

## ADRB2 基因多态性/单倍型与中国汉族人群哮喘的相关性

陈慧芬<sup>1</sup>, 张德平<sup>1\*</sup>, 邱玉英<sup>1,2\*</sup>, 肖永龙<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学鼓楼临床医学院呼吸科, 江苏 南京 210008; <sup>2</sup>南京大学医学院附属鼓楼医院呼吸科, 江苏 南京 210008)

**[摘要]** **目的:** 研究中国汉族人群  $\beta_2$  肾上腺素能受体 (beta-2 adrenergic receptor, ADRB2) 基因单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP)/单倍型与哮喘的相关性。**方法:** 采用 Taqman 探针法对 379 例哮喘患者和 435 例健康对照者 ADRB2 基因 6 个位点 (-2 387, -47, 46, 79, 491 和 523 位) 进行基因分型, 并通过 SHEsis 在线平台确定其单倍型。**结果:** -47 位等位基因分布频率在哮喘组与对照组间差异有统计学意义 (OR: 0.687, 95%CI: 0.497~0.951,  $P < 0.05$ ), CT、CC + CT 基因型分别与 TT 基因型相比, 在两组间差异有统计学意义 (OR 分别为 0.685、0.672, 95%CI 分别为 0.480~0.976、0.474~0.952,  $P < 0.05$ )。79 位等位基因在哮喘组与对照组之间的频率分布差异有统计学意义 (OR: 0.687, 95%CI: 0.497~0.951,  $P < 0.05$ )。CG、GG + CG 基因型分别与 CC 基因型相比较, 在两组间差异均有统计学意义 (OR 分别为 0.685 和 0.672, 95%CI 分别为 0.480~0.976、0.474~0.952,  $P < 0.05$ )。-2 387 位、46 位和 523 位各基因型频率和等位基因频率在哮喘组与对照组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 哮喘组与对照组 491 位点均为野生纯合基因型, 未发现突变型等位基因。-47 位与 79 位间存在强烈的连锁不平衡 ( $D' = 0.987, r^2 = 0.974$ ), 46 位与 523 位存在较强的连锁不平衡 ( $D' = 0.996, r^2 = 0.593$ )。哮喘组单倍型 III (CCGGC) 分布频率在两组间差异有统计学意义 (OR = 0.696, 95%CI: 0.502~0.966,  $P < 0.05$ )。**结论:** ADRB2 基因 -47 位、79 位多态性和单倍型 III (CCGGC) 可能与中国汉族人群哮喘的易感性相关。-2 387、46、491 和 523 位多态性/单倍型与哮喘易感性无关。

**[关键词]** 哮喘;  $\beta_2$  肾上腺素能受体基因; 多态性; 单倍型

**[中图分类号]** R562.2+5

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2014)03-323-07

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20140309

## Association between ADRB2 gene polymorphisms/haplotypes and asthma in a Chinese Han population

Chen Huifen<sup>1</sup>, Zhang Deping<sup>1\*</sup>, Qiu Yuying<sup>1,2\*</sup>, Xiao Yonglong<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Respiratory Medicine, the Drum Tower Clinical Medical College of NJMU, Nanjing 210008;

<sup>2</sup>Department of Respiratory Medicine, Drum Tower Hospital Affiliated to Medical College of Nanjing University, Nanjing 210008, China)

**[Abstract]** **Objective:** The aim of this study was to evaluate the potential relationship between single nucleotide polymorphisms/haplotypes of beta-2 adrenergic receptor (ADRB2) gene and asthma in a Han Chinese population. **Methods:** Six loci (-2 387, -47, 46, 79, 491 and 523 loci) of ADRB2 gene were genotyped by the TaqMan probe assay in 379 asthmatics and 435 healthy controls, and the haplotypes were also analyzed by the SHEsis online platform. **Results:** There was significant difference in allele frequency distribution of -47 locus between asthmatic patients and control subjects (OR: 0.687, 95% CI: 0.497~0.951,  $P < 0.05$ ). Compared with TT genotype, the CT and CC + CT genotype both had significant difference (OR were 0.685, 0.672, respectively; 95% CI were 0.480~0.976, 0.474~0.952, respectively; both  $P < 0.05$ ). There was also significant difference in allele frequency distribution of 79 loci between asthmatic patients and control subjects (OR: 0.687, 95% CI: 0.497~0.951,  $P < 0.05$ ). Compared with the CC genotype, the CG and CC + CG genotype both had significant difference (OR were 0.672, 0.687, respectively; 95% CI: 0.480~0.976, 0.474~0.952, respectively; both  $P < 0.05$ ). There were no significant differences in genotype or allele frequencies of loci of -2 387, 46 and 523 between the two groups (all  $P > 0.05$ ). The mutant allele at 491 locus was not observed and only the homozy-

