方差分析。计数资料组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 病例组和对照组受试者 ACE 基因 SNP (I/D) 分布及相关性分析

SNP (I/D) 电泳分别记录每个孔道的基因型及长度, 基因型包括 II、ID、DD 3 个类型。病例组患者 II、ID、DD 基因型的分布频率分别为 44 例 (46.32%)、38 例 (40.00%)、13 例 (13.68%), 对照组 II、ID、DD 基因型的分布频率分别为 33 例 (40.24%)、40 例 (48.78%)、9 例 (10.98%)。

对照组基因型分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律^[14-16]，其中以 II 基因型和 I 等位基因作为参照行 Pearson 相关性分析，计算其相关性。表 1 示，各遗传模型的基因型中，病例组与对照组的各基因型比较均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 ACE 基因 SNP (I/D) 与慢性阻塞性肺疾病相关性分析

基因型/等位基因	病例组 (例)	对照组 (例)	χ^2 值	OR(95% CI)	P 值
II	44	33	参照		
ID vs II	38	40	1.104	1.40(0.75, 2.64)	0.293
DD vs II	13	9	0.027	0.92(0.35, 2.42)	0.870
DD + ID vs II	51	49	0.660	0.78(0.43, 1.42)	0.416
ID vs II + DD	38	40	1.377	1.43(0.79, 2.59)	0.241
DD vs II + ID	13	9	0.297	0.78(0.31, 1.93)	0.586
I	126	106	参照		
D	64	58	0.110	0.93(0.60, 1.44)	0.740

注: ACE, 血管紧张素转换酶; SNP (I/D), 单核苷酸多态性 (插入/缺失)

2.2 肺肾气虚证组和对照组受试者 ACE 基因 SNP (I/D) 分布及相关性分析

肺肾气虚证组患者 II、ID、DD 基因型的分布频率分别为 16 例 (43.24%)、17 例 (45.95%)、4 例 (10.81%)。表 2 示，各遗传模型的基因型中，肺肾气虚证组与对照组的各基因型比较均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 ACE 基因 SNP (I/D) 与慢性阻塞性肺疾病肺肾气虚证相关性分析

基因型/等位基因	肺肾气虚证组 (例)	对照组 (例)	χ^2 值	OR(95% CI)	P 值
II	16	33	参照		
ID vs II	17	40	0.098	1.14(0.50, 2.6)	0.754
DD vs II	4	9	0.017	1.09(0.29, 4.09)	0.897
DD + ID vs II	21	49	0.095	0.88(0.40, 1.94)	0.758
ID vs II + DD	17	40	0.082	1.12(0.52, 2.44)	0.774
DD vs II + ID	4	9	0.001	1.02(0.29, 3.54)	0.979
I	49	106	参照		
D	25	58	0.056	0.93(0.52, 1.66)	0.813

注: ACE, 血管紧张素转换酶; SNP (I/D), 单核苷酸多态性 (插入/缺失)

2.3 非肺肾气虚证组和对照组受试者 ACE 基因 SNP (I/D) 分布及相关性分析

非肺肾气虚证组患者 II、ID、DD 基因型的分布频率分别为 28 例 (48.28%)、21 例 (36.21%)、9 例 (15.52%)。表 3 示，各遗传模型的基因型中，非肺肾气虚证组与对照组的各基因型比较均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 3 ACE 基因 SNP (I/D) 与慢性阻塞性肺疾病非肺肾气虚证相关性分析

基因型/等位基因	非肺肾气虚证组 (例)	对照组 (例)	χ^2 值	OR(95% CI)	P 值
II	28	33	参照		
ID vs II	21	40	1.671	1.62(0.78, 3.35)	0.196
DD vs II	9	9	0.094	0.85(0.30, 2.43)	0.759
DD + ID vs II	30	49	0.891	0.72(0.37, 1.42)	0.345
ID vs II + DD	21	40	2.184	1.68(0.84, 3.34)	0.139
DD vs II + ID	9	9	0.625	0.67(0.25, 1.81)	0.429
I	77	106	参照		
D	39	58	0.091	0.93(0.56, 1.53)	0.762

