

2型糖尿病患者 ABCA1 R219K 基因多态性分布及其与血脂水平的相关性研究

洪雄新, 李观强, 杨辉, 李小峰, 万彦彬, 郭中秋, 杨素珍

(深圳市龙岗区人民医院, 广东深圳 518172)

摘要:目的 研究三磷酸腺苷结合盒转运子 A1(ABCA1) R219K 基因多态性在 2 型糖尿病(T2DM)患者中的分布情况, 探讨其与 2 型糖尿病患者血脂的关系。方法 选取 2015 年 12 月~2017 年 4 月期间深圳市龙岗区人民医院收治的 85 例 T2DM 患者和 90 例健康体检对照组纳入研究, 对两组研究对象进行血液标本采集, 采用聚合酶链反应(PCR)-限制性片段长度多态性(RFLP)检测 ABCA1 R219K 等位基因和基因型频率情况, 对比两组患者血脂水平以及研究组不同基因型患者血脂水平情况, 进一步探讨 T2DM 患者 ABCA1 R219K 基因多态性及其与血脂水平的关系。结果 两组研究对象 TC, TG, HDL-C 和 LDL-C 水平对比差异均无统计学意义($t=0.191, 0.853, 0.755$ 和 0.597 , 均 $P>0.05$)。两组研究对象 ABCA1 R219K 等位基因和基因型频率对比差异均无统计学意义($t=0.860, 2.393$, 均 $P>0.05$)。ABCA1 R219K 等位基因三种基因型之间 TC, TG 和 LDL-C 水平差异无统计学意义($F=0.02, 0.14, 2.00$ 和 $0.06, P>0.05$); KK 基因型 HDL-C 水平明显高于 RR 和 RK 基因型, 差异有统计学意义($t=2.543$ 和 $2.630, P<0.05$); RR 和 RK 基因型之间 HDL-C 水平差异无统计学意义($t=0.238, P>0.05$)。结论 ABCA1 R219K 基因多态性并不是 T2DM 发病的遗传学标志, 但其变异参与了 T2DM 患者脂代谢异常的调节。

关键词: 2 型糖尿病; 三磷酸腺苷结合盒转运子 A1; R219K; 基因多态性; 血脂

中图分类号: R587.1; Q503 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2020)04-014-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.04.004

Study on Distribution of ABCA1 R219K Gene Polymorphism and Its Correlation with Blood Lipid Levels for Type 2 Diabetes Mellitus Patients

HONG Xiong-xin, LI Guan-qiang, YANG Hui, LI Xiao-feng, WAN Yan-bin, GUO Zhong-qiu, YANG Su-zhen

(Longgang District People's Hospital of Shenzhen, Guangdong Shenzhen 518172, China)

Abstract: Objective To study ATP-binding cassette transporter 1 (ABCA1) R219K gene polymorphism distribution and its correlation with blood lipid levels for type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients. **Methods** 85 T2DM patients and 90 healthy physical examination control group were analyzed in the Longgang District People's Hospital of Shenzhen from December 2015 to April 2017. Blood samples were collected from both groups, and ABCA1 R219K allele and genotype frequencies were detected by polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism (RFLP), and investigated the relationship between ABCA1 R219K and serum lipid levels in patients with T2DM by comparing the serum lipid levels of the two groups and the patients with different genotypes in the study group. **Results** TC (total cholesterol), TG (triglyceride), HDL-C (high density lipid-cholesterol) and LDL-C (low density lipid-cholesterol) levels between groups showed no statistically significant difference ($t=0.191, 0.853, 0.755$ and 0.597 , all $P>0.05$). ABCA1 R219K alleles and genotype frequency between groups showed no statistically significant difference ($t=0.860, 2.393$, all $P>0.05$). TC, TG and LDL-C levels among patients with three ABCA1 R219K allele genotypes showed no statistically significant difference ($F=0.02, 0.14, 2.00$ and 0.06 , all $P>0.05$). HDL-C levels in KK genotype patients were significantly higher than RR and RK genotype patients ($t=2.543$ and $2.630, P<0.05$). HDL-C levels between RR patients and RK patients showed no statistically significant difference ($t=0.238, P>0.05$). **Conclusion** ABCA1 R219K gene polymorphism can't be considered as the genetic marker of T2DM, but its gene variations are involved with patient's abnormal lipid metabolism.