**[基金项目]** 南京市卫生局卫生青年人才培养工程(第一层次)资助;江苏省医学重点学科(实验室)开放课题(KF200918);江苏省医学重点学科开放课题(XK200713)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: dpzhan9207@yahoo.com; qiuyuying1402@sina.com

gous wild-type was found in both asthmatic patients and control subjects. A strong linkage disequilibrium was found between -47 and 79 loci ( $D' = 0.987, r^2 = 0.974$ ) and between 46 and 523 loci ( $D' = 0.996, r^2 = 0.593$ ). There was significant difference in the haplotype III (CCGGC) distribution frequency between asthmatic patients and control subjects (OR = 0.696, 95%CI: 0.502-0.966,  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The polymorphisms of -47, 79 loci and the haplotype III (CCGGC) of ADRB2 gene may contribute to susceptibility of asthma in Chinese Han population. There were no association between the polymorphisms/haplotypes of -2387, 46, 491, 523 loci and asthma susceptibility.

[Key words] asthma; ADRB2 gene; polymorphism; haplotype

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(03): 323-329]

支气管哮喘(简称哮喘)是最常见的慢性呼吸道疾病之一,是由遗传因素和环境因素共同作用的多基因遗传病。哮喘的发病机制尚不完全清楚。在哮喘的相关研究中, $\beta_2$ 肾上腺素能受体(beta-2 adrenergic receptor, ADRB2)基因一直是国际上的研究热点。ADRB2基因多态性广泛存在于不同地域和不同种族人群中,大量研究显示ADRB2基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)/单倍型能够改变ADRB2的表达和功能<sup>[1-3]</sup>,而且在一定程度上与哮喘的易感性、病情严重程度、夜间哮喘、血清IgE及药物治疗反应性等表型有关<sup>[4-9]</sup>,但研究结果并不完全一致。此外,目前中国汉族哮喘人群ADRB2基因的研究大都集中在编码区的46位和79位,而对其他位点多态性及其相关的单倍型研究甚少。本研究采用Taqman探针法检测ADRB2基因的调控区和编码区的6个位点(-2387, -47, 46, 79, 491, 523),确定其基因型及单倍型,探讨ADRB2基因多态性/单倍型与哮喘的相关性。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

本研究采用病例对照研究,所有的研究对象均为无血缘关系的中国南京及周边地区汉族人。哮喘组均来自2012年4月~2013年6月南京市鼓楼医院收治的哮喘患者,共379例,其中男149例,女230例,平均年龄( $44.80 \pm 15.36$ )岁,均符合中华医学会呼吸病学分会哮喘学组于2008年制定的哮喘诊断标准<sup>[10]</sup>,排除慢性阻塞性肺疾病等其他呼吸道疾病以及心、肝、肾疾病等。根据哮喘发作程度将哮喘患者分为间歇+轻度组179例,中度组71例,重度组131例。正常对照组来自2013年3月~2013年6月南京大学医学院附属鼓楼医院的健康体检者,共435例,男199例,女236例,平均年龄( $43.03 \pm 11.04$ )岁,均无哮喘、高血压、糖尿病等疾病。本研究获得伦理委员会的批准,且所有研究对象均获知情

