

# 臺灣五位胰島素阻抗性症候群患者的胰島素受器變異分析

楊喬雯<sup>1</sup> 林炫沛<sup>2</sup> 張心怡<sup>3</sup> 李桂楨<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>國立臺灣師範大學生物學系

<sup>2</sup>馬偕紀念醫院遺傳部小兒科

<sup>3</sup>國立臺灣大學醫學院醫技系

## 摘要

本研究以 PCR 及 DNA 定序的技術，檢視臺灣 5 位胰島素阻抗性症候群患者的胰島素受器基因。結果僅發現多種多型性變異，其中 Ala<sup>815</sup>、Ser<sup>895</sup> 未被報導過。進一步以限制酵素切割的檢測試驗，對一正常人族群進行分析，結果發現各多型性基因座之遺傳情形均處於哈溫平衡。當分析介入子 7 的 +28A>C、表現子 8 的 Ala<sup>523</sup>、介入子 11 的 +90G>C、表現子 17 的 His<sup>1058</sup> 等較普遍的多型性單套型時，發現 +28A>C、Ala<sup>523</sup> 的單套型處於連鎖不平衡狀態。由於並未於患者中發現任何和疾病相關的突變，故推論國內臨床上表現高度胰島素阻抗性、小精靈顏面及黑棘皮症等性狀的患者，其胰島素受器突變的發生率相當低。

**關鍵詞：**胰島素阻抗性症候群、胰島素受器、基因變異

## 緒言

在正常生理狀況下，胰島素(insulin)藉著和受器(receptor)的結合，來調節糖、脂質及蛋白質的代謝。位於第 19 號染色體(Yang-Feng *et al.*, 1985)的胰島素受器基因長度約 150 kb，包含 22 個表現子(exon)(Seino *et al.*, 1989)，經轉錄、轉譯後表現一含 1382 胺基酸的前驅蛋白(155 kd)，此前驅蛋白經切除 N 端 signal peptide、糖化後，被切割成 135 kd 的  $\alpha$  及 95 kd 的  $\beta$  次單位，最後由 2 個  $\alpha$  及 2 個  $\beta$  次單位藉雙硫鍵組成  $\alpha_2\beta_2$  四元體，藉著  $\beta$  次單位座落在細胞膜上(Ebina *et al.*, 1985; Ullrich *et al.*, 1985)。當位於細胞膜外側的  $\alpha$  次單位和胰島素結合時，細胞膜內側  $\beta$

次單位的 tyrosine 會自體磷酸化(autophosphorylation)，此活化的受器再將訊息傳遞下去(Cheatham and Kahn, 1995)。

胰島素阻抗性症候群(syndromes of insulin resistance)為遺傳疾病，患者血液中胰島素值過高，臨床上出現和雄性激素過高相關的卵巢黃體增生及皮膚黑色素細胞過度增生角化導致的黑棘皮症(acanthosis nigricans)等(Tritos and Mantzoros, 1998)。胰島素對卵巢和皮膚的影響部份經由 IGF-1 受體(insulin-like growth factor 1 receptor)的活化(Moller and Flier, 1991)。胰島素阻抗性症候群中，Leprechaunism、Rabson-Mendenhall syndrome、Type A syndrome 和胰島素受器突變相關。Leprechaunism 為罕見的先天性疾

\*通信作者(corresponding author): 李桂楨 (Guey-Jen Lee-Chen); FAX: 886-2-29312904; E-mail: t43019@cc.ntnu.edu.tw

病(Donohue and Uchida, 1954), 其特徵為子宮內生長遲滯、小精靈顏面、脂肪萎縮、黑棘皮症、高度的胰島素阻抗性等, 雖然患者大多在一歲前死亡, 但亦有患者活至幼年及青春期。Rabson-Mendenhall syndrome 患者在幼年期開始出現高度的胰島素阻抗性及糖尿病、黑棘皮症、指甲及牙齒異常等, 但和 Leprechaunism 患者相較, 生長遲滯較緩和、存活期較長(Mendenhall, 1950)。Type A syndrome 患者亦有早發性的高度的胰島素阻抗性、黑棘皮症等, 成年的女性患者卵巢分泌過量的雄性激素(O'Rahilly and Moller, 1992)。利用多種基因突變檢測和功能性分析技術, 國外學者對胰島素阻抗性症候群患者進行分析, 發現多種和疾病相關的胰島素受器突變, 造成受器生合成速率下降、受器傳導至細胞表面的路徑受損、受器與胰島素結合能力下降、受器的 tyrosine kinase 活性下降或受器的降解速率太快等(Taylor, 1992)。臨床上較嚴重的患者大多為胰島素受器突變的同型合子(homozygote)或複異型合子(compound heterozygote), 部份患者則為異型合子, 即其突變具 dominant-negative 效應, 另亦有部分患者並未發現任何突變(Taylor *et al.*, 1992; Accili *et al.*, 1992; O'Rahilly and Moller, 1992; Krook *et al.*, 1994; Whitehead *et al.*, 1998)。

