

• 短篇论著 •

CDKN2A 单核苷酸基因多态性与妊娠糖尿病伴 HBV 感染的临床相关研究

余水泉

(重庆市涪陵中心医院医学检验科, 重庆 408000)

摘要:目的 探讨细胞周期依赖性激酶抑制基因(CDKN2A)基因多态性、病毒性肝炎与妊娠期糖尿病(GDM)的临床相关性。方法 选取 2014 年 9 月至 2017 年 5 月在该院就诊的携带慢性乙型肝炎病毒(HBV)的孕妇(A 组)240 例,同时选取未感染孕妇(U 组)260 例作为对照组,比较两组孕妇 GDM 的发病率。然后将 A 组分为 A1(HBV 携带的 GDM 孕妇)和 A2(HBV 携带的非 GDM 孕妇),U 组分为 U1(无携带的 GDM 孕妇)和 U2(无携带的非 GDM 孕妇),采用基因测序方法进行基因分型,然后比较 A1 和 A2、U1 和 U2 的 CDKN2A 基因多态性,再比较 A1 与 U1、A2 与 U2 的基因多态性。结果 A 组孕妇的 GDM 发病率显著高于 U 组孕妇($P<0.05$);CDKN2A 基因 rs10811661 的 CC,TT,TC 3 种基因型分布在 A1 组和 U1 组间差异有统计学意义($P<0.05$),A1 组危险等位基因 T 的分布率显著高于 U1 组($P<0.05$);但 A2 组危险等位基因的分布与 U2 组之间的差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 CDKN2A 基因多态性、乙型病毒性肝炎与妊娠期糖尿病三者有密切的临床相关性。

关键词:妊娠糖尿病; 病毒性肝炎; 基因多态性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.08.031

文章编号:1673-4130(2019)08-1013-03

中图法分类号:Q343.1+2

文献标识码:B

妊娠糖尿病(GDM)是指孕妇在怀孕前没有糖尿病,怀孕中或生产后才发现的糖尿病。近年来,GDM 在孕妇中的比例呈上升趋势^[1-3],其危害众多,尤其是对病毒性肝炎孕妇,不但影响胎儿在母体内的正常发育、增加母体和新生儿多种并发症的发生,还会增加母体再次妊娠时糖尿病复发率。因此,探究 GDM 的发病机制,进行早期诊断,对于预防治疗降低 GDM 对母体的危害具有重要意义。国内外研究表明,病毒性肝炎会增加孕妇患妊娠糖尿病的风险^[4],另一方面,细胞周期依赖性激酶抑制基因(CDKN2A)基因多态性与妊娠期糖尿病也有一定的相关性^[5-6],病毒性肝炎、CDKN2A 基因多态性与妊娠糖尿病相关性如何,临床研究报道较少。本研究以本院收治的健康孕妇、乙型肝炎孕妇为研究对象,采用飞行时间质谱检测 CDKN2A 基因的多态性,分析探讨乙型病毒性肝炎、CDKN2A 基因多态性与妊娠糖尿病的相关性,为临床提供一定参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 9 月至 2017 年 5 月本院收治的携带慢性乙型肝炎病毒(HBV)的孕妇 240 例和未感染孕妇 260 例。纳入标准如下:(1)携带慢性 HBV:血清中 HBsAg 和 HBV DNA 呈阳性,肝功

