

β_2 肾上腺素能受体基因多态性与汉族人群早产的相关性研究

吴琳*,倪穗琴(广州市第一人民医院药学部,广州 510180)

中图分类号 R968;R969.3 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2014)10-0899-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2014.10.13

摘要 目的:研究 β_2 肾上腺素能受体(β_2 -AR)基因多态性与汉族人群早产的相关性。方法:将236例产妇分为两组,研究组129例,早产生产妇为79例,妊娠过程中发生过先兆早产的产妇为50例;对照组107例为妊娠期间未曾保胎的足月产妇。收集其外周静脉血,提取DNA,采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法检测 β_2 -AR基因编码第16和27位氨基酸的基因多态性。结果: β_2 -AR基因编码第16位氨基酸基因型AA、GG、AG频率在研究组和对照组分别为36.43%、18.60%、44.96%和34.58%、15.89%、49.53%;编码第27位氨基酸基因型NN、NU频率在研究组和对照组分别为77.52%、22.48%和78.50%、21.50%,UU基因型未检出;两位点基因型分布频率差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论: β_2 -AR基因编码第16和27位氨基酸的基因多态性与早产的发生无相关性,提示该多态位点并不是引起早产的独立危险因素。

关键词 早产; β_2 肾上腺素能受体;基因多态性

Association between Genetic Polymorphisms of β_2 -adrenergic Receptor Gene and Preterm Delivery in Han Population

WU Lin, NI Sui-qin (Dept. of Pharmacy, Guangzhou First People's Hospital, Guangzhou 510180, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the correlation between gene polymorphism of β_2 -adrenergic receptor and preterm delivery in Han population. METHODS: DNA was extracted from the blood samples taken from 236 delivery women, among whom there were 129 cases in study group, including 79 cases gave premature births and 50 cases suffered from threatened premature labor; there were 107 normal full term pregnant women without tocolysis treatment in control group. Then PCR-RFLP was performed to determine the gene polymorphism of β_2 -adrenergic receptor (Arg16Gly and Gln27Glu). RESULTS: The frequencies of Arg16Gly genotype AA, GG, AG were 36.43%, 18.60%, 44.96% and 34.58%, 15.89%, 49.53%, respectively. The frequencies of Gln27Glu genotype NN and NU were 77.52%, 22.48% and 78.50%, 21.50%, respectively; UU genotype was not detected. There was no statistical significance ($P>0.05$). CONCLUSIONS: These data show that Arg16Gly and Gln27Glu polymorphism of β_2 -AR gene may not correlate to preterm delivery, which indicates polymorphic site is not independent risk factor of premature birth.

KEYWORDS Preterm delivery; β_2 -adrenergic receptor; Genetic polymorphisms

早产是导致新生儿患病和死亡最常见及最主要的原因^[1]。早产的发生,是由遗传因素和环境因素等多种因素作用的结果,具体机制仍不明。近年来众多学者发现 β_2 肾上腺素能受体(β_2 -AR)基因存在多态性,此多态性可引起 β_2 -AR表达量及反应性的改变,其中编码第16和27位氨基酸的变异已在体外实验中证实可以改变 β_2 -AR的功能^[2]。 β_2 -AR存在于子宫平滑肌,还分布于支气管平滑肌、血管平滑肌、胃肠平滑肌等,已有研究证明 β_2 -AR基因多态性与哮喘、高血压等疾病具有相关性,对疾病调节起重要作用^[3-5]。而 β_2 -AR基因多态性与早产的相关性未见报道,是否由于 β_2 -AR的基因多态引起子宫平滑肌的高反应性致使部分患者易发生早产值得探讨。本文将从个体遗传特征的角度,探讨 β_2 -AR基因多态性在产妇中分布的特征及其对早产的影响。

1 资料与方法

1.1 资料来源

选择2010年5月—2013年1月在本院分娩的产妇为研究对象,分为研究组及对照组。研究组为早产生产妇或在妊娠过程中发生过先兆早产的产妇,对照组为妊娠期间未曾保胎的足月产妇,所选产妇均为汉族。妊娠满28周至不足37周出现

至少10 min一次的规律宫缩,伴宫颈管缩短,可诊断为先兆早产;若20 min内有4次以上规律宫缩或60 min内有8次以上宫缩,同时伴有宫颈消退75%以上、宫颈进行性扩张2 cm以上者为早产临产。在获得医院医学伦理委员会批准的情况下,将早产生产妇或先兆早产的产妇及足月产妇分别纳入研究组及对照组。排除标准:经产妇、妊娠合并糖尿病、妊娠期肝内胆汁淤积症、妊娠高血压疾病、双胎、前置胎盘、胎膜早破、胎盘早剥以及合并内分泌、心、肝、肾等疾病。

