DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20181115.002
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20181115.1637.004.html

IDE 基因 rs11187007 位点多态性与 GDM 患者胰岛素抵抗、全身炎症反应的相关性

石 娟
(四川省绵阳市中心医院妇产科,四川 绵阳 621000)

[摘要] **目的**:研究胰岛素降解酶(IDE)基因 rs11187007 位点多态性与妊娠期糖尿病(GDM)患者胰岛素抵抗、全身炎症反应的相关性。**方法**:选择我院确诊的 GDM 孕妇作为 GDM 组、同期产检并分娩的健康孕妇作为对照组。采集外周血并测定 IDE 基因 rs11187007 位点的基因型及细胞因子 IL-6、IL-10、TNF-α、Chemerin、Omentin-1 的含量,采集胎盘并测定 IRS-1、IRS-2、GLUT3、GLUT4 的表达量。**结果**:GDM 组孕妇外周血中 IDE 基因 rs11187007 位点 AA 基因型的构成比、IL-10 及 Omentin-1 的含量以及胎盘中 IRS-1、IRS-2、GLUT3、GLUT4 的 mRNA 表达量均低于对照组,外周血中 IDE 基因 rs11187007 位点 AG 基因型、GG 基因型的构成比以及 IL-6、TNF-α、Chemerin 的含量高于对照组;AG 基因型、GG 基因型的 GDM 胎盘中 IRS-1、IRS-2、GLUT3、GLUT4 的 mRNA 表达量以及外周血中 IL-10、Omentin-1 的含量低于 AA 基因型的 GDM 胎盘,外周血中 IL-6、TNF-α、Chemerin 的含量高于 AA 基因型的 GDM 孕妇。**结论**:GDM 患者体内 IDE 基因 rs11187007 位点等位基因 A 向 G 的突变能够加重胰岛素抵抗及全身炎症反应。

[关键词] 妊娠期糖尿病;胰岛素降解酶;胰岛素抵抗;炎症反应
[中图分类号] R714.256 [文献标识码] A [文章编号] 1007-1237(2019)01-0029-04

The correlation of IDE gene rs11187007 locus polymorphism with insulin resistance and systemic inflammatory response in patients with GDM

SHI Juan
(*Department of Obstetrics and Gynecology, Mianyang Central Hospital in Sichuan Province, Mianyang, Sichuan Province*, 621000, *China*)

[*Foundation Project*]: *Science and Technology Project of Health and Family Planning Commission of Sichuan Province* (*No*: 17PJ380).

[*Author*]:*SHI Juan*(1980-), *Female*, *Obstetrics and Gynecology*, *Mianyang Central Hospital*, *Hongxing Jinzuo*, *No*. 62, *Hongxing Street*, *Fucheng District*, *Mianyang*, *China*. *Tel*: 18780375945, *Email*: *simy_sj@sina.com*.

Received: 2018-10-15 *Revised*: 2018-10-23 *JHMC*,2019;25(1):0029-0032

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[ABSTRACT] **Objective**: To study the correlation of insulin-degrading enzyme (IDE) gene rs11187007 locus polymorphism with insulin resistance and systemic inflammatory response in patients with gestational diabetes mellitus (GDM). **Methods**: The pregnant women diagnosed with GDM in our hospital between March 2015 and January 2018 were selected as the GDM group, and healthy pregnant women who had prenatal examination and gave birth during the same period were selected as the control group. Peripheral blood was collected to measure the genotype of IDE gene rs11187007 locus as well as the contents of cytokines IL-6, IL-10, TNF-α, Chemerin and Omentin-1, and placenta was collected to measure the expression levels of IRS-1, IRS-2, GLUT3 and GLUT4. **Results**: The constituent ratio of IDE gene rs11187007 locus AA genotype, IL-10 and Omentin-1 contents in peripheral blood as well as IRS-1, IRS-2, GLUT3 and GLUT4 mRNA expression levels in placenta of GDM group were all lower than those of control group whereas the constituent ratio of IDE gene rs11187007 locus AG genotype and GG genotype as well as IL-6, TNF-α and Chemerin contents in peripheral blood were higher than those of control group; IRS-1,

[基金项目] 四川省卫生计生委科技项目(17PJ380)
[作者简介] 石娟(1980-),女,四川绵阳人,硕士,主治医生,电话:18780375945,E-mail: simy_sj@sina.com。
[收稿日期] 2018-10-15 [修回日期] 2018-10-23 网络出版时间:2018-11-19 11:05:48

IRS-2, GLUT3 and GLUT4 mRNA expression levels in the GDM placenta with AG genotype and GG genotype as well as IL-10 and Omentin-1 contents in the peripheral blood were lower than those in the GDM placenta with AA genotype whereas IL-6, TNF-α and Chemerin contents in the peripheral blood were higher than those in the GDM placenta with AA genotype. **Conclusion**: The mutation from IDE gene rs11187007 allele A to G in GDM patients can aggravate the insulin resistance and systemic inflammatory response.

