

## • 临床研究 •

老年原发性高血压患者  $\beta_2$  肾上腺素受体基因 Arg16Gly 多态性研究

王娜, 王志

[摘要] 目的 探讨老年人( $\geq 60$ 岁) $\beta_2$ 肾上腺素受体( $\beta_2$ -AR)基因 Arg16Gly 多态性与高血压病的关系。方法 随机抽取 115 名无血缘关系的老年原发性高血压患者(EH)为病例组,150 名无血缘关系的健康老年人为对照组,采用 PCR 扩增技术测定两组对象的  $\beta_2$ -AR 基因型。结果 高血压组的 Arg/Arg、Gly/Gly 和 Arg/Gly 基因型频率分别为 22.81%、53.51% 和 23.68%;对照组分别为 27.33%、67.33% 和 5.33%,两组间有显著性差异( $P < 0.05$ )。Arg 和 Gly 的等位基因频率高血压组为 49.56%、50.44%;对照组为 61.00% 和 39.00%,两组间亦有显著性差异( $P < 0.05$ ),但两组的 Arg/Gly 多态性分布均符合 Hardy-Weinberg 定律。结论 本研究对象的  $\beta_2$ -AR 基因多态性可能与原发性高血压有关。

[关键词] 原发性高血压; $\beta_2$ 肾上腺素受体;基因多态性

Study of  $\beta_2$ -adrenergic Receptor Gene Arg16Gly Polymorphism in Elder Essential Hypertension WANG Na, WANG Zhi. The Department of Emergency, Beijing Charity Hospital, Beijing 100068, China

**Abstract:** **Objective** To explore the relationship between  $\beta_2$ -adrenergic receptor ( $\beta_2$ -AR) gene Arg16Gly polymorphism and essential hypertension (EH) in elder ( $\geq 60$  years old). **Methods** 150 old healthy controls and 115 old patients with EH (all of them without kin relation) were selected to test genotype of  $\beta_2$ -AR by the technique of polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-PFLP). **Results** The frequencies of three genotypes (Arg/Arg, Arg/Gly and Gly/Gly) were 22.81%, 53.51% and 23.68% in the EH group and 27.33%, 67.33% and 5.33% in the controls respectively. The frequencies of Arg and Gly allele were 49.56% and 50.44% in the EH group, and 61.00% and 39.00% in the controls. There was a significant difference in distribution of alleles/genotypes between EH group and controls ( $P < 0.05$ ). **Conclusion**  $\beta_2$ -AR Arg16Gly gene polymorphism is possibly associated with hypertension in this study population.

**Key words:** essential hypertension;  $\beta_2$ -adrenergic receptor; gene polymorphism

[中图分类号] R544.1 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2006)10-0905-03

[本文著录格式] 王娜,王志.老年原发性高血压患者  $\beta_2$  肾上腺素受体基因 Arg16Gly 多态性研究[J].中国康复理论与实践,2006,12(10):905-907.

高血压是冠心病、中风和肾脏疾病的一个重要的危险因素。大量研究表明,个体间血压水平的差异受基因因素影响。 $\beta_2$ 肾上腺素受体( $\beta_2$ -adrenergic receptor,  $\beta_2$ -AR)位于血管平滑肌细胞和肾脏细胞中,通过对血管紧张度的调节、肾钠的排泄和肾素的释放调节血压,该基因的变化可能会引起血管扩张反应减弱,导致外周阻力增加并最终引起高血压。我们应用分子生物学技术研究  $\beta_2$ -AR Arg16Gly 基因的多态性与原发性高血压(essential hypertension, EH)的关系,进一步探讨高血压病的分子遗传机制。

## 1 对象与方法

1.1 一般资料 EH 患者 115 例,其中男性 67 例、女性 48 例,均为石家庄地区无血缘关系的汉族人,年龄( $64.3 \pm 4.7$ )岁;高血压的诊断符合 1999 年 WHO/ISH 规定的标准(在未服用抗高血压药物的情况下,收缩压  $\geq 140$  mm Hg 和/或舒张压  $\geq 90$  mm Hg),未曾或至少 3 个月未服用抗高血压药物,排除各种继发因素。

同时选取石家庄地区无血缘关系的健康汉族老年人 150 例为对照组,其中男性 89 例、女性 61 例,年龄( $65.1 \pm 4.8$ )岁;血压正常,无 EH 家族史,无肝、肾、甲状腺、糖尿病史。

1.2 方法 受试者空腹 12 h,抽取肘静脉血 5 ml 放入用 2% EDTA 抗凝的试管,分离血浆和血细胞。

1.2.1 实验室检测 采用氧化酶法测定总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglycerides, TG);磷钨酸-镁沉淀法测定高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-ch)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-ch)。

