文章编号:0253－3626(2003)01－0113－03

2 型糖尿病糖尿病肾病候选基因的研究进展

张 政[1] 综述； 彭惠民[1]，张素华[2] 审校

(1.重庆医科大学生物学教研室;2.重庆医科大学临床学院内分泌科,重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R587;240.27 【文献标识码】B 【收稿日期】2002－01－24

2 型糖尿病(2 型 DM)是一种发病率高,对人类健康危害极大的疾病,一般认为是多个遗传因子与环境因子共同作用的结果。糖尿病肾病(DN)是糖尿病致死致残的主要原因,在导致终末期肾病(ESRD)的所有疾病中 DN 占很大比例[1]。目前认为 DN 的发生除与糖尿病病程长,代谢控制不良,血流动力学改变及细胞因子分泌异常等有关外,还与遗传因素有关。糖尿病肾病具有种族异质性和家族聚集倾向,据报道 2 型 DM 黑人的终末期肾病发生率超过白人的 5 倍。在 31 个 Pima 印第安 2 型 DM 家系中,父母均无蛋白尿的家族中,子女蛋白尿发现率为 14%;在父母有一方有蛋白尿的家庭中子女蛋白尿的发生率为 23%;在父母均有蛋白尿的家庭中,子女出现蛋白尿的概率高达 46%[2]。严格控制血糖可减少 DM 慢性并发症发生,但仍有 30% 的 1 型 DM 和 15%～60%(存在种族差异)的 2 型 DM 患者最终将发生 DN,这说明高血糖是导致 DN 的必备因素,但不是唯一因素,遗传因素在其发生发展中可能起重要作用[3]。

目前,对 2 型糖尿病的易感基因定位研究有两条途径:一是候选基因(candidate gene)法,二是排除作图(exclusion mapping)法。后者需要大量的间隔分布的基因组 DNA 标记,对一定数量的家系进行连锁分析,通过统计计算,确认或排除标记位点附近的一定区域与 2 型 DM 连锁,此法虽是对未知代谢途径研究的有效方法,但因缺乏具有较多患者的合适家系而应用较少,进展较为缓慢,因此,本文重点探讨候选基因法在 2 型 DM 肾病中的进展。候选基因法是基于已知代谢途径,确定 1 个或数个可能在代谢中起重要作用的酶的基因,作为糖尿病的可能致病基因,在患者中检测这个基因或其邻近 DNA 标记,探讨该基因与疾病的关系,或此遗传标记与疾病的连锁关系。应用此方法,近年来对醛糖还原酶(AR)基因,血管紧张素－1 转化酶(ACE)基因、血管紧张素原(AGT)基因、血管紧张素 II 受体(ATR)基因、葡萄糖转运蛋白 1(GLUT1)基因等在 2 型糖尿病肾病中进行了较多研究,部分学者观察到 AR 基因 Z－2 等位基因及 C－106T 多态、ACE 基因 DD 基因型、AGT 基因 M235T 多态、AT1R 基因 A1166C 多态及 GLUT1 基因 XbaI(－)等位基因等与 2 型糖尿病 DN 有一定关系,也有学者持有异议。故以下主要讨论新近提出的候选基因研究状况。

作者介绍:张 政(1976－),女,在读硕士,
主要研究方向:多基因遗传病的研究。

1 糖代谢途径相关的基因

1.1 晚期糖基化终产物(advanced glycosylation end products, AGE)受体基因(RAGE 基因)

高血糖状态下,蛋白质的非酶性糖化,导致 AGE 形成,引起多种有害的生物学效应,导致 DM 微血管并发症的产生。RAGE 基因位于第 6 号染色体短臂的 HLA 领域。Hudsond 等报道编码 RAGE 基因外显子 3 的密码子 82 的功能性氨基酸的变异(Gly→Ser),形成 Gly82Ser 多态。在动物实验中,Yamamoto Y 等[4]在转基因糖尿病小鼠中发现 RAGE 基因在 DN 的发生发展中起重要作用。在 OLETF 小鼠的研究中发现,给予一种能抑制晚期糖基化终产物产生的物质(OPB－9195)后能通过阻止 IV 型胶原产生及抑制两种生长因子(转移生长因子 β 和血管内皮生长因子)过度产生而有效阻止 DN 的发展[5]。在人体中,Aso[6]等发现血清中高浓度 AGE 与 2 型 DM 的肾病和视网膜病变严重程度呈正相关;OnoY 在 125 例日本 2 型 DM 或者及 63 例正常对照中发现 AGE 在 2 型 DM 组较正常组显著增高($P<0.05$),且血清 AGE 与 DN 的程度显著相关。