[KEY WORDS] Gestational diabetes mellitus; Insulin-degrading enzyme; Insulin resistance; Inflammatory response

妊娠期糖尿病(GDM)是妊娠期常见的一类合并症,对母婴健康均会造成影响,同时也会增加子代成年后发生代谢性疾病、心脑血管疾病的风险。GDM具有与2型糖尿病相似的病理生理特点,包括胰岛素抵抗、胰岛β细胞分泌功能相对受损以及全身微炎症状态的激活。目前,虽然GDM病理生理特点的研究不断深入,但疾病具体的发病机理并未明确。胰岛素降解酶(Insulin Degradation Enzyme,IDE)基因是调控胰岛素敏感性及下游生物信号转导的重要基因,其编码产物能够使细胞内的胰岛素发生降解、失活并迅速促进新的胰岛素分泌,但IDE编码产物活性的过度增强会使胰岛素发生过度降解并影响其生物学效应[1-2]。IDE基因rs11187007位点的多态性与2型糖尿病、GDM的发生均具有密切相关,但该多态性对GDM病程中胰岛素抵抗及全身微炎症反应的影响尚未明确。本研究分析了IDE基因rs11187007位点多态性与GDM患者胰岛素抵抗、全身炎症反应的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择我院2015年3月～2018年1月期间确诊的GDM孕妇作为GDM组,均经葡萄糖耐量试验明确诊断并排除合并其他妊娠合并症的孕妇;另选同期产检并分娩的健康孕妇作为对照组,葡萄糖耐量均正常且孕次、分娩时孕周等一般资料与GDM组匹配。GDM组73例孕妇年龄24～35岁、平均(29.52±3.35)岁,分娩时孕37～39周、平均(38.12±4.52)周;对照组58例孕妇年龄23～36岁、平均(29.83±3.16)岁,分娩时孕37～40周、平均(38.54±4.39)周。两组间一般资料的比较无统计学差异($P>0.05$),具有可比性。

1.2 实验材料

外周血基因组DNA提取试剂盒由QIAGEN公司提供,RNA提取所用Ultrapure RNA Kit试剂盒、反转录所用SuperRT One Step RT-PCR Kit试剂盒及PCR扩增所用试剂2×Taq Plus MasterMix由北京康为世纪公司提供;IDE基因rs11187007位点引物及PCR反应所用引物均由上海生工公司合成,基因特异性引物的序列及退火温度均如表1所示。细胞因子检测所用Elisa试剂盒由上海西唐生物公司提供。

表1 引物序列及退火温度

Table 1 Primer sequence and annealing temperature

基因	上游引物 5′→3′	下游引物 5′→3′	退火温度(℃)
IDE	TTTGGCGGACACTGGGAGCAT	CTGGGATTACAGGCACGAGAC	60
IRS-1	TAAGCTAGGCTAGGCGGCTAG	TTGCTAGCTAAAGTCAGTAGCT	58
IRS-2	AGCTAGCTAGCGCTAGCTAGT	AAAGTCAGCTGGATCGCCGTA	58
GLUT3	CGGCTATAGCTAGCTAGCTAG	CCGGCTAGCTAGTTAATGCAAT	56
GLUT4	TAGCTAGGCTAGCTAGCTTACG	CGATGCCGTATAGCTAGCATGC	60

1.3 实验方法

采集两组孕妇的肘静脉血,取部分外周血并采用外周血基因组DNA提取试剂盒分离DNA后进行PCR反应,取PCR产物进行酶切及凝胶电泳,进而判断rs11187007位点的基因型;另取剩余外周血并采用Elisa试剂盒测定白细胞介素-6(IL-6)、IL-10、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、趋化素(Chemerin)、网膜素-1(Omentin-1)的含量。采集两组孕妇分娩后的胎盘组织,采用试剂盒提取RNA并合成cDNA,用2×Taq Plus MasterMix配置PCR体系后对IRS-1、IRS-2、GLUT3、GLUT4进行扩增,根据扩增曲线计算基因的mRNA表达量。

