论 著

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001052

IRS2 基因 Gly1057Asp 与环境交互对 2 型糖尿病易感性的影响

龚莉琳[1]，李 蓉[1]，任 伟[1]，王增产[2]，汪志红[1]，秧茂盛[3]，张素华[1]

（1. 重庆医科大学附属第一医院内分泌科，重庆 400016；2. 重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室，重庆 400016；3. 吉首大学医学院药理教研室与疾病基因研究室，吉首 416000）

【摘 要】目的：探究胰岛素受体底物 2（insulin receptor substrate 2，IRS2）基因单核苷酸多态性位点 Gly1057Asp 与环境间的交互作用对 2 型糖尿病（type 2 diabetes mellitus，T2DM）易感性的影响。**方法**：对 772 例无血缘关系的中国重庆汉族人（T2DM 467 例，健康对照 305 例）进行病例-对照研究。应用限制性片段长度多态性聚合酶链反应联合基因测序法检测 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 位点基因型，分析其与 T2DM 的相关性。采用多因子降维法（multifactor dimensionality reduction，MDR）分析 Gly1057Asp 位点与老龄、肥胖及高甘油三酯血症间的交互作用对 T2DM 易感性的影响。**结果**：*IRS2* 基因 Gly1057Asp 位点与 T2DM 相关，GG 基因型个体 T2DM 患病风险是 AA 基因型的 1.42 倍（*OR*=1.422，95%*CI*=1.037~1.949，*P*=0.029）。MDR 分析显示 Gly1057Asp 位点、年龄、腰围和血浆三酰甘油四个因素构成的交互模型具有统计学意义（*P*=0.001）。在老龄（年龄>60 岁）或腹型肥胖者中，Gly1057Asp 位点 GG 或 GA 基因型个体 T2DM 患病风险明显增加；在腹型肥胖的高甘油三酯血症者中，除年龄在40~60 岁且具 AA 基因型者外，其余均易患 T2DM（*OR*=3.342，95%*CI*=1.168~9.561，*P*=0.026）。**结论**：同时具有 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 位点 GG 基因型、腹型肥胖和高甘油三酯血症的中国重庆汉族人，可能是 T2DM 的高危易感人群。

【关键词】2 型糖尿病；胰岛素受体底物 2；基因；环境；交互作用

【中图分类号】R587.1 **【文献标志码】**A **【收稿日期】**2016-07-20

Effect of the interaction between Gly1057Asp in *IRS2* gene and environment on the risk of type 2 diabetes

Gong Lilin[1], Li Rong[1], Ren Wei[1], Wang Zengchan[2], Wang Zhihong[1], Yang Maosheng[3], Zhang Suhua[1]

(1. Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University; 2. Key Laboratory of Molecular Biology for Infectious Diseases of Ministry of Education, Chongqing Medical University; 3. Laboratory of Disorders Genes and Department of Pharmacology, Medicine School of Jishou University)

【Abstract】*Objective*: To reveal the effect of the interaction between Gly1057Asp polymorphism of insulin receptor substrate 2 (IRS2) and environment on the susceptibility of type 2 diabetes (T2DM). ***Methods***: The case-report research was performed on 467 patients with T2DM and 305 normal controls who belong to Chinese Han population from Chongqing. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism and gene sequencing technology genotyped the Gly1057Asp. The interaction between Gly1057Asp and the environments including age, obesity and hypertriglyceridemia, were analyzed by the multifactor dimensionality reduction software (MDR). ***Results***: The susceptibility of T2DM in the persons with GG of Gly1057Asp was 1.42 times higher than those with AA genotype (*OR*=1.422, 95%*CI*=1.037~1.949, *P*=0.029). MDR analysis showed that Gly1057Asp, age, waist and plasma triglyceride level consisted the four-factor interaction model (*P*=0.001). GG or GA of Gly1057Asp increased in the risk of T2DM of the subjects beyond 60 years old or with abdominal obesity. The subjects with abdominal obesity and hypertriglyceridemia were susceptible to T2DM, excepting those with AA genotype and between 40 to 60 years old (*OR*=3.342, 95%*CI*=1.168~9.561, *P*=0.026). ***Conclusion***: The persons with the GG of Gly1057Asp in *IRS2*, abdominal obesity and hypertriglyceridemia together, may be much higher susceptible to T2DM in Chinese Han population from Chongqing.

