第 46 卷 第 5 期
2021 年 5 月

贵 州 医 科 大 学 学 报
JOURNAL OF GUIZHOU MEDICAL UNIVERSITY

Vol. 46 No. 5
2021. 5

·专题研究·

miR-129 和 *CDKN*2*B-AS*1 基因多态性与云南汉族人群 2 型糖尿病发病风险的相关性*

何思琦[1,2], 杨曼[2], 杨莹[2], 王飞英[2], 王晓苓[2], 卢廷莲[1,2], 角铭[3], 李奕平[2]**

(1. 大理大学 临床医学院, 云南 大理 671000; 2. 云南大学附属医院 & 云南省第二人民医院 内分泌科, 云南 昆明 650021; 3. 云南省急救中心 急救科, 云南 昆明 650000)

[摘 要] **目的** 探讨微小 RNA(miRNA)基因 *miR*-129 及长链非编码 RNA(lncRNA)基因 *CDKN*2*B-AS*1 中单核苷酸多态性(SNPs)与中国汉族人群 2 型糖尿病(T2DM)发病风险的相关性。**方法** 746 例 T2DM 患者作为 T2DM 组,同期 842 例非糖尿病者(NDM)作为 NDM 组,采用 TaqMan 探针法对 *miR*-129 基因中的 SNPs 位点 rs791595 及 *CDKN*2*B-AS*1 基因中的 SNPs 位点 rs10811661 进行基因分型,比较 2 个 SNPs 位点等位基因和基因型在 T2DM 组和 NDM 组中的分布情况;采用 *Logistic* 回归分析显性和隐性遗传模式下 SNPs 位点与 T2DM 的相关性,采用单因素方差分析 2 个 SNPs 位点的基因型与代谢指标的相关性。**结果** SNPs 位点 rs10811661 等位基因频率在 T2DM 组和 NDM 组中分布差异有统计学意义,该位点等位基因 C 可能是 T2DM 的保护性因素(OR = 0.851,95% CI 为 0.740 ~ 0.979,P = 0.024),SNPs 位点 rs791595 等位基因及基因型频率在 T2DM 组和 NDM 组中的分布差异无统计学意义(P > 0.025);显性遗传模式分析结果显示,*CDKN*2*B-AS*1 中的 SNPs 位点 rs10811661 基因型 C/T-C/C 相较于基因型 TT 来说可能是 T2DM 疾病进展中的保护性因素(OR = 0.780,95% CI 为 0.620 ~ 0.960,P = 0.021);T2DM 组和 NDM 组中,糖脂代谢指标在 SNPs 位点 rs791595 及 rs10811661 的不同基因型间比较差异无统计学意义(P > 0.017)。**结论** *CDKN*2*B-AS*1 基因的 SNPs 位点 rs10811661 可能与中国汉族人群 T2DM 发病风险相关。

[关键词] 糖尿病,2 型; 多态性,单核苷酸; 疾病遗传易感性; 微小 RNA-129; *CDKN*2*B-AS*1; 相关性研究

[中图分类号] R394.5; R587.1 [文献标识码] A [文章编号] 2096-8388(2021)05-0497-07

DOI:10.19367/j.cnki.2096-8388.2021.05.001

Correlation of single nucleotide polymorphisms in *miR*-129 and *CDKN*2*B-AS*1 with type 2 diabetes risk in a Chinese Han population in Yunnan province

HE Siqi[1,2], YANG Man[2], YANG Ying[2], WANG Feiying[2], WANG Xiaoling[2], LU Tinglian[1,2], JIAO Ming[3], LI Yiping[2]

(*1. Clinical School of Medicine, Dali University, Dali 671000, Yunnan, China; 2. Department of Endocrinology and Metabolism, the Affiliated Hospital of Yunnan University & the Second People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650021, Yunnan, China; 3. Department of Emergency, Emergency Center of Yunnan Province, Kunming 650000, Yunnan, China*)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the association of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in *miR*-129 and long chain non-coding RNA (lncRNA) *CDKN*2*B-AS*1 with the risk of type 2 diabetes (T2DM) in Chinese Han population. **Methods** Seven hundred and forty-six T2DM patients were enrolled as T2DM group, and 842 non-diabetic patients (NDM) as NDM group during the same period. TaqMan genotyping assay was used to detect SNPs locus rs791595 in *miR*-129 and SNPs locus

*[基金项目]国家自然科学基金项目(31660313); 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项(2019FE001(-092); 云南省中青年学术和技术带头人后备人才(2018HB047); 云南省医学学科带头人(D-2017040); 云南省第二人民医院糖尿病血管病变预防及诊疗省创新团队(2019HC002); 云南省第二人民医院内分泌与代谢疾病临床医学中心(ZX2019-02-02)

