

罗格列酮治疗深圳地区汉族人群不同脂联素基因型2型糖尿病患者的临床观察[△]

赵海燕*, 田萍, 陈立波#, 张长宁, 叶强, 张洪利(广东医学院附属南山医院内分泌科, 广东深圳 518052)

中图分类号 R587.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)04-0322-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.04.12

摘要 目的:观察罗格列酮治疗不同脂联素(APN)基因型的2型糖尿病患者的临床效果。方法:运用PCR-RFLP技术检测407例(136例非糖尿病患者和271例2型糖尿病患者)深圳地区汉族APN基因SNP-11377 C/G和-11391 G/A变异情况,对其中150例2型糖尿病患者应用罗格列酮治疗12周。分析各位点与糖尿病的相关性,及用药前后血糖、血脂、胰岛功能及APN的变化情况。结果:深圳地区汉族人群APN基因SNP-11377 C/G多态与糖尿病发病无显著相关,但CG+GG基因型APN浓度显著下降,HOMA-IR加重($P<0.05$)。深圳地区汉族人群APN基因SNP-11391 G/A多态与糖尿病发病可能相关,GA+AA基因型APN浓度显著下降,HOMA-IR加重($P<0.05$)。结论:SNP-11377位点C/G变异可能影响罗格列酮的降糖效果,对药物敏感性CC型优于CG+GG型。

关键词 APN;基因多态性;罗格列酮;临床观察

Clinical Observation of Rosiglitazone on Level with Type 2 Diabetes Mellitus Polymorphism of the APN Gene

ZHAO Hai-yan, TIAN Ping, CHEN Li-bo, ZHANG Chang-ning, YE Qiang, ZHANG Hong-li (Dept. of Clinical Endocrinology and Metabolism, Guangdong Medical University Affiliated to Nanshan Hospital, Guangdong Shenzhen 518052, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To observe the therapeutic efficacy of rosiglitazone in the treatment of type 2 diabetes mellitus of different adiponectin (APN) gene. METHODS: Variation of SNP-11377 C/G and SNP-11391 G/A in APN gene of 407 Han subjects (136 non-diabetes patients and 271 type 2 diabetes patients) from Shenzhen in China were detected by PCR-RFLP. 150 type 2 diabetes patients were given rosiglitazone for 12 weeks. Correlation of gene locus with diabetes was analyzed, and the changes of blood glucose, blood lipid, islet function and change of APN were observed before and after medication. RESULTS: SNP-11377 C/G polymorphism was not associated with type 2 diabetes, and the level of mutant (CG+GG) APN decreased significantly ($P<0.05$). SNP-11391G/A may be related to type 2 diabetes, and the level of mutant (GA+AA) APN decreased obviously ($P<0.05$). CONCLUSION: The variation of SNP-11377 C/G allele might affect the hypoglycemic effect of rosiglitazone, and CC gene are more sensitivity than CG+GG.

KEY WORDS Adiponectin; Polymorphism; Rosiglitazone; Clinical observation

临床中发现糖尿病发生与遗传背景等多种因素相关。研究^[1]显示,脂联素(APN)基因上游的5'调控区启动子-11377和-11391位点的核苷酸变异与APN水平及2型糖尿病发病率密切相关,区域的变异可能会通过减少APN表达,进而增加了2型糖尿病发病的危险。过氧化物酶体增殖物活化受体- γ 2 (PPAR γ 2)激动剂——罗格列酮,作为一种胰岛素增敏剂被广泛应用于2型糖尿病的治疗。对于应用噻唑烷二酮类药物(Thiozolidinediones, TZDs)治疗的2型糖尿病患者疗效也不尽相同,除与遗传、年龄、疾病状态等有关外,可能与APN(Adiponectin, APN)的基因多态性有关。本研究观察、比较了服用罗格列酮前后不同APN基因型的2型糖尿病个体的实验室检测指标变化情况并进行了APN基因分型检测。

[△] 深圳市科技计划项目(No.200803186)