1.2 方法

1.2.1 标本收集。抽取研究组与对照组产妇的肘静脉血2 ml,置于含乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝的试管中,轻轻摇匀后,分装至微量离心管(EP管),置于-80℃冰箱保存,备测。

1.2.2 基因组DNA提取。采用TIANamp Blood DNA Kit提取基因组DNA。按照试剂盒说明书提取DNA,所得DNA样本经紫外分光光度计(Nanodrop 2000)测定核酸浓度后,全部标准化质量浓度为10 μ g/ μ l,置于-20℃冰箱保存。

1.2.3 引物设计及合成。引物参照文献设计^[6],由上海生物工程有限公司合成。 β_2 -AR基因编码区Arg16Gly位点的PCR引物为F1和R1,引物序列为:F1 5'-GCCTTCTTGCTG-GC-ACCCCAT-3';R1 5'-CAGACGCTCGAACTTGCCATG-3';编码区Gln27Glu位点的PCR引物为F2和R2,引物序列为:

* 主任药师。研究方向:医院药学、临床药学。电话:020-81048266。E-mail:wulin1236@163.com

F2 5' -CAGCCAGTGCCTTACCTGC-3'; R2同 Arg16Gly 位点的 PCR 引物 R1。

1.2.4 β_2 -AR 基因多态性位点检测。 β_2 -AR 基因编码区 Arg16Gly 位点的 PCR 引物为 F1 和 R1, 各在 2 个引物 3' 端的原序列上改动了 1 个碱基, PCR 后分别引入限制性内切酶 Nco I 的酶切位点。当紧接着 F1 引物 3' 端的核苷酸序列由 A 变异为 G 时, 即产生了 Nco I 的切点; R1 引物引入的 Nco I 切点作为酶切的内对照。F1/R1 的扩增片段为 168 bp, Nco I 酶切后为 2 个片段的, 即只有 1 个 Nco I 酶切位点 (Arg16), 定为 AA 型; 酶切后为 3 个片段的, 定为 GG 型; 杂合状态为 AG 型。编码区 Gln27Glu 位点的 PCR 引物为 F2 和 R2, 扩增片段为 225 bp。该片段内含有 2 个 Bbv I 切点, 27 位由谷氨酸替代后, 其中 1 个 Bbv I 酶切位点消失, 因此酶切后为 3 个片段的定为 GlnGln 型, 2 个片段为 GluGlu 型, 杂合状态为 GlnGlu 型。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 16.0 软件进行分析。用直接计数法计算基因型和等位基因频率, 应用拟合优度 χ^2 检验两组中的 Hardy-Weinberg 平衡, 采用 χ^2 检验比较各基因型和等位基因频率分布是否存在差异。

2 结果

2.1 一般情况

共入选 236 例产妇, 研究组 129 例中, 早产产妇为 79 例, 妊娠过程中发生过先兆早产的产妇为 50 例; 对照组 107 例为妊娠期间未曾保胎的足月产妇。研究组平均年龄为 (27.91 ± 3.679) 岁, 对照组平均年龄为 (27.46 ± 3.038) 岁, 两组年龄差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 β_2 -AR 基因多态性与早产的关系

研究组与对照组 β_2 -AR 基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律, 具有群体代表性, 见表 1。 β_2 -AR 基因编码区 Arg16Gly 位点、Gln27Glu 位点基因频率分布在两组间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 分别见表 2 和表 3。聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 方法检测 Arg16Gly 和 Gln27Glu 两位点的电泳结果如图 1。

表 1 Hardy-Weinberg 平衡检验

Tab 1 Hardy-Weinberg equilibrium test

组别	16 位点		27 位点	
	χ^2	P	χ^2	P
研究组	0.655	0.418	2.069	0.150
对照组	0.075	0.784	1.552	0.213

表 2 β_2 -AR 基因编码区 Arg16Gly 位点基因型和等位基因频率

Tab 2 The frequencies of Arg16Gly genotype and allele of β_2 -adrenergic receptor

组别	n	基因型, 例(率, %)			等位基因, 例(率, %)	
		AA	GG	AG	A	G
研究组	129	47(36.43)	24(18.60)	58(44.96)	152(58.91)	106(41.09)
对照组	107	37(34.58)	17(15.89)	53(49.53)	127(59.35)	87(40.65)
P		0.754			0.924	

3 讨论

β_2 -AR 由定位于染色体 5q31-32 的人 β_2 -AR 基因编码, 在编码区存在 9 个碱基突变点, 其中常见的突变位点为 46、79 位碱基突变, 导致 β_2 -AR 基因编码的第 16、27 位氨基酸发生改变, 即基因第 46 位碱基突变 (由 A 突变为 G) 致第 16 位氨基酸精氨酸

表 3 β_2 -AR 基因编码区 Gln27Glu 位点基因型和等位基因频率

Tab 3 The frequencies of Gln27Glu genotype and allele of β_2 -adrenergic receptor

