

# DDAH2 基因 -449G/C 多态性及 ADMA 水平与 2 型糖尿病合并动脉粥样硬化的相关性

石柔<sup>1</sup>, 杨晶晶<sup>1</sup>, 刘华<sup>2</sup>, 陈洪艳<sup>3</sup>, 雷又鸣<sup>4</sup>, 宋滇平<sup>1</sup>

(昆明医科大学第一附属医院 1. 糖尿病科, 2. 检验科, 3. 超声科, 4. 干疗科, 云南省昆明市 650032)

[关键词] 二甲基精氨酸二甲胺水解酶 2; 基因多态性; 非对称性二甲基精氨酸; 2 型糖尿病; 动脉粥样硬化

[摘要] 目的 探讨二甲基精氨酸二甲胺水解酶 2 (DDAH2) 基因 -449G/C 多态性及非对称性二甲基精氨酸 (ADMA) 水平与 2 型糖尿病合并动脉粥样硬化的相关性。方法 运用聚合酶链反应限制性片段长度多态性技术对 146 例健康对照者和 238 例 2 型糖尿病患者 [其中未合并动脉粥样硬化组 (D0 组) 80 例, 合并早期动脉粥样硬化组 (D1 组) 71 例, 合并中晚期动脉粥样硬化组 (D2 组) 87 例] 的 DDAH2 基因 -449G/C 多态性进行检测, 应用酶联免疫吸附法检测血浆 ADMA 浓度, 并比较分析各组间基因型、等位基因频率及相关临床指标。结果 2 型糖尿病合并动脉粥样硬化组 (D1 + D2 组) DDAH2 基因 -449G/C 基因型频率及 G 等位基因频率高于 D0 组 ( $P < 0.05$ )。2 型糖尿病组中, DDAH2 基因 -449G/C 基因型携带者具有较高的 ADMA 水平 ( $P < 0.05$ ); ADMA 水平在 D1 + D2 组  $> D0$  组, 且  $D2 > D1 > D0$  组 ( $P < 0.01$ )。Logistic 回归显示, 血浆 ADMA 是 2 型糖尿病合并动脉粥样硬化发生与发展的危险因素, DDAH2 基因 -449G/C 基因型是 2 型糖尿病合并动脉粥样硬化发生的危险因素。结论 在云南地区汉族人群中, DDAH2 基因 -449G/C 基因型可能是 2 型糖尿病合并动脉粥样硬化发生的遗传易感因子, 该基因型携带者具有较高的 ADMA 水平, 血浆 ADMA 水平可作为 2 型糖尿病动脉粥样硬化发生及发展的预测因子。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

## The Correlation of Dimethyl Arginine Dimethylamine Hydrolase 2 Gene -449G/C Polymorphism and Plasma Asymmetric Dimethylarginine Levels with Atherosclerosis in Type 2 Diabetes

SHI Rou<sup>1</sup>, YANG Jing-Jing<sup>1</sup>, LIU Hua<sup>2</sup>, CHEN Hong-Yan<sup>3</sup>, LEI You-Ming<sup>4</sup>, and SONG Dian-Ping<sup>1</sup>

(1. Department of Diabetes, 2. Department of Clinical Laboratory, 3. Department of Ultrasonography, 4. Medical Department for Cardres, The First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming, Yunnan 650032, China)

[KEY WORDS] Dimethyl Arginine Dimethylamine Hydrolase 2; Gene Polymorphism; Asymmetric Dimethylarginine; Type 2 Diabetes Mellitus; Atherosclerosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the correlation of dimethyl arginine dimethylamine hydrolase 2 (DDAH2) gene -449G/C polymorphism and plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) levels with atherosclerosis in type 2 diabetes (T2DM). **Methods** The DDAH2 gene -449G/C polymorphism was detected by polymerase chain reaction-restricted fragment length polymorphism (PCR-RFLP) in 146 normal controls and 238 patients with type 2 diabetes (including 80 without atherosclerosis patients (D0 group), 71 early atherosclerosis patients (D1 group), 87 middle-late atherosclerosis patients (D2 group)). The plasma levels of ADMA were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The genotype frequencies, allele frequencies and clinical index were compared among these groups. **Results** The G/G genotype frequencies and G allele frequencies in D1 + D2 group were significantly higher than those in D0 group ( $P < 0.05$ ). In patients with type 2 diabetes, plasma ADMA level in G/G genotype group was significantly higher than that in C/C + G/C genotype ( $P < 0.05$ ). The ADMA levels among groups: D1 + D2 group  $> D0$  group, D2 group  $> D1$  group  $>$

