

新疆柯尔克孜族人群 *PPARG* 基因 31 个 SNP 位点的遗传多样性及其与 2 型糖尿病的关联

祖克拉·肉孜¹, 宋曼曼², 伊力哈木·乃扎木¹, 赵飞飞², 多力坤·买买提玉素甫¹

1. 新疆大学生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046

2. 首都医科大学公共卫生学院, 北京 100069

摘要 应用基质辅助激光解吸电离飞行时间(MALDI-TOF-MS)质谱技术对 SNP 位点进行基因分型的方法, 检测并分析 100 例(对照正常个体 50 例, 糖尿病患者 50 例)无血缘关系的柯尔克孜族隔离人群过氧化物酶体增殖物激活受体(*PPARG*)基因 31 个单核苷酸多态性(SNP)位点的遗传多样性, 探讨 *PPARG* 基因 31 个 SNP 位点的遗传多样性及其与柯尔克孜族 2 型糖尿病(T2DM)的关联, 筛查预测 2 型糖尿病的分子标记。结果发现, *PPARG* 基因所选的 31 个 SNP 位点中有 23 个具有多态性(MAF \geq 0.05)。两组间分别在血压(SBP、DBP)、腰臀比值、血糖、总胆固醇、低密度脂蛋白水平有显著差异($P<0.01$)。rs1801282、rs1899951、rs2881654、rs2972162 位点基因分型在对照组和病例组中的分布均有显著性差异($P<0.01$, $P<0.05$)。非条件 Logistic 回归分析显示, *PPARG* 基因中 rs1801282、rs1899951、rs2881654、rs2972162 等位点变异等位基因频率组间比较差异均有统计学意义(*OR* 值分别为 2.639、2.639、1.774、2.639, 均为 $P<0.05$)。在男女对照组中 rs1899951、rs2292101、rs2881654、rs1801282 和 rs6782475 位点等位基因频率均有显著性差异($P<0.05$), 在男女病例组中 rs4684846、rs7615916、rs9817428、rs4684846、rs709151、rs7615916 位点等位基因频率均有显著性差异($P<0.05$)。结果显示, *PPARG* 基因的 4 个 SNP (rs1801282、rs1899951、rs2881654、rs2972162) 位点变异与柯尔克孜族人 T2DM 可能存在关联。

关键词 过氧化物酶体增殖物激活受体基因; 单核苷酸多态性; 2 型糖尿病; 柯尔克孜族

中图分类号 Q52

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2015.24.013

Genetic polymorphism of 31 SNPs in *PPARG* gene and their correlation with type 2 diabetes in Kirgiz population

RUZI Zohra¹, SONG Manshu², NIZAM Yiliham¹, ZHAO Feifei², MAITIYUSUP Dolkun¹

1. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China

2. School of Public Health, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Abstract The MALDI-TOF-MS(matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry) method was used for genotyping of SNP loci in *PPARG* gene, detection and analysis of 100 cases of(50 controls, 50 cases) unrelated Kirgiz populations, to investigate the relationship between the SNPs of *PPARG* gene with type 2 diabetes mellitus(DM) in Xinjiang Kirgiz population. The results showed that 23 SNPs have polymorphism(MAF \geq 0.05)among the selected 31 SNP loci. There were statistical differences in blood pressure, hip circumference, blood sugar, TH, and LDL between the case and control groups($P<0.01$). There were significant

收稿日期:2015-09-30;修回日期:2015-11-18

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(2013211A016)

作者简介:祖克拉·肉孜, 硕士研究生, 研究方向为人类分子遗传学, 电子邮箱:Zohra1025@163.com; 多力坤·买买提玉素甫(通信作者), 教授, 研究方向为人类与医学分子遗传学, 电子邮箱:duolikun530@126.com

引用格式:祖克拉·肉孜, 宋曼曼, 伊力哈木·乃扎木, 等. 新疆柯尔克孜族人群 *PPARG* 基因 31 个 SNP 位点的遗传多样性及其与 2 型糖尿病的关联[J]. 科技导报, 2015, 33(24): 75-82.

differences in genotypes and allele frequency distribution of SNPs rs1801282, rs1899951, rs2881654, and rs2972162 between the case and control groups ($P < 0.05$). Logistics regression analysis displays significant differences in allele frequency between the two groups (OR value is 2.639, 2.639, 1.774, 2.639, $P < 0.05$). There were significant differences in genotypes frequency of SNPs rs1899951, rs2292101, rs2881654, rs6782475, and rs1801282 between the men and women control group ($P < 0.05$). The results also showed that the *PPARG* gene SNPs rs1801282, rs1899951, and rs2881654 have correlation with type 2 DM in Xinxiang Kirgiz people.

