

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00315

SUMO4 基因多态性与 2 型糖尿病的关系

蒲连美¹, 南楠¹, 杨泽², 金泽宁¹

1. 首都医科大学附属安贞医院心内科, 北京 100029;

2. 卫生部北京医院/卫生部北京老年医学研究所, 卫生部老年医学重点实验室, 北京 100730

摘要: 为了探讨北京汉族人群小泛素样修饰蛋白 4(Small ubiquitin-like modifier 4, SUMO4)基因多态性与 2 型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)的关系, 文章采用病例对照设计, 选取 404 例 T2DM 患者(T2DM 组)以及年龄、性别匹配的 500 例健康对照者(Control 组)作为研究对象, 应用聚合酶链反应-高分辨熔解曲线(PCR-HRM)技术结合测序验证法, 检测 SUMO4 基因 3 个单核苷酸多态性位点(rs237025、rs237024 及 rs600739)的基因型与等位基因分布情况, 比较 T2DM 组糖化血红蛋白(Hemoglobin A_{1c}, HbA_{1c})在各基因型间的分布, 并进行单倍型分析。结果显示: ① rs237025 的 G 等位基因在 T2DM 组出现的频率更高(0.334 vs. 0.282, $P=0.017$); GA 基因型携带者患 T2DM 的风险是 AA 基因型携带者的 1.563 倍($P=0.001$; OR, 1.563; 95% CI, 1.189-2.053); 在显性模型(GG+GA vs. AA)分析中, G 等位基因携带者(GG+GA)患 T2DM 的风险是 AA 基因型携带者的 1.525 倍($P=0.002$; OR, 1.525; 95% CI, 1.169-1.989)。而 rs237024 和 rs600739 多态性未发现与 T2DM 的易感性相关($P>0.05$)。② 在 T2DM 组, rs237025 的 G 等位基因携带者、rs237024 的 TT 基因型携带者及 rs600739 的 GG 基因携带者具有较高的 HbA_{1c} 水平, 但各基因型携带者之间 HbA_{1c} 水平并无统计学差异($P>0.05$)。③ 单倍型 AAC、AGC 及 GGT 与 T2DM 的易感性正相关(OR>1); 而单倍型 AAT、GAC 与 T2DM 的易感性负相关(OR<1)。据此得出结论: rs237025 多态性与北京汉族人群 T2DM 的易感性相关, rs237024 和 rs600739 多态性可能与 T2DM 的易感性不相关。

关键词: SUMO4; 多态性; 2 型糖尿病; 单体型; 关联

Association between SUMO4 polymorphisms and type 2 diabetes mellitus

PU Lian-Mei¹, NAN Nan¹, YANG Ze², JIN Ze-Ning¹

1. Department of Cardiology, Beijing Anzhen Hospital, Capital Medical University, Beijing 100029, China;

2. The Key Laboratory of Geriatrics, Beijing Hospital & Beijing Institute of Geriatrics, Ministry of Health, Beijing 100730, China

Abstract: This study investigated the association between small ubiquitin-like modifier 4 (SUMO4) gene polymorphisms and type 2 diabetes mellitus (T2DM) in Chinese Han of Beijing area. Using the case-control method, we included 404 T2DM patients in T2DM group and 500 age- and gender- matched healthy subjects in control group. We detected the distribution of alleles and genotypes of the three single nucleotide polymorphisms (SNPs, rs237025, rs237024 and rs600739)

收稿日期: 2011-09-08; 修回日期: 2011-10-18

作者简介: 蒲连美, 硕士研究生, 专业方向: 冠心病合并糖尿病的易感基因研究。Tel: 010-64456471; E-mail: pulianmei@126.com

通讯作者: 金泽宁, 博士, 教授, 研究方向: 冠心病合并糖尿病的易感基因研究。E-mail: jinzening@hotmail.com

网络出版时间: 2012-2-13 16:44:03

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120213.1644.001.html>

with the polymerase chain reaction-high resolution melting curve (PCR-HRM) combined with gene sequencing, analysed the differences of glycosylated hemoglobin A1c (HbA1c) among different genotypes carriers in T2DM group, and conducted a haplotype analysis. In this study, the results showed that the frequency of the *G* allele of rs237025 was significantly higher in T2DM group than that of control group (0.334 vs. 0.282, $P = 0.017$). Compared with control group, the *GA* genotype carriers of T2DM patients had 1.563 times more susceptibility to T2DM [$P = 0.001$; odds ratio (OR), 1.563; 95% confidence interval (CI), 1.189–2.053]. Meanwhile, the *G* allele carriers (*GG+GA*) of T2DM patients had 1.525 times more susceptibility to T2DM in the dominant model (*GG+GA* vs. *AA*, $P = 0.002$; OR, 1.525; 95% CI, 1.169–1.989). However, as for rs237024 and rs600739, no significant differences were found in the distribution of the genotypes and alleles between two groups ($P > 0.05$). Although our study didn't observe any statistically significant results, we found that T2DM patients with *GG* and *GA* genotypes of rs237025, *TT* genotype of rs237024 and *GG* genotype of rs600739 had a higher level of HbA1c than counterparts in control group. In addition, the *AAC*, *AGC* and *GGT* haplotypes might contribute to susceptibility to T2DM ($OR > 1$), while the *AAT* and *GAC* haplotypes might be considered as protective factors against T2DM ($OR < 1$). The results suggested that rs237025 polymorphisms was associated with susceptibility to T2DM, but rs237024 and rs600739 were not.

