维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)03－0384－04

从电生理信号表现型到基因型

牛永红，谢正祥

(重庆医科大学生物医学工程研究室，重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R318.5 【文献标识码】B 【收稿日期】2002－07－11

过去，生理学仅记录和分析各种生物信号；生物医学信号处理学仅把工程上研发的各种信号处理方法应用于生物医学信号处理领域；分子生物学则仅研究基因及其表达调控。如何将整体生理信号表现型与基因型结合起来研究，特别是用能无创获得的、重复性好的整体生理信号所含的信息(表现型)去预测基因型以及与基因型相关的药物对疾病的治疗效应及毒副作用就成了当今非常重要的研究领域。因而象"分子生理学、分子药理学"这样的学科也就应运而生了。信号是信息的载体，由系统间相互作用而产生。整体生理信号有以下特点：①是机体系统基因表达产物—各种蛋白质相互作用的结果；②能无创地获得；③重复性好；④能连续地获得；⑤费用低。尽管"基因组学、蛋白质组学、功能基因组学、基因诊断学和基因治疗学"已取得十分辉煌的成果，但尚无"基因医学信号学"或"分子医学信号学"领域的研究。研究基因型与整体生理信号表现型联系的时代必将到来。

1 联系基因型与整体电生理信号表现型的研究初现端倪

1.1 β_3 肾上腺能受体基因多态性与心动周期信号(HPS)电生理表现型

1.1.1 β_3 肾上腺素能受体基因及其 Trp64Arg 多态性

β_3 肾上腺素能受体基因定位于 8P12－P11.2 染色体，与 β_1、β_2 肾上腺素能受体一样，为 7 次跨膜受体，细胞外为氨基末端，细胞内为羧基末端，见图 1。其 DNA 长为 10306bp，至少有 3 个外显子和 2 个内含子。mRNA 序列长为 2644bp，从第 198 位碱基起到第 1424 碱基止的长为 1227bp 的密码区编码 β_3 肾上腺素能受体蛋白质的长为 408bp 的氨基酸序列，见图 2。图 1 标示出细胞膜的脂质双分子(sandwich)结构。图 1 和图 2 中的 β_3 肾上腺素能受体的第一细胞外段上的"Y"样结构为 Asn8 和 Asn26 的糖基化位点。第二细胞外段的 Cys110 和第三细胞外段 Cys189 上的两个"S"样结构表示二硫键，第四细胞内段(羧基末端)的 Cys361 上的浪形粗线为棕榈酸化位点。在图 2 中多态性位点用黑箭头指示，可见其处于第一细胞内环的膜边缘。

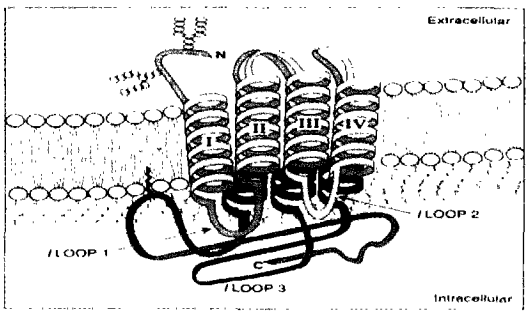


图 1 β_3 肾上腺素能受体 7 次跨膜图

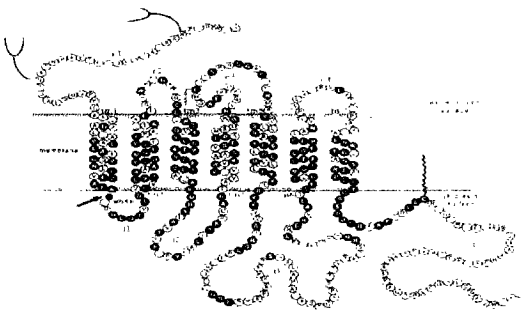


图 2 β_3 肾上腺素能受体氨基酸序列及跨膜图

已报导的 β_3 肾上腺素能受体的基因多态性位点有近 20 个[1]。研究得比较多的是 Trp64Arg 多态性，其与早发非胰岛素依赖型糖尿病、冠心病及乳腺癌等的发病有关[2,3]。

