

· 论 著 ·

β_3 -肾上腺素能受体基因变异与中国人 2 型糖尿病并发视网膜病变相关研究

高从容¹, 邹大进^{1*}, 梅小斌²

(1. 第二军医大学长海医院内分泌科, 上海 200433; 2. 长海医院肾内科)

[摘要] **目的:**探讨上海人群 β_3 -肾上腺素能受体(β_3 -AR)基因 64 位点的色氨酸(Trp)密码子被精氨酸(Arg)置换与糖尿病视网膜病变(DR)之间的关系。**方法:**采用 PCR-RELP 技术,对上海地区 50 例非糖尿病正常对照者和 196 例 2 型糖尿病患者的 β_3 -AR 基因的多态性进行检测,并测体质量指数(BMI)、空腹血脂、血糖、血压及糖化血红蛋白(HbA1c)。**结果:**(1)糖尿病患者与非糖尿病正常对照者的 β_3 -AR 基因 Trp64Arg 多态性的基因型频率和等位基因频率均无显著性差异,男女糖尿病患者间也无差异;(2)在女性糖尿病患者中,Arg64 携带者组 BMI、舒张期血压、血三酰甘油水平明显高于非携带者组($P < 0.05$);(3)在 2 型糖尿病患者中,非 DR 组与 DR 组以及 DR 各亚组之间的 β_3 -AR 基因的基因型频率和等位基因频率皆无显著性差异。**结论:**中国上海地区 2 型糖尿病女性患者 β_3 -AR 基因 Trp64Arg 突变与肥胖、高血压及脂代谢紊乱有关;该基因突变与 DR 的发生及发展无显著性相关。

[关键词] β_3 -肾上腺素能受体;基因;突变;糖尿病视网膜病;中国人**[中图分类号]** R 587.202 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2004)01-0090-03

β_3 -adrenergic-receptor gene polymorphism in type 2 diabetic retinopathy in Chinese

GAO Cong-Rong¹, ZOU Da-Jin^{1*}, MEI Xiao-Bin² (1. Department of Endocrinology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Nephrology, Changhai Hospital)

[ABSTRACT] **Objective:** To observe the relationship between diabetic retinopathy (DR) and β_3 -adrenergic-receptor (β_3 -AR) gene polymorphism in Chinese patients with type 2 diabetes mellitus. **Methods:** The mutation of genotype of Trp64Arg in β_3 -AR gene was measured with PCR-RFLP in 50 normal control and 196 patients with type 2 diabetes, while other clinical parameters [body mass index (BMI), blood pressure, fasting blood glucose, serum lipid levels and HbA1c] were all measured. **Results:** (1) There were no significant differences in the frequencies of β_3 -AR phenotypes and alleles between type 2 diabetic patients and normal controls or between female patients and male patients; (2) The plasma triglyceride, diastolic blood pressure and BMI in female patients with mutation of β_3 -AR gene were higher than those in without mutation. There was no difference in male diabetic patients; (3) There was no difference in genotype frequencies or allele frequencies between diabetic patients with or without retinopathy. Genotype and allele frequencies did not differ in proliferative diabetic retinopathy and non-proliferative diabetic retinopathy. **Conclusion:** The mutation of Trp64Arg in β_3 -AR gene is associated with obesity, hypertension and dyslipidaemia in female diabetic patients. Trp64Arg polymorphism in β_3 -AR gene is not associated with diabetic retinopathy in type 2 diabetes mellitus patients in Shanghai.

[KEY WORDS] β_3 -adrenergic-receptor; gene; mutation; diabetic retinopathy; Chinese

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2004, 25(1): 90-92]

β_3 -肾上腺素能受体(β_3 -AR)基因变异与肥胖及胰岛素抵抗关系密切^[1],但目前该基因突变是否与糖尿病(DM)血管并发症相关研究较少。Sakane 等^[2]报道 β_3 -AR 基因突变与糖尿病视网膜病变(DR)有关。该基因突变是否与中国人 DR 相关联?本研究就此进行研究,并探讨其与代谢综合征之间的关系。