Keywords: type 2 diabetes mellitus; ABCA1; R219K; gene polymorphism; blood lipid

糖尿病是我国中老年人群常见的慢性病之一, 主要是由于糖代谢异常引起的疾病, 表现为血糖长时间持续处于较高水平, 影响机体各器官功能, 对血管造成严重危害, 容易引发心脑血管疾病^[1]。随着对基因遗传的深入研究, 人们发现三磷酸腺苷结合盒转运子 A1(ATP-binding cassette

transporter 1, ABCA1) 是高密度脂蛋白 (high-density lipoprotein, HDL) 介导胆固醇逆转的第一步^[2]。目前发现 ABCA1 基因多态性与冠心病、脂代谢异常等有密切关系, 而 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 患者也与血脂异常有密切关系, 因此部分学者认为 ABCA1 基因多态性是否对 T2DM 的发生和发展有关^[3-4]。由于 R219K 是 ABCA1 基因常见的单核苷酸多态性变异, 因此本文收集深圳市龙岗区人民医院 90 例 T2DM 患者标本进行研究, 采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 方法检测 ABCA1 R219K 基因多态性, 旨在探讨 T2DM 患者和正常人群的 ABCA1 R219K 基因多态性情况, 以及 ABCA1 R219K 基因多态性与 T2DM 患者及其血脂的关系, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选择 2015 年 12 月~2017 年 4 月期间深圳市龙岗区人民医院收治的 85 例 2 型糖尿病患者作为研究组, 另选取同期在深圳市龙岗区人民医院体检中心进行体检的 90 例健康志愿者作为对照组。研究组中男性 48 例, 女性 37 例, 年龄 42~76 岁, 平均年龄 54.2 ± 4.5 岁。体质指数 (body mass index, BMI) $18.2 \sim 25.9 \text{ kg/m}^2$, 平均 BMI $22.5 \pm 1.8 \text{ kg/m}^2$ 。对照组中男性 51 例, 女性 39 例, 年龄 40~79 岁, 平均年龄 53.8 ± 4.8 岁。体质指数 (BMI) $18.5 \sim 25.6 \text{ kg/m}^2$, 平均 BMI $22.3 \pm 1.6 \text{ kg/m}^2$ 。两组研究对象上述资料 (性别、年龄以及 BMI) 均无差异 ($P > 0.05$)。本研究经我院医学伦理委员会批准通过。

纳入标准: ①同意进行本研究并签字的患者; ②经检查符合 2 型糖尿病诊断标准^[5]的患者; ③年龄在 40 ~ 80 岁之间的患者。

排除标准: ①高血压、冠心病、脑梗死等患者; ②血液疾病、恶性肿瘤、严重感染等其他疾病影响研究者; ③同时参与其他研究的患者。

1.2 仪器与试剂 美国应用生物系统公司生产的 PCR 7500 仪; 济南鑫贝西生物技术有限公司生产的超净工作台; 美国 Sigma 公司生产的低温冷冻离心机; 北京六一仪器厂生产的 DYY-6B 型稳压稳流电泳仪; 法国 VL 公司生产的 Uvitec 全自动凝胶成像系统; 上海科技仪器厂生产的电热恒温水浴器。上海生物工程技术服务有限公司合成的引物序列以及 PCR 反应试剂 (包括 PCR 缓冲液、dNTP Mixtur 以及 Tag 酶); 美国 BBI 生物工程公司生产的琼脂糖凝胶。

1.3 方法

1.3.1 基因测定: 取患者肘静脉血 5ml, 使用低渗

溶血、三氯甲烷法抽取外周白细胞基因组脱氧核糖核酸 (deoxyribonucleic acid, DNA), 多聚酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) - 限制性片段长度多态性测定 ABCA1 R219K 基因多态性。严格按照 PCR 扩增和酶切步骤, 对照试剂说明书进行参数设置, 预变性 94°C 4min。反应循环: 94°C 50s, 退火 58°C 50s, 延伸 72°C 1min, 共循环 32 次。循环结束后 72°C 延伸 10min。反应结束后琼脂糖电泳鉴定后置于 4°C 中保存等待酶切。上游引物: 5'-GTATTTTGGCAAGGCTACCAGTTACATTTGACAA-3'; 下游引物: 5'-GATTGGCTTCAGGATGTCCATGTTGGAA-3'。0.2ml Eppendorf 管内配置 $20 \mu\text{l}$ 反应体系, 包括 $10 \mu\text{l}$ PCR 产物, $2 \mu\text{l}$ $10 \times$ Buffer R, 3U 内切酶 Econ I, 加入灭菌 dd-H₂O 至 $20 \mu\text{l}$, 振荡摇匀。