1.2.2 PCR 扩增 DNA 与分析 将分离血浆后的 EDTA 抗凝血用经典法分离提取 DNA。PCR 引物设计参照 Volker Herrmann 的报道<sup>[1]</sup>,并与 GeneBank 核对,序列为:上游:5'-GCCT-TCTTGCTGGCACCCTAT-3';下游:5'-CAGACGCTCGAACT-TGGCCATG-3',由上海生工合成,使用 PE 5700 型 PCR 扩增仪进行扩增。扩增反应条件为:95℃预变性 5 min—95℃变性 45 s—59℃退火 45 s—72℃延伸 45 s,共 35 个循环;再于 72℃延伸 5 min。

取 10  $\mu$ l 的酶切产物,上样于 12% 的聚丙烯酰胺凝胶,以 120 V 电压,电泳 4 h,AgNO<sub>3</sub> 染色,自然光照相,根据条带鉴定  $\beta_2$ -AR 多态性。

1.3 统计学处理 采用 SAS 9.0 软件包对两组对象的等位基因频率和基因型比较、基因型分布与 Hardy-Weinberg 平衡的符合程度采用  $\chi^2$  检验;两组间均数比较采用  $t$  检验;高血压组内计量资料的比较采用单因素方差分析和 SNK- $q$  检验。

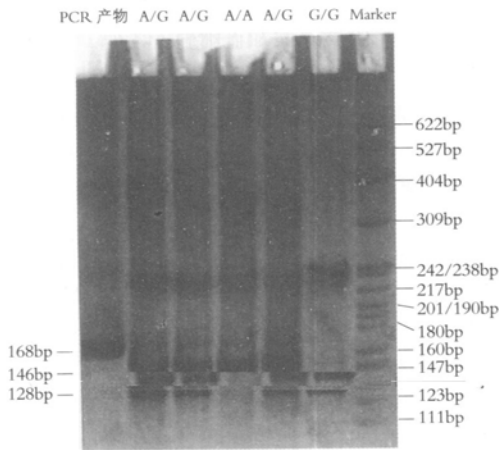
2 结果

2.1 高血压组与对照组的临床指标比较 两组对象的性别、年龄、体重指数 (body mass index, BMI)、TC、TG、HDL-ch、LDL-ch 均无显著性差异,收缩压 (systolic blood pressure, SBP) 和舒张压 (diastolic blood pressure, DBP) 有显著性差异,高血压组高于对照组 (见表 1)。

表 1 两组对象的临床指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	高血压组 (n=114)	对照组 (n=150)	P
年龄 (岁)	64.30 ± 4.7	65.10 ± 4.8	0.413
性别 (男 %)	53.51	59.33	0.248
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25.11 ± 2.89	25.54 ± 2.72	0.797
SBP (mmHg)	159.70 ± 16.2	119.00 ± 10.0	0.000
DBP (mmHg)	97.00 ± 11.2	73.00 ± 8.0	0.000
TG (mmol/L)	1.69 ± 0.71	1.66 ± 0.63	0.725
TC (mmol/L)	4.95 ± 1.06	4.96 ± 0.97	0.828
HDL (mmol/L)	1.39 ± 0.71	1.30 ± 0.24	0.230
LDL (mmol/L)	3.18 ± 0.78	3.09 ± 0.71	0.330

2.2  $\beta_2$ -AR 基因 Arg16Gly 多态性分析  $\beta_2$ -AR 基因编码的第 16 位点存在 Arg (A) → Gly (C) 碱基突变,PCR 产物片段长度为 168 bp,在上游引物标记处限制性内切酶 NcoI 可将突变型切成 150 bp 和 18 bp 两个片段,未突变者则无此酶切位点。在下游引物标记处,限制性内切酶 NcoI 可将突变型和未突变型序列切下 22 bp。产物有 146 bp、128 bp、22 bp 和 18 bp 四种片段,出现 146 bp 和 22 bp 者为 Arg/Arg 基因型 (Arg 16 纯合子);出现 128 bp、22 bp、18 bp 者为 Gly/Gly 基因型 (Gly 16 纯合子);四个片段均出现为 Arg/Gly 基因型 (Arg16Gly 杂合子)。经  $\chi^2$  检验,所调查人群的基因型及等位基因的频率分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡规律 (对照组  $\chi^2 = 0.132$ ,  $P > 0.05$ ;高血压组  $\chi^2 = 0.326$ ,  $P > 0.05$ ),表明来自同一人群,具有群体代表性。图 1  $\beta_2$ -AR 基因第 46 位核苷酸 Arg16Gly 的基因型



