维普资讯 http://www.cqvip.com



文章编号:0253－3626(2003)02－0247－03

# 2 型糖尿病易感基因的遗传定位

郭凤劲 综述;彭惠民 审校

(重庆医科大学基础医学院生物学教研室,重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R587.1;Q786 【文献标识码】B 【收稿日期】2001－11－06

随着人类基因组计划的逐步完成,疾病基因的定位及功能的研究已经成为当代医学研究的热点和难点,尤其是诸如 2 型糖尿病(DM)这类复杂性疾病的易感基因的定位已成为可能。近年来,与 2 型糖尿病易感基因位点相关区域的报道逐渐增多,如:20q12～20q13.1[1]、2p13[2]、1q24～1q25[3]、8p21～22[3]、9q[4]、12q[5]等等。本文主要讨论 2 型糖尿病易感基因定位的策略、方法以及相关位点的一些研究现状。

## 1 2 型 DM 易感基因定位策略和方法

2 型 DM 易感基因定位研究总的策略是应用已知遗传标志在患者或者患者家系中寻找疾病相关基因。目前,关于 2 型 DM 易感基因定位常用的研究方法主要有两种:基因组扫描(genome scanning)和侯选基因(candidate gene)筛查。侯选基因筛查是基于人们对代谢途径的认识选定一个基因,然后在其附近确定 DNA 标记(常用微卫星 DNA,即 microsatellite),用此标记研究这一基因与疾病的连锁关系,进而确认该基因的结构变异或多态性以及基因调控与疾病发生的关系。基因组扫描则需要大量间隔分布的标记位点,对一定数量的家系进行连锁分析,通过统计计算,一方面可以指示出等位基因片段在家系中的传递关系;另一方面,利用位点间的距离与基因重组率的关系,可以推测出相应区域内是否有与疾病相关的基因存在。上述这些方法的理论基础是连锁分析与连锁不平衡分析,这两大基本原理在 2 型糖尿病易感基因定位中有着重要的作用。

### 1.1 连锁分析(linkage analysis)

连锁指两基因位于同一染色体而相伴传递的现象。连锁分析就是通过研究两个位点(致病基因与遗传标记)的传递规律,从而对致病基因进行定位的一种分析方法。两个位点间发生重组的可能性大小可以用重组率来表示,重组率越高,两个位点在一起传给后代的机会就越少。因此,根据重组率的大小不仅可以把致病基因定位于染色体上有固定位置的遗传标记附近;而且还可以计算两基因之间的染色体图距。连锁分析的方法之一就是对数优势记分(log odds score,Lods)法,它是家系连锁分析提供的连锁信息值,即两位点呈连锁的机率与不呈连锁的机率之比的对数值。若 lods 值＞1 则支持连锁,lods 值＞3 则肯定连锁,lods 值＜－2 则否定连锁。这种基于 Lods 值的传统的参数连锁分析法在单基因或具有主基因效应的疾病基因定位研究中卓有成效,但在 2 型 DM 易感基因定位研究中,却非常有限,主要是因为 2 型 DM 的遗传没有一个固定的模式,无法设置参数并套用公式。此外,2 型 DM 具有显著的遗传异质性,使得到的家系资料无法累加,而且可供选择的家系比较少。因此,针对连锁分析,研究人员提出了一种非参数连锁分析法—受累同胞对(affected sib－pair,ASP)法。

ASP 法最大的优点是不需要了解疾病的遗传方式、基因频率及外显率。Lander[6]等在"复杂性疾病的基因分析"一文中介绍了受累同胞对法的基本原理—等位基因共享(alelle－sharing),即通过寻找受累同胞间共有的出现概率超过 1/4 的标记,分析致病基因与标记之间的连锁关系。如果一个亲本有标记等位基因 ab,另一亲本有标记等位基因 cd,则他们的子女基因型只能是 ac、ad、bc、bd,两个子代具有相同基因组合的机率是 1/4。ASP 分析中,在标记位点与疾病基因无连锁时,双亲的标记位点等位基因随机地分配给子代,所以,同胞间共有 2 个、1 个以及 0 个等位基因的机率应为 0.25、0.50 及 0.25。如果标记位点与疾病基因呈连锁(共分离)状态,则患病同胞间共有等位基因的机率将高于上述预期值,可用 $\chi^2$ 检验确认。

