

## 2型糖尿病患者 PPAR $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性的频率分布特点

郝利霞 毕力夫 苏秀兰

**【摘要】** 目的 探讨内蒙古地区汉族 2 型糖尿病患者过氧化物酶增殖激活受体  $\gamma$ 2 (PPAR $\gamma$ 2) 基因 Pro12Ala 单核苷酸多态性的频率分布特点。方法 选取 2007 年 4 月至 2009 年 5 月期间来我院就诊的糖尿病患者(依据 WHO 标准) 97 例, 正常对照组 55 例。应用 Real-Time PCR Taq Man 探针法检测 PPAR $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 基因型和等位基因。结果 PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala 基因型及等位基因的分布频率分布符合 H-W 遗传平衡 ( $\chi^2=0.021$ ,  $P=0.885$ )。正常组和糖尿病组的基因型均以野生型纯合子 PP (Pro/Pro 型) 为主。纯合子 PP、杂合子 PA (Pro/Ala) 基因型在糖尿病组中分别为 84.5%、15.5%, 在正常组中为 89.1%、10.9%。PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala 基因型及等位基因的分布频率在糖尿病组和正常组之间差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。调整年龄、性别、BMI 后, 应用 Logistic 回归分析得出 PP 基因型与 2 型糖尿病的相关性,  $P=0.734$ ,  $OR=1.237$ , 95%  $CI$ : 0.363~4.213。结论 PPAR $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 单核苷酸多态性与糖尿病发病不具有相关性。

**【关键词】** 糖尿病, 2 型; PPAR $\gamma$ ; 多态性, 单核苷酸; 聚合酶链反应

**The frequency of the Pro12Ala single nucleotide polymorphism in peroxidase proliferation of activated receptor- $\gamma$ 2 gene with type 2 diabetes mellitus** HAO Li-xia, BI Li-fu, SU Xiu-lan. The Rehabilitation Department of the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010050, China  
Corresponding author: SU Xiu-lan, Email: xlsu@hotmail.com

**【Abstract】** **Objective** To evaluate the frequency of Pro12Ala single nucleotide polymorphism in peroxidase proliferation of activated receptor- $\gamma$ 2 gene on type 2 diabetes mellitus in Inner Mongolia Han ethnic group. **Methods** Selected 152 cases of subjects according to WHO criteria for diagnosis of mellitus and according to BMI in type 2 diabetes mellitus ( $n=97$ ) and 55 cases as the control. These subjects were evaluated for the Pro12Ala single nucleotide polymorphism in the PPAR $\gamma$ 2 using Taqman probe in real-time Q-PCR. **Results** The distribution of genotype and allele frequency of PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala in accordance with H-W genetic equilibrium ( $\chi^2=0.021$ ,  $P=0.885$ ). There were given priority to with PP genotype between diabetes group and control. The frequency of PP and PA genotype in diabetes group were 84.5%, 15.5%, respectively, and in control were 89.1%, 10.9%, respectively. There was no statistically significant difference of Pro12Ala genotype and allele frequency distribution between diabetes group and control. The correlation between PP genotype and Type II diabetes by logistic regression analysis after adjustment for age, sex, BMI ( $P=0.734$ ,  $OR=1.237$ , 95%  $CI$ : 0.363-4.213). **Conclusion** The Pro12Ala single nucleotide polymorphism of PPAR $\gamma$ 2 was not associated with diabetes.

**【Key words】** Diabetes mellitus, type 2; PPAR gamma; Polymorphism, single nucleotide; Polymerase chain reaction

2 型糖尿病在全球范围内已成为重要的健康问题, 是一个复杂多因素的疾病。由于目前饮食习惯的改变以及环境和遗传因素的影响, 其发病率在逐年增长, 而且趋于年轻化<sup>[1]</sup>。过氧化物酶增殖激活受体 $\gamma$ 2 (peroxisome proliferator-activated receptor PPAR

gamma2, PPAR $\gamma$ 2) 是属于核激素受体超家族的新成员。其在脂肪组织特异表达, 并参与糖、脂肪、蛋白质的代谢<sup>[2-3]</sup>。研究表明, PPAR $\gamma$ 2 基因突变与 2 型糖尿病的发生相关联<sup>[4-5]</sup>。但国内对 PPAR $\gamma$ 2 的 Pro12Ala 与 2 型糖尿病的关系也做了大量的研究, 获得不一致的结论。尤其在地区、不同民族之间的 P12A 突变也存在差异。而关于 PPAR $\gamma$ 2 的 Pro12Ala 在内蒙古地区汉族 2 型糖尿病发病的关系未见报道。因此, 本研究将开展对内蒙古地区汉族 2 型糖尿病发病与 PPAR $\gamma$ 2

