

[文章编号] 1007-3949(2005)13-01-0051-04

•临床研究•

G 蛋白 $\beta 3$ 亚单位基因 C825T 多态性与高血压患者的肥胖无关

李东宝, 华琦, 皮林, 许骥

(首都医科大学宣武医院心血管内科, 北京市 100053)

[关键词] 内科学; G 蛋白 $\beta 3$ 亚单位基因多态性与肥胖的关系; 聚合酶链反应和限制片段长度多态性分析; 原发性高血压; 肥胖; 基因多态性; G 蛋白 $\beta 3$ 亚单位

[摘要] 目的 探讨 G 蛋白 $\beta 3$ 亚单位基因 C825T 多态性与原发性高血压患者肥胖的相关关系。方法 采用聚合酶链反应结合限制性内切酶片段长度多态分析方法检测 147 例健康人和 321 例高血压患者的 G 蛋白 $\beta 3$ 亚单位 C825T 多态性, 并测定高血压患者的体质指数、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇及空腹血糖浓度。结果 高血压组 G 蛋白 $\beta 3$ 亚单位 C825T 多态性中基因型频率(CC 为 28.7%, CT 为 52%, TT 为 19.3%)、等位基因频率(C 为 54.672%, T 为 45.33%) 与正常对照组基因型频率(CC 为 27.2%, CT 为 46.9%, TT 为 25.9%)、等位基因频率(C 为 50.7%, T 为 49.3%) 比较无显著性差异($P > 0.05$); CC 基因型患者的体质指数、血脂水平与 CT+TT 基因型患者比较无显著性差异($P > 0.05$)。结论 G 蛋白 $\beta 3$ 亚单位基因 C825T 多态性可能与高血压患者的肥胖无关。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

No Association Between G Protein $\beta 3$ Subunit Gene Polymorphism and Obesity in Hypertensive Patients

LI Dong-Bao, HUA Qi, PI Lin, and XU Ji

(Cardiovascular Department, Xuanwu Hospital, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100053, China)

[KEY WORDS] Essential Hypertension; Obesity; Gene Polymorphism; G Protein $\beta 3$ Subunit; Body Mass Index; Serum Lipids; Fasting Serum Glucose

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relationship between G protein $\beta 3$ subunit gene polymorphism and obesity in hypertensive patients. **Methods** Polymerase chain reaction combined with restriction enzyme digestion was used to detect the polymorphism of G protein of $\beta 3$ subunit gene in 147 normotensive controls and 321 hypertensive patients. Body mass index was measured. Serum total cholesterol, triglyceride, high density lipoprotein cholesterol, low density lipoprotein cholesterol, fasting serum glucose were determined in hypertensive patients. **Results** There were no significant differences of the G protein $\beta 3$ subunit gene C825T polymorphism genotypes and alleles between hypertensive patients (CC 28.7%, CT 52%, TT 19.3% and C 50.7%, T 49.3%) and normotensive controls (CC 27.2%, CT 46.9%, TT 25.9% and C 50.7%, T 49.3%). Body mass index, total cholesterol, triglyceride, high density lipoprotein cholesterol, low density lipoprotein cholesterol and fasting serum glucose did not differ significantly between CC and CT+TT genotype in hypertensive patients. **Conclusion** The C825T polymorphism of G protein $\beta 3$ subunit was not associated with obesity in hypertensive patients.

G 蛋白是一组具有 GTP 结合、水解活性的蛋白质, 在细胞膜受体和效应蛋白之间的信息传递过程中起中介作用。研究发现, G 蛋白 $\beta 3$ 亚单位(G protein $\beta 3$ subunit, GNB3) 基因的 C825T 多态性与原发性高血压(essential hypertension, EH) 的相互关系存在分歧^[1,2]。有学者认为 GNB3 基因多态性与肥胖有关^[3]。本研究对中国北京地区汉族 EH 患者

进行 GNB3 基因 C825T 多态性检测, 并探讨该基因多态性与肥胖和 EH 的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

原发性高血压患者 321 例, 男 166 例, 女 155 例, 年龄 47.99 ± 9.90 岁, 符合 1999 年 WHO/ISH 高血压诊断标准, 即收缩压 ≥ 140 mm Hg, 舒张压 ≥ 90 mm Hg, 排除继发性高血压、心肌病、瓣膜疾病、先天性心脏病、糖尿病及肾功能衰竭者。正常对照组为健康体检者, 无高血压病家族史, 体检、常规化验无异常; 共 147 例, 男 77 例, 女 70 例, 年龄 47.14

