

[文章编号] 1007-3949(2004)12-02-0189-05

•临床研究•

## 男性及绝经后女性雌激素受体基因多态性与糖尿病大血管病变的关系

孙明晓, 郭立新, 周迎生, 李慧, 王晓霞, 潘琦, 周雁

(卫生部北京医院内分泌科, 北京市 100730)

[关键词] 内科学; 雌激素受体基因突变与糖尿病大血管病变有关; 聚合酶链反应—限制片段多态性检测法; 基因突变, 雌激素受体基因; 糖尿病大血管病变; 基因型频率

[摘要] 本文应用聚合酶链反应和限制片段多态性方法测定 118 例男性及绝经后女性 2 型糖尿病患者和 32 例正常对照者的雌激素受体基因型, 结合血清雌激素及血脂水平, 分析了其与心血管病变的相关性。研究发现, 雌激素受体等位基因 X、x、P 和 p 频率在糖尿病组为 0.208、0.792、0.432 和 0.568; 在对照组分别为 0.266、0.734、0.50 和 0.50。基因型频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。XbaI 酶切多态性基因型、等位基因频率及结合 XbaI 和 Pvu II 两个酶切多态性分析在组内、组间比较差异均无显著性。Pvu II 突变型频率在颈动脉内膜中膜厚度增厚组显著增高。糖尿病组 Xx 型的总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇水平明显高于 xx 型, 脑血管病变组的雌激素水平较无大血管病变组明显增高, XbaI 和 Pvu II 突变型分别与总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇水平呈显著的正相关。Pvu II 酶切位点突变是大血管病变的独立危险因素。此结果提示, 男性和绝经后女性糖尿病人群的雌激素受体基因突变可能导致血脂水平的变化, 雌激素水平增高可能与脑血管终点事件有关。XbaI 酶切多态性与糖尿病合并大血管病变无相关性, 而 Pvu II 酶切多态性的突变可能是大血管病变的危险因素之一。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Association of Estrogen Receptor Gene Polymorphisms with Macroangiopathy and Lipid Levels in Men and Postmenopausal Women with Type 2 Diabetes Mellitus

SUN Ming-Xiao, GUO Li-Xin, ZHOU Ying-Sheng, LI Hui, WANG Xiao-Xia, PAN Qi, and ZHOU Yan

(Department of Endocrinol and Metablim, Beijing Hospital, Beijing 100730, China)

[KEY WORDS] Estrogen; Lipids; Type 2 Diabetes Mellitus; Estrogen Receptor; Polymorphism; Macroangiopathy

[ABSTRACT] **Aim** To analyze if the mutation of estrogen receptor (ER) gene has any relationship with macroangiopathy (MA) in men and postmenopausal women with type 2 diabetes (T2DM). **Methods** ER genotyping was performed by using PCR-RFLP method in 118 T2DM patients with and without MA and 32 normal controls (NC), which were men and postmenopausal women. The serum E2 and lipid levels were also determined. **Results** ER allelic frequencies of X, x and P, p alleles were 0.208, 0.792; 0.432, 0.568 and 0.266, 0.734; 0.50, 0.50 in T2DM group and control group respectively. There was no significant difference in frequencies of allele and genotype in XbaI polymorphism or XbaI with Pvu II polymorphisms together between these two groups. The Pp and PP genotypes were significantly more frequent in subjects with IMT > 1.0 mm than in those without MA (86.7% vs 58.3%,  $P < 0.05$ ). In subjects of T2DM, serum TC and LDLC levels were significantly higher in subjects with the Xx genotype compared with those with the wild genotypes [(5.33 ± 1.06) mmol/L vs (4.81 ± 0.99) mmol/L  $P < 0.01$ ; (3.43 ± 0.72) mmol/L vs (3.08 ± 0.8) mmol/L  $P < 0.05$  respectively]. The serum E2 level was significantly higher in CVD group than group without MA [(34.59 ± 16.8) ng/L vs (26.46 ± 11.98) ng/L,  $P < 0.05$ ]. The mutation genotypes of XbaI and Pvu II were significantly and positively correlated with TC and LDLC levels respectively ( $r = 0.2671$   $P = 0.005$  and  $r = 0.2483$   $P = 0.010$ ;  $r = 0.2301$   $P = 0.017$  and  $r = 0.2172$   $P = 0.024$  respectively). The Pvu II polymorphism was the independent risk factor for MA (OR = 2.996, 95% CI 1.023~ 8.767,  $P = 0.041$ ). **Conclusion** The mutation of ER gene in men and postmenopausal women with T2DM might result in the change of serum lipid levels. The higher E2 level might have the relationship with the endpoint of CVD. XbaI polymorphism is not related with MA, but Pvu II polymorphism might be a risk factor for MA in men and postmenopausal women with T2DM.

