

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

王春红, 朴莲善, 李 丹

(延边大学附属医院内分泌科, 吉林省延吉市 133000)

[关键词] 2 型糖尿病; 脂联素 SNP + 276T/G 基因多态性; 颈动脉 IMT

[摘要] **目的** 探讨血清脂联素水平及其基因 SNP + 276 基因多态性与延边地区 2 型糖尿病及其颈动脉内膜中膜厚度(IMT)的相关性。**方法** 对象均来自吉林省延边地区, 3 代无亲缘关系, 排除冠心病、肝肾疾病、恶性肿瘤及免疫系统疾病。入组人群分对照组, 2 型糖尿病组, 2 型糖尿病组按民族分为汉族与朝鲜族组; 2 型糖尿病组根据颈动脉 IMT 分为颈动脉硬化组(GG 基因型组, GT 基因型组, TT 基因型)和无颈动脉硬化组; 采用 Taqman 探针法进行 SNP 基因分型, 荧光测序法进行 SNP 测序。**结果** 对照组与 2 型糖尿病组脂联素 SNP + 276T/G 基因多态性分布差异存在显著性; 2 型糖尿病组汉族和朝鲜族脂联素 SNP + 276T/G 基因多态性分布差异无显著性; 2 型糖尿病动脉硬化组与无颈动脉硬化组脂联素 SNP + 276 基因多态性分布差异无显著性; 2 型糖尿病颈动脉硬化组血清脂联素水平与 2 型糖尿病无颈动脉硬化组差异存在显著性; 2 型糖尿病颈动脉硬化患者 GG 基因型组年龄, 病程和脂联素水平与 TT 基因型组差异存在显著性。**结论** 脂联素基因 SNP + 276T/G 与延边地区 2 型糖尿病有相关性。脂联素基因 SNP + 276T/G 与延边地区 2 型糖尿病颈动脉 IMT 无相关性。血清脂联素水平与延边地区 2 型糖尿病及颈动脉 IMT 有相关性。脂联素是 2 型糖尿病及颈动脉硬化的保护因子。G 等位基因可能是 2 型糖尿病及颈动脉硬化的风险基因。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Correlation Between Adiponectin Gene SNP + 276 Polymorphism and Carotid Intima Media Thickness in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus in Yanbian District

WANG Chun-Hong, PIAO Lian-Shan, and LI Dan

(Department of Endocrinology, the Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji, Jilin 133000, China)

[KEY WORDS] Type 2 Diabetes Mellitus; Adiponectin Gene SNP + 276 Polymorphism; Carotid Intima Media Thickness

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the association of the level of adiponectin (ANP) and its gene SNP + 276 polymorphism with the patients with type 2 diabetes mellitus and those people complicated with carotid intima media thickness (IMT) in Yanbian district. **Methods** Only depth-endogamy were selected in this study. All participants come from Yanbian, Jilin province after excluding coronary heart disease, liver and kidney disease, malignant tumors and immune system diseases. The subjects were divided into normal control group and T2DM group. T2DM group consisted of the Han nationality and the Korean nationality, and T2DM group was also divided into carotid atherosclerosis group (including GG genotype group, GT genotype group and TT genotype group) and group without carotid atherosclerosis. The genotype was confirmed by using Taqman probe. **Results** There was significant difference in the distribution of adiponectin gene SNP + 276T/G polymorphism between the normal control group and T2DM group. In the T2DM group, there was no significant difference in the distribution of adiponectin gene SNP + 276 T/G polymorphism between the Han and Korea nationality. There was no significant difference in the distribution of adiponectin gene SNP + 276 T/G polymorphism between the T2DM patients with and without carotid atherosclerosis. There was significant difference in the level of adiponectin be-

[收稿日期] 2012-11-28

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81060067)

