

· 论 著 ·

## Calpain-10 基因多态性与黎族 2 型糖尿病胰岛素抵抗的关系

陈小盼, 宋钦华, 孙胜花, 郑海龙, 李大伟

**摘要:**目的 研究 Calpain-10 基因 44 位点单核苷酸多态性与海南黎族 2 型糖尿病(T2DM)胰岛素抵抗的关系,探讨 Calpain-10 与 T2DM 发病易感性之间的关系。方法 选择海南黎族健康查体者 54 例为正常对照组,T2DM 患者 46 例为 T2DM 组。测量所有研究对象的身高、体重、腰围、臀围,计算体重指数(BMI)、腰臀比(WHR)。并且空腹抽血测定胰岛素(FIns)、空腹血糖(FPG)。用稳态模型方法,计算胰岛素抵抗指数(IRI)及胰岛  $\beta$  细胞功能指数(HBIC)。对所有研究对象 Calpain-10 基因 UCSNP-44 多态性进行基因分型并计算其优势等位基因频率。结果 ①黎族人正常对照组 UCSNP-44 TT 基因型占 78%,TC 型占 20%,CC 型占 2%,T 等位基因频率为 88%,C 等位基因为 12%。黎族人 T2DM 组 UCSNP-44 TT 基因型占 76%,TC 型占 22%,CC 型占 2%,T 等位基因频率为 88%,C 等位基因为 12%。2 型糖尿病组与正常对照组比较,UCSNP-44 位点等位基因及基因频率差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。按 BMI $\geq 25$  kg/m<sup>2</sup>、BMI $<25$ kg/m<sup>2</sup> 分别比较,各组之间也无统计学差异 ( $P>0.05$ )。②T2DM 组内 UCSNP-44 TT 组与 TC+CC 组 BMI 及 WHR、FPG、FIns、IR、HBIC 均无明显差异 ( $P>0.05$ )。结论 本研究未发现 Calpain-10 基因 UCSNP-44 位点变异与 T2DM 及胰岛素抵抗发病相关,提示 Calpain-10 基因 UCSNP-44 并非海南黎族人群中 T2DM 常见相关发病基因。

**关键词:** 2 型糖尿病;胰岛素抵抗;多态性;单核苷酸

中图分类号 R587.1 文献标识码 A 文章编号:1009-9727(2012)5-591-03

Relationship between polymorphism of calpain-10 gene 44 single nucleotide and insulin resistance in type 2 diabetic patients of Li minorities in Hainan. CHEN Xiao-pan, SONG Qin-hua, SUN Sheng-hua et al. (Department of Endocrinology Affiliated Hospital of Hainan Medical College Haikou 570102 Hainan P. R. China)

**Abstract** Objective To study relationship between 44 single nucleotide polymorphism in Calpain-10 gene and insulin resistance in type 2 diabetic (T2DM)patients of Li minorities in Hainan. Methods 46 T2DM patients(T2DM group)and 54 healthy subjects (control group)were enrolled in this study. The height,weight,waist circumference,hip circumference,body mass index (BMI),waist to hip ratio (WHR) and the levels of fasting blood insulin (FIns)and fasting plasma glucose (FPG)in both groups were measured. Results In the control group,TT genotype of UCSNP-44 was accounted for 78%,TC-type accounted for 20%,CC-type accounted for 2%,T allele frequency was 88% and C allele was 12%. In the T2DM group,TT genotype was accounted for 76%,TC-type 22%,CC-type 2%,T allele frequency 88%,C allele 12%. Compared with the control group,UCSNP-44 allele and gene frequencies in the T2DM group did not show significant differences ( $P>0.05$ ) and no significant difference in BMI $\geq 25$ kg/m<sup>2</sup> and BMI $<25$  kg/m<sup>2</sup> between two groups( $P>0.05$ ). No significant differences in BMI and WHR,FPG,FIns,IR,HBIC between the TT subgroup and the TC+CCsubgroup in the patient with T2DM ( $P>0.05$ ). Conclusion UCSNP44 sites of calpain 10 gene are not related to type 2 diabetes,calpain 10 gene might not be a related gene for type 2 diabetic patients of Li minorities in Hainan province.