[收稿日期] 2004-02-26 [修回日期] 2004-07-21

[基金项目] 首都医学发展基金(2002-2007)资助

[作者简介] 李东宝, 主要从事高血压和血脂的基础和临床研究, E-mail 为 leetobo@sina.com.cn。华琦, 博士, 教授, 博士研究生导师, 主要从事高血压病的基础和临床研究。皮林, 博士研究生, 主要从事高血压病的基础研究。

±12.30岁。高血压组与对照组在年龄与性别构成上无显著性差异。

1.2 生物化学指标检测

采用全自动生物化学分析仪测定总胆固醇(tot cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、血糖。测定身高、体重,计算体质指数(body mass index, BMI)。

1.3 聚合酶链反应及酶切

取EDTA抗凝静脉血5 mL,用改良碘化钠法从外周血提取白细胞基因组的DNA。聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)上游引物为5'-TGCCACCCGTGCCCTCAGTT-3',下游引物为5'-GGCCCTTACCCACACGCTCAGA-3'(上海生工生物工程技术服务有限公司合成)。PCR体系(50 μL反应体系):模板1 μL+双蒸馏水39 μL、Buffer 5 μL、dNTP 4 μL、上游引物0.8 μL、下游引物0.8 μL、Taq聚合酶2 u,混匀、离心。扩增条件:94℃预变性5 min→94℃变性30 s→58℃扩增30 s→72℃延伸60 s,共30个循环;最后72℃延伸5 min。扩增产物用2%琼脂糖凝胶电泳,EB染色,紫外灯下观察结果。

取PCR产物10 μL,限制性内切酶Bse DI(立陶宛的Fermentas 生物技术有限公司提供)3 u(0.6 μL),10×Buffer 1.5 μL,灭菌去离子双蒸水2.9 μL,反应总体积15 μL。55℃酶切16 h,65℃20 min终止酶切反应。产物用2.5%琼脂糖凝胶电泳,50 V电泳60 min。EB染色,紫外灯下观察结果并照相。

1.4 统计学方法

用SPSS统计软件处理。基因型、等位基因频率和组间计数资料间比较采用χ²检验。两组均数间比较采用t检验。相关关系用Logistic回归分析。计量资料数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。P<0.05为差异有显著性。

2 结果

2.1 一般临床资料

高血压组与正常对照组之间一般临床资料无明显差异(P>0.05),见表1(Table 1)。

2.2 G蛋白β3亚单位基因C825T多态性分析

受检者DNA的PCR扩增产物为244 bp。若

在此片段中不存在825C→T位点突变,则产生限制性内切酶Bse DI的切点,酶切后得到大小为143 bp和101 bp的两个片段,基因型为CC型;若含有C→T位点突变,酶切后得到大小为244 bp的片段,基因型为TT型;酶切后既得到244 bp,又得到143 bp和101 bp片段者,基因型为CT型(图1和2, Figure 1 and 2)

表 1. 两组一般临床资料 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1. Clinic data of two groups

| | 高血压组 (n= 321) | 正常对照组 (n= 147) |
|--------------------------|------------------|-------------------|
| 男(例) | 166 | 77 |
| 女(例) | 155 | 70 |
| 年龄(岁) | 47.99±9.93 | 47.14±12.30 |
| 体表面积(m ²) | 1.79±0.20 | 1.69±0.15 |
| 体质指数(kg/m ²) | 26.26±3.29 | 25.13±3.07 |
| 体重(kg) | 72.69±12.29 | 69.75±9.56 |
| 身高(cm) | 166.01±9.26 | 163.31±7.05 |

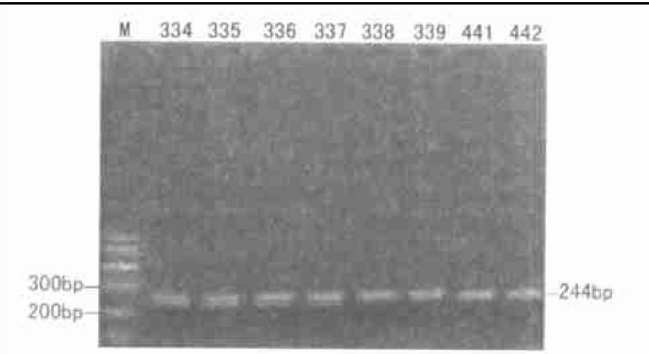


图 1. G 蛋白β3 亚单位基因 C825T 多态性的聚合酶链反应产物电泳图 M 为 Marker; 334~ 342 是编号为 334~ 342 不同患者的聚合酶链反应产物。