[作者简介] 王春红, 硕士, 医师, 研究方向为糖尿病及其大血管并发症, E-mail 为 chunhongwangybu@163.com。通讯作者朴莲善, 博士, 主任医师, 研究方向为糖尿病及其大血管并发症, E-mail 为 lianshanpiao@hotmail.com。李丹, 硕士, 医师, 研究方向为糖尿病及其大血管并发症, E-mail 为 chunjingse@hotmail.com。

tween the T2DM patients with and without carotid atherosclerosis. Among T2DM carotid atherosclerosis group, there was significant difference in the age, course of disease, carotid IMT and the level of adiponectin between the GG genotype group and TT genotype group. **Conclusion** Adiponectin gene SNP +276 T/G is correlated with type 2 diabetes mellitus in Yanbian district. There in no correlation between adiponectin gene SNP +276 T/G and T2DM patients with carotid IMT in Yanbian district. The level of adiponectin is correlated with type 2 diabetes mellitus and carotid IMT. Adiponectin is a protective factor for type 2 diabetes mellitus and carotid IMT. G allelomorphic gene maybe is a risk factor for type 2 diabetes mellitus and carotid IMT.

颈动脉内膜中膜厚度 (IMT) 是冠心病、脑血管疾病的预测因子,是糖尿病患者早期动脉硬化的定量临床指标。人类脂联素基因由定位于 3q27 染色体上的 apM1 mRNA 编码,包括 3 个外显子和 2 个内含子。由于染色体 3q27 区域存在与 2 型糖尿病、代谢综合征和冠心病的易感位点,而且有较大频率的基因多态性,因此对于脂联素基因多态性与代谢性疾病的研究已经成为新近研究的热点。本文旨在通过测定延边地区 2 型糖尿病患者血清中脂联素水平及基因多态性来研究脂联素基因 SNP +276T/G 多态性与延边地区 2 型糖尿病及颈动脉 IMT 之间的关系,为临床有效防治本地区 2 型糖尿病及糖尿病大血管并发症提供基因学方面的理论依据。

1 对象和方法

1.1 研究对象

2008 年至 2009 年在延边大学附属医院内分泌科治疗的 2 型糖尿病患者 (1999 年 WHO 糖尿病诊断标准)217 名,其中汉族 123 名,朝鲜族 94 名,糖尿病组根据颈动脉 IMT 分为颈动脉硬化组与无动脉硬化组,颈动脉硬化组 101 名,平均年龄 61.03 ± 9.95 岁,男女比例为 57/44;无颈动脉硬化组 116 名,平均年龄 50.6 ± 10.76 岁,男女比例为 66/50。颈动脉硬化组根据基因型分为 GG 基因型,GT 基因型及 TT 基因型三组。正常组对照组 190 名 (2008

年至 2009 年延边医院门诊体检正常者),平均年龄 58.16 ± 9.87 岁,男女比例为 105/85。

1.2 样本采集

入院次日清晨空腹排空膀胱后测身高及体重,查血糖、血脂、糖化血红蛋白,测定颈动脉 IMT,同时留取 3 mL 静脉血,提取 DNA。

1.3 基因多态性的分析

采用 Taqman 探针法进行 SNP 基因型分析,荧光测序法进行 SNP 测序,上游引物为 5'-GGAAT-ACGGATGAGCGTGAAGA-3',下游引物为 5'-GT-GAGAAGGGTGAGAAAG-3'。横坐标为 HEX 信号强度,NTC 为 No Template control,纵坐标为 FAM 信号强度,黑点为空白对照,Undetermined 为无法识别,红点为 Allele X 纯合子,蓝点为 Allele Y 纯合子,绿点为杂合子 (图 1~4)。

