

·临床研究·

# DR<sub>3</sub> 基因与 1 型糖尿病易感性及发病年龄的关系<sup>①</sup>

丁鹤林 程桦 张少玲 邓庆丽 刘顺莲

(中山大学孙逸仙纪念医院内分泌科; 广州, 510120)

**摘要 目的:**研究主要组织相容性复合体(MHC)Ⅱ类 DR<sub>3</sub> 基因与 1 型糖尿病(胰岛素依赖型糖尿病)易感性及其发病年龄的关系。**方法:**应用巢式 PCR 方法扩增出 65 名健康人(对照组)、64 例 1 型糖尿病患者的 DR<sub>3</sub> 基因。根据发病年龄将 1 型糖尿病患者分为 3 组(A 组, ≤14 岁; B 组, 15~30 岁; C 组, ≥31 岁), 比较 DR<sub>3</sub> 基因频率在各组间的差异。**结果:**DR<sub>3</sub> 基因频率在 A 组为 65%, B 组为 40%, C 组为 26%, 对照组为 15%; DR<sub>3</sub> 基因频率在糖尿病 3 组(A+B+C 组)44%, 明显高于对照组; 糖尿病组各年龄组间 DR<sub>3</sub> 基因频率有明显差异,  $\chi^2=6.16$ , 列联系数( $R_p$ )=0.31,  $P<0.05$ 。**结论:**DR<sub>3</sub> 基因阳性者 1 型糖尿病易感性明显增加、发病年龄明显提前。

**关键词** 糖尿病, 胰岛素依赖型/病因学; 基因, MHC Ⅱ类/遗传学; 聚合酶链反应/方法

**中图分类号** R 587.1

## THE RELATIONSHIP OF MHC CLASS II DR<sub>3</sub> WITH THE SUSCEPTIBILITY TO TYPE-1 DIABETES MELLITUS AND THE AGE OF DIABETIC ONSET

Ding Helin Cheng Hua Zhang Shaoling Deng Qingli Liu Shunlian

(Department of Endocrinology, Sun Yat-sen Memorial Hospital, Sun Yat-sen University of Medical Sciences, Guangzhou, 510120)

**Abstract Objective:** To investigate the relationship of major histocompatibility complex(MHC) class II DR<sub>3</sub> with the susceptibility to type-1 diabetes mellitus (insulin-dependent diabetes mellitus) and the age of diabetic onset. **Methods:** The nested PCR method was used to identify the DR<sub>3</sub> genotype in 64 diabetic patients and 65 healthx people(as controls). diabetic patients were divided into 3 groups according to the age of onset, group A ≤14 years, group B 15~30 years, group C ≥31 years. **Results:** The frequencies of DR<sub>3</sub> were respectively 65% in group A, 40% in group B, 26% in group C and 15% in the control. The frequency of DR<sub>3</sub> in diabetic patients(group A+B+C) 44% was higher than that in the control ( $P<0.05$ ). The difference of the frequency of DR<sub>3</sub> was significant among group A, B and C ( $\chi^2=6.16$ ,  $R_p=0.31$ ,  $P<0.05$ ). The frequency of DR<sub>3</sub> in group A was higher than that in group B+C( $P<0.05$ ). **Conclusions:** Our study indicates there is a significant association of MHC class II DR<sub>3</sub> with the susceptibility to type-1 diabetes mellitus and the age of diabetic onset. People with DR<sub>3</sub> gene have a higher risk of type-1 diabetes mellitus. The patients with DR<sub>3</sub> gene have an earlier onset of diabetes than those without DR<sub>3</sub>.

**Subject headings** diabetes mellitus, insulin-dependent/etiology; genes, MHC class II/genetics; polymerase chain reaction/method

1 型糖尿病(胰岛素依赖型糖尿病)为自身免疫性疾病, 许多研究表明它可能与主要组织相容性

复合体(Major histocompatibility complex, MHC)Ⅱ类的一些基因(DR<sub>2</sub>、DR<sub>3</sub>、DR<sub>4</sub>等)密切相关, 但

目前的研究所得出的结论不尽相同。因此,我们应用巢式 PCR 法探讨 MHC II 类 DR<sub>3</sub> 基因与 1 型糖尿病易感性及其发病年龄的关系。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

1990~1997 年于我院就诊的 64 例 1 型糖尿病患者(根据 WHO 1985 年的诊断标准)作为研究对象,按发病年龄分为 3 组:A 组,≤14 岁,20 例;B 组,15~30 岁,25 例;C 组,≥31 岁,19 例。对照组 65 例,≤14 岁,20 例;15~30 岁,26 例;≥31 岁,19 例,为无遗传性及自身免疫性疾病家族史的健康人,根据 1 型糖尿病患者发病年龄及籍贯选择健康对照。1 型糖尿病患者及健康对照均为无亲属关系的华南籍汉人。