Figure 1. Electrophoretic map of polymerase chain reaction production of G protein β3 subunit gene C825T polymorphism

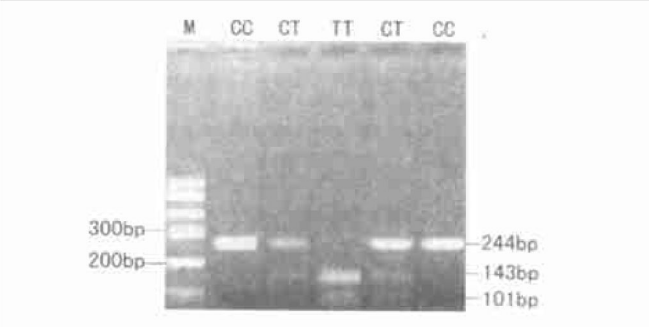


图 2. G 蛋白β3 亚单位基因 C825T 多态性基因型电泳图
Figure 2. Electrophoretic map of genotype of G protein β3 subunit gene C825T polymorphism

2.3 两组基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 定律

正常对照者和 EH 患者 GNB3 基因 C825T 均存在 C 和 T 等位基因以及 CC 纯和、CT 杂合、TT 纯和 3 种基因型, 两组的基因型频率经 χ^2 检验, 符合 Hardy-Weinberg 平衡(表 2, Table 2)。

2.4 G 蛋白 β_3 亚单位基因 C825T 多态性与高血压的关系

正常对照组与 EH 组 GNB3 基因 C825T 基因型构成比差异无显著性($P > 0.05$), EH 组 T 等位基因频率高于正常对照组, 但无显著性差异($P > 0.05$)。逐步 Logistic 回归分析显示 GNB3 825T 等位基因与高血压发生无关联($P = 0.2531$), 见表 2 (Table 2)。

表 2. 高血压组和正常对照组 G 蛋白 β_3 亚单位 C825T 基因型和等位基因频率比较 [例(%)]
Table 2. Comparison of allele and genotype of G protein β_3 subunit gene C825T polymorphism in essential hypertension and normal control group

| 分 组 | 基因型频率 | | | 等位基因频率 | |
|-----------------|------------|------------|------------|--------------|--------------|
| | CC | CT | TT | C | T |
| 高血压组 (n = 321) | 92 (28.7%) | 167 (52%) | 62 (19.3%) | 351 (54.67%) | 291 (45.33%) |
| 正常对照组 (n = 147) | 40 (27.2%) | 69 (46.9%) | 38 (25.9%) | 149 (50.7%) | 145 (49.3%) |

2.5 原发性高血压组不同基因型间血脂和体质指数的比较

高血压组 CT+ TT 基因型与 CC 基因型患者的体质指数、总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇、血糖无显著性差异($P > 0.05$), 见表 3(Table 3)。

表 3. 原发性高血压组不同基因型间临床特征比较 ($\bar{x} \pm s$)
Table 3. Comparison of clinic characteristic between different genotype of G protein β_3 subunit gene C825T polymorphism in essential hypertension

| 指 标 | CC 组 (n = 92) | CT+ TT 组 (n = 229) |
|---------------------------|--------------------|-----------------------|
| 体质指数 (kg/m ²) | 25.83 \pm 3.09 | 26.33 \pm 3.45 |
| 总胆固醇 (mg/dL) | 203.83 \pm 36.03 | 207.89 \pm 39.04 |
| 甘油三酯 (mg/dL) | 136.47 \pm 60.14 | 146.96 \pm 67.43 |
| 高密度脂蛋白胆固醇 (mg/dL) | 61.99 \pm 18.98 | 63.69 \pm 20.02 |
| 低密度脂蛋白胆固醇 (mg/dL) | 107.05 \pm 27.79 | 109.86 \pm 31.47 |
| 血糖 (mg/dL) | 101.11 \pm 25.05 | 104.06 \pm 26.86 |

3 讨论

人类 G 蛋白 β_3 亚单位 (GNB3) 位于染色体 12p13, 长约 7.5 kb, 由 11 个外显子和 10 个内含子组成(编码蛋白区及其 9 个外显子), 编码蛋白含有 340 个氨基酸, 分子量为 37 kDa。G 蛋白在信号传导过程中起“分子开关”作用, 介导许多血管活性刺激和增殖刺激的细胞内效应, 在高血压的发生、发展