Keywords *PPARG* gene; single nucleotide polymorphism; type 2 diabetes mellitus; Kirgiz ethnic group

2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是遗传因素和环境因素共同作用所致的最常见的代谢障碍性疾病之一,遗传因素在T2DM的发生发展中起着重要的作用^[1-3]。基于T2DM复杂的遗传特性,通过候选基因策略的遗传关联研究挖掘特定群体中的其他T2DM易感基因,势必具有很大空间^[4-6]。过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferators-activated receptor gamma, *PPARG*)基因定位于3p25,属于转录因子的核激素受体超家族,参与糖脂代谢和线粒体能量代谢调节,推测可能与糖尿病的发生有关联,因而成为近年来国内外糖尿病研究领域关注的热点^[7-9]。阐明这一关联机制,对于识别和确定T2DM发病机制,解决胰岛素抵抗的T2DM的治疗具有重要的意义和价值^[10]。本研究采用基质辅助激光解吸电离飞行时间(MALDI-TOF-MS)质谱技术基因分型法,筛查柯尔克孜族对照和病例样本*PPARG*基因多态性位点,探讨各种多态性位点在对照组和病例组分布频率。

1 材料与方法

1.1 研究对象

在新疆阿图什市哈拉峻乡人民医院协助下采集无血缘关系的柯尔克孜族血样117例,同时用统一调查表进行直接问卷调查进行资料收集。采用病例-对照研究,筛选无血缘关系、年龄性别匹配的柯尔克孜族100例,其中50例患者组、50例对照组,对所有的受试者进行了身高、体重、腰围、臀围、血压、空腹血糖、血脂水平包括甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)的检测。要求所有调查对象均在所在地区居住3代以上,无血缘关系,年龄>40岁,家庭婚姻史为世代族内通婚。自肘静脉采血5 mL加EDTA二钾抗凝,充分混匀后分离血浆,放入-20℃冰箱冷藏室保存待检生化指标和基因组DNA。

本研究使用的所有研究对象均从阿图什市哈拉峻乡人民医院提供的居民健康档案库资料中筛选,在该医院医护人员协助下采集完成。按照1999年WHO公布的糖尿病新诊断标准^1糖尿病症状,2)空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)≥7.0 mmol/L或3)餐后2 h血糖≥11.1 mmol/L或3)随机血糖≥11.1 mmol/L;无糖尿病症状者,需另日复查血糖)。通过临床特征及家族史排除青年发病的成年型糖尿病、母系遗传的糖尿病及妊娠性糖尿病、线粒体糖尿病、1型糖尿病、高血压、冠心病等其它明显器质性疾病。

对调查对象进行详细询问按项目内容逐项填写,力求调

查表完整不缺项:电话、年龄、性别、身高、体重、腰围、臀围、血压、心率、吸烟史、饮酒史、家族史等。上述调查和取样均征得受试者本人同意并签署知情同意书。

1.2 主要试剂和仪器

主要试剂有质谱分析试剂(Complete Genotyping Reagent Kit for Mass ARRAY® Compact 384; USA);提取DNA试剂(EasyPure™ Blood Genomic DNA Kit; Transgenic Biotech)。

主要仪器有基因扩增仪(ABI Gene Amp® 9700 384 Du-al; USA);质谱点样仪(Mass ARRAY Nanodispenser RS1000; USA);质谱分析(Mass ARRAY Compact System; USA);台式离心机(Pico, 德国Hereaus);移液器(0.5~10 μL、10~100 μL、100~1000 μL, 德国);微波炉(W700A, 亚美公司(日本));凝胶成像仪(Gel Dox XR, 美国Bio-Rad);全自动高压灭菌9SM510, 日本Yamato);电泳仪(Power Basic, 美国Bio-Rad)。

1.3 实验方法

1) 基因组DNA的提取及DNA样品质量浓度和纯度质检采用Transgenic Biotech有限公司的EasyPure™ Blood Genomic DNA Kit试剂盒。分离出的DNA用琼脂糖凝胶电泳法检验,并通过紫外分光光度计检测OD260/OD280数值,调整DNA终质量浓度在30~50 ng/μL。

2) 引物设计及引物稀释根据SNP位点,通过Sequenom公司的Assay Design 3.1软件进行引物设计;通过质谱预实验进行延伸引物质检,将引物稀释到质谱反应所需浓度,PCR引物储备液制备终浓度为100 μmol/L;单碱基延伸引物储备液终浓度为500 μmol/L。

3) PCR反应。5 μL的PCR反应体系中含有ddH₂O 1.8 μL, 10× buffer 0.5 μL, Mg²⁺ 0.4 μL, dNTP 0.1 μL, Hotstar 0.2 μL, F Primer/ R Primer 各1 μL, 基因组DNA样品(20~50 ng), 至终体积5 μL。PCR扩增反应条件:95℃ 2 min 预变性;95℃ 30 s, 56℃ 30 s, 72℃ 60 s, 45个循环;72℃ 5 min, 25℃ ∞。

4) SAP酶消化反应。按照下述顺序配制SAP酶Mix, 总体积2×460 μL, dddH₂O 1.53×460 μL, SAP Buffer 0.17×460 μL, SAP Enzyme 0.3×460 μL, 下一步在PCR仪中按照下述程序进行SAP酶消化;37℃ 40 min, 85℃ 5 min, 25℃ ∞。

5) 单碱基延伸反应。按照下述顺序配制单碱基延伸反应 Mix, dddH₂O 0.619×460 μL, 10× iplex buffer 0.2×460 μL, Terminator mix 0.2×460 μL, 引物0.94×460 μL, 单碱基延伸酶0.041×460 μL, 至终体积2×460 μL。下一步在PCR仪中按照下述程序进行单碱基延伸反应:预变性94℃ 30 s, 分别在