[收稿日期] 2014-11-19

[修回日期] 2015-04-25

[基金项目] 云南省应用基础研究(昆医联合专项)基金(2014FZ014)资助; 云南省教育厅科学研究基金(2012Y023)资助

[作者简介] 石柔, 硕士, 主治医师, 主要从事糖尿病及其慢性并发症研究, E-mail 为 shirourou325@sina.com。杨晶晶, 硕士, 住院医师, 主要从事糖尿病研究。刘华, 在读博士, 副主任医师, 主要从事分子生物和生物化学研究。通讯作者宋滇平, 硕士, 主任医师, 主要从事内分泌代谢病学研究, E-mail 为 drsongdp@126.com。

D0 group. A statistically significant difference was revealed after performing covariance analysis on the data ( $P < 0.01$ ). Logistic regression analysis showed that plasma ADMA levels were the determinants of the occurrence and development of atherosclerosis. The G/G genotypes of DDAH2 gene were the determinants in atherosclerosis patients. **Conclusions** The G/G genotype of DDAH2 gene may be genetic predisposing factor of atherosclerosis in patients with type 2 diabetes in the Han population of Yunnan. The G/G genotype of DDAH2 gene carries higher ADMA levels. The level of plasma ADMA may be a predictor of the occurrence and development of atherosclerosis in patients with type 2 diabetes.

糖尿病大血管并发症是 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 患者致死致残的主要原因之一。动脉粥样硬化 (atherosclerosis, As) 是大血管病变的病理基础。非对称性二甲基精氨酸 (asymmetric dimethylarginine, ADMA) 作为内源性一氧化氮合成酶抑制剂被视为致 As 的危险因素之一。ADMA 主要经二甲基精氨酸二甲胺水解酶 (dimethylarginine dimethylamine hydrolase, DDAH) 水解代谢而失活。人类 DDAH2 基因位于 6 号染色体短臂 2 区 1 带, 包括 7 个外显子。既往研究已发现其遗传多态性可能与某些心血管疾病的遗传易感性相关<sup>[1-2]</sup>。然而 DDAH2 基因是否参与 T2DM 大血管并发症的发生, 目前尚不清楚。本研究旨在探讨 DDAH2 - 449G/C 基因多态性及 ADMA 水平与 T2DM 合并 As 的相关性。

## 1 对象和方法

### 1.1 研究对象

选取 2012 年 6 月至 2012 年 12 月我院门诊及住院部的云南地区汉族人, 根据 1999 年 WHO 诊断标准确诊的无亲缘关系, 排外合并急性代谢紊乱、感染、严重肝肾功能不全、妊娠的 T2DM 患者 238 例, 男 132 例, 女 106 例, 年龄  $49.67 \pm 10.94$  岁。经双侧颈总动脉二维超声探查和血管回声跟踪技术检测, 分为未合并 As 组 (D0 组)、合并早期 As 组 (D1 组)、合并中晚期 As 组 (D2 组)。D0 组 80 例, 男 48 例, 女 32 例, 年龄  $43.85 \pm 11.00$  岁; D1 组 71 例, 男 38 例, 女 33 例, 年龄  $50.34 \pm 9.16$  岁; D2 组 87 例, 男 46 例, 女 41 例, 年龄  $54.41 \pm 9.67$  岁。所有患者均未接受过抗高血压药、调脂药及抗血小板药治疗或已停药 1 个月以上, 均未使用胰岛素治疗。降糖药物使用情况: ①双胍类: D0 组 33 例, D1 组 28 例, D2 组 37 例; ②磺脲类: D0 组 13 例, D1 组 10 例, D2 组 12 例; ③双胍类联合磺脲类: D0 组 34 例, D1 组 33 例, D2 组 38 例。各组间用药构成比相匹配。选取同时期在我院进行健康体检的无亲缘关系的云南地区汉族人, 无糖尿病、高血压家族史, 且

