论著

文章编号:1000-5404(2006)15-1614-02

解偶联蛋白2基因多态性与糖尿病视网膜病变关系的研究

孙艳荪[1],苏本利[2],李昌臣[3] ([1]北京大学深圳医院特诊区,深圳 518036;[2]大连医科大学附属第二医院内分泌科,大连 116027;[3]大连医科大学附属第一医院内分泌科,大连 116023)

提 要:目的 探讨解偶联蛋白2(UCP-2)基因8号外显子3′-末端(3′-UTR)45 bp插入/缺失(I/D)多态性与糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)的关系。**方法** 183例糖尿病患者(分为伴有DR组51例,不伴DR组132例),检测所有患者的基因组DNA,用聚合酶链反应(PCR)方法对UCP-2基因进行扩增,记录各组UCP-2等位基因及基因型频率并进行比较。**结果** UCP-2基因8号外显子3′-末端45 bp插入/缺失多态性在DR组和不伴DR组中基因型分布无显著性差异($\chi^2 = 1.71$, $P > 0.05$),2组的等位基因频率亦无显著性差异($\chi^2 = 0.16$, $P > 0.05$)。**结论** UCP-2基因8号外显子3′-末端(3′-UTR)45 bp插入/缺失多态性与中国人糖尿病并发视网膜病变无关系。

关键词: 糖尿病;糖尿病视网膜病变;解偶联蛋白-2基因;多态性

中图法分类号: R341; R394; R597.202 **文献标识码:** A

Correlation between uncoupling protein 2 gene polymorphism and diabetic retinopathy

SUN Yan-sun[1], SU Ben-li[2], LI Chang-chen[3] ([1]The Priority Ward, Shenzhen Hospital of Peking University, Shenzhen 518036, [2]Department of Endocrinology, The Second Hospital, Dalian 116027, [3]Department of Endocrinology, The First Hospital, Dalian Medical University, Dalian 116023, China)

Abstract: Objective To investigate the association between a 45-bp insertion/deletion (Ins/Del) polymorphism in the 3′-untranslating region (3′-UTR) of its exon 8 in uncoupling protein 2 (UCP-2) gene and diabetic retinopathy (DR). **Methods** A total of 183 patients with diabetic mellitus (DM) were selected, 51 with DR, 132 without DR. UCP-2 gene polymorphism was confirmed by electrophoresis after PCR, then genotype and allele gene frequency were compared. **Results** No significant difference of genotype frequencies for 3′-UTR Ins/Del polymorphism of UCP-2 was found between control group and DR group, and no difference in two alleles frequencies. **Conclusion** No relationship of a 45-bp Ins/Del polymorphism in the 3′-UTR of exon 8 in the UCP-2 gene was found with DR.

Key words: diabetic mellitus; diabetic retinopathy; uncoupling protein 2 gene; polymorphism

糖尿病视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病后期的严重并发症之一,随着糖尿病患病率的急剧增长,由DR致盲和视力下降的糖尿病患者越来越多。有研究表明,氧化应激在微血管病变(包括DR)的发生、发展中起重要作用,氧化标志物可以用于临床慢性并发症危险性的预测[1,2]。大量的动物实验和临床研究表明,解偶联蛋白2(uncoupling protein 2, UCP-2)基因分布广泛并且在体内外均具有保护组织器官抗氧化的作用[3]。本研究以UCP-2基因8号外显子3′-末端(3′-UTR)45 bp插入/缺失多态性为标记,研究其与中国人DR的关系。

1 对象与方法

1.1 对象

183例糖尿病(diabetic mellitus, DM)患者均为2000年4月至2001年12月大连医科大学附属第一医院的住院患者,符合ADA(1997)/WHO(1999)制订的诊断标准,按眼底检查分为伴有DR组和不伴DR组(对照组),其中已排除合并慢性肾功能不全病例。

1.2 方法

血脂(总胆固醇、甘油三酯和高密度脂蛋白胆固醇)采用酶学终点法。

UCP-2基因多态性分析:常规酚/氯仿法抽提外周血白细胞基因组DNA,以100 ng DNA为模版,总反应体积30 μl,用DNA热循环仪(美国GENE公司PTC-150型)进行PCR扩增:上游引物为5′-CAGTGAGGGAAGTGGGAGG-3′,下游引物5′-GGGGCAGGACGAAGATTC-3′(由大连宝生物工程有限公司合成)。PCR扩增条件[4]:94 ℃预变性3 min,94 ℃变性30 s,65 ℃退火30 s,72 ℃延伸30 s,共35个循环;最后进一步72 ℃延伸5 min。扩增产物经3%琼脂糖凝胶电泳确认结果,插入纯合子(Ⅱ)带型为457 bp,缺失纯合子(DD)带型为412 bp,插入/缺失杂合子(ID)带型为457 bp及412 bp。

1.3 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料用频数表示,采用SPSS

作者简介:孙艳荪(1972-),女,辽宁省锦州市人,硕士,主治医师,主要从事糖尿病分子与临床方面的研究。电话:(0755)83923333-6368

收稿日期:2005-12-01;修回日期:2006-03-29

10.0 统计软件进行 t 检验、χ^2 检验。

2　结果

2.1　患者基本临床特征

在 DM 2 组间，伴有 DR 组 DM 病程比不伴 DR 组（对照组）病程长，且其高血压患者的比例也高于不伴 DR 组（对照组），但两项指标组间比较无统计学意义（$P>0.05$）。其余各项指标（如性别、年龄、BMI、TG、HDL-C 、TC）在两组间分布趋于一致，差异无统计学意义（$P>0.05$），见表 1。