1 资料和方法

1.1 研究对象 正常对照者 50 例为在本院体检正常的上海人,其中男 30 例,女 20 例,年龄 49~68 岁,平均 59 岁。入选的 196 例 2 型 DM 患者为长海医院

内分泌科住院的上海患者,其中男 104 例,女 92 例,年龄 48~72 岁,平均 60 岁。DM 诊断按照 1985 年 WHO 标准。每位 DM 患者由指定专科医师在散瞳后直接用眼底镜检查,根据眼底镜检查结果进一步可分为 DR 组(76 例)和非 DR 组(N-DR 组,120 例),DR 组又可分为 2 个亚组:增殖性糖尿病视网膜病变(PDR)18 例和非增殖性糖尿病视网膜病变(N-PDR)58 例。具体的诊断标准见 1985 年全国第 3 届

[基金项目] 上海市科技发展基金攻关计划项目(024119095)。**[作者简介]** 高从容(1968-),女(汉族),硕士,主治医师。

*Corresponding author. E-mail: zwj22@medmail.com.cn

眼科学术会议通过的糖尿病视网膜病变分期标准。

1.2 临床及生化检查 对每位患者询问病史,包括年龄、发病年龄及病程,测量血压、身高及体质量,计算体质量指数(BMI)。抽空腹静脉血,用自动生化仪测定血糖,酶法测定血脂,高效液相层析法测定糖化血红蛋白(HbA1c)。

1.3 β_3 -AR 基因的多态性测定^[3] (1)DNA 的提取:3~5 ml 静脉全血肝素抗凝,饱和酚/氯仿抽提。(2)PCR 扩增:PCR 引物序列为 5'-CGC CCA ATA CCG CCA ACA C-3'及 5'-CCA CCA GGA GTC CCA TCA CC-3'(由上海生工生物技术服务有限公司合成)。PCR 反应条件为:94 C 变性 1 min,61 C 退火 1 min,72 C 延伸 1 min,共循环 42 次,第 1 次循环前 94 C 预变性 5 min,最后 1 次循环结束后 72 C 延伸 10 min。PCR 扩增产物为 210 bp。(3)酶切:取 PCR 产物 25 μ l 用限制性内切酶 *Bst*NI 于 60 C 酶切 2.5 h。酶切产物经 15% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,紫外线显影、摄片。

1.4 统计学处理 因中国人 Arg64 纯合子少见,

故将 Arg64 纯合子与杂合子合并,即以 Arg64 携带者(Arg64/Arg64 及 Trp64/Arg64)及非携带者(Trp64/Trp64)两组比较。等位基因频率采用直接计数法,计量数据以采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 *t* 检验和 χ^2 检验。

2 结果

2.1 2型DM患者 β_3 -AR基因的多态性的检测结果表明,DM患者与正常对照者之间 β_3 -AR基因表现型及等位基因分布频率无明显差异,男女DM患者间也无差异。

2.2 β_3 -AR 基因多态性与 DM 患者的临床特征的关系 结果见表 1。与女性 Arg64 非携带者比,2 型 DM 女性 Arg64 携带者的 BMI、舒张期血压及血三酰甘油(TG)明显升高($P < 0.05$),而空腹血糖、收缩期血压、血总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)和低密度脂蛋白(LDL)无明显差别。在 2 型 DM 男性患者中,Arg64 携带者的 BMI、血压、血糖、血脂与 Arg64 非携带者均无差别。

表 1 β_3 -AR 基因多态性与 DM 患者 BMI、血糖、血压和血脂的关系

Tab 1 Relation between β_3 -adrenergic-receptor gene polymorphism and BMI, blood glucose, blood pressure and lipid profile in type 2 diabetic patients