本研究係分析臺灣四個家族的五位胰島

素阻抗性症候群患者的胰島素受器變異, 並發展限制酵素切割的檢測試驗, 對正常人族群進行分析, 以瞭解這些變異於臺灣人族群中的分佈情形。

## 材料與方法

### 樣品

胰島素阻抗性症候群患者 1492、1493 (姐弟)、1495 (男性)、16 (女性)、82 (女性)及其家族的 DNA 樣品, 係來自台北馬偕醫院, 患者於臨床上出現高度的胰島素阻抗性、小精靈顏面及黑棘皮症等性狀。除了患者 82 因病例遺失外, 其餘四位患者的臨床特徵列於表一。50 個無相關的正常人 DNA 樣品, 則來自國立臺灣師範大學師生。

### 聚合酵素鏈反應(PCR)及 DNA 定序

PCR 放大胰島素阻抗性症候群患者的胰島素受器基因表現子 1~22 的引子列於表二(Seino *et al.*, 1990a)。在一 25  $\mu$ l 的反應中包含了 250 ng 的 DNA、30 ng 的引子、200  $\mu$ M dNTP、1.5 mM MgCl<sub>2</sub> 和 0.5 U 的 *Taq* DNA 聚合酵素。PCR 反應設定為 35 個循環, 煉合溫度為 58°C。所放大的表現子片段, 經 1.6% 洋菜膠體電泳檢查後, 進行核甘酸序列分析(377 DNA Sequencer, ABI) (明欣生物科技公司)。

表一、胰島素阻抗性症候群患者的臨床特徵(空腹時之參考值)。

Table 1. Clinical characteristics of insulin-resistant patients.

Patient	Age	Body mass index	Glucose (50-80 mg/dl)	Insulin (1.5-16 $\mu$ IU/ml)	C-peptide (0.2-2.5 ng/ml)	Triglyceride (35-165 mg/dl)	Cholesterol (130-200 mg/dl)
1492	5	20	339	>400	>30	306	275
1493	2	19	99	327	NK	355	200
1495	2	19	98	65	NK	611	92
16	11	16	234	104	9	184	137

Glucose, insulin, C-peptide, triglyceride, and cholesterol values were determined with fasting blood. Normal ranges for each of the values are displayed in brackets. NK, not known.

表二、PCR的引子及放大片段長度。  
Table 2. PCR primers and product sizes.

Exon	Primer	Product size (bp)
1	F: CGCGCTCTGATCCGAGGAGA R: AGGGTCTCAGTCCACAAGC	236
2	F: CCCTGATCCTTCTGATGCAT R: GCTTTCTAGAACAAGGCACGA	677
3	F: ACAGGAATTGGACAAAGCCAT R: AGCAGAGACCTCATCATAGCCAA	538
4	F: GCCTGAGATGTCTGAAGGAC R: GCCACTGAACGACCATCCTA	362
5	F: CTCACCATGGAGAATCATGA R: CTAATACACGAACTTCCTAG	276
6	F: AGGCACGTAGCACTGAACA R: TGTAATGCACTGAATCATGCTG	433
7	F: CACCTCTGCCTTCTCACGGT R: AAACGTAGCAAGCACAGAGC	299
8	F: CGGTCTTGTAAGGGTAACTG R: GAATTCACATTCCCAAGACA	322
9	F: GCACACTGTTTCTCATGATG R: AGAGGTGAAGCAAAGTGCAT	285
10	F: TGTTACAGCCGACAGACTTG R: CGGTCCCTAAGTAATGACCT	327
11	F: GTGGTCTGTCTAATGAAGTT R: GAATTGGTGAAGCATCTGCT	238
12	F: TGATGGTATGGTGTGCATCATA R: TGTCTTGGTCAGCCTTGATGT	379
13	F: GGATCTCATCCAAGAGTTAC R: TACTAATAGCACAGTACCTG	322
14	F: TGGACACTCCCAGATGTGCA R: ACCATGCTCAGTGCTAAGCA	276
15	F: GTGAACTTTGTTGGAAACACATTG R: CCTATACCTATATCAAGGCATG	237
16	F: TCTGCTGGTAAGGGCTGCCA R: CTCACTCAATGGTGAAGGCA	248
17	F: CCAAGGATGCTGTGTAGATAAG R: TCAGGAAAGCCAGCCCATGTC	317
18	F: CTGGTGAGTTCGAATCACGGA R: AGCGGGTGCTCCACCGAGTA	214
19	F: GATCCCAGTGCTGCTGAAACAC R: ACGGCTCATTATAGACAACTTC	285
20	F: AGGTTAAGAGCGTGTGAACCT R: GAATTCAAGCCCAGCGTCCAT	208
21	F: TGTTACTACTATCAACTGTC R: ACCTGTAACATACAGCATGC	291
22	F: ACTCACCCAGGACGTGTCCTTCT R: GAACGATCTCTGAACTCCACT	510

