

论著·临床研究

中国人群中 ADIPOQ 基因多态性与 2 型糖尿病遗传易感性的相关性研究

许艳芳¹, 莫芳贵²

(1. 广东省深圳市光明新区人民医院检验科, 广东深圳 518000;

2. 广东省深圳市龙华区中心医院检验科, 广东深圳 518000)

摘要:目的 研究中国人群中脂联素(ADIPOQ)基因多态性与 2 型糖尿病遗传易感性的相关性。方法 选取广东省深圳市光明新区人民医院 2016 年 1 月至 2017 年 1 月收治的 100 例 2 型糖尿病患者作为观察组,另选同期 100 例健康体检者作为对照组,对 ADIPOQ 基因多态性与 2 型糖尿病遗传易感性的相关性开展分析。结果 Logistic 回归分析结果提示,外显子单核苷酸多态性 rs2241766、内含子单核苷酸多态性 rs1501299 与 2 型糖尿病遗传易感性在加性模型、显性模型、隐性模型中均存在着明显的关联性($P < 0.05$);连锁不平衡分析结果提示,G-G 单体型人群患 2 型糖尿病风险更高。结论 中国人群中 ADIPOQ 基因多态性与 2 型糖尿病遗传易感性密切相关,并有可能在该病的发生、发展中扮演着重要的角色,值得对其展开进一步的分析和研究。

关键词:脂联素; 2 型糖尿病; 遗传易感性; 中国人群**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2018.15.011**中图法分类号:**R587.1**文章编号:**1673-4130(2018)15-1832-04**文献标识码:**A

Association between ADIPOQ gene polymorphism and genetic susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Chinese population

XU Yanfang¹, MO Fanggui²

(1. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Guangming New District,

Shenzhen, Guangdong 518000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Longhua

Central Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China)

Abstract: **Objective** To study the relationship between adiponectin(ADIPOQ) gene polymorphism and genetic susceptibility to type 2 diabetes mellitus in Chinese population. **Methods** 100 cases of type 2 diabetic patients treated in People's Hospital of Guangming New District in Shenzhen from January 2016 to January 2017 were enrolled as the observation group, and 100 cases of healthy persons who underwent health assessment in the hospital were enrolled as the control group. The correlation between the genetic polymorphism of ADIPOQ gene and type 2 diabetes susceptibility were analyzed. **Results** The results of Logistic regression analysis showed that the exon rs2241766 polymorphism, single nucleotide polymorphism of intron rs1501299 and type 2 diabetes susceptibility in the additive model, dominant model, recessive model were significant correlated($P < 0.05$); chain imbalance analysis showed that G-G haplotype groups of patients had higher risk of type 2 diabetes. **Conclusion** The polymorphism of ADIPOQ gene is closely related to the genetic susceptibility of type 2 diabetes in Chinese population. It may play an important role in the occurrence and development of this disease. It is worth further analysis and research.

Key words: adiponectin; type 2 diabetes mellitus; genetic susceptibility; Chinese population

2 型糖尿病是全球范围内最为常见的终身性慢性代谢疾病之一。据统计数据显示,全世界共有 4.22 亿 2 型糖尿病患者,且仍然处于上升趋势。我国拥有 1.14 亿患者,2 型糖尿病的发病率高达 11.4%,已经成为当之无愧的“2 型糖尿病大国”^[1]。另外,2 型糖尿病具有高度遗传易感性,如果父母双方患有该病症,则其后代易感性将明显增加^[2-3]。鉴于此,本课题

组对中国人群中脂联素(ADIPOQ)基因多态性与 2 型糖尿病的遗传易感性进行了相关性研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取广东省深圳市光明新区人民医院 2016 年 1 月至 2017 年 1 月收治的 100 例 2 型糖尿病患者作为观察组,其中男 68 例,女 32 例;年龄 45~

作者简介:许艳芳,女,主管技师,主要从事临床检验基础的研究。

本文引用格式:许艳芳,莫芳贵.中国人群中 ADIPOQ 基因多态性与 2 型糖尿病遗传易感性的相关性研究[J].国际检验医学杂志,2018,39(15):1832-1834.