**通信作者 E-mail:yyflyp@aliyun.com

rs10811661 in *CDKN2B-AS1*. The distribution of alleles and genotypes of the two SNPs were compared between T2DM and NDM groups. *Logistic* regression was used to analyze the correlation between SNPs and T2DM in dominant and recessive inheritance modes. One-way *ANOVA* was used to analyze the correlation of the genotypes of the two SNPs loci with metabolic indicators. **Results** The allele frequency of SNPs locus rs10811661 was statistically different between T2DM group and NDM group. The allele C at this locus may be a protective factor for T2DM ($OR = 0.851$, 95% *CI* was 0.740 – 0.979, $P = 0.024$). The distribution of allele and genotype frequency of SNPs locus rs791595 were not statistically different between T2DM group and the NDM group ($P > 0.025$). Dominant inheritance pattern analysis showed that the genotype C/TC/C of SNPs locus rs10811661 in *CDKN2B-AS1* may be a protective factor in the progression of T2DM when compared with genotype TT ($OR = 0.780$, 95% *CI* was 0.620-0.960, $P = 0.021$). In T2DM and NDM groups, glucose and lipid metabolism indexes were not significantly associated with different genotypes of the SNPs rs791595 and rs10811661 ($P > 0.017$). **Conclusion** The SNP rs10811661 in *CDKN2B-AS1* gene may be related to the risk of T2DM in Chinese Han population.

[**Key words**] diabetes mellitus, type 2; polymorphism, single nucleotide; genetic predisposition to disease; microRNA-129; *CDKN2B-AS1*; correlation studies

研究发现 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)是一种多基因遗传的慢性代谢性疾病,具有很强的遗传易感性[1-2]。非编码 RNA(non-coding RNAs, ncRNAs)是一类基因组转录产物,主要包括微小 RNA(microRNA, miRNA)和长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA),可在转录、转录后或表观遗传水平调控靶基因基因表达,并作为信号、诱饵、引导、支架和监督在疾病的遗传易感性中发挥重要作用[3-6]。既往研究表明 miRNA 和 lncRNA 参与调控糖脂代谢紊乱及 T2DM 相关信号通路,并与 T2DM 发生发展有关[7-12]。miRNA 和 lncRNA 中的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNPs)可能通过影响成熟 miRNA 和 lncRNA 的表达或其对靶基因的识别,从而影响 T2DM 的遗传易感性[13-15]。近年来,有研究证明 miRNA 和 lncRNA 基因多态性可能与 T2DM 有关[14-16],*miR*-129 及 *CDKN2B-AS1* 基因被证实与糖脂代谢相关[8, 11-12, 17-18]。*miR*-129 基因中的 rs791595 位于内含子区域,可能与 T2DM 遗传易感性有关[16]。而 *CDKN2B-AS1* 基因中的 rs10811661 位于外显子区域,其等位基因与欧洲人群 T2DM 发病风险有关[14,19]。基于此,本研究选取 *miR*-129 基因 SNPs 位点 rs791595 及 *CDKN2B-AS1* 基因 SNPs 位点 rs10811661,调查其在云南汉族人群 T2DM 患者和健康人群中的分布特征,并分析其与 T2DM 易感性的关系。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 对象及分组 随机选取 2018 年 2 月—2020 年 3 月内分泌科住院的 746 名 T2DM 患者(男 471 例,女 275 例)作为 T2DM 组。根据 1999 年世界卫生组织(world health organization, WHO)及 2020 年美国糖尿病协会(american diabetes association, ADA)[1]诊断标准:(**1**)空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)≥7.0 mmol/L 或餐后 2 h 血浆血糖≥11.1 mmol/L + 糖尿病(diabetes mellitus, DM)症状;(**2**)若无 DM 症状,需 2 次血糖检测异常。此外,测量胰岛素分泌和 C 肽水平以排除 1 型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)受试者。对 40 岁以下的受试者,检测胰岛细胞自身抗体和谷氨酸脱羧酶自身抗体,排除自身抗体阳性的受试者。本研究未纳入妊娠妇女,且病史排除了特定类型的 DM,如糖皮质激素诱导的 DM。选取同期体检的 842 例非糖尿病(non-diabetic, NDM)个体(男 502 例、女 340 例)作为 NDM 组。NDM 组研究对象具有以下情况将被排除:(**1**)FPG≥6.1 mmol/L 和(或)糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin, HbA1C)≥5.7%[1];(**2**)具有 DM 家族史;(**3**)具有高血压病和冠状动脉粥样硬化性心脏病等慢性疾病。所有研究对象均为居住于云南地区、彼此无血缘关系的汉族个体。

1.1.2 主要试剂和仪器 凯杰微量血 DNA 提取

试剂盒（QIAamp DNA Blood Mini Kit，批号 163024128，货号 51106，德国 QIAGENE 公司），基因分型试剂（TaqMan Genotyping Master Mix，ABI 公司，美国），TaqMan 探针分型试剂盒（rs791595 探针试剂盒编号为 C__7564161_10 和 rs10811661 探针试剂盒编号为 C__31288917_10，Thermo Fisher Scientific 公司，美国），多功能微孔板读数仪（Thermo Scientific Varioskan LUX 公司，美国），QuantStudio 6 实时荧光定量 PCR 仪（ABI 公司，美国）。