1.4 统计学处理

采用SPSS21.0进行数据分析,两组间计数资料的分析采用卡方检验,计量资料的分析采用t检验,$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胎盘中IDE基因rs11187007位点多态性的检测结果

GDM孕妇外周血中IDE基因rs11187007位点AA基因型、AG基因型、GG基因型分别为12例、33例、28例构成比分别为16.44%、45.21%、38.36%;对照组孕妇外周血中IDE基因rs11187007位点AA基因型、AG基因型、GG基因型分别为19例、22例、17例,构成比分别为32.76%、37.93%、29.31%。经卡方检验分析,GDM组孕妇外周血中IDE基因rs11187007位点AA基因型构成比低于对照组,AG基因型、GG基因型高于对照组($P<0.05$)。

2.2 胎盘中胰岛素信号转导基因表达量的检测结果

GDM胎盘中IRS-1、IRS-2、GLUT3、GLUT4的mRNA表达量与对照组比较显著降低,组间胰岛素信号转导基因表达量的比较有显著性差异($P<0.05$)。见表2。

表 2 两组胎盘中胰岛素信号转导基因的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of insulin signal transduction genes in placenta between the two groups ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IRS-1	IRS-2	GLUT3	GLUT4
GDM 组	73	0.44±0.07	0.62±0.08	0.55±0.07	0.51±0.06
对照组	58	1.04±0.12	1.01±0.15	0.98±0.15	1.06±0.15
t		35.762	16.858	19.089	25.017
P		0.000	0.000	0.000	0.000

AG 基因型、GG 基因型的 GDM 胎盘中 IRS-1、IRS-2、GLUT3、GLUT4 的 mRNA 表达量低于 AA 基因型的 GDM 胎盘。见表 3。

2.3 外周血中炎症细胞因子含量的检测结果

GDM 组外周血中 IL-6、TNF-α、Chemerin 的含量与对照组比较显著升高，IL-10、Omentin-1 的含量与对照组比较显著降低，组间细胞因子含量的比较有显著性差异($P<0.05$)。见表 4。

AG 基因型、GG 基因型的 GDM 孕妇外周血中 IL-6、TNF-α、Chemerin 的含量高于 AA 基因型的 GDM 孕妇，IL-10、Omentin-1 的含量低于 AA 基因型的 GDM 孕妇。见表 5。

表 3 不同 IDE 基因 rs11187007 位点多态性的 GDM 胎盘中胰岛素信号转导基因的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of insulin signal transduction genes in GDM placenta with different IDE gene 7rs11187007 locus polymorphism ($\bar{x}\pm s$)

IDE 基因型	n	IRS-1	IRS-2	GLUT3	GLUT4
AA 基因型	12	0.68±0.09	0.82±0.11	0.78±0.10	0.79±0.09
AG+GG 基因型	61	0.27±0.04	0.41±0.07	0.37±0.05	0.35±0.04
t		25.427	16.739	21.455	27.288
P		0.000	0.000	0.000	0.000

表 4 两组孕妇外周血中炎症细胞因子的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 4 Comparison of inflammatory cytokines in peripheral blood between the two groups of pregnant women ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	IL-6 (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)	TNF-α (pg/mL)	Chemerin (ng/mL)	Omentin-1 (ng/mL)
GDM 组	73	154.46±19.39	20.38±2.95	24.42±3.03	9.85±1.18	213.51±29.94
对照组	58	94.55±10.27	36.68±3.93	10.39±1.26	5.48±0.77	358.72±42.83
t		21.269	27.113	33.046	24.372	22.801
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 5 不同 IDE 基因 rs11187007 位点多态性的 GDM 孕妇外周血中炎症细胞因子的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 5 Comparison of inflammatory cytokines IL-6 in peripheral blood of GDM women with different IDE gene rs11187007 locus polymorphism ($\bar{x}\pm s$)

IDE 基因型	n	IL-6 (pg/mL)	IL-10 (pg/mL)	TNF-α (pg/mL)	Chemerin (ng/mL)	Omentin-1 (ng/mL)
AA 基因型	12	120.31±14.58	27.61±3.42	16.72±2.03	7.03±0.93	281.37±37.61
AG+GG 基因型	61	189.42±25.48	13.02±1.68	31.95±5.94	12.83±1.64	158.33±21.38
t		9.075	22.551	8.739	11.838	15.835
P		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