过程中可能发挥重要的作用^[4]。Larson 等^[5]研究发现 GNB3 基因第 10 外显子内检测到一个 C825T 多态性, 825T 携带者 GNB3 基因转录 mRNA 核酸序列的 498~ 620 位碱基缺失, 由此生成一蛋白变异体, 称为 GNB3-s。Western-blot 分析表明, GNB3-s 表达主要见于携带 T 等位基因的个体。其中 T 等位基因与 GNB3 的一个剪接变异 (GNB3-s) 相关联, GNB3-s 有 7 个 WD 重复序列, 但第三个 WD 结构中的后 4 个氨基酸及第四个 WD 结构中的前 37 个氨基酸缺失, 最终形成 G 蛋白复合体比野生型的 G 蛋白复合体活性更高。

多数欧美人群的研究发现^[1, 6, 7], 825T 等位基因与原发性高血压病的发生有关。进一步分析发现, 825T 携带者发生高血压病的危险性是 CC 纯合子的 1.5 倍。但也有相反的报道, Brand 等^[2]对法国 EH 患者及其正常对照进行研究, 发现 GNB3 多态性与早发高血压、高血压家族史或血压水平无关。提示 GNB3 基因 C825T 多态性在多个重要途径不是高血压的危险因素。Kato 等^[8]和 Ishikawa 等^[9]对日本人群的病例对照研究发现, GNB3 基因的 C825T 多态性与日本原发性高血压、血压水平、颈动脉壁厚度无关。Buchmayer 等^[4]对 174 例原发性高血压伴危象患者进行的病例对照发现, GNB3 C825T 与原发性高血压患者的高血压危险无关, 也不支持 T 等位基因与原发性高血压或高血压危象之间存在关联。对 904 个非洲裔美国人进行的调查并未发现 GNB3 C825T 多态性与高血压之间存在关系^[5]。对部分国人的研究发现^[10, 11] GNB3 基因

C825T 多态性可能与中国人原发性高血压之间不具有相关性。本研究发现,北京地区中国汉族高血压患者 GNB3 的 CC、CT、TT 基因型频率及 C、T 等位基因频率与正常对照组无显著差异;逐步 Logistic 回归分析进一步显示 GNB3 825T 等位基因与高血压发生无关联。说明 G 蛋白 $\beta 3$ 亚单位基因 C825T 多态性与汉族人高血压无关。这与国人多数报道的结果一致^[10-12]。

Siffert 等^[3]对来自非洲、美洲、欧洲、亚洲、澳洲、新几内亚岛的 55 个民族、5254 个血样的基因型分析发现,825T 基因是一个节约基因。所谓节约基因是指人类在进化、生存斗争中逐渐形成的基因,该基因使人类在食物不足的环境下节约能量,以适应恶劣环境,当食物充足时,该基因使人肥胖,致胰岛素分泌缺陷和胰岛素抵抗。由此断言在非洲、东亚这些 T 等位基因频率较高的人群中,随着生活条件改善,生活方式西化,肥胖和高血压将易于流行。对白人妇女研究发现携带 825T 等位基因者产后若不加强锻炼,肥胖的风险明显高于不携带者^[13],生育的新生儿多数为低体重儿^[14]。众所周知,低体重儿成年后高血压、冠心病及糖尿病的发病率高,进一步说明该基因是节约基因。Siffert 等^[3]对 1950 个 18 ~ 30 岁的德国、中国、非洲健康男性的研究发现,在超重(BMI ≥ 25 kg/m²)人群和肥胖(BMI > 27 kg/m²)人群的 825T 等位基因频率明显高于体重正常者,即该基因多态性与肥胖有关。在南非黑人中发现,超重者居住在城市的多居住在向村中的多,尽管二者的 825T 等位基因频率相似,提示基因和环境因素在肥胖症的发病中均可能发挥作用。研究发现,在德国白人 EH 患者中 T 等位基因与肥胖相关^[15],在日本人群中该等位基因与血清总胆固醇水平升高相关^[9]。陈燕燕等^[16]也发现,C825T 与体质指数相关。但本研究未发现中国高血压人群 825T 等位基因与体质指数及血清总胆固醇、甘油三酯水平相关。

原发性高血压和高脂血症、肥胖常相伴发生,可能有共同的遗传基础^[17,18],但本研究未发现 G 蛋白 $\beta 3$ 亚单位基因 C825T 多态性与 EH 及肥胖相关。这可能是种族差异的原因造成的,需要进行更深入的研究。

[参考文献]