[收稿日期] 2003-08-30 [修回日期] 2004-03-03

[作者简介] 孙明晓, 硕士, 副主任医师, 内分泌代谢专业, 发表学术论文数篇, 参与国家十五攻关课题的研究。郭立新, 博士, 副主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 副主任, 研究方向为 2 型糖尿病大血管并发症, 发表论文二十余篇, 承担国家十五攻关课题和中央保健委员会课题等多项研究。周迎生, 硕士, 副主任医师, 副教授, 内分泌代谢专业, 发表论文近二十篇, 主编或参编书籍 6 部。

已知心血管疾病的发生存在着明显的性别差异<sup>[1]</sup>。有关雌激素对心血管系统作用的研究多显示其可以阻止动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)的发生发展, 一般认为是通过其在脂代谢方面的有益作用和对血管壁的直接作用来实现的。也有研究认为体内雌激素浓度的增加会使心血管终点事件的发生增

加<sup>[2]</sup>。由于雌激素必须通过雌激素受体(estrogen receptor, ER)介导才能发挥生物学效应,而ER基因的多态性又与ER的表达有关并可影响其功能<sup>[3,4]</sup>,推测ER基因多态性可能影响雌激素对As的作用。我们测定了中国北方地区男性及绝经后女性2型糖尿病患者ER基因XbaI和Pvu $\text{\textcircled{C}}$ 多态性分布,结合血清雌激素及血脂水平分析其与与大血管病变(macroangiopathy, MA)的相关性,现予报道。

## 1 对象与方法

### 1.1 2型糖尿病组

2型糖尿病患者118例,其中男74例,女44例,均为卫生部北京医院2002年3月至10月的住院患者,符合1999年WHO的糖尿病诊断标准,近期无糖尿病急性并发症及急慢性感染,无其他应激情况。年龄在24~84岁之间,平均 $59.7 \pm 11.5$ 岁。根据有无大血管病变再分为2组:(1)有MA组82例,年龄 $63.9 \pm 10.0$ 岁。其中男性53例,女性29例,女性患者年龄为 $65.7 \pm 8.4$ 岁。MA可分为4种类型:①缺血性心脏病(ischemic heart disease, IHD)患者25例,为有陈旧性心肌梗死病史,或经心肌核素和/或运动试验和/或24h动态心电图检查证实有心肌缺血,或经冠状动脉造影检查证实一支或多支冠状动脉中、近端狭窄 $\geq 50\%$ ;②脑血管病变(cerebrovascular disease, CVD)患者17例,均有临床脑血栓或脑出血病史,并经头颅CT或磁共振扫描确诊;③周围血管病变(peripheral vascular disease, PVD)患者32例,经双下肢动脉B型超声检查,有一处或多处有不同程度狭窄;④内膜中膜厚度(intimal-medial thickness, IMT)异常患者30例,无上述MA病史,B超检查双侧颈动脉 $IMT > 1.0$  mm。(2)无MA组36例,年龄为 $51.5 \pm 12.5$ 岁。其中男性21例,女性15例,女性患者年龄为 $58.5 \pm 7.9$ 岁。均无临床MA病史,经上述检查无异常,双侧颈动脉 $IMT \leq 1.0$  mm。

