

抵抗素 rs1862513 与广东地区 2 型糖尿病的相关性研究*

徐 英¹, 王李莉², 周 强^{3△}, 邓 聪³, 陈 波³, 黄海樱³, 林 楨³, 杨 静³, 夏少梅³ (1. 西藏林芝地区人民医院检验科 860000; 2. 南方医科大学检验系 2008 级, 广州 510630; 3. 广州医科大学附属第二医院检验科, 广州 510260)

【摘要】 目的 探讨抵抗素(rs)1862513 与广东地区 2 型糖尿病的相关性。**方法** 收集 2010 年 10 月至 2011 年 10 月广州医学院第二附属医院收治的新诊断为 2 型糖尿病的患者 182 例为治疗组, 选择同期健康体检者 191 例为健康对照组, 比较两组血清 rs1862513 位点 C/G 基因型的分布频率及 logistic 回归分析结果。**结果** rs1862513 位点基因型频率已达到遗传平衡, 具有群体代表性。其中 $\chi^2 = 4.645, P = 0.098$, rs1862513 位点 C/G 基因型的分布频率差异无统计学意义 ($P > 0.05$); GG 纯合子患病率是 CC 纯合子患病率的 1.375 倍 ($OR = 1.375, 95\% CI: 0.575 \sim 3.285$), 基因型间危险度差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。**结论** rs1862513 基因型与广东地区 2 型糖尿病并无相关性。

【关键词】 2 型糖尿病; 抵抗素; 胰岛素抵抗; 单核苷酸多态性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.02.002 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)02-0147-03

Research on correlation between resistin rs1862513 with type 2 diabetes mellitus in Guangdong area* XU Ying¹, WANG Li-li², ZHOU Qiang^{3△}, DENG Cong³, CHEN Bo³, HUANG Hai-ying³, LIN Zhen³, YANG Jing³, XIA Shao-mei³ (1. Department of Laboratory, People's Hospital of Linzhi Area, Linzhi, Tabei 860000, China; 2. Students Grade 2008, Faculty of Inspection, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510630, China; 3. Department of Laboratory, Second Affiliated Hospital, Guangzhou Medical University, Guangzhou, Guangdong 510260, China)

【Abstract】 Objective To explore the relationship between resistin rs1862513 with type 2 diabetes mellitus (T2DM) in Guangdong area. **Methods** 182 cases of newly diagnosed T2DM in the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College from October 2010 to October 2011 were collected as the treatment group and contemporaneous 191 subjects with healthy physical examination as the control group. The distribution frequency of rs1862513 locus C/G genotype and the logistic regression analysis results were compared. **Results** The genotype frequency of rs1862513 locus reached the genetic equilibrium with the group representative. Among them, $\chi^2 = 4.645, P = 0.098$, the difference of distribution frequency of rs1862513 locus C/G genotype had no statistical significance ($P > 0.05$); the morbidity rate of GG homozygote was 1.375 times of the morbidity rate of CC homozygote ($OR = 1.375, 95\% CI: 0.575 \sim 3.285$). The difference of the risk degrees among genotypes had no statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusion** rs1862513 genotype has no correlation with T2DM in Guangdong area.

【Key words】 type 2 diabetes mellitus; resistin; insulin resistance; single nucleotide polymorphism

2 型糖尿病是现阶段最主要和增长最快的糖尿病类型, 占整个糖尿病人群的 90% 以上^[1]。其发病率逐年上升, WHO 预测糖尿病的发病率将从 1995 年的 4.0% 发展至 2025 年的 5.4%^[2]。2 型糖尿病是由于遗传和环境因素共同导致的胰岛素相对或绝对缺乏及不同程度的胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR), 使体内碳水化合物、脂肪及蛋白质代谢发生紊乱^[3-4]。研究表明, 抵抗素(rs)的多个单核苷酸位点存在多态性 (SNP), 且在不同国家、不同种族中有很大差异。单核苷酸多态性包括单个碱基的转换、插入、缺失等^[5-6]。血清 rs1862513 位点在国外人群中有一定的多态性。现将广东地区人群该基因位点多态性的相关研究报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 10 月至 2011 年 10 月广州医学院第二附属医院收治的新诊断为 2 型糖尿病的患者 182 例为

治疗组, 其中男 95 例, 女 87 例, 平均年龄 (64±12) 岁。排除 1 型糖尿病, 继发性 2 型糖尿病患者, 严重肝肾功能不全及其他内分泌代谢疾病患者。收集同期健康体检者 191 例为健康对照组, 其中男 70 例, 女 121 例, 平均年龄 (62±11) 岁。

1.2 实验仪器 实验用仪器有日立 7600 全自动生化分析仪; 罗氏 E411 全自动电化学发光免疫分析仪; STAR 全自动样本工作站; FAME 全自动酶免分析仪; MassARRAY 实验平台; MassARRAY 384 孔双头聚合酶链反应扩增仪; MassARRAY 质谱检测仪; MassARRAY 点样仪。