Keywords: *SUMO4*; polymorphisms; type 2 diabetes mellitus; haplotype; association

2 型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)是与胰岛β细胞分泌受损和胰岛素抵抗相关的一种遗传异质性疾病。研究发现核因子κB(NF-κB)信号通路参与胰岛素分泌损伤^[1]、胰岛素抵抗^[2]及T2DM的血管并发症^[3]。小泛素样修饰蛋白 4(Small ubiquitin-like modifier 4, *SUMO4*)是小泛素样修饰蛋白成员之一,位于 1 型糖尿病(Type 1 diabetes mellitus, T1DM)易感位点IDDM5(染色体 6q25)内。*SUMO4*与NF-κB的抑制剂IκB α 结合,共同抑制NF-κB的转录活性。尽管T1DM和T2DM的发病机理不同,但流行病学资料显示两型糖尿病存在家族聚集性特点^[4],提示他们有共同的遗传基础。目前已有研究证实*SUMO4*基因多态性与亚洲多个国家和种族的T1DM的易感性相关^[5],而与T2DM相关性研究方面也取得了一定的成果^[6-9]。本研究旨在探讨*SUMO4*基因的 3 个单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphisms, SNPs)位点rs237025、rs237024 和rs 600739在北京地区汉族人群T2DM 易感性中的作用。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选取 2008 年 6 月至 2008 年 12 月在卫生部北京医院体检中心及病房就诊的 T2DM 患者 404 例(T2DM 组),其中男 211 例,女 179 例,平均年龄

60.9±10.3 岁。T2DM 组定义为:既往明确有 T2DM 病史,目前服用药物或非药物方法治疗(无胰岛素使用史),临床诊断根据 1999 年 WHO 关于 T2DM 的诊断标准,并排除 T1DM、合并急性并发症(酮症酸中毒、高渗状态)的 T2DM、患有恶性疾病(肿瘤及恶病质等)、合并中重度肝肾损害及胰腺损害的患者。

健康对照组(Control 组)为同期在卫生部北京医院体检中心进行例行体格检查的健康人群 500 例,其中男性 271 例,女性 229 例,平均年龄 58.6±10.3 岁,与 T2DM 组性别和年龄匹配,血糖:空腹≤6.0mmol/L (108 mg/dL),餐后 2 h≤7.7 mmol/L(139 mg/dL)。

所有研究对象:年龄>18 岁、汉族、无血缘关系的北京地区常住居民(北京市户籍,3 代及以上均在北京长期居住,无异地及异族通婚史),签署知情同意书并同意提供外周血用于检测。此项研究得到卫生部北京医院、卫生部老年医学研究所伦理审核委员会的认可。符合世界医学会赫尔辛基宣言:人体医学研究的理论原则。

1.2 方法

1.2.1 SNPs 的选择

根据*SUMO4*基因DNA序列(GenBank登录号:387082),对 20 名北京汉族T2DM患者进行直接测序,筛选次要等位基因频率>0.05 的SNPs并参考文献^[8],入选的 3 个SNPs分别位于启动子区域-504A→

G(rs600739)、编码区+163A→G(rs237025)及 3'非翻译区+438C→T(rs237024)。

1.2.2 基因组 DNA 提取及定量

取 EDTA 抗凝的外周血 0.5 mL, 用全基因组 DNA 提取试剂盒(由 Bio Chain 公司提供)进行 DNA 提取, 并用 DNA 定量分析仪(采用德国 Eppendorf 公司的 Biophotometer 蛋白/核酸比色仪)分析其浓度和纯度, 根据测定结果将样本 DNA 稀释至 20 ng/μL 的工作液中并置于 4℃ 冰箱待用。

1.2.3 PCR 反应

从 GenBank 中查取 rs237025、rs237024 及 rs600739 附近的基因序列, 通过 Olio 6.0 和 primer5.0 软件完成引物设计(引物序列见表 1), 用 C3 封闭寡核苷酸内参末端, 以阻止延伸反应。PCR 反应体系 10 μL: DNA 模板 1 μL, 10×PCR Buffer 1 μL, dNTP 10 mmol/L, 0.2 μL(购自北京鼎国生物技术有限公司), *Taq* DNA 聚合酶(5 U/μL)0.2 μL(购自北京鼎国生物技术有限公司), rs237025、rs237024 及 rs600739 上下游引物(10 pmol/μL)各 0.1 μL(由上海生工生物技术责任有限公司合成), 1×LC-green PLUS 饱和荧光染料(购自美国 Idaho 公司)1 μL, 寡核苷酸内参 0.2 μL(高温寡核苷酸内参与低温寡核苷酸内参 4 个片段各 0.05 μL), 去离子水补充至总体积为 10 μL。反应体系中加 15 μL 石蜡油, 使反应在更好的密封条件下进行并防止反应液体蒸发。PCR 扩增条件为: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 30 s, 复性 30 s(不同引物的复性温度见表 1), 72℃ 延伸 6 s, 45

个循环; 最后再 72℃ 延伸 7 min。之后进行高分辨率熔解曲线(High resolution melting curve, HRM)分析之前的变性和复性处理, 程序为: 95℃ 30 s, 25℃ 2 min, 94℃ 30 s, 24℃ 4 min。

1.2.4 基因分型

基因分型采用 HRM 小扩增子方法^[10]。将扩增好的 PCR 产物移入 HRM 专用 96 孔板内, 在 LightScanner TMHR-I 96 仪上进行 HRM 分析: 升温到 45℃ 时, 以 0.3℃/s 的斜率采集熔解曲线, 98℃ 结束, 用 Light Scanner Call IT 软件对采集后的曲线进行分析, 判定基因型。

1.2.5 测序验证

根据 HRM 分析的不同熔解曲线初步确定相应基因型。从所得的各基因型个体中随机抽取 3 例样本进行测序验证。测序的样本重新进行 PCR 扩增, PCR 引物上游序列 5'-TCCCAACCAATAATAGCAAGT-3', 下游序列 5'-AAAGACAGATTGCCCTAC-3'; 测序引物序列 5'-TGACAGCGGTGGATGAGGGAGAGGG-3'。PCR 反应体系 50 μL: DNA 模板 5 μL, 10×PCR Buffer 5 μL, dNTP(10 mmol/L)1 μL, *Taq* DNA 聚合酶(5 U/μL)1 μL, 上下游引物(10 pmol/μL)各 0.5 μL, 去离子水补充总体积至 50 μL。PCR 扩增条件为: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 30 s, 50℃ 复性 30 s, 72℃ 延伸 120 s, 35 个循环; 最后再 72℃ 延伸 7 min。PCR 产物经 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 凝胶成像系统观察合格后送华大基因测序部进行测序验证。