### 1.2 对照组

32例正常对照者为北京医院同期门诊查体的健康人及部分自愿者,其中男19例,女13例,年龄 $58.1 \pm 8.3$ 岁。均无高血压、糖尿病家族史及吸烟史。无各种血管并发症。上述两组均无严重肝、肾功能异常,女性均已绝经并未接受雌激素替代治疗,为我国北方地区无血缘关系的汉族人。

### 1.3 临床资料的搜集

所有受检者测量身高、体重、腰围、臀围,计算体质指数(body mass index, BMI)、腰臀比(waist and hip

ratio, WHR),检测空腹12h血糖(fasting blood glucose, FBG)、甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDLC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDLC)(全自动生物化学分析仪,日本产日立7170型)。血块留置 $-20^{\circ}\text{C}$ 备用。记录糖尿病患者病程、糖尿病家族史,高血压病史及是否吸烟,检测糖化血红蛋白(HbA1c)(拜尔公司DCA2000糖化血红蛋白仪),空腹血浆胰岛素(fasting insulin, FI)和C肽(C-peptide)水平(化学发光法,美国DPC公司IMMUNLITE),不同日8h尿微量白蛋白浓度(方法同胰岛素)各三次,计算其排泄率(urine albumin excretion ratio, UAER),平均值 $\geq 20$   $\mu\text{g}/\text{min}$ 为异常。

### 1.4 白细胞DNA的提取

盐酸胍法<sup>[5]</sup>,主要试剂为十二烷基硫酸钠(SDS)(美国Sigma公司),盐酸胍(美国Promega公司),蛋白酶K(德国Merk公司)。主要步骤为:将样本血凝块研碎,与红细胞裂解液充分混合后离心得到全血白细胞。取白细胞混悬液50~65  $\mu\text{L}$ ,加入已配置好的双蒸水300  $\mu\text{L}$ ,10% SDS 225  $\mu\text{L}$ ,蛋白酶K 30  $\mu\text{L}$ ,7.5 mol/L盐酸胍 225  $\mu\text{L}$ 至 $70^{\circ}\text{C}$ 水浴25 min,12  $\text{kJ}/\text{min}$ 离心8 min,取上清加入2.5倍冰无水乙醇,将析出的DNA晾干后溶于TE中储存备用。

### 1.5 基因多态性检测

1.5.1 聚合酶链反应法检测 参照文献[6],由北京赛百胜公司合成引物,引物雌激素受体1序列为5'-CTGCCACCCTATCTGTATCTTTTCTATTCFCG-3'引物雌激素受体2序列为5'-TCITTCCTCTGCCAC-CCTGGCGTTCGATTATCTGA-3',特异扩增雌激素受体基因第1内含子和第2外显子的一部分。产物片段长1.3 kb。设置反应体系为50  $\mu\text{L}$ ,含10x缓冲液5  $\mu\text{L}$ ,脱氧核苷三磷酸(dNTP)1  $\mu\text{L}$ (200  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ),Taq DNA聚合酶1  $\mu\text{L}$ (5 u)(北京普京康生物制品公司),模板DNA 1  $\mu\text{L}$ (0.1  $\mu\text{g}$ ),上、下游引物各2  $\mu\text{L}$ (0.4  $\mu\text{mol}/\text{L}$ ),补充反应体系至50  $\mu\text{L}$ 。设置聚合酶链反应(PCR)程序为: $95^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min $\rightarrow 94^{\circ}\text{C}$ 变性30 s $\rightarrow 61^{\circ}\text{C}$ 退火60 s $\rightarrow 72^{\circ}\text{C}$ 延伸90 s,循环32次。末次循环后,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。取6  $\mu\text{L}$ 产物经1.5%琼脂糖凝胶电泳,100 V电压下40 min,与200 bp DNA片段长度标准物(上海华美生物工程公司)对照,紫外灯下可见仅有一条1.3 kb的带。