的Pro12Ala多态性频率分布关系研究。

### 对象与方法

#### 一、对象

选取2007年4月至2009年5月期间内蒙古医科大学附属医院住院汉族患者及体检汉族患者共计152例。男78例,年龄50~67岁,平均年龄(53.42±12.56)岁;女74例,年龄51~65岁,平均年龄(52.14±13.72)岁。

1. 入选标准:糖尿病患者纳入标准:根据1999年WHO诊断标准,空腹血糖(FPG)高于7.8 mmol/L,或随机血糖高于11.1 mmol/L。此组患者97例,男50例,女47例,平均年龄(55.60±12.81)岁。对照组纳入标准:空腹血糖低于6.1 mmol/L,或随机血糖低于7.8 mmol/L。此组研究对象55例,男28例、女27例,平均年龄(53.45±10.69)岁。

2. 排除标准:肝脏疾病、肾病综合征、糖尿病肾功能衰竭、甲状腺疾病等其他代谢紊乱的疾病;脑卒中、脑出血等脑血管疾病及各种血液病、恶性肿瘤、系统性红斑狼疮、器官移植病史等。

#### 二、方法

1. 临床资料及标本的采集:记录所有研究对象的姓名、年龄、性别、身高及体重,计算体质指数(BMI)、血压(SBP、DBP)、空腹血糖(FPG)以及空腹血清中总胆固醇(TC),甘油三酯(TG),高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C),低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C),糖基化血红蛋白(GHbA1c),空腹胰岛素(FIN),糖耐量试验(OGTT)的餐后2h血糖(2h PG)。抽取3 ml EDTA或枸橼酸钠的抗凝血。3000 r/min,离心5 min,置于-20℃冰箱中备用。

2. 基因组DNA的提取:基因组DNA的提取使用Promaga公司DNA全血提取试剂盒提取。以双蒸水为对照测定基因组DNA的OD260/280,当OD260/280>1.70, DNA纯度符合实验要求。基因组DNA进行浓度为1.5%琼脂糖凝胶电泳。

3. PPAR $\gamma$ 2的Pro12Ala多态性分析:(1) SNP位点选取:NCBI的SNP数据库中搜索PPAR $\gamma$ 2的Pro12Ala位点的SNP号为:rs1801282(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=snp>),订购ABI的SNP试剂及PCR master mix。(2)

PCR反应:PCR扩增体系如下:Taqman PCR master mix:12.5  $\mu$ l;SNP试剂(Primer and probe mix):1.25  $\mu$ l;模板DNA:5  $\mu$ l;双蒸水:6.25  $\mu$ l。总体积:25  $\mu$ l。PCR扩增条件:95℃,10 min;92℃,15 s,60℃,60 s,40个循环。此步反应将在ABI公司7300 real-time PCR扩增仪完成。(3)基因型鉴定:PCR产物采用ABI 7300 Real-Time PCR仪进行等位基因分析。PCR产物直接上机读取荧光信号,条件为60℃,30 s。应用自动分析系统判定结果。

#### 三、统计学处理

采用统计学软件SPSS 13.0对实验数据进行处理。计量资料采用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。采用卡方检验对基因型及等位基因的频率分布进行分析;其余生化指标间比较采用t检验;基因型与疾病的相关性用Logistic回归分析。检验水准 $\alpha=0.05$ ,若 $P<0.05$ ,认为差异有统计学意义。

### 结果

#### 一、一般资料

两组间一般临床资料及生化指标结果表明,收缩压、舒张压、低密度脂蛋白和空腹血糖差异有统计学意义( $P<0.05$ )。而其他指标差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表1。