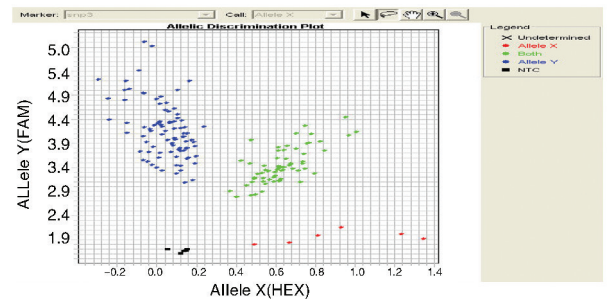


图 1. Taqman 探针法进行 SNP 分型结果
Figure 1. Result of Taqman SNP genotyping assays

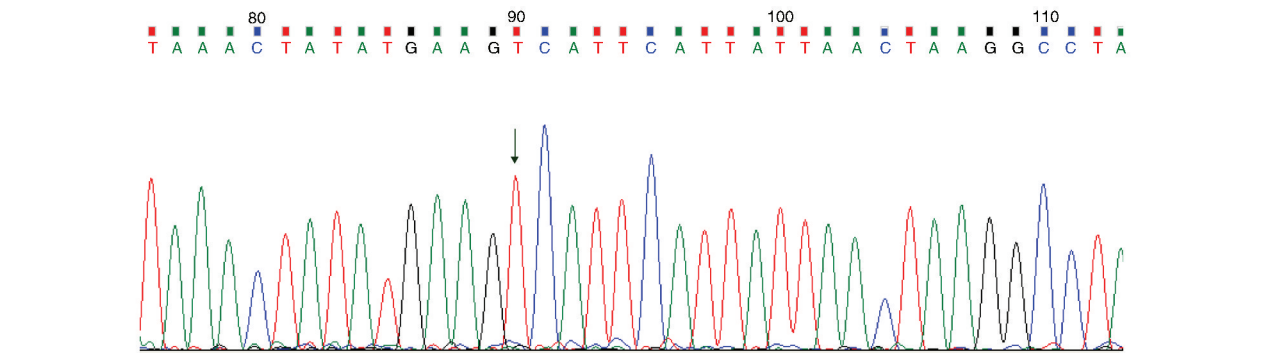


图 2. SNP +276 纯合子 TT 的测序图
Figure 2. Sequence graph of homozygous SNP +276 TT genotype

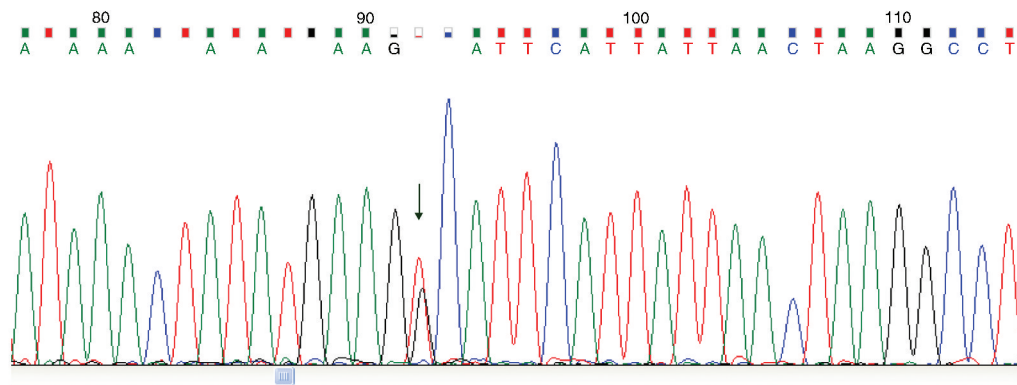


Figure 3. Sequence graph of SNP + 276 heterozygous TG genotype

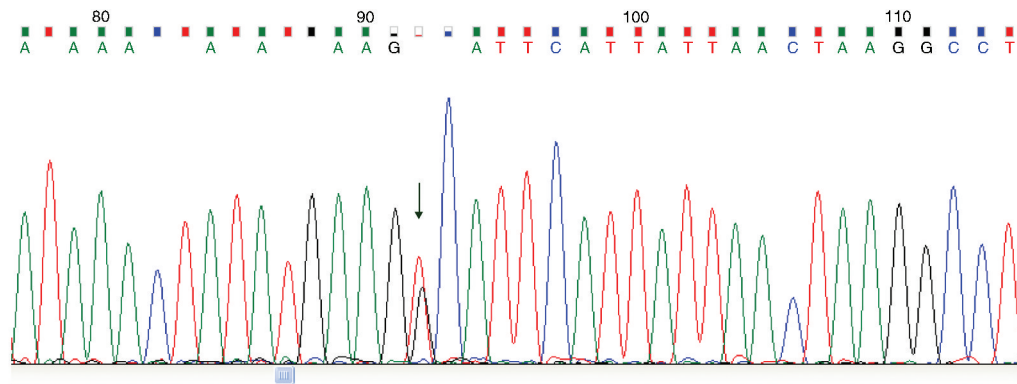


Figure 4. Sequence graph of homozygous SNP +276 GG genotype

1.4 颈动脉内膜中膜厚度测定

采用美国 ACUSON-128 频率 7.5 MHz, 测颈膨大下 1.0 cm 以远附近 IMT, 测最厚处及距此远心 1.0 cm 和近心 1.0 cm 三点, 左右共 6 点平均值作为 IMT 值。IMT ≥ 1.0 mm, 和/或硬斑或软斑形成颈动脉硬化阳性。