1.5.2 限制片长多态性法检测 取PCR产物各6  $\mu\text{L}$ ,分别加入限制性内切酶(协和医科大学基础研究所)XbaI 1  $\mu\text{L}$ (16 u)或Pvu $\text{\textcircled{C}}$  1  $\mu\text{L}$ (6 u)及内切酶缓

冲液各 2  $\mu$ L, 补充酶切体系至 20  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C 过夜。各取酶切产物 6  $\mu$ L, 电泳方法同前, 检测到等位基因 X 和 P 为 1.3 kb 一条带, x 为 910 bp 和 390 bp 两条带, p 为 850 bp 和 450 bp 两条带, 6 种基因型 (xx、xX、XX, pp、pP、PP)。大写字母表示存在点突变而使该酶切位点消失, 小写字母表示存在该酶切位点。

### 1.6 统计学处理

计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间差异的显著性用  $t$  检验和  $\chi^2$  检验, 血管病变与其他因素的相关性用相关性分析及 Logistic 回归分析, 均在 SPSS10.0 软件包上完成。

## 2 结果

### 2.1 临床资料的比较

与对照组比较, 糖尿病患者的 BMI、腰臀比及 FBG、TG、TC、LDLC 水平显著增高 ( $P < 0.01$ ); 两组间性别构成比、年龄及 FI、HDLc、雌激素水平无明显差别 ( $P > 0.05$ ) (表 1, Table 1)。与无 MA 组相比, 有 MA 组的年龄 ( $63.6 \pm 10.1$  岁比  $51.5 \pm 12.5$  岁)、高血压患病率 ( $59.8\%$  比  $27.8\%$ )、糖尿病病程 ( $9.8 \pm 7.2$  年比  $5.0 \pm 5.5$  年) 明显升高 ( $P < 0.01$ ); 两组间性别比、吸烟史、家族史及 BMI、腰臀比、FBG、FI、TC、LDLC、HDLc 和雌激素水平及 UAER 异常比无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

表 1. 2 型糖尿病患者与对照者临床资料的比较

Table 1. Comparison of clinical data between diabetes and normal controls

项目	对照组	2 型糖尿病组
性别比 (男/女)	19/13	74/44 <sup>a</sup>
年龄 (岁)	$58.1 \pm 8.3$	$60.1 \pm 12.2^a$
BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	$23.0 \pm 3.1$	$24.7 \pm 3.3^b$
腰臀比	$0.86 \pm 0.06$	$0.91 \pm 0.07^d$
TG (mmol/L)	$1.10 \pm 0.42$	$1.77 \pm 1.07^c$
TC (mmol/L)	$4.44 \pm 1.16$	$5.00 \pm 1.05^c$
HDLc (mmol/L)	$1.19 \pm 0.35$	$1.16 \pm 0.30^a$
LDLC (mmol/L)	$2.73 \pm 0.78$	$3.21 \pm 0.80^c$
FI (mIU/L)	$6.78 \pm 4.76$	$9.56 \pm 9.03^a$
FBG (mmol/L)	$4.89 \pm 0.74$	$9.24 \pm 3.13^d$
雌激素 (ng/L)	$26.3 \pm 23.1$	$27.6 \pm 13.0^a$

a:  $P > 0.05$ , b:  $P < 0.05$ , c:  $P < 0.01$ , d:  $P < 0.001$ , 与对照组比较。

在血管病变各亚组可见到相似的趋势, 但 CVD 患者的雌激素水平较无 MA 组明显增高 ( $34.6 \pm 16.$

$8 \text{ ng/L}$  比  $26.5 \pm 12.0 \text{ ng/L}$ ,  $P = 0.011$ ), 其余各亚组雌激素水平与无 MA 组的差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。