糖耐量及其它检查结果均正常, 经颈动脉超声检查及血管回声跟踪技术检查排除 As 者为正常对照组 146 例, 男 70 例, 女 76 例, 年龄  $49.16 \pm 9.49$  岁。

### 1.2 As 评定及分组方法

采用日本 Aloka  $\alpha 10$  彩色多普勒超声仪, 检测双侧颈总动脉分叉处及分叉处以外内膜中膜厚度<sup>[3]</sup>, 观察颈动脉内膜有无增厚、动脉硬化、斑块及狭窄形成。结果判断: (1) 符合如下诊断标准中任何一项即可诊断为 As: ①动脉内膜中膜厚度  $\geq 1.3$  mm; ②单发、多发或弥漫斑块。(2)  $1.0$  mm  $\leq$  动脉内膜中膜厚度  $< 1.3$  mm 诊断为动脉内膜中膜增厚。(3) 动脉内膜中膜厚度  $< 1.0$  mm 且无上述表现者, 诊断为正常。经上述检查提示 As 或动脉内膜中膜增厚者, 归为 D2 组。正常者进一步行血管回声跟踪技术检查颈总动脉弹性, 按国人动脉弹性正常值测量多中心协作项目组制定的诊断标准<sup>[3]</sup>, 提示颈动脉弹性异常者归为 D1 组, 正常者归为 D0 组。

### 1.3 DDAH2 基因 - 449G/C 多态性分析

用全血基因组 DNA 快速提取试剂盒进行 DNA 抽提。以寡核苷酸 5'-CCT TCT CGT TCG GGT ATT CAG-3' 为上游引物, 5'-TCC AGA CCT TCC GCT CCT-3' 为下游引物 (北京博迈德生物有限公司) 进行聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR)。PCR 产物以限制性内切酶 Sma I (北京博迈德生物有限公司) 30℃ 消化 16 h。酶切产物于 2% 琼脂糖凝胶上电泳及溴化乙锭染色后观察结果 (图 1), 无酶切位点纯合子 G/G 型仅有一条带 (341 bp), 有酶切位点 C/C 型有两条带 (254 bp, 87 bp), 杂合子 G/C 型有三条带 (341 bp, 254 bp, 87 bp)。以上基因型均经 DNA 测序加以确证 (图 2~4)。

### 1.4 血浆 ADMA 水平测定

采用双抗体夹心酶联免疫吸附法测定血浆 ADMA 水平, 试剂盒购于美国 RD 公司。

### 1.5 临床及生物化学指标检测

测量收缩压 (systolic blood pressure, SBP)、舒张压 (diastolic blood pressure, DBP)、身高、体重, 并计算体质指数 (body mass index, BMI), 记录吸烟史并计算吸烟指数。用 Olympus AU5400 全自动生化分

析仪检测空腹血糖 (fasting blood glucose, FBG)、餐后 2 h 血糖 (2 hour postprandiat plasma glucose, 2h PPG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、甘油三酯 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDLC)。用高效液相法测定糖化血红蛋白 (glycosylated hemoglobin A1c, HbA1c) 含量。

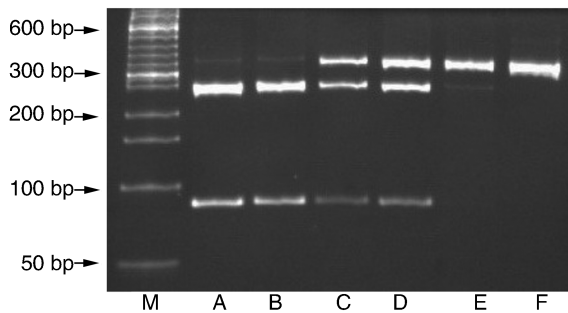


图 1. DDAH2 基因 -449G/C 位点多态性电泳图 M 为 50 bp Marker, A、B 为 C/C 基因型, C、D 为 G/C 基因型, E、F 为 G/G 基因型。