1.5 统计学分析

用 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验样本的群体代表性。通过 Logistic 回归分析,筛选颈动脉硬化性病变的危险因素,各组间基因型及等位基因频率比

较用 χ^2 检验, 多组计量资料用单因素方差分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 全部数据用 SPSS 13.0 统计软件处理。

2 结 果

2.1 正常对照组与 2 型糖尿病组脂联素基因 SNP +276 基因型及等位基因分布频率比较

正常对照组与 2 型糖尿病组脂联素 SNP + 276 基因多态性分布差异存在显著性 ($P < 0.001$; 表 1)。

表 1. NGT 组与 T2DM 组脂联素 SNP +276 基因多态性分布比较

Table 1. Comparison of distribution of adiponectin gene SNP +276 polymorphism between NGT and T2DM group

分 组	<i>n</i>	基因型(例)			等位基因(例)	
		GG	GT	TT	G	T
正常对照组	190	48(25.3%)	53(27.9%)	89(46.8%)	149(39.2%)	231(60.8%)
2型糖尿病组	217	101(46.5%)	85(39.2%)	31(14.3%)	287(55.3%)	147(44.7%)

基因型比较, $\chi^2 = 52.74, P = 0.000$ 。等位基因比较, $\chi^2 = 22.733, P = 0.000$ 。

2.2 2 型糖尿病组汉族与朝鲜族脂联素 SNP + 276T/G 基因分布频率比较

2 型糖尿病组汉族和朝鲜族脂联素 SNP + 276T/G 基因多态性分布差异无显著性(表 2)。

表 2. T2DM 组汉族与朝鲜族脂联素 SNP + 276 基因分布频率

Table 2. Comparison of distribution rate of adiponectin gene SNP + 276T/G polymorphism between the normal Han and Korea nationality

分 组	n	基因型(例)			等位基因(例)	
		GG	GT	TT	G	T
汉族	123	56(45.5%)	45(36.6%)	22 (17.9%)	157(63.8%)	89 (36.3%)
朝鲜族	94	44(46.8%)	39(41.5%)	11 (11.7%)	127 (67.6%)	61 (32.4%)

基因型比较, $\chi^2=0.51,P=0.56$ 。等位基因比较, $\chi^2=0.663,P=0.24$ 。

表 3. 无颈动脉硬化组与动脉硬化组脂联素基因 SNP + 276 分布频率

Table 3. Comparison of distribution of adiponectin gene SNP + 276 polymorphism between positive and negative arteriosclerosis group T2DM

分 组	n	基因型(例)			等位基因(例)	
		GG	GT	TT	G	T
无颈动脉硬化组	116	49(42.2%)	47(40.5%)	20(17.2%)	146(62.7%)	146(37.3%)
颈动脉硬化组	101	52(51.5%)	38(37.6%)	11(10.9%)	142(70.3%)	60(29.7%)

基因型比较, $\chi^2=2.631,P=0.268$ 。等位基因比较, $\chi^2=2.823,P=0.093$ 。

2.4 颈动脉硬化组和无颈动脉硬化组各项临床指标比较

2 型糖尿病颈动脉硬化组与无颈动脉硬化组年龄、病程和 IMT 差异有统计学意义($P<0.05$;表 4)。

表 4. 2 型糖尿病颈动脉硬化组和无颈动脉硬化组各项临床指标比较

Table 4. Comparison of clinical parameters inT2DM patients

指 标	无颈动脉硬化组	颈动脉硬化组
年 龄	50.6±10.76	61.03±9.95 ^a
病程	6.68±5.76	9.13±6.80 ^a
收缩压	125.80±17.59	131.80±23.99
舒张压	78.31±10.88	78.79±11.75
BMI	25.25±4.04	26.12±4.18
FBG	11.93±4.92	11.18±4.83
FPG	19.10 ±8.04	17.54±4.30
TG	3.36±2.53	4.21±7.56
TC	5.32±1.68	5.40±1.79
LDLC	2.58±0.87	2.67±0.88
HDLc	1.39±0.80	1.21±0.41
HbA1c	8.95±2.35	9.07±2.44
IMT	0.94±0.46	1.68±0.89 ^a