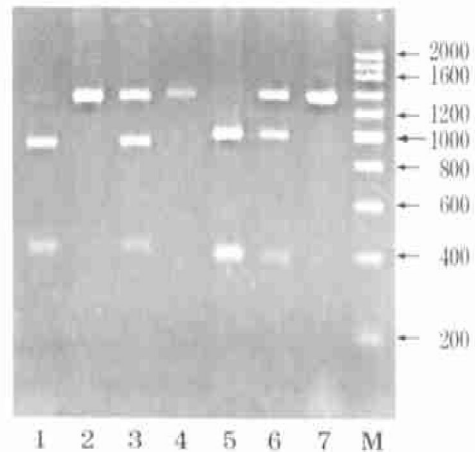


图 1. 雌激素受体基因 PCR 产物及 XbaI、PvuII 酶切多态性电泳图谱 1 为 pp 型, 2 为 PP 型, 3 为 Pp 型, 4 为 XX 型, 5 为 xx 型, 6 为 Xx 型, 7 为 PCR 产物。

Figure 1. The electrophoretogram of PCR products and genotypes of ER gene

### 2.2 XbaI 和 PvuII 多态性的分布

糖尿病和对照组人群中 ER 等位基因频率符合 Hardy-weinberg 遗传平衡定律, 具有群体代表性。以 xx 型 ( $62.7\%$ ,  $59.4\%$ ) 和 Pp 型 ( $54.2\%$ ,  $37.5\%$ ) 最多。结合两个酶切位点多态性结果, 两组中均以 xx-pP 型 ( $31.3\%$ ,  $29.7\%$ ) 最多。组内和组间单个 XbaI 或 PvuII 多态性以及结合两个酶切位点多态性的分布在男女间无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

在糖尿病患者中, 无 MA 组以 xx 型和 pP 型最多。与其相比, 有 MA 及其各亚组的 XbaI 酶切多态性基因型、等位基因频率无显著性差异, IMT 增厚组 Pp 型频率 ( $66.7\%$  比  $44.4\%$ ) 及等位基因 P 的频率 ( $53.3\%$  比  $36.1\%$ ) 明显高于其它亚组 ( $P < 0.05$ ) (表 2, Table 2)。

### 2.3 XbaI 和 PvuII 多态不同基因型间血脂及雌激素水平的比较

糖尿病组 Xx+XX 型的血清 TC、LDLC 水平明显高于 xx 型 (表 3, Table 3), 其余各型间及 NC 组不同基因型间各项血脂及雌激素水平无显著差异 ( $P > 0.05$ )。控制吸烟史、家族史、高血压病史、病程、BMI、腰臀比、FBG 及 HbA1c 等因素后, XbaI 和 PvuII 突变型分别与 TC、LDLC 水平呈显著正相关 ( $r = 0.2671$ ,  $P = 0.005$ ;  $r = 0.2483$ ,  $P = 0.010$ ;  $r = 0.2301$ ,  $P = 0.017$ ;  $r = 0.2172$ ,  $P = 0.024$ ); 雌激素水平与 LDLC 水平呈显著负相关 ( $r = -0.237$ ,  $P = 0.014$ )。

表 2. 糖尿病患者不同人群雌二受体基因 XbaI 和 Pvu II 多态性基因型的分布

Table 2. The distribution of ER XbaI and Pvu II polymorphisms in type 2 diabetes

分组	例数	XbaI 多态性					Pvu II 多态性				
		基因型频率			等位基因频率		基因型频率			等位基因频率	
		xx	Xx	XX	x	X	pp	Pp	PP	p	P
无 MA	36	72.2%	25.0%	2.8%	84.7%	15.3%	41.7%	44.4%	13.9%	63.9%	36.1%
有 MA	82	58.5%	36.6%	4.9%	76.8%	23.2%	24.4%	58.5%	17.1%	53.7%	46.3%
有 CVD	17	58.8%	35.3%	5.9%	76.5%	23.5%	29.4%	52.9%	17.6%	55.9%	44.1%
有 IHD	25	72.0%	28.0%	0	86.0%	14.0%	36.0%	52.0%	12.0%	62.0%	38.0%
有 PVD	32	65.6%	31.3%	3.1%	81.3%	18.7%	28.1%	56.3%	15.6%	56.3%	43.7%
有 IMT	30	53.3%	40.0%	6.7%	73.3%	26.7%	13.3%	66.7%	20.0% <sup>b</sup>	46.7%	53.3% <sup>b</sup>

b:  $P < 0.05$ , 与无 MA 组比较。

表 3. 2 型糖尿病组雌激素受体基因 XbaI 和 Pvu II 多态不同基因型间血脂水平的分析

Table 3. Analysis of lipid levels in different genotypes of ER gene in type 2 diabetes