3 讨论

胰岛素抵抗以及相应信号转导生物信号转导障碍是 GDM 病程中重要的病理生理特征，但具体的调控机制并未明确。IDE 基因是体内调节胰岛素生物学效应的重要基因，其编码产物具有高度特异性的胰岛素降解活性，通过水解细胞内的胰岛素来维持体内正常的胰岛素浓度并刺激新的胰岛素分泌。在胰岛素抵抗的病理过程中，IDE 的生物活性显著增加并且能够大量水解胰岛素，进而削弱胰岛素的生物学效应[3,4]。基因多态性是影响 IDE 基因编码产物生物学活性的重要因素，该基因在 rs11187007 位点的突变能够使编码产物水解胰岛素的作用增强[5,6]。本研究通过分析 GDM 孕妇外周血中 IDE 基因 rs11187007 位点的基因型构成比来反应其多态性，野生型 AA 基因型在 GDM 孕妇中所占的构成比显著降低，而突变型 AG 基因型及 GG 基因型在 GDM 孕妇中所占的构成比显著升高。这一多态性结果提示 IDE 基因 rs11187007 位点等位基因 A 向 G 突变的增多、突变基因型 AG 基因型及 GG 基因型的增加与 GDM 的发生有关，IDE 基因发生上述突变后会造成基因表达产物催化胰岛素降解的活性增强、进而使胰岛素的生物学效应减弱并导致糖代谢异常的发生。

胎盘是母胎之间物质交换的重要通道，胎盘中葡萄糖转运的异常不仅会影响胎儿的发育、还会造成母体糖代谢发生异常。胰岛素的生物学效应是促进肌肉、肝脏、胎盘等组织对葡萄糖的摄取，胎盘从母体血液循环摄取葡萄糖后能够进一步将葡萄糖转运至脐静脉、为胎儿生长提供所需的能量[7]。IRS-1 和 IRS-2 是胰岛素与其受体结合后发生活化的细胞内信号分子，通过进一步使 PI3K 发生磷酸化活化后增加 GLUT3、GLUT4 的表达[8,9]；GLUT3、GLUT4 直接参与葡萄糖转运过程，能够保证葡萄糖从母体血液循环向胎盘、从胎盘向脐静脉血的转运[10-12]。本研究通过分析 GDM 胎盘中胰岛素信号转导分子表达量的变化来反应胰岛素抵抗的程度，

与对照组比较，IRS-1、IRS-2、GLUT3、GLUT4 的 mRNA 表达量在 GDM 胎盘显著降低。这一结果提示胎盘中胰岛素信号转导的障碍与 GDM 的发生密切相关。进一步对 IDE 基因 rs11187007 位点多态性与胰岛素信号转导的关系可知：与野生型 AA 基因型的 GDM 胎盘比较，突变型 AG 基因型、GG 基因型的 GDM 胎盘中 IRS-1、IRS-2、GLUT3、GLUT4 的 mRNA 表达量显著降低。由此说明 IDE 基因 rs11187007 位点等位基因 A 向 G 的突变能够抑制胰岛素信号转导分子的表达并使胰岛素信号转导过程发生障碍。

微炎症反应的激活是影响胰岛素信号转导的重要病理因素，促炎因子能够抑制 IRS-1、IRS-2 的磷酸化并阻碍胰岛素下游信号的转导。IL-6、TNF-α、Chemerin 是具有促炎活性的细胞因子，IL-6、TNF-α 由活化的单核巨噬细胞分泌并且能够直接参与对胰岛素信号转导的拮抗[13,14]；Chemerin 由脂肪细胞分泌并且能够在胎盘内招募炎症细胞、放大炎症反应[15]。IL-10、Omentin-1 是具有抑炎作用的细胞因子，前者能够抑制多种促炎因子的活性并减轻胰岛素抵抗，后者则能直接发挥胰岛素增敏作用[16,17]。本研究通过分析 GDM 患者血清中炎症细胞因子的变化来反应全身微炎症反应的程度，与对照组比较，GDM 患者血清中促炎因子 IL-6、TNF-α、Chemerin 的含量显著升高，而抑炎因子 IL-10、Omentin-1 的含量显著降低。这一结果提示全身微炎症反应的过度激活与 GDM 的发生密切相关。进一步对 IDE 基因 rs11187007 位点多态性与微炎症反应的关系可知：与野生型 AA 基因型的 GDM 患者比较，突变型 AG 基因型、GG 基因型的 GDM 血清中 IL-6、TNF-α、Chemerin 的含量显著升高，IL-10、Omentin-1 的含量显著降低。由此说明 IDE 基因 rs11187007 位点等位基因 A 向 G 的突变能够增加促炎因子分泌、减少抑炎因子分泌并促进微炎症反应发生过度激活。