同意。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 提取基因组DNA

抽取所有研究对象静脉血4ml,采用北京天根生化科技有限公司提供的人血液基因组提取试剂盒提取DNA,操作按试剂盒说明书进行,提取DNA后置-80℃冰箱保存备用。

#### 1.2.2 目的基因SNP分型

采用Taqman探针法对ADRB2基因调控区和编码区的6个位点进行等位基因的检测。每个位点的等位基因设计两条探针,分别标记为FAM和HEX。所有Taqman探针及引物均由南京骥骜生物技术有限公司设计合成。2×HotTaq<sup>®</sup> PCR Reaction Mix由美国Stegene公司提供。采用10μl的PCR反应体系:2×HotTaq<sup>®</sup> PCR Reaction Mix 5μl,上游引物及下游引物(20pmol/μl)各0.45μl, FAM及HEX探针(10pmol/μl)各0.25μl, DNA 1μl, ddH<sub>2</sub>O 2.6μl。反应程序及条件:pre-read 1min;扩增反应条件95℃ 10min, 95℃ 15s, 60℃ 1min,共40个循环;post-read 1min。反应在ABI7500 PCR扩增仪中进行,反应结果在ABI SDS1.4软件中分析基因型。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS18.0软件和SHEsis在线平台(<http://analysis2.bio-x.cn/myAnalysis.php>)进行统计分析。计量资料用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。两组间均数比较采用 $t$ 检验,样本的群体代表性用Hardy-Weinberg平衡(HEW)检验,两组间各位点的基因型、等位基因频率的比较用卡方检验,SHEsis在线平台计算各位点间的连锁不平衡并进行两组间单倍型频率的比较,计算比值比(OR值)和95%可信区间(95%CI)表示SNP与哮喘发病风险之间的关联强度, $P \leq 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ADRB2基因6个SNP位点基因型频率和等位

基因频率在哮喘组和对照组的分布

哮喘组和对照组的性别和年龄分布差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。两组人群 ADRB2 基因 6 个位点的基因型频率都符合 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P > 0.05$ )。

哮喘组和对照组的 491 位点均为野生纯合型 TT 基因型,均未检测到突变纯合型 CC 基因型及杂合型 TC 基因型。此位点不纳入统计分析。

-2 387 位、46 位和 523 位点基因型频率和等位基因频率在哮喘组与对照组之间差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。哮喘组-47 位 C 等位基因频率低于正常组,在两组间差异有统计学意义(OR:0.687,95% CI:0.497~0.951, $P < 0.05$ )。携带 C 等位基因的 CT + CC 基因型与 TT 基因型相比较,在哮喘组和对照组间差异有统计学意义 (OR:0.672,95% CI:0.474~0.952, $P < 0.05$ )。进一步分析发现,与 TT 基因型相比较,CT 基因型在两组间差异有统计学意义(OR:0.685,95% CI:0.480~0.976, $P < 0.05$ ),而 CC 基因型在两组间的分布频率差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。哮喘组 79 位点 G 等位基因频率低于正常组,两组间差异有统计学意义 (OR:0.687,95% CI:0.497~0.951, $P < 0.05$ ),携带 G 等位基因的 CG + GG 基因型 CC 基因型相比,在两组间差异均有统计学意义 (OR:0.672,95% CI:0.474~0.952, $P < 0.05$ )。进一步分析发现,与 CC 基因型相比较,CG 基因型分布频率在两组间差异有统计学意义(OR:0.685,95% CI:0.480~0.976, $P < 0.05$ ),而 GG 基因型分布频率在两组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,表 1)。

2.2 ADRB2 基因 6 个 SNP 位点等位基因频率在不同种族中的分布

分析中国汉族人群 ADRB2 6 个 SNP 位点与美国黑人、美国白人和日本人的等位基因频率的分布差异,中国汉族人群分别与日本人、美国黑人比较,差异均无统计学意义( $P$  值分别为 0.460、0.198),日本人与美国黑人比较,差异也无统计学意义 ( $P = 0.017$ ),而中国人、日本人和美国黑人与美国白人比较,差异均有统计学意义( $P$  均 $< 0.000 1$ ,表 2)。

2.3 ADRB2 基因 5 个 SNP 位点连锁不平衡分析

采用 SHEsis 在线平台分析 5 个 SNP 位点间的连锁不平衡,两点间的连锁不平衡程度用连锁不平衡参数  $D'$ 、 $r^2$  表示,表 3 结果显示-47 位与 79 位存在强烈的连锁不平衡( $D' = 0.987$ , $r^2 = 0.974$ ),46 位与 523 位亦存在较强的连锁不平衡( $D' = 0.996$ , $r^2 = 0.593$ )。

2.4 ADRB2 基因 5 个 SNP 位点组成的单倍型频率分布

哮喘组和对照组的 5 个 SNP 位点多态性经 SHEsis 在线平台分析共发现 16 种单倍型,其中 12 种单倍型频率 $< 0.03$ ,未纳入统计分析。本研究人群中 4 种常见单倍型分别为单倍型 III (CCGGC)、单倍型 IV (CTACC)、单倍型 IX (TTACC)、单倍型 XI (TTGCA)。哮喘组单倍型 III (CCGGC)频率低于对照组,差异有统计学意义(OR:0.696,95% CI:0.502~0.966, $P < 0.05$ )。单倍型 IV (CTACC)、单倍型 IX (TTACC)和单倍型 XI (TTGCA)频率在两组间差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ,表 4)。