注: ACE, 血管紧张素转换酶; SNP (I/D), 单核苷酸多态性 (插入/缺失)

2.4 肺肾气虚证组和非肺肾气虚证组受试者 ACE 基因 SNP 多态性 (I/D) 分布及相关性分析

表 4 示，各遗传模型的基因型中，肺肾气虚证组与非肺肾气虚证组的各基因型比较均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 4 慢性阻塞性肺疾病肺肾气虚证和非肺肾气虚证 ACE 基因 SNP (I/D) 相关性分析

基因型/等位基因	肺肾气虚证组 (例)	非肺肾气虚证组 (例)	χ^2 值	OR(95% CI)	P 值
II	16	28	参照		
ID vs II	17	21	0.594	1.42(0.59, 3.44)	0.441
DD vs II	4	9	0.138	0.78(0.21, 2.94)	0.710
DD + ID vs II	21	30	0.230	0.82(0.36, 1.87)	0.631
ID vs II + DD	17	21	0.893	1.50(0.65, 3.47)	0.345
DD vs II + ID	4	9	0.424	0.66(0.19, 2.32)	0.515
I	49	77	参照		
D	25	39	0.001	0.99(0.54, 1.84)	0.981

注: ACE, 血管紧张素转换酶; SNP (I/D), 单核苷酸多态性 (插入/缺失)

2.5 SNP 序列查询结果

SNP 序列查询结果显示，rs4646994 是一个 289bp 重复序列的 I/D 突变，但是已知的突变频率小于 1%。该位点附近 500bp 内，突变频率大于 1% 的已知 SNP 有 7 个，有 2 个 I/D 突变，其中，rs4340 和 rs4646994 位点相邻 8bp，也是一个重复序列的 I/D 突变，且已知突变频率比 rs4646994 高，为 72.34%。除此之外，该待测位点附近突变频率小于 1% 的 SNP 非常多，且大部分也是 I/D 突变。

3 讨论

SNP 广泛分布于各类人群中，是人体在自身及环境等各种因素的共同介导的作用下，基因组中某一个位点上 DNA 特定的组合类型 (单个核苷酸的

变异) 产生多基因复杂的共同演变, 从而导致人体对某方面的疾病存在着一定的倾向性及药物的敏感性和偏向性, SNP 是人体基因组之间最基本的差异, 占有已知多态性的 90% 以上^[17]。证候从整体观念上看是机体内在变化表现于外的总体概括, 具有某一阶段的相对稳定性, 并随病程变化而表现不同^[18]。证候有动态性、规律性的特点, 且受患者自身体质因素及外界环境因素的作用而变化, 因此证候和基因多态性一样也存在着某方面的倾向性和敏感性^[19]。同时, 基因多态性也强调患者的背景因素, 如不同国家、地域、季节、种族、年龄等条件不同, 所表现出的多态性亦有差异, 这与中医学中“三因治宜”的思想不谋而合^[19]。证候与基因多态性既然都存在一定的动态性、规律性及背景因素, 必然有特定的物质作为载体, 这个载体可能就在基因组水平上有所体现^[20]。

本次研究主要探讨 ACE 基因 SNP (I/D) 和肺肾气虚证的相关性, 揭示 COPD 稳定期肺肾气虚证的分子遗传学证候内涵, 探索其作为 COPD 稳定期肺肾气虚证的遗传标记物的可能性。本次研究中所有对照组受试者的基因型及等位基因分布频率符合 Hardy-Weinberg 平衡检测, 表明对照组的选择具有群体代表性, 样本处于一个随机分配平衡状态且较为广泛的人群中。采用 PCR 扩增及电泳的方法对 ACE 基因第 16 内含子多态区 SNP (rs4646994) 的插入与缺失情况进行检测, 结果提示, 与对照组比较, 病例组 II 和 DD 基因型、肺肾气虚证组 II 基因型、非肺肾气虚证组 II 和 DD 基因型的分布有一定增多趋势, 同时肺肾气虚证组 ID 基因型的分布比非肺肾气虚证组的分布亦有一定的增高趋势, 这与以往肾虚证候与 ACE 基因 SNP (I/D) 相关性研究结果类似^[21]。但本次研究结果尚未发现各组患者各基因型与健康人群比较的差异, SNP 序列查询结果亦提示 ACE 基因 rs4646994 位点与 COPD 稳定期肺肾气虚证相关性不大, COPD 稳定期肺肾气虚证可能与 rs4340 位点的突变有较大的相关性。因此, COPD 稳定期肺肾气虚证可能与 ACE 基因 SNP (rs4646994) 无相关性, 这与以往国外研究相同^[22], 尚需进一步提高检测技术, 运用二代测序对该多态区 SNP 进一步验证, 方能得出更为准确的微观诊断依据。