1.2　方法

1.2.1　糖脂代谢指标检测　禁食 12 h 后清晨采集研究对象静脉血，分离血清。采用己糖激酶法测定血清 FPG，氧化酶法测定血清总胆固醇（total cholesterol，TC），甘油磷酸氧化酶法测定血清甘油三酯（triglycerides，TG），直接法测定血清高密度脂蛋白胆固醇（high-density lipoprotein-cholesterol，HDL-C）和低密度脂蛋白胆固醇（low-density lipoprotein-cholesterol，LDL-C），酶法测定血清 HbA1C。所有的代谢指标检测均使用 HITACH 自动分析仪 7600－020 测定。

1.2.2　基因组 DNA 的提取　采用凯杰微量血 DNA 提取试剂盒提取全血基因组 DNA，并采用多功能微孔板读数仪对 DNA 的质量进行检测。

1.2.3　SNPs 位点筛选及基因分型　采用 Taq ManMGB 探针法对 *miR*-129 基因 SNPs 位点 rs791595 和 *CDKN*2*B-AS*1 基因 SNPs 位点 rs10811661 进行基因分型。根据分型样本数配置适量反应体系后加入 384 孔板，于 Quantstudio6 PCR 仪进行基因分型。反应体系为 5 μL（PCR 混悬液 4 μL 及 25 mg/L DNA 模板 1 μL）。PCR 反应条件为 95 ℃预变性 10 min，92 ℃变性 10 s、60 ℃退火延伸 1 min，共 40 个循环，最后 40 ℃长延伸5 min。每块 384 孔反应板中包含每个 SNPs 位点的 3 个基因型（野生纯合子、突变纯合子、杂合子）的标准样品作为基因分型实验的阳性对照孔，同时设置阴性对照孔（用双蒸水代替 DNA 模板）。

1.3　统计学分析

本研究统计学分析采用 SPSS 23.0 软件进行。研究对象的临床计量实验数据用均数±标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，采用独立样本 t 检验分析 2 组受试者年龄及糖脂代谢指标差异；计数资料用率（%）表示，采用 χ^2 检验分析 T2DM 组和 NDM 组间性别差异。采用 SHEsis 软件程序（http://analysis.bio-x.cn/SHEsisMain.htm）对所研究的 SNPs 位点进行哈迪－温伯格平衡（*Hardy-Weinberg equilibrium*，*HWE*）检验，计算各 SNPs 等位基因和基因型的频率，并检测 T2DM 组及 NDM 组等位基因和基因型频率的差异[20-21]。采用 *Logistic* 回归分析显性和隐性遗传模式下 SNPs 位点与 T2DM 的相关性，采用 *OR* 及 95% *CI* 评估特异等位基因及基因型的危险度。SNPs 位点中不同基因型的糖脂代谢参数差异比较采用单因素方差分析，3 种基因型间的多重比较采用 *Bonferroni* 法，当统计学结果中 $P<0.017$（$0.05/n$，$n=3$）说明差异具有统计学意义。每个 SNPs 的统计学差异均采用 *Bonferroni* 校正，当统计学结果中 $P<0.025$（$0.05/n$，$n=2$）说明差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　基本临床特征

研究对象的基本临床特征详见表 1，T2DM 组和 NDM 组的年龄和性别比较差异无统计学意义（$P>0.05$）。T2DM 组男性患者明显多于女性患者，且男性患者有更年轻化的发病趋势。T2DM 组与 NDM 组个体的糖脂代谢指标（TC、TG、LDL-C、FPG、HbA1C 及 HDL-C）比较，差异有统计学意义（$P<0.001$），提示 T2DM 患者具有明显的糖脂代谢紊乱。

表 1　T2DM 组与 NDM 组受试者的临床特征及糖脂代谢指标

Tab. 1　Clinical characteristics, glucose, and lipid metabolic parameters of the subjects enrolled in the present study

一般资料	T2DM 组	NDM 组	*P*
年龄			
总/岁	50.623±11.686	50.377±10.259	0.657
男/岁	49.259±11.778	49.221±10.195	0.957
女/岁	52.960±11.168	52.082±10.130	0.313
性别			0.151
男[*n*(%)]	471(48.4)	502(51.6)	
女[*n*(%)]	275(44.7)	340(55.3)	
糖脂代谢指标			
TC/(mmol/L)	4.880±1.090	4.531±0.841	<0.001
TG/(mmol/L)	2.654±2.389	1.661±1.222	<0.001
HDL-C/(mmol/L)	1.082±0.273	1.208±0.299	<0.001
LDL-C/(mmol/L)	2.703±1.032	2.341±0.743	<0.001
FPG/(mmol/L)	7.984±2.584	4.922±0.538	<0.001
HbA1C/%	8.885±2.636	5.141±0.370	<0.001

