

• 论 著 •

TCF7L2 基因 rs7903146 位点基因多态性与 2 型糖尿病合并冠状动脉粥样硬化性心脏病的相关性研究^{*}

骆时木, 叶宇宸, 欧阳航, 叶玉华, 张志珊[△]

福建医科大学附属泉州第一医院检验科, 福建泉州 362000

摘要:目的 探讨转录因子 7 类似物 2(TCF7L2) 基因 rs7903146 位点基因多态性与 2 型糖尿病(T2DM) 合并冠状动脉粥样硬化性心脏病(CHD) 发病风险的相关性, 寻找 T2DM 合并 CHD 的易感基因及影响因素。方法 选取该院 100 例 T2DM 患者为 T2DM 组, 100 例 CHD 患者为 CHD 组, 100 例 T2DM 合并 CHD 患者为 T2DM+CHD 组, 100 例体检健康者为对照组, 检测 4 组 TCF7L2 基因 rs7903146 位点基因多态性, 分析基因型分布特点; 比较 4 组不同基因型血脂、血糖等指标的差异; Logistic 回归分析 T2DM 合并 CHD 的影响因素。结果 TCF7L2 基因 rs7903146 位点 CC/CT 基因型分布在各组间比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。各组 CC/CT 基因型间血糖、血脂水平比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。Logistic 回归分析结果显示, 高龄、高水平糖化血红蛋白是 T2DM 合并 CHD 的独立危险因素, 低水平高密度脂蛋白胆固醇是预防 T2DM 合并 CHD 的保护因素, 而 rs7903146 位点基因型不是发生 T2DM 合并 CHD 的影响因素。结论 TCF7L2 基因 rs7903146 位点基因多态性与 T2DM 合并 CHD 发病风险, 血糖、血脂水平无关。

关键词: 转录因子 7 类似物 2; rs7903146 位点; 2 型糖尿病; 冠状动脉粥样硬化性心脏病; 基因多态性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.01.021 **中图法分类号:**R541.4; R587.1

文章编号:1673-4130(2021)01-0091-05 **文献标志码:**A

Association between rs7903146 polymorphism of TCF7L2 gene and coronary atherosclerotic heart disease in type 2 diabetes mellitus^{*}

LUO Shimu, YE Yuchen, OU Yanghang, YE Yuhua, ZHANG Zhishan[△]

Department of Clinical Laboratory, Quanzhou First Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Quanzhou, Fujian 362000, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between the rs7903146 polymorphism of transcription factor 7 analogue 2 (TCF7L2) gene and the risk of coronary heart disease (CHD) in type 2 diabetes mellitus (T2DM), and to find the susceptible genes and influencing factors of T2DM complicated with CHD. **Methods** A total of 100 T2DM patients were selected as T2DM group, 100 CHD patients as CHD group, 100 T2DM patients with CHD were selected as T2DM+CHD group, and 100 healthy persons were selected as control group. The polymorphism of TCF7L2 gene rs7903146 locus was detected in 4 groups, and the distribution characteristics of genotypes were analyzed. The differences of blood lipid and blood glucose among 4 groups were compared. The influencing factors of T2DM combined with CHD were analyzed by Logistic regression. **Results** The CC/CT genotype distribution at rs7903146 site of TCF7L2 gene was compared among the groups, and the difference was not statistically significant ($P>0.05$). There was no statistically significant difference in blood glucose and blood lipid levels between CC/CT genotypes in each group ($P>0.05$). Logistic regression analysis showed that advanced age and high level of glycosylated hemoglobin were independent risk factors for T2DM and CHD, low levels of high-density lipoprotein cholesterol was a protective factor for preventing T2DM and CHD, and rs7903146 locus genotype was not an influence factor for T2DM and CHD. **Conclusion** The genetic polymorphism at rs7903146 of TCF7L2 gene has nothing to do with the risk of T2DM combined with CHD, blood sugar and blood lipid levels.

^{*} 基金项目: 泉州市高层次人才创新创业项目(2017Z038)。

作者简介: 骆时木, 男, 主管技师, 主要从事分子与免疫学相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: 554882707@qq.com。

本文引用格式: 骆时木, 叶宇宸, 欧阳航, 等. TCF7L2 基因 rs7903146 位点基因多态性与 2 型糖尿病合并冠状动脉粥样硬化性心脏病的相关性研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(1): 91-94.