- [1] Beige J, Hohenbleicher H, Distler A, Sharma AM. G Protein beta 3 subunit C825T variant and ambulatory blood pressure in essential hypertension. *Hypertension*, 1999, **33** (4): 1 049-051
- [2] Brand E, Herrmann SM, Nicaud V, Ruidavets JB, Evans A, Arveiler D, et al. The 825C/T polymorphism of the G-protein subunit beta3 is not related to hypertension. *Hypertension*, 1999, **33** (5): 1 175-178
- [3] Siffert W, Forster P, Jochet KH, Mvere DA, Brinkmann B, Naber C, et al. Worldwide Ethnic distribution of the G protein $\beta 3$ subunit C825T allele and its association with obesity in Caucasian, Chinese and Black African individuals. *J Am Soc Nephrol*, 1999, **10** (8): 1 921-930
- [4] Buchmayer H, Sunder-Plassmann G, Hirschl MM, Kletzmayer J, Woisetschlager C, Lagner AN, et al. G protein beta 3 subunit gene (GNB3) polymorphism 825C \rightarrow T in patients with hypertensive crisis. *Crit Care Med*, 2000, **28** (9): 3 203-206
- [5] Larson N, Hutchinson R, Boerwinkle E. Lack of association of 3 functional gene variants with hypertension in African Americans. *Hypertension*, 2000, **35** (6): 1 297-300
- [6] Benjafield AV, Jeyasingam CL, Nyholt DR, Griffiths LR, Morris BJ. G protein beta 3 subunit gene (GNB3) variant in causation of essential hypertension. *Hypertension*, 1998, **32** (6): 1 094-097
- [7] Hegele RA, Harris SB, Hanley AJ, Cao H, Zinman B. G protein beta 3 subunit gene variant and blood pressure variation in Canadian Ojibwe. *Hypertension*, 1998, **32** (4): 688-692
- [8] Kato N, Sugiyama T, Morita H, Kurihara H, Yamori Y, Yazaki Y. G protein beta 3 subunit variant and essential hypertension in Japanese. *Hypertension*, 1998, **32** (5): 935-938
- [9] Ishikawa K, Imai Y, Katsuya T, Ohkubo T, Tsuji I, Nagai K, et al. Human G protein beta 3 subunit variant is associated with serum potassium and total cholesterol levels but not with blood pressure. *Am J Hypertens*, 2000, **13** (2): 140-145
- [10] 戴书萍, 时景, 丁茜, 王海龙, 董凌月, 孙迪, 等. 中国东北高血压病高发地区人群中 G 蛋白亚单位 $\beta 3$ 825C/T 多态性分析. *遗传学报*, 2002, **29** (2): 294-298
- [11] 由田, 黄建群, 吕晶玉. G 蛋白 $\beta 3$ 亚基(GNB3)基因多态与原发性高血压的相关性分析. *辽宁医学杂志*, 2000, **14** (4): 179-180
- [12] 张明华, 刘国树, 石岩, 史军, 陈燕, 刘文玲, 等. G 蛋白($\beta 3$ 亚单位基因 C825T 多态性与原发性高血压. *高血压杂志*, 2001, **9** (4): 288-291
- [13] Gutersohn A, Naber C, Muller N, Erbel R, Siffert W. G protein beta 3 subunit 825 TT genotype and post-pregnancy weight retention. *Lancet*, 2000, **355** (9211): 1 240-241
- [14] Hoche B, Slowinski T, Stolze T, Pleschka A, Neumayer HH, Halle H. Association of maternal G protein beta 3 subunit 825T allele with low birthweight. *Lancet*, 2000, **355** (9211): 1 241-242
- [15] Siffert W, Naber C, Walla M, Ritz E. G protein beta 3 subunit 825T allele and its potential association with obesity in hypertensive individuals. *J Hypertens*, 1999, **17** (8): 1 095-098
- [16] 陈燕燕, 李光伟, 李春梅, 黄晓红, 鞠振宇, 孙淑湘, 等. G 蛋白 $\beta 3$ 亚单位基因 C825T 与高血压、胰岛素抵抗及肥胖的关联. *中华医学杂志*, 2003, **83** (14): 1 229-232
- [17] 李东宝, 华琦. 载脂蛋白基因多态性对调脂疗效的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2003, **11** (6): 586-588
- [18] 王拥军, 董秀敏, 杨静芳, 温玫, 袁淑琴, 华琦. 儿童单纯肥胖症低密度脂蛋白受体基因 Aa 多态性. *中国动脉硬化杂志*, 1999, **7** (1): 61

(此文编辑 文玉珊)