

网络出版时间: 2018-1-8 11:44 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180104.1310.023.html>

◇临床医学研究◇

KCNQ1 基因 rs2237892 多态性与合肥地区汉族人 2 型糖尿病的相关性

陈建丰, 潘天荣

摘要 目的 探讨 KCNQ1 基因 rs2237892 多态性与合肥地区 2 型糖尿病 (T2DM) 的相关性。方法 运用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 技术, 在合肥地区人群中对 84 例 T2DM 患者和 104 例健康对照者 (NC 组) KCNQ1 基因 rs2237892 多态性进行检测, 并比较分析各组间基因型、等位基因频率、相关临床和生化指标。结果 T2DM 组与 NC 组的 KCNQ1 基因 rs2237892 各基因型和等位基因比较差异无统计学意义, Logistic 回归分析显示 rs2237892 位点 CT 基因型 T2DM 患病风险是 CC 基因型的 1.44 倍 ($OR = 1.44, 95\% CI: 1.06 \sim 1.95, P = 0.02$)。结论 KCNQ1 基因 rs2237892 可能是合肥地区 T2DM 的易感基因之一。

关键词 2 型糖尿病; KCNQ1 rs2237892; 基因多态性

中图分类号 R 587.1

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)01-0110-04

2017-09-19 接收

基金项目: 安徽省 2015 年公益性技术应用研究联动计划 (编号: 15011d04042)

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院内分泌科, 合肥 230601

作者简介: 陈建丰, 男, 硕士研究生;

潘天荣, 男, 副教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: ptr1968@163.com

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.01.023

2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 的发病率在全世界范围已越来越高, 就中国范围而言, 就有超过 1.096 亿的成年糖尿病患者和 4.934 亿的糖尿病前期患者^[1-2]。T2DM 是一种受遗传和环境因素的双重影响的多因素代谢紊乱^[3], 全基因组关联研究识别出众多基因与 T2DM 的发病、预后及疾病的严重程度相关^[4-5], 例如 KCNQ1、CDKAL1、TCF7L2、HNF4A、HNF1B 和 DUSP9 等。KCNQ1 基因是电压依赖性钾离子通道家族成员之一, KCNQ1 基因突变可能导致遗传性长 QT 综合征, 罗马沃德综合征和家族性心房纤颤^[6]。KCNQ1 基因也在胰岛素生成细胞中表达, 在大鼠胰岛素瘤细胞中选择性抑制 KCNQ1 通道能显著增加胰岛素分泌^[7], 而在 KCNQ1 基因高表达的 MIN6 细胞株中, 通过葡萄糖, 丙酮酸或甲苯磺丁脲刺激, 均明显导致胰岛素分泌受损^[8]。由此可见, KCNQ1 可能参与糖尿病发病。

RIA method can detect blood concentration, calculation of pharmacokinetics parameters by using the DAS 2.2 software and SPSS 17.0 for statistical analysis. **Results** Beagle's dogs were treated with test preparation and reference preparation following sc administration at the dose of double dose. The main pharmacokinetic parameters of test preparation (4 U) and reference preparation (4 U) were as following: the elimination half-life ($t_{1/2}$) was (4.52 ± 3.62) and (3.42 ± 2.97) h, the peak concentration (C_{max}) was (102.0 ± 41.8) and (94.3 ± 42.3) $\mu U/ml$, the peak time (T_{max}) was (2.670 ± 0.651) and (3.000 ± 0.853) h, and the area under the concentration-time curve (AUC_{0-t}) was (655 ± 276) and (610 ± 197) $\mu U/(ml \cdot h)$, individually. Respectively, the minimum blood glucose levels (C_{min}) of the tested and referenced samples were (1.620 ± 0.335) and (1.530 ± 0.377) mmol/L, and the T_{min} (time to reach minimum blood glucose level) was (3.83 ± 1.19) and (3.75 ± 1.42) h, respectively. 8 U of the $t_{1/2}$ was (3.36 ± 1.89) and (3.16 ± 1.62) h, the C_{max} was (135.0 ± 57.7) and (133.0 ± 54.3) $\mu U/ml$, T_{max} was (3.83 ± 1.27) and (3.750 ± 0.866) h, and the AUC_{0-t} was (920 ± 274) and (941 ± 250) $\mu U/(ml \cdot h)$, individually. What's more, the C_{min} of the tested and referenced samples were (1.590 ± 0.355) and (1.570 ± 0.281) mmol/L, respectively, and the T_{min} was (6.33 ± 1.37) and (5.92 ± 1.68) h separately. **Conclusion** Domestic insulin glargine injection and control agent (Lantus®) has a bioequivalence.