### 3 讨论

ADRB2 基因多态性/单倍型已在多个种族人群中被测定,许多临床研究显示其可能与哮喘的发生和临床表型相关。ADRB2 基因编码区有 3 个重要的多态性即:46 位、79 位和 491 位 (Arg16Gly、Gln27Glu 和 Thr164Ile),并已被证明可改变 ADRB2 的功能:Gly16 增强 ADRB2 激动剂介导的受体下调,Glu27 抵抗这种下调<sup>[1]</sup>,Ile164 能显著地降低 ADRB2 结合的亲和力和 G 蛋白受体的耦联<sup>[11]</sup>。46 位和 79 位突变频率较高,491 位多态性则不常见。此外,ADRB2 5' 未翻译区的 5' 前导区(5'LC)的-47 位 (Arg19Cys)也是一个重要的 SNP,体外研究表明 Cys19 能增强 ADRB2 的表达,而 Arg19 抑制 ADRB2 的表达<sup>[12]</sup>。ADRB2 基因多态性与哮喘相关性临床研究大都集中在编码区 46 位和 79 位,尽管也有研究证明其他位点如调控区-2 387 位和编码区的 523 位多态性及其相关的单倍型与晨间峰值气流速、支气管舒张剂的治疗反应性和血清 IgE 等有关<sup>[13-16]</sup>,但这两个位点与中国人群哮喘的相关性却鲜见报道。尽管这些研究结果不完全一致,但仍有助于进一步深入理解哮喘的发生发展过程,特别是根据相关性的位点多态性/单倍型来检测哮喘易感人群,对早期防治哮喘将有重要意义。

本研究以中国汉族人群为研究对象检测 ADRB2 基因 6 个位点 (-2 387、-47、46、79、491、523)的多态性/单倍型,研究结果发现 491 位点无突变型的等位基因,-2 387 位、46 位和 523 位多态性均与哮喘的易感性无关,而-47 位和 79 位多态性与哮喘的易感性明显相关。-47 位携带 C 等位基因的 CT + CC 基因型(Arg19Cys+ Arg19Arg)和 C 等位基因(Arg19)及 79 位点携带 G 等位基因的 CG + GG

表1 哮喘组和对照组5个SNP位点基因型和等位基因频率分布比较

Table 1 Allele and genotype distributions of the five polymorphic loci in asthmatic patients and control subjects

SNP位点	哮喘组[n(%)]	对照组[n(%)]	P值	OR值(95%CI)
-2387				
基因型			0.565*	
TT	193(50.92)	206(47.36)		
CT	155(40.94)	188(42.99)	0.387	0.880(0.659~1.175)
CC	31(8.14)	41(9.66)	0.406	0.807(0.486~1.339)
CC+CT	186(49.08)	229(52.64)	0.310	0.867(0.658~1.142)
等位基因			0.268	0.887(0.716~1.097)
T	541(71.37)	599(68.85)		
C	217(28.63)	271(31.15)		
-47				
基因型			0.070*	
TT	315(83.11)	334(76.78)		
CT	62(16.36)	96(22.07)	0.036	0.685(0.480~0.976)
CC	2(0.50)	5(1.15)	0.502	0.424(0.082~2.202)
CC+CT	64(16.89)	101(23.22)	0.025	0.672(0.474~0.952)
等位基因			0.023	0.687(0.497~0.951)
T	692(90.94)	764(87.82)		
C	66(9.06)	106(12.18)		
46				
基因型			0.225*	
AA	132(34.83)	129(29.66)		
AG	185(48.81)	221(50.80)	0.206	0.818(0.599~1.117)
GG	62(16.36)	85(19.54)	0.103	0.713(0.474~1.071)
GG+AG	247(65.17)	306(70.34)	0.115	0.789(0.587~1.059)
等位基因			0.108	0.851(0.699~1.036)
A	449(59.23)	481(55.29)		
G	309(40.77)	389(44.71)		
79				
基因型			0.070*	
CC	315(83.11)	334(76.78)		
CG	62(16.36)	96(22.07)	0.036	0.685(0.48~0.976)
GG	2(0.50)	5(1.15)	0.502	0.424(0.082~2.202)
GG+CG	64(16.89)	101(23.22)	0.025	0.672(0.474~0.952)
等位基因			0.023	0.687(0.497~0.951)
C	692(90.94)	764(87.82)		
G	66(9.06)	106(12.18)		
523				
基因型			0.620*	
CC	185(48.81)	200(45.97)		
CA	157(41.42)	195(44.83)	0.440	0.897(0.681~1.182)
AA	37(9.76)	40(9.20)	1.000	1.000(0.613~1.632)
AA+CA	195(51.19)	235(54.03)	0.440	0.897(0.681~1.182)
等位基因			0.622	0.948(0.768~1.171)
C	527(69.53)	595(68.39)		
A	231(30.47)	275(31.61)		