理想的 ASP 研究,应具备双亲样本资料,由此来准确判认患病同胞的相同等位基因片段是否确实共有,即来自双亲中的同一等位基因,此称为传递一致(identical－by－descent,IBD)分析。若双亲标本不能取得,则只能从同胞间等位基因的比较来推测是否共有,即状态一致(identical－by－state,IBS)分析。若对候选基因内的遗传标记进行 ASP 分析,可以排除或确认疾病的候选基因。但 ASP 法也有两点不足:一是为了排除遗传异质性的影响,需要收集较多的患病同胞对;二是不能像 Lods 法那样得出标记位点与疾病基因之间的距离。

### 1.2 关联分析(association analysis)和连锁不平衡(linkage

作者介绍:郭凤劲(1972－ ),女,讲师,在读硕士,
主要研究方向:多基因病的研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com



disequilibrium)

关联分析包括群体关联分析和家系关联分析。群体关联分析是指在一定人群中,设置无亲缘关系的病例组和正常对照组,研究某一标记在两组中分配的不同,发现连锁不平衡。

关联分析最早由 Jennings 提出来的,他认为任意两个连锁基因座的等位基因 A 与 B 之间的关联都可以用△值来衡量,△=AB 基因型频率－A 基因频率×B 基因频率。后来,在 Fisher 和 Kimura 的研究和推广下,出现了连锁不平衡的概念。这一概念是针对上述公式而言的,公式中的△值以 1－r 的速率逐代递减,直到 0,r 为 A、B 两点的重组值。若△=0,则单倍型频率是两个连锁基因频率的乘积;若 0<△<1,则 A 位点与 B 位点连锁不平衡。假如 A 位点是疾病易感基因,B 位点是遗传标记,如果两者处于连锁不平衡,那么患者遗传标记的频率就会高于对照组人群,进一步表明该标记 B 与疾病易感基因 A 相关联。除了遗传距离影响连锁不平衡外,突变率、选择、重组事件的不均衡分布都会影响到连锁不平衡的强度。

通常,关联结果可能有三种情况:一是该遗传标记位点本身与疾病的病理发生有关;二是该遗传标记位点与疾病基因位点之间存在连锁不平衡;三是这种关联性是由于各种混杂因素所造成的虚假的联系,混杂因素指这一因素与疾病和检测位点均有关联,如遗传背景不同的人群混杂在一起造成的虚假联系,又称为不同分层人群(stratified population)[7]。

为了避免群体关联研究中由于对照选择不当而导致的假阳性结果,研究人员先后提出了两种方法:一是直接以患者家系成员作为对照的研究方法,称为家系关联研究。家系关联研究中常用的方法有患者家系对照者(affected family-based controls,AFBAC)分析和单体型相对风险(HRR,haplotype relative risk)分析,这两种方法都是以患者核心家系成员(双亲及同胞)作为相关分析对照组,再通过传统的病例-对照研究加以分析。这样既保证了病例组与对照组来自遗传背景相同的群体,又消除了由群体分层所带来的虚假关联的结果。二是在群体关联的基础上,已经揭示某标记位点与某疾病基因之间存在某种关联性(包括真实和虚假的关联)的前提下,检验标记位点为杂合型的父(母)传递给患病子女的风险等位基因的概率是否偏离 50%。这一检验方法称为传递/不平衡检验(TDT,transmission/Disequilibrium Test),它不仅可以排除虚假关联,还有助于相关基因的进一步精细定位。TDT 方法有很多优点:1. 对人群结构不敏感;2. 不仅可以检验连锁,也可以检验关联;3. 可用于遗传异质性及基因与环境相互作用的分析;4. 适用于多种家系资料。早期 TDT 检验要求父母基因型已知,其应用只限制在早发疾病中,1998 年同胞组 TDT(sib transmission/disequilibrium test,sTDT)和不一致同胞对 TDT(discordant sib pair transmission/disequilibrium test,dTDT)检验方法的提出使 TDT 方法在诸如 2 型 DM 这类晚发疾病中的检验成为可能[8]。

目前,2 型 DM 易感基因定位研究中虽然较多应用全基因组随机扫描结合 ASP 分析,但因大量的患病同胞对不易获得,因此多结合关联分析,找到与 2 型 DM 阳性相关的位点后,再运用传递/不平衡检验加以证实,排除虚假关联。

