

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.17.007
文章编号: 1005-8982 (2018) 17-0037-05

临床研究 · 论著

河北地区 *FTO*-rs9930506 基因多态性与 T2DM 发病及认知功能的关系*

甄艳凤¹, 刘兴宇², 房辉¹, 田骆冰¹, 徐刚³, 杨岳¹,
孙雪玲¹, 张鹤¹, 许静¹, 周蕾¹

(河北省唐山市工人医院 1. 内分泌二科, 2. 神经外科, 3. 烧伤科, 河北 唐山 063000)

摘要: 目的 探讨肥胖相关基因 (*FTO*) rs9930506 位点多态性与 2 型糖尿病 (T2DM) 发病及认知功能的关系。**方法** 收集 450 例 T2DM 患者作为 T2DM 组, 512 例同期于北京某社区招募的无 T2DM 者为对照组。采用重复性成套神经心理状态测验量表评估两组患者的认知功能, 限制性片段长度多态性技术检测 *FTO*-rs9930506 位点多态性。**结果** 两组患者 *FTO*-rs9930506 位点基因型及等位基因频率分布无差异 ($P > 0.05$)。两组女性患者 rs9930506 位点等位基因频率分布有差异 ($P < 0.05$), G 等位基因女性携带者发生 T2DM 的风险是 A 基因型携带者的 1.464 倍。两组男性患者 *FTO*-rs9930506 位点等位基因及基因型频率分布无差异 ($P > 0.05$)。整体样本中, GG 基因型携带者体重指数高于 AA、AG 基因型携带者 ($P < 0.05$), GG 基因型携带者言语能力、延迟记忆均低于 AA、AG 基因型携带者 ($P < 0.05$)。**结论** *FTO*-rs9930506 位点 G 等位基因是女性 T2DM 发病的危险等位基因, *FTO*-rs9930506 基因多态性参与 T2DM 患者认知损伤。

关键词: 2 型糖尿病; 肥胖相关基因; 多态性, 单核苷酸; 重复性成套神经心理状态测验; 认知障碍

中图分类号: R581.7

文献标识码: A

FTO-rs9930506 polymorphism is associated with cognitive deficit and occurrence of type 2 diabetes in female patients of Hebei Province*

Yan-feng Zhen¹, Xing-yu Liu², Hui Fang¹, Luo-bing Tian¹, Gang Xu³, Yue Yang¹,
Xue-ling Sun¹, He Zhang¹, Jing Xu¹, Lei Zhou¹

(1. Department of Endocrinology, 2. Department of Nerosurgery, 3. Burn Department,
Tangshan Gongren Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China)

Abstract: Objective To investigate the correlations of fat mass and obesity associated (*FTO*)- rs9930506 polymorphism with cognitive deficit and occurrence of type 2 diabetes (T2DM). **Methods** Totally 450 T2DM patients hospitalized in Tangshan Gongren Hospital from March 2008 to March 2010 were enrolled as the patient group, and 512 persons without T2DM were collected from a community in Beijing at the same period as the control group. RBANS was used to evaluate cognitive performance. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) was applied to explore *FTO*-rs9930506 polymorphism. **Results** There was no significant difference either in allele distribution or genotype frequencies of *FTO*-rs9930506 locus between the patient and control groups ($P > 0.05$). However, significant difference was found in allele distribution between the female subjects of the two groups ($P < 0.05$); moreover, the subjects with G allele had 1.464 times higher risk to develop

收稿日期: 2017-01-03

* 基金项目: 河北省自然科学基金 (No.: H2015105083)

[通信作者] 房辉, E-mail: jane791115@126.com

T2DM than the A allele carriers. Furthermore, BMI of the GG genotype carriers was higher than that of the AA and AG genotype carriers ($P < 0.05$), the language capability and delayed memory of the GG genotype carriers were worse than those of the AA and AG genotype carriers ($P < 0.05$). **Conclusions** G allele of FTO-rs9930506 locus is a risk allele for female to develop T2DM. FTO-rs9930506 polymorphism plays a role in cognitive deficit of the patients with T2DM.