表 1 PCR 引物序列、复性温度及其产物长度

SNPs		引物序列(5'→3')	复性温度(℃)	产物长度(bp)
rs237025	上游	CCCACCAAATCGGAATCTGA	55.5	63
	下游	ATGAAAGCCTATTGTGAACCA		
rs237024	上游	CACATACCAGTTACTTCAT	49.9	61
	下游	CTCTATTCTTTTGTTCCTCC		
rs6000739	上游	TACTGCATCTTTACAACC	51.7	62
	下游	AAGAAGAAAACCTGCAAG		
低温内参	上游	TTAAATTATAAAATATTTATAATATTAATTATATATATATAAAATATAATA-C3	60	50
	下游	TATTATATTTATAATATATAATTAATATATAAAATATTTTATAAATTTAA-C3		
高温内参	上游	GCGCGGCCGCGACTGACCCGAGACTCTGAGCGGCTGCTGGAGGTGCGGAAGCGGAGGGGCGGG-C3	92	63
	下游	CCCGCCCTCCGCTTCCGCACCTCCAGCAGCCGCTCAGAGTCTCGGGTCA GTGCCGCGCGC-C3		

1.3 统计学处理

数据统计分析采用SPSS17.0软件。用比值比(the odds ratios, OR)值及其 95%置信区间(95% confidence intervals, 95% CI)来评价相对风险。实验数据中计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用两独立样本 t 检验或Mann-Whitney U秩和检验; 组间基因型频率及等位基因频率比较采用Fisher's或Pearson's χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用SHEsis软件(http://analysis.bio-x.cn/SHEsis_Main.htm)进行连锁不平衡分析, 以 $P < 0.05$ 说明存在连锁不平衡; 进行单倍型分析, 定义最低频率阈值为 0.03, 即频率小于 0.03 的单倍型不考虑分析; 进行哈丁温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)验证样本的群体代表性, 以 $P > 0.05$ 为符合HWE定律。检验效能采用PAWE version 1.2^[11, 12] (<http://linkage.rockefeller.edu/pawe/pawe.cgi>), 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。多组间多重比较的检验水准采用Bonferroni方法校正, $\alpha' = 0.05/m$, m 为比较的次数。

ler.edu/pawe/pawe.cgi), 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。多组间多重比较的检验水准采用Bonferroni方法校正, $\alpha' = 0.05/m$, m 为比较的次数。

2 结果与分析

2.1 HWE 定律吻合度检验

经 HWE 检验, 在 Control 组中 SNPs rs237025、rs237024 及 rs600739 多态位点的基因型频率已达到遗传平衡($P > 0.05$), 说明 Control 组入选人群具有群体代表性, 见表 3。

2.2 分型结果

通过 HRM 基因分型系统, SNPs rs237025、rs237024 和 rs600739 均有 3 种基因型, 每种基因型的熔解曲线差异非常明显(图 1)。在每种基因型携带

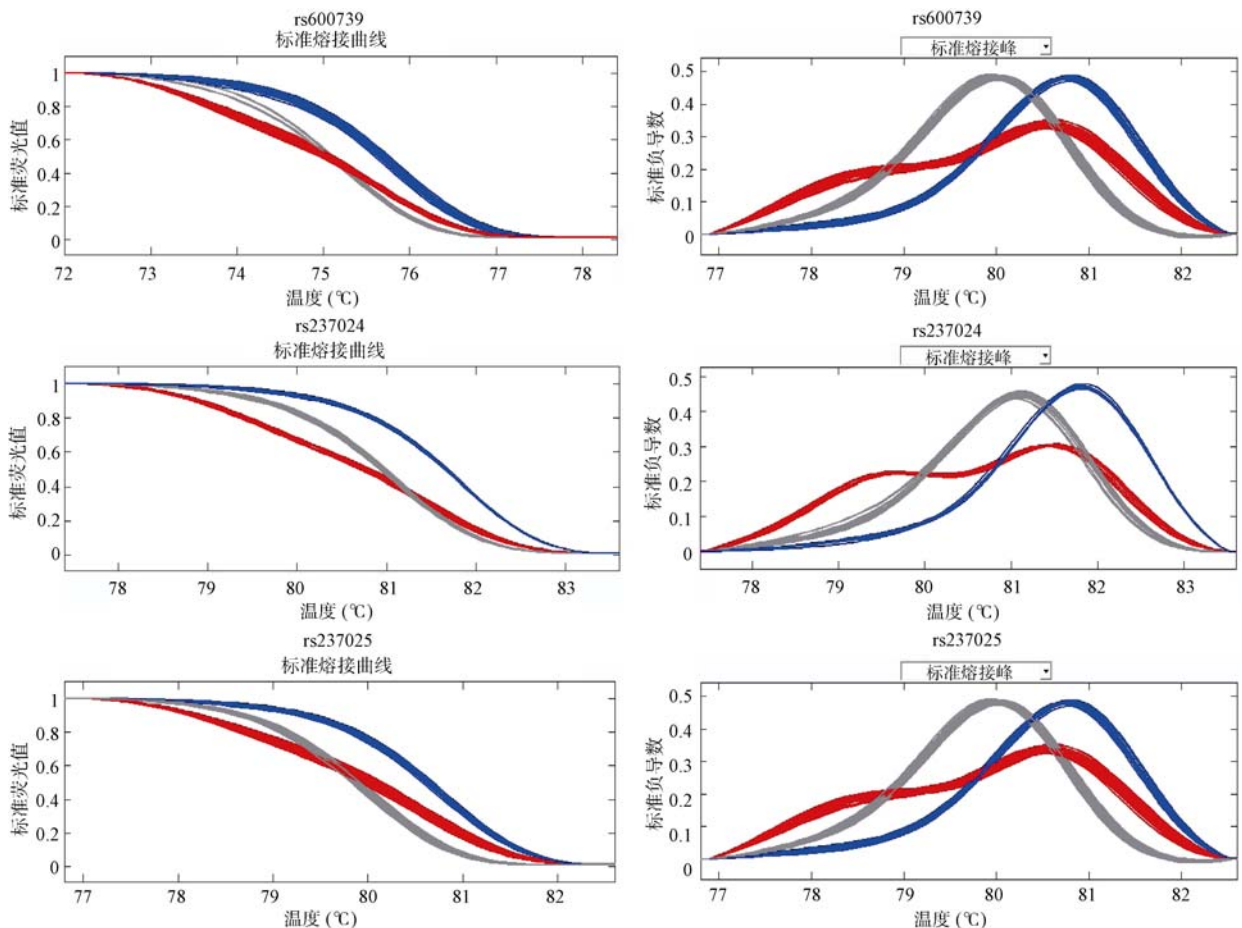


图 1 SUMO4 基因 rs600739、rs237024 及 rs237025 HRM 分型图(HRM 曲线)

