

初诊 2 型糖尿病患者中医辨证分型 与 PPARD-87C>T 基因多态性的关系

任 昶* 耿福太 张蓉洲

首都医科大学附属北京朝阳医院京西院区,北京市石景山区京原路 5 号,100043)

* 通讯作者:renchang1@163.com,13520627679

[摘要] 目的 探讨初诊 2 型糖尿病患者中医辨证分型与过氧化物酶体增殖物激活受体 δ (PPARD) 基因位点-87C>T(rs2015620)单核苷酸多态性的关系。方法 将 262 例初诊 2 型糖尿病患者辨证分为阴虚热盛型(34 例)、湿热困脾型(55 例)、气阴两虚型(118 例)、阴阳两虚型(32 例)和血瘀络型(23 例)。采用 MassARRAY 分子量阵列分析平台中 iPLEX Gold SNP Genotyping 分析方法检测 PPARD 基因启动子区-87C>T 基因位点多态性,并于诊断当日检测身高、体重、腰围(WC)、腰臀比(WHR)、体重指数(BMI)等常规指标及血脂、血糖等代谢指标的水平。结果 PPARD-87C>T 基因位点 TT、TC、CC 基因型频率分别为 44.27%(116 例)、46.57%(122 例)和 9.16%(24 例)。阴阳两虚型和血瘀络型 TC、CC 基因型频率高于其他 3 型($P<0.05$)。携带 C 等位基因初诊 2 型糖尿病患者发病年龄较早,病情重且更容易发生血脂异常($P<0.05$)。结论 大部分初诊 2 型糖尿病患者已为气阴两虚型。PPARD-87C>T 基因多态性可能为影响个体糖尿病进程的一个遗传因素,从而在初诊这一横段面上直接影响患者的辨证分型。

[关键词] 2 型糖尿病;辨证分型;PPARD-87C>T;气阴两虚

Relation between Chinese Medicine Syndrome and PPARD-87C>T Gene Polymorphism in Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Patients

REN Chang, GENG Futai, ZHANG Rongzhou

(Beijing Chaoyang Hospital Jingxi Campus, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100043)

ABSTRACT **Objective** To research the relation between Chinese medicine syndrome and the gene polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor delta (PPARD)-87C>T (rs2015620) in newly diagnosed type 2 diabetes patients. **Methods** Totally 262 cases of newly diagnosed type 2 diabetes were identified into yin deficiency heat exuberance syndrome (34 cases), damp-heat encumbering the spleen syndrome (55 cases), qi-yin deficiency syndrome (118 cases), yin-yang deficiency syndrome (32 cases) and blood stasis in the vessels and networks syndrome (23 cases). MassARRAY waist to hip ratio (WHR) body mass index (BMI), blood platform was used to identify the genotypes of PPARD-87C>T. On the diagnosed day, height, body weight, waist circumference (WC), waist to hip ratio (WHR), body mass index (BMI), blood lipid and glucose were determined. **Results** The genotype frequencies of T/T, T/C and C/C were 44.27% (116 cases), 46.57% (122 cases) and 9.16% (24 cases) in all the 262 cases. The genotype frequencies of T/C and C/C were higher in yin-yang deficiency syndrome and blood stasis in the vessels and networks syndrome than those in other three syndromes ($P<0.05$). Newly diagnosed type 2 diabetes patients with allele were of early age of onset severe condition and higher level of plasma glucose and lipid ($P<0.05$). **Conclusion** Most newly diagnosed type 2 diabetes patients are of yin deficiency syndrome. PPARD-87C>T polymorphism might be one of the factors which affect progression of type 2 diabetes and Chinese syndrome type in newly diagnosed type 2 diabetes patients.

Keywords type 2 diabetes; syndrome identification; PPARD-87C>T qi-yin deficiency syndrome

2 型糖尿病为异质性疾病,个体遗传特征可决定糖尿病前期的发生及其向显性糖尿病的进展。中医学通过辨证论治来诊治疾病,这也正符合了糖尿病病机异质性的特点,伴随中医国际化的进程,结合现代医学从多角度对糖尿病中医辨证体系进行系统的客观化研究成为必然^[1-2]。研究表明,过氧化物酶体增殖物激活受体 δ 基因(peroxisome proliferator activated receptor- δ , PPARD)与糖脂代谢及胰岛素抵抗密切相关^[3-4],探寻 PPARD 在 2 型糖尿病发生发展中的作用成为当今研究热点。本研究结合现代分子生物学方法,从遗传学角度初步探讨中