* 副主任医师,硕士。研究方向:糖尿病大血管发病机制。电话:0755-26065056。E-mail: Haiyan_11270102@sohu.com

通信作者:主任医师,本科。研究方向:糖尿病肾病。电话:0755-26065056。E-mail: Chenlibo_1979@126.com

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2007年6月—2010年6月广东医学院附属南山医院内分泌科门诊及住院271例2型糖尿病患者为糖尿病组。糖尿病诊断以世界卫生组织(WHO)1999年糖尿病诊断为标准;既往无PPAR γ 2激动剂使用史;入选前3个月内的药物使用情况无变化;女性患者为绝经后或者采用适当的避孕措施。排除:1型糖尿病、有过酮症酸中毒病史、缺血性心脏病史、充血性心功能不全史、接受胰岛素治疗的患者,妊娠或哺乳期妇女。另选取136例非糖尿病健康志愿者为正常组,均无糖尿病家族史,无其他内分泌疾病,空腹血糖 <6.0 mmol/L,进行对比研究。所有受试者均知情同意并签署知情同意书。

1.2 研究方法

初次评价:对全部受试者进行体质量、身高测量,空腹 >8 h。体质量指数(BMI)=体质量(kg)/身高²(m²)。对全部受试者应用酶化学法检测血液中总胆固醇、甘油三酯、糖化血红蛋白及血糖水平;化学发光法测定胰岛素;Elisa法测定C肽。应

用商用试剂盒(美国 LINCO 公司)测定 APN 浓度。选取 150 例糖尿病患者服用罗格列酮 12 周。随访:服药者分别随诊 3 次,每月 1 次。去除不能用药或不能坚持用药及失访人群。

再次评价:12 周后进行糖化血红蛋白、总胆固醇、甘油三酯及血糖、APN 水平、稳态胰岛素评估模型胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)测定。

1.3 基因分型

商用 DNA 试剂盒抽提外周血白细胞 DNA, 300 ng DNA 为模板在总反应体积 25 μ l 内进行聚合酶链式反应(PCR)扩增。上游引物:5'-ACTTGCCCTGCCTCTGTCTG-3', 下游引物:5'-GCCTGGAGAAGCTGGAAGCTG-3'。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 15.0 统计学软件进行统计、分析,采用 Hardy-Weinberg 平衡原理估测样本的群体代表性,计量资料比较采用 *t* 检验,用药前后比较采用配对正文检验,分析差异采用单因素方差分析;计数资料比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组受试者临床资料比较

2 组受试者年龄、空腹 C 肽、空腹血浆胰岛素(FINs)比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。正常组 BMI、空腹血糖(FPG)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)显著低于糖尿病组,APN 水平高于糖尿病组($P < 0.05$)。2 组受试者临床资料比较见表 1。

表 1 2 组受试者临床资料比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of clinical information between 2 groups($\bar{x} \pm s$)

临床资料	正常组	糖尿病组	<i>t</i>
<i>n</i> (男性/女性)	84/52	153/118	
年龄,岁	51.68 ± 16.86	54.64 ± 3.71	-1.771
BMI, kg/m ²	23.75 ± 3.48	25.07 ± 3.74*	-3.409
FPG, mmol/L	5.04 ± 0.67	9.34 ± 3.11*	-21.768
空腹 C 肽, ng/ml	3.93 ± 2.36	3.39 ± 3.64	1.208
FINs, mU/L	11.14 ± 10.31	10.57 ± 9.62	0.436
APN, μ g/ml	5.64 ± 6.52	4.56 ± 13.8*	1.270
TC, mmol/L	4.22 ± 1.25	5.40 ± 1.40*	-8.255
TG, mmol/L	1.45 ± 2.37	2.27 ± 1.13*	7.344

与正常组比较: * $P < 0.05$

vs. normal group: * $P < 0.05$

2.2 汉族 APN 基因 SNP-11377 位点基因型频率、等位基因频率比较

率比较

汉族 APN 基因 SNP-11377 位点基因型频率、等位基因频率比较见表 2。

表 2 汉族 APN 基因 SNP-11377 位点基因型频率、等位基因频率比较

Tab 2 Comparison of SNP-11377 APN gene frequency, alleles frequency in Chinese Han population

组别	<i>n</i>	基因型频率			等位基因频率				
		例数	CC, %	例数	CG, %	例数	GG, %	C, %	G, %
正常组	136	113	0.831	19	0.139	4	0.029	0.90	0.10
糖尿病组	271	208	0.768	39	0.144	24	0.088	0.839 5	0.160 5