rs237025: 蓝色 GG、红色 GA、灰色 AA; rs237024: 蓝色 CC、红色 CT、灰色 TT; rs600739: 蓝色 GG、红色 GA、灰色 AA。

者中选 3 例进行测序验证, 进行基因型的确定以及 HRM 分型结果准确性的评估。HRM 分型的结果与测序的结果完全吻合, 准确率为 100%(图 2)。测序结果进行网上 BLAST 比对, 序列完全一致。

2.3 *SUMO4* 基因 3 个 SNPs 的等位基因和基因型分布

在等位基因分析中, rs237025 的风险 *G* 等位基因在 T2DM 组出现的频率更高(0.334 vs. 0.282, $P=0.017$); 在基因型分析中, *GA* 基因型携带者的患 T2DM 的风险是 *AA* 基因型携带者的 1.563 倍($P=0.001$; OR, 1.563; 95% CI, 1.189-2.053); 在显性模型(*GG+GA* vs.*AA*)分析中, *G* 等位基因携带者(*GG+GA*)患 T2DM 的风险是 *AA* 基因型携带者 1.525 倍($P=0.002$; OR, 1.525; 95% CI, 1.169-1.989)。

rs237024 和 rs600739 的等位基因及基因型在 T2DM 组和 Control 组间的分布无统计学差异($P>0.05$); 在显、隐性遗传模型分析中, 2 个 SNPs 的基因型在两组间的分布也无明显差异($P>0.05$)。结果见

表 2。

2.4 3 个 SNPs 的等位基因频率在不同人群间的比较

将本研究结果与 HapMap 数据库(<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>)不同人群, 包括北京汉族人群(Han Chinese in Beijing, HCB)、日本东京人群(Japanese in Tokyo, JPT)、欧洲人群(Utah residents with Northern and Western European ancestry from the CEPH collection, CEU)及非洲尼日利亚伊巴丹的优鲁巴人群(Yoruba in Ibadan, Nigeria, YRI), *SUMO4* 基因 3 个 SNPs 的主要等位基因频率(Major allele frequency, Major)和次要等位基因频率(Minor allele frequency, Minor)相比较, 见表 3。

将 T2DM 组分别与 Control、HCB、JPT、CEU 及 YRI 5 组的 Major、Minor 进行多重比较, 检验水准采用 Bonferroni 方法校正, $\alpha'=0.010[0.05/(6-1)]$; 同样, Control 组人群与其他 5 组进行比较时, $\alpha'=0.010$ 。