组别	n	基因型, 例(率, %)			等位基因, 例(率, %)	
		NN	NU	UU	N	U
研究组	129	100(77.52)	29(22.48)	0(0)	229(88.76)	29(11.24)
对照组	107	84(78.50)	23(21.50)	0(0)	191(89.25)	23(10.75)
P		0.563			0.865	

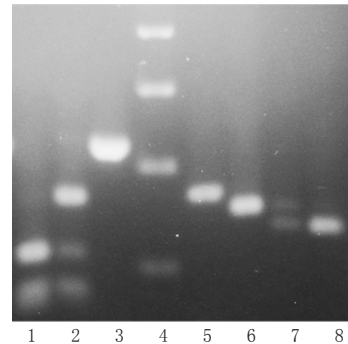


图 1 PCR-RFLP 检测 β_2 -AR 基因编码区 Arg16Gly、Gln27Glu 两位点的电泳结果

注: 5' 端引物的 18 bp 及 3' 端引物的 22 bp 两段已出胶; 1. NN 型; 2. NU 型; 3. Gln27Glu PCR 片段; 4. 100 bp DNA 分子量标记; 5. Arg16Gly PCR 片段; 6. AA 型; 7. AG 型; 8. GG 型

Fig 1 Electrophoresis patterns of Arg16Gly and Gln27Glu polymorphisms of β_2 -adrenergic receptor gene detected by PCR-RFLP

note: 18 bp digested from 5' primer and 22 bp digested from 3' primer were out off gel; 1. NN genotype; 2. NU genotype; 3. PCR product of Gln27Glu; 4. 100 bp DNA ladder; 5. PCR product of Arg16Gly; 6. AA genotype; 7. AG genotype; 8. GG genotype

(Arg) 变为甘氨酸 (Gly), 基因第 79 位碱基突变 (由 C 突变为 G) 致第 27 位氨基酸谷氨酰胺 (Gln) 变为谷氨酸 (Glu)。 β_2 -AR 基因突变可导致受体表达改变, 第 16 位氨基酸的变异点已在体外实验中证实可以改变 β_2 -AR 的功能^[2]。

β_2 -AR 基因多态性与疾病的易感性是国内外研究的热点, 已有研究证明 β_2 -AR 基因多态性与哮喘^[7]、高血压^[8-9]等疾病具有相关性。邱玉英等^[10]对 201 例哮喘患者的研究显示, 携带 Arg16Arg 基因型的患者支气管扩张反应高于携带 Arg16Gly 基因型和 Gly16Gly 基因型的患者; 冯端兴等^[11]的研究显示, 具有 β_2 -AR 16 位点基因多态性与哮喘关联; Lou Y 等^[12]对我国北方汉族高血压患者 747 例和正常血压者 390 例进行相关性分析时发现, 高血压组 Arg16Gly 多态 G 等位基因频率 (48.3%) 明显高于正常血压者 (35.4%)。

β_2 -AR 分布于子宫、血管、支气管、肝脏, 子宫肌细胞膜上的 β_2 -AR 兴奋后, 激活细胞膜的腺苷酸环化酶, 使三磷酸腺苷转化为环磷酸腺苷, 从而降低肌浆蛋白轻链激酶的活性, 并使细胞内钙离子浓度降低, 使肌肉的收缩蛋白不能作用而抑制宫缩; 同时, 血管平滑肌松弛, 胎盘血流量增加, 致血压降低、脉压增大, 改善宫内供氧环境^[13]。本研究从个体遗传特征的角度, 探讨了 β_2 -AR 基因多态性在产妇中分布的特征及其对早产的影响, 结果表明 β_2 受体编码第 16、27 位点氨基酸的基因多态性与早产的发生无相关性, 提示该多态位点并不是引起早产

的独立危险因素。在试验中未检出UU基因型,针对该问题研究组成员^[14]曾做过肾上腺素能受体基因多态性和中国人支气管哮喘关系的Meta分析,发现UU基因型的检出率也是极低的,检出率范围为0~8%。本研究不足之处在于入选的样本量较少,有待扩大样本量分析。

基因多态性不仅引起受体功能的改变和疾病的发生,而且在一定程度上影响对治疗的反应^[15]。Martinez FD等^[6]对具有特定基因型的269名西班牙裔或白人儿童进行研究,发现Arg16纯合子的儿童在给予沙丁胺醇治疗时,其产生的效应比Gly16纯合子的儿童高5.3倍左右。在早孕的治疗过程中,抑制子宫收缩是关键,激动子宫平滑肌细胞上的 β_2 受体可使子宫平滑肌松弛,抑制子宫不正常收缩。其中 β_2 受体激动药是抑制子宫收缩防治早产最为有效的药物之一,此类药物主要包括羟苄羟麻黄碱、沙丁胺醇、特布他林等。陈焱等^[6]在观察羟苄羟麻黄碱防治早产的临床疗效过程中,指出羟苄羟麻黄碱对部分早产患者的临床疗效不佳(4h内显效者占71.43%),而且临床疗效和副反应有较大的个体差异,那么这种现象与 β_2 -AR基因多态性影响 β_2 受体激动药疗效是否有关,目前国内外尚未见相关的研究报道,有待进一步研究。

参考文献

[1] Iams JD, Goldenberg RL, Mercer BM, et al. The preterm prediction study: can low-risk women destined for spontaneous preterm birth be identified? [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2001, 184(4):652.