#### 二、基因型及等位基因频率分布

结果显示PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala基因型及等位基因的分布频率分布符合H-W遗传平衡( $\chi^2=0.021$ , $P=0.885$ ),具有群体代表性。A等位基因频率在所有受检对象中为7.8%,正常组和糖尿病组的基因型均以野生型纯合子PP(Pro/Pro型)为主。纯合子PP、杂合子PA(Pro/Ala型)基因型在糖尿病组中分别为84.5%、15.5%,在正常组中为89.1%、10.9%。A等位基因在糖尿病组和正常组中分别为7.7%、5.5%;P等位基因的频率在糖尿病组和正常组中分别为92.3%、94.5%。PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala基因型及等位基因的分布频率在糖尿病组和正常组之间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表2。

#### 三、各组基因型间的临床生化指标的比较

与对照组患者的各项临床生化指标比较,2型糖尿病组患者的收缩压、舒张压、空腹血糖、低密度脂蛋

表1 对照组和糖尿病组一般资料和生化指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	平均年龄(岁)	体质指数(kg/m <sup>2</sup> )	收缩压(mm Hg)	舒张压(mm Hg)	甘油三酯(mmol/L)	总胆固醇(mmol/L)	低密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	高密度脂蛋白胆固醇(mmol/L)	空腹血糖(mmol/L)
糖尿病组	97	55.6±12.8	24.6±3.3	133.1±16.7	82.8±11.0	3.2±8.3	5.1±2.9	2.9±1.2	1.4±0.5	10.1±3.4
对照组	55	53.5±10.7	23.9±4.2	119.5±19.7	77.1±14.3	1.8±1.5	4.5±0.9	2.5±0.5	1.4±0.4	4.9±0.8
P值		0.295	0.287	0.000	0.007	0.225	0.134	0.003 <sup>a</sup>	0.706	0.000

表2 PPAR $\gamma$ 2 Pro12Ala 基因型及等位基因的分布频率

组别	例数	基因型频率[例, (%)]		等位基因型频率[频数, (%)]	
		Pro/Pro	(Pro/Ala)/(Ala/Ala)	Pro	Ala
糖尿病	97	82	15	179	15
对照组	55	49	6	104	6
<i>P</i> 值		0.434		0.658	

表3 各组基因型之间临床生化指标的关系 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	基因型	体重指数 (kg/m <sup>2</sup> )	收缩压 (mm Hg)	舒张压 (mm Hg)	空腹血糖 (mmol/L)	糖化血红蛋白 (%)	餐后 2 h 血糖 (mmol/L)	总胆固醇 (mmol/L)	甘油三酯 (mmol/L)	高密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L)	低密度脂蛋白胆固醇 (mmol/L)	空腹胰岛素 (mIU/L)
糖尿病组	Pro/Pro	26.9±21.4	131.2±17.1	82.7±11.7	10.2±3.5	10.2±2.8	19.4±5.4	5.2±3.3	2.3±1.5	1.4±0.6	2.8±1.2	7.8±9.7
	Pro/Ala	25.3±2.7	135 ±15.2	82.6±6.8	9.4±2.7	9.2±1.5	18.9±4.9	5.0±1.1	2.5±2.4	1.4±0.3	2.8±1.1	5.4±6.6
对照组	Pro/Pro	24.1±4.2	117.4±19.6	75.6±14.8	4.8±0.9	—	—	4.4±0.9	1.9±0.7	1.4±0.4	2.4±0.4	—
	Pro/Ala	24.3±3.1	131 ±21.2	78±8.3	5.1±1.1	—	—	5.2±0.8	3.6±3.4	1.6±0.3	2.8±0.2	—

白显著升高 ( $P < 0.05$ )。2型糖尿病患者携带 A 等位基因者空腹血糖、糖化血红蛋白、餐后 2 h 血糖比携带 Pro 基因者低, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。与携带 Pro 基因者相比较, 携带 Ala 基因者的总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白总体水平增高, 但是两者间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。其余临床生化指标间的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

调整年龄、性别、BMI 后, 应用 Logistic 回归分析得出 PP 基因型与 2 型糖尿病的相关性,  $P = 0.734$ ,  $OR = 1.237$ , 95%  $CI$ : 0.363~4.213。