医辨证分型与常用糖尿病客观检查指标及 PPARD 启动子区-87C>T(rs2015620)基因位点多态性之间的关系。

1 资料与方法

1.1 诊断标准

符合 1999 年 WHO 糖尿病诊断标准^[5]:空腹血糖(FBG) ≥ 7.0 mmol/L 或餐后血糖 ≥ 11.1 mmol/L。

1.2 中医辨证标准

参照《中药新药临床研究指导原则》^[6]制订,具体分为①阴虚热盛型:主症:咽干口燥,心烦畏热。次症:渴喜冷饮,多食易饥。舌脉:舌红苔黄,脉细滑

数,或细弦数。②湿热困脾型:主症:胸脘腹胀,或食后饱满,头身困重。次症:体形肥胖,心胸烦躁,四肢倦怠,小便黄赤,大便不爽。舌脉:舌红苔黄腻,脉滑而数。③气阴两虚型:主症:咽干口渴,倦怠乏力。次症:多食易饥,口渴喜饮,气短懒言,五心烦热,心悸失眠,溲赤便秘。舌脉:舌红少津液,苔薄或花剥,脉细数无力,或细而弦。④阴阳两虚型:主症:神疲乏力,咽干口渴,腰膝酸冷,或手足畏寒,夜尿频多。次症:头晕眼花,心悸失眠,自汗易感,气短懒言,颜面肢体浮肿,尿多浊沫,或小便量少,男子阳痿,女子性欲淡漠,大便干稀不调。舌脉:舌体胖大,有齿痕,脉沉细无力。⑤血瘀络型:主症:胸痛,胁痛,腰痛,背痛,部位固定,或为刺痛,肢体麻木,疼痛夜甚。次症:肌肤甲错,口唇紫暗,面部瘀斑,健忘心悸,心烦失眠。舌脉:舌质暗,有瘀斑,舌下脉络青紫迂曲,脉弦,或沉而涩。具备主症 2 项、次症 1 项、舌脉符合者可诊断。中医辨证分型经 2 名中医内科主治医师职称以上取得一致意见后做出诊断。

1.3 纳入与排除标准

纳入标准:符合诊断标准与中医辨证标准者;汉族;均无严重的糖尿病急性或慢性并发症及合并症;未服用影响糖脂代谢的药物,接受其他药物(如降压药)剂量稳定已 3 个月以上;年龄 40~65 岁;患者知情同意。

排除标准:有严重的心、肝、肾等并发症或合并有其他严重原发性疾病及精神病患者;妊娠糖尿病患者。

1.4 研究对象

选择首都医科大学附属北京朝阳医院京西院区 2006 年 1 月至 2010 年 3 月门诊新诊断 2 型糖尿病患者 262 例,男 149 例,女 113 例。其中阴虚热盛型 34 例(12.98%),湿热困脾型 55 例(20.99%),气阴两虚型 118 例(45.04%),阴阳两虚型 32 例(12.21%),血瘀络型 23 例(8.78%)。

1.5 观察指标与方法

1.5.1 常规指标检测 患者均于诊断当日检测 3 次身高、体重、腰围(WC)、腰臀围比(WHR)、体重指数(BMI)、血压,取其平均值。

1.5.2 糖代谢相关指标测定 于诊断当日采用静脉血浆葡萄糖氧化酶法检测 FBG、餐后 2 小时血糖(PBG),免疫层析法检测糖化血红蛋白(HbA_{1c}),采用 HOMA model 评估法^[1]计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR),HOMA-IR=FBG×FINS/22.5。

1.5.3 血脂谱测定 采用贝克曼 Lx20 全自动生

化分析仪测定血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平。

1.5.4 PPARD-87C>T 基因多态性位点检测 采用 MassARRAY 分子量阵列分析平台中 iPLEX Gold SNP Genotyping 分析方法。酚-氯仿法提取外周血基因组 DNA,MassARRAY 软件 Assay Designer 4.0 设计引物如下:上游 ACGTTGGATGTGACCTCTTCCTGTCTTCTC,下游 ACGTTG-GATGTCTGGGTCTGAACGCAGATG,延伸引物:CAGGCTGATGGGAACCA。引物由上海生工生物工程有限公司合成。依次进行 PCR,SAP,Ex-tent 反应。点样完成后通过基质辅助激光解吸附/电离飞行时间质谱(MALD-TOF)技术,检测延伸产物分子量的大小确定 PPARD-87C>T 基因分型。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 11.0 统计软件进行数据处理,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间均数比较采用方差分析。计数资料用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法检验,以 Hardy-Weinberg 平衡法检验各组基因型频率的群体代表性。