### 1.2 研究方法

DR<sub>3</sub> 基因分型:应用巢式 PCR 法对患者进行 DR<sub>3</sub> 基因分型<sup>[1]</sup>。PCR 质量控制指标:①引物特异性,以 DR<sub>3</sub> 特异性引物扩增 DRB<sub>1</sub> 所有等位基因标准株,包括 DR<sub>1</sub>、DR<sub>2</sub>、DR<sub>3</sub>、DR<sub>4</sub>、DR<sub>7</sub>、DR<sub>8</sub>、DR<sub>9</sub>、DR<sub>11</sub>、DR<sub>12</sub>、DR<sub>13</sub>、DR<sub>14</sub>(DR<sub>10</sub>缺),仅 DR<sub>3</sub> 标准株扩增阳性,表明引物特异性良好。②重复性及敏感性:每次 PCR 均重复上次实验 DR<sub>3</sub> 阴性及阳性的标本各 1 个,结果阴性标本的重复率为 100%(90/90),阳性标本的重复率为 98%(88/90),表明实验的重复性及敏感性良好。③空白对照,每次 PCR 均设立空白对照,即以灭菌双蒸水代替 DNA 模板,结果所有空白对照均阴性,表明实验无污染。

### 1.3 统计学分析

基因频率在糖尿病组与对照组间比较采用四格表  $\chi^2$  检验,并计算优势比( $\Psi$ );基因频率在糖尿病各年龄组间比较采用 R×C 行列表  $\chi^2$  检验并进行分割同时计算列联系数(Rp)。

## 2 结果

### 2.1 DR<sub>3</sub> 的特异性扩增

DNA 标本 DR<sub>3</sub> 特异性扩增产物如仅出现一条清晰扩增带则 DR<sub>3</sub> 阳性,反之则阴性(图 1)。

### 2.2 DR<sub>3</sub> 基因与 1 型糖尿病易感性关系

DR<sub>3</sub> 基因频率在 1 型糖尿病 3 组(A+B+C 组)显著高于对照组(表 1)。

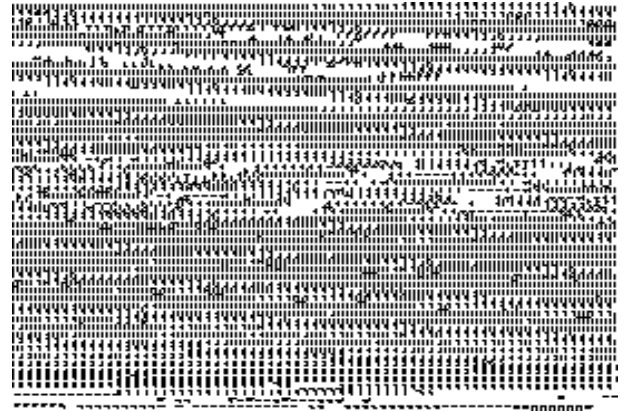


图 1 DRB<sub>1</sub> 第 2 外显子及 DR<sub>3</sub> 的 PCR 产物

Fig. 1 PCR products of DR<sub>3</sub> and exon 2 of DRB<sub>1</sub>

1. control, 2. exon 2, 3. homozygous cell line of DR<sub>3</sub>, 4. sample of positive DR<sub>3</sub>, 5. sample of negative DR<sub>3</sub>, 6. pBR322 DNA/BstN I Marker

表 1 DR<sub>3</sub> 基因与 1 型糖尿病易感性的关系

Table 1 Relationship of DR<sub>3</sub> gene with susceptibility to type-1 diabetes mellitus (n)

	Positive	Negative	Frequencies
Patients 64	28	36	44%
Controls 65	10	55	15%

$$\chi^2=11.16, \text{ odds ratio}(\Psi)=4.28, P<0.05$$

### 2.3 DR<sub>3</sub> 基因频率与 1 型糖尿病发病年龄的关系

DR<sub>3</sub> 频率在 1 型糖尿病患者各年龄组之间的差异:总  $\chi^2=6.16, R_p=0.31, P<0.05$ ;  $\chi^2$  分割: B 组与 C 组的 DR<sub>3</sub> 频率比较无显著性差异,故将 B 组与 C 组合并为 B+C 组(即成年发病组, DR<sub>3</sub> 频率为 34%), A 组的 DR<sub>3</sub> 频率明显高于 B+C 组(表 2)。

表 2 DR<sub>3</sub> 基因与 1 型糖尿病发病年龄的关系

Table 2 Relationship of DR<sub>3</sub> gene with the age of diabetic onset (n)

	Positive	Negative	Frequencies
A 20	13	7	65%
B 25	10	15	40%
C 19	5	14	26%

$$\chi^2=6.16, R_p=0.31, P<0.05; B \text{ vs } C, \chi^2=0.39, P>0.05; A \text{ vs } B+C, \chi^2=5.75, P<0.05$$

### 3 讨论

#### 3.1 DR<sub>3</sub>基因与1型糖尿病易感性关系

本研究结果表明 DR<sub>3</sub> 基因频率在 1 型糖尿病组(44%)显著高于对照组(15%),提示 DR<sub>3</sub> 基因阳性者 1 型糖尿病易感性明显增加,DR<sub>3</sub> 基因是 1 型糖尿病的易感基因之一,与其它文献报道一致<sup>[2,3]</sup>。