由表 2 可知,2 组间 APN 基因 SNP-11377 位点变异情况比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),糖尿病组 GG 基因型频率、G 等位基因频率与正常组比较,差异无统计学意义(基因型频率 $\chi^2 = 5.077, P = 0.079$; 等位基因频率 $\chi^2 = 2.335, P = 0.126$)。

2.3 汉族 APN 基因 SNP-11391 位点基因型频率、等位基因频率比较

汉族 APN 基因 SNP-11391 位点基因型频率、等位基因频率比较见表 3。

表 3 汉族 APN 基因 SNP-11391 位点基因型频率、等位基因频率比较

Tab 3 Comparison of SNP-11391 APN gene frequency, alleles frequency in Chinese Han population

组别	<i>n</i>	基因型频率			等位基因频率				
		例数	GG, %	例数	GA, %	例数	AA, %	G, %	A, %
正常组	136	132	0.971	4	0.029	0	0.000	0.985	0.015
糖尿病组	271	240	0.885	20	0.074	11	0.041	0.923	0.077

2 组间 PN 基因 SNP-11391 位点变异比较差异有统计学意义(基因型频率 $\chi^2 = 9.262, P = 0.010$, 等位基因频率 $\chi^2 = 6.695, P = 0.010$); 糖尿病组 GG 基因型频率降低, G 等位基因频率下降, GA 基因型频率增加, A 等位基因频率增加。

2.4 糖尿病组中各基因位点临床指标比较

糖尿病组-11377 位点的 CC 基因型与 CG+GG 基因型比较, FPG、C 肽、餐后 2 h C 肽、APN 浓度、HOMA-IR 均有显著性差异($P < 0.05$), CG+GG 基因型 FPG 及 C 肽上升, APN 浓度显著下降, HOMA-IR 加重; -11391 位点的 GG 基因型与 GA+AA 基因型比较, GA+AA 基因型 APN 浓度显著下降, HOMA-IR 加重, 差异具有统计学意义($P < 0.05$), 详见表 4。

2.5 糖尿病组服药前后临床指标比较

表 4 糖尿病组中各基因位点临床指标比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Comparison of clinical information between different gene locus in diabetic group($\bar{x} \pm s$)

位点	基因型	FPG, mmol/L	空腹 C 肽, ng/ml	FINs, mU/L	餐后 2 h 血糖, mmol/L	餐后 2 h 胰岛素, mU/L	餐后 2 h C 肽, ng/ml	APN, μ g/ml	HOMA-IR
-11377	CC	9.38 ± 3.14	2.96 ± 2.92	9.76 ± 9.09	14.13 ± 5.21	33.4 ± 31.21	6.64 ± 6.87	5.5 ± 15.73	3.65 ± 3.25
	CG+GG	9.19 ± 2.98	4.67 ± 5.08	13.38 ± 10.88	12.97 ± 3.92	39.85 ± 39.27	10.64 ± 11.20	2.75 ± 9.54	5.69 ± 6.05
-11391	GA+AA	9.15 ± 2.88	5.14 ± 6.26	13.36 ± 11.66	12.92 ± 4.33	36.22 ± 35.54	11.59 ± 14.86	-0.06 ± 4.02	6.17 ± 7.40
	GG	9.36 ± 3.14	3.11 ± 2.97	10.18 ± 9.27	14.00 ± 5.05	34.85 ± 33.19	7.01 ± 6.60	5.66 ± 15.08	3.92 ± 3.42

服用罗格列酮后的 150 例糖尿病患者空腹及餐后 2 h FBG、2 h FINs、空腹及餐后 2 h C 肽、TC、TG、HOMA-IR 均显

著下降, 而 APN 浓度显著上升($P < 0.05$), 详见表 5。

2.6 SNP-11377 不同基因型患者用药前后临床指标比较

表 5 糖尿病组服药前后临床指标比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 5 Comparison of clinical information before and after medication in diabetic group($\bar{x} \pm s$)