a 为 $P<0.05$,与无颈动脉硬化组比较。

2.3 颈动脉硬化组与无颈动脉硬化组 SNP + 276 基因型及等位基因分布频率比较

2 型糖尿病动脉硬化组与无颈动脉硬化组脂联素 SNP + 276 基因多态性分布差异无显著性(表 3)。

2.5 2 型糖尿病颈动脉硬化组患者各基因型组生化指标比较

2 型糖尿病颈动脉硬化组 GG 基因型与 TT 基因型之间比较,年龄、病程和脂联素差异有统计学意义($P<0.001$;表 5)。

表 5. 颈动脉硬化组不同基因型组生化指标比较

Table 5. Comparison of clinical parameters in T2DM patients of different genotype

指 标	GG	GT	TT
年龄	62.25±9.94 ^a	59.79±8.88	56.82±9.68
病程	9.82±6.73 ^a	7.83±5.85	5.91±4.00
收缩压	132.30±26.33	130.3±19.68	131.8±5.48
舒张压	77.9±11.57	78.95±10.45	82.00±4.82
BMI	26.48±1.58	25.59±3.31	24.68±4.19
FBG	10.63±5.42	11.93±3.50	10.93±1.80
FPG	18.36±7.31	18.80±7.47	21.62±6.52
TG	3.18±2.27	3.69±2.55	3.02±0.89
TC	5.43±1.63	5.29±1.59	4.76±0.47
LDLC	2.68±0.92	2.45±0.69	2.3±0.28
HDLc	1.27±0.38	1.28±0.38	1.25±0.22
HbA1c	9.44±1.22	9.21±2.58	8.78±1.86
脂联素	0.64±0.08 ^a	0.69±0.11	0.72±0.12

a 为 $P<0.05$,与 TT 基因型比较。

2.6 T2DM 组颈动脉硬化危险因素 Logistic 回归分析

以 2 型糖尿病动脉硬化作为因变量,传统危险因素如表 5 中的年龄、病程、收缩压、舒张压、BMI、FBG、FPG、TG、TC、LDLC、HDLc、HbA1C、脂联素和 IMT 纳入 Logistic 回归分析结果显示,年龄、脂联素水平和病程是 2 型糖尿病动脉硬化的危险因素(表 6)。

表 6. T2DM 组动脉硬化危险因素 Logistic 回归分析
Table 6. Logistic regression analysis of arteriosclerosis risk coefficient in T2DM group

因 素	B	OR	P 值
年 龄	0. 101	1. 106	0. 000
脂联素水平	-0. 943	0. 390	0. 000
病程	0. 065	1. 375	0. 028

3 讨 论

脂联素是由脂肪细胞分泌的特异性脂蛋白,文献报道脂联素有改善胰岛素抵抗、增加胰岛素敏感度的作用,同时具有抗炎和抗动脉粥样硬化,调节氧化应激作用。Meada 等^[1]研究表明,脂联素与 TG、TC、LDLC、HDLc 独立相关。另有研究发现^[2],2 型糖尿病合并心血管病变患者脂联素水平明显低于 2 型糖尿病无心血管病变者,提示大血管病变可能与脂联素缺乏有关,可能通过血管内皮功能紊乱、纤溶异常、脂代谢紊乱等直接和/或间接参与了大血管动脉粥样硬化的发生、发展。本研究结果证明 2 型糖尿病颈动脉硬化组血清脂联素水平明显低于无颈动脉硬化组,且差异均有统计学意义。另外本研究还发现 2 型糖尿病伴动脉硬化患者的病程,年龄,体质指数均高于 2 型糖尿病无颈动脉硬化组。这一结果与韦秀英等^[3]研究结果相同。赵占胜等^[16]2 型糖尿病内脂素和脂联素水平与颈动脉内膜中膜厚度的相关性研究中得出血浆内脂素增高及脂联素水平的降低可能是 2 型糖尿病患者合并早期动脉粥样硬化的危险因素之一。陈燕铭等^[17]关于 2 型糖尿病患者血清炎症因子和脂联素水平与动脉粥样硬化的关系的研究中,糖尿病患者血清脂联素水平明显低于对照组,随着糖尿病动脉粥样硬化病变程度加重其血清脂联素的浓度更低,血清脂联素浓度水平下降,与糖尿病动脉粥样硬化病变的严重程度相关。