Keywords: type 2 diabetes mellitus; fat mass and obesity associated gene; polymorphism, single nucleotide; RBANS; cognition disorder

肥胖相关基因 (fat mass and obesity associated, FTO) rs9930506 位点是目前研究最多的位点之一, 国外研究显示, FTO 与体重增加和 2 型糖尿病 (type 2 diabetes mellitus, T2DM) 的易感性有关^[1-2]。有研究发现 FTO-rs9930506 多态性与认知相关^[3]。T2DM 患者存在认知损伤, 尤以学习、记忆损伤为主, 但其具体机制仍不清楚^[4-5]。因此, 本研究旨在探讨 FTO-rs9930506 位点多态性与 T2DM 发病及认知功能的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2008 年 3 月-2010 年 3 月于河北省唐山市工人医院住院的 T2DM 患者 450 例作为 T2DM 组。其中, 男性 232 例, 女性 218 例; 平均年龄 (55.0 ± 13.4) 岁; 平均受教育 (9.8 ± 1.6) 年。纳入标准: 符合世界卫生组织 1999 年 T2DM 的诊断标准^[6]。排除标准: ①有脑出血、脑血栓等脑血管病史; ②存在影响认知的严重视力、听力及肢体障碍者; ③存在影响认知的如颅脑外伤、肿瘤及痴呆等中枢性神经损伤病史; ④药物滥用或酒精依赖者; ⑤非汉族者; ⑥不愿参加本研究者。选取同期于北京某社区招募的志愿者 512 例无 T2DM 者作为对照组。其中, 男性 264 例, 女性 248 例; 平均年龄 (55.5 ± 12.6) 岁; 平均受教育 (11.4 ± 2.6) 年。两组患者年龄、受教育年限及性别比例相匹配。所有患者签署研究知情同意书, 并获本院医学伦理委员会批准。

1.2 资料收集

收集所有患者的性别、年龄、受教育程度、身高、体重、收缩压及舒张压等一般资料。

1.3 血清指标检测及基因组 DNA 提取

采取所有受试者 3 ml 外周静脉血, 2 000 r/min 低温离心 10 min, 分别收集血清及血细胞。血清空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、空腹胰岛素 (Fasting serum insulin,

FINS) 及三酰甘油 (Triglyceride, TG) 的检测分别使用酶比法、甘油磷酸氧化酶法、电化学发光法及氧化酶法。稳态胰岛素评价指数 (homeostasis model assessment-insulin resistance, HOMA-IR) = (空腹胰岛素 \times 空腹血糖) / 22.5; 使用博迈德中量血 DNA 提取试剂盒提取血细胞基因组 DNA。

1.4 患者认知功能评价

所有患者的认知功能使用神经心理状态评定量表 (repeatable battery for the assessment of neuropsychological status, RBANS) 进行评价^[7]。此量表包括 5 个分量表, 分别为注意、视觉广度、言语功能、即刻及延迟记忆。张保华等^[8]于 2008 年将本量表引进中国, 并进行该量表在人群的信度和效度分析, 发现重测信度为 0.90, Cronbach α 系数为 0.90, 在中国人群具有良好的信度和效度。3 位研究者于量表评估前进行一致性培训, 培训结束后其 RBANS 总分组内相关系数 (interclass correlation coefficient, ICC) < 0.8 。

1.5 FTO-rs9930506 基因多态性检测

使用 Primer 5 引物设计软件, 按照引物设计原则设计引物。rs9930506 正向引物: 5' -AACAAAGGTGGGCATAGAGAT-3', 反向引物: 5' -ACTGGGCTGCTGTCATT-3'。PCR 反应: 总体积 25.0 μ l, 包括 4.0 μ l 引物 (10 pmol/ μ l), 3.0 μ l 45 ng 模板 DNA, 1.0 μ l 高质量的脱氧核糖核苷酸 (2 mmol/L), 1.5 μ l MgCl₂ (25 mmol/ μ l), Taq DNA 聚合酶 1 μ l, 2.5 μ l 10 \times PCR buffer, 高血去离子水补齐至 25.0 μ l。试剂均购于大连宝生生物工程有限公司。

PCR 反应参数设定: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 95 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 54.6 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 共 30 个循环, 72 $^{\circ}$ C 继续延伸 10 min。Taq I 酶购自美国 Fermentas 公司。Taq I 酶酶切产物经琼脂糖电泳 (2.8%), 结果行 UVP 凝胶成像系统查看, 行基因型分型。

1.6 统计学方法

数据分析采用 SPSS 16.0 统计学软件, 计量资料

以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用方差分析; 计数资料以率表示, 比较用 χ^2 检验, 样本群体代表性采用 Hardy-Weinberg 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *FTO*-rs9930506 位点基因分型结果

经 *Tai* I 限制性内切酶酶切后, PCR 产物共分为 3 个基因型: 野生型 AA (360 bp)、杂合型 AG (360、177 和 183 bp) 及纯和型 GG (177 和 183 bp)。见图 1。