Key words: transcription factor 7 analog 2; rs7903146 locus; type 2 diabetes; coronary atherosclerotic heart disease; gene polymorphism

转录因子 7 类似物 2 (TCF7L2) 是一种转录因子, 为高迁移率族蛋白家族的成员。研究发现 TCF7L2 基因多态性与 2 型糖尿病 (T2DM) 有关, 在 TCF7L2 基因众多单核苷酸多态性位点中, rs7903146 位点是目前研究较热门的位点之一, 且被证实不同的国家和人群中与 T2DM 易感性有紧密联系^[1-2]。该位点的多态性对靶基因启动子的活性和转录概率的影响较强^[3], 在 Wnt 信号通路中, TCF7L2 自我表达的调节有重要作用^[4], 但 rs7903146 位点与 T2DM 合并冠状动脉粥样硬化性心脏病 (CHD) 的相关性报道较少。本研究选择 TCF7L2 基因 rs7903146 位点作为研究位点, 旨在分析其与 T2DM 合并 CHD 的相关性及对体内血糖和血脂水平的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 12 月至 2018 年 6 月本院内分泌科就诊的 T2DM 患者 100 例为单纯 T2DM 组, 其中男 58 例、女 42 例, 平均年龄 (57.73 ± 11.76) 岁。诊断标准参照我国 2007 年糖尿病防治指南: 有糖尿病症状并伴有随机血糖 ≥ 11.1 mmol/L, 或空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L, 或既往有确切糖尿病病史, 并在使用降糖药物或胰岛素者。选取同期本院心内科住院的 CHD 患者 100 例为单纯 CHD 组, 其中男 67 例、女 33 例, 平均年龄 (62.09 ± 13.33) 岁。CHD 的诊断标准: 冠状动脉造影检查证实冠状动脉狭窄 $\geq 50\%$ 或既往有明确心肌梗死病史。选取同期心内科因 CHD 住院的 T2DM 患者 100 例为 T2DM 合并 CHD 组, 其中男 63 例、女 37 例, 平均年龄 (65.28 ± 11.22) 岁。T2DM 合并 CHD 的诊断标准同上。选取同期本院体检中心的体检健康者 100 例为对照组, 其中男 53 例、女 47 例, 平均年龄 (53.35 ± 10.96) 岁, 经检查排除 CHD, 同时无高血压、糖尿病等病史。所有研究对象主要来自福建泉州地区的汉族人群, 无血缘关系。均排除肝脏疾病、肾病综合征、甲状腺或肾上腺疾病等影响血脂代谢的疾病, 且近 1 个月内未使用降脂药物。本研究得到了本院伦理委员会的批准, 所有研究对象均在试验前了解本研究的目的, 并签署知情同意书。

1.2 方法 (1) 标本采集: 所有研究对象均禁食 12~14 h 后, 于次日清晨采肘静脉血 2 管。1 管用乙二胺四乙酸二钾抗凝, 进行糖化血红蛋白 (HbA1c) 检测后, 标本放置 -80°C 冰箱待提取基因组 DNA。另 1 管不抗凝, 于 2 h 内 $3\,000\text{ r/min}$ 离心 5 min 后分离血清, 用于生化指标的检测。(2) 基因多态性检测: 采用引物设计软件 Primer Premier 5.0 设计 TCF7L2 基