Daimon 等^[4]研究发现脂联素水平较低者发生

糖尿病概率是脂联素水平较高患者的 9.3 倍。黄继良等^[5]也研究发现 2 型糖尿病组血清脂联素水平显著低于正常组,而且降低程度与颈动脉 IMT 程度相关,重度 IMT 组脂联素水平降低尤为明显。脂联素参与 2 型糖尿病及动脉硬化的形成于发展的具体机制尚不十分明确。

Gonzalez-Sanchez 等^[6]研究表明,SNP + 276 中的 G/G 基因型与 G/T 或 T/T 相比,血浆脂联素降低,糖耐量减低危险性增加,即使调整年龄、性别、体质指数、腰臀比等指标,脂联素水平仍与腰臀比、胰岛素抵抗指数呈显著负相关,与 HDL 呈正相关。有学者指出 T2DM 者中 SNP + 276 3 种基因型和等位基因分布差异都无统计学意义。汝颖等^[15]则发现,SNP276 基因型及等位基因在 T2DM 者间分布差异有统计学意义,无论 GG 型或 GT 型,与 TT 型相比,前者的 BMI、空腹血糖及胰岛素抵抗指数均高于后者。Fruebis 等^[7]发现,脂联素基因 SNP + 276T/G 隐性遗传方式可减少 45% 患者发生糖尿病的危险性。Simonetta 等报道,2 型糖尿病与 2 型糖尿病合并冠心病患者的 SNP + 276T/T 基因型频率明显不同,调整年龄、性别、糖尿病病程及吸烟等指标后,T/T 纯合子与冠心病呈负相关。Hara 等^[8]研究发现日本 2 型糖尿病患者 SNP + 276G 等位基因频率明显高于 T 等位基因频率,SNP + 276G 等位基因携带者血清脂联素水平较低,胰岛素抵抗指数较高,276 位点 G/G 纯合子的个体发生胰岛素抵抗和糖尿病危险性增加。由此可以推测脂联素基因的改变导致脂联素水平的该变,从而导致 2 型糖尿病及大血管病变的发生机发展。本文结果示延边地区正常人群与 2 型糖尿病患者脂联素 SNP + 276 基因型及等位基因分布频率有统计学差异。由此我们可以推测脂联素基因 SNP + 276T/G 基因型与延边地区 2 型糖尿病相关,郭志新等^[9]研究认为,脂联素 SNP + 276T/G 与山西汉族人群 2 型糖尿病相关。也有研究^[10-11]认为 SNP + 276T/G 与法国高加索人群和韩国人群 2 型糖尿病无关。这说明这种相关性存在种族的差异。但本文未能证实在延边地区脂联素 SNP + 276T/G 分布与颈动脉硬化有关。这与张红霞等^[12]研究结果相似,但与初明峰^[13]研究结果不符。出现这种现象的原因除与种族环境有关外,可能与患者早期干预治疗及未能完全排除影响脂联素及动脉硬化的其他危险因素有关。本研究还发现与 TT 基因型患者相比,GG 基因型的患者脂联素水平更低,差异有统计学意义,年龄、病程差异

亦有统计学意义。汝颖等^[14]对 276 例 2 型糖尿病患者 SNP + 276 多态性与胰岛素敏感性的研究中发现,GG 或 GT 基因型携带者的体质脂数、腰臀比、胰岛素抵抗指数等均有不同程度的升高,而这些因素都是胰岛素抵抗的临床指标。综上我们推测 G 等位基因可能是糖尿病的一个危险因素。本研究通过 Logistic 回归分析进一步证实低脂联素水平、年龄、病程、糖化血红蛋白增加是颈动脉动脉硬化的独立危险因素,空腹血糖、餐后两小时血糖、体重指数、收缩压、舒张压、胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白等动脉硬化的高危因素与延边地区 2 型糖尿病合并颈动脉硬化无直接联系,但是却表现出一定的升高趋势。分析其原因可能为动脉硬化为多因素、多基因长期协同作用的结果,且与降压药物、调脂药物、降糖药物早期干预有关。