94℃ 5 s, 52℃ 5 s进行40个外部循环,分别在80℃ 5 s, 72℃ 3 min进行40个内部循环, 25℃ ∞。

6) 树脂纯化。(1) 在反应产物的384孔板中加入16 μL dddH₂O, 2000 r/min离心3 min; 加入树脂, 在反转摇匀仪上做树脂纯化反应35 min, 脱盐; 反应完成后2000 r/min离心3 min; (2) 将脱盐处理后的样品点在样品靶上, 自然结晶。

7) 进行质谱检测, 并收集数据。(1) 基质辅助激光解析电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)反应; (2) Typer 4.0软件检测质谱峰, 并根据质谱峰图判读各样本目标位点基因型。

1.4 统计学处理

使用SPSS 17.0软件建立数据库。所选SNP位点对对照组做Hardy-Weinberg平衡检验。采用 χ^2 检验进行组间基因型及等位基因频率比较。采用 t 检验分析对照组与病例组间临床指标比较。采用非条件的Logistics回归模型计算风险等位基因的相对优势比odds ratios (ORs)和95%的置信区间confidence intervals (CIs), 衡量风险等位基因的效应大小。

2 结果

2.1 基础临床生化指标特征分析

采用 t 检验分析对照组与病例组之间临床指标比较, 病例组和对照组间血压、腰臀比值、血糖、总胆固醇和低密度脂蛋白水平的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 Hardy-Weinberg平衡吻合度检验

采用精确检验对对照组进行Hardy-Weinberg平衡检验, 评估对照组的可靠性。一般以 $P = 0.05$ 作为显著性水平的界限, $P > 0.05$ 说明所调查的群体达到遗传平衡, 即本次群体调查的数据可信。结果所选的SNP位点中除了rs4135329、rs4135356、rs4135354、rs6805419、rs9870196、rs17036700、rs4135304、rs4135343位点以外, 其他位点均符合, 具有群体代表性($P > 0.05$)。

SNP分子标识的选择依据: 1) 采用Haploview 4.0软件筛选待检测的Tag SNP; 2) 最小等位基因频率(MAF) ≥ 0.05 ; 3) *PPARG*与各种代谢异常有关的SNP; 如表1所示。

表1 *PPARG*基因选择标签SNPs基本情况

Table 1 SNPs loci in *PPARG* gene

编号	基因组区域	SNP编号	碱基	最小等位基因频率		哈温平衡	
				a	b	χ^2	P
1	12422153	rs1151999	C/A	0.4288	0.489	1.868	0.431
2	12440243	rs1175540	C/A	0.4348	0.428	3.653	0.161
3	12324490	rs17036242	G/A	0.2897	0.319	5.892	0.053
4	12418657	rs1875796	G/A	0.4252	0.489	1.868	0.431
5	12369840	rs1899951	C/T	0.2153	0.081	4.069	0.131
6	12409901	rs2292101	G/A	0.0905	0.193	5.089	0.079
7	12355456	rs2881654	C/T	0.2167	0.081	1.009	0.604
8	12394475	rs2921190	G/A	0.4463	0.489	1.947	0.378
9	12383278	rs2938397	G/A	0.3494	0.448	2.753	0.252
10	12417833	rs2959272	T/C	0.4711	0.510	1.686	0.431
11	12417731	rs2959273	C/A	0.3246	0.438	2.005	0.367
12	12399793	rs2972162	C/T	0.4463	0.489	1.686	0.431
13	12450557	rs3856806	T/C	0.1185	0.193	2.094	0.351
14	12371588	rs4135247	T/C	0.4118	0.418	2.895	0.235
15	12418844	rs4135275	G/A	0.2424	0.336	3.930	0.140
16	12313849	rs4684846	A/G	0.3343	0.500	5.812	0.055
17	12446330	rs6782475	G/A	0.185	0.071	4.642	0.098
18	12429999	rs709151	G/T	0.2934	0.428	4.009	0.135
19	12370958	rs7615916	G/A	0.3779	0.316	5.361	0.069
20	12450088	rs7626560	A/G	0.1400	0.061	5.633	0.060
21	12327468	rs9310401	T/C	0.2879	0.316	13.040	0.001
22	12315267	rs9817428	T/C	0.3517	0.489	7.110	0.029
23	12351626	rs1801282	C/A	0.0661	0.081	4.069	0.131
24	12405216	rs4135329	C/G	0.1286	0	—	—
25	12442613	rs4135356	A/G	0.0893	0	—	—
26	12436640	rs4135354	A/G	0.0395	0	—	—
27	12321911	rs6805419	C/T	0.1060	0	—	—
28	12358664	rs9870196	C/T	0.1188	0	—	—
29	12443627	rs17036700	A/G	0.0489	0	—	—
30	12369601	rs4135304	G/T	0.1352	0	—	—
31	12422964	rs4135343	A/G	0.1591	0	—	—

注: a为国家生物技术信息中心的数据(www.ncbi.nlm.nih.gov), b为本研究的数据。

3 柯尔克孜族人群 *PPARG* 基因 23 个 SNP 位点在病例和对照组间基因型和等位基因分布

3.1 *PPARG* 基因 23 个 SNP 位点在对照组和病例组间基因型分布

所选的 31 个 SNP 位点中 rs6805419、rs9870196、rs4135304、rs4135329、rs4135343、rs4135354、rs4135356、rs17036700 无基因多态性,没有分析意义,故删除。采用直接记数法计算每个基因的基因型频率和最小等位基因频率(MAF)。rs1801282、rs1899951、rs2881654 位点基因型分布在对照组和病例组间均有显著差异($P < 0.01$),rs2972162 位点基因型分布在对照组和病例组间均有显著差异($P < 0.05$),如表 2 所示。