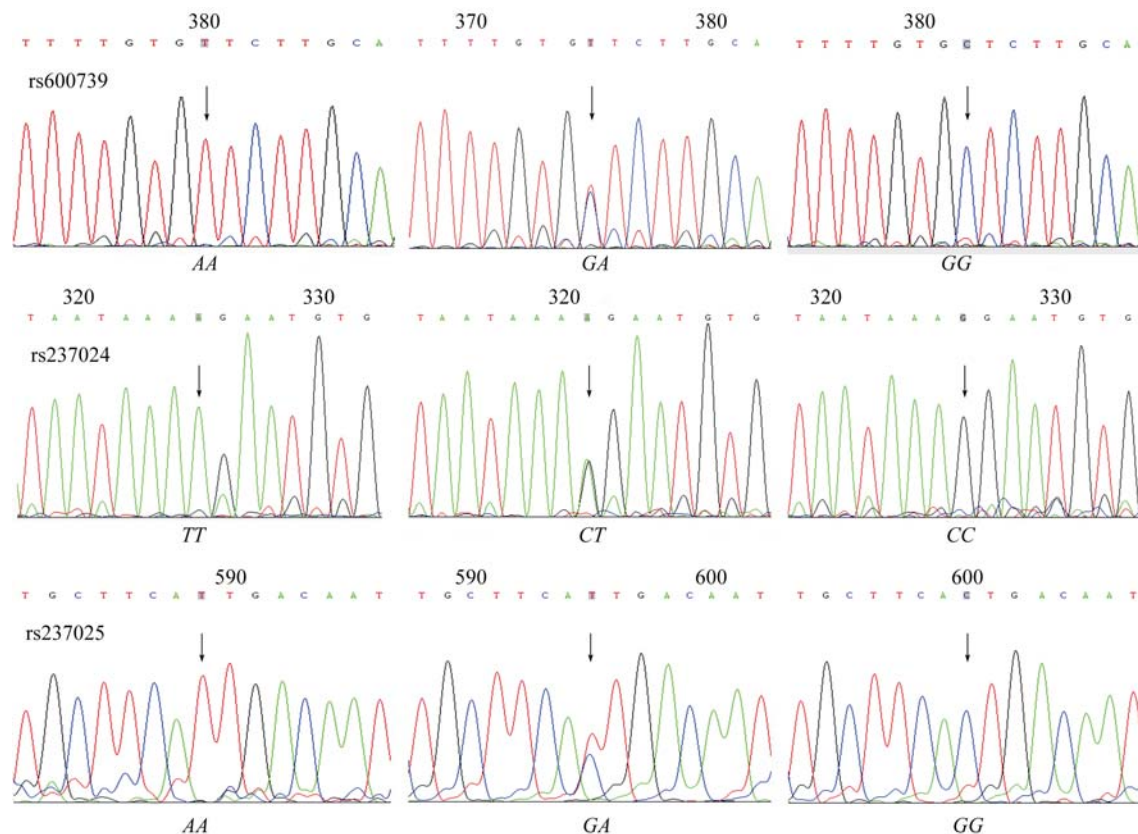


图 2 *SUMO4* 基因 rs600739、rs237024 及 rs237025 基因型测序图

表 3 本研究 and 不同人群 *SUMO4* 基因 3 个 SNPs 等位基因频率的比较

rs237025	北京汉族人群(本研究)		^a HCB	^b JPT	^c CEU	^d YRI
	T2DM	Control				
^e Major	<i>G</i> =0.334	<i>G</i> =0.282	<i>G</i> =0.222	<i>G</i> =0.300	<i>A</i> =0.483	<i>G</i> =0.233
^f Minor	<i>A</i> =0.666	<i>A</i> =0.718	<i>A</i> =0.778	<i>A</i> =0.700	<i>G</i> =0.517	<i>A</i> =0.767
^g HWE	—	0.086	0.527	1.000	0.527	0.050
<i>P</i> (与 T2DM 组比较)	—	0.017	0.031	0.514	0.002	0.027
<i>P</i> (与 Control 组比较)	0.017	—	0.225	0.717	<0.001	0.260

rs600739	北京汉族人群(本研究)		HCB	JPT	CEU	YRI
	T2DM	Control				
Major	<i>G</i> =0.469	<i>G</i> =0.482	<i>A</i> =0.488	<i>G</i> =0.482	<i>G</i> =0.084	<i>G</i> =0.040
Minor	<i>A</i> =0.531	<i>A</i> =0.518	<i>G</i> =0.512	<i>A</i> =0.518	<i>A</i> =0.916	<i>A</i> =0.960
HWE	—	0.456	1.000	0.371	0.752	1.000
<i>P</i> (与 T2DM 组比较)	—	0.584	0.733	0.767	<0.001	<0.001
<i>P</i> (与 Control 组比较)	0.584	—	0.910	0.994	<0.001	<0.001

rs237024	北京汉族人群(本研究)		HCB	JPT	CEU	YRI
	T2DM	Control				
Major	<i>T</i> =0.316	<i>T</i> =0.311	<i>T</i> =0.186	<i>T</i> =0.269	<i>C</i> =0.450	<i>T</i> =0.008
Minor	<i>C</i> =0.684	<i>C</i> =0.689	<i>C</i> =0.814	<i>C</i> =0.731	<i>T</i> =0.550	<i>C</i> =0.992
HWE	—	0.051	0.150	0.333	—	1.000
<i>P</i> (与 T2DM 组比较)	—	0.834	0.013	0.398	0.004	<0.001
<i>P</i> (与 Control 组比较)	0.834	—	0.015	0.442	0.002	<0.001

注：^aHCB: 北京汉族人群(Han Chinese in Beijing); ^bJPT: 日本东京人群(Japanese in Tokyo); ^cCEU: 欧洲人群(Utah residents with Northern and Western European ancestry from the CEPH collection); ^dYRI: 非洲尼日利亚伊巴丹的优鲁巴人群(Yoruba in Ibadan, Nigeria); ^eMajor: 主要等位基因频率(Major allele frequency); ^fMinor: 次要等位基因频率(Minor allele frequency); ^gHWE: 哈丁温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium)。

本研究入选人群(T2DM 组和 Control 组)的每种 SNP 的 Major 和 Minor 与 HCB、JPT 间的差异均无统计学意义($P>0.010$), 而与 YRI(除 rs237025 外)和 CEU 间的差异有统计学意义($P<0.010$)。

2.5 T2DM 组糖化血红蛋白间的比较

在 T2DM 组以 HbA1c 6.5%为界点, 3 个 SNPs 的分布及其携带者的 HbA1c 水平在基因型、显性模型和隐性模型分析中均未发现统计学差异($P>0.05$)。但对于 rs237025, *G* 等位基因携带者(*GG* 或 *GA*)具有较高的 HbA1c 水平(*GG* vs. *GA* vs. *AA*, $8.95\%\pm 2.78\%$ vs. $8.54\%\pm 2.24\%$ vs. $8.48\%\pm 2.45\%$); 对于 rs237024, *TT* 基因型携带者的 HbA1c 水平高于非 *TT* 基因型携带者, (*TT* vs. *TC* vs. *CC*, $8.90\%\pm 2.16\%$ vs. $8.49\%\pm 2.11\%$ vs. $8.52\%\pm 2.61\%$); 对于 rs600739, *GG* 基因型携带者 HbA1c 水平较高, 而 *GA* 基因型携带

者的 HbA1c 水平较低(*GG* vs. *GA* vs. *AA*, $8.87\%\pm 2.70\%$ vs. $8.31\%\pm 2.14\%$ vs. $8.74\%\pm 2.47\%$)。详见表 4。

2.6 连锁不平衡和单倍型分析

3 个 SNPs 在 6 号染色体的位置分别是: rs600739: 149721024; rs237025: 149721690; rs237024: 149721965。采用 SHEsis 软件对 *SUMO4* 基因 3 个 SNPs 进行连锁不平衡分析和单倍型分析。连锁不平衡分析提示: 3 个 SNPs 之间存在连锁不平衡($P<0.05$), *D'*及 r^2 值见表 5。

单倍型分析提示: 单倍型 AAC(rs600739 *A*、rs237025 *A*、rs237024 *C*)、AGC 及 GGT 在 T2DM 组出现的频率显著高于 Control 组($P<0.05$), 其携带者可能会增加 T2DM 的患病风险($OR>1$); 而单倍型 AAT 和 GAC 在 T2DM 组出现的频率显著低于 Control 组($P<0.05$), 与 T2DM 易感性负相关($OR<1$), 见表 6。