[参考文献]

[1] Maeda N, Shimomura L, Kishida K, et al. Diet-induced insulinresis-lanceinmice lacking adiponectin /ACRP30 [J]. Nat Med, 2002, 8 (11): 731-737.

[2] Stejskel D, Ruzicka V, Adamovska S, et al. Adiponectin concentrations criterion of metabolic control in persins with type 2 diabetes mellitus [J]. Biomed Pap Med Fauniv Palacky olomouc Czech Repub, 2003, 147(2): 167-172.

[3] 韦秀英,庞媛尹,黄秋菊. 2 型糖尿病颈动脉内膜-中膜复合体厚度与血浆脂联素的关系[J]. 华夏医学,2005, 3(18): 341-342.

[4] Daimon M, Yamaguchi H, Oizumi T, et al. Decreased serumlevels of adiponectin are a risk factor for the progression to type 2 diabetes in the Japanese population[J]. Diab etes Care, 2003, 26(9): 2 015-020.

[5] 黄继良,安东记,孙文才,等. 老年 2 型糖尿病血清脂联素水平变化与颈动脉内膜-中层厚度的关系[J]. 中国老年学杂志, 2005, 25(10): 1 165-167.

[6] Gonzalez-Sanehez JL, Zabena CA, Martinez-Larrad MT, et al. An SNP in the adiponectin gene is associated with decreased serum adiponeetin levels and risk for ilmpaired glucose tolerance[J]. Obesity Research, 2005, 13(5): 807-

812.

[7] Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, et al. Proteolytie cleavage product of 30-k Da adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice[J]. Pro Natl Acad Sci USA, 2001, 98(4): 2 005-010.

[8] Hara K, Boutin P, Mori Y, et al. Genetic variation in the gene ecoding adiponectin is associated risk of type 2 in the Japanese population [J]. Diabetes, 2002, 51 (2): 536-540.

[9] 郭志新,吴苏豫,孙英姿. 脂联素基因 276 位点多态性与 2 型糖尿病肾病的关系[J]. 山西医科大学学报, 2008, 6(39): 507-510.

[10] Lee YY, Lee NS, Cho YM , et al. Ge netic association study of adiponectin polymorphisms with risk of type 2 diabetes mellitns in Korean population[J]. Diabetes Med, 2005, 22(17): 569-575.

[11] Gibson F, Froguel P. Genetics of the APM1 locusandits eontribution to type 2 diabetes susceptibility in French Caucasians[J]. Diabetes, 2004, 53(11): 2 977-983.

[12] 张红霞,李茵茵,邹彩艳,等. 脂联素基因多态性与 2 型糖尿病大血管病变韵关系[J]. 山东医药, 2007, 47 (10): 1-2.

[13] 初明峰,郭立新. 脂联素基因多态性与 2 型糖尿病及颈动脉内膜中层厚度有关系[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2006, 22 (1): 25-26.

[14] 汝 颖,马 猛,马 腾. 脂联素基因 SNP276 多态性与 2 型糖尿病易感性及胰岛素敏感性的关联[J]. 中华医学遗传学杂志, 2005, 22 (6): 698-701.

[15] 黄凤珍. 脂联素基因 SNP + 45、SNP + 276 与代谢综合征和血浆脂联素水平的相关性研究[D]. 山东大学硕士学位论文, 2009.

[16] 赵占胜,高 丽,田 晖,等. 2 型糖尿病内脂素和脂联素水平与颈动脉内膜中膜厚度的相关性[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 18(1): 67-70.

[17] 陈燕铭,熊肇军,尹琼丽,等. 2 型糖尿病患者血清炎症因子和脂联素水平与动脉粥样硬化的关系[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011, 19(10): 842-846.

(此文编辑 李小玲)