

· 临床研究 ·

肾上腺素 β_3 受体基因 W64R 多态性与苯那普利疗效之间的关系

赵晓涛 霍勇 张春斐 张岩 黄爱群 郝克 徐希平

【摘要】 目的 探讨肾上腺素 β_3 受体基因 W64R 多态性与原发性高血压患者苯那普利降压疗效之间是否存在相关性。方法 在安徽省安庆及霍邱地区人群中筛选原发性高血压患者 1170 名,所有患者予苯那普利 10 mg 每日一次口服 15 d,测定其用药前后的血压,并进行肾上腺素 β_3 受体基因 W64R 基因型测定,观察其血压下降情况与基因型的关系。结果 (1)在中国南方汉族原发性高血压患者中,ADRB β_3 W64R 多态性位点的基因型频率是:WW 基因型 72.8%、WR 基因型 25.4%、RR 基因型 1.8%。(2)苯那普利 10 mg 每日一次口服 15 d,女性患者收缩压下降水平在 ADRB β_3 W64R 多态性位点各基因型之间差异具显著性,WR/RR 基因型者比 WW 基因型者收缩压下降少 3.49 mmHg ($P=0.03$)。(3)药物治疗 15 d 后女性患者第 16 天收缩压降至 140 mmHg 以下、舒张压降至 90 mmHg 以下或下降幅度 $\geq 15\%$ 的达标率,WR/RR 基因型低于 WW 基因型 ($OR=0.65, P<0.05$)。结论 在女性原发性高血压患者肾上腺素 β_3 受体基因 W64R 多态性与原发性高血压患者苯那普利降压疗效之间存在相关性,可能为预测苯那普利降压疗效的一个预报因子,指导临床用药。

【关键词】 肾上腺素 β_3 受体基因;多态性;原发性高血压;苯那普利

Relation between beta3-adrenergic receptor gene W64R polymorphism and the therapeutic efficacy of benazepril

ZHAO Xiaotao, HUO Yong, ZHANG Chunfei, et al

Cardiology Center, Affiliated Beijing Chaoyang Hospital, Capital Medical University, Beijing 100020, China

【Abstract】 Objective To examine whether there is correlation between the beta3-adrenergic receptor (ADRB β_3) gene W64R polymorphism and the therapeutic response to benazepril in hypertensive patients. Methods A total of 1170 hypertensive individuals were recruited from Anhui, China, and were treated with benazepril for a period of 15 consecutive days. The frequency of cytosine-to-thymidine mutation that resulted in the replacement of tryptophan by arginine at position 64 (W64R) was studied by restriction-enzyme digestion with Msp I. Then the association between the drug efficacy and the W64R polymorphism was investigated. Results The frequency of W64R polymorphism was 72.8% in WW genotype, 25.4% in WR genotype and 1.8% in RR genotype. A significant pharmacogenetic impact on the W64R variation was revealed. After the drug administration, compared with WW homozygotes, the WR and RR genotypes showed less systolic blood pressure (SBP) reduction by 3.49 mmHg ($P=0.03$) in women and the WR and RR groups also showed significantly weaker effects of the benazepril medication on female SBP ($OR=0.65, P<0.05$). Conclusions These findings strongly suggest that the variation in response to ACEI might be partially determined by ADRB β_3 genotype.

【Key words】 beta 3-adrenergic receptor gene; polymorphism; essential hypertension; benazepril

高血压是我国患病率最高的疾病之一。长期高血压可成为多种心血管疾病的重要危险因素,并影响重要脏器如心、脑、肾的功能,最终可导致这些器

官的功能衰竭。目前控制血压主要通过药物治疗,血管紧张素转换酶抑制剂(ACEI)类药物是临床常用的一线药物。临床实践表明,不同的个体在接受同一种药物治疗时,药物所产生的效果、副作用等情况存在着明显的个体化差异。

目前认为药物效应的个体化差异是遗传与环境因素共同作用的结果^[1]。药物效应可能与相应基因的多态性有关。ACEI 类药物主要作用于血管紧张素转换酶(ACE),近年研究发现 ACEI 还可通过改善胰岛素抵抗而引起血压下降。因此和胰岛素抵抗相