### 1.3 动物模型的基因分析

在 2 型 DM 易感基因定位研究中,除了连锁分析和连锁不平衡分析以外,动物模型的应用也为糖尿病这类复杂人类疾病的分析提供了强有力的手段。比如:研究人员在肥胖伴糖尿病的小鼠中发现一种 ob/ob 基因,该基因产生一种 leption 蛋白质,起到调节能量平衡的作用,leptin 的缺乏可导致严重肥胖及糖尿病的发生[9]。近来,研究人员又发现了一种由脂肪细胞分泌的新的多肽类激素 resistin,如果体内这一激素含量增多,会引起胰岛素抵抗[10]。resistin 可能是联系肥胖和 2 型糖尿病的一个重要因素。为了进一步了解这一激素的调控机制,研究人员又一次利用了动物模型。因此,动物模型的建立为多基因疾病的研究开辟了一个新天地。

## 2 2 型 DM 相关位点的研究现状

近几年来,基因定位研究发现,2 型 DM 在许多染色体上几乎都有过阳性的报道,但随着人种的不同,相关位点也不同,下面就几个出现较多的阳性位点加以报道。

关于 1 号染色体与 2 型 DM 的关系,最早在 1995 年,Thompson 等利用 Pima Indians 人群中的 175 个 2 型 DM 患病同胞对,以 1 号染色体上的 18 个标记,研究并肯定了 DIS198 与 AIR(acute insulin response)连锁($P=0.000056$)。1999 年,美国 Elbein 等[11]在高加索人群中发现 1q21～23 区域与 2 型 DM 相关,Lod 值为 4.295,并进一步指出 1q21～23 区域与 2 型 DM 相关的位点在载脂蛋白 A2(APOA2)基因附近。Hegele 等[12](1999 年)在加拿大土著人 2 型 DM 患者的研究中发现位于 1 号染色体的血管紧张素原(angiotensinogen,AGT)基因 T235 等位基因频率显著高于正常组,而德国学者 Ringel J 等在高加索人群中未证实这一基因与 2 型 DM 的相关性,此差异性可能与种族差异有关。最近,Wiltshire 等[13]调查了 573 个家系,利用 418 个标记在 743 个患病同胞对中进行常染色体基因组扫描,在英国人群中发现了与 2 型糖尿病相关的 7 个区域:8p21～22,靠近 D8S258 位点,Lod 值为 2.55;10q23.3,靠近 D10S1765 位点,Lod 值为 1.99;5q13 的位点 D5S647,Lod 值为 1.22;5q32 的位点 D5S436,Lod 值为 1.22;7p15.3,Lod 值为 1.31;8q24.2,Lod 值为 1.41;1q24～25,靠近 D1S218 位点,Lod 值为 1.50。

美国 Bowden 等[13,14]在高加索人群中发现 20 号染色体与 2 型 DM 的相关关系,他们发现位于 20q12－13 区域的位点 D20S197 与本病相关,D20S197 位点 Lod 值为 1.48,C 检验结果 D20S197,$P=0.005$。随后,美国 Ji、Malecki 等通过对 498 个高加索家系的研究,在 20q12～13.1 区域又找到与

维普资讯 http://www.cqvip.com



本病相关的 3 个位点:D20S119,$P=0.005$;*D20S178*,$P=0.009$;*D20S197*,$P=0.004$。此外,美国 Ghosh 等通过对 477 个芬兰家系中的 716 个患病同胞对研究发现在 20 号染色体上至少含有两个 2 型 DM 易感基因[15]。最近,研究人员又在 20 号染色体的长臂(20q13.1)上发现 1 个新的 2 型 DM 侯选基因—GLUT10(glucose transporter)基因,这一基因在肝脏和胰脏的表达水平最高,由它编码的葡萄糖转运蛋白由 541 个氨基酸组成[1]。

2001 年 4 月,上海内分泌研究所和瑞金医院的研究人员利用 ASP 法结合基因组扫描技术,在中国东部和东南部的汉族人群中也发现了 20 号染色体与 2 型 DM 相关的位点—D20S196 ,相应的 $P=0.04$。此外,他们还发现 9 号染色体上有两个位点(D9S171、D9S175)与 2 型 DM 有关[4],其中 D9S171 位点的 Lod 值为 3.286,$P=0.000119$;D9S175 位点的 Lod 值为 2.939,$P=0.000447$。