【Key words】type 2 diabetes; insulin receptor substrate 2; gene; environment; interaction

作者介绍：龚莉琳，Email：173183841@qq.com，研究方向：2 型糖尿病分子遗传学。

通信作者：张素华，Email：zhangsuhua0921@126.com。

基金项目：国家临床重点专科建设资助项目（编号：财社[2011]170 号）；重庆市卫生局中医药科技课题资助项目（编号：2010-2-134）。

优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20161118.1025.004.html（2016-11-18）

2型糖尿病（type 2 diabetes mellitus，T2DM）给国家和百姓带来繁重负担。如何找到其高危人群，从而积极干预、延缓或防止其发生，一直是学者努力的方向。T2DM 是多基因遗传病，有遗传易感性，寻找其易感基因有助于发现危险人群。然而，全基因组关联研究发现了 52 个与 T2DM 相关的变异位点，却只能解释人群约 10%的易感风险[1]。这是由于除遗传外，环境是 T2DM 的另一致病原因，其发生是二者共同作用的结果。那么研究 T2DM 易感基因与环境间的交互作用，可能更有利于寻找高危易感人群[2-3]。

胰岛素受体底物 2（insulin receptor substrate 2，IRS2）可能是 T2DM 的易感基因。一方面，关联分析提示 *IRS2* 基因变异与 T2DM 患病相关[4-7]，尤其在包括中国人在内的亚洲人群研究结果具有良好一致性。另一方面，基础研究证实：IRS2 主要在肝脏和胰岛 β 细胞大量表达，可调节肝脏葡萄糖输出和糖原合成，β 细胞增殖发育和胰岛素分泌；*IRS2* 基因敲除小鼠（*IRS2*-/-小鼠）体内 IRS2 表达减少，呈现 T2DM 典型特征，即持续胰岛素抵抗和 β 细胞功能衰竭[8-9]。然而，*IRS2* 基因与环境因素间交互作用对 T2DM 易感性的影响，目前尚不清楚。本研究探讨 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 多态与环境间的交互作用对中国重庆汉族人群 T2DM 易感性的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象

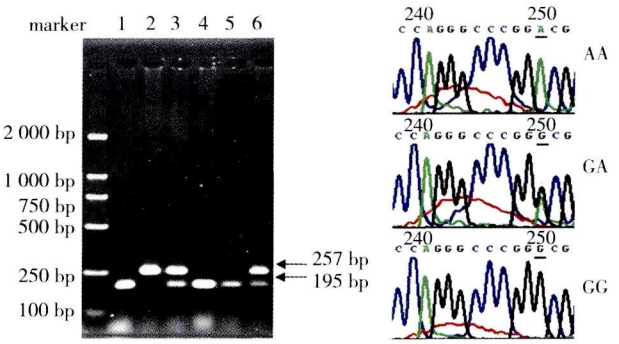
收集个体间无血缘关系的中国重庆汉族人共 772 例，其中 T2DM 467 例，健康对照 305 例。糖尿病诊断采用 1999 年世界卫生组织标准[10]。肥胖、高甘油三酯（triglyceride，TG）血症的诊断[11]及受试者纳排标准[12]同本课题组既往研究。

1.2 询问病史及生化检验

采集病史及生活方式。收集人体学指标，测血压，行 75 g 口服葡萄糖耐量试验。留取空腹及服糖后 2 h 血样用于提取 DNA，检测血糖、胰岛素和血脂。葡萄糖氧化酶法检查血糖，放射免疫法检查胰岛素，OLYMPS AU1000 分析仪检查血脂。我院伦理委员会审核研究方案后，研究对象签订书面知情同意书。

1.3 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 位点基因型鉴定

酚-氯仿法提取基因组 DNA，限制性片段长度多态性聚合酶链反应（polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism，PCR-RFLP）结合基因测序法判定基因型。根据文献报道合成引物，上游：5'CAAAAGCCATCTCGGTGTAGT3'，下游：5'GCTCTCCGACTACATGAACCTC 3'（上海英骏生物技术有限公司）。56.5 ℃退火，限制性内切酶为 *Hha*I（立陶宛 Fermentas 公司），PCR 产物 257 bp。取不同基因型 PCR 产物进一步测序证实（图 1）。



A. PCR 产物酶切结果　　B. 基因测序结果

2为 AA 基因型，3、6 为 GA 基因型，1、4、5 为 GG 基因型

图 1 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 位点 PCR 产物酶切和基因测序结果

Fig.1 Genotype of the Gly1057Asp polymorphism of *IRS2* gene

1.4 统计分析

采用 SPSS 11.5 统计软件进行分析：计数资料使用率（%），计量资料用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$），非正态分布数据先对数转换后再分析。两组间比较行 t 检验；频率分布差异行卡方检验；T2DM 患病的相对风险度用非条件 logistic 回归分析，用比数比及 95%置信区间表示。应用 MDR_3.0.2 软件分析基因与环境间的交互。多因子降维法（multifactor dimensionality reduction，MDR）有效地将高维数据降为二维数据，建立不同组合的多因子交互模型，最后选择交叉确认一致性最高，检验正确率最大的模型为最佳模型。交互模型检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 研究对象一般特征