作者介绍：牛永红(1972－)，女，住院医师，博士，主要研究方向：心血管内科学。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1.1.2 肾上腺素能受体基因多态性与心动周期信号(HPS)电生理表现型

HPS,国内称之为 HRV(heart rate variability,心率变异性),但几乎没有人分析心率或心率变异性,都分析的是心电信号的 R—R 间期形成的数字时间序列,故而我们认为 HPS(heart period signal,心动周期信号)的称谓更准确些。Shihara 等[4]报导了 β_3 肾上腺素能受体基因 Trp64Arg 多态性与 HPS 表现型的关系,开创了研究基因型(多态性)与电生理深层次信息表现型关系的先河,其研究结果表明 Arg/Arg 纯合子携带者从抑卧位到站立位的不同体位下 HPS 功率谱反应性均降低。现将其结果(参照 TASK FORCE[5]的推荐及我们的经验[6]进行了修改)摘录如表 1。

从表 1 中可以看出,β_3 肾上腺素能受体基因 Trp/Arg 杂合子携带者组与 Trp/Trp 纯合子携带者组相区别的最显著特征是:站位低频功率(486.9±67.5)>卧位低频功率(657.7±109.8)。因此,只要低频功率降低就可认为是 Trp/Arg 杂合子基因型携带者的可能性大,这就提供了由 HPS(电生理)表现型预测基因型的可能性,这是我们从 Shihara 等提供的数据推断出的结论。

表 1 β_3 肾上腺素能受体基因 Trp64Arg 多态性与 HPS 谱表现型关系的分析结果

Parameters	Supine rest			Standing		
	Trp/Trp	Trp/Arg	*P* value	Trp/Trp	Trp/Arg	*P* value
TOTAL(ms^2)	3029.8±758.8	1124.6±191.6	0.039	664.5±92.1	720.6±114.3	0.731
LF(ms^2)	1407.6±311.9	486.9±67.5	0.017	555.0±84.0	657.7±109.8	0.506
LF/TOTAL(%)#	46.5	43.3		83.5	91.2	
HF(ms^2)(%)	1622.2±472.3	637.6±147.6	0.086	109.5±16.8	62.9±7.5	0.033
HF/TOTAL(%)#	53.5	56.7		16.5	8.8	

作者增算的项目

Shihara 等的研究由于受其方法学的限制,未能提供更多更深入的信息。首先他们的系统未能计算并提供 0.03Hz 以下的超低频带(ULF)的信息。低频带(LF)含有部分交感神经和部分副交感神经活性的信息,高频带(HF)反映副交感神经活性[4~6]。由表 1 可知,从卧位到站位无论是 Trp/Trp 纯合子组,还是 Trp/Arg 杂合子组,HF 带的功率都是降低的,因此 HF 带中的副交感神经活性成分也应是降低的。而对于 Trp/Arg 杂合子组,LF 带功率从卧位到站位却是增加的,因而其中所含的交感神经活性成分必是大为增加的,才能使 LF 带功率增加。对于 Trp/Arg 杂合子组来说,如果计算 0.03Hz 以下的超低频带功率,则 ULF 带的功率从卧位到站位必然大大增加。而根据我们的研究[6],ULF 带功率反映交感神经的活性,故可认为:Trp/Arg 杂合子组从卧位到站位的体位改变时,交感神经系统的反应性增强。还可进一步推断其 HPS 的总功率可能也是增加的。由此就可从卧位到站位的体位改变时 HPS 的 ULF 带及总功率的增加或降低来推断 β_3 肾上腺素能受体的基因型:如果 HPS 的 ULF 带及总功率是增加的,则为 Trp/Arg 杂合子基因型;反之为 Trp/Arp 纯合子基因型。这样就可用 HPS 的表现型来预测 β_3 肾上腺素受体的基因型,预测前面提到的 β_3 肾上腺素能受体的基因多态性导致的疾病易感性及药物敏感性。这些也就是我们将要做的工作。