表 4 T2DM 组不同基因型携带者的糖化血红蛋白间的差异

rs237025	基因型			<i>P</i>	显性模型		<i>P</i>	隐性模型		<i>P</i>
HbA _{1c}	AA	GA	GG		GG+GA	AA		GG	GA+AA	
≥6.5%(n)	128	173	20	0.936	193	128	0.826	20	301	0.741
<6.5%(n)	32	45	6		51	32		6	77	
$\bar{x}\pm s(\%)$	8.48±2.45	8.54±2.24	8.95±2.78	0.640	8.58±2.30	8.48±2.45	0.664	8.95±2.78	8.51±2.33	0.361
rs237024	基因型			<i>P</i>	显性模型		<i>P</i>	隐性模型		<i>P</i>
HbA _{1c}	CC	TC	TT		TT+TC	CC		TT	TC+CC	
≥6.5%(n)	146	144	31	0.806	175	146	0.524	31	290	0.734
<6.5%(n)	41	35	7		42	41		7	76	
$\bar{x}\pm s(\%)$	8.52±2.61	8.49±2.11	8.90±2.16	0.616	8.56±2.12	8.52±2.62	0.281	8.89±2.16	8.50±2.23	0.281
rs600739	基因型			<i>P</i>	显性模型		<i>P</i>	隐性模型		<i>P</i>
HbA _{1c}	AA	GA	GG		GG+GA	AA		GG	GA+AA	
≥6.5%(n)	89	163	69	0.304	232	89	0.375	69	252	0.352
<6.5%(n)	19	50	14		64	19		14	69	
$\bar{x}\pm s(\%)$	8.74±2.47	8.31±2.14	8.87±2.70	0.111	8.47±2.32	8.74±2.47	0.308	8.87±2.70	8.46±2.26	0.153

表 5 3 个 SNPs 间连锁不平衡分析

SNP	D'		r ²		<i>P</i>	
	rs237025	rs237024	rs237025	rs237024	rs237025	rs237024
rs600739	0.749	0.763	0.224	0.241	<0.001	<0.001
rs237025	—	0.831	—	0.665	—	0

表 6 T2DM 和对照组单倍型关联分析

单倍型	T2DM (%)	Control (%)	χ^2	Fisher's <i>P</i>	Pearson's <i>P</i>	OR(95%CI)
AAC	198.69(24.6%)	205.77(20.6%)	5.736	0.017	0.017	1.312(1.050-1.640)
AAT	15.00(1.9%)	42.34(4.2%)	7.601	0.006	0.006	0.441(0.243-0.801)
AGC	33.12(4.1%)	6.32(0.6%)	26.256	<0.001	<0.001	6.941(2.949-16.339)
AGT	182.19(22.5%)	263.57(26.4%)	2.274	0.132	0.132	0.846(0.680-1.052)
GAC	305.93(37.9%)	467.45(46.7%)	10.726	0.001	0.001	0.727(0.601-0.880)
GGT	39.43(4.9%)	2.65(0.3%)	43.336	<0.001	<0.001	19.941(5.729-69.413)

3 讨论

NF-κB是与免疫反应、炎症、细胞生存和凋亡等相关的一类转录因子家族,参与包括糖尿病在内的多种自身免疫性或炎症性疾病的发生发展。rs237025 多态位点位于SUMO4 基因编码区的CUE

结构域,致SUMO4 基因第 55 位高度保守的甲硫氨酸(ATG, methionine)被置换为缬氨酸(GTG, valine),即 Met55Val。Met55Val多态性引起SUMO4 分子构象和功能活性的异常,导致SUMO4 对NF-κB负性调节作用减弱,致NF-κB活化增强、依赖NF-κB的基因产物过度表达。

本研究发现 rs237025 多态性与北京地区汉族人群 T2DM 的易感性相关, *G* 等位基因在 T2DM 组中的分布显著高于 Control 组, *GA* 基因型携带者的患病风险是 *AA* 基因型的 1.563 倍, 且在显性遗传模型分析中, *G* 等位基因携带者患 T2DM 的风险是 *AA* 基因型的 1.525 倍。提示 NF- κ B 的活性在携带 *G* 等位基因的 T2DM 患者 β 细胞中增强。本研究与国内外相关研究结果有较好的一致性。

季振中等^[9]对湖北地区汉族人群的研究发现, *G* 等位基因在 T2DM 组的分布显著高于 Control 组, 且人群中 *GG* 基因型携带者患 T2DM 的风险是 *AA* 基因型的 2 倍; 还发现 rs237025 多态性与较高的胰岛素抵抗和较低的胰岛素敏感性关联, *GG* 基因型的 T2DM 患者具有较高的血糖、胰岛素和 C 肽水平^[6]。Lin 等^[7]研究表明 rs237025 多态性与台湾人群 T2DM 相关联, 指出 *G* 等位基因是 T2DM 发生发展的独立风险因素, 且携带 *G* 等位基因的 T2DM 患者具有较高的 HbA1c 水平, 即血糖控制较差。同样 Noso 等^[8]在对日本人群的研究中也发现: 携带 *G* 等位基因的 T2DM 患者具有较高的 HbA1c 水平。

随着研究的深入, 研究人员还发现 rs237025 多态性与 T2DM 的并发症相关联, 如糖尿病肾病^[13]和冠心病^[14]。因为 HbA1c 不但是衡量血糖控制水平的金标准, 还是诊断和管理糖尿病的重要工具^[15], 且循证医学研究证实严格控制血糖可以减少 T2DM 患者慢性并发症的发生和死亡风险^[16]。故 *G* 等位基因携带者可能需要更严格的检测和控制血糖。

需要指出的是在昆明地区汉族人群^[17]、部分日本人群^[14]、伊朗人群^[18]的相关研究中并未发现 rs237025 多态性与 T2DM 相关。导致结果不一致的原因可能与样本量大小、人群的遗传背景及疾病的异质性等有关。

Noso 等^[8]在对日本人群 *SUMO4* 基因多态性与 T2DM 的关联研究中发现, *SUMO4* 基因的 4 个 SNPs(rs237025、rs237024、rs600739 和 rs237026)与 *MAP3K7IP2* 基因的 rs577001 存在强连锁不平衡性(每对 SNPs $D'=1.0$), 且 rs577001 和 rs237025 被选为标签 SNPs(rs577001 vs. rs600739 和 rs237025 vs. rs237024, $r^2=1.0$)进行研究。其研究显示 rs237025 多