能正常的孕妇;(2)GDM:所有妊娠 24~32 周行 75 g 口服葡萄糖耐量实验(OGTT)检测:空腹血糖 >5.3 mmol/L,餐后 1 h 血糖 >10.0 mmol/L,餐后 2 h 血糖 >8.5 mmol/L,达到上述三项之一者,可诊断 GDM。若上述节点血糖水平均小于临界值,则诊断为正常糖耐量(NGT)。排除标准:(1)孕期合并其他感染,如妊娠高血压患者,感染单纯疱疹病毒、巨细胞病毒、风疹病毒、HIV 等。(2)患有脂肪肝、肝硬化或肝癌等影响正常肝功能的孕妇。(3)孕前应用糖皮质激素类药物、细胞毒性药物等。(4)胎儿发育异常或多胎孕妇。根据参与孕妇是否含有 HBV,将所有孕妇分为两组:携带慢性 HBV 的孕妇 240 例(A 组),未感染 HBV 孕妇 260 例(U 组)作为对照组。然后根据孕妇是否为 GDM,将 A 组患者分为 A1(HBV 携带的 GDM 孕妇)和 A2(HBV 携带的非 GDM 孕妇),U 组患者分为 U1(无携带的 GDM 孕妇)和 U2(无携带的非 GDM 孕妇)。所有对象在知情同意下,签署知情同意书,两组患者的一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表 1。

1.2 方法 两组孕妇空腹 12 h 后,口服 75 g 葡萄糖 1 h,2 h,3 h 后检测各孕妇的血糖含量和各组孕妇的糖化血红蛋白(HbA1c)水平。根据 OGTT 的 GDM

诊断标准,分析比较两组患者的 GDM 发病率。提取、保存各患者的 DNA,采用飞行时间质谱测所有孕妇的基因型(送至重庆医科大学进行检测),具体步骤如下:首先 PCR 扩增目的基因序列,将患者 DNA 与芯片基质共结晶后放入质谱仪的真空管;然后用强激光激发使基质晶体升华,核酸分子解吸附并转变为亚稳态离子,在真空小管中飞行到达检测器,最后检测出各基因分型。分析孕妇 CDKN2A 基因 rs10811661 的三种基因型 TT,TC,CC 的分布及等位基因 T 和 C 的分布频率。

表 1 两组孕妇一般资料的比较				
组别	年龄(岁)	平均年龄(岁)	平均孕前 体质量指数(BMI)	孕周(周)
A 组	25.4~31.3	28.7±3.3	22.1±2.4	35.6±1.5
U 组	25.8~30.9	28.5±3.1	22.5±3.3	36.1±1.2

1.3 统计学处理 统计学处理采用 SPSS22.0 软件进行,其中计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用单因素方差分析和 t 检验分析。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组患者妊娠糖尿病发病率比较 A 组患者的 GDM 发病率与 U 组患者相比,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

2.2 两组患者基因型分布的哈代-温伯格定律检验结

果 本研究提供 500 例患者,TT 基因型 181 例,TC 基因型 183 例,CC 基因型 136 例,根据 Hardy-Weinberg 平衡定律公式:

$$[p(A)+q(a)]^2=p^2(AA)+2pq(Aa)+q^2(aa)$$
$$p=(181\times 2+183)/1\,000=0.545$$
$$q=(136\times 2+183)/1\,000=0.455$$

计算 H-W 期望数= $N(p^2AA\ 2pqAa\ q^2aa)$,最后 $P>0.05$,无显著性差异。因此,本研究入选患者的基因型分布符合哈代-温伯格定律。

2.3 两组患者的基因型分析及等位基因分布频率比较 A 组中,A1 组孕妇 182 例,A2 组孕妇 58 例;U 组中,U1 组孕妇 60 例,U2 组孕妇 200 例。CDKN2A 基因 rs10811661 的 TT,TC,CC 三种基因型的分布在 A1 与 A2 中,差异具有统计学意义($P<0.05$),U1 与 U2 组之间差异不明显($P>0.05$)。CDKN2A 基因 rs10811661 的 TT,TC,CC 三种基因型的分布在 A1 组与 U1 组有显著差异($P<0.05$);A1 组危险基因 T 的分布频率高于 U1 组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 2 两组患者妊娠糖尿病发病率比较[n(%)]			
组别	n	GDM	NGT
A 组	240	182(75.8)	58(24.2)
U 组	260	60(23.1)	200(76.9)