校正年龄和体质指数（body mass index，BMI）后，T2DM 组的腰围（waist）、腰臀比、空腹和服糖后 2 h 血糖、胰岛素和血浆 TG 水平显著高于健康对照组，且具有 IR 和 β 细胞功能减退。结果见表 1。

2.2 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 位点与 T2DM 相关

T2DM 组 Gly1057Asp 位点 A 等位基因和 AA 基因型频率均明显低于健康对照组，分别为 32.8% vs. 38.5%（χ^2=5.383，P=0.020）和 10.5% vs. 13.4%（χ^2=6.743，P=0.034）。GG 基因型 T2DM 的易感风险是 AA 基因型的 1.42 倍，提示 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 位点与 T2DM 显著关联（表 2）。

表 1 研究对象的一般特征

Tab.1 Characteristics of subjects

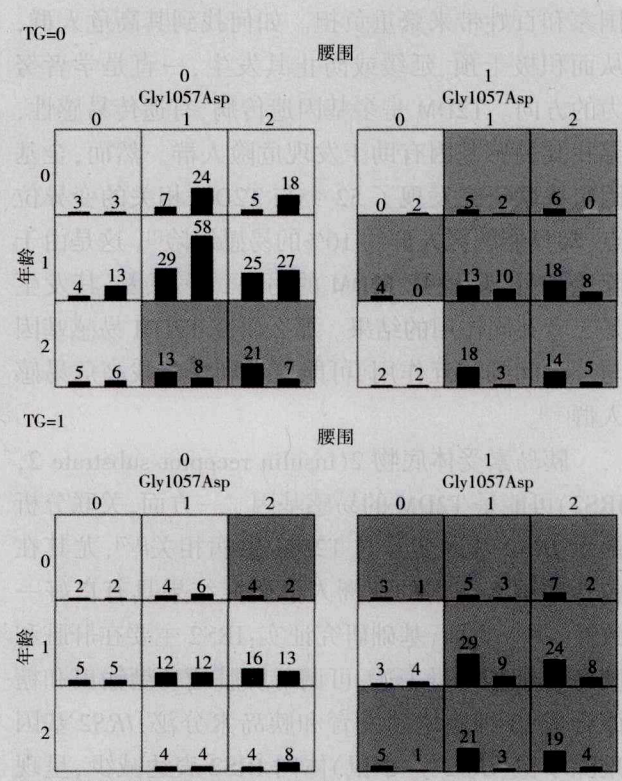
一般特征	健康对照组	T2DM组
例数(男/女)	305（178/127）	467（254/213）
年龄(岁)	48.71 ± 10.89	55.54 ± 12.97[b]
体质指数(kg/m²)	22.85 ± 2.81	24.67 ± 3.37[b]
腰臀比	0.84 ± 0.07	0.90 ± 0.07[b]
腰围(cm)	77.50 ± 8.84	84.85 ± 9.40[b]
收缩压(mmHg)	111.55 ± 16.41	127.04 ± 20.05[b]
舒张压(mmHg)	73.01 ± 9.11	76.90 ± 10.65
甘油三酯(mmol/L)[a]	1.23 ± 0.59	2.03 ± 1.57[b]
总胆固醇(mmol/L)	5.05 ± 1.02	5.09 ± 1.24
高密度脂蛋白(mmol/L)	1.54 ± 0.39	1.38 ± 0.48[b]
低密度脂蛋白(mmol/L)	2.75 ± 0.84	2.73 ± 0.97
空腹血糖(mmol/L)	5.06 ± 0.48	8.44 ± 3.33[b]
服糖后 2 h 血糖(mmol/L)	6.01 ± 0.97	17.82 ± 6.66[b]
空腹胰岛素(mU/L)[a]	11.54 ± 5.88	15.83 ± 11.19[b]
服糖后 2 h 胰岛素(mU/L)[a]	48.90 ± 28.58	52.71 ± 41.09[b]
Homa-IR[a]	2.60 ± 1.35	5.83 ± 4.98[b]
Homa-β[a]	163.00 ± 112.14	102.25 ± 139.08[b]