表 2 *PPARG* 基因 23 个 SNP 位点在对照组和病例组间基因型分布

Table 2 Genotype frequency of 23 SNPs in *PPARG* gene of the control and case groups

SNP 编号	碱基	对照组			病例组			χ^2	P
		11	12	22	11	12	22		
rs1151999	C/A	0.33	0.33	0.35	0.38	0.46	0.16	4.744	0.093
rs1175540	C/A	0.37	0.41	0.22	0.52	0.36	0.12	3.021	0.221
rs17036242	G/A	0.49	0.37	0.12	0.40	0.46	0.14	0.804	0.669
rs1875796	C/T	0.35	0.33	0.33	0.16	0.46	0.38	4.744	0.093
rs1899951	G/A	0.86	0.12	0.02	0.62	0.38	0.00	9.408	0.005**
rs2292101	C/T	0.69	0.22	0.08	0.76	0.22	0.02	2.012	0.447
rs2881654	G/A	0.86	0.12	0.02	0.62	0.38	0.00	9.408	0.005**
rs2921190	G/A	0.33	0.35	0.33	0.40	0.46	0.14	4.857	0.088
rs2938397	T/C	0.27	0.37	0.37	0.12	0.40	0.48	3.532	0.171
rs2959272	C/A	0.33	0.33	0.35	0.38	0.46	0.16	4.744	0.093
rs2959273	C/T	0.39	0.35	0.27	0.48	0.40	0.12	3.928	0.140
rs2972162	T/C	0.35	0.33	0.33	0.14	0.46	0.40	5.858	0.050*
rs3856806	T/C	0.06	0.27	0.67	0.02	0.34	0.64	1.539	0.478
rs4135247	G/A	0.24	0.35	0.41	0.20	0.46	0.34	1.315	0.518
rs4135275	A/G	0.49	0.35	0.16	0.30	0.54	0.16	4.340	0.114
rs4684846	G/A	0.27	0.47	0.27	0.34	0.40	0.26	1.031	0.597
rs6782475	G/T	0.00	0.14	0.86	0.00	0.14	0.86	—	1.000
rs709151	G/A	0.37	0.41	0.22	0.54	0.36	0.10	4.146	0.126
rs7615916	A/G	0.12	0.39	0.49	0.14	0.46	0.40	0.811	0.666
rs7626560	T/C	0.00	0.12	0.88	0.00	0.14	0.86	—	1.000
rs9310401	T/C	0.49	0.39	0.12	0.40	0.46	0.14	0.811	0.666
rs9817428	C/A	0.27	0.49	0.24	0.34	0.40	0.26	1.216	0.545
rs1801282	C/G	0.86	0.12	0.02	0.62	0.38	0.00	9.408	0.005**

注: 11, 12, 22 指 3 种基因型频率, *为 $P < 0.05$, **为 $P < 0.01$ 。

3.2 *PPARG* 基因的 23 个 SNP 位点在对照组和病例组间等位基因分布及其风险度分析

采用直接记数法计算每个等位基因频率。*PPARG* 基因 rs1801282、rs1899951、rs2881654、rs2972162、rs2959273、rs2959273 位点等位基因分布在对照组和病例组间均有显著差异($P < 0.05$)。采用非条件的 Logistics 回归模型计算风险等位基因的相对优势比 odds ratios (ORs), 95% 的置信区间 confidence intervals (CIs), 衡量风险等位基因的效应大小。风险度分析表明, 6 个 SNP 位点和 2 型糖尿病的发病风险存在一定的显著相关, rs1899951 和 rs2881654 位点 $OR = 2.639$ (95% $CI = 1.096 \sim 6.355$, $P = 0.026$), rs1801282 位点 $OR = 2.639$ (95% $CI = 1.096 \sim 6.355$, $P = 0.026$), rs2972162 位点 $OR = 1.774$ (95% $CI = 1.006 \sim 3.127$, $P = 0.047$), rs2959273 位点 $OR = 0.558$ (95% $CI = 0.311 \sim 1.00$, $P = 0.049$), rs2959273 位点 $OR = 0.519$ (95% $CI = 0.287 \sim 0.937$, $P = 0.029$), 前 4 个 SNP 位点具有比较强的风险度, 后两个风险度如表 3 所示。

4 *PPARG* 基因 23 个 SNP 位点在对照和病例组男女间的基因型和等位基因分布特征

4.1 对照组男女间 *PPARG* 基因 23 个 SNP 位点基因型和等位基因分布

PPARG 基因 23 个 SNP 位点中 rs1899951、rs2292101、rs2881654、rs1801282 位点在男性和女性对照组间基因型频率均有统计学差异($P < 0.05$), 等位基因频率差异未达到统计学意义, rs6782475 位点在男性和女性对照组间基因型和等位基因频率均有统计学差异($P < 0.05$) (表 4)。