\* 各位点3种基因型在哮喘组和对照组频率分布差异比较的P值。

(Gln27Glu+Glu27Glu)基因型和G(Glu27)等位基因均对哮喘的发生有保护作用。79位G(Glu27)等位

基因对哮喘的保护作用可能与其抵抗受体下调有关,而-47位C(Arg19)等位基因对哮喘的保护作用

表 2 不同种族人群 ADRB2 基因 6 个 SNP 位点等位基因频率的比较

Table 2 Differences in allele frequencies of six polymorphic loci among different ethnic groups

位点	等位基因	频率			
		中国人	日本人	美国黑人	美国白人
-2 387	C	0.31	NA	0.45	0.45
-47	C	0.12	0.11	0.19	0.44
46	G	0.45	0.47	0.48	0.38
79	G	0.12	0.07	0.19	0.44
491	T	0.00	0.00	0.04	0.20
523	A	0.32	0.42	0.32	0.15

NA: 未得到数据。

表 3 ADRB2 基因 5 个多态性位点连锁不平衡分析

Table 3 Linkage disequilibrium at the five polymorphic loci of ADRB2 gene

[D(r<sup>2</sup>)]

SNP 位点	SNP 位点			
	-47	46	79	523
-2 387	0.979(0.265)	0.174(0.010)	0.979(0.265)	0.989(0.188)
-47	-	0.985(0.152)	0.987(0.974)	0.998(0.053)
46	-	-	1.000(0.157)	0.996(0.593)
79	-	-	-	0.998(0.053)

表 4 哮喘组和对照组 ADRB2 基因 5 个 SNP 位点组成单倍型分布频率比较

Table 4 Haplotype analysis of five polymorphic loci in cases and controls

单倍型	SNP 位点					哮喘组[n(%)]	对照组[n(%)]	P 值	OR 值(95%CI)
	-2 387	-47	46	79	523				
I	C	C	A	G	C	0.00(0.00)	0.20(0.00)	-	-
II	C	C	G	G	A	0.00(0.00)	0.28(0.00)	-	-
III	C	C	G	G	C*	65.00(8.60)	103.30(11.90)	0.029	0.696(0.502~0.966)
IV	C	T	A	C	C*	146.42(19.30)	166.19(19.10)	0.905	1.015(0.792~1.301)
V	C	T	G	C	C	1.80(0.20)	0.02(0.00)	-	-
VI	T	C	G	C	C	0.00(0.00)	1.00(0.10)	-	-
VII	T	C	G	G	C	0.00(0.00)	1.22(0.10)	-	-
VIII	T	T	A	C	A	0.00(0.00)	1.55(0.20)	-	-
IX	T	T	A	C	C*	301.58(39.80)	310.88(35.70)	0.087	1.193(0.974~1.460)
X	T	T	A	G	C	0.00(0.00)	0.18(0.00)	-	-
XI	T	T	G	C	A*	229.22(30.20)	272.34(31.30)	0.651	0.952(0.770~1.177)
XII	T	T	G	C	C	10.20(1.30)	12.01(1.40)	-	-
XIII	T	T	G	G	A	0.00(0.00)	0.82(0.10)	-	-
XIV	C	C	A	C	C	1.00(0.10)	0.00(0.00)	-	-
XV	C	T	G	C	A	1.78(0.20)	0.00(0.00)	-	-
XVI	C	T	G	G	C	1.00(0.10)	0.00(0.00)	-	-

\*: 单倍型频率 > 0.03。

但 Li 等<sup>[4]</sup>的 meta 分析发现 Arg16Gly 多态性和 Gln27Glu 多态性与中国成人哮喘发病的风险无关, Gln27Glu 多态性能降低中国儿童哮喘的发病风险。Thomsen 等<sup>[18]</sup>研究丹麦人群发现 Arg16Gly、Glu27Gln 和 Thr164Ile 多态性均与哮喘的发病风险无关。而 Wang 等<sup>[19]</sup>研究中国人群有吸烟史的哮喘