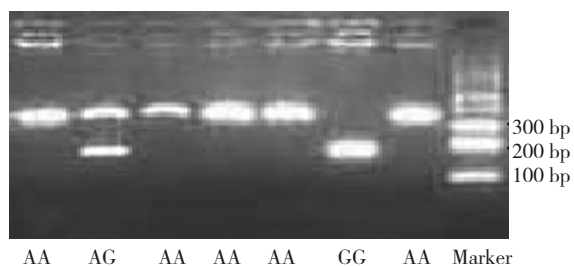


图 1 *FTO*-rs9930506 位点酶切产物电泳图

2.2 两组患者 *FTO*-rs9930506 位点等位基因及基因型频率比较

T2DM 组与对照组基因型频率分布均符合 Hardy-

Weinberg 遗传平衡定律。两组患者 rs9930506 位点基因型及等位基因频率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。两组女性患者 rs9930506 位点等位基因频率比较, 采用 χ^2 检验, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且女性等位基因 G 携带者 T2DM 的发生风险是等位基因 A 携带者的 1.464 倍, *FTO*-rs9930506 在女性 T2DM 组与对照组的基因型频率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。两组男性受试者 rs9930506 位点基因型及等位基因频率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.3 T2DM 组 *FTO*-rs9930506 位点各基因型携带者临床指标比较

T2DM 组 *FTO*-rs9930506 位点各基因型携带者体重指数 (body mass index, BMI) 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), GG 基因型携带者高于 AA、AG 基因型携带者。见表 2。

2.4 T2DM 组 *FTO*-rs9930506 位点各基因型携带者 RBANS 评分比较

T2DM 组 *FTO*-rs9930506 位点各基因型携带者言语能力、延迟记忆评分比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 1 各等位基因及基因型频率比较 例 (%)

| 基因 | T2DM 组女性 (<i>n</i> = 218) | 对照组女性 (<i>n</i> = 248) | $\hat{O}R$ | 95%CI | | χ^2 值 | <i>P</i> 值 |
|------|-------------------------------|----------------------------|------------|-------|-------|------------|------------|
| | | | | 下限 | 上限 | | |
| 基因型 | | | | | | | |
| AA | 146 (67.0) | 186 (75.0) | 1.000 | - | - | | |
| AG | 64 (29.4) | 58 (23.4) | 1.406 | 0.927 | 2.131 | 4.535 | 0.104 |
| GG | 8 (3.7) | 4 (1.6) | 2.548 | 0.753 | 8.627 | | |
| 等位基因 | | | | | | | |
| A | 356 (81.7) | 430 (86.7) | 1.000 | - | - | 4.465 | 0.035 |
| G | 80 (18.3) | 66 (13.3) | 1.464 | 1.027 | 2.088 | | |

表 2 T2DM 组患者 *FTO*-rs9930506 位点各基因型携带者临床指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 基因型 | FPG/ (mmol/L) | TG/ (mmol/L) | HDL-C/ (mmol/L) | TC/ (mmol/L) | HOMA-IR | LDL-C/ (mmol/L) | BMI/ (kg/m ²) |
|------------|---------------|---------------|-----------------|---------------|---------------|-----------------|---------------------------|
| AA | 9.6 \pm 4.1 | 2.0 \pm 1.4 | 1.2 \pm 0.4 | 5.2 \pm 1.3 | 4.5 \pm 3.4 | 2.8 \pm 0.8 | 25.2 \pm 3.4 |
| AG | 9.3 \pm 2.9 | 2.0 \pm 2.0 | 1.2 \pm 0.3 | 5.0 \pm 1.2 | 3.7 \pm 2.5 | 2.8 \pm 0.9 | 26.1 \pm 3.1 |
| GG | 9.3 \pm 3.0 | 2.2 \pm 1.7 | 1.1 \pm 0.4 | 5.2 \pm 2.4 | 5.5 \pm 2.7 | 3.0 \pm 0.9 | 28.5 \pm 2.0 |
| <i>F</i> 值 | 0.154 | 0.050 | 0.433 | 0.534 | 1.960 | 0.283 | 4.112 |
| <i>P</i> 值 | 0.863 | 0.962 | 0.651 | 0.590 | 0.140 | 0.752 | 0.016 |