4.2 患者组男女间 *PPARG* 基因 23 个 SNP 位点的基因型和等位基因型分布特征

PPARG 基因的 23 个 SNP 位点中, rs4684846、rs709151、rs7615916 位点在男性和女性病例组间基因型分布频率均有统计学差异($P < 0.05$), rs4684846、rs7615916、rs9817428 位点在男性和女性病例组间等位基因分布频率均有统计学差异($P < 0.05$), 如表 5 所示。

5 讨论

过氧化物酶体增殖物活化受体 γ (缩写为 *PPAR- γ* 或 *PPARG*) 由 *PPARG* 基因编码, 对脂肪细胞和胰岛素有重要的作用, 是治疗糖尿病的研究对象之一^[11-13]。*PPAR- γ* 通过 JAK-STAT、激活蛋白-1 (AP-1)、NF- κ B、活化 T 细胞核因子信号通路 (NFAT) 来抑制炎症反应, 通过磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K)、瘦素、脂链素等信号通路来参与糖稳态的调节, 明确这些相关信号通路以及相关细胞因子的作用, 可对相关疾病机制及防治进一步提供有力依据和干预途径^[14]。*PPARG* 也可能成为肥胖、高血压、动脉粥样硬化的新型治疗靶点^[15, 16]。虽然已有研究报道了不同种族 *PPARG* 基因多态性方面的相关研究, 但研究结果不一致, 且研究位点多集中于少数几

表3 *PPARG*基因23个SNPs在对照组和病例组间等位基因分布及其风险度分析Table 3 Allele frequency and risk analysis of 23 SNPs in *PPARG* gene of the control and case groups

SNP编号	碱基	对照组		病例组		ORs	95% CI		χ^2	P
		1	2	1	2					
rs1151999	C/A	0.49	0.51	0.61	0.39	1.629	0.927	2.864	2.890	0.089
rs1175540	C/A	0.57	0.45	0.50	0.40	0.571	0.318	1.026	3.536	0.060
rs17036242	G/A	0.71	0.32	0.63	0.37	1.253	0.692	2.269	0.554	0.457
rs1875796	C/T	0.51	0.49	0.39	0.61	1.629	0.927	2.864	2.890	0.089
rs1899951	G/A	0.92	0.08	0.81	0.19	2.639	1.096	6.355	4.935	0.026*
rs2292101	C/T	0.81	0.19	0.87	0.22	0.621	0.288	1.340	1.490	0.222
rs2881654	G/A	0.92	0.08	0.81	0.19	2.639	1.096	6.355	4.935	0.026*
rs2921190	G/A	0.50	0.50	0.63	0.37	1.703	0.966	3.002	3.405	0.065
rs2938397	T/C	0.45	0.55	0.32	0.68	0.578	0.324	1.030	3.481	0.062
rs2959272	C/A	0.49	0.51	0.61	0.39	1.629	0.927	2.864	2.890	0.089
rs2959273	C/T	0.56	0.44	0.68	0.32	0.558	0.311	1.001	3.860	0.049*
rs2972162	T/C	0.51	0.49	0.37	0.63	1.774	1.006	3.127	3.950	0.047*
rs3856806	T/C	0.19	0.81	0.19	0.81	0.975	0.481	1.979	0.005	0.945
rs4135247	G/A	0.32	0.52	0.43	0.57	1.049	0.597	1.843	0.027	0.868
rs4135275	A/G	0.66	0.34	0.57	0.43	1.486	0.835	2.644	1.820	0.177
rs4684846	G/A	0.50	0.50	0.54	0.46	1.224	0.698	2.145	0.498	0.480
rs6782475	G/T	0.07	0.97	0.07	0.93	0.978	0.330	2.901	0.002	0.969
rs709151	G/A	0.57	0.43	0.72	0.28	0.519	0.287	0.937	4.780	0.029*
rs7615916	A/G	0.32	0.68	0.37	0.63	1.269	0.705	2.286	0.632	0.426
rs7626560	T/C	0.00	0.88	0.00	0.86	1.154	0.374	3.565	0.062	0.803
rs9310401	T/C	0.68	0.32	0.63	0.37	1.269	0.705	2.286	0.632	0.426
rs9817428	C/A	0.51	0.49	0.54	0.46	1.223	0.700	2.137	0.499	0.480
rs1801282	C/G	0.92	0.08	0.81	0.19	2.639	1.096	6.355	4.935	0.026*

注:1,2指两种等位基因频率,*为 $P<0.05$,下表同。

个常见的SNP。

本研究通过遗传学研究中用最广泛的“病例-对照”研究方法寻找柯尔克孜族人群中T2DM的易感基因,为新疆地方与民族高发性疾病的预防、早期诊断和治疗等提供重要理论依据。研究结果显示*PPARG*基因在2型DM组和正常对照组两组间分别在血压(SBP、DBP)、腰臀比值、血糖、总胆固醇、低密度脂蛋白水平有显著差异($P<0.01$)。*PPARG*基因的31个SNP位点中rs6805419、rs9870196、rs4135304、rs4135329、rs4135343、rs4135354、rs4135356、rs17036700无基因多态性,没有分析意义。*PPARG*基因23个SNP位点中rs1801282、rs1899951、rs2881654、rs2972162位点基因分型在对照组和病例组间分布均有显著差异($P<0.01$, $P<0.05$)。rs1801282、rs1899951、rs2881654、rs2972162、rs2959273位点等位基因分布在对照-病例两组间均有显著差异($P<0.05$),