2.3 高血压组和对照组  $\beta_2$ -AR Arg16Gly 各基因型和等位基因频率分布 高血压组 Arg/Arg、Arg/Gly 和 Gly/Gly 基因型频率分别为 22.81%、53.51% 和 23.68%,正常对照组分别为 27.33%、67.33% 和 5.33%,两组间 3 种基因型频率有显著性差异 ( $\chi^2 = 18.993$ ,  $P < 0.05$ )。高血压组 Arg 等位基因频率为 49.56%,Gly 等位基因频率为 50.44%,正常对照组分别为 61.00% 和 39.00%,两组间等位基因频率亦有显著性差异 ( $\chi^2$

$= 6.881$ ,  $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 两组对象的 Arg16Gly 基因型和等位基因分布

项目	高血压组 (n=114)	%	对照组 (n=150)	%	合计 (n=264)	%
基因型						
Arg/Arg	26	22.81	41	27.33	67	25.38
Arg/Gly	61	53.51	101	67.33	162	61.36
Gly/Gly	27	23.68	8	5.33	35	13.26
等位基因						
Arg	113	49.56	183	61.00	296	56.06
Gly	115	50.44	117	39.00	232	43.94

2.4 高血压患者 Arg/Arg、Arg/Gly 和 Gly/Gly 基因型个体临床特征比较 高血压组 Arg/Arg、Arg/Gly 和 Gly/Gly 基因型个体间 SBP、DBP、平均动脉压 (mean blood pressure, MBP)、静息心率、BMI、TC、HDL-ch、LDL-ch 无显著性差异 (均  $P > 0.05$ ),但 Gly/Gly 纯合子的个体 TG 高于 Arg/Arg 纯合子个体 ( $P < 0.05$ ),并且与 Arg/Arg 纯合子个体相比,Gly/Gly 纯合子个体的 SBP 和 DBP 有升高的趋势,但无统计学意义 (见表 3)。

表 3 不同基因型的高血压患者基础血流动力学参数比较

指标	Arg/Arg (n=26)	Arg/Gly (n=61)	Gly/Gly (n=27)
年龄 (岁)	62.00 ± 5.2	65.00 ± 4.8	63.00 ± 3.8
性别 (男 %)	53.85	52.46	55.56
LDL (mmol/L)	3.01 ± 0.76	3.25 ± 0.78	3.19 ± 0.76
TC (mmol/L)	4.79 ± 0.98	5.08 ± 1.04	4.86 ± 1.19
TG (mmol/L)	1.47 ± 0.35	1.68 ± 0.69	1.94 ± 0.92
HDL (mmol/L)	1.63 ± 1.77	1.32 ± 0.29	1.34 ± 0.26
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.52 ± 2.35	25.26 ± 3.07	25.23 ± 3.00
SBP (mmHg)	159.43 ± 15.71	158.10 ± 15.35	162.67 ± 18.55
DBP (mmHg)	95.38 ± 11.40	96.34 ± 11.26	100.22 ± 10.50
MBP (mmHg)	116.73 ± 10.51	116.93 ± 10.68	121.04 ± 12.12
心率 (次/min)	77.73 ± 8.10	78.13 ± 8.61	78.11 ± 8.68

3 讨论

有研究显示,一氧化氮合酶第四内含子 a 等位基因可能是中国北方汉族人原发性高血压的特异性遗传标志<sup>[2]</sup>。本研究探讨了汉族老年人群  $\beta_2$ -AR 基因一个常见位点 (Arg16Gly) 多态性与 EH 的关系。一些实验已经表明, $\beta_2$ -AR 基因有一定的遗传异质性,在 Arg16Gly 的启动和编码区共报道了 17 个单核苷酸多态性<sup>[3]</sup>,其中 16、27 位点等位基因的改变较常见,即在 16 位点精氨酸 (Arg) 被甘氨酸 (Gly) 所替代,在 27 位点谷氨酰胺 (Gln) 被谷氨酸 (Glu) 所替代。在血管收缩反应正常或增强的情况下, $\beta_2$ -AR 调节血管扩张反应的减弱会导致血管反应性增强和血压升高。有研究者报道,高血压患者  $\beta_2$ -AR 调节血管舒张的作用减弱,提示其可能在高血压的发病机制中起重要作用。但  $\beta_2$ -AR 与高血压之间的关系还不明确。在一项对中国北方汉族人的研究中,Ge 等测定了 503 名 2 级高血压患者及 504 名正常血压者的  $\beta_2$ -AR Arg16Gly 基因型,结果显示 Gly16 存在的频率很高<sup>[4]</sup>,本研究的结果与之相吻合。一项对奥地利健康者的检测发现,Gly16 纯合子者的血压高于 Arg16 纯合子者,给予  $\beta_2$ -AR 激动剂后,Gly16 纯合子者的血管扩张反应明显弱于 Arg16 纯合子者<sup>[5]</sup>。相反,Jindra 等在对高血压患者和血压正常者的后代进行研究时发现,高血压患者的后代中 Arg16 出现的频率明显升高,正常血压者的后代中具有 Arg16 纯合子者舒张压升高,两组中 Arg16 纯合子者均有心率增加的趋势<sup>[6]</sup>。然而,也有一些实验的结果否定  $\beta_2$ -AR 多态性与高血压相关<sup>[7-11]</sup>。总之, $\beta_2$ -AR 基因多态性与高血压的关系还需进一