### 讨 论

PPAR $\gamma$ 2 基因定位于人类染色体 3p25, 是配体依赖性的转录因子, 含有 9 个外显子, 结构覆盖 100 bp, 在人类能量合成、脂肪代谢、血压调节、动脉粥样硬化等方面发挥重要调节作用。目前研究表明, 人类 PPAR $\gamma$ 2 基因多态性主要表现为外显子 B 的 34 位点的 CCA-GCA 多态性, C 被 G 替换造成蛋白质 12 位点丙氨酸 (Ala) 替换脯氨酸 (Pro)。结果导致其结合靶基因能力下降, 转录活性降低<sup>[6]</sup>。Toshimasa 等<sup>[7]</sup>报道 PPAR $\gamma$ 2 外显子 B 的基因突变会改变此受体对糖、脂质代谢的影响。

但国内外关于 PPAR $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性与 2 型糖尿病研究结论不尽相同。有研究表明 PPAR $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性与 2 型糖尿病<sup>[8]</sup>、胰岛素敏感性<sup>[9]</sup>、肥胖<sup>[10]</sup>、肿瘤<sup>[11]</sup>、心血管疾病<sup>[12]</sup>、Alzheimer 疾病<sup>[13]</sup>相关。而王津京等<sup>[14]</sup>研究表明 PPAR $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性与单纯 2 型糖尿病无显著相关性。我们的研究结果显示, 与正常人群相比, 2 型糖尿病患者 PPAR $\gamma$ 2 的 Pro12Ala 基因突变率间的差异无统计学意义, 所以我们得出 PPAR $\gamma$ 2 的 Pro12Ala 基因多态性不是 2 型糖尿病的主要致病因素。这与王津京、Malecki 等<sup>[15]</sup>研究

结果相一致。可能的原因我们的研究样本量相对较少, 有待于进一步扩大样本量深入研究。

此外, 研究中还发现 A 等位基因在内蒙古地区汉族糖尿病组的突变率 (7.7%) 较正常组 A 等位基因的突变率 (5.5%) 高, 这与北京地区和宁夏地区突变率相近。糖尿病组 A 等位基因携带者的空腹血糖、餐后 2 h 血糖、糖化血红蛋白总体偏低, 这与 Tavares 等<sup>[16]</sup>的研究一致。究其原因, 可能与 A 等位基因的突变能够改善胰岛素抵抗, 增加胰岛素清除糖代谢产物的能力; 抑制肝糖原分解; 降低自由脂肪酸的浓度, 减弱糖异生能力有关。

研究中血压与基因分型间的结果显示, 与正常组 PP 基因型的患者相比, 糖尿病组 PP 基因型患者的收缩压增高且差异有统计学意义, 而舒张压间的差异与收缩压情况类似。这与 Yliharsilä 等<sup>[17]</sup>结论相一致, 即 PPAR $\gamma$ 2 可干扰肾素-血管紧张素系统, 这种作用依赖于胰岛素抵抗的减轻。胰岛素调节血管紧张素 II 受体 I 型基因表达导致血管紧张素诱导的信号加强, 加强血管收缩效应。由此得出, 糖尿病组患者较正常对照组更易合并有高血压病。而这与张爱萍等<sup>[18]</sup>的报道不同, 原因可能是分组不同所致。有关 PPAR $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性与糖尿病合并高血压的关系, 有待于进一步的研究。

### 参 考 文 献

- [1] Mandrup-Poulsen T. Type II diabetes mellitus: a metabolic autoinflammatory disease. *Dermatol Clin*, 2013, 31: 495-506.
- [2] Pei Q, Huang Q, Yang GP, et al. PPAR- $\gamma$ 2 and PTPRD gene polymorphisms influence type 2 diabetes patients' response to pioglitazone in China. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34: 255-261.
- [3] Lavrenko AV, Shlykova OA, Kutsenko LA, et al. Pharmacogenetic features of the effect of metformin in patients with coronary heart disease in the presence of metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus in terms of PPAR-gamma2 gene polymorphism. *Ter Arkh*, 2012, 84: 35-40.
- [4] Motavallian A, Andalib S, Vaseghi G, et al. Association between