2 结果

2.1 2 型糖尿病患者不同中医证型 PPARD-87C>T 基因型频率及等位基因频率的分布

262 例 2 型糖尿病患者中,PPARD-87C>T 位点存在基因 T-C 的变异,且符合 Hardy-Weinberg 平衡。TT、TC、CC 基因型频率分别为 44.27%(116 例)、46.57%(122 例)、9.16%(24 例)。

表 1 示,不同中医证型间比较,PPARD-87C>T 基因型频率分布差异有统计学意义($\chi^2=50.751$, $P<0.01$)。阴阳两虚型和血瘀络型中 TC、CC 基因型频率显著高于其他 3 组($P<0.01$),TT 基因型频率显著低于其他 3 组($P<0.01$);C 等位基因频率显著高于其他 3 组($P<0.01$),T 等位基因频率显著低于其他 3 组($P<0.01$)。

2.2 气阴两虚型患者 PPARD-87C>T 不同基因型临床资料比较

为了进一步观察 PPARD-87C>T 不同基因型对其他临床指标的影响,对占主要辨证分型的气阴两虚型患者的 PPARD-87C>T 不同基因型进行了一般资料的比较。表 2 示,CC 型患者平均年龄低于其他两组,WHR、PBG 高于其他两组($P<0.05$);CC 型 FBG、HbA_{1c}、HDL-C 显著高于 TT 型($P<0.05$),HOMA-IR、HDL-C 低于 TT 型($P<0.05$)。

表 1 2 型糖尿病患者不同中医证型基因型频率和等位基因频率[例(%)]

证型	例数	基因型			等位基因	
		TT	TC	CC	T	C
阴虚热盛型	34	22(64.71)*△	11(32.35)*△	1(2.94)*△	55(80.88)*△	13(19.12)*△
湿热困脾型	55	27(49.09)*△	25(45.45)*△	3(5.46)*△	79(71.82)*△	31(28.18)*△
气阴两虚型	118	60(50.85)*△	52(44.07)*△	6(5.08)*△	172(72.88)*△	64(27.12)*△
阴阳两虚型	32	5(15.63)	22(68.75)	5(16.62)	32(50.00)	32(50.00)
血瘀络型	23	2(8.70)	12(52.17)	9(39.13)	16(34.78)	30(65.22)
合计	262	116(44.27)	122(46.57)	24(9.16)	354(67.56)	170(32.44)

注:与阴阳两虚型比较,* $P<0.01$;与血瘀络型比较,△ $P<0.01$

表 2 不同基因型气阴两虚型患者临床资料比较($\bar{x}\pm s$)

基因型	例数	年龄(岁)	男/女(例)	BMI(kg/m ²)	WHR	SBP(mmHg)	DBP(mmHg)	FBG(mmol/L)
TT	47	45.2±10.9*	27/20	22.6±5.8	0.81±0.18*	132±13	86±10	8.1±0.7*
TC	60	44.9±12.1*	34/26	23.3±6.3	0.91±0.22*	132±16	85±19	8.3±0.9
CC	11	40.9±7.7	6/5	24.9±2.6	0.94±0.08	133±10	85±7	8.9±1.1#

表 2(续) 不同基因型气阴两虚型患者临床资料比较($\bar{x}\pm s$)

基因型	PBG(mmol/L)	HbA1c(%)	HOMA-IR	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)
TT	13.4±2.1*	7.9±1.1	3.39±0.93*	1.65±1.31*	4.62±1.22	1.67±0.29*	3.05±0.91*
TC	13.9±3.0*	7.9±0.7	3.95±0.89	1.94±1.57	5.07±1.62	1.42±0.41	4.06±0.87
CC	14.6±3.4	8.5±1.6#	4.26±0.57#	2.92±1.01	5.41±0.65	1.30±0.35#	4.04±0.37#