Key words diabetes mellitus; insulin glargine injections; bioequivalence

近年来中国、韩国、日本、新加坡、丹麦发现 KCNQ1 多个单核苷酸多态性与 T2DM 的易感性相关,但在不同种族之间存在差异^[9-10]。该文研究安徽地区 T2DM 人群 KCNQ1 rs2237892 基因型分布以及 T2DM 易感性的相关性。

1 材料与方法

1.1 病例资料 采用病例对照研究,选取 2015 年 1 月~2016 年 11 月在合肥市第二人民医院收治的新诊断的 T2DM 的患者 84 例,均为合肥地区的汉族居民,其中男 50 例,女 34 例,年龄 45~76(54.51 ± 13.52) 岁。T2DM 定义为:判定标准按照世界卫生组织 1999 年标准诊断,即糖尿病症状:如多饮、多食、多尿、体重减轻、视力下降、皮肤瘙痒等 + 随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L(200 mg/dl);或空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG) 水平 ≥ 7.0 mmol/L(126 mg/dl);或口服葡萄糖耐量实验中,葡萄糖负荷后 2 h 血糖水平 ≥ 11.1 mmol/L(200 mg/dl);症状不典型者,需另日重复检查,予以证实^[11],且排除 T1DM 及其他代谢性疾病;选取体检中心健康者(NC 组) 104 例,其中男 58 例,女 46 例,年龄 44~75(51.25 ± 11.18) 岁。既往无血糖异常史,排除胰腺炎病史、长期服用糖皮质激素,并排除心、脑、肾疾病、自身免疫性疾病及恶性肿瘤史。两组人群的年龄、性别、身高、体重比较差异无统计学意义。所有研究对象在入组之前签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 临床及生化检查 所有研究对象空腹过夜,次日晨采集静脉血测定 FPG、总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triacylglycerol, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)。采用 ELISA 法测定空腹血清胰岛素计算稳态模型胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR) = [FPG(mmol/L) × 空腹血清胰岛素(mU/L)] / 22.5。测量所有研究对象的身高和体重,计算体重指数(body mass index, BMI)。同时测量收缩压(systolic blood pressure, SBP)、舒张压(diastolic blood pressure, DBP),测量腰围、臀围以计算腰臀比(waist/hip ratio, WHR)。

1.2.2 基因分析方法 抽取所有研究对象空腹静脉血 5 ml,使用全血基因组 DNA 小量快速提取试剂盒提取 DNA,采用聚合酶链式反应-限制性片段长

度多态性(polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) 进行基因型分析,上游引物序列: 5'-CTCAGAGGAAGAG-CAAGGGTAG-3',下游引物序列: 5'-CCTGGGTCAT-CAGACTAGGG-3'。DNA 在以下设定条件中扩增 35 个循环: 94 °C 变性 30 s, 51 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 40 s。扩增完成后,取扩增的 PCR 产物,加入限制性内切酶 Mbo II 在 37 °C 下保温 3 h,取酶切产物 10 μl 置于 2% 的琼脂糖凝胶上电泳,然后用凝胶成像系统观察并记录及分析结果。

1.3 统计学处理 采用统计软件 SPSS 16.0 进行分析,NC 组和 T2DM 组的临床特点比较采用独立样本 *t* 检验或 χ^2 检验,两组基因型分布采用 χ^2 检验,Hardy-Weinberg 平衡检验样本的群体代表性, KCNQ1 rs2237892 基因型与 T2DM 相关性采用 Logistic 回归分析,OR 值(95% CI), *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KCNQ1 基因 rs2237892 位点限制性酶切电泳图 使用限制性内切酶对 KCNQ1 基因 rs2237892 位点进行酶切。用 2% 琼脂糖凝胶电泳进行鉴定,如图 1 所示,可见三种基因型,其分别为: TT 变异纯合基因型 293 bp, CC 野生纯合基因型(72 + 221) bp, CT 杂合基因型(72 + 221 + 293) bp。