60 岁,平均(54.33±1.10)岁;病程 2.00~5.00 年,平均(3.30±0.40)年;体质量指数为 21.20~27.44 kg/m²,平均(24.50±1.25)kg/m²;收缩压为 122.35~161.38 mm Hg,平均(141.10±1.25)mm Hg;舒张压为 74.25~84.33 mm Hg,平均(79.28±1.32)mm Hg;既往生活史:吸烟 64 例,饮酒 55 例。另外,将同期 100 例健康体检者作为对照组,其中男 70 例,女 30 例;年龄 44~62 岁,平均(54.37±1.12)岁;病程 2.50~5.00 年,平均(3.33±0.37)年;体质量指数为 21.17~27.45 kg/m²,平均(24.48±1.22)kg/m²;收缩压为 122.40~161.35 mm Hg,平均(141.00±1.30)mm Hg;舒张压为 74.40~84.30 mmHg,平均(79.24±1.30)mm Hg;既往生活史:吸烟 65 例、饮酒 57 例。两组受试者上述一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。纳入研究的标准:(1)临床依从性好者;(2)同意此次研究并签署知情同意书者。排除标准:(1)I 型糖尿病患者;(2)合并其他器质性疾病患者。诊断标准:纳入本研究的 2 型糖尿病患者诊断均符合《中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)》^[4]以下内容:(1)具有糖尿病症状,随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L;(2)空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L;(3)口服葡萄糖耐量试验 2 h 血糖 ≥ 11.1 mmol/L;(4)糖化血红蛋白 $\geq 6.5\%$ 。

1.2 方法 采集所有受试者空腹静脉血 5 mL 后以 2 500 r/min 离心 10 min,分离血浆并置于-80℃环境下待用。采用上海酶联生物技术有限公司生产的 DNA 提取试剂盒对两组受试者基因进行提取。随后,利用该公司制备的 Taqman 探针对 ADIPOQ 基因中内含子单核苷酸多态性 rs1501299 进行分型,对基因组上的不同 SNP 位点分别设计 PCR 普通引物和 TaqMan 探针,进行实时荧光定量 PCR。采用西安天隆科技公司生产的 tl998 型实时荧光定量 PCR 检测系统对基因型结果进行分析和读取^[5]。外显子单核苷酸多态性 rs2241766 基因分型则是采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法,引物由北京擎科新业生物技术有限公司合成,实施 PCR 扩增后对反应物进行酶切处理,采用 2.5%琼脂糖凝胶电泳予以测定,如在 372 bp 仅检测一个条带则该点位基因为 T/T,若 209 bp 和 163 bp 均检测到条带则为 G/G,如上述三个基因点位均检测到条带则为 T/G^[6]。引物及探针序列:依据 2 个位点与其旁侧序列,有关的引物探针序列包括(均是 5'至 3'端),正向:GAA GTT GAT TAT ATG AAT CAG G;反向:GAA GTT GAT TAT ATG AAT CAG A;探针 1:GTA GAT TCC AAT GCA GAG ATC A;探针 2:GCT CTT CAG CTC CCA GAG。

1.3 统计学处理 本次研究中所有数据均采用 SPSS17.0 统计软件进行处理。计数资料以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用多元 Lo-

gistic 回归模型进行分析;连锁不平衡检验采用 Haploview4.2 软件完成; $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 基因分型结果与测序验证 T/T 基因型只有一条带(372 bp);G/G 基因型有两条带(209 bp 和 163 bp);T/G 基因型有三条带(372 bp,209 bp 和 163 bp),见图 1;随机抽取 5%样本进行测序验证,测序结果与酶切法分型结果完全一致,见图 2。

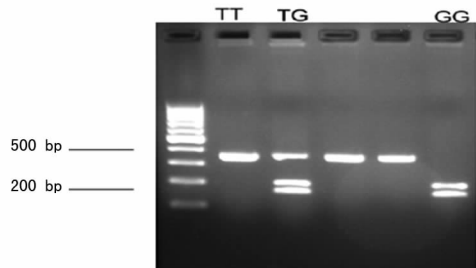


图 1 PCR-RFLP 法基因分型电泳图

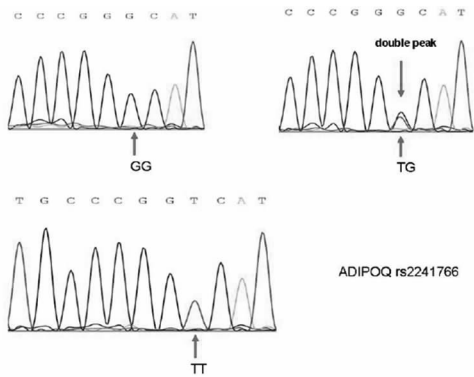


图 2 测序验证 PCR-RFLP 法分型结果

2.2 外显子单核苷酸多态性 rs2241766 与 2 型糖尿病遗传易感性关联性 Logistic 回归分析结果提示,外显子单核苷酸多态性 rs2241766 加性模型($OR: 1.274, 95\%CI: 1.080\sim 1.500, P<0.05$)、显性模型($OR: 1.289, 95\%CI: 1.050\sim 1.575, P<0.05$)、隐性模型($OR: 1.600, 95\%CI: 1.074\sim 2.399, P<0.05$)与 2 型糖尿病遗传易感性存在着明显的关联性,见表 1。