### 多型性基因型的PCR(或誤配引子PCR)及限制酵素切割檢測

取3 µl PCR放大的表現子3、7、8、12、17產物，分別經*RsaI*、*DdeI*、*NsiI*、*BstNI*、*PmII*限制酵素切割後，進行1.4~2.0%的洋菜膠體電泳，檢查Gln<sup>276</sup>(表現子3)、+28A>C(介

入子7)、Ala<sup>523</sup>(表現子8)、Ala<sup>815</sup>(表現子12)、His<sup>1058</sup>(表現子17)等多型性。利用誤配引子PCR(56°C煉合溫度)放大表現子3、8、9、11、12、14片段，再分別經*EagI*、*Bsu15I*、*EcoRI*、*Tsp45I*、*StuI*、*BsiWI*限制酵素切割後，進行1.8~2.2%的洋菜膠體電泳，檢查Asp<sup>234</sup>(表現子3)、Asp<sup>519</sup>(表現子8)、Leu<sup>613</sup>(表現子9)、+90C>G(介入子11)、Thr<sup>789</sup>(表現子12)、Ser<sup>895</sup>(表現子14)等多型性(表三)。

### 統計分析

以Popgene軟體(Yeh and Boyle, 1997)分析正常人族群樣品各多型性的對偶基因頻率及異型合子率，並以chi-square ( $\chi^2$ )檢測是否符合哈溫平衡(Hardy-Weinberg equilibrium)。各多型性間的單套型依據基因計算方法(Hill, 1974)來分析，並以 $\chi^2$ 檢測是否具有顯著差異。

## 結果

### 胰島素受器變異分析

PCR放大的胰島素阻抗性症候群患者的胰島素受器各表現子片段(圖一)，經定序分析後，發現Asp<sup>234</sup>、Gln<sup>276</sup>、+31C>T、+28A>C、Asp<sup>519</sup>、Ala<sup>523</sup>、Leu<sup>613</sup>、Pro<sup>617</sup>、+90C>G、Thr<sup>789</sup>、Ala<sup>815</sup>、Ser<sup>895</sup>、His<sup>1058</sup>等多種變異(圖二)。除介入子6的+31C>T及表現子9的Pro<sup>617</sup>外，其餘變異皆經發展的PCR(或誤配引子PCR)及限制酵素切割檢測試驗，對患者及其家族進行確認(表三)。由於各變異均未造成胺基酸的改變，故皆為多型性的變化。

### 正常人族群的檢測

PCR放大50個正常人族群DNA樣品的表現子片段，經適當限制酵素切割後，檢測

表三、胰島素受器基因的多態性、RFLP檢測試驗。

Table 3. Summary of polymorphisms and RFLP tests in the insulin receptor gene.

Polymorphism	Location	Nucleotide change	Restriction enzyme	RFLP <sup>a</sup> fragment (bp)	Patient
Asp <sup>234</sup>	Exon 3	GAC GAT	<i>EagI</i> <sup>b</sup> : CCGCCG	241 / 220, 21	82
Gln <sup>276</sup>	Exon 7	CAG CAG	<i>KsaI</i> : GTAC	141 / 96, 45	1492, 1493, 1495, 16, 82
+28A>C	Intron 7	AA	<i>DdeI</i> : CTNAG	136 / 95, 41	1492, 16
Asp <sup>519</sup>	Exon 8	GAG GAT	<i>BsuI</i> <sup>c</sup> : ATCGAT	273 / 254, 19	82
Ala <sup>523</sup>	Exon 8	ACG GAA	<i>XbaI</i> : ATGCAI	322 / 238, 84	1492, 16
Leu <sup>613</sup>	Exon 9	GAT GAG	<i>EcoRI</i> <sup>d</sup> : GAATTC	206 / 187, 19	82
+90G>C	Intron 11	GA	<i>Tsp45I</i> <sup>e</sup> : GTNAC	204 / 182, 22	1495, 16, 82
Thr <sup>789</sup>	Exon 12	ACC ACA	<i>StuI</i> <sup>f</sup> : AGGCTT	81 / 62, 19	82
Ala <sup>815</sup>	Exon 12	CG CAC	<i>BstNI</i> : CCWGG	126 / 69, 57	82
Ser <sup>895</sup>	Exon 13	ACG GAT	<i>BstWI</i> <sup>g</sup> : CGTACG	164 / 144, 20	1492, 1493
His <sup>1058</sup>	Exon 17	CAC CAG	<i>PmlI</i> : CACTGT	317 / 274, 43	1492, 1493, 1495, 16

<sup>a</sup>RFLP: restriction fragment length polymorphism.

<sup>b</sup>The *EagI* restriction site was created by mismatch PCR using primer pair 3F (Table 1) and 3M (5'-GCAGGTTCCACAGTGGCCG-3').

<sup>c</sup>The *BsuI* restriction site was created by mismatch PCR using primer pair 8M (5'-ATCAGAATGTGACGGAGATC-3') and 8R (Table 1).

<sup>d</sup>The *EcoRI* restriction site was created by mismatch PCR using primer pair 9M (5'-CTAACTCATCAATCCAGAGAAAT-3') and 9R (Table 1).

