文章编号: 1001-0580(2009)12-1430-03 中图分类号: R 587.1; Q 754 文献标志码: A 【专题报道之二】

CETP基因多态性与维吾尔族 2型糖尿病关系*

李涵秋,肖辉,张月明,郑玉建,王先化

摘 要: 目的 探讨胆固醇酯转运蛋白(cholesteryl ester transfer protein, CETP)基因 TaqⅠ酶切多态性与维吾尔族 2型糖尿病(T2DM)及其体内脂质谱的关系。方法 依据病例对照设计方法,采用全自动生化分析仪等技术测地尔族体内脂质谱;应用聚合酶链反应-限制性内切酶长度多态性(PCR-RFLP)方法,对维吾尔族的 53例 T2DM 患者、53例糖耐量异常患者和 106名糖耐量正常者的 CETP基因 TaqⅠ酶切多态性进行比较分析。结果 3组人群空腹血糖(FPG),正常组为(5.14±0.24)mmol/L, T2DM 组为(10.79±3.34)mmol/L,糖耐量异常组为(5.97±0.41)mmol/L(F=205.87, P=0.000); CETP基因型在 3组人群中的分布差异有统计学意义(P=0.028); T2DM 组、正常组、异常组的 H+H-基因型频率分别为 69.8%, 45.3%, 41.5%; T2DM 组明显高于其他 2组;不同基因型的空腹血糖(FPG), H-H-为(6.04±1.72)mmol/L, H+H+为(6.03±1.63)mmol/L, H+H-为(7.48±3.60)mmol/L,差异有统计学意义(P=0.001)。对 T2DM 组和正常组进行 Logistic回归分析显示, T2DM 的独立危险因素依次是甘油三酯(TG)(P=0.000)、CETP基因型(P=0.007)和腰围(P=0.048), H+H-基因型患 T2DN的危险性是 H-H-的 4.042倍(95%CI=1.243~13.149, P=0.020)。结论 CETP基因 TaqⅠ酶切多态性与新疆维吾尔族 T2DM 的危险性密切相关, H+H-基因型可能是 T2DM 的遗传危险因素。

关键词: CETP基因;维吾尔族; 2型糖尿病(T2DM);基因多态性

Association of gene polymorphism of cholesteryl ester transfer protein with type 2 diabetes

LI Han-qiu, XIAO Hui, ZHANG Yue-ming et al. College of Public Health, Xinjiang Medical University (Urumqi 830054, China)

Abstract Objective To study the association of TaqⅠ gene polymorphism with type 2 diabetes and lipodogramme in Uygur people. **Methods** On basis of case-control design, lipodogramme of Uygur people was determined by automatic biochemical analyzer technology and the polymorphism of cholesteryl ester transfer protein (CETP) was analyzed by PCR-RFLP in 53 type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients, 53 patients with impaired glucose tolerance (IGT) and 106 normal control of Uygur nationality. **Results** The fasting plasma glucose (FPG) in normal group was 5.14±0.24 mmol/L, 10.79±3.34 mmol/L in T2DM group, and 5.97±0.41 mmol/L in IGT group (F=205.87, P=0.000), respectively. CETP genotype distribution was significant different between the three groups (P=0.028). The frequency of H+H- genotype for T2DM was significantly higher than that of others (69.8%, 45.3%, 41.5% for T_2DM, IGT, and normal group, respectively). The values of FPG was 6.04±1.72 mmol/L for subjects with H-H- genotype, 6.03±1.63 mmol/L with H+H+, and 7.48±3.60 mmol/L with H+H-, respectively, with significant difference between the groups (P=0.001). The results of logistic regression showed that the dependent risk factors of T2DM were total glucose (P=0.000), CETP genotype (P=0.007), waist circumference (P=0.048). The subjects with H+H- had a 4.042 folds (95% CI=1.243-13.149, P=0.020) risk of T2DM compared with subjects with H-H- genotype. **Conclusion** CETP gene TaqⅠ polymorphism is closely related to the risk of T2DM and the H+H- genotype may serve as a genetic risk factor of T2DM among Uygur people.