2.2 SNPs 位点 rs791595 和 rs10811661 等位基因和基因型与 T2DM 的相关性

HWE 分析显示，2 个 SNPs 位点的基因型在 T2DM 组（P = 0.858、0.457）及 NDM 组（P = 0.058、0.068）的分布均符合 HWE（P > 0.05），说明本研究的 2 组受试者均符合群体代表性。SNPs 位点 rs791595 和 rs10811661 的等位基因和基因型在 T2DM 组和 NDM 组中的分布结果显示，*CDKN2B-AS1* 基因 SNPs 位点 rs10811661 等位基因频率在 T2DM 组和 NDM 组中分布比较，差异有统计学意义，该位点等位基因 C 可能是 T2DM 的保护性因素（*OR* = 0.851，95% *CI* 为 0.740 ~ 0.979，P = 0.024）；而 *miR*-129 基因 SNP 位点 rs791595 等位基因及基因型频率在 T2DM 组和 NDM 组中分布频率比较，差异无统计学意义（P > 0.025）。见表 2。

表 2　SNPs 位点 rs791595 和 rs10811661 的等位基因和基因型在 T2DM 组和 NDM 组间的分布

Tab. 2　The distribution of alleles and genotypes of rs791595 in *miR*-129 and rs10811661 in *CDKN2B-AS1* between T2DM and NDM

SNPs 位点	等位基因或基因型	频率[n(%)]		χ^2	$P^{(1)}$	*OR* (95% *CI*)
		T2DM 组	NDM 组			
rs791595	A	185(12.4)	181(10.7)	2.116	0.146	1.175(0.945 ~ 1.462)
	G	1 307(87.6)	1 503(89.3)			
	AA	12 (1.6)	15 (1.8)	3.357	0.187	
	AG	161(21.6)	151(17.9)			
	GG	573(76.8)	676(80.3)			
rs10811661	C	644(43.2)	794(47.1)	5.073	0.024	0.851(0.740 ~ 0.979)
	T	848(56.8)	890(52.9)			
	CC	134(18.0)	174(20.7)	5.801	0.055	
	CT	376(50.4)	446(53.0)			
	TT	236(31.6)	222(26.4)			

注：(1) 表示经 *Bonferroni* 校正后，当 P < 0.025 时，差异具有统计学意义。

2.3 显性及隐性遗传模式下 rs791595 和 rs10811661 与 T2DM 的相关性

采用 *Logistic* 回归法分析 SNPs 位点 rs791595 位点和 rs10811661 在显性及隐性遗传模式下与 T2DM 的相关性。结果显示，显性遗传模式下，rs10811661 位点的 C/T-C/C 基因型相较于 TT 基因型是 T2DM 疾病进展中的保护因素（*OR* = 0.780，95% *CI* 为 0.620 ~ 0.960，P = 0.021）；未发现 rs10811661 位点隐性及 rs791595 位点显性和隐性遗传模式下其基因型与 T2DM 存在相关性（P > 0.025）。见表 3 和表 4。

2.4 SNPs 位点 rs791595 和 rs10811661 的基因型与糖代谢指标的相关性

采用单因素方差分析 SNPs 位点 rs791595 和 rs10811661 的基因型与代谢指标的相关性。结果显示，在 T2DM 组和 NDM 组中，2 个 SNPs 位点 rs791595 及 rs10811661 各基因型的各糖脂代谢指标（包括 FPG、TC、HDL-C、TG、LDL-C 和 HbA1C）比较，差异无统计学意义（P > 0.017）。见表 5 ~ 表 8。

表 3　SNPs 位点 rs791595 在 T2DM 组与 NDM 组间显性和隐性遗传模式分析

Tab. 3　Dominant and recessive inheritance models analysis of the SNP rs791595 between the T2DM and NDM group

遗传模式	基因型	频率[n(%)]		χ^2	$P^{(1)}$	*OR* (95% *CI*)
		NDM 组	T2DM 组			
显性	G/G	676(80.3)	573(76.8)	2.845	0.092	1.230(0.970 ~ 1.570)
	A/G-A/A	166(19.7)	173(23.2)			
隐性	G/G-A/G	827(98.2)	734(98.4)	0.071	0.790	0.900(0.420 ~ 1.950)
	A/A	15 (1.8)	12 (1.6)			

注：(1) 表示经 *Bonferroni* 校正后，当 P < 0.025 时，差异具有统计学意义。

表 4　SNPs 位点 rs10811661 在 T2DM 组与 NDM 组间显性和隐性遗传模式分析

Tab. 4　Dominant and recessive inheritance models analysis of the SNP rs10811661 between the T2DM and NDM group

遗传模式	基因型	频率[*n*(%)]		χ^2	$P^{(1)}$	*OR* (95% *CI*)
		NDM 组	T2DM 组			
显性	T/T	222 (26.4)	236 (31.6)	5.352	0.021	0.780 (0.620 ~ 0.960)
	C/T-C/C	620 (73.6)	510 (68.4)			
隐性	T/T-C/T	668 (79.3)	612 (82.0)	1.848	0.174	0.850 (0.660 ~ 1.100)
	C/C	174 (20.7)	134 (18.0)			

注：(1) 表示经 *Bonferroni* 校正后，当 *P* 值小于 0.025(0.05/2) 时，差异具有统计学意义。

表 5　T2DM 组 SNPs 位点 rs791595 各基因型的糖脂代谢指标比较

Tab. 5　Comparison of glucose and lipid metabolism parameters among genotypes of SNP rs791595 in *miR*-129 gene in T2DM group