1.3 实验试剂 实验试剂为葡萄糖氧化酶试剂盒 (中生北控生物科技股份有限公司); 胰岛素诊断试剂盒 [罗氏诊断产品 (上海) 有限公司]; 抵抗素检测试剂盒 (美国 RapidBio Lab 公司); iPLEX 反应试剂 (美国 Sequenom 公司); SpectroCHIP 生物芯片 (美国 Sequenom 公司); HOTSTART taq 酶 (美国 Se-

* 基金项目: 广东省科技计划项目 (2012B061700044); 广东省医学科研基金资助项目 (A2012256)。 作者简介: 徐英, 女, 主管护师, 大专, 从事临床检验的工作。△ 通讯作者, E-mail: qiangzhou70@163.com。

quenom 公司);SAP 酶(美国 Sequenom 公司);纯化琼脂(美国 Sequenom 公司)。

1.4 方法

1.4.1 抵抗素 SNP 基因位点的选择 根据 NCBI 数据库提供的数据库检索,综合国内外文献报道及资料,得出 rs1862513 位点在国外 2 型糖尿病患者中有一定的多态性。

1.4.2 标本采集与处理 所有受试者均隔夜空腹 8 h 以上,清晨抽取静脉血两管共 6 mL。一支干燥管(3 mL),3 000 r/min,14.2 cm,离心 15 min,进行血清分离,该血清用于空腹血糖(FBG)、空腹胰岛素(FIN)水平的检测,并移取 200 μ L 血清置-20 $^{\circ}$ C 低温保存,以用于抵抗素的批量检测。另一支为乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血(3 mL),充分摇匀以彻底抗凝,-20 $^{\circ}$ C 存放,以用作 rs1862513 单核苷酸多态性分析之用。

1.4.3 指标测定 FBG 测定采用葡萄糖氧化酶法,FIN 测定采用化学发光法。根据国际通用的稳态模式评估法,计算 IRI,IRI=FBG $\times$ FIN/22.5^[7]。血清抵抗素测定采用双抗夹心 ELISA 两步法测定。rs1862513 位点基因型的检测由深圳华大基因研究院完成。

1.5 统计学处理 采用 SPSS17.0 分析软件进行数据处理。对抵抗素以及胰岛素抵抗指数进行单样本 Kolmogorov-Smirnov 检验正态性分析,以抵抗素为自变量,IRI 为因变量进行相关性回归分析。基因型群体符合程度用 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验,计数资料基因型频率在 2 型糖尿病组与健康对照组间的差异比较采用行 $\times$ 列表资料的双侧 χ^2 检验。基因型与疾病相关性分析通过 logistic 回归分析,以比值比(OR)和 95%置信区间(CI)表示相对危险度。所有统计资料均以双侧概率检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 抵抗素与胰岛素抵抗指数 单样本 Kolmogorov-Smirnov 检验分别检测抵抗素水平与胰岛素抵抗指数的正态性分布。采用 Pearson 相关性分析, $r=0.709,P<0.05$ 。抵抗素水平与胰岛素抵抗指数在 $P=0.05$ (双侧)上显著相关。

2.2 rs1862513 位点基因型频率 rs1862513 位点基因型频率已达到遗传平衡,具有群体代表性。其中 $\chi^2=4.645,P=0.098$,rs1862513 位点 C/G 基因型的分布频率差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 两组 rs1862513(C/G)基因型频率比较					
组别	<i>n</i>	基因型[n(%)]			<i>P</i>
		CC	CG	GG	
治疗组	182	18(9.9)	92(50.5)	72(39.6)	4.645 0.098
健康对照组	191	32(16.8)	81(42.4)	78(40.8)	

表 2 rs1862513(C/G)基因型与 2 型糖尿病的危险度分析				
基因型	χ^2	<i>P</i>	OR	95%CI
GG 与 CC	0.515	0.473	1.375	0.575~3.285
GG 与 CG	0.822	0.365	1.500	0.622~3.615
CG 与 CC	0.087	0.768	0.916	0.513~1.638
GG+CG 与 CC	0.001	0.977	1.008	0.585~1.737
GG 与 CC+CG	1.209	0.271	1.587	0.693~3.633

2.3 logistic 回归分析 GG 纯合子患病率是 CC 纯合子患病率的 1.375 倍,OR=1.375,95%CI:0.575~3.285,基因型间危险度差异无统计学意义($P=0.473$)。见表 2。