与体外研究结果不一致。进一步分析发现,与-47 位 TT 基因型(Cys19Cys)相比较,CT 基因型能减小哮喘的发病风险,但 CC 基因型在两组间的频率分布无统计学意义。与 79 位的 CC 基因型相比,CG (Gln27Glu) 基因型能减小哮喘的发病风险,但 GG 基因型在两组间差异无统计学意义。-47 位点的 CC 基因型和 79 位的 GG 基因型分布频率较低(分别为 0.005 和 0.011),有待扩大样本深入研究。本研究部分结果与 Thakkinstian 等<sup>[17]</sup>的 meta 分析结果相似,作者发现杂合型 Gln27Glu 降低成人哮喘的发病风险,纯合型 Glu27Glu 降低儿童哮喘的发病风险,肯定了 Glu27 等位基因对哮喘的发生具有保护作用。

患者发现纯合 Arg16Arg 基因型明显增加哮喘的易感性,但 Gln27Glu 多态性与哮喘无关。与之相似的是, Birbian 等<sup>[20]</sup>研究印度北方人群发现 Gly16 等位基因能降低哮喘的发病风险, Gln27Glu 多态性与哮喘无关。而 Isaza 等<sup>[21]</sup>研究哥伦比亚哮喘人群发现 Arg16Gly 多态性和 Gln27Glu 多态性与哮喘易感性

无相关性。

本研究还发现,中国汉族人群-2 387C、5'LC Arg19、Gly16、Glu27、Ile164 和 523A 等位基因频率分别为:0.31、0.12、0.45、0.12、0.00、0.32,与美国黑人<sup>[22]</sup>、日本人<sup>[23]</sup>的分布频率相似,但与美国白人<sup>[22]</sup>有明显差异,这提示了各种族人群遗传背景的差异可能是 ADRB2 基因多态性与哮喘相关性研究结果不完全一致的原因之一。此外,还可能与所研究样本量大小、实验设计、疾病复杂的异质性及环境因素有关。

单个 SNP 的作用可能会被其他多态性或决定 ADRB2 总特性的单倍型作用所否定,多个 SNPs 可能相互作用而最终确定不同表型,影响生理和治疗反应<sup>[3,24]</sup>。仅探讨单个 SNP 与哮喘的相关性尚不能全面、深刻地揭示 ADRB2 基因多态性在哮喘发生发展中的作用。此外,单倍型分析具有更高的统计效力,在预测哮喘发病风险上可能更具代表性。本研究对 5 个位点连锁不平衡分析发现 46 位和 523 位存在较强的连锁不平衡,-47 位与 79 位存在强烈的连锁不平衡,并根据 5 个位点确定了所研究人群中 4 种常见的单倍型,即:单倍型 III (CCGGC)、单倍型 IV (CTACC)、单倍型 IX (TTACC)、单倍型 XI (TTGCA),分别相当于 Drysdale 单倍型 2、单倍型 1 + 4、单倍型 1 + 4 和单倍型 6<sup>[24]</sup>。日本人、美国黑人、亚洲人和拉丁人单倍型 1、2、4、6 频率也较高,高加索人单倍型 2、4 和 6 频率较高,但其单倍型 1 频率较低<sup>[23-24]</sup>。本研究的重要发现是哮喘组单倍型 III 频率明显低于对照组,此单倍型可能减小哮喘的易感性。进一步对比发现,单倍型 III 与其他 3 种单倍型组成上的差异在于-47 位和 79 位:单倍型 III -47 位为 Arg19 等位基因,79 位为 Glu27 等位基因,这与单个 SNP 研究结果一致,并且 Arg19 等位基因或 Glu27 等位基因的保护作用可能是由于包含了这两个等位基因的单倍型,而并非单个 SNP 的作用,在预测该研究人群哮喘发病风险上,单倍型 III 可能比单个的 Arg19 等位基因或 Glu27 等位基因有更好的代表性。但 Arg19 等位基因对哮喘的保护作用与其抑制 ADRB2 表达的效果不一致,这是否与 Arg19 等位基因和 Glu27 等位基因间存在强烈的连锁不平衡有关,即和 Glu27 等位基因同时存在时削弱了 Arg19 等位基因的作用,或是由于 Arg19 等位基因同时还与其他的有功能学意义的多态性发生连锁不平衡,本研究结果尚不能确定。Saadi 等<sup>[25]</sup>研究印度人群-47、-20、46、79、252 和 523 位多态性发现单倍