糖脂代谢指标	AA	AG	GG	*F*	$P^{(1)}$
TC/(mmol/L)	4.702 ± 1.323	4.964 ± 1.100	4.859 ± 1.083	0.710	0.492
TG/(mmol/L)	2.640 ± 1.621	2.704 ± 2.764	2.640 ± 2.289	0.044	0.957
HDL/(mmol/L)	0.937 ± 0.170	1.082 ± 0.240	1.085 ± 0.282	1.591	0.204
LDL/(mmol/L)	2.516 ± 1.158	2.736 ± 0.830	2.698 ± 1.081	0.267	0.766
GLU/(mmol/L)	8.491 ± 3.244	7.796 ± 2.074	8.028 ± 2.699	0.710	0.492
HbA1C/%	7.816 ± 1.845	8.767 ± 2.684	8.940 ± 2.633	1.184	0.307

注：(1) 表示经 *Bonferroni* 校正后，当 $P < 0.017$ (0.05/3) 时，差异具有统计学意义。

表 6　NDM 组 SNPs 位点 rs791595 各基因型的糖脂代谢指标比较

Tab. 6　Comparison of glucose and lipid metabolism parameters among genotypes of SNP rs791595 in *miR*-129 gene in NDM group

糖脂代谢指标	AA	AG	GG	*F*	$P^{(1)}$
TC/(mmol/L)	4.189 ± 0.581	4.482 ± 0.820	4.550 ± 0.850	1.661	0.191
TG/(mmol/L)	1.490 ± 1.098	1.644 ± 1.345	1.669 ± 1.197	0.174	0.840
HDL/(mmol/L)	1.173 ± 0.275	1.222 ± 0.301	1.206 ± 0.299	0.278	0.757
LDL/(mmol/L)	2.136 ± 0.535	2.339 ± 0.778	2.346 ± 0.739	0.588	0.556
GLU/(mmol/L)	4.763 ± 0.538	4.997 ± 0.516	4.909 ± 0.542	2.336	0.097
HbA1C/%	5.039 ± 0.345	5.214 ± 0.380	5.127 ± 0.367	4.019	0.018

注：(1) 表示经 *Bonferroni* 校正后，当 $P < 0.017$ (0.05/3) 时，差异具有统计学意义。

表 7　T2DM 组 SNPs 位点 rs10811661 各基因型的糖脂代谢指标比较

Tab. 7　Comparison of glucose and lipid metabolism parameters among genotypes of SNP rs10811661 in *CDKN*2*B-AS*1 gene in T2DM group

糖脂代谢指标	CC	CT	TT	*F*	$P^{(1)}$
TC/(mmol/L)	4.903 ± 1.066	4.816 ± 1.050	4.965 ± 1.161	1.357	0.258
TG/(mmol/L)	2.734 ± 2.055	2.597 ± 2.270	2.697 ± 2.732	0.214	0.807
HDL/(mmol/L)	1.089 ± 0.265	1.072 ± 0.275	1.095 ± 0.273	0.554	0.575
LDL/(mmol/L)	2.791 ± 1.172	2.664 ± 0.994	2.714 ± 1.006	0.743	0.476
GLU/(mmol/L)	8.138 ± 2.602	8.068 ± 2.748	7.766 ± 2.288	1.251	0.287
HbA1C/%	8.727 ± 2.450	8.956 ± 2.719	8.864 ± 2.610	0.377	0.686

注：(1) 表示经 *Bonferroni* 校正后，当 $P < 0.017$ (0.05/3) 时，差异具有统计学意义。

表 8　NDM 组 SNPs 位点 rs10811661 各基因型的糖脂代谢指标比较

Tab. 8　Comparison of glucose and lipid metabolism parameters among genotypes of SNP rs10811661 in *CDKN*2*B-AS*1 gene in NDM group

糖脂代谢指标	CC	CT	TT	*F*	$P^{(1)}$
TC/(mmol/L)	4.545 ± 0.811	4.532 ± 0.850	4.519 ± 0.851	0.047	0.954
TG/(mmol/L)	1.656 ± 1.249	1.680 ± 1.306	1.626 ± 1.011	0.145	0.865
HDL/(mmol/L)	1.235 ± 0.308	1.198 ± 0.285	1.206 ± 0.317	0.931	0.395
LDL/(mmol/L)	2.375 ± 0.743	2.345 ± 0.747	2.308 ± 0.735	0.404	0.668
GLU/(mmol/L)	4.890 ± 0.557	4.949 ± 0.526	4.892 ± 0.546	1.191	0.305
HbA1C/%	5.131 ± 0.373	5.160 ± 0.356	5.109 ± 0.395	1.435	0.239

注：(1) 表示经 *Bonferroni* 校正后，当 $P < 0.017$ (0.05/3) 时，差异具有统计学意义。

3　讨论

T2DM 发病机制复杂，具有强烈的遗传倾向。大量证据表明 *miR*-129 和 *CDKN*2*B-AS*1 在 T2DM

的发生发展中扮演重要角色[7,10]。因此,本研究对746例T2DM患者和842例NDM个体*miR*-129和*CDKN2B-AS1*基因中的SNPs位点rs791595及rs10811661进行基因分型,评估其与中国云南汉族人群T2DM的相关性。