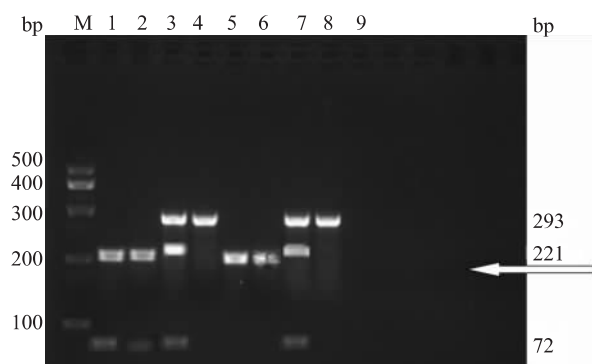


图1 PCR-RFLP 技术分析 KCNQ1 rs2237892 的多态性

M: DNA Maker(100~500 bp); 1、2、5、6: CC 野生纯合基因型; 4、8: TT 变异纯合基因型; 3、7: CT 杂合基因型; 9: 阴性对照

2.2 两组一般资料的比较 两组间年龄、性别、BMI、HDL-C、吸烟和饮酒比较差异无统计学意义。T2DM 组的 WHR、DBP、SBP、FPG、TC、TG、LDL-C、HbA1c 和 HOMA-IR 明显高于 NC 组(*P* < 0.05), 见表 1。

表1 两组一般资料的比较

项目	T2DM (n=84)	NC (n=104)	P 值	χ^2/t 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	54.51 $\pm$ 13.52	51.25 $\pm$ 11.18	0.530	0.640
性别(男/女)	50/34	58/46	0.610	0.270
WHR($\bar{x} \pm s$)	0.91 $\pm$ 0.07	0.87 $\pm$ 0.09	<0.050	3.950
BMI(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	25.38 $\pm$ 5.81	22.33 $\pm$ 4.33	0.390	1.450
SBP(kPa, $\bar{x} \pm s$)	16.39 $\pm$ 1.92	15.21 $\pm$ 1.74	<0.050	4.390
DBP(kPa, $\bar{x} \pm s$)	10.00 $\pm$ 1.40	9.38 $\pm$ 1.47	<0.050	3.820
吸烟史[n(%)]	24(60)	30(74)	0.970	0.002
饮酒史[n(%)]	23(61)	25(79)	0.600	0.270
冠心病[n(%)]	21(63)	9(95)	0.002	9.260
FPG(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	7.60 $\pm$ 1.36	4.76 $\pm$ 1.01	<0.050	5.800
TC(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	4.34 $\pm$ 0.83	3.68 $\pm$ 0.40	0.020	2.460
TG(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	2.23 $\pm$ 1.25	1.70 $\pm$ 0.41	0.040	2.250
LDL-C(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	2.78 $\pm$ 0.74	1.56 $\pm$ 0.68	<0.050	4.170
HDL-C(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	1.20 $\pm$ 0.38	1.18 $\pm$ 0.14	0.880	0.160
HOMA-IR($\bar{x} \pm s$)	1.25 $\pm$ 0.24	1.06 $\pm$ 0.08	0.020	2.630
HbA1c(% , $\bar{x} \pm s$)	9.25 $\pm$ 1.07	5.49 $\pm$ 0.54	<0.050	8.330

2.3 Hardy-Weinberg 平衡检验 本研究对 T2DM 组和 NC 组进行 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验, NC 组 $\chi^2 = 0.943$, $P = 0.331$, T2DM 组 $\chi^2 = 2.018$, $P = 0.155$, 总体人群 $\chi^2 = 0.143$, $P = 0.705$, 符合 Hardy-Weinberg 平衡定律, 表示样本来自遗传平衡的总体, 具有群体代表性。NC 组 CC、CT、TT 基因频率分别为 54.81%、34.62%、10.57%, C、T 等位基因频率分别为 65.48%、34.52%。T2DM 组 CC、CT、TT 基因频率分别为 40.48%、50.00%、9.52%, C、T 等位基因频率分别为 72.12%、27.88%。两组基因型及等位基因的构成差异无统计学意义, 见表 2。

表2 rs2237892 的基因型和等位基因分布情况 [n(%)]