Shihara 等[4]研究的另外不足之处在于:未给出心率(或心动周期,即心电信号的 R-R 间期)、心动周期的变异(或微分变时效应)。因为心率是传统的变时效应(chronotropic effect)的定量指标,而心动周期变异性则可用以估计微分变时效应(differential chronotropic effect)。一般认为从卧位到站位的体位改变引起交感神经紧张性增强,心率则加快(或心动周期缩短),心动周期的变异性也会降低。一般可用心动周期的一阶导数表示微分变时效应,也可用心动周期的标准差来估计。假定用 HPS(t)表示心动周期随时间的变化,则微分变时效应可用 HPS(t)的微商表示:

微分变时效应 = d(HPS(t))/dt

上述微分变时效应表达式是一个时变函数。为了便于比较不同药物或受体的微分变时效应,可计算其平均微分变时效应:

平均微分变时效应 = $(1/T,\Sigma|d(HPS(t))/dt|$

上式中,T 表示求和(Σ)的时间,|·|表示求绝

维普资讯 http://www.cqvip.com

对值。

由于心动周期信号具有混沌(非线性)特征,一般具有高阶导数,因此可计算高阶微分变时效应(higher differential chronotropic effect),这是一个尚未研究过的领域。高阶微分变时效应可表示为:

高阶微分变时效应 = $d^n(HPS(t),/dt^n$

上式中,n 表示阶次。高阶微分变时效应不为 0 的阶次的大小,与心动周期信号的性质有关。

关于心率(心动周期)调节的研究指出,决定心率(心动周期)水平的可能有一套基因[7],决定搏—搏变异(即心动周期变异)的是有关的离子通道基因[8]。受体的变时效应是通过对离子通道的调控来实现的。不同的受体在细胞内的信号转导通路是不同的、分隔的、立体化的(如 β_3 肾上腺素能受体定位于一种叫膜窖(caveolae)的结构中,窖膜将之与其它两种 β 肾上腺素能受体分隔开。Na^+ 通道也定位于膜窖中。G 蛋白偶联受体的胞内信号通路为:cAMP→PKA(protein kinase)→PPI(protein phosphatase 1)→yotiao(targeting protein or anchor protein). yotiao 又叫靶向蛋白(targeting protein)或锚定蛋白(anchor protein)。研究表明:yotiao 缺乏,受体的调控信号就不能达到相应的离子通道。是否还有一套基因调节心动周期信号谱特征,尚未见有研究报导。

1.2 离子通道基因型与心电信号表现型

离子通道基因多态性或突变,如 Na^+ 通道基因(SCN5A),K^+ 通道基因(KVLQT1, HERG, KCNE1, KCNE2)等 5 类共 200 多种突变[9],常有晕厥、猝死、癫痫、室速或室颤等临床表现型[13]。其中单纯型(不伴临床表现型)又叫 R-WS(romano-ward syndrome),属于常染色体显性遗传;伴耳聋者称为 J-LNS(Jervell-Lange-Nielsen syndrome)[9,10]。可将产生 LQTS 的离子通道突变分为增功能型(gain-of-function)突变和失功能型(loss-of-function)突变[8,11]。对于具体离子通道的分类尚存争议,如文献[8]认为 LQT3(SCN5A)为增功能型(gain-of-function)突变,其余 4 种 K^+ 通道(KVLQT1, HERG, KCNE1, KCNE2)为失功能型((loss-of-function)突变,而文献[11]的观点却恰恰相反。但不管如何分类,Na^+ 通道基因突变(SCN5A)产生的 LQT2 临床表现型为:心动徐缓,A-V 传导阻滞等。对于 LQTS 现代研究的重要启示是:一些看来临床表现型似乎不相关的疾病,如神经系统疾病(癫痫等)、运动系统疾病(骨骼肌病)、先天性耳聋以及心血管疾病都有相同的病因:离子通道基因突变,都可归结为"通道病"。而这些疾病又都有共同的电生理表现型:长 QT 间期(long Q-Tinterval)。