1.2 一氧化氮合酶(nitric oxide synthases, NOS)基因

哺乳动物心血管细胞存在两种类型 NOS:存在于血管内皮细胞中的 NOS 属结构型(constitutive NOS, cNOS),存在于血管平滑肌细胞的 NOS 属诱导型(inducible NOS, iNOS),前者包括神经元型(nNOS)和内皮细胞型(eNOS),DM 微血管并发症早期时,iNOS 生成过量 NO 参与并发症损伤机制,如肾小球的高滤过状态,血管通透性增高等,晚期时由于 AGE,自由基等促 NO 灭活因子及 NOS 活性异常使 NO 含量减少,通过血流动力学和代谢等方面,影响肾脏微血管床,加速肾小球基底膜和基质增生,导致肾小球血管壁结构和功能的紊乱。NOS 是内源性 NO 生成的限速酶。人 eNOS 基因位于 7q35－36 区域,长约 21kb,含 26 个外显子;nNOS 基因定位于 12q24.2－24.31 区域,长约 120kb,含 28

个外显子;iNOS 基因定位于 17cen→q11.2 区域,长约 37kb,包含 26 个外显子。Zhou XJ[7]等在研究糖尿病微血管并发症鼠中发现 eNOS 表达下降,iNOS 表达增加,而 NO 含量却减少,提示糖尿病微血管并发症鼠肾脏可能存在 NO 合成障碍和/或降解加速。Warpeha-KM 等[8]在糖尿病患者中发现 iNOS 基因 5 上游启动子区域内有一$(CCTTT)_n$五核苷酸的微卫星重复序列,在北爱尔兰 1 型 DM 和 2 型 DM 患者中 DN 的$(CCTTT)_{14}$等位基因频率显著性减少,此后,丹麦学者也证实了该等位基因在 DN 中的频率显著性减少,提示此等位基因可能是 DN 的保护性基因[9]。此外,Freedman BI 等[10]在 168 个南非家系的 361 例受试者(207 例各种疾患引起的 ESRD 患者,92 例 2 型 DM 引起的 ESRD)中发现 nNOS 基因的第 7 和第 9 号等位基因在 2 型 DM 中的频率有显著性增加($P<0.01$),提示 nNOS 基因在 2 型 DM 的 ESRD 有重要作用。目前在 eNOS 基因发现 4 种可能影响 DM 微血管并发症易感性的多态或突变:eNOS 基因启动子区 T-786C 多态;第 4 内含子 27bp 的短串联重复序列多态;第 7 外显子 G894T 多态及第 13 内含子(CA)n 微卫星多态,尤其是 eNOS 基因第 4 内含子的 a 等位基因与 2 型 DM 肾病关系密切。

2 脂代谢有关的基因

自从 1982 年 Moorhead 提出"脂质肾毒性学说"以来,脂质代谢紊乱在慢性进行性肾损害发生发展中的重要作用已引起肾脏病学界的广泛关注。

2.1 载脂蛋白 E(ApoE)基因

ApoE 基因位于第 19 号染色体长臂上,长 3.6kb,含 4 个外显子和 3 个内含子,常见的共显性等位基因 ε_2、ε_3 和 ε_4 分别编码 3 种蛋白异构体 E2、E3 和 E4。虽然芬兰学者认为 ApoE 多态性与 2 型 DM 并发症无显著相关[11],但韩国学者发现 E2 等位基因在 DN 组高于非 DN 的 2 型 DM 组[12]。Horita 等研究发现在日本 2 型 DM 患者中,携带 ApoE2 是 2 型 DM 发生 DN 及加速 DN 发展至 ESRD 的因素之一。之后,Kumaro 等再次对日本 2 型 DM 患者进行研究,观察到有 ApoE4 基因者 DN 发生率降低,再次证明 2 型 DM 患者 ApoE 遗传多态性与其肾功能恶化衰竭有关。由此提示,ApoE4 可能是 DN 的易感基因,而 E2 可能是 DN 的保护性基因。