差异不明显可能也有以下原因: 1) 由于本研究限制人群范围为四川地区, 并且患者年龄范围过大, 难免会产生实验结果的偏倚性, 因此需要进一

步增加样本量, 延长调查周期, 扩大调查人群所处的地域范围, 进行多中心、大样本的临床调查研究对其进行验证。2) 中医证候本身就具有复杂的多维性, 通过单基因及单位点的检测对于疾病及证候的特异性诊断效果较差, 难度较高。因此, 要想全方位地对 COPD 稳定期及其证候的多态性进行剖析, 必须扩大 COPD 稳定期相关易感基因的种类并对其相关多个位点进行检测, 才能得出对 COPD 稳定期证候具有诊断价值的微观标记物。3) 基因多态性自身受各种因素影响, 在一定条件下可能会出现与疾病“全”相关性, 也有可能在另一条件下出现“无”的现象, 这个“条件”需要多次和反复地进行实验才能被证明。

参考文献

- [1] VOGELMEIER CF, CRINER GJ, MARTINEZ FJ, et al. Global strategy for the diagnosis, management and prevention of chronic obstructive pulmonary disease [R/OL]. 2017 [2018-10-24]. <http://www.goldcopd.org>.
- [2] FOREMAN MG, CAMPOS M, CELEDON JC. Genes and chronic obstructive pulmonary disease [J]. Med Clin North Am, 2012, 96(4): 699-711.
- [3] ZHANG J, SUMMAH H, ZHU YG, et al. Nicotinic acetylcholine receptor variants associated with susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis [J]. Respir Res, 2011, 12: 158. doi: 10.1186/1465-9921-12-158.
- [4] SIMSEK S, TEKES S, ORAL D, et al. The insertion/deletion polymorphism in the ACE gene and chronic obstructive pulmonary disease [J]. Genet Mol Res, 2013, 12(2): 1392-1398.
- [5] TKACOVA R, JOPPA R, STANCAK B, et al. The link between angiotensin-converting enzyme genotype and pulmonary artery pressure in patients with COPD [J]. Wien Klin Wochenschr, 2005, 117(5-6): 210-214.
- [6] HOPKINSON NS, NICKOL AH, PAYNE J, et al. Angiotensin converting enzyme genotype and strength in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2004, 170(4): 395-399.
- [7] AHSAN A, RAM R, BAIG MA, et al. ACE I allele and eNOS G allele crosstalk may have a role in chronic obstructive pulmonary disease [J]. Clin Biochem, 2004, 37(11): 1037-1040.
- [8] 王秋波, 周超. 血管紧张素转换酶基因多态性与慢性阻塞性肺疾病易患性的 Meta 分析 [J]. 医学综述, 2016, 22(1): 153-156.
- [9] 吴孝政, 王振兴, 王飞. 基于多元统计方法的 COPD 稳

定期中医证候分布规律及辨证要素的探讨 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(6): 1493-1497.

[10] 中华中医药学会内科分会肺系病专业委员会. 慢性阻塞性肺疾病中医证候诊断标准(2011 版) [J]. 中医杂志, 2012, 53(2): 177-178.

[11] 中华中医药学会. 中医内科常见病诊疗指南: 中医病证部分 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 11.

[12] 沈自尹, 王文健. 中医虚证辨证参考标准 [J]. 中西医结合杂志, 1986(10): 598.

[13] 唐一通, 肖娜, 李智山, 等. 单核苷酸多态性检测方法研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(27): 5393-5397.