Key words CETP gene; Uygur people; type2 diabetes; gene polymorphism

糖尿病是新疆特高发疾病之一[1]。李琳琳等[2]研究显示,钙蛋白酶 10(CAPN-10)基因、脂联素(APM I)基因+45T>G和+276G>T位点单核苷酸多态性(SNPs)与新疆维吾尔族和哈萨克族 2型糖尿病(T2DM)具有相关性[3],提示人体内脂质谱的异常可能是糖尿病患病的危险因素;血浆中胆固醇酯转运蛋白(CETP)基因多态性和 T2DM 相关[4]。为了探讨 CETP基因 TaqⅠ酶切多态性与维吾族 T2DM 及其体现人脂质谱的关系,本研究检测了不同糖耐量水平维吾尔族人体内脂质谱,同时采用聚合酶链反应-限制性内切酶第度多态性(PCR-RFLP)技术对 CETP基因 TaqⅠ酶切进行基因型鉴定,分析比较不同糖耐量水平的体内脂质谱与 CETP基因多态性的变化。结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象 选择新疆库尔勒地区轮台县维吾尔族居民为样本,依据病例对照设计方法,在筛查人群中设立正常糖耐量组、糖耐量异常组、2型糖尿病(T2DM)组 3个组。正常糖耐量组 106人,其中男性 50人,女性 56人,平均年龄(52±9)岁;糖耐量异常组 53人,其中男性 25人,女性 28人,平均年龄(53±9)岁; T2DM 组 53人,其中男性 25人,女性 28人,平均年龄(53±9)岁。T2DM 组与正常糖耐量对照组的性别年龄构成差异均无统计学意义。

1.2 方法

1.2.1 问卷调查与体检采样 调查对象禁食 12 h后,于次日上午 8点,采用问卷调查方式,进行面对面询问。内容包括:人口基本特征(姓名、性别、年龄、出生日期)、居住地址、文化程度、职业、婚配情况、职务、工作性质、劳动强度、疾病史等基本情况;同时测量血压、身高、体重、腰围、臀围;统一空腹采集肘静脉血 10 mL待检。

1.2.2 血液生化指标检测 取 5 mL血样,分别采用气相色谱技术、全自动生化分析仪技术、酶法、免疫比浊法等检测空腹血糖(FPG)、甘油三酯(TG)、血清总胆固醇(TC)、高密度

* 基金项目: 新疆维吾尔自治区高校科研计划重点项目(XJEDU 2005I18)
作者单位: 新疆医科大学公共卫生学院,乌鲁木齐 830054
作者简介: 李涵秋(1984-),女,内蒙古赤峰人,满族,硕士在读,研究方向:营养与健康。
通讯作者: 肖辉

中国公共卫生 CPH

脂蛋白胆固醇 (HDL－C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL－C)。糖耐量异常筛查判断标准: 正常糖耐量 (UNGT): 空腹血糖 (FPG) < 5.6 mmol/L; 糖耐量异常 (UIGT): 5.6 mmol/L≤ 7.0 mmol/L; 2型糖尿病 (TU2DM): FPG ≥ 7.0 mmol/L。体质指数 (BMI) = 体重/身高 (kg/m²), BMI< 19者属于消瘦, 18～25之间为正常, 25～30之间为超重, > 30时属于肥胖。