研究发现,miR-129循环表达水平在T2DM及代谢综合征(metabolic syndrome, MS)患者中显著上调[7-8];miR-129与循环甘油水平、丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路、葡萄糖摄取及消耗、血脂和炎性因子水平有关[8,11-12]。遗传相关性的研究亦表明*miR*-129基因SNPs位点rs791595可能与T2DM遗传易感性有关。2014年,Hara等[15]通过全基因组关联研究(Genome-Wide Association Studies, GWAS)证实rs791595A等位基因为日本人群T2DM的风险等位基因($P=2.55\times10^{-13}$, $OR=1.17$)。但Nemr等[22]及Goto等[23]的研究报道rs791595等位基因及基因型分布频率在阿拉伯人群及日本人群T2DM组与对照组中差异无统计学意义。本研究也未发现*miR*-129基因SNPs位点rs791595等位基因及基因型与T2DM发病风险有关($P>0.05$)。此外,2017年,Peng等[24]的研究显示未发现rs791595与中国人群T2DM伴糖尿病视网膜病变存在关联。提示引起SNPs位点rs791595研究结果存在差异的原因可能在于不同人群的T2DM风险等位基因频率存在差异,且同一人群纳入的不同研究对象及不同样本量也会影响最终的实验结果。

*CDKN2B-AS1*是DM易感基因周期素依赖性激酶抑制因子2B(cyclin dependent kinase inhibitor 2B, *CDKN2B*)的反义RNA[14,19]。*CDKN2B-AS1*可通过调节*CDKN2B*启动子促进脂代谢[17-18],在DM环境中高表达[10,25-26]。此外,*CDKN2B-AS1*还能与DM易感基因*RBMS1*稳定结合并正向调控其表达[19,27]。对于*CDKN2B-AS1*基因SNPs位点rs10811661,本研究结果显示rs10811661位点等位基因C在NDM组分布频率高于T2DM组($P=0.024$),说明rs10811661的等位基因C可能是防止T2DM发生的保护性因素。2007年,来自英国的一项GWAS研究显示rs10811661T等位基因与欧洲人群T2DM发病风险有关[14]。随后,大量研究证实rs10811661等位基因T与韩国人群、中国人群、印度人群T2DM遗传易感性显著相关[28-32]。2010年,Cunnington等[13]报道DM风险等位基因rs10811661T与英国高加索人及混血南非DM人群中*CDKN2B-AS1*基因的低表达相关,该结果可能由于DM治疗过程中某些降糖生物分子应激性升高并靶向抑制*CDKN2B-AS1*基因表达引起。因此本研究推测rs10811661T等位基因与T2DM易感性有关可能由于其能引起体内*CDKN2B-AS1*基因表达水平变化并进一步影响β细胞功能导致,但这仍需要进一步的功能研究来证实。

此外,Xu等[29]发现rs10811661隐性遗传模式与中国T2DM人群T2DM相关,但未发现rs10811661显性遗传模式与T2DM的相关性。本研究结果显示,在显性遗传模式下,rs10811661 C/T-C/C基因型相较于TT基因型可能是T2DM疾病进展中的保护因素,这也与rs10811661 C可能是防止中国云南汉族人群T2DM发生的保护性因素结论相一致。但本研究未发现*CDKN2B-AS1*基因SNPs位点rs10811661基因型与糖脂代谢指标有关。与此同时,本研究也未发现*miR*-129基因SNPs位点rs791595基因型与糖脂代谢指标有关。造成该结果的原因可能是本研究纳入的人群样本量相对不足,需要在更大的人群中进行验证。

综上所述,本研究选取了*miR*-129基因及*CDKN2B-AS1*基因的2个SNPs位点rs791595及rs10811661,研究其与中国汉族人群T2DM发生风险的相关性,结果提示*CDKN2B-AS1*基因的SNPs位点rs10811661可能与中国汉族人群T2DM遗传易感性有关,这可能是通过影响成熟CDKN2B-AS1的表达及其与T2DM相关靶基因的结合实现的。关于*miR*-129基因的SNPs位点rs791595与T2DM的关联目前研究较少,有待通过更多的人群相关性研究及扩大样本量来揭示*miR*-129基因多态性对T2DM发生发展产生的影响。

4　参考文献

[1] AMERICAN DIABETES A. Classification and diagnosis of diabetes: standards of medical care in diabetes-2020 [J]. Diabetes Care, 2020, 43(Suppl 1): 14-31.

[2] ZIMMET P, SHI Z, EL-OSTA A. Epidemic T2DM, early development and epigenetics: implications of the Chinese Famine [J]. Nat Rev Endocrinol, 2018, 14(12): 738-746.

[3] BERINDAN-NEAGOE I, MONROIG PDEL C, PASCULLI B, et al. MicroRNAome genome: a treasure for cancer diagnosis and therapy [J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64

(5): 311 – 336.