注：a，表示非正态分布；b：与健康对照比较，$P<0.01$；稳态模型胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)=[空腹血糖(FPG)×空腹胰岛素(FINS)]/22.5；胰岛 β 细胞功能评估：HOMA-β=20×FINS/(FPG-3.5)

2.3 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 位点与老龄、腹型肥胖和高甘油三酯血症间的交互作用增加 T2DM 易感性

采用 MDR 法对基因型、年龄、BMI、腰围和血浆 TG 资料完整者进行分析。Gly1057Asp 位点、年龄、腰围和 TG 4 个因素构成的交互模型的交叉确认一致性(9/10)和检验正确率(0.623)最好，P=0.001。病例/健康对照>1.27 者被定义为高危，而病例/健康对照<1.27 者被定义为低危。高危组比低危组发生 T2DM 的风险明显增加（OR=3.342，95%CI=1.168~9.561，P=0.026）。提示 Gly1057Asp 位点、年龄、腰围和血浆 TG 对 T2DM 的患病有交互作用。

TG 正常且非腹型肥胖者，当年龄>60 岁时，Gly1057Asp 位点为 GG 或 GA 基因型者易患 T2DM；TG 正常但腹型肥胖者，在任何年龄，Gly1057Asp 位点 GG 或 GA 基因型均增加其 T2DM 患病风险；在高甘油三酯血症的腹型肥胖人群中，除年龄在 40~60 岁且具有 Gly1057Asp 位点 AA 基因型外，其余人群均易患 T2DM（图 2）。



注：深灰格子代表高危组合；浅灰格子代表低危组合。格中柱形图：左柱：T2DM 人数；右柱：健康对照人数。赋值方式：Gly1057Asp 基因型中，0 为 AA 型，1 为 GA 型，2 为 GG 型；年龄中，0 为≤40 岁，1为>40 岁且≤60 岁，2 为>60 岁；BMI 中，0 为<25 kg/m²，1 为≥25 kg/m²；腰围中，0 为<90 cm(男)或 80 cm(女)，1 为≥90 cm(男)或 80 cm(女)；TG 中，0 为<1.7 mmol/L，1 为≥1.7 mmol/L

图 2 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 与环境交互模型高危和低危基因型的分布

Fig.2 Distribution of high-risk and low-risk genotypes in the best four-factor model

3 讨 论

本研究显示 T2DM 组 Gly1057Asp 位点 GG 基因型频率明显高于健康对照组，GA 或 GG 基因型个体对 T2DM 的易感性显著高于 AA 基因型者。提示

表 2 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 位点与 T2DM 的关联分析结果

Tab.2 Associations between polymorphisms in *IRS2* and the risk of T2DM

SNPs	对照	T2DM	Additive（共显性模式）		Dominant（显性模式）		Recessive（隐性模式）	
Gly1057Asp	(n=305)	(n=305)	OR值(95%CI)	P值	OR值(95%CI)	P值	OR值(95%CI)	P值
AA	41（13.4%）	49（10.5%）	1.422		1.461		1.339	
GA	153（50.2%）	208（44.5%）	（1.037 ~ 1.949）	0.029	（1.081 ~ 1.973）	0.014	（0.851 ~ 2.106）	0.207
GG	111（36.4%）	210（45.0%）						

注：OR 校正年龄和性别

IRS2 基因 Gly1057Asp 位点与中国重庆汉族人 T2DM 相关，其 GG 基因型可能增加 T2DM 患病风险。这与既往在中国人群及其他亚洲人群中的研究结论相一致[4-7]。

为揭示 *IRS2* 基因变异与环境间的交互作用对 T2DM 患病风险的影响，本研究采用了 MDR 方法。MDR 是一种无参数、不考虑遗传方式的统计方法，可同时探究多个基因或环境危险因素间的相互作用。它将各种危险因素组合分解为高危和低危两种类型，使高维的多因素数据映射到低维空间，可用于较小样本的多个危险因素的分析[13]。

T2DM 的环境因素包括：老龄、饮食热量摄入过高、体力活动减少、肥胖、糖尿病前期，以及高血压、血脂异常等代谢综合征组分等[14]。我国人口正走向老龄化，而现代的不良生活方式使肥胖和血脂异常在健康人群的检出率越来越高。杨文英等[15]对我国 2007 至 2008 年间糖尿病患病情况进行的流行病学调查显示：老龄、肥胖、中心性肥胖和高甘油三酯血症均与糖尿病患病风险增加相关。因此，本研究探讨了 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 位点与年龄、BMI、腰围和血浆甘油三酯间的交互作用对重庆地区汉族人 T2DM 易感风险的影响。