表 3 各小组孕妇的 CDKN2A 基因分布和等位基因 T/C 的频率[n(%)]						
组别	n	基因分布			等位基因频率	
		TT	TC	CC	T	C
A1	182	72(39.6) ^a	75(41.2)	35(19.2)	219(60.2) ^a	145(39.8)
A2	58	19(32.8)	21(36.2)	18(31.0)	59(50.9)	57(49.1)
U1	60	18(30.0)	20(33.3)	22(36.7)	77(46.7)	43(53.3)
U2	200	72(36.0)	67(33.5)	61(30.5)	211(52.8)	189(47.2)

注:和 U1 组相比,^a $P<0.05$

3 讨 论

糖尿病是由各种致病因子作用于机体导致胰岛素供应不足或胰岛素在靶细胞不能发挥正常生理作用下,使体内糖、蛋白质、脂肪、水和电解质等一系列代谢发生紊乱的临床综合征。GDM 对母婴的主要危害是增加了胎儿在宫内发育异常、新生儿窒息、畸形等不良结局的发生^[7-8]。因此,GDM 的早发现、早诊断、早治疗具有重要意义。目前,GDM 的具体发病机制尚不明确,但有研究报道,病毒性肝炎孕妇 GDM 发病率高于健康孕妇群体。肝脏是参与糖代谢的重要器官,感染 HBV 后,病毒繁殖激发机体正常的免疫系

统,发生自身免疫,导致肝脏功能异常,进而会影响正常的糖代谢,甚至导致糖尿病的发生^[9-10]。此外,还有研究显示,位于 9 号染色体上的 CDKN2A,抑制 CDK4 和 CDK6 的活性,CDK4 的过表达又影响胰岛 B 细胞的功能,使其受损从而减少胰岛素的分泌,和Ⅱ型糖尿病的发生有关。在病毒性肝炎中,肝细胞 CDKN2A 的过表达和肝进行性纤维化、肝癌及胆囊癌的发生、发展有着密切的关系^[11-15]。

本研究通过收集并比较本院收治的乙型病毒性肝炎孕妇及健康孕妇的 GDM 发病率发现,HBV 感染孕妇 GDM 发病率为 75.8%,而健康孕妇的 GDM 发

病率为 23.1%, HBV 感染孕妇的 GDM 发病率显著增加($P<0.05$)。这一结果说明, HBV 侵袭破坏肝脏细胞, 使得孕妇肝功能异常肝脏受损, 从而影响肝脏中的糖代谢过程, 恶性循环最终会导致机体糖代谢发生紊乱。由于孕妇处于特殊时期, 机体代谢负担加重, 一旦出现糖代谢紊乱很可能增加 GDM 的发病率。同时, 本研究还将感染 HBV 携带 GDM 的孕妇与感染 HBV 的 NGT 孕妇进行了 CDKN2A 基因 rs10811661 分布多态性的比较, 发现两组患者 CDKN2A 基因的三种 TT、TC、CC 基因型分布明显不同, 感染 HBV 携带 GDM 的孕妇 TT 显著增高($P<0.05$)。未感染 HBV 患有 GDM 的孕妇与未感染 HBV 的 NGT 孕妇相比, CDKN2A 基因 rs10811661 的三种基因型的分布差异无统计学意义($P>0.05$)。但是感染 HBV 的 GDM 孕妇中与未感染 HBV 的 GDM 孕妇中有显著差异, CDKN2A 基因 rs10811661 的危险基因 T 的分布率也明显不同。上述结果表明 HBV 感染、CDKN2A 基因 rs10811661 T/C 多态性和 GDM 的发病具有相关性。机制可能是患有乙型病毒性肝炎, 同时携带危险等位基因 T 的孕妇的胰岛 B 细胞更易受损。但由于 GDM 是一种由遗传、环境与生活习惯等因素共同引起的疾病, 又因本研究样本数量有限, 故有待于进行大样本、多基因、多因素的联合分析。