收稿日期:2003-04-17

作者单位:100020 北京市,首都医科大学附属北京朝阳医院心脏中心(赵晓涛);100034 北京市,北京大学第一医院心内科(霍勇、张岩);100011 北京市,解放军总政治部机关门诊部(张春斐);230027 合肥市,安徽医科大学(黄爱群、郝克、徐希平)

作者简介:赵晓涛,女,1974 年 1 月生,山西人,医学硕士

通讯作者:徐希平, Tel:0551-5161211

关的基因也可能与药物作用相关,但目前尚无大规模的临床试验证实这种假设。肾上腺素 β_3 受体 (ADRB₃) 主要分布在脂肪组织,与脂肪分解和生热作用有关^[2]。近年来研究发现 ADRB₃ 基因 W64R 多态性与肥胖、胰岛素抵抗、2 型糖尿病、高血压相关^[2-8]。本研究用大样本观察临床常用 ACEI 类药物苯那普利的疗效与 ADRB₃ W64R 多态性之间的关系,探讨个体对降压药物不同反应的遗传机制,为个体化的治疗提供理论依据。

1 对象与方法

1.1 对象 安徽省安庆和霍邱地区无汉族高血压患者 1170 例,年龄 26~66 岁,进入研究队列前 2 周内无任何服药史,收缩压在 140.25~237.00 mmHg 和(或)舒张压在 90.00~140.25 mmHg。

除外下列情况:继发性高血压,肝肾功能不全,双侧肾动脉狭窄,高钾血症,严重心律失常,心肌梗死,脑卒中,近期有心力衰竭史等其他严重内科疾患,有胃十二指肠手术史者,既往对所用药过敏者,孕妇及哺乳期妇女。

1.2 方法 (1)流行病学资料收集:入院时通过问卷访谈方式对患者进行高血压的流行病学调查,用以收集患者治疗前的饮食、生活习惯、疾病及相关的治疗情况等流行病学信息。在治疗期间患者每 3 d 接受服药随访日记调查,记录服药期间的主要症状、日常生活及医疗情况。(2)血压测量:经过筛选合格的原发性高血压患者隔夜禁食后,清晨空腹进入研究中心。患者于休息 15 min 后测量坐位血压,平卧 5 min 后测量平卧位血压(血压值均是以台式水银血压计测量 3 次计算的平均值,以柯氏第 I 音和第 V 音为收缩压和舒张压判断标准)。经过体格检查及询问病史最终确认符合入选标准后,患者签署知情同意书进入研究队列。患者第 1 天住院治疗,平卧位休息 1 h 后测量卧位血压,即刻口服苯那普利 10 mg。第 2 天起患者带药出院治疗,正常饮食,每日上午 9~10 点,口服苯那普利 10 mg,总疗程 15 d。患者服药期间避免合并用药,尤其是降压药物。患者于服药第 16 天(停药第 1 天)经隔夜禁食后再次清晨空腹入院,平卧位休息 1 h 后测量平卧位血压后结束观察。(3)ADRB₃ 基因 W64R 多态性测定:用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) *Msp* I 酶切法对研究对象进行基因分型,等位基因 R64 产生新的 *Msp* I 酶切位点。引物序列: ADRB₃-64F: 5' CAATACCGCCAACACCAGTGG 3',