<sup>e</sup>The *Tsp45I* restriction site was created by mismatch PCR using primer pair 11F (Table 1) and 11M (5'-CCC GCCGCAATGAAATGTC-3').

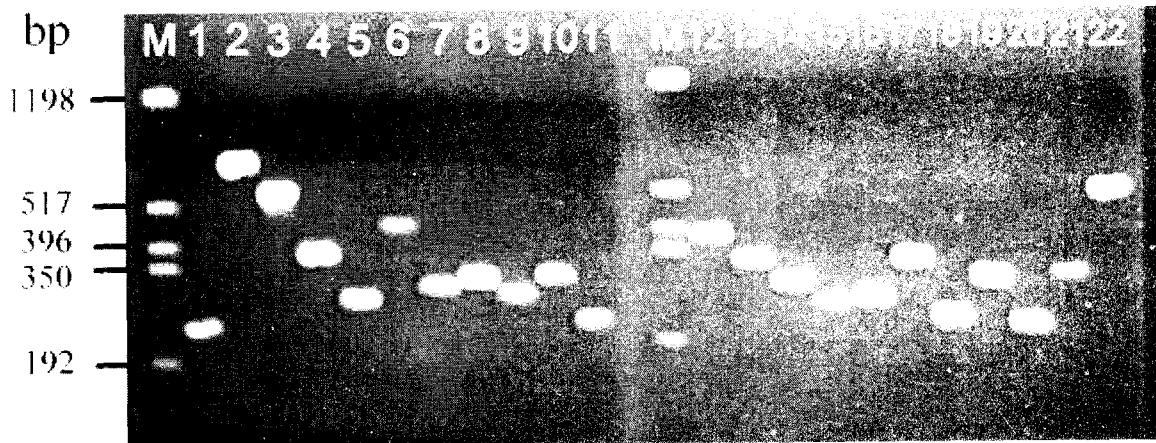
<sup>f</sup>The *StuI* restriction site was created by mismatch PCR using primer pair 12F (Table 1) and 12M (5'-CTGCAGTTCGATGGAATG-3').

<sup>g</sup>The *BstWI* restriction site was created by mismatch PCR using primer pair 14F (Table 1) and 14M (5'-GAGGTGGCCGATTCCTAT-3').

正常人族群上所有檢測的基因型。如表四所示，除所檢測的插入子 7 (Ala<sup>523</sup>) 及型性的同型合子外，各多型性檢測的各個基因頻率介於 3%到 41%間，及在族群中介於 4%到 46%間。表現子 1 及 17 (Thr<sup>789</sup> 及 Ala<sup>815</sup>) 間出現完全連鎖現象，是因於牠們兩個體皆具有相同的 Thr<sup>789</sup> 和 Ala<sup>815</sup> 基因型(data not shown)。部分檢測說明如下：介入子 7 的 +28A>C 檢測中，除了和多型性無關的 163 bp 片段外，lane 6 樣品僅出現 136 bp 片段(基因型-/-)，lanes 2,4 樣品同時出現 136 bp 及 95 bp 片段(基因型 +/-)，其餘各 lane 樣品僅出現 95 bp 片段(基因型 +/+) (圖三)；表現子 8 的 Ala<sup>523</sup> 檢測中，lanes 7,9 樣品僅出現 238、84 bp 片段(基因型 +/-)，lanes 1,3,4,5 樣品同時出現 322 bp 及 238、84

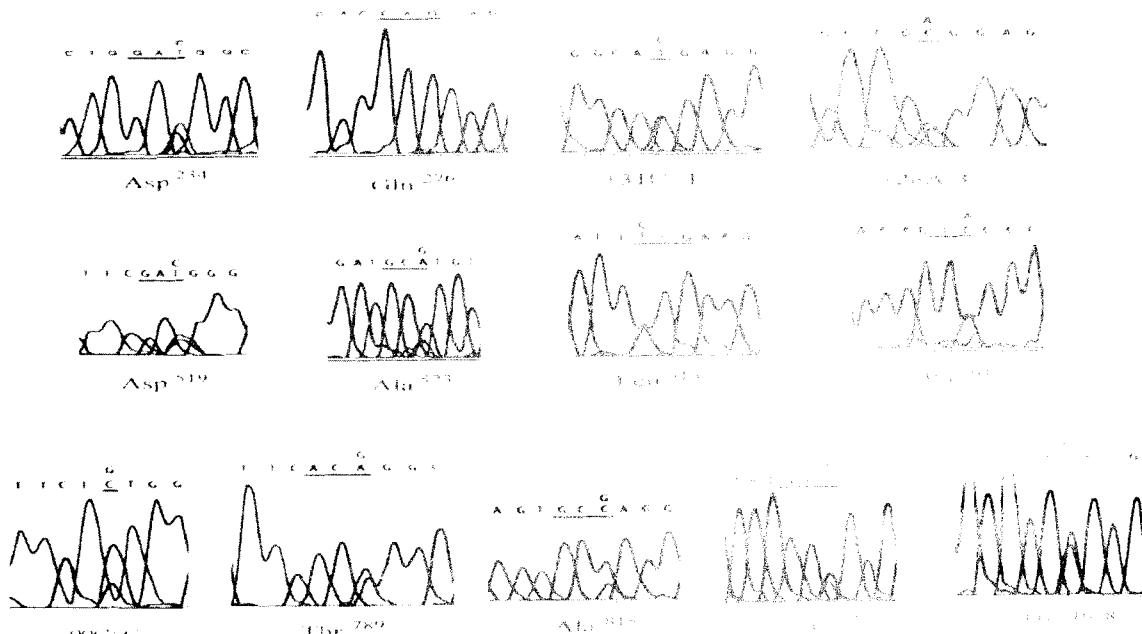
bp 片段(基因型 +/-)，其餘各 lane 樣品僅出現 322 bp 片段(基因型 -/-) (圖三)；介入子 11 的 +90G>C 檢測中，lanes 6,9 樣品僅出現 204 bp 片段(基因型 -/-)，lanes 1,2,8,10 樣品同時出現 204 bp 及 182 bp 片段(基因型 +/-)，其餘各 lane 樣品僅出現 182 bp 片段(基因型 +/+) (圖三)。