Figure 1. The electropherogram of genotypes of DDAH2 gene -449G/C polymorphism

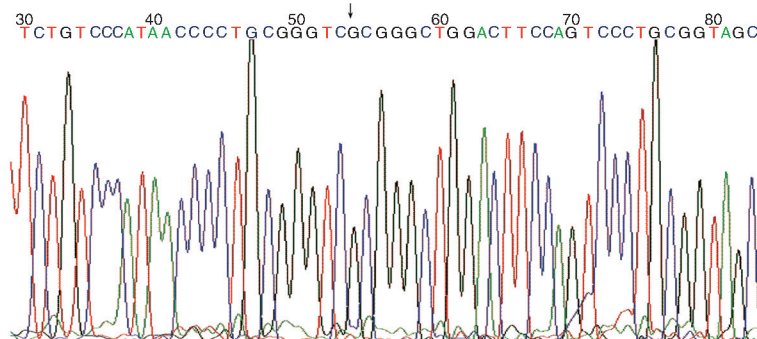


图 2. DDAH2 基因 -449G/G 基因型的产物测序图 (箭头所指为多态性位点)

Figure 2. The sequencing maps of G/G correlated PCR products (sagittate shows polymorphism site)

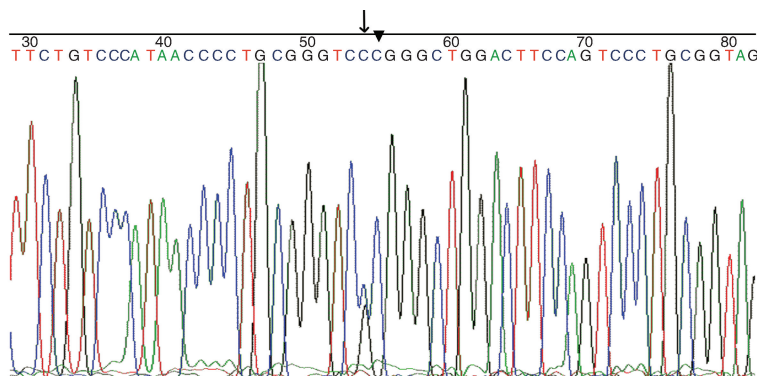


图 3. DDAH2 基因 -449G/C 基因型的产物测序图 (箭头所指为多态性位点, 三角形所指为酶切位点)

Figure 3. The sequencing maps of G/C correlated PCR products (sagittate shows polymorphism site, triangle shows restriction enzyme cutting site)

## 1.6 统计学方法

用 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验样本的群体代表性。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组资料比较采用独立样本  $t$  检验, 三组及以上资料比较采用单因素方差分析, 协方差分析校正组间因素差异的影响。计数资料用百分数表示, 组间基因型及等位基因频率比较采用  $\chi^2$  检验。采用 Logistic 回归分析筛选 T2DM 合并 As 的危险因素。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组间 DDAH2 基因 -449G/C 基因型及等位基因频率比较

D1 + D2 组 DDAH2 基因 -449G/G 基因型和 G 等位基因频率高于 D0 组 ( $P < 0.05$ ); D1 组和 D2 组 DDAH2 基因 -449G/G 基因型和 G 等位基因频率分别高于 D0 组 ( $P < 0.05$ ), 但是在 D1 与 D2 组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。D1 组、D2 组、D1 + D2 组 DDAH2 基因 -449G/G 基因型和 G 等位基因频率均高于正常对照组 ( $P < 0.05$ ), D0 组与正常对照组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ; 表 1)。

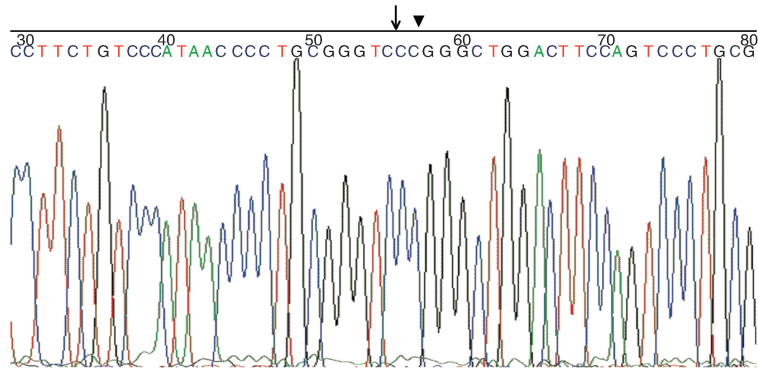


图 4. DDAH2 基因 -449C/C 基因型的产物测序图(箭头所指为多态性位点,三角形所指为酶切位点)