Index	Female		Male	
	Trp64/Trp64 (n=72)	Arg64/Arg64 or Trp64/Arg64 (n=20)	Trp64/Trp64 (n=77)	Arg64/Arg64 or Trp64/Arg64 (n=27)
Age(year)	60.92 \pm 9.94	62.03 \pm 8.55	60.43 \pm 10.19	59.17 \pm 13.17
BMI(kg \cdot m ⁻²)	23.35 \pm 2.94	25.05 \pm 4.01*	23.11 \pm 3.56	23.35 \pm 3.51
PG(_{CB} /mmol \cdot L ⁻¹)	11.56 \pm 5.24	11.68 \pm 5.98	11.79 \pm 6.45	11.69 \pm 6.23
SBP(_p /kPa)	18.47 \pm 2.68	19.14 \pm 3.43	17.72 \pm 2.85	17.87 \pm 3.44
DBP(_p /kPa)	10.41 \pm 1.18	11.34 \pm 1.67*	10.78 \pm 1.57	10.50 \pm 1.74
TC(_{CB} /mmol \cdot L ⁻¹)	4.82 \pm 1.14	4.97 \pm 1.35	4.64 \pm 1.15	4.76 \pm 1.11
TG(_{CB} /mmol \cdot L ⁻¹)	1.50 \pm 0.78	2.12 \pm 1.65*	1.31 \pm 0.83	1.61 \pm 0.94
HDL(_{CB} /mmol \cdot L ⁻¹)	1.17 \pm 0.36	1.16 \pm 0.34	1.06 \pm 0.39	1.08 \pm 0.35
LDL(_{CB} /mmol \cdot L ⁻¹)	3.35 \pm 1.84	2.62 \pm 1.09	2.76 \pm 0.99	2.58 \pm 0.82

PG:Plasma glucose; * $P < 0.05$ vs female Trp64/Trp64 group

2.3 DM 各亚组的临床及生化特征比较 见表 2。DR 组与非 DR 组在年龄、BMI、血糖、HbA1c 无明显差别,但 PDR 组的病程明显长于其余 2 组($P < 0.01$)。

2.4 非 DR 组与 DR 组及其各亚组的 β_3 -AR 基因型及等位基因频率的比较 在 2 型 DM 患者中,无 DR 病变者与有 DR 者及 DR 各亚组的 β_3 -AR 基因型及等位基因频率均无明显区别。

表 2 DM 患者的临床资料及生化特征

Tab 2 Clinical and laboratory data of diabetic patients

Index	(x \pm s)		
	N-DR (n=120)	N-PDR (n=58)	PDR (n=18)
Age(year)	59.42 \pm 10.01	60.55 \pm 8.94	60.75 \pm 9.34
Duration(year)	6.88 \pm 2.58**	6.62 \pm 3.07**	8.83 \pm 4.07
BMI(kg \cdot m ⁻²)	24.01 \pm 3.18	23.57 \pm 3.51	23.86 \pm 4.39
PG(_{CB} /mmol \cdot L ⁻¹)	11.23 \pm 5.31	11.58 \pm 4.66	11.79 \pm 5.55
HbA1c(%)	8.75 \pm 1.75	8.89 \pm 1.72	8.95 \pm 1.69

PG:Plasma glucose; ** $P < 0.01$ vs PDR group

3 讨论

人的 β_3 -AR 主要存在棕色脂肪组织,介导脂肪分解,调节机体的能量代谢。Walston 等^[4]发现 10 例肥胖的患 2 型糖尿病 Pima 印第安人中 7 例有 β_3 -AR 基因变异,变异主要发生在细胞内 3 个氨基酸环的第 1 环中,在 64 号位上的 Trp 被 Arg 置换,形成 Trp64Arg 等位基因。 β_3 -AR 基因型有 3 种: Trp64/Trp64、Trp64/Arg64、Arg64/Arg64。许多学者发现 β_3 -AR 基因多态性与肥胖、高血压、高血脂及糖代谢异常均密切相关。本研究发现 2 型糖尿病女性 Arg64 携带者的 BMI 和舒张期血压明显升高,同时伴有脂代谢紊乱,说明女性 β_3 -AR 基因 Trp64Arg 突变与代谢综合征的发生有关,但在男性患者中未发现相关关系,提示 β_3 -AR 基因突变可能与性别有关,这与 Kurabayashi 等^[5]报道一致。具体机制是否与女性体内激素变化有关,有待进一步研究。