[14] WANG J, SHETE S. Testing departure from Hardy-Weinberg proportions [J]. Methods Mol Biol, 2017, 1666: 83-115. doi: 10.1007/978-1-4939-7274-6_6.

[15] 李德成. 遗传平衡定律的推广及应用 [J]. 生物学通报, 2012, 47(4): 14-15.

[16] 张宏礼, 张鸿雁. 关于最大信息熵原理与群体遗传平衡一致性的探讨 [J]. 遗传, 2006, 28(3): 324-328.

[7] ROCHA D, GUT I, JEFFREYS AJ, et al. Seventh international meeting on single nucleotide polymorphism and complex genome analysis: “ever bigger scans and an increasingly variable genome” [J]. Hum Genet, 2006, 119(4): 451-456.

[8] 董昌武, 高尔塞. 论疾病易感基因多态性与中医证候的多样性 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(11): 2355-2356.

[9] 姚魁武, 王阶. 中医证候实质研究的现状与思考述评 [J]. 中医药学刊, 2003, 21(9): 1494-1495, 542.

[10] 张昱, 谢雁鸣. 后基因组时代中医药研究思路方法新探 [J]. 中医药学刊, 2001, 19(5): 426-427.

[11] 张文富. 广西巴马长寿地区老年人肾系证候分布特征及其与 ACE 基因多态性的相关性研究 [D]. 南宁: 广西医科大学, 2010: 5.

[12] MLAK R, HOMA-MLAK I, POWRÓZEK T, et al. Impact of I/D polymorphism of ACE gene on risk of development and course of chronic obstructive pulmonary disease [J]. Arch Med Sci, 2016 12(2): 279-287.

Correlation between Lung and Kidney Qi Deficiency Syndrome and Angiotensin Converting Enzyme Gene Single Nucleotide Polymorphism in Patients with Stable Chronic Obstructive Pulmonary Disease

WU Xiaozheng¹, WANG Zhenxing², WANG Yilan², KANG Wenlin², QING Shihua², WANG Fei², CHEN Min³

(1. School of Basic Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025; 2. Clinical Medical College of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine; 3. Third People's Hospital of Chengdu)

ABSTRACT Objective To investigate the relevance between angiotensin-converting enzyme (ACE) gene single nucleotide polymorphism (SNP) and chronic obstructive pulmonary disease (COPD) of stable period with lung and kidney qi deficiency syndrome. **Methods** A total of 95 patients with stable COPD were selected as the case group. According to the traditional Chinese medicine (TCM) syndrome differentiation criteria, they were divided into a lung and kidney qi deficiency syndrome group (37 cases) and a non-lung kidney qi deficiency syndrome group (58 cases). The other 82 healthy people were selected as the control group. The genomic DNA of all subjects was extracted and the ACE gene SNP (I/D) was detected by PCR, and the polymorphism was verified by sequencing. **Results** The frequency of distribution of II, ID and DD genotypes in the 95 patients was 44 cases (46.32%), 38 cases (40%), and 13 cases (13.68%), respectively. The control group was 33 cases (40.24%), 40 cases (48.78%), 9 cases (10.98%). The lung and kidney qi deficiency syndrome group was 16 cases (43.24%), 17 cases (45.95%), and 4 cases (10.81%), respectively. The non-lung kidney qi deficiency group was 28 cases (48.28%), 21 cases (36.21%), and 9 cases (15.52%) respectively. There was no significant difference in the correlation analysis of the ACE gene SNP (I/D) (rs4646994) among the groups ($P > 0.05$). The results of the SNP sequence query showed that rs4646994 was an I/D mutation of a 289 bp repeat, but the known mutation frequency was less than 1%. **Conclusion** The ACE gene SNP (I/D) (rs4646994) is not enough evidence for the genetic markers of stable COPD of lung and kidney qi deficiency syndrome. Large samples are still needed for verification. **Keywords** chronic obstructive pulmonary disease; lung and kidney qi deficiency syndrome; angiotensin converting enzyme; single nucleotide polymorphism

(收稿日期: 2018-10-24; 修回日期: 2019-03-18)

编辑: 邓 媛