當依據基因頻率及樣品總數換算為期望的對偶基因型數，與觀察值比較時，經  $\chi^2$  分析，各多型性之遺傳情形均處於哈溫平衡 ( $\chi^2 < 3.84$ ,  $P > 0.05$ , 1 df) (表四)。將上述樣品的 +28A>C (介入子 7)、Ala<sup>523</sup> (表現子 8)、+90G>C (介入子 11)、His<sup>1058</sup> (表現子 17) 等較普遍的多型性，兩兩配對進行單套型分析，個體的兩個多型性若都是異型合子，則無法確定其單套型。如表五、六所示，+28A>C、



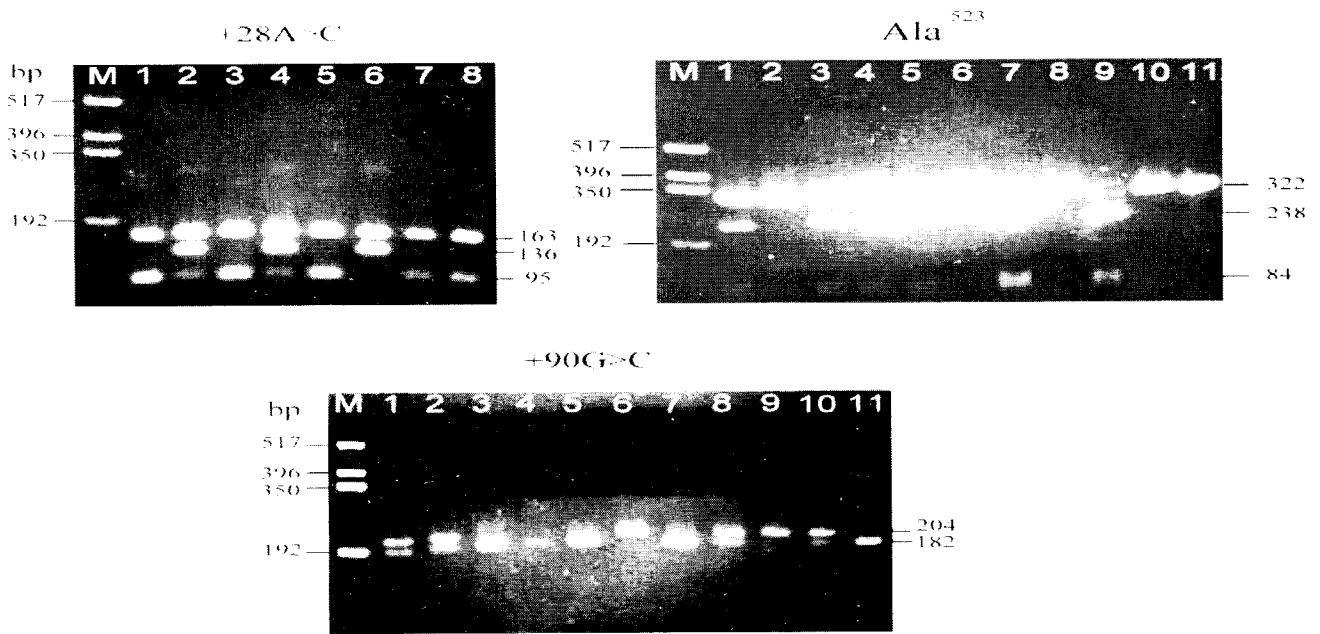
圖一、包含胰島素受器基因表現子1-22的PCR產物的電泳照片。Lanes 1-22，表現子1-22；lane M，片段大小標記。

**Figure 1.** Amplification of exons 1-22 of human insulin receptor gene by PCR. Photographs of 1.6% ethidium bromide-stained agarose gels of PCR products are shown. Amplified exons 1-22 in each lane is indicated; M, lanes containing DNA standard.