2.2 载脂蛋白 A(ApoA)基因

ApoA 基因位于 11q13-qser,含有 4 个外显子和 3 个内含子,长 14.1kb。载脂蛋白 A 与低密度脂蛋白组成脂蛋白 a 即 LP(a)。1990 年 Takegoshi T 已报道血清 LP(a)水平升高预示着发生 DN 独立致病因素的存在。有报道 LP(a)与老年 2 型 DM 的 DN 患者显著相关,但更多的报道是其与冠心病及糖尿病大血管病变等疾病的关系。

3 蛋白质代谢有关的基因

目前发现除糖代谢和脂代谢外,蛋白质代谢失衡-高同型半胱氨酸血症(HHcy)参与 DM 慢性血管并发症的发生,研究表明高同型半胱氨酸血症与白蛋白排泄率及糖尿病肾病有关,认为同型半胱氨酸是独立于高血压、糖尿病、蛋白摄入和肾功能之外的影响尿蛋白排泄率的因素[13]。

3.1 亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因

MTHFR 基因是同型半胱氨酸血症(Hcy)代谢途径的关键酶之一。人类 MTHFR 基因定位于染色体 1p36.3,全长 2.2kb,有 11 个外显子和 10 个内含子。MTHFR 基因中 677C→T 为一常见的热不稳定性遗传变异,这种变异导致 MTHFR 中丙氨酸(Ala)被缬氨酸(Val)取代,从而使酶活性下降,发生 HHcy,引起血管内皮细胞损伤和毒性作用。实验证明,欧洲白种人群、日本及中国黄种人群、非洲黑种人群及美国人群中均存在 MTHFR 基因 677 位点多态性,但其多态性频率因人群的不同存在着差异,因此,在 2 型 DM 肾病与 MTHFR 基因 C677T 位点多态性研究中,报道亦存在差异。在以色列犹太人群[14]和中国人群中发现 MTHFR 基因 C677T 碱基突变是促进 2 型 DM 并发肾病的危险因子,且突变 T 等位基因是 DN 的易感基因,与 Neugebaner S[15]及 Bluthner M[16]在 2 型 DM 中的研究一致;但 Odawara M 等及 Fujita H 等分别在日本人群中,Mazza A 等在意大利人群中[17]发现该基因 C677T 多态性与 2 型 DM 患者 DN 无关。研究发现[18],MTHFR 基因 1298A→C 多态也与酶活性有关,即正常型(1298AA)酶活性最高;杂合型(1298AC)较低;纯合型(1298CC)最低,且所有纯合突变型(1298CC)其 677 位核苷酸为纯合突变型 677TT,间接表明 1298A→C 多态可能与 2 型糖尿病 DN 有关,但尚无相关报道,需进一步研究。

3.2 其它 Hcy 代谢相关酶基因

由于 MTHFR 基因 C667T 与 DN 有一定关联的发现,其它 Hcy 代谢相关酶基因,如胱硫醚 β 缩合酶(CBS)基因,甲硫氨酸合成酶(MS)基因等与 DN 的关系也在大量研究中。Mudd SH 等发现同型半胱氨酸血症病人血浆总同型半胱氨酸水平明显升高,且 CBS 活性明显下降甚至不能测到。CBS 基因 833C→T 突变者血浆总同型半胱氨酸水平明显高于非突变者。但 Jacobs RL[19]等在糖尿病小鼠中发现肾脏的 CBS 活性无改变,MS 基因也无相关报道,因此 Hcy 代谢相关酶基因与 DN 的关系尚需进一步研究。

4 结 语

由于病例选择、种族差异、研究方法、样本含量等因素,至今尚无公认的与 2 型 DM 肾病发病肯定相关的基因。因此,选择适当家系,增加样本量,严格控制实验方法,运用高度多态性、高杂合度、高信息含量的遗传标记,如微卫星和单

核苷酸多态性的研究,结合人类基因组计划的成果,进行跨区域、多种族人群研究,必将推动疾病基因组学的发展,从而找出与疾病发生确实相关的致病基因。

参 考 文 献

[1] Tamow L. Genetic pattern in diabetic nephropathy[J]. Nephrol Dial Transplant, 1996;11:410 - 412.