基因型	<i>n</i>	TG (mmol/L)	TC (mmol/L)	HDLC (mmol/L)	LDLC (mmol/L)	雌激素 (ng/L)
xx	74	1.76 ± 1.03	4.81 ± 0.99	1.13 ± 0.32	3.08 ± 0.83	28.03 ± 13.4
Xx+ XX	44	1.78 ± 1.14	5.33 ± 1.06 <sup>b</sup>	1.21 ± 0.27	3.43 ± 0.72 <sup>a</sup>	26.81 ± 12.37
Pp	35	1.73 ± 1.07	4.74 ± 0.95	1.16 ± 0.28	3.02 ± 0.81	26.44 ± 13.9
Pp+ PP	83	1.80 ± 1.07	5.12 ± 1.07	1.16 ± 0.31	3.29 ± 0.79	28.06 ± 12.64

a:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ , 与 xx 型比。

#### 2.4 Logistic 回归分析大血管病变的相关危险因素

如表 4(Table 4) 所示, 分别以有、无 MA, 各亚组的血管病变与无 MA 组为应变变量进行多元逐步 Logistic 回归分析可发现对总 MA 及各亚型的不同危险因素。

表 4. 多因素 Logistic 回归分析 2 型糖尿病并大血管病变的危险因素

Table 4. Significant risk factors for MA in type 2 diabetes examined by stepwise multivariate logistic regression analysis

危险因素	MA	CVD	IHD	PVD	IMT
男性	2.817 <sup>b</sup>	—	—	—	—
年龄	1.115 <sup>d</sup>	1.117 <sup>a</sup>	1.406 <sup>c</sup>	1.279 <sup>d</sup>	1.056 <sup>b</sup>
吸烟史	—	—	10.463 <sup>b</sup>	—	—
高血压	3.398 <sup>b</sup>	17.03 <sup>b</sup>	10.803 <sup>b</sup>	—	—
病程	—	1.228 <sup>b</sup>	—	—	—
TC	—	3.243 <sup>b</sup>	—	—	—
雌激素	—	1.14 <sup>b</sup>	—	—	—
UAER	—	—	—	8.39 <sup>b</sup>	—
Pp 和 PP 型	2.996 <sup>a</sup>	—	—	—	5.188 <sup>b</sup>

a:  $P > 0.05$ ; b:  $P < 0.05$ ; c:  $P < 0.01$ ; d:  $P < 0.001$ 。

### 3 讨论

大血管病变(MA) 作为糖尿病的主要并发症其发生、发展受多种因素的影响。As 是糖尿病并 MA 的基础病理改变。除了随着年龄的增加, 病程的延长, As 会逐渐加重外, 高血压病, UAER 升高, 脂代谢异常, 不良的生活方式及遗传基因的改变等均是糖尿病合并 MA 的危险因素。本研究中, 性别、年龄、高血压病、UAER 异常及血脂水平的变化均是 MA 的独立危险因素, 与既往的研究结果相符。

血管病变的发生由于性别差异可导致发病率不同。在相关的遗传学研究中, ER 基因倍受关注。人类 ER 基因位于染色体 6q24~ 27 区带, 野生型 ER 基因全长 140kb, 由 8 个外显子和 7 个内含子组成。含有 Pvu II 和 XbaI 酶切多态性的 1 号内含子内具有增强子和启动子等与基因的转录调控密切相关的重要调节序列, 多态性的发生可能直接影响 ER 基因的转录能力。已知在血管平滑肌和内皮细胞上均有与雌激素高亲和的特异性 ER<sup>[7,8]</sup>, 其通过激活血管平滑肌上特异的靶基因抑制平滑肌细胞的迁移<sup>[9]</sup> 和促进内皮细胞的生长<sup>[8]</sup>, 因此 ER 表达的改变可能导致雌激素作用的改变。