法国分子内分泌研究所的研究人员 1998 年首次在北非人群中发现与 2 型 DM 相关的位点位于 2 号染色体 2p12~13 的 14.9cM 区域内[16]。他们利用 2 型 DM 家系的患病同胞对,找到了 2 号染色体上与 2 型 DM 阳性相关的位点,并把相应的区域由 14.9cM 缩小到 6.1cM。具体的位点是 D2S2110/145 和 D2S286,Lods 值为 3.96。另外,美国的人类基因研究中心 1996 年在美国墨西哥人群中发现 2 号染色体上与 2 型 DM 相关的位点是 D2S125。

12 号染色体与 2 型 DM 的阳性报道在高加索人群中最多。美国 Bowden 等在高加索人群中发现位于 12 号染色体的位点 D12S349、D12S86 与本病有关,C 检验结果 D12S349,$P=0.04$;D12S86,$P=0.006$。随后,Bektas 等运用群体相关分析的方法在高加索人群中发现 12 号染色体的 D12S375 和 D12S1052 两个位点与 2 型 DM 有显著的连锁,D12S375 的 Lod 值为 3.8,$P=0.007$[5]。

另外,在其它染色体的某些区域也有一些阳性报道,比如:3q21~25、7q21.3、17q23、19q13.3 及 2p13 区域的位点 D2S2110 等等,但这些位点在不同人种中的报道都有所不同,还需要进行大量的实验来加以证实。

## 3 结 语

在未来几年内,2 型 DM 易感基因定位的研究将是一个发展热点。对 2 型 DM 进行遗传分析(包括连锁分析和关联分析),除了需要大量的多态性遗传标记以外,还需要大量有患病同胞对的家系进行连锁分析以及大量无直接血缘关系的个体或小家系进行连锁不平衡分析。一般来说,遗传流行病学调查显示遗传因素的相对风险 λs 值(同胞患病率/群体患病率)越大,找到致病基因的可能性就越大;λs 值越小,找到致病基因的可能性就越小。有报道 1 型糖尿病 λs 值为 15,2 型糖尿病 λs 值仅为 3.5,说明与 1 型 DM 相比,2 型 DM 相关基因的情况比较复杂,找到致病基因的困难比较大,基因组型分析的工作量也比较大。但随着大量家系资料的不断获得、侯选基因的不断发现、检测方法的不断提高,应用基因组 DNA 随机标记位点对 2 型 DM 易感位点进行全基因组扫描定位,在不久的将来会成为现实。

## 参 考 文 献

[1] McVie - Wylie AJ, Lamson DR, Chen YT. Molecular cloning of a novel member of the GLUT family of transporters, SLC2a10(GLUT10), localized on chromosome 20q13.1: a candidate gene for NIDDM[J]. Genomics, 2001; 72(1): 113 - 117.

[2] Gollin GB, Marshall JD. Alstrom syndrome: further evidence for linkage to human chromosome 2p13 [J]. Hum - Genet, 1999; 105(5): 474 - 479.

[3] Wiltshire S, Hattersley AT, Hitman GA, et al. A genomewide scan for loci predisposing to type 2 diabetes in a U. K. population (the Diabetes UK Warren 2 Repository): analysis of 573 pedigrees provides independent replication of a susceptibility locus on chromosome 1q[J]. Am J Hum Genet, 2001; 69 (3): 553 - 569.

[4] Luo TH, Zhao Y, Li G, et al. A genome - wide search for type Ⅱ diabetes susceptibility genes in Chinese Hans[J]. Diabetologia, 2001; 44(4): 501 - 506.

[5] Bektas A, Suprenant ME, Wogan LT, et al. Evidence of a novel type Ⅱ diabetes locus 50cM centromeric to NIDDM 2 on chromosome 12q[J]. Diabetes, 1999; 48(11): 2246 - 2251.

[6] Lander ES, Schork NJ. Genetic dissection of complex traits[J]. Science, 1994; 265: 2037 - 2048.

[7] Ghosh S, Schork NJ. Genetic analysis of NIDDM. The study of quantitative traits[J]. Diabetes, 1996; 45(1): 1 - 8.