步探讨。

本研究入选的正常对照组中, Gly16 出现的频率为 0.39, 与对亚洲人进行的大样本研究结果相一致, 但与黑人(0.61)和白人(0.50)的基因频率差别较大, 其原因除受地区和种族差异的影响外, 还受性别、年龄、肥胖、抗高血压治疗等因素的影响。本实验在选择受试对象时, 保持高血压组和正常对照组间上述因素及空腹血糖、TC、TG、HDL-ch、LDL-ch 等临床指标齐同, 尽量避免这些因素对实验结果的影响。本研究显示,  $\beta_2$ -AR 基因 Arg16Gly 的多态性分布和等位基因频率在高血压组与正常对照组间存在显著性差异, 高血压组 Gly 纯合子和 Gly 等位基因频率均高于正常对照组, 表明本研究对象中  $\beta_2$ -AR 基因 Arg16Gly 多态性与高血压病的发病有关, 提示  $\beta_2$ -AR 基因 Arg16Gly 多态性和 Gly 等位基因可能是高血压病的遗传易感基因。

#### [参考文献]

- [1] Herrmann V, Buscher R, Go MM, et al. Beta 2-adrenergic receptor polymorphisms at codon 16, cardiovascular phenotypes and essential hypertension in whites and African Americans[J]. Am J Hypertens, 2000, 13: 1021—1026.
- [2] 赵晓云, 国雪, 邱长春, 等. 北方汉族人 eNOS 第四内含子 a/b 基因多态性与原发性高血压的关系[J]. 中国康复理论与实践, 2005, 11(6): 422—424.
- [3] Halushka MK, Fan JB, Bentley K, et al. Pattern of single-nucleotide polymorphisms in candidate for blood-pressure homeostasis[J]. Nat Genet, 1999, 22: 239—247.
- [4] Ge D, Huang J, He J, et al. Beta 2-adrenergic receptor gene variations associated with stage-2 hypertension in northern Han Chinese[J]. Ann Hum Genet, 2005, 69: 36—44.
- [5] Cockcroft JR, Gazis AG, Cross DJ, et al. Beta 2-adrenoceptor polymorphism determine vascular reactivity in humans[J]. Hypertension, 2000, 36: 371—375.
- [6] Jindra A, Horky K, Peleska J, et al. Association analysis of Arg16Gly polymorphism of the beta 2-adrenergic receptor gene in offspring from hypertensive and normotensive families[J]. Blood Press, 2002, 11: 213—217.
- [7] Jia H, Sharma P, Hopper R, et al. Beta 2-adrenoceptor gene polymorphisms and blood pressure variations in east Anglian Caucasians[J]. J Hypertension, 2000, 18(6): 687—693.
- [8] Tomaszewski M, Brain NJ, Charchar FJ, et al. Essential hypertension and  $\beta_2$ -adrenergic receptor gene linkage and association analysis[J]. Hypertension, 2002, 40: 286—291.
- [9] Herrmann SM, Nicand V, Tiret L, et al. Polymorphism of the  $\beta_2$ -adrenoceptor (ADRB2) gene and essential hypertension the ECTIM and PEGASE studies[J]. J Hypertension, 2002, 20: 229—235.
- [10] Candy G, Samani N, Norton G, et al. Association analysis of beta 2-adrenoceptor polymorphisms with hypertension in a black African population[J]. J Hypertension, 2000, 18(2): 167—172.
- [11] Kato N, Sugiya T, Morita H, et al. Association analysis of  $\beta_2$ -adrenergic receptor polymorphisms with hypertension in Japanese[J]. Hypertension, 2001, 37: 286—292.

(收稿日期: 2006-04-03)