我们分析了男性及绝经后女性糖尿病和正常人

群, 糖尿病有、无 MA 间 ER 基因的 Pvu Ⅱ和 XbaI 多态分布, 其各基因型及等位基因的频率在组内和组间比较均无显著性差异, 与日本男性及绝经后女性在正常和冠心病人群中的结果相似<sup>[10]</sup>。Hill 等证实, 在人类乳腺肿瘤细胞中 p 等位基因与 ER 高表达有关, P 等位基因与 ER 表达缺乏有关。可能是该位点突变影响了 ER mRNA 适当的剪接, 导致蛋白表达的改变<sup>[10]</sup>。已知绝经前女性中, As 的冠状动脉上 ER 的数量较正常动脉的少<sup>[11]</sup>, ER 基因表达的减低与早期 As 的出现有关<sup>[12]</sup>。我们在 MA 分组比较中发现 IMT 增厚组的 PP 和 pP 型及 P 等位基因的频率明显高于无 MA 组, 而且 Pvu Ⅱ酶切位点的突变是糖尿病合并 MA 及 IMT 的独立危险因素。这与我国汉族人对脑梗塞患者的研究结果<sup>[13]</sup>相似。Lehtimäki 等<sup>[14]</sup>对 300 例男性尸检结果的分析也认为 P 等位基因的携带者冠状动脉复合损伤的危险性明显增加。

雌激素对血管系统的作用目前多有争论。既往认为雌激素对心血管系统的保护作用机制之一为调节脂蛋白代谢, 即减少 LDLC 的水平, 增加 HDLC 水平, 我们发现在糖尿病组中雌激素水平与 LDLC 水平呈显著负相关, 可能与其导致细胞 LDL 受体 mRNA 表达增加有关<sup>[15]</sup>。本研究中正常人群的不同基因型间血脂水平无显著性差异, 与张平安等的研究结果相似<sup>[16]</sup>。但在糖尿病人群中 XbaI 突变型的血清 TC、LDLC 水平明显高于野生型。调整吸烟史、家族史、高血压病史、年龄、病程、BMI、WHR、FBS 及 HbA1c 等因素后, XbaI 和 Pvu Ⅱ多态突变型与 TC、LDLC 水平均呈显著正相关, 提示 ER 基因的突变可能通过改变雌激素的作用来影响血脂水平变化, 从而影响了 As 的进展。

新近有临床研究对雌激素的心血管疾病保护作用提出质疑<sup>[2]</sup>, 认为对有冠心病(CHD, coronary heart disease)的女性给予长期的激素替代治疗并不能减少其心血管终点事件的发生, 而在早期会引起 CHD 终点事件的增多。其可能的机制为: 1) 促血栓作用。有研究<sup>[17]</sup>表明, 激素替代治疗的绝经后女性发生静脉血栓的危险性升高 2~4 倍, 以第一年升高最显著, 并伴有动脉血栓事件危险的增高。2) 促炎症作用。激素替代治疗后, 与心血管事件危险增加独立相关的炎症标志物 C 反应蛋白水平显著增高<sup>[18]</sup>。本研究中, 雌激素水平在 CVD 组明显升高, 且是 CVD 的独立危险因素, 可能与我们仅以终点事件来