但rs1801282、rs1899951、rs2881654位点等位基因变异增加2型糖尿病的发病风险($OR=2.639$, $95\%CI=1.096\sim6.355$, $P=0.026$),同样rs2972162位点等位基因变异也增加2型糖尿病的发病风险($OR=1.774$, $95\%CI=1.006\sim3.127$, $P=0.047$),rs2959273和rs2959273位点等位基因变异对2型糖尿病的发病无风险($OR=0.558$, $95\%CI=0.311\sim1.001$, $P=0.049$; $OR=0.519$, $95\%CI=0.287\sim0.937$, $P=0.029$)。结果表明,上述*PPARG*基因中rs2959273和rs2959273等位点上虽然存在一定程度的多态性改变,两组等位基因频率分布均有统计学差异,但变异等位基因相对危险度OR值的95%CI均包括无效数值,提示该位点多态性所致的暴露因素可能与糖尿病的发病没有明显关联性,说明rs2959273和rs2959273位点的多态性改变可能不是柯尔克孜族人群糖尿病患者的遗传因素,有可能只是单纯的基因多态性,也可见于正常人群。*PPARG*基

表4 *PPARG*基因23个SNP位点基因型和等位基因在男女对照组间的分布

Table 4 Genotype and allele distribution of 23 SNPs loci in *PPARG* gene of the men and women control groups

SNP 编号	碱基	基因型频率						<i>P</i>	等位基因频率				<i>P</i>
		男(<i>n</i> =25)			女(<i>n</i> =24)				男(<i>n</i> =25)		女(<i>n</i> =24)		
		11	12	22	11	12	22		1	2	1	2	
rs1151999	C/A	0.32	0.28	0.4	0.33	0.38	0.29	0.684	0.46	0.54	0.52	0.48	0.611
rs1175540	C/A	0.32	0.28	0.28	0.42	0.42	0.16	0.600	0.52	0.48	0.62	0.38	0.316
rs17036242	G/A	0.44	0.32	0.24	0.50	0.42	0.08	0.325	0.60	0.40	0.71	0.29	0.068
rs1875796	C/T	0.40	0.28	0.32	0.29	0.38	0.33	0.684	0.54	0.46	0.48	0.52	0.611
rs1899951	G/A	0.96	0	0.04	0.75	0.25	0	0.020*	0.98	0.02	0.87	0.13	0.391
rs2292101	C/T	0.52	0.36	0.12	0.88	0.08	0.04	0.026*	0.70	0.30	0.92	0.08	0.159
rs2881654	G/A	0.96	0	0.04	0.75	0.25	0	0.020*	0.96	0.04	0.87	0.13	0.391
rs2921190	G/A	0.32	0.32	0.36	0.33	0.38	0.29	0.866	0.48	0.52	0.52	0.48	0.723
rs2938397	T/C	0.36	0.32	0.32	0.16	0.42	0.42	0.309	0.52	0.48	0.38	0.72	0.171
rs2959272	C/A	0.32	0.28	0.4	0.33	0.38	0.29	0.684	0.46	0.54	0.52	0.48	0.611
rs2959273	C/T	0.28	0.28	0.36	0.42	0.42	0.16	0.982	0.42	0.58	0.62	0.38	0.127
rs2972162	T/C	0.28	0.28	0.32	0.29	0.38	0.33	0.684	0.54	0.46	0.48	0.52	0.611
rs3856806	T/C	0.08	0.2	0.72	0.04	0.33	0.63	0.528	0.18	0.82	0.21	0.79	0.686
rs4135247	G/A	0.24	0.36	0.28	0.25	0.33	0.42	0.981	0.42	0.58	0.42	0.58	1.000
rs4135275	A/G	0.25	0.32	0.16	0.46	0.38	0.16	0.903	0.68	0.32	0.65	0.35	0.838
rs4684846	G/A	0.24	0.4	0.36	0.25	0.54	0.21	0.469	0.44	0.56	0.52	0.48	0.462
rs6782475	G/T	0	0.12	0.88	0.16	0	0.84	0.029*	0.06	0.94	0.17	0.83	0.045*
rs709151	G/A	0.32	0.28	0.28	0.42	0.42	0.16	0.600	0.52	0.48	0.62	0.38	0.316
rs7615916	A/G	0.16	0.36	0.48	0.08	0.42	0.50	0.705	0.34	0.66	0.29	0.71	0.464
rs7626560	T/C	0	0.12	0.88	0	0.13	0.87	0.957	0.06	0.94	0.06	0.94	—
rs9310401	T/C	0.48	0.36	0.16	0.50	0.42	0.08	0.705	0.66	0.34	0.71	0.29	0.4644
rs9817428	C/A	0.32	0.44	0.24	0.21	0.54	0.25	0.657	0.54	0.46	0.48	0.52	0.561
rs1801282	C/G	0.96	0	0.04	0.75	0.25	0	0.020*	0.96	0.04	0.87	0.13	0.391

因的23个SNP位点中 rs1899951、rs2292101、rs2881654、rs1801282位点在男性和女性对照组间基因型分布频率均有统计学差异($P<0.05$),等位基因频率差异未达到统计学意义,rs6782475位点在男性和女性对照组间基因型和等位基因频率均有统计学差异($P<0.05$); rs4684846、rs709151、rs7615916位点在男性和女性病例组间基因型分布频率均有统计学差异($P<0.05$),rs4684846、rs7615916、rs9817428位点在男性和女性病例组间等位基因分布频率均有统计学差异($P<0.05$)。最近,Ruchat等^[17],Tariq等^[18],Pei等^[19]分别以加拿大人,阿拉伯人,巴基斯坦人,中国汉族人群为对象进行*PPARG*基因rs1801282多态性与T2DM关联,也得出了相同的结论。