Figure 4. The sequencing maps of C/C correlated PCR products(sagittate shows polymorphism site, triangle shows restriction enzyme cutting site)

表 1. 各组 DDAH2 基因型频率和等位基因频率

Table 1. DDAH2 genotype and allele frequencies in each group

分 组	例数	基因型		等位基因	
		C/C + G/C	G/G	C	G
正常对照组	146	1105 (72.0%)	41 (28.0%)	141 (48.3%)	151 (51.7%)
D0 组	80	57 (71.2%)	23 (28.8%)	77 (48.1%)	83 (51.9%)
D1 组	71	33 (46.5%)	38 (53.5%) <sup>ab</sup>	40 (28.2%)	1102 (71.8%) <sup>ab</sup>
D2 组	87	47 (54.0%)	40 (46.0%) <sup>ab</sup>	39 (22.4%)	1135 (77.6%) <sup>ab</sup>
D1 + D2 组	158	80 (50.6%)	78 (49.4%) <sup>ab</sup>	78 (24.7%)	2238 (75.3%) <sup>ab</sup>

C/C 基因型期望频数 < 5, 合并至 G/C 基因型进行分析。a 为  $P < 0.05$ , 与 D0 组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与正常对照组比较。

2.2 ADMA 水平及临床资料比较

正常对照组与 D0 组年龄、FBG、2h PPG、HbA1c、TC、TG、HDLc、LDLc 存在统计学差异。协方差分析校正这些因素的影响后, ADMA 水平在 D0 组仍然高于正常对照组 ( $P < 0.05$ )。年龄在 D1 + D2 组 > D0 组、D2 组 > D1 组 > D0 组, SBP、DBP、BMI、吸烟指数在 D1 + D2 组 > D0, LDLc 在 D1 组 >

D0 组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。ADMA 水平在 D1 + D2 组 > D0 组、D2 组 > D1 组 > D0 组, 可见, 随着 As 进展, 血浆 ADMA 水平有逐渐增加趋势, 且差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。为排除混杂因素的干扰, 进行协方差分析, 校正这些组间因素的影响后, ADMA 水平在各组间的差异仍有统计学意义 ( $P < 0.01$ ; 表 2)。