注:与 CC 型比较,* $P<0.05$;与 TT 型比较,# $P<0.05$

3 讨论

2 型糖尿病是由多种遗传及环境因素共同参与、相互作用引起的多因素复杂疾病。2 型糖尿病患者虽然临床表现高度相似,即均表现为血糖升高、胰岛素分泌量的绝对或相对不足,但是其发病机制却存在着异质性^[8-9],个体特征导致对糖尿病的易感性及进展不同,因此将中医的辨证论治与遗传学相结合可能为糖尿病诊治的一个突破口。

PPARD 是一种与脂代谢和胰岛素抵抗相关的转录因子,在小肠、心脏、肌肉和脂肪组织等脂代谢相关的组织中表达量比较高。动物实验表明,激活 PPARD 可以改善血脂谱及胰岛素敏感性,PPARD 通过调节脂代谢所需酶的表达来调控机体的脂代谢,并调节胰岛素的敏感性^[10]。PPARD 的启动子区-87C>T 基因位点单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)提示其与血脂、血糖、BMI 等相关,这可能是由于启动子区该位点不同的基因型对基因表达调控作用不同所致。SNP 是基因组 DNA 序列中最常见的变异形式,最大程度地代表了不同个体之间的遗传差异。Vanttinen 等^[11]在芬兰人群中进行的单核苷酸多态性研究筛查了 PPARD 基因序列上 6 个单核苷酸位点,发现其中 3 个位点与个体总葡萄糖摄取率相关。Hu 等^[12]研究发现在正常糖耐量人群及糖尿病患者的 PPARD 基

因的-87C>T 多态性中,C 等位基因者有更高的 FBG 水平,并与胰岛素抵抗相关。鉴于 PPARD 与糖脂代谢及胰岛素抵抗密切相关,本研究即选取 PPARD 基因启动子区-87C>T 位点分析其与 2 型糖尿病辨证分型的关系。

糖尿病确诊较晚、诊断时并发症及合并症发生率高是我国糖尿病患者的基本特点^[13]。本研究表明,初诊 2 型糖尿病患者在初诊这一横断面时有 45.04% 已是气阴两虚型,即已不是 2 型糖尿病的早期。初诊 2 型糖尿病患者这种证型分布规律可能与 PPARD-87C>T 位点多态性有关,携带 C 等位基因者从遗传上影响了疾病的发生发展速度,导致个体糖尿病发病年龄早,病情发展较快。糖尿病属中医“消渴”范畴,与阴虚或兼以热盛病机关系甚密,其发生以气阴两虚为本,气虚运血无力,血流缓慢致瘀;阴虚液耗,血液黏滞,血行不畅致瘀。血液瘀滞,瘀久生热或燥热炼津为痰;或脾虚失运,水湿内生,聚而为痰。湿痰瘀血滞留在脉络,脉络瘀阻,脏器衰败,因此糖尿病的 5 种证型之间是逐渐过渡、动态演变转归的,这 5 种证型也代表了患者的病情程度,本研究结果也证明了这一点。但是由于遗传因素的影响,不同的个体对糖尿病的易感性以及糖尿病的病情发展状况不同。携带 C 等位基因的 2 型糖尿病患者发病年龄较早,病情重,更容易发展为阴阳两虚型

和血瘀脉络型,提示 PPARG-87C>T 基因多态性可能与 2 型糖尿病病情发展速度有关,从而在初诊这一横段面上直接影响患者的辨证分型,因此可以说初诊 2 型糖尿病患者的辨证分型初步反映了个体对糖尿病的易感性。

本研究同时提示,多态性位点为 TC、CC 者更容易发生血脂异常,说明血脂也可能与中医证型有关,对于新诊断的糖尿病患者,血脂治疗具有实际应用价值。PPARG-87C>T 位点多态性是否影响 2 型糖尿病患者的病程及血糖的控制,以及 PPARG-87C>T 位点多态性与 2 型糖尿病患者个体辨证分型转化的关系有待进一步研究。