1.2.3 基因多态性检测　取另外 5 mL血样, 采用改良 Miller法提取血液基因组 DNA, 用紫外分光光度计进行纯度和定量测定后, 置于－80 ℃保存备用。参照文献合成引物[5], 上游引物为 5′－CACTAGCCCAGAGA2GAGGAGTGCC－3′; 下游引物为 5′－CTGAGCCCAGCCG2CACACTAAC－3′; 由上海生工生物工程技术服务有限公司合成。PCR反应体系: 10 ×缓冲液 2 μL, dNTP(10 mmol/L) 1 μL, 2 mmol/L $MgCl_2$ 溶液 2 μL, Taq DNA 聚合酶 1.5 U, 引物 (10 μmol/L)各 1 μL, DNA 模板 1 μL, 加 ddH_2O 补足 25 μL。PCR反应循环参数为: 95 ℃预变性 4 min, 95 ℃变性 30 s, 60 ℃复性 30 s, 72 ℃延伸 1 min, 共 35个循环, 72 ℃延伸 5 min。PCR产物经 1%琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭 (EB)染色检测扩增结果。PCR扩增后产物用限制性内切酶 TaqI (立陶宛 Fermentas公司)酶切, 65 ℃消化过夜, 消化产物 1.2%琼脂糖凝胶电泳、EB染色后, 用 Bio－Rad凝胶成像系统拍照并判断酶切结果。

1.3 统计分析　采用 SPSS 13.0软件进行分析。基因型和等位基因频率采用直接计数法统计, 以 Hardy－Weinberg平衡检验确认研究样本的群体代表性。计量资料均用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 计数资料用 χ^2 检验; 组间比较采用 t检验和单因素方差分析, 危险因素采用 Logistic回归分析。

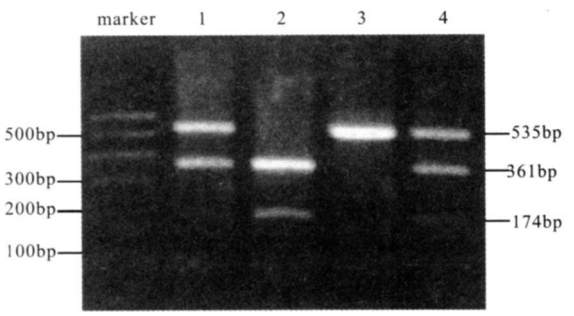
2 结　果

2.1 T2DM组、糖耐量异常组和正常组基本情况比较 (表 1)　表 1可见, 各组 BMI、腰围、FPG 和 TG 比较差异均有统计学意义, 表明 3组人群的选择符合本研究的要求, BMI、腰围、FPG 和 TG 与糖耐量异常关系密切。

表 1　T2DM组、糖耐量异常组及正常组基本情况比较 ($\bar{x}\pm s$)

指　标	正常组	T2DM 组	异常组	F 值	P 值
BMI	26.36±3.75	27.68±4.09	27.74±4.03	3.15	0.045
腰围 (cm)	90.44±9.68	95.70±8.37	93.42±8.80	6.17	0.002
DBP(mmHg)	120.79±19.48	122.91±23.72	121.68±19.42	0.19	0.830
SBP(mmHg)	72.23±12.60	75.62±13.76	74.19±12.17	1.33	0.270
FPG (mmol/L)	5.14±0.24	10.79±3.34	5.97±0.41	205.87	0.000
TC (mmol/L)	4.96±1.23	5.24±1.42	5.04±1.42	0.76	0.470
TG (mmol/L)	1.80±0.99	2.84±1.78	1.98±0.13	12.19	0.000
HDL－C (mmol/L)	1.03±0.20	1.05±0.25	1.02±0.22	0.33	0.720
LDL－C (mmol/L)	3.11±0.94	2.89±1.095	3.12±1.123	0.94	0.390

2.2 基因型鉴定 (图 1)　CETP基因 TaqI 酶切位点 PCR扩增片段大小为 535 bp, 经 TaqI 限制酶消化后出现 3种基因型: 变异型 (H＋H＋): TT (361, 174 bp)、杂合型 (H＋H－): TC (535, 361, 174 bp)和野生型 (H－H－): CC (535 bp)。