- PRO12ALA polymorphism of the PPAR- $\gamma$ 2 gene and type 2 diabetes mellitus in Iranian patients. *Indian J Hum Genet*, 2013, 19: 239-244.
- [5] Wang X, Liu J, Ouyang Y, et al. The Association between the Pro12Ala Variant in the PPAR $\gamma$ 2 Gene and Type 2 Diabetes Mellitus and Obesity in a Chinese Population. *PLoS One*, 2013, 8: e71985.
- [6] Heikkinen S, Auwerx J, Argmann CA. PPAR $\gamma$  in human and mouse physiology. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1771: 999-1013.
- [7] Toshimasa Y, Junji K, Hironori W, et al. The mechanisms by which both heterozygous peroxisome proliferator-activated receptor gamma deficiency and PPAR agonist improve insulin resistance. *J Biol Chem*, 2001, 276: 41245-41254.
- [8] Chan KH, Niu T, Ma Y, et al. Common genetic variants in peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  (PPARG) and type 2 diabetes risk among Women's Health Initiative postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013, 98: E600-604.
- [9] Kang J, Lee J, Kwon D, et al. Effect of *Opuntia humifusa* Supplementation and Acute Exercise on Insulin Sensitivity and Associations with PPAR- $\gamma$  and PGC-1 $\alpha$  Protein Expression in Skeletal Muscle of Rats. *Int J Mol Sci*, 2013, 14: 7140-7154.
- [10] Kaippert VC, Uehara SK, D'Andrea CL, et al. Influence of the body mass and visceral adiposity on glucose metabolism in obese women with Pro12Pro genotype in PPAR $\gamma$ 2 gene. *Nutr Hosp*, 2013, 28: 694-700.
- [11] Dicitore A, Caraglia M, Colao A, et al. Combined treatment with PPAR- $\gamma$  agonists in pancreatic cancer: a glimmer of hope for cancertherapy. *Curr Cancer Drug Targets*, 2013, 13: 460-471.
- [12] Wu Z, Lou Y, Jin W, et al. The Pro12Ala polymorphism in the peroxisome proliferator-activated receptor gamma-2 gene (PPAR $\gamma$ 2) is associated with increased risk of coronary artery disease: a meta-analysis. *PLoS One*, 2012, 7: e53105.
- [13] Zhao Y, Calon F, Julien C, et al. Docosahexaenoic acid-derived neuroprotectin D1 induces neuronal survival via secretase- and PPAR $\gamma$ -mediated mechanisms in Alzheimer's disease models. *PLoS One*, 2011, 6: e15816.
- [14] 王津京, 魏枫, 霍晓静. 包头地区过氧化物酶体增殖体受体 $\gamma$ 2基因多态性与II型糖尿病并发冠心病的相关性研究. *临床心血管病杂志*, 2006, 22: 513-515.
- [15] Malecki MT, Frey J, Klupa T, et al. The Pro12Ala polymorphism of PPAR $\gamma$ 2 gene and susceptibility to type 2 diabetes mellitus in a Polish population. *Diabetes Res Clin Pract*, 2003, 62: 105-111.
- [16] Tavares V, Hirata RDC, Rodrigues AC, et al. Association between Pro12Ala polymorphism of the PPAR- $\gamma$ 2 gene and insulin sensitivity in Brazilian patients with type-2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2005, 7: 605-611.
- [17] Ylihärtilä H, Eriksson JG, Forsén T, et al. Interactions between peroxisome proliferator-activated receptor-gamma 2 gene polymorphisms and size at birth on blood pressure and the use of antihypertensive medication. *J Hypertens*, 2004, 22: 1283-1287.
- [18] 张爱萍, 张木勋, 张建华, 等. 过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 2基因 Pro-12Ala 多态性与代谢综合征的相关性研究. *临床内科杂志*, 2005, 22: 694-696.

(收稿日期: 2013-09-18)  
(本文编辑: 戚红丹)

郝利霞, 毕力夫, 苏秀兰. 2型糖尿病患者 PPAR $\gamma$ 2 基因 Pro12Ala 多态性的频率分布特点 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2013, 7(21): 9436-9439.

中华医学会