确诊 CVD 有关。

糖尿病并 MA 的形成是多因素作用的结果。ER 基因的改变可能与糖尿病合并 MA 的发生有关, 但其确切的病理机理尚需进一步的研究。

#### [参考文献]

- [1] Grady D, Rubin SM, Petitti DB, Fox CS, Black D, Ettinger B, et al. Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med*, 1992, **117**: 1 016-037
- [2] Hullev S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, et al. Rarr domized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. *JAMA*, 1998, **280**: 605-613
- [3] Ushiyama T, Ueyama H, Inoue K, Niskioka J, Ohkubo I, Hukuda S. Estrogen receptor gene polymorphism and generalized osteoarthritis. *J Rheumatol*, 1998, **25**: 134-137
- [4] Hill SM, Fuqua SA, Channess GC, Greene GL, McGuire WL. Estrogen receptor expression in human breast cancer associated with an estrogen receptor gene restriction fragment length polymorphism. *Cancer Res*, 1989, **49**: 145-148
- [5] 范海荣, 夏永静, 孙福成, 等. 四种全血基因 DNA 提取方法的比较. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10**: 535-536
- [6] Kobayashi S, Inoue S, Hosoi T, Ouchi Y, Shiraki M, Orimo H. Association of bone mineral density with polymorphism of the estrogen receptor gene. *J Bone Miner Res*, 1996, **11**: 306-311
- [7] Karas RH, Patterson BL, Mendelsohn ME. Human vascular smooth muscle cells contain functional estrogen receptor. *Circulation*, 1994, **89** (5): 1 943-950
- [8] Venkov CD, Rankin AB, Vaughan DE. Identification of authentic estrogen receptor in cultured endothelial cells: a potential mechanism for steroid hormone regulation of endothelial function. *Circulation*, 1996, **94** (4): 727-733
- [9] Bhalla RC, Toth KF, Bhatti RA, Thompson LP, Sharma RV. Estrogen reduces proliferation and agonist-induced calcium increase in coronary artery smooth muscle cells. *Am J Physiol*, 1997, **272** (49): H1 996-003
- [10] Matsubara Y, Murata M, Kawano K, Zama T, Aoki N, Yoshino H, et al. Genotype distribution of estrogen receptor polymorphisms in men and postmenopausal women from healthy and coronary populations and its relation to serum lipid levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, **17** (11): 3 006-012
- [11] Losordo DW, Kearney M, Kim EA, Jekanowski J, Isner JM. Variable expression of the estrogen receptor in normal and atherosclerotic coronary arteries of premenopausal women. 1994, **89** (4): 1 501-510
- [12] Williams JK, Adams MR, Herrington DM, Clarkson TB. Short-term administration of estrogen and vascular responses of atherosclerotic coronary arteries. *J Am Coll Cardiol*, 1992, **20** (2): 452-457
- [13] 张燕, 谢汝萍, 王荫华, 陈大方, 王国英, 徐希平. 雌激素受体基因多态性与脑梗死的相关性研究. *中华医学杂志*, 2002, **82** (21): 1 443-446
- [14] Lehtimäki T, Kunas TA, Mattila KM, Perola M, Penttilä A, Koivula T, et al. Coronary artery wall atherosclerosis in relation to the estrogen receptor 1 gene polymorphism: an autopsy study. *J Mol Med*, 2002, **80** (3): 176-180
- [15] Patrick TS, Yamamoto T, Goldstein JL, Brown MS. Increased mRNA for low density lipoprotein receptor in livers of rabbits treated with 17 $\alpha$  ethinyl estradiol. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, **83** (3): 792-796
- [16] 张平安, 黄宪章, 李栋, 李艳, 刘军, 李庚山. 中国汉族人群雌激素受体基因多态性及其与血脂关系的研究. *中华医学遗传学杂志*, 2001, **18** (4): 324-326
- [17] Grodstein F, Stampfer MJ, Goldhaber SZ, Manson JE, Colditz GA, Speizer FE, et al. Prospective study of exogenous hormones and risk of pulmonary embolism in women. *Lancet*, 1996, **348**: 983-987
- [18] Nair GV, Klein KP, Herrington MD. Assessing the role of estrogen in the prevention of cardiovascular disease. *Ann Med*, 2001, **33**: 305-312

(此文编辑 胡必利)