本次研究的31个SNP位点主要选自内含子区域,DNA

不同区域的单核苷酸变异以不同的方式影响最后蛋白质酶的生成效应,非编码区SNPs主要对mRNA转录起调控作用而影响蛋白质的表达。内含子区域DNA不编码蛋白质,且在mRNA由核酸翻译成蛋白质前被剪切掉,但他们的多态性可以改变mRNA剪切的位置而导致mRNA剪切的改变,调节mRNA转录后修饰和蛋白质生成,已有文献报道该区SNP导致基因突变或某些分子机制影响*PPARG*分子的正常表达,而产生典型胰岛素抵抗的T2DM症状。目前这方面研究主要集中在外显子区域,内含子区域涉及较少,因此本研究的SNPs位点组合可以为以后相关位点内含子区域的研究提供参考。

总之,新疆柯尔克孜糖尿病对照组和病例组*PPARG*基因31个SNP位点多态性频率比较研究中,首次发现这4个SNP(rs1801282、rs1899951、rs2881654及rs2972162)位点变异与

表5 *PPARG*基因23个SNP位点在男女病例组间的基因型和等位基因分布Table 5 Genotype and allele distribution of 23 SNPs loci in *PPARG* gene of the men and women case groups

SNP位点	碱基	基因型频率						<i>P</i>	等位基因频率				<i>P</i>
		男性			女性				男性		女性		
		11	12	22	11	12	22		1	2	1	2	
rs1151999	A/C	0.16	0.14	0.20	0.16	0.18	0.14	0.742	0.23	0.28	0.26	0.23	0.539
rs1175540	A/C	0.19	0.21	0.15	0.19	0.21	0.09	0.169	0.30	0.26	0.28	0.19	0.383
rs17036242	A/G	0.22	0.16	0.08	0.24	0.20	0.04	0.325	0.31	0.16	0.35	0.14	0.147
rs1875796	C/T	0.20	0.14	0.16	0.14	0.18	0.14	0.742	0.28	0.23	0.23	0.23	0.539
rs1899951	A/G	0.49	0.00	0.02	0.37	0.12	0.00	0.550	0.49	0.02	0.43	0.06	0.799
rs2292101	C/T	0.27	0.18	0.06	0.43	0.04	0.02	0.771	0.36	0.15	0.45	0.04	0.372
rs2881654	A/G	0.49	0.00	0.02	0.37	0.12	0.00	0.432	0.49	0.02	0.43	0.06	0.799
rs2921190	A/G	0.16	0.16	0.18	0.16	0.18	0.14	0.099	0.24	0.27	0.24	0.23	0.534
rs2938397	C/T	0.18	0.16	0.16	0.08	0.20	0.20	0.742	0.27	0.24	0.18	0.31	0.668
rs2959272	A/C	0.18	0.14	0.20	0.14	0.18	0.14	0.099	0.26	0.28	0.23	0.23	0.539
rs2959273	C/T	0.18	0.14	0.18	0.20	0.20	0.08	0.432	0.26	0.26	0.31	0.18	0.668
rs2972162	C/T	0.22	0.14	0.16	0.12	0.18	0.16	0.543	0.30	0.23	0.21	0.26	0.534
rs3856806	C/T	0.04	0.10	0.37	0.02	0.16	0.31	0.820	0.09	0.42	0.10	0.39	0.545
rs4135247	G/A	0.14	0.18	0.20	0.10	0.16	0.20	0.110	0.23	0.30	0.18	0.29	0.157
rs4135275	A/G	0.27	0.16	0.08	0.22	0.18	0.08	0.112	0.35	0.16	0.32	0.17	0.840
rs4684846	A/G	0.14	0.20	0.16	0.12	0.27	0.10	0.008*	0.24	0.27	0.26	0.23	0.045*
rs6782475	G/T	0.00	0.06	0.45	0.00	0.08	0.41	0.684	0.03	0.48	0.04	0.45	0.695
rs709151	A/G	0.16	0.20	0.14	0.20	0.20	0.08	0.030*	0.20	0.24	0.31	0.18	0.373
rs7615916	A/G	0.08	0.18	0.24	0.04	0.20	0.24	0.038*	0.17	0.34	0.14	0.35	0.009**
rs7626560	C/T	0.00	0.06	0.45	0.00	0.06	0.43	0.684	0.03	0.48	0.03	0.46	0.695
rs9310401	C/T	0.24	0.18	0.08	0.24	0.20	0.04	0.345	0.34	0.17	0.35	0.14	0.147
rs9817428	A/C	0.16	0.22	0.12	0.10	0.27	0.12	0.112	0.28	0.34	0.23	0.26	0.045*
rs1801282	C/G	0.49	0.00	0.02	0.37	0.12	0.00	0.771	0.49	0.02	0.43	0.06	0.799

柯尔克孜族人的糖尿病可能存在关联,提示它们是新疆柯尔克孜族人群2型糖尿病的易感基因位点,为进一步研究基因多态性与相关疾病发病危险性和前瞻性提供基础数据。

6 结论

*PPARG*基因31个SNP位点多态性研究中,rs1801282、rs1899951、rs2881654及rs2972162这4个SNP位点变异与柯尔克孜族人的糖尿病可能存在关联,其余的SNP位点与糖尿病的发生可能无关。

参考文献(References)

[1] Huang G M, Huang K Y, Lee T Y, et al. An interpretable rule-based diagnostic classification of diabetic nephropathy among type 2 diabetes

patients[J]. BMC Bioinformatics, 2015, 16(Suppl 1): S5.