型与哮喘易感性明显相关,单倍型 CCGGC 能降低哮喘发生的风险,而单倍型 CCGGC 相当于 Drysdale 单倍型 2,与本研究结果提示的单倍型 III (CCGGC)对哮喘的保护作用一致。Panebra 等<sup>[3]</sup>的体外研究发现包括-2 387C、46G、79G 和 523C 位在内的单倍型 II -1 与 ADRB2 高水平表达有关,与 Drysdale 单倍型 2 具有明显较高的 ADRB2 表达水平一致<sup>[24]</sup>,在一定程度上支持了本研究的结果。但近来 Fu 等<sup>[26]</sup>研究中国南部汉族哮喘人群发现 Arg19Cys、Arg16Gly 和 Glu27Gln 多态性与哮喘易感性无关,这与 Migita 等<sup>[2]</sup>在日本人群中的研究结果一致,但前者发现单倍型 Arg19/Arg16/Gln27 能增加哮喘发病的风险,后者则未发现此相关性。Al-Rubaish<sup>[27]</sup>研究沙特阿拉伯哮喘人群 Arg16Gly 多态性和 Glu27Glu 多态性,发现无论是单个 SNP 还是单倍型都与哮喘无明显相关。但 Al-Rubaish 的研究仅选取了 73 例哮喘患者和 85 例健康对照者进行研究,此研究结果还有待于扩大样本量进一步证实。

综上所述,本研究证明了中国汉族人群 ADRB2 基因-47 位和 79 位多态性及其相关的单倍型 CCGGC 与哮喘的易感性相关,这在国内尚未有相同报道。不过本研究仅探讨了 ADRB2 基因 5'非翻译区和编码区内位点的多态性/单倍型,其实 3'非翻译区还存在具有重要功能的 SNP 如 polyC 重复序列。因此,今后将需进一步结合 3'非翻译区多态性并且扩大样本量分析 ADRB2 基因完整单倍型的作用,从而更全面、真实地反映 ADRB2 基因多态性/单倍型在哮喘发病机制中的作用。此外,多基因的相互作用和环境因素的双重影响也是未来研究中必不可少的重要内容。

#### [参考文献]

- [1] Green SA, Turki J, Bejarano P, et al. Influence of beta2-adrenergic receptor genotypes on signal transduction in human airway smooth muscle cells[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 1995, 13(1): 25-33
- [2] Migita O, Noguchi E, Zhang J, et al. ADRB2 polymorphisms and asthma susceptibility: transmission disequilibrium test and meta-analysis [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2004, 134(2): 150-157
- [3] Panebra A, Wang WC, Malone MM, et al. Common ADRB2 haplotypes derived from 26 polymorphic sites direct beta2-adrenergic receptor expression and regulation phenotypes [J]. *PLoS ONE*, 2010, 5(7): 11819
- [4] Li XB, Zhang YG, Zhang J, et al. Asthma susceptible