[4] HARRIES L W. Long noncoding RNAs and human disease [J]. Biochem Soc Trans, 2012, 40(4): 902 – 906.

[5] WANG K C, CHANG H Y. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs [J]. Mol Cell, 2011, 43(6): 904 – 914.

[6] NAIR L, CHUNG H, BASU U. Regulation of long noncoding RNAs and genome dynamics by the RNA surveillance machinery [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(3): 123 – 136.

[7] DEMIRSOY İ H, ERTURAL D Y, BALCI Ş, et al. Profiles of circulating miRNAs following metformin treatment in patients with type 2 diabetes [J]. J Med Biochem, 2018, 37(4): 499 – 506.

[8] RAITOHARJU E, SEPPÄLÄ I, OKSALA N, et al. Blood microRNA profile associates with the levels of serum lipids and metabolites associated with glucose metabolism and insulin resistance and pinpoints pathways underlying metabolic syndrome: the cardiovascular risk in Young Finns Study [J]. Mol Cell Endocrinol, 2014, 391(1 – 2): 41 – 49.

[9] RAUT S K, KHULLAR M. The big entity of new RNA world: long non-coding RNAs in microvascular complications of diabetes [J]. Front Endocrinol, 2018, 9: 300.

[10] SATHISHKUMAR C, PRABU P, MOHAN V, et al. Linking a role of lncRNAs (long non-coding RNAs) with insulin resistance, accelerated senescence, and inflammation in patients with type 2 diabetes [J]. Hum Genomics, 2018, 12(1): 41.

[11] CHEN D, WANG H, CHEN J, et al. MicroRNA-129-5p regulates glycolysis and cell proliferation by targeting the glucose transporter SLC2A3 in gastric cancer cells [J]. Front Pharmacol, 2018, 9: 502.

[12] YE J, LIN Y, YU Y, et al. LncRNA NEAT1/microRNA-129-5p/SOCS2 axis regulates liver fibrosis in alcoholic steatohepatitis [J]. J Transl Med, 2020, 18(1): 445.

[13] CUNNINGTON M S, SANTIBANEZ KOREF M, MAYOSI B M, et al. Chromosome 9p21 SNPs associated with multiple disease phenotypes correlate with ANRIL expression [J]. PLoS Genet, 2010, 6(4): e1000899.

[14] ZEGGINI E, WEEDON M N, LINDGREN C M, et al. Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes [J]. Science, 2007, 316(5829): 1336 – 1341.

[15] HARA K, FUJITA H, JOHNSON T A, et al. Genome-wide association study identifies three novel loci for type 2 diabetes [J]. Hum Mol Genet, 2014, 23(1): 239 – 246.

[16] KWAK S H, PARK K S. Recent progress in genetic and epigenetic research on type 2 diabetes [J]. Exp Mol Med, 2016, 48(3): e220.

[17] OU M, LI X, ZHAO S, et al. Long non-coding RNA CDKN2B-AS1 contributes to atherosclerotic plaque formation by forming RNA-DNA triplex in the CDKN2B promoter [J]. EBioMedicine, 2020, 55: 102694.

[18] LI H, HAN S, SUN Q, et al. Long non-coding RNA CDKN2B-AS1 reduces inflammatory response and promotes cholesterol efflux in atherosclerosis by inhibiting ADAM10 expression [J]. Aging, 2019, 11(6): 1695 – 1715.

[19] HUBBERTEN M, BOCHENEK G, CHEN H, et al. Linear isoforms of the long noncoding RNA CDKN2B-AS1 regulate the c-myc-enhancer binding factor RBMS1 [J]. Eur J Hum Genet, 2019, 27(1): 80 – 89.

[20] SHI Y Y, HE L. SHEsis, a powerful software platform for analyses of linkage disequilibrium, haplotype construction, and genetic association at polymorphism loci [J]. Cell Res, 2005, 15(2): 97 – 98.

[21] LI Z, ZHANG Z, HE Z, et al. A partition-ligation-combination-subdivision EM algorithm for haplotype inference with multiallelic markers: update of the SHEsis (http://analysis.bio – x.cn) [J]. Cell Res, 2009, 19(4): 519 – 523.

[22] 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.

[23] GOTO A, YAMAJI T, SAWADA N, et al. Diabetes and cancer risk: a mendelian randomization study [J]. Int J Cancer, 2020, 146(3): 712 – 719.

[24] PENG D, WANG J, ZHANG R, et al. CDKAL1 rs7756992 is associated with diabetic retinopathy in a Chinese population with type 2 diabetes [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 8812.

[25] LI Y, ZHENG L L, HUANG D G, et al. lncRNA CDKN2B-AS1 regulates mesangial cell proliferation and extracellular matrix accumulation via miR-424-5p/HMGA2 axis [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 121: 109622.

[26] TORAIH E A, ABDELGHANY A A, FADEAL N M A E, et al. Deciphering the role of circulating lncRNAs: RNCR2, NEAT2, CDKN2B-AS1, and PVT1 and the possible prediction of anti-VEGF treatment outcomes in diabetic retinopathy patients [J]. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2019, 257(9): 1897 – 1913.