表 1 外显子单核苷酸多态性 rs2241766 与 2 型糖尿病遗传易感性的关联性(n)

组别	n	基因型		等位基因		$P_{\text{加性模型}}$	$P_{\text{显性模型}}$	$P_{\text{隐性模型}}$
		T/T	TG+GG	T	G			
对照组	100	51	49	155	57	0.004	0.014	0.022
观察组	100	64	36	174	48			

2.3 内含子单核苷酸多态性 rs1501299 与 2 型糖尿病遗传易感性的关联性 Logistic 回归分析结果提示,内含子单核苷酸多态性 rs1501299 加性模型($OR: 1.200, 95\%CI: 1.020\sim 1.410, P<0.05$)、显性模型($OR: 1.221, 95\%CI: 1.074\sim 1.528, P<0.05$)、隐性

模型($OR:1.235,95\%CI:1.037\sim1.510,P<0.05$)与 2 型糖尿病遗传易感性存在明显的关联性,见表 2。

表 2 内含子单核苷酸多态性 rs1501299 与 2 型糖尿病遗传易感性关联性(n)

组别	n	基因型		等位基因		$P_{\text{加性模型}}$	$P_{\text{显性模型}}$	$P_{\text{隐性模型}}$
		GG	GT+T/T	G	T			
对照组	100	55	45	150	51	0.027	0.042	0.036
观察组	100	49	51	142	57			

2.4 连锁不平衡分析 连锁不平衡分析结果中连锁值 $D=0.65,r^2=0.37$,提示中国人群中外显子单核苷酸多态性 rs2241766、内含子单核苷酸多态性 rs1501299 之间存在连锁关系,以 T-T 单体型作为参照对象,G-G 单体型人群患 2 型糖尿病风险更高,见表 3。

表 3 连锁不平衡分析[$n(\%)$]					
单体型	对照组	观察组	OR	95%CI	P
T-T	17(17)	13(13)	1.00	—	—
T-G	55(55)	58(58)	0.85	0.64~1.12	0.026
G-T	12(12)	18(18)	1.12	0.89~1.40	0.039
G-G	12(12)	10(10)	1.45	1.07~1.85	0.011

注:—表示该项无数据

3 讨 论

2 型糖尿病患者体内仍保有一定程度的胰岛素分泌能力,部分患者甚至存在胰岛素分泌过多但利用效率差的情形,所以该类型糖尿病患者的胰岛素处于一种相对缺乏的状态^[7-9]。现有研究证实,ADIPOQ 具有调节胰岛素敏感性的作用,促使机体内骨骼肌以及肝脏 5'-腺嘌呤核苷酸活化的蛋白激酶被激活,对脂肪形成强烈刺激以抑制肝糖原的分解,因而在临床工作中将其视作是 2 型糖尿病的独立预测因子,与该病症的发生、发展存在着密切关联^[10-11]。2 型糖尿病属于受多种因素共同影响的慢性代谢性疾病,与患者的遗传以及环境因素密切相关,胰岛素抵抗在 2 型糖尿病的发病过程中十分关键。近年来,人们对脂肪组织的认识逐渐加深,它不仅是一种储能器官,还能以自我分泌的方式分泌各种细胞因子从而调节能量代谢及糖稳态。在这些脂肪组织分泌的细胞因子中,ADIPOQ 是目前研究的热点,因此,研究其基因多态性与糖稳态的关系,对 2 型糖尿病的预防与治疗有很大的作用。

SNP rs2241766 属于静息多态性位点,其并不会影响氨基酸的排列序列,但在 2 型糖尿病发病过程中扮演重要角色。研究发现,SNP rs2241766 基因突变会影响前体 mRNA 剪切,因而可通过影响 ADIPOQ mRNA 的剪切准确性增加 2 型糖尿病易感特性。多态性位点可能会通过调节 ADIPOQ 的表达来影响胰岛素抵抗,与携带 T/T 基因型的个体相比,携带风险