综上所述，GDM 患者体内 IDE 基因 rs11187007 位点存在显著多态性，等位基因 A 向 G 突变的增多、突变基因型 AG 基因型及 GG 基因型的增加；上述多态性的变化能够加重胰岛素抵抗及全身炎症反应。

参考文献

1 Fernández-Díaz CM, Escobar-Curbelo L, López-Acosta JF, et al. Insulin degrading enzyme is up-regulated in pancreatic βcells by insulin treatment [J]. Histol Histopathol, 2018, 4: 11997.

2 Tundo GR, Sbardella D, Ciaccio C, et al. Multiple functions of insulin-degrading enzyme: a metabolic crosslight? [J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2017, 52 (5): 554-582.

3 Sun J, Xia W, Cai R, et al. Serum insulin degrading enzyme level and other factors in type 2 diabetic patients with mild cognitive impairment [J]. Curr Alzheimer Res, 2016, 13(12): 1337-1345.

4 Tang WJ. Targeting insulin-degrading enzyme to treat type 2 diabetes mellitus [J]. Trends Endocrinol Metab, 2016, 27(1):24-34.

5 Cheng H, Wang L, Shi T, et al. Association of insulin degrading enzyme gene polymorphisms with Alzheimer's disease: a meta-analysis [J]. Int J Neurosci, 2015, 125 (5): 328-335.

6 Wang S, He F, Wang Y. Association between polymorphisms of the insulin-degrading enzyme gene and late-onset Alzheimer disease [J]. J Geriatr Psychiatry Neurol, 2015, 28(2): 94-98.

7 Pérez-Pérez A, Guadix P, Maymó J, et al. Insulin and leptin signaling in placenta from gestational diabetic subjects [J]. Horm Metab Res, 2016, 48(1): 62-9.

8 张宝，孙磊，郑阳，等. 性激素结合球蛋白、胰岛素信号转导蛋白和葡萄糖转运蛋白在妊娠期糖尿病胎盘组织中的表达及相关性分析[J]. 中国医科大学学报，2017，46(2)：97-102.

9 Zhang B, Jin Z, Sun L, et al. Expression and correlation of sex hormone-binding globulin and insulin signal transduction and glucose transporter proteins in gestational diabetes mellitus placental tissue [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2016, 119:106-17.

10 于勇，熊国平，丁娟，等. 抵抗素及葡萄糖转运蛋白-1 在妊娠期糖尿病患者胎盘滋养层细胞中的表达及意义[J]. 武汉大学学报(医学版)，2015，36(4)：520-523.

11 Otunctemur A, Besiroglu H, Dursun M, et al. The comparison of GLUT-4 and nNOS expression in diabetic and non-diabetic patients with BPH/LUTS [J]. Int Urol Nephrol, 2015, 47(6):899-904.

12 Stanirowski PJ, Szukiewicz D, Pyzlak M, et al. Analysis of correlations between the placental expression of glucose transporters GLUT-1, GLUT-4 and GLUT-9 and selected maternal and fetal parameters in pregnancies complicated by diabetes mellitus [J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2017, 16:1-10.

13 Kurauti MA, Costa-Júnior JM, Ferreira SM, et al. Interleukin-6 increases the expression and activity of insulin-degrading enzyme [J]. Sci Rep, 2017, 21 (7): 46750.

14 Siwetz M, Blaschitz A, El-Heliebi A, et al. TNF-α alters the inflammatory secretion profile of human first trimester placenta [J]. Lab Invest, 2016, 96(4): 428-438.

15 潘宝龙，马润玫. 血清脂肪因子 omentin-1、chemerin 的水平与妊娠期糖尿病的相关性[J]. 南方医科大学学报，2016，36(89)：1231-1236.

16 Moreli JB, Corrêa-Silva S, Damasceno DC, et al. Changes in the TNF-alpha/IL-10 ratio in hyperglycemia-associated pregnancies [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2015, 107 (3):362-369.

17 蔡文博，何津. 妊娠期糖尿病孕妇胎盘中炎性因子和脂肪因子的变化及意义[J]. 中国妇幼保健，2015，30(1)：131-133.