- [2] Stagi S, Lapi E, Seminara S. Salvatore seminar a significantly reduces body mass index and hyper insulinism and may decrease the risk of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in obese children and adolescents with family history of obesity and T2DM[J]. Italian Journal of Pediatrics, 2015, 41(10):1-12.
- [3] Jung J A, Lee S Y, Kim T E, et al. lack of the effect of lobeglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonist, on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of warfarin[J]. Drug Design, Development and Therapy, 2015, 2(9): 737-743.
- [4] Rastegari A, Rabbani M, Sadeghi H M. Association of KCNJ11 (E23K) gene polymorphism with susceptibility to type 2 diabetes in Iranian patients[J]. Advanced Biomedical Research, 2015, 4(1): 1-13.
- [5] Liu N J, Wu H H, Li Y L. An analysis of the association between a polymorphism of KCNJ11 and diabetic retinopathy in a Chinese Han

- population[J]. European Journal of Medical Research, 2015, 20(1): 1-7.
- [6] Zhang Y, Guo X, Guo J, et al. Lactobacillus casei reduces susceptibility to type 2 diabetes via microbiota-mediated body chloride ion influx[J]. Scientific Reports, 2014, 4.
- [7] 孙亮, 王沂. 中国北方人2型糖尿病易感基因的PPARGC1的分子遗传学研究[D]. 北京: 中国科学院遗传与发育生物学研究所, 2007.
Sun Liang, Wang Li. Molecular genetics study on PPARGC1 as a susceptible gene to type 2 diabetes in northern Chinese[D]. Beijing: Institute of Genetics and Developmental Biology, Chinese Academy of Sciences, 2007.
- [8] 骆文书. 过氧化物酶体增殖物激活受体 α δ γ 单核苷酸多态性以及单体型与BMI和腰围的关系[D]. 苏州: 苏州大学, 2012.
Luo Wenshu. Study on genetic polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptors and haplotype on body mass index and waist circumference[D]. Suzhou: Suzhou University, 2012.
- [9] 海波, 解惠坚, 郭志荣, 等. 过氧化物酶体增殖物激活受体以及基因-基因交互作用与脂质蓄积指数水平的关系[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 11(34): 1071-1076.
Hai Bo, Xie Huijian, Guo Zhirong, et al. Association of both peroxisome proliferator-activated receptor, gene-gene interactions and the lipid accumulation product[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2013, 11(34): 1071-1076.
- [10] Wang L, Waltenberger B. Natural product agonists of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ): A review[J]. Biochemical Pharmacology, 2014, 92(1): 73-89.
- [11] 姬森林, 黄青阳. PPAR γ 变异与复杂疾病[J]. 遗传, 2006, 28(8): 993-1001.
Ji Senlin, Huang Qingyang. PPAR γ variants and complex diseases[J]. Hereditas, 2006, 28(8): 993-1001.
- [12] Wang L, Waltenberger B, Pferschy-Wenzig E M, et al. Natural product agonists of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ): A review[J]. Biochemical Pharmacology, 2014, 92(1): 73-89.
- [13] Wang T, Xu J, Yu X, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor γ in malignant diseases[J]. Critical Reviews in Oncology/Hematology, 2006, 58(1): 1-14.
- [14] Usuda D, Kanda T. Peroxisome proliferator-activated receptors for hypertension[J]. World Journal of Cardiology, 2014, 6(8): 744.
- [15] Lai L, Wang M, Martin O J, et al. A role for peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator 1 (PGC-1) in the regulation of cardiac mitochondrial phospholipid biosynthesis[J]. Journal of Biological Chemistry, 2014, 289(4): 2250-2259.
- [16] Oger F, Dubois-Chevalier J, Gheeraert C, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor γ regulates genes involved in insulin/insulin-like growth factor signaling and lipid metabolism during adipogenesis through functionally distinct enhancer classes[J]. Journal of Biological Chemistry, 2014, 289(2): 708-722.
- [17] Ruchat S M, Rankinen T, Weisnagel S J, et al. Improvements in glucose homeostasis in response to regular exercise are influenced by the PPARG Pro12Ala variant: Results from the HERITAGE family study[J]. Diabetologia, 2010, 53(4): 679-689.
- [18] Tariq K, Malik S B, Ali S H B, et al. Association of Pro12Ala polymorphism in peroxisome proliferator activated receptor gamma with proliferative diabetic retinopathy[J]. Molecular Vision, 2013, 19(5): 710-717.
- [19] Pei Q, Huang Q, Yang G, et al. PPAR- γ 2 and PTPRD gene polymorphisms influence type 2 diabetes patients' response to pioglitazone in China[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 2013, 34(2): 255-261.

(编辑 田恬)