[8] Schaid DJ. Transmission disequilibrium, family controls, and great expections[J]. Am J Hum Genet, 1998; 63: 935 - 941.

[9] Couce ME, Burguera B, Parisi JE, et al. Localization of leptin receptor in the human brain[J]. Neuroendocrinology, 1997; 66(3): 145.

[10] Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, et al. The hormone resisitin links obesity to diabetes[J]. Nature, 2001; 409(6818): 307 - 312.

[11] Elbein SC, Hoffman MD. A genome - wide search for type Ⅱ diabetes susceptibility genes in Utah Caucasians[J]. Diabetes, 1999; 48(5): 1175 - 1182.

[12] Hegele RA, Harris SB, Hanley AJ, et al. Association between AGT T235 variant and microalbuminuria in Canadian Dji - Cree with type 2 diabetes mellitus[J]. Clin Biochem, 1999; 32 (3): 201 - 205.

(下转第 256 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com



乳中乙肝病毒 DNA[J]. 中华妇产科杂志,1996;31(1):36.
[3] 邢玲玲,贾勃民,徐赵新,等. 用套式 PCR 检测乙型肝炎病毒阳性母亲血清和初乳中 HBV DNA[J]. 中国优生与遗传杂志,1997;5(5):22-23.
[4] 杨 晓,崔敏娴,刘宝根,等. 乙型肝炎血清学指标阳性母亲哺乳问题的研究[J]. 中华妇产科杂志,1994;29(10):586-588.
[5] 张立冬,梁瑞霞,黄艳仪,等. 母乳喂养与乙型肝炎病毒携带相关研究[J]. 广东药学院学报,1999;15(3):233-235.
[6] 金春子,贾 卉,徐剑秋,等. 132 例乳汁中 HBV DNA PCR 检测结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志,1997;5(5):20-21.
[7] Michielsen - pp, Van - Damme - p. Viral hepatitis and pregnancy[J]. Acta - Gastroenterol - Belg, 1999;62(1):21-26.
[8] WHO. HBV and breast feeding[J]. Update, 1996;22:1-2.
[9] 胡桂英,谭文华,马金赏,等. 妊娠期接种乙肝疫苗免疫效果的观察[J]. 实用妇产科杂志,1995;11:310-311.
[10] 岳亚飞,李银娅,张树林,等. 产妇主动与被动联合免疫预防乙型肝炎病毒宫内感染的临床研究[J]. 中华围产医学杂志,2000;3(1):3-5.
[11] Selim B, Yaina L, Mubarrem U, et al. Transplacental passage of hepatitis B virus DNA from hepatits B e antigen negative mothers and delayed immune response in newborns[J]. J Infect Dis, 1994;169:704-706.
[12] 王小青,刘亦琪,孙弈骏,等. PCR 检测乙肝病毒感染者乳汁中 HBV DNA 的实用意义[J]. 江苏医药,1995;21(12):810-811.
[13] 马 力,赵桂珍,曲以琴,等. HBV 携带产妇的婴儿乙肝基因疫苗免疫后母乳喂养安全性研究[J]. 中国公共卫生,2000;16(3):269-270.
[14] 杨智聪,宋益贵. 乙肝基因疫苗阻断乙肝母婴传播的效果观察[J]. 中国公卫生,1999;15(1):46-47.

(上接第 249 页)

[13] Bowden DW, Sale M, Howard TD, et al. Linkage of genetic markers on human chromosomes 20 and 12 to NIDDM in Caucasian sib pairs with a history of diabetic nephropathy[J]. Diabetes, 1997;46(5):882-886.
[14] Price JA, Brewer Cs, Howard Td, et al. A physical map of the 20q12 - q13. 1 region associated with type Ⅱ diabetes [J]. Genomics, 1999;62(2):208-215.
[15] Ghosh S, Watanabe RM, Hauser ER, et al. Type 2 diabetes: evidence for linkage on chromosome 20 in 716 Finnish affected sib pairs[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999;96(5):2198-2203.
[16] Macari F, Lautier C, Girardet A, et al. Refinement of genetic localization of the Alstrom syndrome on chromosome 2p12-13 by linkage analysis in a North African family[J]. Hum Genet, 1998;103(6):658-661.