DR 不仅是 DM 常见的并发症,也是致盲的重要原因。目前研究表明,病程、代谢控制等因素参与了 DR 的发生和发展。但是,有些 DM 患者尽管代谢控制良好却出现 DR,而另一些患者病程较长和(或)代谢控制不良却无 DR,提示遗传因素可能参与发病。Sakane 等^[2]应用 PCR-RFLP 技术在日本人群发现 β_3 -AR 基因 Trp64Arg 突变与 PDR 显著相关,引起人们注意。此后,许多学者在不同地方的不同人种就此基因突变与糖尿病微血管病变的关系进行研究,但所得结果却不尽一样^[6,7]。我们曾报道 β_3 -AR 基因 Trp64Arg 突变与糖尿病另一种微血管病变糖尿病肾病相关^[3],但本研究结果表明在中国上海地区的汉族人群中, β_3 -AR 基因 Trp64Arg 突变与 DR 及 DR 各亚组不存在关系。由此看来,糖尿病肾病和 DR 有着不同的遗传易感基因, β_3 -AR 基因突变在上海人 DR 遗传因素中的地位难以确定。导致研究差异性的因素可能有:(1)DR 的发生与病程、代谢控制等因素有关, β_3 -AR 基因突变所起的作用可能被上述因素所削弱;(2)种族或地域的异质性,本研究结果显示中国上海地区 2 型 DM 患者 β_3 -AR 等位基因频率为 0.13,明显低于 Pima 印第安

人^[4]和日本人^[8],略高于芬兰人^[9],说明这种基因突变频率可能存在种族差异;(3)本组 DM 患者均为我院内分泌科住院患者,PDR 例数较少,有待于今后进一步扩大样本数。

[参考文献]

- [1] 高从容,邹大进,张家庆. β_3 -肾上腺素能受体基因变异与肥胖及胰岛素抵抗的关系[J]. 国外医学·内科学分册,1998,25(7):294-296.
- [2] Sakane N, Yoshida T, Yoshioka K, et al. Beta 3-adrenoreceptor gene polymorphism; a newly identified risk factor for proliferative retinopathy in NIDDM patients [J]. *Diabetes*, 1997, 46(10):1633-1636.
- [3] 高从容,邹大进,曲伸. 2型糖尿病肾病患者 β_3 肾上腺素能受体基因多态性研究[J]. 中华肾脏病杂志,2001,17(3):164-167.
Gao CR, Zou DJ, Qu S. Study on gene polymorphism of β_3 -adrenergic-receptor in patients with type 2 diabetic nephropathy [J]. *Zhonghua Shenzangbing Zazhi (Chin J Nephrol)*, 2001, 17(3):164-167.
- [4] Walston J, Silver K, Bogardus C, et al. Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the beta 3-adrenergic-receptor gene [J]. *N Engl J Med*, 1995, 333(6):343-347.
- [5] Kurabayashi T, Carey DG, Morrison NA. The beta 3-adrenergic-receptor gene Trp64Arg mutation is overrepresented in obese women. Effects on weight, BMI, abdominal fat, blood pressure and reproductive history in an elderly Australian population [J]. *Diabetes*, 1996, 45(10):1358-1363.
- [6] Tarnow L, Urhammer SA, Mottlau B, et al. The Trp64Arg amino acid polymorphism of the beta 3-adrenergic receptor gene does not contribute to the genetic susceptibility of diabetic microvascular complications in Caucasian type 1 diabetic patients [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 1999, 14(4):895-897.
- [7] Vendrell J, Gutierrez C, Broch M, et al. Beta 3-adrenoreceptor gene polymorphism and leptin. Lack of relationship in type 2 diabetic patients [J]. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1998, 49(5):679-683.
- [8] Fujisawa T, Ikegami H, Yamato E, et al. Association of Trp64Arg mutation of the beta 3-adrenergic-receptor with NIDDM and body weight gain [J]. *Diabetologia*, 1996, 39(3):349-352.
- [9] Widen E, Lehto M, Kanninen T, et al. Association of a polymorphism in the beta 3-adrenergic-receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns [J]. *N Engl J Med*, 1995, 333(6):348-351.

[收稿日期] 2003-05-18

[修回日期] 2003-11-24

[本文编辑] 曹静