**Key words:** Type 2 diabetes mellitus; Insulin resistance; Polymorphism; Single nucleotide

2 型糖尿病(T2DM)是具有基因型高度变异性的临床综合症,它的发病是易感基因和环境因素复杂的相互作用结果。Calpain-10 是 T2DM 的易感基因之一,Calpain-10 内含子上的 UCSNP-44 单核苷酸多态性位点被认为可以通过调节 Calpain-10 转录水平而影响 T2DM 的发病<sup>[1]</sup>。但是,Calpain-10 基因和 T2DM 之间存在明显的种族差异。本研究主要探讨 Calpain-10 基因与海南黎族 T2DM 胰岛素抵抗的关系。

## 1 对象与方法

1.1 研究对象 T2DM 组选择海南黎族 T2DM 患者 46 例,男 26 例,女 20 例,年龄 42~71 岁,平均年龄(53.24 $\pm$ 5.46)岁。均为 2009~2011 年间门诊及住院诊断为 2 型糖尿病的黎族患者。入选标准:①经 75g 葡萄糖耐量试验(oral glucose tolerance test,OGTT)符合 1999 年 WHO 糖尿病诊断标准;②OGTT 相应时间点胰岛素符合 2 型糖尿病的特点;③谷氨酸脱羧酶抗体(GAD-Ab)(-),抗胰岛细胞抗体(ICA)(-);④无 1 型糖尿病家族史;⑤发病年龄大于 18 岁;⑥入选时未曾

作者单位 海南医学院附属医院内分泌科 海南 海口 570102

作者简介 陈小盼(1975~),女,海南文昌人,硕士,副主任医师,研究方向:内分泌与代谢疾病。

使用口服降糖药及胰岛素,⑦与其他入选患者间无亲缘关系。选择无高血压、糖尿病家族史及经 OGTT 排除糖尿病的黎族健康查体者 54 例为正常对照组,其中男 32 例,女 22 例,年龄 36~70 岁,平均年龄(50.65±8.22)岁。两组研究对象的年龄、性别比例无显著差异。

1.2 方法

1.2.1 胰岛素抵抗检测 测量所有研究对象的身高、体重、腰围、臀围,计算体重指数(BMI)、腰臀比(WHR)。并且空腹抽血测定胰岛素、空腹血糖。用稳态模型(HOMA)方法,计算胰岛素抵抗指数(IRI)及胰岛β细胞功能指数(HBIC)。

1.2.2 DNA 提取及扩增 采用盐洗法由外周有核细胞中提取基因组 DNA。所有研究对象 DNA 提取后通过 PCR 扩增 Calpain-10 基因第 3 内含子内包含 UCSNP-44 多态性的 DNA 片段,低熔点琼脂糖回收纯化的目的基因片段。所有标本纯化后采用 ABI Prism 377 型测序仪测定,测序引物 5' GCTGGCTGGTGACATCAGT G3' 单向测定。运用 DNA STAR 软件进行序列分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS10.0 统计软件,用基因计数法计算各组基因频率及等位基因频率,计数资料间的比较用卡方检验,计量资料间的比较用 t 检验, P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组基因型与等位基因频率比较 黎族人正常

对照组 UCSNP-44 TT 基因型占 78%,TC 型占 20%,CC 型占 2%;T 等位基因频率为 88%,C 等位基因为 12%。黎族人 2 型糖尿病组 UCSNP-44 TT 基因型占 76%,TC 型占 22%,CC 型占 2%;T 等位基因频率为 88%,C 等位基因为 12%。经卡方检验,2 型糖尿病组与正常对照组比较,UCSNP-44 位点等位基因及基因频率差异无统计学意义(P>0.05)。按 BMI≥25 kg/m<sup>2</sup>、BMI<25kg/m<sup>2</sup> 分别比较,各组之间也无统计学差异(P>0.05)。见表 1。

表 1 正常对照组与 T2DM 组基因型与等位基因频率比较  
Table 1 Comparisons of gene type and allele frequency between the two groups

组别 Group	例数 No.case	基因型 Gene type			等位基因 Allele frequency(%)	
		TT	TC	CC	T	C
正常对照组 Control group	54	42	11	1	88	12
BMI≥25	16	12	4	0	88	12
BMI<25	38	30	7	1	88	12
T2DM 组 T2DM group	46	35	10	1	87	13
BMI≥25	27	20	7	1	87	13
BMI<25	19	15	3	0	87	13