- genes in Chinese population:A meta analysis [J]. *Respir Res*,2010,11:129
- [5] Limsuwan T,Thakkinstian A,Verasertniyom O,et al. Possible protective effects of the Glu27 allele of  $\beta$ 2-adrenergic receptor polymorphism in Thai asthmatic patients [J]. *Asian Pac J Allergy Immunol*,2010,28(2-3):107-114
- [6] Lee MY,Cheng SN,Chen SJ,et al. Polymorphisms of the  $\beta$ 2-adrenergic receptor correlated to nocturnal asthma and the response after butaline nebulizer[J]. *Pediatr Neonatol*,2011,52(1):18-23
- [7] Carroll CL,Sala KA,Zucker AR,et al.  $\beta$ 2-adrenergic receptor haplotype linked to intubation and mechanical ventilation in children with asthma[J]. *J Asthma*,2012,49(6):563
- [8] Giubergia V,Zelazko M,Roy A,et al.  $\beta$ 2-Adrenergic polymorphisms and total serum IgE levels in children with asthma from Argentina[J]. *Ann Allergy Asthma Immunol*,2009,102(4):308-313
- [9] 邱玉英,殷凯生.  $\beta$ 2 肾上腺素能受体基因 Arg16Gly 多态性与沙美特罗反应性的相关性研究[J].*南京医科大学学报:自然科学版*,2008,28(3):376-381
- [10] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(支气管哮喘的定义、诊断、治疗及教育和管理方案)[J]. *中华结核和呼吸杂志*,2008,31(3):177-185
- [11] Green SA,Cole G,Jacinto M,et al. A polymorphism of the human beta 2-adrenergic receptor within the fourth transmembrane domain alters ligand binding and functional properties of the receptor[J]. *J Biol Chem*,1993,268(31):23116-23121
- [12] McGraw DW,Forbes S,Kramer L,et al. Polymorphisms of the 5' leader cistron of the human  $\beta$ 2-adrenergic receptor regulate gene expressions[J]. *J Clin Invest*,1998,102(11):1927-1932
- [13] Bleecker ER,Nelson HS,Kraft M,et al. Beta2-receptor polymorphisms in patients receiving salmeterol with or without fluticasone propionate[J]. *Am J Respir Crit Care Med*,2010,181(7):676-687
- [14] Moore PE,Williams SM,Gebretsadik T,et al. beta(2)-adrenergic receptor promoter haplotype influences spirometric response during an acute asthma exacerbation[J]. *Clin Transl Sci*,2008,1(2):155-161
- [15] Ye YM,Kang YM,Kim SH,et al. Probable role of beta 2-adrenergic receptor gene haplotype in toluene diisocyanate-induced asthma [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*,2010,2(4):260-266
- [16] Lima JJ,Holbrook JT,Wang J,et al. The C523A  $\beta$ 2 adrenergic receptor polymorphism associates with markers of asthma severity in african americans read more[J]. *J Asthma*,2006,43(3):185-191
- [17] Thakkinstian A,McEvoy M,Minelli C,et al. Systematic review and meta-analysis of the association between b2-adrenoceptor polymorphisms and asthma;a HuGE review [J]. *Am J Epidemiol*,2005,162(3):201-211
- [18] Thomsen M,Nordestgaard BG,Sethi AA,et al. b2-adrenergic receptor polymorphisms,asthma and COPD;two large population based studies[J]. *Eur Respir J*,2012,39(3):558-566
- [19] Wang Z,Chen C,Niu T,et al. Association of asthma with  $\beta$  (2)-adrenergic receptor gene polymorphism and cigarette smoking[J]. *Am J Respir Crit Care Med*,2001,163(6):1404-1409
- [20] Birbian N,Singla N,Jindal SK,et al. Association of  $\beta$ 2-adrenergic receptor polymorphisms with asthma in a north indian population [J]. *Lung*,2012,190 (5):497-504
- [21] Isaza C,Sepúlveda-Arias JC,Agudelo BI,et al.  $\beta$ 2-Adrenoceptor polymorphisms in asthmatic and non-asthmatic schoolchildren from colombia and their relationship to treatment response[J]. *Pediatr Pulmonol*,2012,47(9):848-855
- [22] Hawkins GA,Tantisira K,Meyers DA,et al. Sequence, haplotype,and association analysis of ADRbeta2 in a multiethnic asthma case-control study[J]. *Am J Respir Crit Care Med*,2006,174(10):1101-1109
- [23] Munakata M,Harada Y,Ishida T,et al. Molecular-based haplotype analysis of the beta 2-adrenergic receptor gene (ADRB2) in Japanese asthmatic and non-asthmatic subjects[J]. *Allergol Int*,2006,55(2):191-198
- [24] Drysdale CM,McGraw DW,Stack CB,et al. Complex promoter and coding region beta 2-adrenergic receptor haplotypes alter receptor expression and predict *in vivo* responsiveness [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2000,97 (19):10483-10488
- [25] Saadi AV,Gupta H,Angural A,et al. Single nucleotide polymorphisms of ADRB2 gene and their association with susceptibility for plasmodium falciparum malaria and asthma in an Indian population [J]. *Infect Genet Evol*,2013,20:140-147
- [26] Fu WP,Zhao ZH,Zhong L,et al. Relationship between polymorphisms in the 5' leader cistron,positions 16 and 27 of the adrenergic  $\beta$ 2 receptor gene and asthma in a Han population from southwest China [J]. *Respirology*,2011,16(8):1221-1227
- [27] Al-Rubaish A.  $\beta$ 2-adrenergic receptor gene polymorphisms in normal and asthmatic individuals in the Eastern Province of Saudi Arabia [J]. *Ann Saudi Med*,2011,31(6):586-590