1.3.2 血脂检测: 采集研究组患者清晨空腹静脉血 3ml, 利用自动生化分析仪对患者进行血脂检测。

1.3.3 观察指标: 对比两组研究对象血脂水平, 血脂指标包括总胆固醇 (total cholesterol, TC)、三酰甘油 (triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipid-cholesterol, HDL-C) 以及低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipid-cholesterol, LDL-C) 水平。观察两组研究对象 ABCA1 R219K 等位基因和基因型频率情况, 观察研究组患者不同基因型间血脂水平情况, 分析 T2DM 患者 ABCA1 R219K 基因多态性与血脂的关系。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 18.0 统计软件, 计量资料用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验, 计数资料用百分比表示, 采用 χ^2 检验, 多组间对比采用方差分析, F 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组研究对象血脂水平比较 见表 1。通过对研究组和对照组的血脂水平进行比较, 分析得出两组研究对象 TC, TG, HDL-C 以及 LDL-C 水平比较差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

表 1 两组研究对象血脂水平对比 (mmol/L)

项目	对照组 (n=90)	研究组 (n=85)	t	P
TC	4.69 ± 1.06	4.72 ± 1.01	0.191	0.848
TG	1.58 ± 0.45	1.64 ± 0.48	0.853	0.395
HDL-C	1.35 ± 0.36	1.31 ± 0.34	0.755	0.451
LDL-C	2.82 ± 0.74	2.89 ± 0.81	0.597	0.551

2.2 两组研究对象 ABCA1 R219K 等位基因和基因型频率比较 见表 2。通过对研究组和对照组进行比较, 分析得出两组研究对象 ABCA1 R219K 等位基因和基因型频率对比差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表2 两组研究对象 ABCA1 R219K 等位基因和
基因型频率对比 [n (%)]

基因类别	对照组 (n=90)	研究组 (n=85)	χ^2	P
等位基因				
R	105 (58.33)	110 (64.71)	1.499	0.221
K	75 (41.67)	60 (35.29)		
基因型				
RR	32 (35.56)	34 (40.00)	2.393	0.30
RK	41 (45.56)	42 (49.41)		
KK	17 (18.89)	9 (10.59)		

表3 研究组不同基因型血脂水平情况对比 (mmol/L)

血脂指标	RR (n=34)	RK (n=42)	KK (n=9)	F	P
TC	4.86 ± 0.85	4.89 ± 0.88	4.92 ± 0.89	0.02	0.979
TG	1.92 ± 0.43	1.87 ± 0.41	1.91 ± 0.44	0.14	0.870
HDL-C	1.26 ± 0.38	1.28 ± 0.35	1.63 ± 0.42 [#]	2.82	0.056
LDL-C	2.98 ± 0.69	2.96 ± 0.62	3.04 ± 0.68	0.06	0.946

注:与RR基因型对比, * $P < 0.05$; 与RK基因型对比, [#] $P < 0.05$ 。

3 讨论

ABCA1 基因是由 2 261 个氨基酸组成的膜蛋白, 人类 ABCA1 基因位于染色体 9q31 区, 长度为 149kb, 包括 50 个外显子和 49 个内含子。其中第 7 号外显子第 1 051 位核苷酸 G 变成 A, 使 219 位精氨酸 (R) 变成赖氨酸 (K), 其与冠心病、血脂异常等疾病的联系成为近年来临床上研究的热点内容^[6-7]。目前研究发现, ABCA1 作为胆固醇转运体, 会影响胆固醇代谢及高密度脂蛋白的代谢过程^[8]。YAO 等^[9] 人研究发现, 细胞内胆固醇水平会影响 β 细胞功能, 在 ABCA1 缺乏后, 胰岛内胆固醇明显增加, 胰岛素分泌受损, 这表明胆固醇的流出会导致 β 细胞功能损伤。有学者将小鼠胰岛 β 细胞敲除, 结果发现小鼠葡萄糖耐量明显降低, 胰岛素分泌显著减少, 胰岛胆固醇水平明显升高^[10]。提示胰岛中胆固醇分泌增多可能会抑制胰岛 β 细胞功能, 减少胰岛素分泌量。通过上述研究, 部分学者认为 T2DM 的发生和发展可能与 ABCA1 R219K 基因的多态性有相关性。这是由于 T2DM 患者常常发生 HDL-C 水平降低, LDL-C 水平升高^[11]。近些年这种双重血脂代谢异常的 T2DM 患者数量逐渐增加, 因此对 ABCA1 R219K 基因多态性的研究成为当今医学研究的重点内容之一。