基因型 G/G 的个体血浆 ADIPOQ 浓度更低、胰岛素抵抗更高。

本研究通过对中国人群中 ADIPOQ 基因多态性与 2 型糖尿病遗传易感性相关性展开分析,最终得出以下结果:(1)外显子单核苷酸多态性 rs2241766 加性模型($OR:1.274,95\%CI:1.080\sim1.500,P<0.05$)、显性模型($OR:1.289,95\%CI:1.050\sim1.575,P<0.05$)、隐性模型($OR:1.600,95\%CI:1.074\sim2.399,P<0.05$)与 2 型糖尿病遗传易感性存在着明显的关联性。(2)内含子单核苷酸多态性 rs1501299 加性模型($OR:1.200,95\%CI:1.020\sim1.410,P<0.05$)、显性模型($OR:1.221,95\%CI:1.074\sim1.528,P<0.05$)、隐性模型($OR:1.235,95\%CI:1.037\sim1.510,P<0.05$)与 2 型糖尿病遗传易感性存在着明显的关联性。(3)连锁不平衡分析显示,中国人群中外显子单核苷酸多态性 rs2241766、内含子单核苷酸多态性 rs1501299 之间存在连锁关系,G-G 单体型人群患 2 型糖尿病风险更高^[12-13]。

4 结 论

ADIPOQ 基因多态性与 2 型糖尿病遗传易感性存在密切关联^[14-15]。但是,由于此方面的研究尚处于起步阶段,更为具体的作用机制还有待进一步研究,其在临床实践中应予以足够重视。

参考文献

[1] 张建丽,李兴. 脂联素基因 T45G 多态性和 2 型糖尿病相关性的 Meta 分析[J]. 中国当代医药,2016,23(18):8-11.

[2] 康庄,苏恒,张云,等. 大理白族 2 型糖尿病与脂联素基因多态性相关性分析[J]. 检验医学与临床,2013,21(23):3122-3124.

[3] 张展,蒋陈东,冯杨,等. 脂联素基因单核苷酸多态性与妊娠期糖尿病的相关性评价[J]. 中国妇幼保健,2015,30(29):5083-5088.

[4] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. 中华内分泌代谢杂志,2014,30(10):447-498.

[5] 孙各琴,张秀明,罗楚君,等. 葡萄糖激酶基因 4 个标签单核苷酸多态性位点与 2 型糖尿病的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(18):2507-2510.

[6] TSAI M K,WANG H,SHIANG J C,et al. Sequence variants of ADIPOQ and association with type 2 diabetes mellitus in Taiwan Chinese Han population[J]. Sci World J, 2014,20(14):1211-1220.

[7] 李治鹏,李双庆. 脂联素基因多态性与 2 型糖尿病的相关性研究进展[J]. 浙江医学,2015,37(20):1722-1725.

[8] 孙泽华,张留福,叶志萍,等. 中国汉族人群中 KCNQ1 基因多态性与 2 型糖尿病的相关性研究及对吡格列酮疗效的影响[J]. 安徽医学,2014,10(5):626-629.

[9] 龚莉琳,李蓉,任伟,等. 叉头盒转录因子 O1 基因多态性与中国重庆汉族人 2 型糖尿病相关性研究[J]. 重庆医学,2016,45(31):4340-4344. (下转第 1837 页)

5%~8%,能够在强酸环境下存活,且广泛存在于十二指肠部和胃部,会引起胃黏膜慢性炎症,促进胃酸分泌,从而致使胃、十二指肠溃疡及胃癌。有研究证实,Hp 感染与萎缩性胃炎和胃癌有很大关联^[14]。认为 Hp 感染是胃癌发生的始动因子。临床报道显示,Hp 可经调控相关的信号通路,分泌大量致病因子,长期持续 Hp 感染会诱导免疫反应和炎性反应,产生致癌物质,从而对癌前疾病的进展起到一定作用^[15]。此外,Hp 持续感染会致使 DNA 损伤率增加,炎症能够致使大量超氧化物和自由基的生成,降低胃液内维生素 C 的浓度,从而使得细胞对氧化损伤的耐受力降低,容易发生过氧化损伤。认为 Hp 感染与胃癌的发生可能机制主要包括以下几方面:(1)氧化性损伤;(2)Hp 菌株类型;(3)基因变异及其表达出现差异;(4)动力学异常有关胃黏膜上皮细胞。本文研究结果表明,胃癌组 Hp 阳性率高于胃炎组和对照组,说明胃癌患者 Hp 阳性率明显升高。此外,本文研究结果表明,PG I 和 PG II 与 Hp 阳性均呈负相关。

4 结 论

胃癌患者血清 PG I 和 PG II 水平下降,Hp 感染阳性率较高,且 PG I 和 PG II 与 Hp 感染阳性呈负相关,具有重要临床研究价值,值得进一步推广应用。

参考文献

[1] EYBPOOSH S,TALEBKHAN Y,SABERI S,et al. Age-Specific gastric cancer risk indicated by the combination of helicobacter pylori Sero-Status and serum pepsinogen levels[J]. Iran Biomed J,2015,19(3):133-142.