ADRB₃-64R: 5' GGTTCATGGTCTGGAGTCTCG 3'。反应体系终浓度:1 × PCR Buffer、MgCl₂ 2.0 mmol/L、dNTP 200 μmol/L、primer 0.3 μmol/L、hotstartTaq 酶 0.0225 U/μl。PCR 反应条件:94℃预变性 15 min;94℃变性 30 s、64℃退火 45 s、72℃延伸 45 s,共 35 个循环;72℃延伸 7 min。酶切反应:15 μl 反应体系(PCR 产物 10 μl、10 × NEB2 酶切反应缓冲液 1.5 μl、*Msp* I 内切酶 0.3 μl、dH₂O 3.2 μl)。酶切产物置于 EB 染色的 3.5% 琼脂糖凝胶以 200 V 电压恒压电泳 120 min,紫外灯下观察。含有 99 个碱基对(bp)大小片段的为 WW 基因型,含有 99 bp 和 70 bp 大小片段的为 WR 基因型,含有 70 bp 大小片段的为 RR 基因型。(4)统计分析:用 EPI-INFO 6.0 软件建立录入数据库,所有数据均实行双次录入和录入检错。所有统计分析均在 SAS 6.12 软件包中进行。主要采用的多因素统计分析方法为 GEE (generalized estimating equation) 模型和 Logistic 回归分析。分析前首先确定 Hardy-Weinberg 平衡。因在本研究人群中 RR 基因型少见,将其与 WR 基因型合并,即以 WW 和 WR/RR 两组进行比较。在线性回归方程,将血压下降值(基线血压与用药后血压的差值 P) 当作应变量。在 Logistic 回归分析中,将药物反应定义为二项分布变量进行。由于环境因素和人口统计学因素也会影响患者对苯那普利的反应,在回归模型中对年龄、体重指数、性别、吸烟、饮酒状况进行了调整。在本研究人群中包括遗传上相关的同胞对,应用 GEE 模型消除来自家族内部的影响。

2 结果

本研究共收集 1170 例原发性高血压患者病例,其中 1048 人随访完全,122 人随访过程中退出了研究。研究对象的一般情况及遗传学情况见表 1。对 1170 例患者进行了基因分型,ADRB₃ W64R 多态性位点的基因型频率:WW 基因型 72.8%,WR 基因型 25.4%,RR 基因型 1.8%。基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡。

WW 和 WR/RR 基因型患者基线收缩压和舒张压水平没有显著差异(表 2)。而苯那普利治疗 15 d 后收缩压下降程度在女性患者与 ADRB₃ W64R 多态性显著相关(表 3),WR/RR 基因型女性高血压患者收缩压下降程度比 WW 基因型患者低 3.49 mmHg ($P=0.03$)。进一步将药物反应用二项分布变量表示,如表 4 所示,WW 为对照组,WR/RR 基因型患者经苯那普利治疗 15 d 后的收缩压达标率在女性患

者较低 ($OR = 0.65, P < 0.05$)。

表 1 研究对象一般情况 ($\bar{x} \pm s$)

一般情况	男性 ($n = 428$)	女性 ($n = 483$)
年龄(岁)	47.4 ± 8.2	47.0 ± 7.1
身高(cm)	166.3 ± 6.3	155.8 ± 5.4
体重(kg)	66.2 ± 11.4	59.2 ± 10.2
基线收缩压(mmHg)	155.1 ± 19.4	158.9 ± 17.1
基线舒张压(mmHg)	97.8 ± 10.9	95.0 ± 9.5
服药后收缩压(mmHg)	138.7 ± 18.8	144.5 ± 19.2
服药后舒张压(mmHg)	87.0 ± 12.8	87.7 ± 11.5
ADRB3 W64R 基因型(%)		
WW	298	364
WR	122	112
RR	8	7

3 讨论

本研究表明在中国南方汉族高血压患者中, ADRB3 W64R 基因型的 R64 等位基因频率为 15%, 与项坤三等^[4]报道的 16% 相似。

本研究首次应用大样本研究了 ADRB3 W64R 多态性与 ACEI 类降压药物苯那普利疗效之间的关系。患者进入研究前 2 周内未服用任何降压药, 在服用苯那普利过程中未联用其他降压药, 而且患者来自同一地区, 饮食习惯和环境较一致, 所以最大程度地降低了饮食、环境及药物之间相互作用对药物疗效的影响。同时将药物反应表示为连续变量和二项分布变量进行统计分析结论一致, 进一步保证了结果的可靠性。