态性与 T2DM 易感性相关, 与本研究结果一致。在 Noso 等^[8]的研究中, 因为 rs237025 和 rs237024 两者 $D'=1.0$ 及 $r^2=1.0$, 完全连锁不平衡, 可以用 rs237025 来预测 rs237024, 由此推断 rs237024 与 T2DM 易感性相关的可能性较大; 同理, rs577001 与 T2DM 易感性无明显关联, 故 rs600739 与 T2DM 易感性可能也无明显关联。本研究中 3 个 SNPs 每两个之间存在不完全连锁不平衡, rs237025 与北京地区汉族人群 T2DM 的易感性相关, 但 rs237024 和 rs600739 与 T2DM 易感性无明显关联。尽管本研究入选人群的 3 个 SNPs 的 Major 和 Minor 的分布与 HapMap 数据库中 JPT 无统计学差异, 但 rs237025 与 rs237024 的连锁不平衡程度比 Noso 等^[8]所选日本人群低。另外, Hou 等^[19]对 *SUMO4* 基因多态性(rs237025、rs237026、rs237024 及 rs600739)与自身免疫性疾病——白塞氏病(Behcet's disease, BD)的关联研究中指出, 在中国汉族人群中 rs237024 多态性与 BD 易感性相关^[19]。故 rs237024 多态性是否与中国汉族人群 T2DM 易感性相关还需进一步验证。

由于单个 SNP 本身的功能有限, 提供的信息量也较少, 利用单个位点的 SNP 分析评价候选基因的作用有一定局限。在复杂性疾病研究中, 由多个变异位点组合构成的单体型分析优于单个 SNP 的分析, 具有更好地统计分析效果, 更有助于鉴定复杂性疾病的致病基因^[20, 21]。

Noso 等^[8]研究发现了与 T2DM 相关的 3 个单倍型 TAGAC(rs577001T、rs237026A、rs600739G、rs237025A 及 rs237024C)、CGAGT 及 CAAAC; Hou 等^[19]指出单倍型 AGAT(rs237026A、rs600739G、rs237025A 及 rs237024T)和 GGAC 分别是 HLA-B51 阴性、HLA-B51 阳性 BD 患者的保护性因素。与本研究 rs600739、rs237025 及 rs237024 构成的单倍型部分相同。

本研究发现单倍型 AAT、GAC 携带者可能降低患 T2DM 的风险; 单倍型 AAC、AGC 及 GGT 携带者可能增加患 T2DM 的风险, 特别是当 3 种风险等位基因同时存在时的单倍型 GGT, 其携带者患 T2DM 的风险增加近 20 倍, 而单独 rs237025 的 *G* 等位基因携带者患 T2DM 的风险仅增加 1~2 倍。虽然 rs237024 和

rs600739 与 T2DM 的关系并不清楚, 但因为 rs600739 位于 *SUMO4* 基因启动子区域, rs237024 位于 3' 非翻译区, 两者可能通过调控 *SUMO4* 基因的转录活性, 进而影响 NF- κ B 的功能活动。提示以包含多个 SNPs 遗传信息的单倍型分析, 在 *SUMO4* 基因多态性与 T2DM 易感性的关联研究中可能更有意义。但单倍型 GGT 只存在于少数 T2DM 患者中 (T2DM 组 vs. Control 组, 4.9% vs. 0.3%), 且单倍型分析设置最低频率阈值为 0.03, 可能存在低频单倍型给统计结果带来的偏差。

本研究对 T2DM 组和 Control 组 3 个 SNPs (rs237025、rs600739 及 rs237024) 的等位基因进行检验的检验效能分别为 0.6、0.1、0.1, 又因为 T2DM 是由多基因介导及遗传和环境交互作用的一种遗传异质性疾病^[22,23], 环境因素在 T2DM 的发生发展过程中也发挥着重要的作用, 例如超重与肥胖是成人和儿童发生 T2DM 的一个主要危险因素^[24], 将来的研究还需进一步扩大样本量并收集 T2DM 相关危险因素, 以期深入揭示 *SUMO4* 基因多态性在 T2DM 发生发展中的影响机制, 为 T2DM 的预防、早期诊断及新的药物靶点提供策略。

参考文献(References):