注: marker 100 bp DNA 标记物; 1, 4 H＋H－; 2: H＋H＋; 3: H－H－。

图 1　CETP基因 TaqI 酶切位点的 PCR－RFLP检测结果

2.3 T2DM组、糖耐量异常组和对照组基因多态性分布比较 (表 2)　CETP基因 TaqI 酶切位点基因型在总体样本 2组中的分布符合 Hardy-weinberg平衡。基因型频率差异有统计学意义 (χ^2 = 10.84, P = 0.028)。表明该位点基因型在 3组人群中的分布差异有统计学意义; 等位基因频率差异无统计学意义。

表 2　3组人群 CETP基因 TaqI 位点基因型频率比较 (%)

组　别	基因型频率			等位基因频率	
	H－H－	H＋H＋	H＋H－	H＋	H－
正常组	22(20.7)	36(34.0)	48(45.3)	120(62.3)	92(37.7)
T2DM 组	6(11.3)	10(18.9)	37(69.8)	57(79.2)	49(20.8)
异常组	11(20.8)	20(37.7)	22(41.5)	62(60.4)	44(39.6)

注: 括号内为基因型频率 (%)。

2.4 CETP基因 TaqI位点多态性与体脂谱等变量关系 (表 3)　表 3可见, 3种基因型的空腹血糖 (FPG)差异有统计学意义 (P = 0.001)。单独对 T2DM 组进行分析, 未发现基因型与体内脂质谱之间差异有统计学意义。

2.5 影响因素分析 (表 4)　对 T2DM 组和正常组的基因型、BMI、体型、腰围和 TG 进行多因素 Logistic回归分析, 表 4可见, TG、CETP基因型和腰围是 T2DM 的独立危险因素 (P < 0.01或 P < 0.05)。

3 讨　论

本研究表明, 正常组中 H－H－、H＋H＋和 H＋H－等 3种基因型频率分别为 20.7%, 34.0%, 45.3%, 其中 H＋H－型最多, 其次是 H＋H＋, H－H－最少。与相关文献[5,6]结果相近。T2DM组中H－H－、H＋H＋和H＋H－的基因型频率

中国公共卫生 CPH

表 3 总体样本 CETP基因 TaqI 位点不同基因型与各变量比较 ($\bar{x}\pm s$)

指 标	H-H-	H+H+	H+H-	F 值	P 值
BMI	26.98±2.76	27.62±4.38	26.70±4.02	1.13	0.33
腰围(cm)	91.82±9.55	92.83±9.85	92.54±9.09	0.14	0.87
DBP(mmHg)	120.62±20.98	123.52±22.25	120.66±19.33	0.44	0.64
SBP(mmHg)	73.92±13.67	74.45±13.73	72.89±11.97	0.32	0.73
FPG(mmol/L)	6.04±1.72	6.03±1.63	7.48±3.60	6.96	0.001
TC(mmol/L)	4.98±1.54	5.14±1.19	5.01±1.33	0.25	0.78
TG(mmol/L)	2.30±1.53	2.08±1.27	2.05±1.29	0.53	0.59
HDL-C(mmol/L)	1.03±0.24	1.05±0.19	1.03±0.22	0.20	0.82
LDL-C(mmol/L)	2.91±1.13	3.15±0.96	3.05±1.03	0.68	0.51

表 4 2型糖尿病与 CETP基因 TaqI 位点多态性多因素 Logistic回归分析

变 量	β	S_E	P 值	OR 值	95% CI
基因型					
H-H-			0.007		
H+H+	0.074	0.661	0.910	1.077	0.295~3.933
H+H-	1.397	0.602	0.020	4.042	1.243~13.149
BMI	0.090	0.137	0.512	0.914	0.700~1.195
体型			0.629		
消瘦					
正常	0.165	1.94	0.922	1.180	0.043~32.663
超重	0.053	1.941	0.978	0.949	0.021~42.612
肥胖	0.755	2.390	0.752	2.128	0.020~230.162
腰围	0.069	0.035	0.048	1.071	1.001~1.147
TG	0.695	0.181	0.000	2.003	1.405~2.857