参考文献

- [1]徐青,余以本,钟磊. 2 型糖尿病血清瘦素、血液流变学水平与中医辨证分型的相关性研究[J]. 中国中医药科技, 2010,17(1):25.
- [2]龚燕冰,倪青,高思华,等. 2 型糖尿病主要理化指标与中医证候相关性的贝叶斯网络分析[J]. 中华中医药杂志, 2010,25(1):31-33.
- [3]Karpe F, Ehrenborg EE. PPARdelta in humans: genetic and pharmacological evidence for a significant metabolic function[J]. Curr Opin Lipidol, 2009, 20(4):333-336.
- [4]Burch LR, Donnelly LA, Doney AS, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-delta genotype influences metabolic phenotype and may influence lipid response to statin therapy in humans: a genetics of diabetes audit and research Tayside study[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2010, 95(4):1830-1837.
- [5]World Health Organization. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus. Report of a WHO consultation[R]. Geneva: World Health Organization, 1999.
- [6]郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002:233-237.
- [7]张家庆. 新的 HOMA-IR—从空腹血糖、空腹胰岛素测胰岛素抵抗[J]. 中华糖尿病杂志, 2005,13(4):245-246.
- [8]Pinney SE, Simmons RA. Epigenetic mechanisms in the development of type 2 diabetes[J]. Trends Endocrinol Metab, 2010, 21(4):223-229.
- [9]Stefan N, Thamer C, Staiger H, et al. Genetic variations in PPARG and PPARGC1A determine mitochondrial function and change in aerobic physical fitness and insulin sensitivity during lifestyle intervention[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(5):1827-1833.
- [10]Vänttinen M, Nuutila P, Kuulasmaa T, et al. Single nucleotide polymorphisms in the peroxisome proliferator-activated receptor delta gene are associated with skeletal muscle glucose uptake[J]. Diabetes, 2005, 54(12):3587-3591.
- [11]潘长玉,陆菊明,田慧,等. 2 型糖尿病患者初诊时血管并发症患病率的调查分析[J]. 中华内分泌代谢杂志, 1997,13(4):201-205.
- [12]Hu C, Jia W, Fang Q, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) delta genetic polymorphism and its association with insulin resistance index and fasting plasma glucose concentrations in Chinese subjects[J]. Diabet Med, 2006, 23(12):1307-1312.
- [13]中医研究院广安门医院内科糖尿病组. 糖尿病辨证分型及治疗的初探[J]. 北京中医, 1980,2(4):217.

(收稿日期:2011-08-11;修回日期:2011-11-10)

[编辑:侯建春]

第六届聚医杰全国中医药百佳名医暨民间中医论坛通知

北京聚医杰医药科学研究院已成功地举办了五届“聚医杰全国中医药百佳名医暨民间中医发展论坛”,第六届会议定于 2012 年 11 月 10 日—13 日在北京召开。特邀请各级中医药特色医疗名医、民间名中医、乡村名中医投稿并报名参加本次会议。

一、会议内容:1. 传达“全国民间医药暨民营中医医疗座谈会”精神,学习有关文件。2. 邀请相关领导宣讲国家扶持民间中医、民营中医医疗机构方面的政策,并听取民间中医的意见和建议;3. 表彰“中华德艺双馨百佳名医”、“百佳特色中医诊所”等;4. 请名老中医、专家教授介绍中医药特色疗法经验;5. 请有关专家作中医药实用技术培训;6. 代表们作学术交流。二、征文范围:1. 运用中医药和民间疗法治疗各种疑难病、多发病的特色疗法经验及民间特技、单方验方等;2. 创办民营中医医疗机构的经验及体会;3. 对发展民营中医医疗事业的意见建议。文稿须打印,附 100 字左右作者简介。入选论文将安排在有关杂志上发表,并邀请作者参会。三、会议颁发:1. “2012 聚医杰中华德艺双馨百佳名医”、“2012 聚医杰百佳中医特色诊所”、“2012 优秀民间中医专家”等证书及奖品;2. 优秀论文证书;3. 国家继续教育学分证书;4. 纪念品;5. 赠发《中医实用验方 100 首》及有关书刊及资料;6. 会议代表合影留念。四、会议费用:每位参会代表须交会务费 750 元、纪念品及培训资料费 500 元,(各项评优均不收费)会期食宿、参观统一安排,费用自理,统一开票。五、参会报名方法:请在 10 月 20 日前将交流论文(无论文者也可报名)及申报“德艺双馨百佳名医”、“百佳中医特色诊所”等申报材料、个人 2 寸彩照 4 张、预交的报名费 300 元(抵会费总额)从邮局寄汇,北京 100036-98 信箱,“第六届百佳名医”会务组李莹莹收,邮编 100036,电话:010-87013859、13366005273,Email:100036-98@163.com,会议详情请登录:北京聚医杰医药科学研究院网(www.zgtsyl.com)查询。