圖二、胰島素受器基因Asp<sup>234</sup>和Gln<sup>276</sup> (表現子3)、+31C>T (介入子6)、+28A>C (介入子7)、Asp<sup>519</sup>和Ala<sup>523</sup> (表現子8)、Leu<sup>615</sup>和Leu<sup>617</sup> (表現子9)、+90G>C (介入子11)、Thr<sup>789</sup>和Ala<sup>815</sup> (表現子12)、Ser<sup>895</sup> (表現子14)、His<sup>1058</sup> (表現子17)等多型性的定序結果。除Gln<sup>276</sup>為CAG的純型合子外，其餘均為異型合子。

**Figure 2.** DNA sequencing of the insulin receptor gene polymorphisms Asp<sup>234</sup> and Gln<sup>276</sup> (exon 3), +31C>T (intron 6), +28A>C (intron 7), Asp<sup>519</sup> and Ala<sup>523</sup> (exon 8), Leu<sup>615</sup> and Leu<sup>617</sup> (exon 9), +90G>C (intron 11), Thr<sup>789</sup> and Ala<sup>815</sup> (exon 12), Ser<sup>895</sup> (exon 14), and His<sup>1058</sup> (exon 17). With the exception of Gln<sup>276</sup> (homozygous for CAG), the other polymorphisms shown are heterozygous.



圖三、正常人族群+28A>C、Ala<sup>523</sup>、+90G>C多型性的RFLP檢測照片。+28A>C, *DdeI* 切割的 1.8% 洋菜膠體電泳照片；Ala<sup>523</sup>, *NsiI* 切割的 1.4% 洋菜膠體電泳照片；+90G>C, *Tsp45I* 切割的 2.0% 洋菜膠體電泳照片。Lanes 1-11, 正常人樣品；lane M, 片段大小標記。

**Figure 3.** Restriction analysis of +28A>C, Ala<sup>523</sup>, and +90G>C polymorphisms. +28A>C, *DdeI* restricted products on a 1.8% agarose gel; Ala<sup>523</sup>, *NsiI* restricted products on a 1.4% agarose gel; +90G>C, *Tsp45I* restricted products on a 2.0% agarose gel. Lanes 1-11, normal individuals; lanes M, DNA standard.

表四、正常人族群的多型性基因型、對偶基因頻率及異型合子率。

**Table 4.** Polymorphic genotype, allele frequency and heterozygosity in a normal population.

		Exon 3 Asp <sup>234</sup>	Exon 3 Gln <sup>276</sup>	Intron 7 +28A>C	Exon 8 Asp <sup>519</sup>	Exon 8 Ala <sup>523</sup>	Exon 9 Leu <sup>613</sup>
Genotype <sup>a</sup>	+/+	43	50	27	1	6	46
	+/-	7	0	18	8	15	4
	-/-	0	0	5	41	29	0
Allele	+	0.93	1.00	0.72	0.10	0.27	0.96
	-	0.07	0.00	0.28	0.90	0.73	0.04
Heterozygosity		0.14	0.00	0.36	0.16	0.30	0.08
$\chi^2$		0.24		0.69	0.79	3.14	0.06
$P (1df^b)$		0.63		0.40	0.37	0.08	0.80

		Intron 11 +90G>C	Exon 12 Thr <sup>789</sup>	Exon 12 Ala <sup>815</sup>	Exon 14 Ser <sup>895</sup>	Exon 17 His <sup>1058</sup>
Genotype <sup>a</sup>	+/+	21	0	0	48	18
	+/-	22	3	3	2	23
	-/-	7	47	47	0	9
Allele	+	0.64	0.03	0.03	0.98	0.59
	-	0.36	0.97	0.97	0.02	0.41
Heterozygosity		0.44	0.06	0.06	0.04	0.46
$\chi^2$		0.15	0.03	0.03	0.01	0.18
$P (1df^b)$		0.70	0.86	0.86	0.92	0.67

<sup>a</sup> + and -, with or without restriction site. <sup>b</sup> *df*: degree of freedom.

表五、正常人族群的多型性單套型分析。

Table 5. Polymorphic haplotype analysis in a normal population.

Haplotype		Chromosome no.		Haplotype		Chromosome no.	
+28A>C	Ala <sup>523</sup>	Observed	Expected	+28A>C	+90G>C	Observed	Expected
+	+	6	15.47	+	+	46	41.44
+	-	56	48.59	+	-	19	21.28
-	+	11	3.59	-	+	11	13.28
-	-	7	16.47	-	-	10	5.44
未	定	20	15.89	未	定	14	18.58

$\chi^2 = 28.75, P < 0.001, 4 df$

$\chi^2 = 6.10, P > 0.10, 4 df$

表六、多型性單套型的 $\chi^2$ 值(對角線的上方)及顯著性(\*, 對角線的下方)。Table 6.  $\chi^2$  value (above the diagonal) and significance (\*, below the diagonal) of polymorphic haplotype.