2.2　DM 患者的 UCP-2 基因频率分布

结果见表 2。经统计学分析，DM 伴 DR 患者基因型分布及等位基因频率与不伴 DR 患者相比，二者间的差异无显著性（$\chi^2=1.71$，$P>0.05$；$\chi^2=0.16$，$P>0.05$）。

表 1　183 例 DM 患者的临床特征

组别	例数	性别（男/女）	年龄（岁）	BMI（kg/m²）	DM 病程（年）	高血压（%）	TC（mmol/L）	TG（mmol/L）	HDL-C（mmol/L）
不伴 DR 组	132	54/78	61.42 ±3.27	26.63 ±3.12	6.78 ±5.01	35.10	4.31 ±1.42	1.62 ±0.43	1.09 ±0.30
伴 DR 组	51	20/31	62.15 ±3.96	25.78 ±3.47	9.02 ±7.56	42.21	4.53 ±1.56	1.71 ±0.38	1.03 ±0.43

表 2　UCP-2 基因与 DM 并发视网膜病变［例数（%）］

组别	例数	UCP-2 基因型			UCP-2 等位基因	
		Ⅱ	ID	DD	I	D
伴 DR 组	51	5(9.80)	8(15.69)	38(74.51)	18(17.65)	84(82.35)
不伴 DR 组	132	7(5.30)	28(21.21)	97(73.48)	42(15.91)	222(84.09)
合计	183	12	36	135	60	306

3　讨论

解偶联蛋白（UCP）作为线粒体内膜的质子载体，能将线粒体内膜外侧的 H^+ 运回内侧，降低在物质氧化过程中 H^+ 形成的膜两侧的电化学梯度，使氧化过程与 ADP 磷酸化过程解偶联，ATP 生成减少而能量消耗和产热增多，体质量下降[3,5]。UCP 基因的结构和表达水平影响 UCP 蛋白的功能。1997 年解偶联蛋白-2（UCP-2）基因首次被克隆定位于人类染色体 11q13，该区域与高胰岛素血症和肥胖相连锁。

Nishikawa 等[6]证实正常水平的 ROS 可以抑制或防止糖尿病并发症的发生。UCP-2 分布广泛，它在白色脂肪、骨骼肌、脾、网状内皮系统、肝脏等器官中都很丰富，尤其在网状内皮系统高表达，它在体内体外均具有保护组织器官抗氧化的作用[4]。Pecqueur 等[7]研究证实，细胞内 ROS 水平增高时 UCP-2 mRNA 表达水平上调，因此可以提出 UCP-2 的天然作用可能是保护器官避免过氧化作用的压力，如感染、变态反应等。UCP-2 基因转染和敲除的动物实验也证实了 UCP-2 有对抗氧自由基的作用[8]。

Walder 等[9]在对 UCP-2 基因进行序列分析时发现，8 号外显子 3′-UTR 45 bp I/D 的杂合子比纯合子 24 h 静息代谢率高。I/D 多态位于 3′非翻译区内终止密码子下游 150 bp 后，I/D 多态的位置提示它可能会影响 UCP-2 mRNA 的稳定性。本试验我们检测到糖尿病患者中，UCP-2 基因 8 号外显子 3′-UTR 45bp I/D 多态性与中国人 2 型糖尿病并发视网膜病变无关系。原因可能是：①本研究病例数太少，有待于今后进一步扩大样本数；②UCP-2 基因 8 号外显子 3′-UTR 45 bp I/D 多态性可能作为一个非功能突变存在，不影响 UCP-2 基因的表达；③DR 的发生、发展与代谢指标的控制等多种因素相关，该基因突变的作用被减弱或还有其他基因协同作用。

参考文献：

[1] 崔　巍，高　伟，王淑平，等. 糖尿病视网膜病变患者血清超氧化物歧化酶检测与分析[J]. 中华眼底病杂志，1994，10(2)：92-93.

[2] SHARPE P C, LIU W H, YUE K K, *et al*. Glucose-induced oxidative stress in vascular contractile cells: comparison of aortic smooth muscle cells and retinal pericytes[J]. Diabetes, 1998, 47(5): 801-809.

[3] 孙艳荪，苏本利，李昌臣. 脱偶联蛋白与糖尿病微血管并发症[J]. 国外医学：内分泌学分册，2003，23(增刊)：19-21.

[4] 苏本利，孙艳荪，李昌臣. 解偶联蛋白 2 基因多态性与糖尿病肾病的相关性研究[J]. 中华内分泌代谢杂志，2003，19(4)：292-294.

[5] 鲁　平，鲁　豫，袁建军，等. 老年糖尿病视网膜病变患者视网膜血流动力学变化[J]. 郑州大学学报：医学版，2004，39(6)：1061-1063.

[6] NISHIKAWA T, EDELSTEIN D, DU X L, *et al*. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage[J]. Nature, 2000, 404(6779): 787-790.

[7] PECQUEUR C, ALVES-GUERRA M C, GELLY C, *et al*. Uncoupling protein 2, *in vivo* distribution, induction upon oxidative stress, and evidence for translational regulation[J]. J Biol Chem, 2001, 276(12): 8705-8712.

[8] ARSENIJEVIC D, ONUMA H, PECQUEUR C, *et al*. Disruption of the uncoupling protein-2 gene in mice reveals a role in immunity and reactive oxygen species production[J]. Nat Genet, 2000, 26(4): 435-439.

[9] WALDER K, NORMAN R A, HANSON R L, *et al*. Association between uncoupling protein polymorphisms (UCP2-UCP3) and energy metabolism/obesity in Pima Indians[J]. Hum Mol Genet, 1998, 7(9): 1431-1435.

（编辑　薛国文）