3 讨 论

糖尿病是世界上普遍危害人类健康的慢性疾病之一。作为糖尿病的主要类型,2 型糖尿病是一种具明显异质性的多因素、多基因遗传病,其遗传方式和发病机制十分复杂,许多微小基因的变异都会增加其发病率^[8]。近年来的研究认为,抵抗素是 2 型糖尿病的重要信号分子^[9-10]。抵抗素为 2 型糖尿病的发病机制和治疗提供了一个新的方向^[11]。本研究发现,抵抗素与胰岛素抵抗指数呈显著的正相关关系,与文献研究结果一致^[12-17]。

有研究表明,人抵抗素基因编码区由 326 个碱基组成,编码 108 个氨基酸残基组成的抵抗素蛋白。羧基端有一独特的富含半胱氨酸的高度重复序列 CX(12)CX(8)CXCX(3)CX(10)CXCXCX(9)CC,占 12%^[10]。据 NCBI 数据库显示,rs1862513 位点基因型存在 C $\rightarrow$ G 的突变,由此推测其可能影响抵抗素的表达水平以及生物活性,进而影响到抵抗素相关疾病(如糖尿病)的发生、发展与转归。

对于抵抗素基因多态性在 2 型糖尿病研究中的重要性各界未达成一致的共识。本研究中,通过对 2 型糖尿病抵抗素基因 1862513 位点的检测,证实该位点单核苷酸多态性存在 C $\rightarrow$ G 的突变而呈现 3 种基因型:CC 型、CG 型和 GG 型;研究结果发现该位点基因型频率在广东地区 2 型糖尿病组和健康对照组间差异无统计学意义($P>0.05$),表明了该位点抵抗素基因多态性与广东地区 2 型糖尿病间无相关性。周强等^[18]研究发现,脂联素+45 位点多态性与 2 型糖尿病关系密切,该基因变异可能在 2 型糖尿病的发病过程中起了重要作用。董艳等^[19]研究显示 7 个抵抗素基因的单核苷酸多态性基因频率在华东地区 2 型糖尿病和健康对照组中差异无统计学意义($P>0.05$)。Sentinelli 等^[20]研究发现,意大利人+1326G/C 位存在 1 个单核苷酸多态性,而且该单核苷酸多态性的等位基因频率在意大利人 2 型糖尿病中和肥胖间差异也无统计学意义($P>0.05$)。本研究在危险度分析的研究结果中显示,rs1862513 位点的各种基因型结果差异均无统计学意义($P>0.05$),可能与 2 型糖尿病的发生无关。在广东地区 2 型糖尿病患者中,rs1862513 位点的各基因型之间发生 2 型糖尿病风险无差异,rs1862513 可能不是 2 型糖尿病的易感基因。

目前国内学者普遍认为 2 型糖尿病为一类多种不同病因所致的代谢综合征,人们对该疾病的发病机制及影响因素的认识仍较肤浅,抵抗素基因多态性与 2 型糖尿病的关系亦仅是初步研究。此次研究证实其与广东地区 2 型糖尿病无相关性,可能原因为抵抗素基因多态性在不同国家、不同地区中与 2 型糖尿病的关系亦不一致,该位点可能不是广东地区 2 型糖尿病患者的易感基因。

参考文献

[1] 叶任高,陆再英.内科学[M].6 版.北京:人民卫生出版社,2004:787-814.
[2] Lai LC. Prevention of type 2 diabetes[J]. Malays J Pathol,2002,24(2):71-76.
[3] 孙保生,任建功,刘婧星,等.甘肃地区 PRKAA2 基因单核苷酸多态性与 2 型糖尿病及脂联素、抵抗素关系的研究[J].中国糖尿病杂志,2011,19(10):732-735.