表 3 T2DM 组 *FTO*-rs9930506 位点各基因型携带者 RBANS 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

| 基因型 | 视觉广度 | 注意 | 言语能力 | 即刻记忆 | 延迟记忆 | 总分 |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| AA | 88.1 ± 16.7 | 88.4 ± 13.1 | 97.6 ± 14.9 | 74.9 ± 15.5 | 87.4 ± 13.0 | 83.6 ± 16.1 |
| AG | 81.7 ± 14.4 | 82.7 ± 19.1 | 83.8 ± 13.9 | 68.7 ± 15.7 | 76.0 ± 12.5 | 73.0 ± 14.6 |
| GG | 82.1 ± 13.0 | 81.4 ± 15.7 | 83.9 ± 14.5 | 67.1 ± 14.9 | 75.8 ± 11.5 | 71.9 ± 13.0 |
| <i>F</i> 值 | 0.725 | 0.660 | 3.070 | 1.044 | 3.264 | 2.473 |
| <i>P</i> 值 | 0.493 | 0.524 | 0.044 | 0.360 | 0.042 | 0.092 |

3 讨论

肥胖是 T2DM 发生的主要危险因素, 而影响肥胖的遗传变异可能也会影响 T2DM 的发病。*FTO* 主要位于下丘脑核群, 该核群主要作用为管理能量平衡, 该基因与肥胖相关, 所以称它为肥胖基因。有研究发现 *FTO* 基因与肥胖相关的 SNPs 均位于第 1 个内含子内, 该内含子在遗传上具有高度的保守性, 而位于第 1 个内含子的 rs9930506 位点是目前研究最多的位点之一^[1]。

本研究发现在总体样本中, 两组患者 *FTO*-rs9930506 基因型及等位基因频率比较均无差异, 这与 LI 等的研究结果一致^[9]。目前在亚洲人群中对于 *FTO* 基因多态性与 T2DM 发病的相关研究较多, 但研究结果不仅在亚洲人群中不尽一致, 与欧洲人群研究结果也有差别, 提示: *FTO* 基因不同位点的多态性具有地区、种族差异^[9-14]。本研究发现中国汉族女性 G 等位基因携带者发生 T2DM 的风险是 A 等位基因携带者的 1.464 倍, 提示中国汉族女性 T2DM 发病的危险等位基因是 G 等位基因, 与 LI 等^[9]的研究结果不同的是, 笔者只在中国汉族女性人群中发现了该位点多态性与 T2DM 的发病相关, 而 LI 等未发现这种相关性。国外研究在欧洲白种人群中发现了 *FTO*-rs9930506 基因多态性与 T2DM 总体样本发病的相关性^[1]。本研究样本量少, 且限于河北地区, 笔者会在以后的研究中加大样本量, 希望能得到更好的结果。

本研究发现 T2DM 组 *FTO*-rs9930506 位点各基因型携带者延迟记忆、言语能力有差异 ($P < 0.05$), 且在校正 BMI 的影响后, 延迟记忆比较有差异 ($P < 0.05$), 提示 GG 基因型为 T2DM 认知损伤的危险基因型, 本研究还发现 GG 基因型携带者 BMI 高于 AA、AG 基因型携带者, 这可能与肥胖导致胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR), IR 参与认知损伤相关^[15-16]。有研究证实, *FTO* mRNA 在大脑表达, 尤以下丘脑区域表达最多, 摄食调控 *FTO* mRNA 在大脑弓状核的表达^[17]。

FTO 还可影响大脑皮层对胰岛素的敏感性, *FTO* 基因多态性可致大脑对胰岛素的敏感性下降^[18]。胰岛素可影响认知, 大脑对胰岛素的敏感性降低, 最终会影响认知功能。肥胖患者于外周则表现为高胰岛素血症, 从而使外周向大脑运输的胰岛素量减少, 大脑胰岛素总量降低, 神经元 β -淀粉样蛋白 (beta amyloid protein, A β) 产生增多, 而胰岛素降解酶的活性降低, 又使 A β 寡聚化以致堆积, A β 具有神经毒性, 使神经元损害, 最终导致认知损伤^[19]。作用于 N-甲基-D-天门冬氨酸受体的胰岛素可使长时程增强, 改善认知功能, 但当 IR 时, 胰岛素敏感性降低, 致认知损伤^[20]。也有研究发现 *FTO* 基因多态性与阿尔茨海默症认知损伤相关^[1]。

综上所述, *FTO* 基因 rs9930506 位点 G 等位基因是中国女性 T2DM 发病的危险等位基因, *FTO*-rs9930506 基因多态性参与 T2DM 认知损伤。

参 考 文 献:

- [1] GOUTZELAS Y, KOTSA K, VASILOPOULOS Y, et al. Association analysis of *FTO* gene polymorphisms with obesity in greek adults[J]. *Gene*, 2017, 20(613): 10-13.
- [2] YANG Y, LIU B, XIA W, et al. *FTO* genotype and type 2 diabetes mellitus: spatial analysis and meta-analysis of 62 case-control studies from different regions[J]. *Genes (Basel)*, 2017, 8(2): 70.
- [3] BRESSLER J, FORNAGE M, DEMERATH E W, et al. Fat mass and obesity gene and cognitive decline: the atherosclerosis risk in communities study[J]. *Neurology*, 2013, 80(1): 92-99.
- [4] CHEN Z, LIU M, LIU M, et al. Resting-state brain functional magnetic resonance imaging in patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*, 2014, 34(8): 1083-1091.
- [5] ZHEN Y F, ZHANG J, LIU X Y, et al. Low BDNF is associated with cognitive deficits in patients with type 2 diabetes[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2013, 227(1): 93-100.
- [6] 钱荣立. 关于糖尿病的新诊断标准与分型 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2000, (1): 4-5.
- [7] DUFF K, HUMPHREYS CLARK J D, O'BRYANT S E, et

- al. Utility of the RBANS in detecting cognitive impairment associated with Alzheimer's disease: sensitivity, specificity, and positive and negative predictive powers[J]. Archives of Clinical Neuropsychology, 2008, 23: 603-612.
- [8] 张保华, 谭云龙, 张五芳, 等. 重复性成套性神经心理状态测验的信度、效度分析[J]. 中国心理卫生杂志, 2008, 22(11): 787-791.
- [9] LI H, WU Y, LOOS R J, et al. Variants in the fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene are not associated with obesity in a Chinese Han population[J]. Diabetes, 2008, 57(1): 264-268.
- [10] KIM Y J, LEE H S, KIM Y K, et al. Association of metabolites with obesity and type 2 diabetes based on *FTO* genotype[J]. PLoS One, 2016, 11(6): DOI: 10.1371/journal.pone.0156612.
- [11] PHANI N M, VOHRA M, RAJESH S, et al. Implications of critical *PPAR γ 2*, *ADIPOQ* and *FTO* gene polymorphisms in type 2 diabetes and obesity-mediated susceptibility to type 2 diabetes in an Indian population[J]. Mol Genet Genomics, 2016, 291(1): 193-204.
- [12] NIKITIN A G, POTAPOV V A, BROVKIN A N, et al. Association of the polymorphisms of the *FTO*, *KCNJ11*, *SLC30A8* and *CDKN2B* genes with type 2 diabetes[J]. Mol Biol (Mosk), 2015, 49(1): 119-128.
- [13] FAWWAD A, SIDDIQUI I A, BASIT A, et al. Common variant within the *FTO* gene, rs9939609, obesity and type 2 diabetes in population of Karachi, Pakistan[J]. Diabetes Metab Syndr, 2016, 10(1): 43-47.
- [14] RAZA S, ABBAS S, AHMAD A, et al. Association of glutathione-S-transferase (*GSTM1* and *GSTT1*) and *FTO* gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus cases in northern india[J]. Balkan J Med Genet, 2014, 17(1): 47-54.
- [15] BENEDICT C, JACOBSSON J A, RÖNNEMAA E, et al. The fat mass and obesity gene is linked to reduced verbal fluency in overweight and obese elderly men[J]. Neurobiol Aging, 2011, 32(6): 1159.
- [16] BRUEHL H, SWEAT V, HASSENSTAB J, et al. Cognitive impairment in non-diabetic middle-aged and older adults is associated with insulin resistance[J]. J Clin Exp Neuropsychol, 2010, 32(5): 487-493.
- [17] FRAYLIN T M, TIMPON N J, WEEDON M N, et al. A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity[J]. Science, 2007, 316(5826): 889-894.
- [18] TSCHRITTER O, PREISSEL H, YOKOYAMA Y, et al. Variation in the *FTO* gene locus associated with cerebrocortical insulin resistance in humans[J]. Diabetologia, 2007, 50(12): 2602-2603.
- [19] CRAFT S. Insulin resistance and Alzheimer's disease pathogenesis: potential mechanisms and implications for treatment[J]. Curr Alzheimer Res, 2007, 4(1): 147-152.
- [20] SKEBERDIS V A, LAN J, ZHANG X, et al. Insulin promotes rapid delivery of N-methyl-D-aspartate receptors to the cell surface by exocytosis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998: 3561-3566.

(李科 编辑)