时间	FPG, mmol/L	空腹 C 肽, ng/ml	FINs, mU/L	餐后 2 h 血糖, mmol/L	餐后 2 h 胰岛素, mU/L	餐后 2 h C 肽, ng/ml	APN, μ g/ml	TC, mmol/L	TG, mmol/L	HOMA-IR
用药前	9.72 ± 3.40	3.94 ± 4.17	9.73 ± 8.43	13.83 ± 4.92	29.94 ± 30.06	8.83 ± 9.57	4.47 ± 13.74	5.61 ± 1.31	2.35 ± 2.05	4.12 ± 4.33
用药后	8.00 ± 1.87	3.12 ± 2.32	7.91 ± 13.15	10.78 ± 3.28	21.72 ± 21.28	6.81 ± 5.26	14.02 ± 21.67	5.30 ± 0.94	1.73 ± 1.04	2.8 ± 4.468

分析SNP-11377不同基因型对罗格列酮的疗效,并比较用药前、后各指标变化:用药前TC、TG、FPG均无显著性差异($P>0.05$);而空腹及餐后2h胰岛素、空腹及餐后2hC肽、HOMA-IR,CC基因型低于CG+GG基因型,APN浓度高于CG+GG基因型($P<0.05$)。用药后FPG、TG、HOMA-IR均能

得到不同程度改善,但无显著性差异($P>0.05$),其中CG+GG基因型餐后2h胰岛素功能改善显著优于CC基因型,TC水平显著下降,APN浓度显著升高($P<0.05$)。用药后,各项指标改变的差值显示:CC基因型的空腹及餐后2h血糖下降优于CG+GG基因型,APN上升水平高于突变型($P<0.05$),详见表6。

表6 SNP-11377位点不同基因型患者用药前后临床指标比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 6 Comparison of clinical information of patients with SNP-11377 before and after medication($\bar{x} \pm s$)

基因位点	时间	FPG,mmol/L	空腹C肽,ng/ml	FINs,mU/L	餐后2h血糖,mmol/L	餐后2h胰岛素,mU/L	餐后2hC肽,ng/ml	APN, μ g/ml	TC,mmol/L	TG,mmol/L	HOMA-IR
CC	用药前	10.05 \pm 3.62	3.49 \pm 3.45	7.49 \pm 5.47	14.35 \pm 5.40	23.86 \pm 20.66	7.71 \pm 8.29	5.67 \pm 15.80	5.65 \pm 1.42	2.52 \pm 2.09	3.22 \pm 2.39
	用药后	7.69 \pm 1.84	2.93 \pm 2.29	8.85 \pm 16.20	10.16 \pm 3.27	24.35 \pm 24.79	6.24 \pm 4.52	19.12 \pm 25.53	5.55 \pm 1.12	1.78 \pm 1.12	2.99 \pm 5.37
	用药差值	2.35 \pm 2.99	0.67 \pm 1.56	-1.35 \pm 16.0	4.19 \pm 4.33	0.49 \pm 27.89	-1.48 \pm 8.05	13.45 \pm 18.03	-0.38 \pm 0.91	-0.74 \pm 1.21	-0.22 \pm 5.21
CG+GG	用药前	9.18 \pm 2.98	4.67 \pm 5.08*	13.38 \pm 10.88*	12.97 \pm 3.92*	39.84 \pm 39.26*	10.64 \pm 8.20*	2.75 \pm 9.54*	5.26 \pm 1.08	2.06 \pm 1.97	5.69 \pm 6.05*
	用药后	8.51 \pm 1.83	3.43 \pm 2.46	6.36 \pm 5.01	11.77 \pm 3.07	17.43 \pm 20.80*	7.75 \pm 6.20*	5.69 \pm 8.01*	5.36 \pm 0.64*	1.67 \pm 0.92	2.46 \pm 2.29
	用药差值	0.67 \pm 1.56 ^Δ	-1.25 \pm 3.33	7.01 \pm 9.78	1.20 \pm 2.00 ^Δ	-22.41 \pm 33.29	-2.89 \pm 6.42	2.93 \pm 6.68 ^Δ	-0.19 \pm 0.71	-0.41 \pm 1.46	-3.22 \pm 5.27

用药前2组基因型比较: * $P<0.05$;用药后2组基因型比较: * $P<0.05$;2组基因型用药前后差值比较: $\Delta P<0.05$

vs. before treatment; * $P<0.05$; vs. after treatment; * $P<0.05$; vs. the same group before: $\Delta P<0.05$