基因型	T2DM	NC	χ^2 值	P 值
CC	34(40.48)	57(54.81)	4.67	0.10
CT	42(50.00)	36(34.62)		
TT	8(9.52)	11(10.57)		
C	110(72.12)	150(65.48)	1.92	0.17
T	58(27.88)	58(34.52)		

2.4 KCNQ1 基因 rs2237892 多态性与 T2DM 易感性的相关性 调整肥胖、血压、血脂等协变量后, 采用 Logistic 回归分析显示, KCNQ1 基因 rs2237892 CT 基因型发生 T2DM 的风险较 CC 型高 0.44 倍 ($P = 0.02$), TT、CT + TT 及 CC + CT 较 CC 基因型间危险度差异均无统计学意义, 见表 3。

3 讨论

T2DM 是由环境和遗传因素共同作用的代谢紊乱性疾病, 胰岛素抵抗与胰岛 β 细胞功能缺陷是其

表3 rs2237892 基因型对 T2DM 影响的 Logistic 回归分析 (n)

基因型	T2DM	NC	OR 值(95% CI)	P 值
CC	34	57	—	—
CT	42	36	1.44(1.06 ~ 1.95)	0.02
TT	8	11	1.65(0.78 ~ 3.24)	0.18
CT + TT	50	47	1.36(0.72 ~ 2.61)	0.33
CC + CT	76	93	1.61(0.76 ~ 3.47)	0.22

基本病理生理改变。但是 T2DM 的发病机制尚不明确, 基因多态性也是目前研究的重点之一。

KCNQ1 基因最早是由日本学者在 2008 年通过全基因组关联分析方法得到的与 T2DM 的发病密切相关的候选基因, KCNQ1 位于 11p15.5, 全长约 404 120 bp, 其编码的电压门控钾通道蛋白, 又称 KvLQT1, 此蛋白在上皮组织的水、盐、代谢及心脏动作电位的去极化过程中起到重要的作用^[12]。Warth et al^[13] 发现 KCNQ1 和 KCNE1 基因在小鼠的肠道上皮细胞和胰腺外分泌细胞中高表达, 其通过电压依赖性通道缓慢地激活胰腺腺泡细胞的 K⁺ 电流, 间接调控胞质 Ca²⁺、降低通道的导电性, 进而调节小鼠胰腺外分泌细胞的分泌功能, 这表明 KCNQ1 基因在胰岛素分泌中可能发挥着重要作用。

在本研究中, T2DM 组和 NC 组在年龄、性别、BMI、HDL-C、吸烟和饮酒等方面差异无统计学意义, 然而, T2DM 组显示 WHR、DBP、SBP、FPG、TC、TG、LDL-C、HbA1c 和 HOMA-IR 明显高于 NC 组。Turki et al^[14] 的研究发现在土耳其阿拉伯人群中 rs2237892 CT 基因型与 T2DM 发病风险增高密切相关 ($OR = 2.11$, 95% CI: 1.25 ~ 3.53); Cui et al^[15] 研究报道中国新疆哈萨克族女性患者 rs2237892 位点 T 等位基因能够增加 T2DM 的易感性, CT + TT 基因型是 T2DM 的危险基因型; 但 Hu et al^[9] 发现 rs2237892 位点 C 等位基因能够增加 T2DM 的易感性。既往的研究^[9, 14-15] 结果存在差异, 考虑研究对象为不同的种族, 可能 rs2237892 与 T2DM 的相关性存在地域的异质性。鉴于既往研究结果不一致, 本研究主要是针对合肥地区的汉族居民。本研究在合肥地区汉族人中显示 KCNQ1 基因 rs2237892 CT 基因型发生 T2DM 的风险为 CC 型的 1.44 倍 ($OR = 1.44$, 95% CI: 1.06 ~ 1.95), 是 T2DM 的易感基因型。

综上所述, 在合肥地区汉族人群中, KCNQ1 基因 rs2237892 CT 基因型与 T2DM 发病风险增加有关, 推测 KCNQ1 可能是 T2DM 的易感基因之一。但本研究尚存在不足, 如样本量较小, 可能会混淆分