因 rs7903146 位点引物, 上游为 $5'$ -AGT TTT ATT GGA GGG TTG CAC-3; 下游为 $5'$ -TAG CGA AGA GAT GAA ATG TAG C-3', 引物由日本 Takara 公司合成。采用 Qiagen 试剂进行 DNA 的提取, BioTeke 浓度检测仪检测其 DNA 浓度及纯度。PCR 反应总体积 $30\ \mu\text{L}$, 包括 $10\times$ buffer $3\ \mu\text{L}$, dNTP $2.4\ \mu\text{L}$, 正向引物和反向引物各 $0.6\ \mu\text{L}$, 模板 DNA $1.5\ \mu\text{L}$, Taq 酶 $0.15\ \mu\text{L}$ 及 ddH_2O $21.75\ \mu\text{L}$ 。PCR 循环条件为 95°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 57.5°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 共进行 35 次循环; 最后 72°C 延伸 5 min。PCR 扩增产物使用 3% 的琼脂糖凝胶进行电泳, 溴化乙啶染色, 使用凝胶成像仪观察结果。扩增产物送北京六合华大基因科技有限公司进行测序, Chromas 软件分析测序结果。(3) 生化指标检测: 采用高效液相色谱法 (日本爱科来 HA8180 糖基化血红蛋白仪) 检测 HbA1c, 采用美国贝克曼库尔特全自动生化分析仪测定血清总胆固醇 (TC)、三酰甘油 (TG)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、载脂蛋白 (Apo) A、ApoB。试验均严格按照标准操作规程进行操作, 采用高低 2 个水平配套质控品进行质量控制, 所有生化项目均取得中华人民共和国国家卫生健康委员会和福建省临检中心室间质量评价合格证书。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 软件进行数据处理分析。计量资料符合正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; Hardy-Weinberg 遗传平衡分析采用 χ^2 检验, 采用二分类 Logistic 回归分析 T2DM 合并 CHD 的影响因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4 组一般临床资料比较 与对照组比较, T2DM 组、CHD 组、T2DM + CHD 组年龄、体质量指数 (BMI)、饮酒和吸烟人数, 以及 HbA1c、HDL-C、ApoA、ApoB 水平差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 TCF7L2 基因 rs7903146 位点基因型分析 经 PCR 扩增后, TCF7L2 基因 rs7903146 位点基因片段为 398 bp。将其 DNA 测序结果与 GenBank 参考序列比较, 结果发现 rs7903146 位点存在 2 种基因多态性, CC 基因型和 CT 基因型, 未发现 TT 基因型, 测序结果见图 1。

2.3 4 组 Hardy-Weinberg 遗传平衡分析 4 组 TCF7L2 基因 rs7903146 位点多态性分布情况均符合

表 4 T2DM 合并 CHD 的 Logistic 回归分析

项目	β	SE	Wald/ χ^2	P	OR	95%置信区间
性别	-0.105	0.305	0.120	0.729	0.900	0.495~1.635
年龄	1.054	0.290	13.239	<0.001	2.869	1.626~5.063
BMI	-0.587	0.310	3.589	0.058	0.556	0.303~1.020
高血压史	0.476	0.300	2.512	0.113	1.609	0.893~2.899
HbA1c	4.157	1.056	15.498	<0.001	63.875	8.064~505.978
血糖	0.752	0.427	3.106	0.078	2.122	0.919~4.899
TG	0.118	0.326	0.131	0.718	1.125	0.594~2.132
TC	-0.346	0.563	0.378	0.539	0.708	0.235~2.132
HDL-C	-1.113	0.331	11.270	0.001	0.329	0.172~0.629
LDL-C	0.082	0.556	0.022	0.882	1.086	0.365~3.231
rs7903146 位点基因型	-0.149	0.516	0.083	0.773	0.862	0.313~2.370

3 讨 论

与 T2DM 相关的基因中 TCF7L2 基因是研究较为深入的基因之一。TCF7L2 作为 Wnt/ β -连环蛋白途径的核受体,在 β -连环蛋白的诱导下结合基因中的 Wnt 反应元件^[5], β -连环蛋白与 T 细胞因子 4 形成复合物参与多种生物事件,特别是在胰腺和胰岛发育中起着关键作用^[6],这影响着 T2DM 的发生与发展。此外,Wnt 信号可利用 β -连环蛋白/T 细胞因子 4 介导肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-1 β 、成纤维细胞生长因子、血管内皮细胞生长因子等多种靶基因的表达^[7],此类细胞因子可介导血管内皮炎性反应,促使血管壁增厚、管腔狭窄,从而增加心血管疾病的发病风险。