[2] Ritz E Stefanski A. Diabetic nephropathy in type II diabetes[J]. Am J Kidney Dis, 1996;27:167.

[3] Chowdhury TA, Dyer PH, Kumar S, et al. Genetic determinants of diabetic nephropathy[J]. Clin Sci, 1999;96:221 - 230.

[4] Yamamoto Y, Yamagishi S, Yonekura H. Roles of the AGE - RAGE system in vascular injury in diabetes[J]. Ann N Y Acad Sci, 2000;902:163 - 70. disscussion;170 - 172.

[5] Tsuchida K, Makita Z, Ymagishi S, et al. Suppression of transforming growth factor beta and vascular endothelial growth factor in diabetic nephropathy in rats by a novel advanced glycation end product inhibitor, opb - 9195[J]. Diabetologia, 1999;42(5):579 - 588.

[6] Aso Y, Inukai T, Tayama K, et al. Serum concentrations of advanced glycation end products are associated with the development of atherosclerosis as well as diabetic microangiopathy in patients with type 2 diabetes[J]. Acta Diabetol, 2000;37(2):87 - 92.

[7] Zhou XJ, Laszik Z, Xli Z. Down - regulation of renal endothelial nitric oxide synthase expression in experimental glomerular thrombotic microangiopathy[J]. Lab Invest, 2000;80(7):1079 - 1089.

[8] Warpeha KM, Xu W, Lin L, et al. Genotyping and functional analysis of a polymorphic$(CCTTT)_n$ repeat of NOS2A in diabetic retinopathy[J]FASEB - J, 1999 13(13):1825 - 1832.

[9] Johannesen J, Tamow L, Parving H, et al. CCTTT - repeat polymorphism in the human NOS2 - promoter confers low risk of diabetic nephropathy in type l diabetic patient[J]. Diabetes Care, 2000, 23(4):560 - 562.

[10] Freedman BI, Yu H, Anderson PJ, et al. Genetic analysis of nitric oxide and endothelin in end - stage renal disease Nephrol[J]. Dial Transplant, 2000;15(11):1794 - 1800.

[11] Vauhkonen I, Niskanen L, Ryynanen M, et al. Divergent association of apolipopotein E polymorphism with vascular disease in patients with NIDDM and control subjects[J]. Diabet Med, 1997;14(9):748 - 756.

[12] Ila SK Park IlS, Kim KW. Association between apolipoprotein E polymorphism and microalbuminuria in patients with non - insulin dependant diabetes mellitus[J]. Nephrol Dial Transplant, 1999;14(9):2144 - 2149.

[13] Stabler SP, Estacio R, Jeffers BW, et al. Total homocysteine is associated with nephropathy in non - insulin - dependent diabetes mellitus[J]. Metabolism, 1999;48:1096 - 1101.

[14] Shpichinetsky V, Raz I, Friedlander Y, et al. The association between two common mutations C677T and A1298C in human methylenetetrahydrofolate reductase gene and the risk for diabetic nephropathy in type 2 diabetic patients[J]. J Nutr, 2000 ;130(10):2493 - 2497

[15] Neugebaner S, Baba T, Watanabe T, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism as a risk factor for diabetic nephropathy in NIDDM patient[J]. Lancet, 1998;352:454.

[16] Bluthner M, Brantgens A, Schmidt S, et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism and diabetic nephropathy in type 2 diabetes[J]. Nephrol Dial Transplant, 1999;14(1):56.

[17] Mazza A, Motti C, Nulli A, et al. Lack of association between carotid intima - media thickness and methylenetetrahydrofolate reductase genepolymorphism or serum homocysteine in non - insulin - dependent diabetes mellitus [J]. Metabolism, 2000;49(6):718 - 723.

[18] Van der Put NMJ, Gabreels F, Steverns EM , et al. A second common mutation in the methylenetetrahydrofolate reductase gene: an additional risk factor for neural - tube defects [J]? Am J Hum Genet, 1998;62:1044 - 1051.

[19] Jacobs RL, House JD, Brosnan ME , et al. Effects of streptozotocin - induced diabetes and of insulin treatment on homocysteine metabolism in the rat[J]. Diabetes, 1998;47(12):1967 - 1970.