[2] IGUCHI M,KATO J,YOSHIDA T,et al. Serum pepsinogen levels can quantify the risk of development of meta-chronous gastric cancer after endoscopic resection[J]. Inter J Cancer,2016,139(5):1150-1156.

[3] KUMAR S,KUMARI N,MITTAL R D,et al. Pepsinogen- II 100 bp ins/del gene polymorphism and its elevated circulating levels are associated with gastric cancer, particularly with Helicobacter pylori infection and intestinal metaplasia[J]. Gastric Cancer,2016,19(3):808-816.

[4] HAMASHIMA C,SASAZUKI S,INOUE M,et al. Re-

ceiver operating characteristic analysis of prediction for gastric cancer development using serum pepsinogen and Helicobacter pylori antibody tests[J]. BMC Cancer,2017,17(1):183.

[5] 江堤,苏剑东,张莉,等. 血清胃蛋白酶原对胃癌筛查价值的探讨[J]. 广州医药,2016,47(1):24-27.

[6] 王裕宣. 上消化道出血严重程度与幽门螺旋杆菌感染及胃癌前疾病的相关性研究[J]. 实用癌症杂志,2016,31(10):1648-1651.

[7] 陈佳玮,袁燕玲,王江燕,等. 幽门螺杆菌感染相关胃癌的差异蛋白分析[J]. 中华实验外科杂志,2015,32(6):1339-1342.

[8] KOTACHI T,ITO M,YOSHIHARA M,et al. Serological evaluation of gastric cancer risk based on pepsinogen and helicobacter pylori antibody:relationship to endoscopic findings[J]. Digestion,2017,95(4):314-318.

[9] 陈卿奇,羊文芳,吴素江,等. 血清胃蛋白酶原及胃泌素-17 水平与胃癌的相关性研究[J]. 重庆医学,2016,45(35):4938-4941.

[10] LIU H Y,WANG X J,ZHANG S,et al. Combined detection of pepsinogen and gastric cancer monoclonal antibody for diagnosis of precancerous lesions of gastric cancer[J]. World Chin J Digestol,2015,23(34):5521.

[11] 叶铭坤,梁景星,吕婉娴,等. 胃蛋白酶原检测在胃癌筛查中的应用研究[J]. 国际检验医学杂志,2016,37(7):979-980.

[12] 吴杰,骆骥才,张剑英,等. 胃蛋白酶原在胃癌患者血清中变化的意义及其与幽门螺杆菌感染的相关性[J]. 中华全科医学,2017,15(6):1010-1012.

[13] 乐嫣,项明洁,张华. 血清胃蛋白酶原检测在胃相关疾病中的诊断价值[J]. 标记免疫分析与临床,2016,23(1):12-14.

[14] 王妮娟,李静. 上消化道症状与幽门螺杆菌感染及胃癌前疾病的相关性研究[J]. 临床和实验医学杂志,2015,10(4):291-294.

[15] 李一鑫,李秀明,张楠,等. 幽门螺杆菌感染与胃癌发生发展及预后的相关性研究[J]. 中华肿瘤防治杂志,2015,22(2):91-94.

(收稿日期:2018-01-12 修回日期:2018-04-18)

(上接第 1834 页)

[10] 刘伟伟,饶绍奇,丁元林,等. 脂肪细胞因子基因单核苷酸多态性与 2 型糖尿病关联性研究进展[J]. 国际遗传学杂志,2013,36(1):18-23.

[11] 苏庆建,陈青云. 广西地区汉族 2 型糖尿病患者脂联素基因多态性研究[J]. 中国药师,2014,14(4):540-543.

[12] 庄蕾,崔世维,陈红梅,等. 血清脂联素水平与 2 型糖尿病患者颈动脉内膜中层厚度及搏波传导速度的相关性[J]. 江苏医药,2015,41(3):288-290.

[13] 顾楠,黄佳,马晓伟,等. 中国 2 型糖尿病人群葡萄糖依赖

性促胰岛素受体基因多态性与冠心病风险的相关性研究[J]. 中国糖尿病杂志,2017,25(3):193-198.

[14] 王春红,朴莲善,李丹. 脂联素基因 SNP+276 与延边地区 2 型糖尿病及其颈动脉 IMT 的相关性[J]. 中国动脉硬化杂志,2013,21(8):721-726.

[15] 武玉莲,李素萍,张泽,等. CDKAL1 基因多态性与妊娠期糖尿病及其临床特点的相关性研究[J]. 中国糖尿病杂志,2015,23(6):501-504.

(收稿日期:2017-09-13 修回日期:2017-11-03)