	+28A>C	Ala <sup>523</sup>	+90G>C	His <sup>1058</sup>
+28A>C		28.75	6.10	5.36
Ala <sup>523</sup>	*		4.50	3.75
+90G>C				0.40
His <sup>1058</sup>				

$\chi^2 < 9.49, P > 0.05, 4df$

\*  $\chi^2 > 18.47, P < 0.001, 4df$

Ala<sup>523</sup> 的單套型處於連鎖不平衡狀態( $\chi^2 = 28.75, P < 0.001, 4 df$ ), 即+28A>C 與 Ala<sup>523</sup> 間不能隨機自由組合, 其餘多型性的單套型則處於連鎖平衡狀態( $\chi^2 < 9.49, P > 0.05, 4 df$ )。

## 討 論

本研究的目的是檢視臺灣 5 位胰島素阻抗性症候群患者的胰島素受器, 結果僅於 5 位患者中找到多種多型性的變化(圖二)。除 Ala<sup>815</sup>、Ser<sup>895</sup> 為新發現(novel)外, 其他多型性皆已被報導過(Ebina *et al.*, 1985; Ullrich *et al.*, 1985; Seino *et al.*, 1989, 1990b; Krook *et al.*, 1994; Lee *et al.*, 1998)。

在國外學者對胰島素阻抗性症候群患者的胰島素受器突變分析中, Leprechaunism 或 Rabson Mendenhall syndrome 患者發現突變的機率很高, 其次為 Type A syndrome 患者, 其他胰島素阻抗性症候群患者出現突變的機

率則很低(Krook *et al.*, 1994)。本研究中的 5 位患者臨床上皆表現高度的胰島素阻抗性、小精靈顏面及黑棘皮症等性狀, 但並未發現任何位於表現子上的胰島素受器突變。多型性的單套型分析顯示 1492、1493 姐弟雖遺傳了父親的同一條包含胰島素受器的染色體, 但遺傳了母親不同條染色體(data not shown), 故可完全排除其胰島素受器突變的可能性。先前 Lee 等人(1998)於國內 13 位高胰島素血症合併黑棘皮症及肥胖的患者中, 亦未發現任何胰島素受器突變。由 Lee 等人(1998)及本研究, 推論國內胰島素阻抗性症候群患者, 其胰島素受器表現子突變的發生率相當低。

人類胰島素受器基因長度約 150 kb, 包含 22 個表現子。在本實驗所分析的 50 個個體, 多型性的對偶基因數符合哈溫定律(表四), 顯示族群中個體能自由婚配, 配子都能隨機自由組合, 基因型的頻率不受突變、遷移或天擇等演化力所影響。

在單套型分析中，介入子 7 的+28A>C 和表現子 8 的 Ala<sup>523</sup> 間，處於連鎖不平衡狀態(表五、六)，即不能自由組合。除了取樣的誤差外，創始者效應(founder effect)及相距很近(僅 3 kb)以致不易發生重組，可能導致其連鎖不平衡現象。

多型性在人種分化前即已存在，不同種族的創始族群在多型性上的差異，可能導致各族群的多型性對偶基因頻率的差異。如本研究中，國人全為表現子 3 上 Gln<sup>276</sup> 多型性的同型合子，但在 Krook 等人(1994)的分析中，Gln<sup>276</sup> 僅見於 26 位患者中的一位。又如 Leu<sup>61</sup>、Ser<sup>339</sup>、Phe<sup>642</sup>、Asn<sup>838</sup>、Tyr<sup>984</sup> 僅見於國外的分析(Krook *et al.*, 1994)，而 Thr<sup>789</sup>、Ala<sup>815</sup>、Ser<sup>895</sup> 僅見於國人的分析(Lee *et al.*, 1998 及本研究)。

## 誌 謝

本研究部分經費的補助(國科會 NSC88-2311-B-003-013)及本系大學部學生曾德綦、謝育慈的協助，謹此一併致謝。

## 參 考 文 獻

- Accili, D., F. Barbetti, A. Cama, H. Kadowaki, T. Kadowaki, E. Imano, R. Levy-Toledano, and S. I. Taylor. 1992. Mutations in the insulin receptor gene in patients with genetic syndromes of insulin resistance and acanthosis nigricans. *J. Invest. Dermatol.* 98: 77S-81S.
- Cheatham, B. and C. R. Kahn. 1995. Insulin action and the insulin signaling network. *Endocr. Rev.* 16: 117-142.
- Donohue, W. L. and I. Uchida. 1954. Leprechaunism: a euphemism for a rare familial disorder. *J. Pediatr.* 45: 505-519.
- Ebina, Y., L. Ellis, K. Jarnagin, M. Edery, L. Graf, E. Clauser, J. H. Ou, F. Masiarz, Y. W. Kan, I. D. Goldfine, R. A. Roth, and W. J. Rutter. 1985. The human insulin receptor cDNA: the structural basis for hormone activated transmembrane signaling. *Cell* 40: 747-758.
- Hill, W. G. 1974. Estimation of linkage disequilibrium in randomly mating populations. *Heredity* 33: 229-239.
- Krook, A., S. Kumar, I. Laing, A. J. M. Boulton, J. A. H. Wass, and S. O'Rahilly. 1994. Molecular scanning of the insulin receptor gene in syndromes of insulin resistance. *Diabetes* 43: 357-368.
- Lee, W. J., W. H. H. Sheu, S. G. Shu, and Y. E. Yao. 1998. Genetic analysis of the insulin receptor gene in Chinese patients with extreme insulin resistance. *Chin. Med. J. (Taipei)* 61: 636-642.
- Mendenhall, E. N. 1950. Tumor of the pineal gland with high insulin resistance. *J. Indiana State Med. Assoc.* 43: 32-36.
- Moller, D. E. and J. S. Flier. 1991. Insulin resistance: mechanisms, syndromes, and implications. *N. Engl. J. Med.* 325: 938-948.
- O'Rahilly, S. and D. E. Moller. 1992. Mutant insulin receptors in syndromes of insulin resistance. *Clin. Endocrinol.* 36: 121-132.
- Seino, S., M. Seino, S. Nishi, and G. I. Bell. 1989. Structure of the human insulin receptor gene and characterization of its promoter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86:



- 114-118.
- Seino, S., M. Seino, and G. I. Bell. 1990a. Human insulin receptor gene: partial sequence and amplification of exons by polymerase chain reaction. *Diabetes* 39: 123-128.
- Seino, S., M. Seino, and G. I. Bell. 1990b. Human insulin receptor gene. *Diabetes* 39: 129-133.
- Taylor, S. I. 1992. Lilly lecture: molecular mechanisms of insulin resistance. Lessons from patients with mutations in the insulin-receptor gene. *Diabetes* 41: 1473-1490.
- Taylor, S. I., A. Cama, D. Accili, F. Barbetti, M. J. Quon, M. Sierra, Y. Suzuki, E. Koller, R. Levy-Toledano, E. Wertheimer, V. Y. Moncada, H. Kadowaki, and T. Kadowaki. 1992. Mutations in the insulin receptor gene. *Endocrine Rev.* 13: 566-595.
- Tritos, N. A. and C. S. Mantzoros. 1998. Syndromes of severe insulin resistance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83: 3025-3030.
- Ullrich, A., J. R. Bell, E. Y. Chen, R. Herrera, L. M. Petruzzelli, T. J. Dull, A. Gray, L. Coussens, Y. C. Liao, M. Tsubokawa, A. Mason, P. H. Seeburg, C. Grunfeld, O. M. Rosen, and J. Ramachandran. 1985. Human insulin receptor and its relationship to the tyrosine kinase family of oncogenes. *Nature* 313: 756-761.
- Whitehead, J. P., M. A. Soos, R. Jackson, V. Tsaic, M. Kocova, and S. O'Rahilly. 1998. Multiple molecular mechanisms of insulin receptor dysfunction in a patient with Donohue syndrome. *Diabetes* 47: 1362-1364.
- Yang-Feng, T. L., U. Frank, and A. Ullrich. 1985. Gene for human insulin receptor: localization to site on chromosome 19 involved in pre-B-cell leukemia. *Science* 228: 728-731.
- Yeh, F. C. and T. Boyle. 1997. Population genetic analysis of codominant and dominant markers and quantitative traits. *Belgian J. Botang.* 129-157.

(接受日期：2000.12.2)

# Genetic Analysis of the Insulin Receptor Gene in Five Taiwanese Patients with Syndromes of Insulin Resistance

Chyau-Wen Yang<sup>1</sup>, Shuan-Pei Lin<sup>2</sup>, Shin-Yi Chang<sup>3</sup>, Guey-Jen Lee-Chen<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, National Taiwan Normal University  
Taipei, Taiwan

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, Genetic Section, Mackay Memorial Hospital  
Taipei, Taiwan

<sup>3</sup>School of Medical Technology, College of Medicine  
National Taiwan University, Taipei, Taiwan

## ABSTRACT

Genetic variations of the insulin receptor gene in five Taiwanese patients with syndromes of insulin resistance were investigated. The coding sequences of the insulin receptor gene were amplified and examined by DNA sequencing. A number of polymorphisms were identified, including novel Ala<sup>815</sup> and Ser<sup>895</sup>. By PCR and restriction analysis of a normal population, all the polymorphisms examined were in Hardy-Weinberg equilibrium. When the polymorphic haplotype among intron 7 +28A>C, exon 8 Ala<sup>523</sup>, intron 11 +90G>C, and exon 17 His<sup>1058</sup> polymorphisms were examined, linkage disequilibrium between +28A>C and Ala<sup>523</sup> polymorphisms were observed. Since no mutations were identified, the results suggest that mutations at the insulin receptor locus are uncommon in Taiwanese patients with features of severe insulin resistance, dysmorphic facies and acanthosis nigricans.

**Key words:** Syndromes of insulin resistance, Insulin receptor, Gene variation

\*通信作者(corresponding author): 李桂楨 (Guey-Jen Lee-Chen); FAX: 886-2-29312904; E-mail: 143019@cc.ntnu.edu.tw