表 2. 各组间 ADMA 水平及临床资料比较

Table 2. Comparison of ADMA levels and clinical parameters in each group

项 目	正常对照组 (n = 146)	D0 组 (n = 80)	D1 组 (n = 71)	D2 组 (n = 87)	D1 + D2 组 (n = 158)
年龄 (岁)	49.16 ± 9.49	43.85 ± 11.00 <sup>a</sup>	50.34 ± 9.16 <sup>b</sup>	54.41 ± 9.67 <sup>bc</sup>	52.73 ± 9.63 <sup>bc</sup>
TC (mmol/L)	3.54 ± 0.66	4.38 ± 0.91 <sup>a</sup>	4.85 ± 1.05 <sup>b</sup>	4.51 ± 1.15	4.65 ± 1.12
TG (mmol/L)	0.96 ± 0.25	2.01 ± 1.69 <sup>a</sup>	2.33 ± 1.66	1.85 ± 0.93	2.05 ± 1.30
HDLc (mmol/L)	1.14 ± 0.13	1.01 ± 0.24 <sup>a</sup>	1.06 ± 0.26	1.03 ± 0.25	1.04 ± 0.25
LDLc (mmol/L)	1.85 ± 0.47	2.74 ± 0.72 <sup>a</sup>	3.17 ± 0.80 <sup>b</sup>	2.91 ± 0.91	3.02 ± 0.87
HbA1c (%)	5.95 ± 2.13	9.95 ± 2.60 <sup>a</sup>	9.18 ± 2.71	9.47 ± 2.19	9.35 ± 2.41
FBG (mmol/L)	4.63 ± 0.37	6.53 ± 2.21 <sup>a</sup>	6.43 ± 1.78	6.54 ± 1.78	6.49 ± 1.77
2h PPG (mmol/L)	7.12 ± 3.26	10.62 ± 4.27	10.19 ± 3.22	11.77 ± 3.24	11.12 ± 3.31
SBP (mmHg)	112.55 ± 14.38	112.69 ± 9.15	120.49 ± 12.59 <sup>b</sup>	121.57 ± 13.61 <sup>b</sup>	121.12 ± 13.14 <sup>b</sup>
DBP (mmHg)	72.25 ± 8.02	73.56 ± 6.81	76.59 ± 8.83	78.74 ± 7.87 <sup>b</sup>	77.85 ± 8.31 <sup>b</sup>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.91 ± 2.64	22.46 ± 2.09	24.99 ± 3.15 <sup>b</sup>	24.11 ± 3.34 <sup>b</sup>	24.47 ± 3.28 <sup>b</sup>
吸烟指数	5.05 ± 0.78	5.15 ± 0.89	5.91 ± 0.67 <sup>b</sup>	5.93 ± 0.91 <sup>b</sup>	5.92 ± 0.80 <sup>b</sup>
ADMA (μmol/L)	4.79 ± 0.68	6.91 ± 0.73 <sup>a</sup>	9.02 ± 0.55 <sup>b</sup>	12.20 ± 1.14 <sup>bc</sup>	10.88 ± 1.83 <sup>bcd</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与正常对照组; b 为  $P < 0.05$ , 与 D0 组比较; c 为  $P < 0.05$ , 与 D1 组比较; d 为  $P < 0.05$ , 与 D2 组比较。

### 2.3 T2DM 患者 DDAH2 基因 -449G/C 位点不同基因型间 ADMA 水平及临床指标比较

与 C/C + G/C 基因型相比, G/G 基因型携带者 ADMA 水平显著增高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ; 表 3)。

表 3. T2DM 患者 DDAH2 基因 -449G/C 位点不同基因型间 ADMA 水平及临床指标比较

Table 3. Comparison of ADMA levels and clinical parameters in T2DM patients with different genotypes

项目	C/C + G/C (n = 137)	G/G (n = 101)
年龄 (岁)	49.23 ± 10.93	50.27 ± 11.01
TC (mmol/L)	4.60 ± 0.97	4.50 ± 1.17
TG (mmol/L)	2.01 ± 1.42	2.07 ± 1.47
HDLC (mmol/L)	1.04 ± 0.22	1.02 ± 0.28
LDLC (mmol/L)	2.96 ± 0.73	2.87 ± 0.95
HbA1c (%)	9.52 ± 2.33	9.60 ± 2.70
FBG (mmol/L)	6.44 ± 1.97	6.60 ± 1.88
2hPPG (mmol/L)	11.05 ± 3.73	10.82 ± 3.60
SBP (mmHg)	118.28 ± 12.98	118.14 ± 12.04
DBP (mmHg)	76.78 ± 8.49	75.81 ± 7.48
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.88 ± 3.43	24.50 ± 3.46
ADMA (μmol/L)	9.14 ± 2.41	10.02 ± 2.41 <sup>a</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与 C/C + G/C 基因型比较。

### 2.4 T2DM 合并 As 的相关危险因素分析

选择性别、年龄、SBP、DBP、BMI、TC、TG、HDLC、LDLC、FBG、2h PPG、HbA1c、吸烟指数、DDAH2 基因型、ADMA 水平为自变量, 分别以 As 发生与否及发展与否作为因变量, 运用逐步选择法进行 Logistic 回归分析, 结果显示, ADMA 水平、DDAH2 -449G/G 基因型是 T2DM 合并 As 发生的危险因素 (表 4); ADMA 水平是 T2DM 合并 As 发展的危险因素, G/G 基因型不是 T2DM 合并 As 发展的危险因素 (表 5)。

表 4. T2DM 合并 As 发生的危险因素的 Logistic 回归分析  
Table 4. Logistic regression analysis of the risk factor for occurrence of atherosclerosis in T2DM patients