本研究通过对对照组、T2DM 组、CHD 组、T2DM 合并 CHD 组 TCF7L2 基因 rs7903146 位点基因多态性分布分析发现,4 组基因多态性分布差异无统计学意义($P>0.05$)。此结果与陈铁晖等^[8]结果相符。在此前亦有许多关于 TCF7L2 基因 rs7903146 位点基因多态性的研究,但其结论不一,梁伟等^[9]研究认为 TCF7L2 基因 rs7903146 位点多态性 TT+CT 基因型、等位基因 T 是 T2DM 患者的危险因素;王志强等^[10]研究新疆维吾尔族人群也认为该位点与 T2DM 有关联,CT 基因型、T 等位基因都是 T2DM 患者的危险因素,而也有学者研究该地区汉族人群则认为 rs7903146 位点基因多态性与 T2DM 不相关^[11];AXEL 等^[12]报道了奥地利人群中携带 rs7903146 T 等位基因的人群患 CHD 的风险较高,这种关联在 T2DM 患者中较强,而 CORELLA 等^[13]报道未发现 rs7903146 位点基因多态性与心血管事件的相关性。研究结果不一致可能是因为每个研究中患者的人口统计学和临床特征不同,或者与不同环境因素有关。同时,不同种族及地域也有可能是其影响因素。在本

研究中亦未发现研究人群 rs7903146 位点基因多态性与 T2DM 合并 CHD 患者的联系。

TCF7L2 基因是利用 Wnt 通路来调节肠内分泌细胞中的胰高血糖素,从而影响血糖的平衡,亦有研究认为,TCF7L2 基因多态性与脂类代谢有关^[14]。PALIZBAN 等^[14]研究发现当 rs7903146 位点 C 突变成 T 时,在血脂异常中将发挥重要作用。CORELLA 等^[15]研究发现肥胖人群与 rs7903146 位点基因多态性有相互作用,与不肥胖者比较,肥胖患者发生 T2DM 的风险更高。有研究表明 rs7903146 位点基因多态性可能与糖尿病肾病、高血压及血脂异常等发病机制有关^[16-20]。赵晓宇等^[21]报道在中国北方人群中 TCF7L2 基因 rs11196218 位点 A/G 与血脂异常相关。因此,本研究还对各组 CC、CT 基因型的 HbA1c 和血糖、血脂指标进行比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。本研究中 Logistic 回归分析结果显示高龄、高水平 HbA1c 是发生 T2DM 合并 CHD 的独立危险因素,低水平 HDL-C 是预防 T2DM 合并 CHD 的保护因素,rs7903146 位点基因型不是发生 T2DM 合并 CHD 的影响因素。

本研究显示 rs7903146 位点各基因型生化水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$),但考虑到研究的样本量不够多,男女比例不平衡,组间年龄也有差异,且存在抽样误差的可能。因此,在评价结果时,需要考虑到这些因素不平衡带来的影响。此外,遗传背景、环境条件、生活方式、饮食习惯等诸多因素对疾病的影响亦不能忽视。