分别为 11.3%, 18.9%, 34.0%,其中也是以 H+H-型为主,其次是 H+H+, H-H-最少。有研究[7-8]显示, T2DM 组的基因型频率主要以 H+H+居多。提示 CETP基因在不同种族人群患 T2DM 的遗传变异可能具有人群异质性。

本研究结果还显示, CETP基因 TaqI 酶切位点基因型频率在 3组人群的分布差异有统计学意义, T2DM 组的 H+H-基因型频率明显高于其他组,表明 CETP基因 TaqI 酶切位点基因多态性与新疆维吾尔族 T2DM 的发生可能密切相关。但对其等位基因型频率进行比较,差异无统计学意义,可能是 CETP基因的变异主要与其基因型分布有关,而与等位基因的频率分布相关性不大。

通过对 CETP基因 TaqI 位点多态性与包括体内脂质谱在内的多个变量进行比较,均显示 CETP基因不同基因型的空腹血糖(FPG)差异有统计学意义,揭示 CETP基因多态性与 FPG 具有相关性,而与体质指数(BMI)、腰围、血压、血脂(TC、TG、HDL-C、LDL-C)的差异无统计学意义,揭示 CETP基因 TaqI 位点多态性与维吾尔族体内脂质谱不具有统计学相关性。多因素 Logistic回归分析显示, T2DM 的独立危险因素依次是 TG、CETP基因型和腰围。H+H-基因型携带者患 T2DM 的危险性增加(OR = 4.042, 95% CI = 1.243~13.149)。其具体原因还需进一步研究。

参考文献

〔1〕 富琳岩,王丽敏. 我国少数民族糖尿病流行病学研究进展[J]. 中国公共卫生, 2005, 21(2): 135-136.

〔2〕 李琳琳,张月明,杜景玉,等. CAPN-10基因与新疆维吾尔族及哈萨克族人群 2型糖尿病的相关性[J]. 中华糖尿病杂志, 2005, 13(2): 118-119.

〔3〕 Li LL, Kang XL, Ran X, et al. Assiations between 45T/G polymorphism of the adiponection gene and plasma adiponection levels with type 2 diabetes[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2007, 34(12): 1287-1290.

〔4〕 姜涛,宋秀霞,张敏,等. 2型糖尿病胰岛素抵抗和胆固醇酯转运蛋白基因多态性的关联研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 2005, 22(3): 298-301.

〔5〕 Ordovas JM, Cupples LA, Corella D, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein TaqIB polymorphism with variations in lipoprotein subclasses and coronary heart disease risk: the Framingham study[J]. Arterioscler Thromb Vase Biol, 2000, 20(5): 1323-1329.

〔6〕 刘静,赵冬,刘飒,等. 胆固醇酯转运蛋白基因 TaqIB多态性和血浆浓度的人群分布特征和相互关系[J]. 中华流行病学杂志, 2003, 24(4): 303-304.

〔7〕 Meguro S, Takei I, Murata M, et al. Cholesteryl ester transfer protein polymorphism associated with macroangiopathy in Japanese patients with type 2 diabetes[J]. Atherosclerosis, 2001, 156(1): 151-156.

〔8〕 吴晓华,陆元善. CETP-TaqIB基因多态性与 2型糖尿病病人脂类代谢的关系[J]. 中国医学检验杂志, 2003, 4(1): 13-15.

收稿日期: 2009-03-24 (孔繁学编辑 刘铁校对)

本刊栏目介绍

本刊常设栏目有:专题报道、论著、实验研究、调查研究与分析、综述等学术性栏目,以及健康促进、检验技术、卫生统计、公共卫生论坛及基层公共卫生、继续医学教育讲座等专业性栏目。还将根据不同时期的重点课题以及来稿特点,不定期开设述评、专题笔谈等。