K^+ 通道(KVLQT1, HERG)为 6 次跨膜通道,氨基(NH^{3+})与羧基(COO^-)皆在胞内,KVLQT1 基因位于染色体 11p15.5,其 mRNA 长 3127bp,Na+ 通道(SCN5A)有 4 个跨膜域,每个跨膜域有 6 个跨膜通道,且位于膜窖中[9]。SCN5A 基因位于染色体 3p21~24 上,其 mRNA 长 8491bp,从 151bp 起到 6201bp 的密码区编码 Na^+ 通道蛋白的长为 2016bp 的氨基酸序列。

Zhang 等[12]用心电信号的 ST-T 波的一些特征信息(如 T 波的宽度、形状特征、高度等)分别预测 3 种 LQTS 基因型的工作开创了用电生理信号(ECG)表现型识别 LQTS 基因型的先河。报导的对 LQT1 和 LQT2 基因携带者的正确识别率为 88%,对 LQT3 基因携带者的正确识别率为 65%。

另外,Morita 等[13]报导了 LQTS 病人的 HPS 谱分析结果:HF 带功率高于对照组、LF/HF 值低于对照组。而 Perkiomaki 等[14]则指出,LQTS 基因携带者与非携带者间及 LQTS 各亚型间的 HPS 谱参量无差别。这些都与先期报导的 HPS 参数减低是婴儿猝死的预测指标有所不同。这项研究还有待深入,主要是要改进分析技术。

2 研究基因型与生理信号表现型联系的可能方法

2.1 基因敲出技术(gene knockout)

在国际上,啮齿类动物(特别是小鼠)的心血管受体基因敲出技术已经成熟,甚至有双受体敲出技术出现,因此研究受体基因敲出后生理信号表现型的改变,从而了解相关受体的功能也就成了当前的重要研究方向。在条件成熟之后,也可研究受体基因敲出与 HPS 表现型的关系,以发现除了传统意义上的变时效应(chronotropic effect)而外,还可能存在的微分变时效应(differential chronotropic effect)和相关的基因,及可能存在的变(HPS)谱效应基因。当然,该技术也有限制,首先不是什么基因都是能敲出的,例如 Na^+ 通道基因敲出了的动物全部在胚胎期死亡[11]。该技术用于人类将更受到限制。

2.2 基因敲入技术(gene knockin)

维普资讯 http://www.cqvip.com

心血管受体基因敲入技术也多有实现，特别是用于基因治疗方面。但已有研究表明在用β受体基因敲入治疗心衰方面是"短期得益(增加正性变收缩力和变时效应)，长期痛(引起进一步的心肌肥厚和心衰)"的方法[15]。

2.3 基因敲弱技术(gene knockdown)

敲入某种基因后，使另外的相关基因的功能降低。可研究此技术使基因功能降低后对生理信号表现型的影响。

2.4 基因敲强技术(gene knockup)

除了上面提及的 knockout、knockin、knockdown 技术(简称做 3K 技术)外，还报导了敲入某种基因后，使另外的相关基因的功能增强[16]，虽然目前没有人称之为"knockup"技术，但这种技术可对应于"knockdown"，并与前三者合称为 4K 技术。对基因敲强后生理信号表现型的改变有粗浅的研究，如肌球蛋白重链启动子基因敲入后心率增加等[16]。也可用该技术研究基因(表达)功能增强后对生理信号深层次信息表现型的影响。

2.5 基因多态性(gene polymorphism)