综上所述,TCF7L2 基因 rs7903146 位点基因多态性与 T2DM 合并 CHD 发病风险、血糖、血脂水平无关。

参考文献

- [1] GUAN Y, YAN L H, LIU X Y, et al. Correlation of the TCF7L2 (rs7903146) polymorphism with an enhanced risk of type 2 diabetes mellitus: a Meta-analysis[J]. Genet Mol Res, 2016, 15(3): 3-5.
- [2] YAO H, WANG Z Q, WANG T T, et al. Association of TCF7L2 genetic polymorphisms with type 2 diabetes mellitus in the uygur population of China[J]. Int J Environ Res Public Health, 2015, 12(9): 11797-11814.
- [3] GAULTON K J, NAMMO T, PASQUALI L, et al. A map of open chromatin in human pancreatic islets[J]. Nat Genet, 2010, 42(3): 255-259.
- [4] XIA Q H, DELIARD S, YUAN C X, et al. Characterization of the transcriptional machinery bound across the widely presumed type 2 diabetes causal variant, rs7903146, within TCF7L2[J]. Eur J Hum Genet, 2015, 23(1): 103-109.
- [5] GOUGELET A, TORRE C, VEBER P, et al. T-cell factor 4 and β -catenin chromatin occupancies pattern zonal liver metabolism in mice[J]. Hepatology, 2014, 59(6): 2344-2357.
- [6] ISHIGURO H, WAKASUGI T, TERASHITA Y, et al. Nuclear expression of TCF4/TCF7L2 is correlated with poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cell Mol Biol Lett, 2016, 21(1): 5.
- [7] ZHANG D L, GU L J, LIU L, et al. Effect of Wnt signaling pathway on wound healing[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 378(2): 149-151.
- [8] 陈铁晖, 张洁, 李文燕, 等. 福建汉族人群 TCF7L2 基因多态性及基因-环境交互作用与 2 型糖尿病关联性[J]. 安徽预防医学杂志, 2017, 23(5): 9-13.
- [9] 梁伟, 朱丽君, 段滢, 等. TCF7L2 基因 rs7903146 多态性与 2 型糖尿病关系的 Meta 分析[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016, 21(5): 526-532.
- [10] 王志强, 李豫凯, 朱筠, 等. 转录因子 7 类似物 2 基因的 rs7903146 位点多态性与新疆维吾尔族人群 2 型糖尿病的相关性研究[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(8): 1443-1448.
- [11] MAGGIE M C, TAM C H, LAM V K, et al. Replication and identification of novel variants at TCF7L2 associated with type 2 diabetes in Hong Kong Chinese[J]. J Clin Endocr, 2007, 92(9): 3733-3737.
- [12] AXEL M, SAELY C H, SIMONE G R, et al. Single nucleotide polymorphisms of TCF7L2 are linked to diabetic coronary atherosclerosis [J]. PLoS One, 2011, 6(3): e17978.
- [13] CORELLA D, CARRASCO P, SORLI J V, et al. Mediterranean diet reduces the adverse effect of the TCF7L2-rs7903146 polymorphism on cardiovascular risk factors and stroke incidence: a randomized controlled trial in a high-cardiovascular-risk population [J]. Diabetes Care, 2013, 36(11): 3803-3811.
- [14] PALIZBAN A, REZAEI M, KHANAHMAD H, et al. Transcription factor 7-like 2 polymorphism and context-specific risk of metabolic syndrome, type 2 diabetes, and dyslipidemia[J]. J Res Med Sci, 2017, 22(1): 40.
- [15] CORELLA D, COLTELL O, SORLI J V, et al. Polymorphism of transcription factor 7-like 2 gene (TCF7L2) interacts with obesity on type-2 diabetes in the prediabetic study emphasizing the heterogeneity of genetic variants in type-2 diabetes risk prediction time for obesity-specific genetic risk scores[J]. Nutrients, 2016, 8(12): E793.
- [16] ABBAS S A N, RAZA S T, MIR S S, et al. Association of variants rs7903146 and rs290487 of TCF7L2 gene with diabetic nephropathy and co-morbidities (hypertension and dyslipidemia) in type 2 diabetes mellitus[J]. Meta Gene, 2019, 20: 100561.
- [17] QUAGLIA M, TERRAZZINO S, MUSETTI C, et al. The role of TCF7L2 rs7903146 in diabetes after kidney transplant: results from a single-center cohort and meta-analysis of the literature[J]. Transplantation, 2016, 100(8): 1750-1758.
- [18] MATEUSZ K, KRZYSZTOF D, KAROLINA K, et al. Association of transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene polymorphism with posttransplant diabetes mellitus in kidney transplant patients medicated with tacrolimus [J]. Pharmacol Rep, 2011, 63(3): 826-833.
- [19] MATEUSZ K, KRZYSZTOF D, JOANNA L, et al. Analysis of common type 2 diabetes mellitus genetic risk factors in new-onset diabetes after transplantation in kidney transplant patients medicated with tacrolimus[J]. Eur J Clin Pharmacol, 2012, 68(12): 1587-1594.
- [20] CHEN J, LI L X, AN Y F, et al. Multiple genetic variants associated with posttransplantation diabetes mellitus in Chinese Han populations[J]. J Clin Lab Anal, 2018, 32(3): e22308.
- [21] 赵晓宇, 周钟玉, 曹黎, 等. 中国北方人群 TCF7L2 基因多态性与血脂谱的相关性[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(27): 5219-5222.

(收稿日期: 2020-05-22 修回日期: 2020-09-03)