[27] QI L, CORNELIS M C, KRAFT P, et al. Genetic variants at 2q24 are associated with susceptibility to type 2 diabetes [J]. Hum Mol Genet, 2010, 19(13): 2706 – 2715.

（下转第 510 页）

rs767649 are risk factors for non-small cell lung cancer in the Iranian population [J]. Can Respir J, 2020, 2020: 8179415.

[17] JI J, XU M, TU J F, et al. miR-155 and its functional variant rs767649 contribute to the susceptibility and survival of hepatocellular carcinoma [J]. Oncotarget, 2016, 7(37): 60303 – 60309.

[18] ZENG F, XUE M, XIAO T, et al. miR-200b promotes the cell proliferation and metastasis of cervical cancer by inhibiting FOXG1 [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 79: 294 – 301.

[19] CHENG Y X, CHEN G T, CHEN C, et al. microRNA-200b inhibits epithelial-mesenchymal transition and migration of cervical cancer cells by directly targeting rhoe [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(4): 3139 – 3146.

[20] SOL X, GUIN E, VALLS J, et al. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies [J]. Bioinformatics, 2006, 22(15): 1928 – 1929.

[21] KORI M, ARGA K Y. Potential biomarkers and therapeutic targets in cervical cancer: Insights from the meta-analysis of transcriptomics data within network biomedicine perspective [J]. PLoS One, 2018 ,13(7): e0200717.

[22] HROVATIN K, KUNEJ T. Classification of miRNA-related sequence variations [J]. Epigenomics, 2018, 10(4): 463 – 481.

[23] BAYRAKTAR R , ROOSBROECK K V. miR-155 in cancer drug resistance and as target for miRNA-based therapeutics [J]. Cancer Metastasis Rev, 2018, 37(1): 33 – 44.

[24] DONG Z C, ZHANG D, ZHANG X X, et al. miR-155 affects proliferation and apoptosis of bladder cancer cells by regulating GSK-3β/β-catenin pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(13): 5682 – 5690.

[25] LI Y Q, TIAN Z F, TAN Y, et al. Bmi-1-induced miR-27a and miR-155 promote tumor metastasis and chemoresistance by targeting RKIP in gastric cancer [J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 109.

[26] FANG H, SHUANG D, YI Z, et al. Up-regulated microRNA-155 expression is associated with poor prognosis in cervical cancer patients [J]. Biomed Pharmacother, 2016, 83: 64 – 69.

[27] LI N, CUI T, GUO W L, et al. MiR-155-5p accelerates the metastasis of cervical cancer cell via targeting TP53INP1 [J]. Onco Targets Ther, 2019, 12: 3181 – 3196.

[28] ASSMANN T S, DUARTE G C K, BRONDANI L A, et al. Polymorphisms in genes encoding miR-155 and miR-146a are associated with protection to type 1 diabetes mellitus [J]. Acta Diabetol, 2017, 54(5): 433 – 441.

[29] ALIM A M, SHAKER O G, EID H M, et al. Relationship between miR-155 and miR-146a polymorphisms and susceptibility to multiple sclerosis in an Egyptian cohort [J]. Biomed Rep, 2020, 12(5): 276 – 284.

[30] YANG X B, PENG J H, PANG J W, et al. A functional polymorphism in the promoter region of miR-155 predicts the risk of intracranial hemorrhage caused by rupture intracranial aneurysm [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(11): 18618 – 18628.

[31] KIM E J, KIM J S, LEE S, et al. QKI, a miR-200 target gene, suppresses epithelial-to-mesenchymal transition and tumor growth [J]. Int J Cancer, 2019, 145(6): 1585 – 1595.

(2021-03-15 收稿,2021-05-08 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 张启芳

(上接第 503 页)

[28] LEE Y H, KANG E S, KIM S H, et al. Association between polymorphisms in SLC30A8, HHEX, CDKN2A/B, IGF2BP2, FTO, WFS1, CDKAL1, KCNQ1 and type 2 diabetes in the Korean population [J]. J Hum Genet, 2008, 53(11 – 12): 991 – 998.

[29] XU M, BI Y, XU Y, et al. Combined effects of 19 common variations on type 2 diabetes in Chinese: results from two community-based studies [J]. PLoS One, 2010, 5(11): e14022.

[30] WEI F, CAI C, FENG S, et al. TOX and CDKN2A/B gene polymorphisms are associated with type 2 diabetes in han Chinese [J]. Sci Rep, 2015, 5: 11900.

[31] KOMMOJU U J, SAMY S K, MARUDA J, et al. Association of CDKAL1, CDKN2A/B & HHEX gene polymorphisms with type 2 diabetes mellitus in the population of Hyderabad, India [J]. Indian J Med Res, 2016, 143(4): 455 – 463.

[32] VERMA A K, GOYAL Y, BHATT D, et al. Association between CDKAL1, HHEX, CDKN2A/2B and IGF2BP2 gene polymorphisms and susceptibility to type 2 diabetes in Uttarakhand, India [J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2021, 14: 23 – 36.

(2021-03-05 收稿,2021-05-02 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 张启芳