2.2 T2DM 组 TT 和 TC+CC 基因型胰岛素抵抗相关指标比较 UCSNP-44 CC 基因型较少见,故将其与各自杂合子组合并,以 UCSNP-44 TC+CC 组的形式纳入统计。T2DM 组内 UCSNP-44 TT 组与 TC+CC 组 BMI 及 WHR、FPG、FIns、IR、HBIC 经 t 检验后差异均无统计学意义(P>0.05)。见表 2。

表 2 T2DM 组 TT 和 TC+CC 基因型胰岛素抵抗相关指标比较  
Table 2 Comparisons of insulin resistance related index between TT and TC+CC gene types in the T2DM group

组别 Groups	例数 No.case	FPG (mmol/L)	Fins (mU/L)	IRI	HBIC	BMI	WHR
TT	35	7.95±1.12	8.21±1.25	5.57±1.68	66.3±12.37	25.30±3.04	0.90±0.16
TC+CC	11	7.87±1.18	8.16±1.13	5.77±1.84	67.77±25.44	23.98±2.95	0.86±0.06

3 讨论

2 型糖尿病是一种多因素疾病,遗传因素在易感性中起重要作用。1996 年 Hanis<sup>[2]</sup>首次报道美籍墨西哥人 2 型糖尿病同 2 号染色体长臂末端 D2S125 位点连锁,并将其命名为 NIDDM1。2000 年 Horikawa 等又将 NIDDM1 位点进一步定位至 Calpain-10 基因上。Calpain-10 是一种半胱氨酸蛋白酶,属于钙依赖性蛋白酶家族,它广泛存在于许多与胰岛素抵抗相关的组织内,如肌肉、肝脏等<sup>[1]</sup>。进一步研究还显示 Calpain-10 是一种新的糖尿病相关基因<sup>[2]</sup>, Calpain-10 内含子 3

上多态性位点 USNP-44 可通过调节 Calpain-10 转录水平而影响 2 型糖尿病发病。Horikawa 等<sup>[1]</sup>对美籍墨西哥人群的研究发现,UCSNP-44 位点 C 等位基因在家族关联分析中存在传递-连锁不平衡。项坤三等<sup>[3]</sup>研究也显示,上海地区汉族人群 Calpain-10 主要等位基因频率与美籍墨西哥人、高加索 Pima 印第安人有显著差异。Calpain-10 多态位点导致 2 型糖尿病危险性增加的可能原因还不清楚,最近研究结果提示, Calpain-10 基因多态性可能与糖耐量异常状态、胰岛素分泌及胰岛素敏感性相关,且这种相关性可能存在种群的差异,这种差异导致了不同种族(下转第 603 页)

## 参考文献：

- [1] Ceriello A ,Davidson J ,Hanefeld M et al . Postprandial hyperglycaemia and cardiovascular complications of diabetes :an update [J] . Nutr Metab Cardiovasc Dis ,2006 ,16(7) :453-456.
- [2] Huang JZ ,Wang J ,Wang YX et al . The significance of vascular endothelial cell damage in type 2 diabetic angiopathy [J] . Chin J Endocrinol and Metab ,2000 ,16(3) :167-171.(In Chinese)  
(黄敬泽 ,王健 ,王依星 ,等 . 血管内皮细胞损伤在 2 型糖尿病血管病变中的意义 [J] . 中华内分泌代谢杂志 ,2000 ,16 (3) :167-171.)
- [3] MaiX-l and TengG-j . Characteristic of endothelial progenitor cell and it's roles in the diseases of atherosclerosis [J] . Zhonghua Xinxueguanbing Zazhi ,2007 ,35(8):775-777.
- [4] Tanaka Y ,Mochizuki K ,Fukaya N et al . The alpha -glucosidase inhibitor miglitol suppresses PostPrandia llyPerglycaemia and interleukin-1 beta and tumour necrosis factor-alpha gene expression in rat peripheral leucocytes induced by intermittent sucrose loading [J] . British J Nutritn ,2009 ,102(2) :221-225.
- [5] QuagliaroL ,PiconiL ,AssaloniR et al . Intermittent high glucose enhances ICAM -1 ,VCAM -1and E -selctin expression in human umbilical vein endothelial cells in culture:The distinet role of Protein kinase C and mitochondrial. Superoxide production [J] .