结果提示 *IRS2* 基因 Gly1057Asp 与老龄、腹型肥胖和高甘油三酯血症间存在交互作用，且增加重庆汉族人的 T2DM 易感风险。当年龄是唯一环境因素时，年龄>60 岁且 Gly1057Asp 位点为 GG 或 GA 基因型者易患 T2DM；当存在腹型肥胖时，任何年龄段，具有 Gly1057Asp 位点 GG 或 GA 基因型者其 T2DM 患病风险均增加；当同时存在腹型肥胖和高甘油三酯血症时，几乎所有个体均易患 T2DM。提示当环境危险因素聚集越多时，环境对个体是否患病的影响就越大，但遗传易感性仍是决定个体是否患 T2DM的重要因素[16]。

综上所述，本研究提示 *IRS2* 基因 Gly1057Asp位点与 T2DM 患病相关；同时具有 Gly1057Asp 位点 GG 基因型、腹型肥胖和高甘油三酯血症的中国重庆汉族人，可能是 T2DM 的高危易感人群。如能对此类人群进行重点预防和干预，或可减少 T2DM 发生。

参 考 文 献

[1] Murea M, Ma L, Freedman BI. Genetic and environmental factors associated with type 2 diabetes and diabetic vascular complications[J]. Rev Diabet Stud, 2012, 9(1): 6-22.

[2] Bouret S, Levin BE, Ozanne SE. Gene-environment interactions controlling energy and glucose homeostasis and the developmental origins of obesity[J]. Physiol Rev, 2015, 95(1): 47-82.

[3] Cornelis MC, Hu FB. Gene-environment interactions in the development of type 2 diabetes: recent progress and continuing challenges[J]. Annu Rev Nutr, 2012, 32(11): 245-259.

[4] Haghani K, Bakhtiyari S, Bakhtiyari S. The study on the relationship between IRS-1 Gly972Arg and IRS-2 Gly1057Asp polymorphisms and type 2 diabetes in the Kurdish ethnic group in West Iran[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2012, 16(11): 1270-1276.

[5] Okazawa K, Yoshimasa Y, Miyamoto Y, et al. The haplotypes of the IRS-2 gene affect insulin sensitivity in Japanese patients with type 2 diabetes[J]. Diabetes Research and Clinical Practice, 2005, 68(1): 39-48.

[6] Kong LF, Zhao YY, Li Q, et al. Study on the relationship between G1057D variants of IRS2 gene and obese T2DM in Chinese Han subjects[J]. Chinese Journal of Medical Genetics, 2005, 22(4): 387-390.

[7] 洪天配，王海宁. 胰岛素受体底物-2 基因多态性与 2 型糖尿病的相关性研究[C]. 中华医学会第六次全国内分泌学术会议论文汇编，2001：163-166.

[8] Guo S. Insulin signaling, resistance, and the metabolic syndrome: insights from mouse models into disease mechanisms[J]. J Endocrinol, 2014, 220(2): T1-T23.

[9] Oliveira JM, Rebuffat SA, Gasa R, et al. Targeting type 2 diabetes: lessons from a knockout model of insulin receptor substrate 2[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2014, 92(8): 613-620.

[10] WHO. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation (Part 1)[R]. Geneva, 1999.

[11] 付思思，汪志红，龚莉琳，等. 2 型糖尿病家族史对代谢健康超重人群胰岛素敏感性及胰岛细胞功能的影响[J]. 中华糖尿病杂志，2015, 7(7): 431-436.

[12] 汪志红，张素华，王增产，等. 中国汉族人群 TCF7L2 基因多态性与 2 型糖尿病的关联研究[J]. 中华内分泌代谢杂志，2009, 25(2): 139-143.

[13] Ritchie MD, Hahn LW, Roodi N, et al. Multifactor-dimensionality reduction reveals high-order interactions among estrogen-metabolism genes in sporadic breast cancer[J]. Am J Hum Genet, 2001, 69(1): 138-147.

[14] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 年版)[J]. 中国糖尿病杂志，2014, 88(8): 26-89.

[15] Yang W, Lu J, Weng J, et al. Prevalence of diabetes among men and women in China[J]. N Engl J Med, 2010, 362(12): 1090-1101.

[16] Romao I, Roth J. Genetic and environmental interactions in obesity and type 2 diabetes[J]. J Am Diet Assoc, 2008, 108(4 S1): 24-28.

（责任编辑：唐秋姗）