对β肾上腺素能受体基因多态性与疾病表现型及对传统的变时效应的影响已有较多的研究[3,4]。Shihara 等[4]的研究属于基因多态性对生理信号所含深层次信息的影响，应是深入研究的重点。

联系整体生理信号表现型与基因型、用整体生理信号表现型预测基因型的研究是医学、功能分子生物学与信号处理技术的大整合，是该交叉领域当今世界的研究亮点，是生物医学信号处理技术未来的发展趋势。应大力推广和普及这种无创、快速、效价比高的技术。

参 考 文 献

[1] Emorine LJ, Marullo S, Brien - Suten MM, etal. Molecular characterization of the human beta 3 - adrenergic receptor[J]. Science, 1989; 245(4299): 1118 - 1121.

[2] Strosberg D. Structure and function of the β3 - adrenergic receptor[J]. Ann Rev Pharmacol. toxicol, 1997; 37: 421 - 450.

[3] Dzimer N. Regulation of β3 - adrenoceceptor singnaling in cardiac function and Disease[J]. Pharmacol Rev, 1999; 51(3): 465 - 502.

[4] Shihara N, Yasuda T, Mortitani T, et al. The association between Trp64Arg polymorphism of the beta3 - adrenergic receptor and autonomic nervous system activity[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1999; 84(5): 1623 - 1627.

[5] Task Force. Heart Rate Variability: standard of measurement, physiological interpretation, and clinical use[J]. Circulation, 1996; 93(5): 1043 - 1065.

[6] Xu XH, Xie ZX, Chen LC, et al. Studying the Clinic significance of ultra - low frequency band power spectra from heart period signal by comparative banded running spectra[C]. Proc. Annual Int. Conf. IEEE Eng. Med. Bio Soc. 1998, 20(1): 291 - 293.

[7] Kreutz R, Struk B, Stock p, et al. Evidence for primary genetic determinateon of heart rate regulation chromosomal mapping of a genetic locus in the rat[J]. Circulation, 1997; 96: 1078 - 1081.

[8] Hoppe UC, Marban E, johne DC. Distinct gene - specific mechanisms of arrhythmia revealed by cardiac gene transfer of LQTS gene, HERG and KCNE1[J]. PNAS, 2001; 98(9): 5335 - 5340.

[9] Splawski I, Shen JX, Timothy KW, et al. Spectrum of mutation in LQTS genes KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2[J]. Circulation, 2000; 102: 1178 - 1185.

[10] Cooper EC, Jan LY. ion channel genes and human neurological disease: recent progress, prospects, and challenges[J]. PNAS, 1999; 96(9)4759 - 4766.

[11] Papadatos GA, Wallerstein PMR, Head CEG, et al. Slowed conduction and ventricular tachycardia after targeted disruption of the cardiac sodium channel gene SCN5A[J]. PNAS, 2002; 99(9): 6210 - 6215.

[12] Zhang L, Timothy KW, Vincent GM, et al. Spectrum of ST - T - Wave patterns and repolarization parameters in congenital LQTS. - ECG finding identify genotype[J]. Circulation, 2000; 102: 2849.

[13] Morita, H, Yamanari H, Ohe T. Evaluation of autonomic nervous activity in patients with congenitial LQTS by an analysis of RR variability[J]. Jpn Circ J, 1996; 60(10): 742 - 748.

[14] Perkiomaki JS, Zareba W, Coudere JP, et al. Heart rate variability in patients with congenital LQTS[J]. Ann Noninvasive Electrocardiol, 2000; 6(4): 298 - 304.

[15] Engelhardt S, Hein L, and Wiesmann F, et al. Progressive hypertrophy and heart failure inβ_1 - adrenergic receptor transgenic mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999; 96(13): 7059 - 7064.

[16] Sheridan DJ, Autelitano DJ, Wang B, et al. Beta(2) - adrenergic receptor overexpression driven by alpha - MHC promoter is downregulated in hypertrophied and failing myocardium[J]. Cardiovasc Res, 2000; 47(1): 133 - 141.