Atherosclerosis ,2005 ,183(2) :259-267.

- [6] MercedesT.Grijalba ,Anibal E . Vercesi and Shirley Schreier.Ca<sup>2+</sup>-Induced Increased Lipid Packing and Domain Formation in Submitochondrial Particles :A Possible Early Step in the Mechanism of Ca<sup>2+</sup>-Stimulated Recetive oxygen Species by the Respiratory Chain [J] . Biochemistry ,1999 ,38 :13279-13287.
- [7] Sang Won Suh ,ElizabethT . Gum ,AaronM . Hamby ,PakH . Chan , RaymondA . Swanson . Hypoglycemic neuronal death is triggered by glucose reperfusion and activation of neuronal NADPH oxidase [J] . The J Clin Investigat ,2007 ,117(4) :910-918.
- [8] Gao w ,Qiao Q ,Tuomilehto J . Post-challenge hyperglycaemia rather than fasting hyperglycaemia is an independent risk factor of cardiovascular disease events [J] . Clin Lab ,2004 ,50(9-10) :609-615.
- [9] Cryer PE ,Davis SN ,Shamoon H . Hypoglycemia in diabetes [J] . Diabetes Care ,2003 ,26 :1902-1912.
- [10] Monnier L ,Colette c ,Boegner C et al . Continuous glucose monitoring in patients with type 2 diabetes :Why? When? Whom? [J] . Diabetes Metab ,2007 ,33 :247-252.
- [11] Monnier L ,Mas E ,Ginel C et al . Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes [J] . JAMA ,2006 ,295(14) :1681-1687.

收稿日期 :2012-02-13 编辑 :吴中华

(上接第 592 页)

2 型糖尿病发病率的差别<sup>[4]</sup>。

本研究观察了 Calpain-10 基因 UCSNP-44 位点多态性与 T2DM 的关系。研究发现海南黎族 2 型糖尿病患者 UCSNP44 中 T 等位基因频率与日本人<sup>[5]</sup>之间等位基因频率接近,但与美籍墨西哥人<sup>[1]</sup>、美籍萨摩亚人<sup>[6]</sup>等不同。本研究亦未发现这个基因多态性位点变异与其糖尿病发病相关。这提示 Calpain-10 基因 UCSNP-44 可能并非海南黎族人群中 T2DM 常见相关发病基因。但是也不能排除其通过与其紧密连锁的其它 Calpain-10 变异共同作用导致 2 型糖尿病易感性增高。

## 参考文献：

- [1] Horikawa Y ,Oda N ,Cox NJ ,et al . Genetic Variation in the gene encoding Calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus[J] . Nat Genet ,2000 ,26 :163-175.
- [2] Hanis CI ,Boerwinkle E ,Chakraborty R et al . A genome-wide search

for human non-insulin-dependent (type 2)diabetes genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 2[J] . Nat Genet ,1996 ,13 :161-166.

- [3] Xiang KS ,Zheng TS ,Jia WP et al . The correlation among Calpain-10 genetic polymorphism abnormal glucose tolerance insulin secretion and insulin sensitivity [J] . Chin J Endocrinol Metabol ,2001 ,17(5) :290-295.(In Chinese)  
(项坤三 ,郑泰山 ,贾伟平 ,等 . Calpain-10 基因多态性与糖耐量异常状态、胰岛素分泌及胰岛素敏感性的相关性[J] . 中华内分泌代谢杂志 ,2001 ,17(5) :290-295.)
- [4] Michael Stumvoll ,Andreas Fritsche ,Alexander Madaus et al . Functional significance of the UCSNP-43 polymorphism in CAPN-10 gene for poinsettia processing and insulin in non-diabetic [J] . German - Diabetes ,2001 ,50 :2161-2163.
- [5] Daimon M ,Oizumi T ,Saitoh T et al . Calpain-10 gene polymorphisms are related not to type 2 diabetes but to increased serum cholesterol in Japanese[J] . Diabetes Res Clin Pract ,2002 ,56(2) :147-152.
- [6] Hui-Ju T ,Guangyun S ,Daniel E et al . Type 2 diabetes and three Calpain -10 gene polymorphisms in Samoans :NO evidence of association[J] . Am J Hum Genet ,2001 ,69(6) :1236-1244.

收稿日期 :2012-03-08 编辑 :吴中华