表 2 ADRB3 W64R 基因型和基线血压的关系*

ADRB3 基因型	总体		男性		女性	
	$\bar{x} \pm s$	β (P 值)	$\bar{x} \pm s$	β (P 值)	$\bar{x} \pm s$	β (P 值)
SBP						
WW	153.1 ± 18.2	-	150.6 ± 19.1	-	155.2 ± 17.1	-
WR/RR	153.0 ± 17.7	-0.4 (0.71)	150.2 ± 18.1	-1.2 (0.49)	155.8 ± 16.9	0.11 (0.94)
DBP						
WW	94.5 ± 9.7	-	93.5 ± 9.0	-	93.5 ± 9.0	-
WR/RR	93.8 ± 9.5	-1.0 (0.12)	92.9 ± 9.1	-1.3 (0.16)	92.9 ± 9.1	-0.8 (0.33)

* 调整因素为年龄、性别、吸烟、饮酒、体重指数; SBP: 收缩压; DBP: 舒张压; β : 回归系数

表 3 服药 15 d 后血压下降值随基因型分布的多因素分析 (GEE model)*

ADRB3 基因型	总体		男性		女性	
	$\bar{x} \pm s$	β (P 值)	$\bar{x} \pm s$	β (P 值)	$\bar{x} \pm s$	β (P 值)
SBP						
WW	13.4 ± 16.9	-	13.2 ± 16.4	-	13.5 ± 17.3	-
WR/RR	11.7 ± 17.1	-1.1 (0.38)	14.5 ± 17.8	1.93 (0.28)	9.6 ± 16.3	-3.49 (0.03)
DBP						
WW	9.1 ± 11.2	-	10.0 ± 12.1	-	8.4 ± 10.4	-
WR/RR	8.3 ± 12.1	-0.3 (0.75)	9.5 ± 13.4	1.05 (0.44)	7.0 ± 10.4	-1.51 (0.21)

* 调整因素同表 2

表 4 不同基因型的患者服药第 16 天的血压达标率 (GEE model)*

ADRB3 基因型	总体		男性		女性	
	Odds Ratio	95% CI	Odds Ratio	95% CI	Odds Ratio	95% CI
SBP [§]						
WW ^{§§}	1	-	1	-	1	-
WR/RR	0.80	0.58 ~ 1.09	1.01	0.62 ~ 1.65	0.65**	0.42 ~ 1.00
DBP [§]						
WW ^{§§}	1	-	1	-	1	-
WR/RR	0.85	0.61 ~ 1.20	1.03	0.63 ~ 1.37	0.71	0.42 ~ 1.19

* 调整因素同表 2; 95% CI: 95% 可信区间; ** $P < 0.05$; § 本研究中以患者服药后收缩压下降至 140 mmHg 以下、舒张压下降至 90 mmHg 以下定义为达标; §§ 对照组

高血压是多基因复杂疾病,其发病与 ACE 基因、ADR β 3 基因等多个基因相关。国外研究发现主要分布于脂肪组织的 β 3-AR 基因变异可能为胰岛素抵抗(ISR)、肥胖病(尤其向心性肥胖)、2 型糖尿病和高血压病的共同致病因素之一。有研究发现,ISR 是组织基础缺陷,存在于血压升高之前,提示 ISR 在 EH 发病机制中可能起原发因素作用^[9]。ADR β 3 基因突变可能改变其编码的 β 3-肾上腺素受体的功能,影响体内代谢过程,如血糖、血脂、体重指数,间接参与了高血压的发生发展。但 Takumi 等^[3]的研究结果显示,ADR β 3 W64R 多态性对血压的影响是因为其对血管壁有一个直接的作用。因而 ADR β 3 基因直接或间接参与了高血压的发病过程,ADR β 3 基因可能与影响降压效果的其他基因相互作用,共同参与了血压下降的调节过程。

ACEI 类药物主要作用于 ACE,但此类药物不仅仅作用于 ACE,它有更复杂、更广泛的作用通路。国内外研究发现苯那普利对胰岛素抵抗、高胰岛素血症、糖耐受有明显的改善作用^[10-12]。Chow 等^[13]发现在自发性高血压大鼠,苯那普利可明显抑制正常体重的增加。因此与肥胖及胰岛素抵抗相关的 ADR β 3 基因的突变可能是导致不同基因型患者对 ACEI 类药物不同反应的原因之一。