- [1] Maedler K, Sergeev P, Ris F, Oberholzer J, Joller-Jemelka HI, Spinas GA, Kaiser N, Halban PA, Donath MY. Glucose-induced β cell production of IL-1 β contributes to glucotoxicity in human pancreatic islets. *J Clin Invest*, 2002, 110(6): 851–860. DOI
- [2] Cai DS, Yuan MS, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, Shoelson SE. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK- β and NF- κ B. *Nat Med*, 2005, 11(2): 183–190. DOI
- [3] Schmid H, Boucherot A, Yasuda Y, Henger A, Brunner B, Eichinger F, Nitsche A, Kiss E, Bleich M, Gröne HJ, Nelson PJ, Schlöndorff D, Cohen CD, Kretzler M. Modular activation of nuclear factor- κ B transcriptional programs in human diabetic nephropathy. *Diabetes*, 2006, 55(11): 2993–3003. DOI
- [4] Li HY, Lindholm E, Almgren P, Gustafsson Å, Forsblom C, Groop L, Tuomi T. Possible human leukocyte antigen-mediated genetic interaction between type 1 and type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(2): 574–582. DOI
- [5] Wang CY, She JX. SUMO4 and its role in type 1 diabetes pathogenesis. *Diabetes Metab Res Rev*, 2008, 24(2): 93–102. DOI
- [6] Ji ZZ, Dai Z, Huang Y, Martins HA, Xu YC. Association of SUMO4 Met55Val variation with increased insulin resistance in newly diagnosed type 2 diabetes in a Chinese population. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2011, 31(3): 306–311. DOI
- [7] Lin HY, Li SL, Yu ML, Hsiao PJ, Hsieh MC, Lin KD, Wang CL, Wang TN, Shin SJ. Small ubiquitin-like modifier-4 Met55Val polymorphism is associated with glycaemic control of Type 2 diabetes mellitus in Taiwan. *J Endocrinol Invest*, 2010, 33(6): 401–405. DOI
- [8] Noso S, Fujisawa T, Kawabata Y, Asano K, Hiromine Y, Fukui A, Ogiwara T, Ikegami H. Association of small ubiquitin-like modifier 4 (*SUMO4*) variant, located in *IDDM5* locus, with type 2 diabetes in the Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(6): 2358–2362. DOI
- [9] 季振中, 代喆, 徐焱成. 类泛素样蛋白 4 M55V 基因多态性与 2 型糖尿病及其相关因素的关系. *中华糖尿病杂志*, 2010, 02(5): 344–348. DOI
- [10] Gundry CN, Dobrowolski SF, Martin YR, Robbins TC, Nay LM, Boyd N, Coyne T, Wall MD, Wittwer CT, Teng DHF. Base-pair neutral homozygotes can be discriminated by calibrated high-resolution melting of small amplicons. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(10): 3401–3408. DOI
- [11] Gordon D, Levenstien MA, Finch SJ, Ott J. Errors and linkage disequilibrium interact multiplicatively when computing sample sizes for genetic case-control association studies. *Pac Symp Biocomput*, 2003: 490–501. DOI
- [12] Gordon D, Finch SJ, Nothnagel M, Ott J. Power and sample size calculations for case-control genetic association tests when errors are present: application to single nucleotide polymorphisms. *Hum Hered*, 2002, 54(1): 22–33. DOI
- [13] Lin HY, Wang CL, Hsiao PJ, Lu YC, Chen SY, Lin KD, Hsin SC, Hsieh MC, Shin SJ. SUMO4 M55V variant is associated with diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Diabetes*, 2007, 56(4): 1177–1180. DOI
- [14] Shimada T, Furukawa Y, Furuta H, Yasuda K, Matsuno S, Kusuyama A, Doi A, Nishi M, Sasaki H, Sanke T, Nanjo K. SUMO4 Met55Val polymorphism is associated with coronary heart disease in Japanese type 2 diabetes individuals. *Diabetes Res Clin Pract*, 2009, 85(1): 85–89. DOI
- [15] Spitz AF, Kanani H. Change in HbA_{1c} as a measure of

- quality of diabetes care. *Diabetes Care*, 2006, 29(5): 1183–1184, 1184–1185. [DOI](#)
- [16] Stratton IM, Adler AI, Neil HAW, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ*, 2000, 321(7258): 405–412. [DOI](#)
- [17] 李斌, 李会芳, 王玉明, 周晰溪, 张娴, 宋滇平. SUMO4 基因 163 A/G 多态性与 2 型糖尿病及糖尿病视网膜病变的相关性研究. *昆明医学院学报*, 2010, 31(6): 4–6, 52. [DOI](#)
- [18] Fallah S, Jafarzadeh M, Hedayati M. No association of the SUMO4 polymorphism M55V variant in type 2 diabetes in Iranian subjects. *Diabetes Res Clin Pract*, 2010, 90(2): 191–195. [DOI](#)
- [19] Hou SP, Yang PZ, Du LP, Zhou HY, Lin XM, Liu XL, Kijlstra A. SUMO4 gene polymorphisms in Chinese Han patients with Behcet's disease. *Clin Immunol*, 2008, 129(1): 170–175. [DOI](#)
- [20] Herbon N, Werner M, Braig C, Gohlke H, Dütsch G, Illig T, Altmüller J, Hampe J, Lantermann A, Schreiber S, Bonifacio E, Ziegler A, Schwab S, Wildenauer D, van den Boom D, Braun A, Knapp M, Reitmeir P, Wjst M. High-resolution SNP scan of chromosome 6p21 in pooled samples from patients with complex diseases. *Genomics*, 2003, 81(5): 510–518. [DOI](#)
- [21] 李婧, 潘玉春, 李亦学, 石铁流. 人类基因组单核苷酸多态性和单体型的分析及应用. *遗传学报*, 2005, 32(8): 879–889. [DOI](#)
- [22] Ahlqvist E, Ahluwalia TS, Groop L. Genetics of type 2 diabetes. *Clin Chem*, 2011, 57(2): 241–254. [DOI](#)
- [23] Temelkova-Kurktschiev T, Stefanov T. Lifestyle and Genetics in Obesity and type 2 Diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*, 2011, 120(1): 1–6. [DOI](#)
- [24] Yau PL, Javier DC, Ryan CM, Tsui WH, Ardekani BA, Ten S, Convit A. Preliminary evidence for brain complications in obese adolescents with type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2010, 53(11): 2298–2306. [DOI](#)

• 综合信息 •

新一代基因组测序-通往个性化医疗

M. 贾尼特编著, 薛庆中等译

科学出版社出版

书号: 978-7-03-033007-9, 定价: 48 元

内容简介

本书由工业界和学术界领域的专家, 集中于最新的新一代 DNA 测序技术及其对基因研究的影响和药物发现研究的发展。因此, 它提出了对商用平台下的基因组测序技术的详细比较分析, 以及替代性的见解, 全面介绍了新出现的测序技术。此外, 该书不仅涵盖了 DNA 测序技术, 而且包含其社会、伦理和商业方面的原则, 以及个性化医疗和 DNA 测序发展的未来五年规划。

本书由参与 NGS 技术开发和应用的研究人员和发明家撰写, 是全球第一本介绍新一代 DNA 测序技术的书, 可作为高等院校生物学、医学、农学等领域的师生和研究人员学习参考用书, 也对希望了解个人基因组信息、个性化医疗、伦理学等问题的读者有启迪和帮助作用。

欢迎各界人士邮购科学出版社各类图书
科学出版社 科学销售中心 联系人: 周文宇
电话: 010-64022646 010-64017321
<http://shop.sciencepress.cn/>
E-mail: zhouwenyu@mail.sciencepress.com