进入回归方程的变量	B	S. E.	Wald	P	OR	95% CI	
						下限	上限
ADMA 水平	3.757	0.947	15.755	<0.001	42.835	6.699	273.874
G/G 基因型	1.017	0.283	12.911	0.013	2.765	1.588	4.815

表 5. T2DM 合并 As 发展的危险因素的 Logistic 回归分析  
Table 5. Logistic regression analysis of the risk factor for development of atherosclerosis in T2DM patients

进入回归方程的变量	B	S. E.	Wald	P	OR	95% CI	
						下限	上限
ADMA 水平	3.048	0.884	12.213	<0.001	39.047	5.208	150.614

## 3 讨论

糖尿病与 As 关系密切, As 的发生和进展与血管内皮功能障碍相关。内皮型一氧化氮合酶是重要的内源性血管舒张因子, 它的活性增加后催化一氧化氮产生增多, 其竞争性抑制剂 ADMA 可抑制一氧化氮的合成<sup>[4]</sup>。ADMA 广泛存在于人的血浆及血管内皮细胞, 由内含精氨酸残基的蛋白质经 I 型蛋白精氨酸 N-甲基转移酶甲基化后水解生成。血浆中的 ADMA 主要经 DDAH 水解代谢而失活, DDAH 主要分为 DDAH1 型和 DDAH2 型两种亚型。DDAH2 表达或活性的改变是内皮细胞和组织中 ADMA 积聚的一个重要机制。氧化应激是公认的 T2DM 发生内皮功能障碍的主要危险因素之一, DDAH2/ADMA 系统可能通过氧化应激在糖尿病大血管病变机制中扮演着重要的角色。

在新诊断的无并发症的糖尿病患者中, 血浆 ADMA 已升高且内皮功能下降, 说明 ADMA 可能参与了糖尿病发病的整个过程<sup>[5]</sup>。T2DM 患者伴发血管内皮功能损伤的早期表现之一即血清 ADMA 水平升高; 通过口服补充 L-精氨酸置换血浆中的 ADMA 可协助控制血糖并恢复血管内皮功能, 而当良好地控制血糖后, 患者的血浆 ADMA 水平亦明显下降<sup>[6]</sup>。与此同时有学者在高糖诱导人脐静脉内皮细胞衰老过程中发现高糖可加速内皮细胞衰老, 其机制可能与氧化应激水平增强, 抑制 DDAH 活性使 ADMA 含量增加有关<sup>[7]</sup>。由此提示 ADMA 水平升高与高血糖密切相关, 其原因可能与高血糖时氧化应激增强有关。本研究发现, 在云南地区汉族 T2DM 患者中, ADMA 水平在各组间差异有统计学意义, T2DM 合并 As 者 ADMA 水平明显高于未合并 As 者, 且随着 As 程度的加重, ADMA 水平呈递增趋势。进一步行 T2DM 合并 As 的危险因素的 Logistic 回归分析显示, ADMA 水平为 T2DM 合并 As 发生及发展的危险因素。该结论与国内外相关报道一致<sup>[8-9]</sup>, 提示 ADMA 可作为观察 T2DM 合并 As 发生及发展的指标之一。

本研究发现在云南地区汉族人群中存在 DDAH2

基因 -449G/C 多态性。D1 + D2 组 G/G 基因型和 G 等位基因频率高于 D0 组。Logistic 回归分析表明 DDAH2 -449G/G 基因型是 T2DM 合并 As 发生的遗传易感因素。但是 D1 组和 D2 组的基因型分布及等位基因频率差异没有统计学意义,提示 DDAH2 基因 -449G/C 多态性与 As 病情的发展无关,DDAH2 -449 G 等位基因可能是 T2DM 合并 As 发生的遗传始动危险因素。既往研究表明 DDAH2 -449G/G 基因型可降低 DDAH2 基因表达及活性,导致 ADMA 水平上升<sup>[10]</sup>。Wallace 等<sup>[11]</sup>亦证实,通过转入基因方式上调 DDAH2 基因表达和活性的动物模型,其血浆 ADMA 降低,同时发现 DDAH2 基因 -449 G 等位基因型可能携带较高的 ADMA 水平。我们的研究也提示 T2DM 患者 G/G 基因型携带者 ADMA 水平显著增高。因此推测 DDAH2 基因 -449G/C 多态性可能通过影响 ADMA 的水解代谢而增加 T2DM 发生 As 的风险。但鉴于本研究样本量较小,且 DDAH2 基因其他位点的变异也对基因的表达有影响<sup>[12-13]</sup>,因此将来应扩大样本量,联合多位点或家系筛查进一步研究。