苯那普利每日一次服药,降压效果达到稳态水平大约需要 1 周,在 1~2 周血压下降达最大值,此后不再增加。根据盐酸苯那普利的药代动力学特点,我们观察了治疗 15 d 后血压下降与苯那普利的关系。但 ADR β 3 W64R 多态性与 ACEI 类降压药物苯那普利长期疗效之间的关系还需进一步研究。

国外研究发现,ADR β 3 基因多态性与肥胖、高血压、2 型糖尿病的关系具性别差异^[2-4,9,13],本实验在男性和女性患者也观察到 ADR β 3 基因对苯那普利疗效的影响不同,可能与体内激素水平有关,尚需进一步探讨。

4 结 论

苯那普利的疗效与候选基因 ADR β 3 W64R 的多态性存在着联系,以服药后血压下降程度作为评价疗效指标,在女性高血压患者 WW 基因型优于 WR/RR 基因型。以第 16 天血压达标率作为评价疗效指标,在女性高血压患者 WW 基因型也优于 WR/RR 基因型。因此,肾上腺素 β 3 受体基因 W64R 多态性

可能为预测苯那普利降压疗效的一个预报因子,以期指导临床应用。

参 考 文 献

- 1 Dudley C, Keavney B, Casadei B, et al. Prediction of patient responses to antihypertensive drugs using genetic polymorphisms: investigation of renin - angiotensin system genes. *J Hypertens*, 1996, 14: 259.
- 2 Ringel J, Kreuzt R, Distler A, et al. The Trp64Arg polymorphism of the beta3-adrenergic receptor gene is associated with hypertension in men with type 2 diabetes mellitus. *Am J Hypertens*, 2000, 13: 1027-1031.
- 3 Takumi K, Kacid G, Carey P, et al. The beta3 - adrenergic receptor gene Trp64Arg mutation is overrepresented in obese women. *Diabetes*, 1996, 45: 1358-1363.
- 4 项坤三, 贾伟平, 陆惠娟, 等. β 3-肾上腺素受体基因 Trp64Arg 突变对中国人血脂、血糖与血脂水平、胰岛素分泌及作用的影响. *中华医学遗传学杂志*, 1998, 15: 337-340.
- 5 Hiroko K, Kazuki Y, Keishi I, et al. A mutation in the β 3 - adrenergic receptor gene is associated with obesity and hyperinsulinemia in Japanese subjects. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, 215: 555-560.
- 6 Yoshida T, Sakane N, Umekawa T, et al. Mutation of β 3-adrenergic receptor gene and response to treatment of obesity. *Lancet*, 1995, 346: 1433-1434.
- 7 Widen E, Lehto M, Kanninen T, et al. Association of a polymorphism in the β 3-adrenergic receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. *N Engl J Med*, 1995, 333: 348-351.
- 8 Clement K, Vaiss C, Mannin BSJ, et al. Genetic variation in the β 3 - adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med*, 1995, 333: 352-354.
- 9 Falkner B, Hulmans D, Tannenbaum J, et al. Insulin resistance in young black man. *Hypertension*, 1990, 113: 909.
- 10 林文辉, 宋于康, 马湘俊. 苯那普利对高血压患者胰岛素抵抗的影响. *心肺血管杂志*, 1999, 18: 251-252.
- 11 Wu Z, Bao X. Effects of benazepril on insulin resistance and glucose tolerance in uremia. *Clin Nephrol*, 1998, 50: 108-112.
- 12 De Feo P, Tordone E, Perriello G, et al. Short-term metabolic effects of the ACE-inhibitor benazepril in type 2 diabetes mellitus associated with arterial hypertension. *Diabete Metab*, 1992, 18: 283-288.
- 13 Chow L, De Gasparo M, Levens N. Improved glucose metabolism following blockade of angiotensin converting enzyme but not angiotensin AT1 receptors. *Eur J Pharmacol*, 1995, 282: 77-86.