本研究首次探究了 HBV 携带 GDM 孕妇和无 HBV 感染 GDM 孕妇的 CDKN2A 基因多态性分布情况。发现 HBV 携带 GDM 孕妇 CDKN2A 基因分布和 HBV 无 GDM 孕妇差异有统计学意义($P<0.05$), 等位基因 T 出现的频率明显增加。与此同时, 与健康 GDM 孕妇相比, HBV 携带 GDM 孕妇危险基因 T 的分布频率显著上升($P<0.05$), 证实病毒性肝炎和 CDKN2A 基因 rs10811661 T/C 多态性是 GDM 的发病有一定的相关性, 是其发病的重要影响因素。

参考文献

[1] 王华, 李继荣, 冯金庭, 等. 糖化血红蛋白和超敏 C 蛋白对妊娠糖尿病的临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2016, 23(9): 1049-1051.

[2] 吴寿荣, 黄和明, 马炜锋. HbA1c, GSP, SHBG, TG, FFA 对妊娠期糖尿病的诊断价值研究[J]. 国际检验医学杂

志, 2018, 39(6): 678-680.

[3] 曲晶. 病毒性肝炎合并糖尿病预后与病毒因素的研究[J]. 糖尿病新世界, 2015, 35(4): 77.

[4] 李华珍, 袁俏奇, 罗利, 等. 妊娠期糖尿病产妇胎盘与血清脂联素水平的相关性[J]. 中南医学科学杂志, 2016, 44(3): 255-257.

[5] 袁海琳. 孕早期血清游离 25-羟维生素 D 对孕前肥胖孕妇妊娠期糖尿病的预测作用[J]. 海南医学, 2017, 28(12): 1934-1937.

[6] 吕伟东, 李萍, 张梅, 等. CDKN2A/2B 基因多态性与妊娠糖尿病相关[J]. 基础医学与临床, 2012, 32(8): 889-893.

[7] 张敏, 邓仁生, 文茜, 等. 血清胰抑素 C、血脂及高敏 C 反应蛋白与糖尿病视网膜病变的相关性研究[J]. 中南医学科学杂志, 2017, 45(1): 24-26.

[8] 刘斌, 胡慧琼. 糖化血红蛋白联合糖化清蛋白测定在妊娠期糖尿病筛查中的应用价值[J]. 标记免疫分析与临床, 2017, 24(3): 287-289.

[9] 夏向群, 胡爱荣, 蒋素文, 等. 核苷和核苷酸类药物在慢性乙型肝炎病毒感染者中的应用及耐药突变分析[J]. 中国现代应用药学, 2016, 33(6): 810-814.

[10] 郑铁骑, 邢翔飞. 2 型糖尿病相关炎症细胞因子基因多态性研究进展[J]. 海南医学, 2016, 27(15): 2494-2496.

[11] 汪东剑, 彭慧琼, 彭国林, 等. 不同稀释液在乙型肝炎病毒 DNA 稀释检测中的应用研究[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(13): 1864-1866.

[12] 薛伟红, 王友春, 韩宏峰, 等. 乙型肝炎病毒感染与原发肝癌的关联性及相关因素分析[J]. 实用癌症杂志, 2017, 32(9): 1489-1493.

[13] 肖珊, 阿勒滕齐齐格, 姚华, 等. CDKAL1、CDKN2A/2B、FTO 基因多态性与维吾尔族 2 型糖尿病的关联以及基因间交互作用研究[J]. 中国医药导报, 2017, 14(9): 16-23.

[14] QIAN Y, LU F, DONG M, et al. Cumulative effect and predictive value of genetic variants associated with type 2 diabetes in Han Chinese: a case-control study[J]. PLoS One, 2015, 10(1): e116537.

[15] NEMR R, ALMAWI A W, ECHTAY A, et al. Replication study of common variants in CDKAL1 and CDKN2A/2B genes associated with type 2 diabetes in Lebanese Arab population[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2012, 95(2): 37-40.

(收稿日期: 2018-10-05 修回日期: 2019-01-12)