本文对深圳市龙岗区人民医院 T2DM 患者和健康体检者进行研究, 结果显示, 研究组和对照组在血脂方面并无明显差异。而在观察两组患者 ABCA1 R219K 基因型时, 发现两组患者 ABCA1 R219K 等位基因频率和基因型并无差异, 这一结果表明 ABCA1 R219K 基因多态性并不是引起 T2DM 的遗传学因素, 可见 ABCA1 R219K 基因多态性与糖尿

病的发生发展并无关联。但在近年来的研究中, 有学者研究发现 ABCA1 R219K 基因中 RK 型携带者和 KK 型的 TG 水平明显低于 RR 型患者^[12]。还有学者对脑卒中患者进行研究, KK 型携带者的 HDL-C 水平高于 RR 型携带者, 但差异并无统计学意义。尽管目前临床上对血脂异常与脑卒中的关系仍然存在较大争议, 但脂代谢紊乱依然被认为是脑卒中的危险因素。

目前国外有不少针对 ABCA1 R219K 基因多态性与血脂关系的研究, 但各学者的研究结果存在较大差异, 结论也有明显分歧, 这可能是由于研究样本的种族、生活习惯等因素有关。虽然 ABCA1 R219K 基因多态性与血脂的关系尚未完全明确, 但 K 等位基因携带者 TG 水平降低和 HDL-C 水平升高是目前较为公认的结果。本文对 T2DM 患者等位基因型之间进行研究, 结果显示, KK 基因型携带者 HDL-C 水平明显高于 RR 型和 RK 型携带者, 提示 ABCA1 R219K 基因 KK 型可能参与了血脂异常的调节, 也可能通过这一调节影响患者大血管病的发生和发展^[13]。虽然目前 ABCA1 R219K 基因变异引起血脂变化的机制尚未完全明确, 但多数学者认为可能与 ABCA1 活性的提高有密切关系^[14]。还有学者研究发现, 利用转基因大鼠过度表达 ABCA1 基因, 大鼠胆固醇外流明显增强, 胆固醇酯、磷脂、HDL-C 水平等明显升高, 导致富含 ApoE 的 HDL 集聚, 是引起 HDL-C 升高的原因^[15]。

本次研究仍有不足之处, 纳入的样本量较少, 结果可能存在偶然性, 而且部分研究对象的血脂水平数据并不能完全排除饮食干扰, 还有本次研究的患者多为深圳及其周边地区的患者, 具有一定的区

域局限性。

综上所述,本次研究结果提示 ABCA1 R219K 基因多态性并不是 T2DM 发病的遗传学标志,但其变异参与了 T2DM 患者脂代谢异常的调节。

参考文献:

- [1] 张晓雪,吴晨光. ABCA1 基因多态性与 2 型糖尿病及口服降糖药物疗效的研究进展 [J]. 医学研究杂志, 2015, 44 (6): 73-175.
ZHANG Xiaoxue, WU Chenguang. Research progress of ABCA1 gene polymorphism and the effect of type 2 diabetes mellitus and oral hypoglycemic drugs[J]. Journal of Medical Research, 2015, 44(6): 173-175.
- [2] LI Chenyi, FAN Danjun. Association between the ABCA1 rs1800977 polymorphism and susceptibility to type 2 diabetes mellitus in a Chinese Han population [J]. Biosci Rep, 2018, 38(2): BSR20171632.
- [3] 李观强, 杨辉, 洪雄新, 等. 2 型糖尿病患者 ABCA1, PPAR γ , SREBP, ADPN, LXR α 表达水平及临床价值研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39 (10): 1199-1201, 1205.
LI Guanqiang, YANG Hui, HONG Xiongxin, et al. Study on the expression of ABCA1, PPAR γ , SREBP, ADPN and LXR α in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2008, 39 (10): 1199-1201, 1205.
- [4] YAO Yue, LI Qiang, WANG Wei, et al. Glucagon-like peptide-1 modulates cholesterol homeostasis by suppressing the miR-19b-Induced downregulation of ABCA1[J]. Cellular Physiology and Biochemistry, 2018, 50(2): 679-693.
- [5] 彭扬, 霍翠翠, 闫芳, 等. 辛伐他汀对新诊断 2 型糖尿病患者单核巨噬细胞胆固醇外流的影响 [J]. 实用药物与临床, 2015, 18 (3): 260-264.
PENG Yang, HUO Cuicui, YAN Fang, et al. Effect of simvastatin on cholesterol efflux from macrophages of patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus [J]. Practical Pharmacy and Clinical Remedies, 2015, 18 (3): 260-264.
- [6] 李观强, 杨辉, 洪雄新, 等. ABCA1 基因功能性 SNP 对糖尿病患者胰岛 β 细胞功能的调控作用 [J]. 解放军预防医学杂志, 2019, 37 (2): 96-98.
LI Guanqiang, YANG Hui, HONG Xiongxin, et al. Functional SNP of ABCA1 gene on islet function in diabetic patients [J]. Journal of Preventive Medicine of Chinese People's Liberation Army, 2019, 37 (2): 96-98.
- [7] 朱影明, 许新强, 周强, 等. 广东地区 2 型糖尿病与抵抗素基因位点 rs2161490 和 rs1423096 多态性的相关性研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32 (1): 48-52.
ZHU Yingming, XU Xinqiang, ZHOU Qiang, et al. Correlation study between resistin rs2161490 and rs1423096 and type 2 diabetes mellitus [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32 (1): 48-52.
- [8] 孙顺昌, 侯荣耀, 郭瑞友, 等. ABCA1 基因 R219K 多态性与中国汉族人群缺血性卒中的相关性 [J]. 国际脑血管病杂志, 2015, 23 (9): 662-668.