3 讨论

APN是由脂肪组织所分泌的一种类似补体成分的生物活性蛋白^[2],血清中其质量浓度范围为5~30 μ g/L,约占血清总蛋白的0.1%。具有抗动脉硬化形成、促进游离脂肪酸的氧化^[3]、拮抗重组人肿瘤坏死因子 α 的作用,是唯一一个在胰岛素相关性疾病中水平下调的脂肪因子。研究^[4]显示,APN基因多态性可以影响糖尿病患者脂质代谢,并可能与2型糖尿病的发病率相关,但目前对APN基因多肽性与2型糖尿病和代谢综合征的相关性研究较多,分歧较大。

Vasseur F等^[1]对法国高加索人群进行研究发现,位于APN基因5'调控区-11377(C/G)和-11391(G/A)两位点的单核苷酸序列多态性至少有一个非同义突变与APN浓度($P<0.0001$)及2型糖尿病发病($P=0.004$)相关。突变之后引起APN浓度的降低,2型糖尿病的发病率增加,但与胰岛素抵抗无显著相关。变异的基因是否影响血脂血糖代谢以及和糖尿病各种慢性并发症是否有关未见有报道。我国陕西汉族人群的APN基因的-11377(C/G)变异研究^[5]显示,-11377 G等位基因频率在非糖尿病者和糖尿病患者中分别为28.7%和27.3%。未发现与糖尿病发病的相关性。福建人群中显示^[6],-11377 G等位基因频率在非糖尿病者和糖尿病患者中分别为21.3%和28.8%,与糖尿病发病相关。

本研究结果显示,我国深圳地区汉族人群中存在APN基因SNP-11377位点C/G和SNP-11391位点G/A变异,但不是常见变异,二者变异率低于法国高加索人。可能存在一定的人种差异。深圳地区汉族人群APN基因SNP-11377 C/G多态与糖尿病发病无明显相关,但可以发现突变型APN浓度显著下降,HOMA-IR加重。深圳地区汉族人群APN基因SNP-11391 G/A多态与糖尿病发病相关,GA+AA基因型APN浓度显著下降,HOMA-IR加重。

罗格列酮可激活PPAR γ 2核受体,对参与葡萄糖生成、转运和利用的胰岛素反应基因的转录进行调控。但具体机制未完全明了。Maeda N等^[7]报道,噻唑烷二酮类药物可以增加人类脂肪细胞APN的mRNA表达,显著增加胰岛素抵抗患者APN的浓度。在临床工作中,也可以发现部分人群对该类药物的反应性欠佳。也可能APN基因的多态性可以解释这一现象。研究发现,-11391位点G/A基因型频率在糖尿病人群中很低,只有不到1%的突变率,故不适宜做常规药物基因筛查分析。

综上所述,APN基因SNP-11377位点C/G变异可能影响罗格列酮的降糖效果。用药前APN基因SNP-11377 CC基因型胰岛功能及APN浓度要显著优于CG+GG基因型。用药后均能使糖尿病患者FBG、TG、TC、胰岛功能均得到不同程度改善。FBG、胰岛功能、APN浓度改善程度CC基因型显著优于CG+GG基因型,而二者血脂的改善类似。

参考文献

- [1] Vasseur F, Helbecque N, Dina C, et al. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for 2 diabetes in French Caucasians[J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11(21):2 607.
- [2] Arita Y, Kihara S, Ouchi N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 257(1): 79.
- [3] Fruebis J, Tsao T, Javorschi S, et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(4):2 005.
- [4] Gu HF, Abulaiti A, Ostenson CG, et al. Single nucleotide polymorphism in the proximal promoter region of the adiponectin (APM1) gene are associated with type 2 diabetes in Swedish Caucasians[J]. *Diabetes*, 2004, 53(Suppl 1):S31.
- [5] 何岚,刘萍,叶枫,等.脂联素基因启动子区-11377C/G单核苷酸多态性与陕西汉族人血清脂联素水平和2型糖尿病的关系[J]. *第四军医大学学报*, 2006, 27(16):1 493.
- [6] 孙红,王少明,庄捷,等.脂联素基因启动子-11377(C/G)基因多态性与中国2型糖尿病和罗格列酮降糖疗效的相关性研究[J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2010, 15(1):1.
- [7] Maeda N, Takashi M, Funahashi T, et al. PPARgamma ligands increase expression and plasma concentrations of adiponectin, an adipose-derived protein[J]. *Diabetes*, 2001, 50(9):2 094.

(收稿日期:2012-03-30 修回日期:2012-09-22)