析。在今后的研究中需进一步扩大样本量,更深入地揭示 KCNQ1 基因与 T2DM 的发生,以及与并发症之间的关系。

参考文献

- [1] International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 7th ed [D]. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, 2015.
- [2] Xu Y, Wang L, He J, et al. Prevalence and control of diabetes in Chinese adults [J]. *JAMA*, 2013, 310(9): 948–59.
- [3] Hu F B. Globalization of diabetes: the role of diet, lifestyle, and genes [J]. *Diabetes Care*, 2011, 34(6): 1249–57.
- [4] Adeyemo A A, Tekola-Ayele F, Doumatey A P, et al. Evaluation of genome wide association study associated type 2 diabetes susceptibility loci in sub saharan africans [J]. *Front Genet*, 2015, 6: 335.
- [5] Wei F J, Cai C Y, Yu P, et al. Quantitative candidate gene association studies of metabolic traits in Han Chinese type 2 diabetes patients [J]. *Genet Mol Res*, 2015, 14(4): 15471–81.
- [6] Jespersen T, Grunnet M, Olesen S P. The KCNQ1 potassium channel: from gene to physiological function [J]. *Physiology*, 2005, 20(5): 408–16.
- [7] Ullrich S, Su J, Ranta F, et al. Effects of I(Ks) channel inhibitors in insulin-secreting INS-1 cells [J]. *Pflugers Arch*, 2005, 451(3): 428–36.
- [8] Yamagata K, Senokuchi T, Lu M, et al. Voltage-gated K⁺ channel KCNQ1 regulates insulin secretion in MIN6 beta-cell line [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 407(3): 620–5.
- [9] Hu C, Wang C, Zhang R, et al. Variations in KCNQ1 are associated with type 2 diabetes and beta cell function in a Chinese opulation [J]. *Diabetologia*, 2009, 52(7): 1322–5.
- [10] Tsai F J, Yang C F, Chen C C, et al. A genome-wide association study idetifies susceptibility variants for type 2 diabetes in Han Chinese [J]. *PLoS Genet*, 2010, 6(2): e1000847.
- [11] 陈 琰, 刘桂峰, 吴 玫, 等. 2 型糖尿病易感基因单核苷酸多态性分析技术的研究进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2013, 33(24): 6346–7.
- [12] Jiang Y, Ruta V, Chen J, et al. The principle of gating charge movement in a voltage dependent K⁺ channel [J]. *Nature*, 2003, 423(6935): 42–8.
- [13] Warth R, Garcia Alzamora M, Kim J K, et al. The role of KCNQ1 / KCNE1 K⁺ channels in intestine and pancreas: lessons from the KCNE1 knockout mouse [J]. *Pflugers Arch*, 2002, 443(5-6): 822–8.
- [14] Turki A, Mtraoui N, Al-Busaidi A S, et al. Lack of association between genetic polymorphisms within KCNQ1 locus and type 2 diabetes in Tunisian Arabs [J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2012, 98(4): 452–8.
- [15] Cui L J, Chang X Y, Zhu L Y, et al. Relationship between the polymorphisms in KCNQ1 and type 2 diabetes in Chinese Kazakh population [J]. *Genet Mol Res*, 2016, 15(8): 46–9.

Association between transcription KCNQ1 rs2237892 polymorphism and development of type 2 diabetes in Hefei

Chen Jianfeng, Pan Tianrong

(Dept of Endocrinology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To explore the relationship of KCNQ1 rs2237892 polymorphism with type 2 diabetes mellitus (T2DM) in Hefei. **Methods** A total of 104 healthy individual(control group) and 84 patients with T2DM(T2DM group) were enrolled. The rs2237892 polymorphism KCNQ1 gene was detected by PCR-RFLP. The genotype, allele frequency, related clinical and biochemical data were compared between the two groups. **Results** There were no significant differences in alleles or genotype frequencies of KCNQ1 rs2237892 gene among control group and T2DM group. The result of Logistic regression analysis showed that the risk of T2DM in the subjects with CT genotype of rs2237892 was 1.44 times of those with CC genotype(*OR* = 1.44, 95% *CI*: 1.06 ~ 1.95, *P* = 0.02). **Conclusion** KCNQ1 rs2237892 gene may be the susceptibility gene of T2DM in Hefei.

Key words type 2 diabetes mellitus; KCNQ1 rs2237892; polymorphism