- [4] 赵杰. 2 型糖尿病抵抗素基因单核苷酸多态性 (SNPs) 及胰岛素抵抗相关因素研究[J]. 内蒙古医学杂志, 2007, 39 (4): 416-419.
- [5] Collins FS, Guyer MS, Chakracarti A. Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation [J]. Science, 1997, 278(5343): 1580-1581.
- [6] Collins FS, Patrinos A, Jordan E, et al. New goal for the U. S. human genome project: 1998 — 2003 [J]. Science, 1998, 282(5389): 682-689.
- [7] Haffner SM, Kennedy E, Gonzalez C, et al. A prospective analysis of the HOMA mode [J]. Diabetes Care, 1996, 19 (10): 1138-1141.
- [8] 张芹, 骆天红, 张宏利, 等. Cnbl 基因多态性与 2 型糖尿病相关性研究[J]. 诊断学理论与实践, 2007, 6(2): 115-118.
- [9] Kim KH, Lee K, Moon YS, et al. A cysteine-rich adipose-tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation[J]. J Biol Chem, 2001, 276(14): 1125-1126.
- [10] 李芳萍, 傅祖值. 抵抗素的研究[J]. 国外医学: 内科学分册, 2003, 30(3): 99-101.
- [11] 周强, 杨静, 罗森珊, 等. 肥胖人群脂联素、抵抗素和胰岛素抵抗水平的研究[J]. 检验医学, 2011, 26(1): 23-26.
- [12] 杨春香, 顾国浩, 卢大儒, 等. RBP4 多态性与 2 型糖尿病患者的相关性研究[J]. 临床检验杂志, 2008, 26(3): 200-203.
- [13] Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes[J]. Nature, 2001, 409(6818): 307-312.
- [14] RaJala MW, Obici S, Scherer PE, et al. Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively insulin action on glucose production[J]. Clin Invest, 2003, 111(2): 173-174.
- [15] Sagawa N, Yura S, Itoh H, et al. Role of leptin in pregnancy: a review[J]. Placenta, 2002, 23 (Supply A): S80-S86.
- [16] Way JM, Gorgun CZ, Tong Q, et al. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists [J]. Biol Chem, 2001, 276(28): 25651-25653.
- [17] Nagaev I, Smith U. Insulin resistance and type 2 diabetes are not related to resistin expression in human fat cells or skeletal muscle [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 285(2): 561-564.
- [18] 周强, 罗森珊, 林桢, 等. 2 型糖尿病患者 SNP+45 基因型与 SNP 和抵抗素的水平[J]. 中国热带医学, 2011, 11(3): 276-278.
- [19] 董艳, 李果, 骆天红, 等. 抵抗素基因多态性与华东地区 2 型糖尿病的相关性[J]. 上海第二医科大学学报, 2003, 23 (2): 97-99.
- [20] Sentinelli F, Romco S, Area M, et al. Human resistin gene, obesity, and type 2 diabetes: mutation analysis and population study[J]. Diabetes, 2002, 51(3): 860-862.

(收稿日期: 2013-06-22 修回日期: 2013-09-25)

(上接第 146 页)

基因与蛋白质之间相互作用的潜在技术^[8]。最近的实验证实了编码 N-乙酰马来酰亚胺敏感因子和突触蛋白 synapsin II、synaptotagmin5 的基因在一组精神分裂症患者的背侧前额皮质中表达水平偏低^[9]。另外, 芯片研究实验得到的最一致的结果是 RGS4 在精神分裂症患者的背侧前额皮质中表达水平下调^[10-11]。故寻找差异性表达的基因和蛋白之间的关联将可以进一步验证筛选出的 15 个蛋白质在精神分裂症中差异表达的真实性, 对研究精神分裂症的分子发病机制和诊断具有一定参考价值。

参考文献

- [1] 韩柏. 精神分裂症的现代研究[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2003: 2-12.
- [2] 姜伟, 王开正, 蔡美珠, 等. 精神分裂症血清蛋白指纹图人工神经网络诊断模型研究[J]. 中国神经精神病学杂志, 2008, 34(1): 27-30.
- [3] 丁银环, 胡琼英, 梁双花, 等. 运用内标校准法提高表面增强激光解吸电离飞行时间质谱检测中的重复性[J]. 中华检验医学杂志, 2009, 32(3): 337-339.
- [4] Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, et al. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in Caenorhabditis elegans[J]. Nature, 2000, 403(6772): 901-906.
- [5] Li H, Zhang X, Guo Y, et al. A case-control study of genetic association of the PLA2G4A gene with schizophrenia in a Chinese population[J]. Psychiatr Genet, 2007, 17 (3): 205-209.
- [6] Steiner J, Biellau H, Bernstein HG, et al. Increased cerebrospinal fluid and serum levels of S100B in first-onset schizophrenia are not related to a degenerative release of glial fibrillar acidic protein, myelin basic protein and neuron-specific enolase from glia or neurones[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2006, 77(11): 1284-1287.
- [7] Rowland L, Bustillo JR, Lauriello J. Proton magnetic resonance spectroscopy (H-MRS) studies of schizophrenia [J]. Semin Clin Neuropsychiatry, 2001, 6(2): 121-130.
- [8] Vawter MP, Crook JM, Hyde TM, et al. Microarray analysis of gene expression in the prefrontal cortex in schizophrenia: a preliminary study[J]. Schizophr Res, 2002, 58 (1): 11-20.
- [9] Gogos JA, Morgan M, Luine V, et al. Catechol-O-methyltransferase-deficient mice exhibit sexually dimorphic changes in catecholamine levels and behavior[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 95(17): 9991-9996.
- [10] Marcotte ER, Srivastava LK, Quirion R. DNA microarrays in neuropsychopharmacology[J]. Trends Pharmacol Sci, 2011, 22(8): 426-436.
- [11] Patterson SD, Aebersold RH. Proteomics: the first decade and beyond[J]. Nature Genetics, 2003, 33 (Suppl): 311-323.

(收稿日期: 2013-07-22 修回日期: 2013-09-12)