[2] Reihnsaus E, Innis M, MacIntyre N, et al. Mutations in the gene encoding for the beta 2-adrenergic receptor in normal and asthmatic subjects[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1993, 8(3):334.

[3] Bleecker ER, Postma DS, Meyers DA. Evidence for multiple genetic susceptibility loci for asthma [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997, 156(4 Pt 2):113.

[4] 高光凯,王士雯,张进川. β_2 肾上腺素能受体及其基因多态性与支气管哮喘[J].*军医进修学院学报*, 1998, 19(1):71.

[5] 彭应心,薛浩,姚文静,等. β_2 肾上腺素受体Arg16Gly基因多态性与原发性高血压的相关性研究[J].*临床心血管*

病杂志, 2010, 26(7):507.

[6] Martinez FD, Graves PE, Baldini M, et al. Association between genetic polymorphisms of the beta 2-adrenoceptor and response to albuterol in children with and without a history of wheezing[J]. *J Clin Invest*, 1997, 100(12):3184.

[7] 鲁衍强,李璞,郭文竹,等.哮喘相关基因研究进展[J].*新医学*, 2013, 44(4):227.

[8] 姚向晖,范红敏,王东,等.煤矿工人ADRA2B基因Arg16Gly多态性和倒班的交互作用与原发性高血压的关系[J].*环境与职业医学*, 2013, 30(6):450.

[9] 刘宝英,周权,钟萍,等.行车人员 β_2 肾上腺素能受体基因多态性及与职业精神紧张的交互作用对原发性高血压发生的影响[J].*卫生研究*, 2009, 38(4):445.

[10] 邱玉英,殷凯生. β_2 肾上腺素能受体多态性/单倍型与支气管哮喘表型的相关性[J].*中华结核和呼吸杂志*, 2008, 31(3):201.

[11] 冯端兴,张湘燕,叶贤伟,等.支气管哮喘 β_2 肾上腺素能受体基因多态性与发病机制的研究[J].*中华结核和呼吸杂志*, 2005, 28(4):271.

[12] Lou Y, Liu J, Li Y, et al. Association study of the beta2-adrenergic receptor gene polymorphisms and hypertension in the Northern Han Chinese [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4):18590.

[13] 田阔.宫缩抑制剂治疗早产的临床研究进展[J].*河北医药*, 2011, 33(5):755.

[14] 倪穗琴,谭丽雯. β_2 肾上腺素能受体基因多态性和中国人支气管哮喘关系的Meta分析[J].*今日药学*, 2012, 22(3):159.

[15] 李浩,王永庆,孟玲,等.抗哮喘药物 β_2 肾上腺素受体激动药的药物基因组学研究进展[J].*药学与临床研究*, 2013, 21(1):62.

[16] 陈焱,王彦林.利托君防治早产的临床疗效[J].*中国临床药学杂志*, 2003, 12(5):270.

(收稿日期:2013-11-08 修回日期:2014-01-24)

国家卫生和计划生育委员会贯彻落实国务院专题会议精神的进一步部署人感染H7N9禽流感防控工作

本刊讯 2月10日,李斌主任在2014年全国卫生和计划生育工作会议上,传达了2月8日国务院人感染H7N9禽流感专题会议精神的进一步部署相关防控工作。

李斌主任要求,各地卫生计生部门要认真贯彻落实中央领导同志的批示精神和国务院专题会议部署要求,把人民群众的生命健康放在第一位,坚持科学有度、突出重点、分类指导的工作原则,做好人感染H7N9禽流感等春季传染病科学防控工作。一要继续发挥联防联控工作机制的优势。加强信息

沟通和统筹协调,进一步完善工作预案,健全机制,落实防控措施。二要加强早诊早治和重症病例救治。进一步提高医务人员诊疗能力,确保有效抗流感病毒药品供应,落实好“四集中”等有效措施,最大程度减少重症和死亡病例的发生。注意防范院内感染发生。三要进一步强化疫情监测等基础工作,做好疫情趋势研判。四要配合有关部门切实落实和加强活禽市场消毒、休市、关闭等源头控制措施。五要继续公开透明、及时发布信息,普及防控知识,引导公众科学认知、理性应对。