#### 3.2 DR<sub>3</sub>基因与1型糖尿病发病年龄的关系

近年来临床及病因学等方面的研究均提示 1 型糖尿病是一组异质性疾病。Caillat-Zucman<sup>[3]</sup> 对高加索人群的研究不但发现 MHC II 类的一些基因(包括 DR<sub>3</sub>)与 1 型糖尿病易感性有关,而且发现这些基因频率在儿童发病(≤15 岁)的 1 型糖尿病患者显著高于成年发病者,因而提出“发病年龄相关的 1 型糖尿病遗传异质性”这一概念。国内有人对 1 型糖尿病的研究结果发现 MHC II 类 DQA1 52 精氨酸(+)频率在儿童发病(≤14 岁)者要明显高于成年发病(≥15 岁)者,亦提示 1 型糖尿病存在发病年龄相关的遗传异质性<sup>[4]</sup>;国内目前尚未见文献报道 DR<sub>3</sub> 基因与 1 型糖尿病发病年龄的关系。本研究结果发现:在 1 型糖尿病患者,DR<sub>3</sub> 频率在

成年发病的 2 组(B 组与 C 组)间无显著性差异,而儿童发病组(A 组)的 DR<sub>3</sub> 频率要显著高于成年发病组(表 2)。结果提示 DR<sub>3</sub> 与 1 型糖尿病的发病年龄密切相关,1 型糖尿病存在有明显的发病年龄相关的 DR<sub>3</sub> 遗传异质性,DR<sub>3</sub> 阳性者 1 型糖尿病发病年龄较小,DR<sub>3</sub> 基因可能是 1 型糖尿病发病年龄提前中的一个因素。

#### 参 考 文 献

- 1 Bein G, Glaser R, Kirchner H. Rapid HLA-DRB1 genotyping by nested PCR amplification. *Tissue Antigens*, 1992, 39(1):68
- 2 史秀芹,曹峰林,吴东红,等. 中国汉族人群 MHC II 类抗原 DR<sub>3</sub> 基因与胰岛素依赖型糖尿病相关性研究. *中国糖尿病杂志*, 1994, 2(1):8
- 3 Caillat-Zucman S, Garchon H J, Timsit J, et al. Age-dependent HLA genetic heterogeneity of type-1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *J Clin Invest*, 1992, 90(6):2242
- 4 Cheng H, Zhang Y, Fu Z Z, et al. Age-onset related HLA-DQA1 genetic heterogeneity of insulin-dependent diabetes mellitus. *Chinese Medical Journal*, 1996, 109(6):474

(1997-10-30 收稿 1998-05-26 修回)

#### ·简 讯·

### 《医学信息荟萃》获五十多位院士高度评价 近日建成我国第一个医药剪报全文数据库

《医学信息荟萃》是中山医科大学的一份报刊剪辑,主要内容是荟萃国内外基础和临床医学、中西药学的最新进展和成果,兼收高等教育、科学研究、医疗改革动态及世界著名期刊—美国《科学》、英国《自然》每期有关内容。该剪辑以其信息量大,专业面广、新闻性强的优势与专业性学术性强的期刊文献相表里、相补充而成为生物医药学界的一个重要信息源。故一开始《荟萃》即备受校内师生、医生欢迎。年初寄赠获得我国学术界最高荣誉称号的部分生物医学界两院院士,受到一致的很高评价。编辑部先后收到 50 多位院士的来函来电,认为《荟萃》“内容丰富,信息量大”,“专业面广”,“科学性强”,是一份“高级、先进、精雅”的资料,院士们还表达了欣赏和厚爱之情。我国著名的神经科学奠基人,资深院士张香桐教授还期望她“越办越好,成为医学界的必读刊物”<sup>①</sup>

在众多院士和有识之士的鼓励鞭策之下,为满足广大读者的需要,《医学信息荟萃》已建成数据库,并制成 1997 年全文光盘,1998 年光盘将按季度更新。

《荟萃》光盘是我国第一张医药学剪报全文光盘,她的诞生将给生命科学医药学界的人士查阅和利用报纸信息带来极大的方便。1997 年光盘,共储存剪报资料 3 000 多篇,约 300 万字,不收一切广告,注重报道资料的真实性和科学性。利用电脑输入自由词或关键词,检索十分方便。光盘还储存与医药界有关的资料,像国内 500 种核心科技期刊排名、1998 年国家 740 种基本药物名称、国家留学基金资助出国留学人员选拔简章以及基金申请指南、各种奖项名单等资料也都全文收入光盘。过去,即使你愿意费时费力到处去翻旧报纸,也往往是终无所获!现在,当您拥有《荟萃》光盘时,查阅医药信息就非常容易,按按键盘就一目了然!

(咨询或索取资料电话:020-87330478, 87331770)

(余珙生)