- SUN Shunchang, HOU Rongyao, GUO Ruiyou, et al. Association of R219K polymorphism in the ABCA1 gene with ischemic stroke in a Chinese Han population [J]. International Journal of Cerebrovascular Diseases, 2015, 23 (9): 662-668.
- [9] YAO Yue, LI Qiang, GAO Ping, et al. Glucagon-like peptide-1 contributes to increases ABCA1 expression by downregulating miR-758 to regulate cholesterol homeostasis[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2018, 497(2): 652-658.
- [10] 李彤, 何永成, 彭庆, 等. ApoA I /ABCA1 途径对糖尿病肾病大鼠的保护作用 [J]. 深圳中西医结合杂志, 2015, 25 (17): 1-3.
LI Tong, HE Yongcheng, PENG Qing, et al. Protective effect of ApoA I /ABCA1 pathway in diabetic nephropathy rats[J]. Shenzhen Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2015, 25 (17): 1-3.
- [11] 张晓雪, 王玉颖, 吴晨光, 等. ABCA1 基因 R219K 多态性对格列美脲疗效的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28 (20): 46-51.
ZHANG Xiaoxue, WANG Yuying, WU Chenguang, et al. Effect of ABCA1 gene R219k polymorphism on efficacy of glimepiride in treatment of newly-diagnosed type 2 diabetes [J]. China Journal of Modern Medicine, 2008, 28 (20): 46-51.
- [12] JUNG Dongju, CAO Shihua, LIU Meiling, et al. A meta-analysis of the associations between the ATP-binding cassette transporter ABCA1 R219K(rs2230806) polymorphism and the risk of type 2 diabetes in asians[J]. Hormone and Metabolic Research, 2018, 50(4): 308-316.
- [13] 田茗源, 张雄, 梁洁, 等. 姜黄素对糖尿病脑病大鼠海马 PPAR γ -ABCA1 胆固醇转运体的影响 [J]. 成都医学院学报, 2017, 12 (2): 122-126.
TIAN Maoyuan, ZHANG Xiong, LIANG Jie, et al. The effect of curcumin on hippocampal PPAR γ -ABCA1 cholesterol transporter in rats with diabetic Encephalopathy [J]. Journal of Chengdu Medical College, 2017, 12 (2): 122-126.
- [14] 王莎莎, 曲竹秋. 速效救心丸对动脉粥样硬化大鼠血脂、主动脉形态及主动脉壁 ABCA1 表达的影响 [J]. 天津中医药, 2018, 35 (6): 445-449.
WANG Shasha, QU Zhuqiu. Effects of Suxiao Jiuxin pill on the blood lipid, the pathologic change of arteria aorta and the expression of ABCA1 of arteria aorta in rats of atherosclerosis[J]. Tianjin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2008, 35 (6): 445-449.
- [15] TOUPCHIAN O, SOTOUDEH G, MANSOORI A, et al. Effects of DHA supplementation on vascular function, telomerase activity in PBMC, expression of inflammatory cytokines, and PPAR γ -LXR α -ABCA1 pathway in patients with type 2 diabetes mellitus: study protocol for randomized controlled clinical trial [J]. Acta Medica Iranica, 2016, 54(7): 410-417.

收稿日期: 2020-03-16

修回日期: 2020-04-22