综上所述,本研究初步提示在云南地区汉族人群中 ADMA 水平可能是 T2DM 合并 As 发生与发展的危险因素,DDAH2 基因 -449G/G 基因型携带者具有较高的 ADMA 水平,该基因型可能是 T2DM 合并 As 发生的危险因素。ADMA 有理由成为 T2DM 大血管病变的干预靶点和观测指标;进一步深入研究 DDAH2 基因多态性与 T2DM 的关系及作用机制,对糖尿病大血管病变的基因诊断及基因治疗具有一定意义。

#### [参考文献]

[1] Renke M, Jeanette E, Nicole L, et al. Polymorphisms in the promoter region of the dimethylarginine dimethylaminohydrolase 2 gene are associated with prevalence of hypertension[J]. *Pharmacol Res*, 2009, 60 (6): 488-493.

[2] Bai Y, Chen J, Sun K, et al. Common genetic variation in DDAH2 is associated with intracerebral hemorrhage in Chinese population: a multicenter-case-control study in China [J]. *Clin Sci*, 2009, 117 (7): 273-279.

[3] 国人动脉弹性正常值测量多中心协作项目组. 应用血管回声跟踪技术对国人颈总动脉及肱动脉弹性正常值

检测的研究[J]. *中华超声影像学杂志*, 2008, 17 (7): 571-575.

[4] Ghebremariam YT, Erlanson DA, Yamada K, et al. Development of a dimethylarginine dimethylaminohydrolase (DDAH) assay for high-throughput chemical screening [J]. *J Biomol Screen*, 2012, 17 (5): 651-661.

[5] Angela S, Nadia G, Michele Q, et al. Asymmetric dimethylarginine plasma levels and endothelial function in newly diagnosed type 2 diabetic patients [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13 (11): 13 804-815.

[6] Das UN, Repossi G, Dain A, et al. L-arginine NO and asymmetric dimethylarginine in hypertension and type 2 diabetes[J]. *Front Biosci*, 2011, 16 (1): 13-20.

[7] Yi TN, Zhang J, Yu SJ, et al. Alterations in reactive oxygen species and dimethylarginine dimethylaminohydrolase-asymmetric dimethyl-arginine system in the process of endothelial cell senescence induced by high glucose[J]. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue*, 2011, 23 (5): 275-278.

[8] Riccioni G, Bucciarelli V, Scotti L, et al. Relationship between asymmetric dimethylarginine and asymptomatic carotid atherosclerosis [J]. *Biol Regul Homeost Agents*, 2010, 24 (3): 351-358.

[9] 赵凌斐, 周立红, 魏彦红, 等. 非对称性二甲基精氨酸与 2 型糖尿病及其大血管并发症关系的研究[J]. *中华临床医师杂志*, 2012, 6 (11): 2 882-885.

[10] Ryan R, Thornton J, Duggan E, et al. Gene polymorphism and requirement for vasopressor infusion after cardiac surgery[J]. *Ann Thorac Surg*, 2006, 82 (3): 895-901.

[11] Wallace SM, Yasmin, McEniery CM, et al. Isolated systolic hypertension is characterized by increased aortic stiffness and endothelial dysfunction[J]. *Hypertension*, 2007, 50 (1): 228-233.

[12] Andreozzi F, Preata I, Mannino GC, et al. A functional variant of the dimethylarginine dimethylaminohydrolase-2 gene is associated with insulin sensitivity[J]. *PLoS One*, 2012, 7 (4): e36224.

[13] Seo HA, Kim SW, Jeon EJ, et al. Association of the DDAH2 gene polymorphism with type 2 diabetes and hypertension[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2012, 98 (1): 125-131.

(此文编辑 文玉珊)