

KCNJ11 rs5219 基因多态性对新发 2 型糖尿病患者二甲双胍及格列齐特联用疗效的研究

熊烈^{1a,2}, 姚芳^{1b,2}, 金利民², 宁帆^{1b,2}, 史汉强^{1a,2}, 杜书琴³, 石彦波^{1a,2*} (1.浙江中医药大学附属嘉兴中医院, a.中心实验室, b.内分泌科, 浙江 嘉兴 314000; 2.嘉兴市糖尿病血管病变研究重点实验室, 浙江 嘉兴 314000; 3.浙江工业大学药学院, 杭州 310000)

摘要: 目的 探讨 *ATM*(rs11212617)、*KCNJ11*(rs5219)、*CYP2C9*(rs1799853、rs1057910)、*TCF7L2*(rs12255372、rs290487) 及 *IRS1*(rs1801278)位点对二甲双胍及格列齐特联用治疗新诊断 2 型糖尿病患者疗效的影响。方法 在浙江中医药大学附属嘉兴中医院内分泌科标准化代谢性疾病管理中心门诊就诊,并使用盐酸二甲双胍片和格列齐特缓释片联合治疗的 81 例新诊断 2 型糖尿病患者被纳入研究对象,使用 MassARRAY 技术对上述位点进行分型,并进行为期 3 个月的随访,对比治疗前后空腹血糖、糖化血红蛋白及空腹胰岛素的水平。结果 上述单核苷酸多态性位点的基因频率符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,样本代表性良好。rs1799853、rs1057910、rs12255372 与 rs1801278 位点突变频率较低,临床意义欠佳。rs5219 C 等位基因纯合患者在治疗后的空腹血糖达标率、空腹胰岛素上升量及糖化血红蛋白下降量上的获益均强于 T 等位基因携带患者($P<0.05$)。而 rs11212617 和 rs290487 位点各基因型并未显示出治疗效果的差异。结论 *KCNJ11* 基因的 rs5219 位点多态性与盐酸二甲双胍片和格列齐特缓释片联合治疗 2 型糖尿病的疗效相关, C 等位基因纯合患者疗效更为显著,可作为临床治疗 2 型糖尿病个性化用药的参考。

关键词: 2 型糖尿病; MassARRAY; 单核苷酸多态性; *KCNJ11*; rs5219

中图分类号: R969.4 文献标志码: B 文章编号: 1007-7693(2023)24-3431-08

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20230241

引用本文: 熊烈, 姚芳, 金利民, 等. *KCNJ11* rs5219 基因多态性对新发 2 型糖尿病患者二甲双胍及格列齐特联用疗效的研究[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(24): 3431-3438.

Study of *KCNJ11* rs5219 Gene Polymorphism on the Efficacy of Metformin Combined with Gliclazide in Newly Diagnosed Diabetes Mellitus Type 2 Patients

XIONG Lie^{1a,2}, YAO Fang^{1b,2}, JIN Limin², NING Fan^{1b,2}, SHI Hanqiang^{1a,2}, DU Shuqin³, SHI Yanbo^{1a,2*} (1.Zhejiang Chinese Medical University Affiliated Jiaying Traditional Chinese Medicine Hospital, a.Central Laboratory, b.Department of Endocrine, Jiaying 314000, China; 2.Jiaying Key Laboratory of Diabetic Angiopathy Research, Jiaying 314000, China; 3.College of Pharmacy, Zhejiang University of Technology, Hangzhou 310000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effect of the polymorphisms of *ATM*(rs11212617), *KCNJ11*(rs5219), *CYP2C9*(rs1799853, rs1057910), *TCF7L2*(rs12255372, rs290487) and *IRS1*(rs1801278) on efficacy of metformin and gliclazide combined treatment for diabetes mellitus type 2. **METHODS** Eighty-one patients with newly diagnosed diabetes mellitus type 2 in Standardized Metabolic Disease Management Center of the Endocrinology Department of Zhejiang Chinese Medical University Affiliated Jiaying TCM Hospital were enrolled in this study, and they were treated with metformin hydrochloride tablets and gliclazide modified release tablets. MassARRAY was used to type the above single nucleotide polymorphism(SNP), and followed up for 3 months. Fasting plasma glucose(FPG), glycosylated hemoglobin type A1c(HbA1c) and fasting insulin(FINS) were compared before and after treatment. **RESULTS** The gene frequencies of all SNPs were compliant to Hardy-Weinberg equilibrium, the samples were well represented. The rs1799853, rs1057910, rs12255372 and rs1801278 had low mutation frequencies with poor clinical significance. The benefits of FPG compliance rate, increase of FINS, decrease of HbA1c after treatment were stronger in patients with homozygous rs5219 C allele than those with T-allele carriers ($P<0.05$). However, there were no significant differences in treatment effects among the genotypes of rs11212617 and rs290487. **CONCLUSION** The rs5219 polymorphism of *KCNJ11* gene is associated with the efficacy of metformin hydrochloride tablets and gliclazide modified release tablets in treating diabetes mellitus type 2, with a more significant effect observed in individuals homozygous for the C allele. This finding can serve as a reference for personalized medication in clinical treatment of diabetes mellitus type 2. **KEYWORDS:** diabetes mellitus type 2; MassARRAY; single nucleotide polymorphism; *KCNJ11*; rs5219

基金项目: 浙江省医药卫生科技计划项目(2020PY029, 2023KY1227); 浙江省基础公益研究计划项目(LGF18H200004); 嘉兴市科技计划项目(2020AY30003); 浙江中医药大学校级科研项目(2022FSYYZZ22)

作者简介: 熊烈, 男, 硕士, 实验师 E-mail: 13666794520@163.com *通信作者: 石彦波, 女, 博士, 研究员 E-mail: shiyanbocas@163.com

2 型糖尿病(diabetes mellitus type 2, T2DM) 目前已成为全球性的公共卫生问题, 一项 2015—2017 年中华医学会内分泌学会在全国的流行病学调查显示, 中国成年糖尿病人群患病率为 11.2%^[1], 较 2010 年的流行病学调查结果上升 1.5%^[2]。口服降糖药是临床上治疗 T2DM 的常规选择, 然而其疗效存在个体差异, 遗传则是原因之一。单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与遗传药理学密切相关, 导致血药浓度和药物敏感性差异^[3]。因此, 基于遗传药理学的个体化用药成为治疗 T2DM 的重要手段之一。

格列齐特缓释片和盐酸二甲双胍片是常用的胰岛素促泌和增敏药物, 临床上常联合使用。共济失调毛细血管扩张症突变基因(ataxia telangiectasia mutated, *ATM*)^[4]、钾离子内向整流通道蛋白亚家族 J 成员 11 基因(potassium inwardly rectifying channel subfamily J member 11, *KCNJ11*)^[5]、细胞色素 P450 2C9 基因(cytochrome P450 proteins 2C9, *CYP2C9*)^[6]、转录因子 7 类似物 2 基因(transcription factor 7 like 2, *TCF7L2*)^[7]、胰岛素受体底物 1 基因(insulin receptor substrate 1, *IRS1*)^[8]已被报道可能与磺酰脲类药物和二甲双胍的疗效相关。本研究使用 MassARRAY 质谱分析方法对 *ATM*(rs11212617)、*KCNJ11*(rs5219)、*CYP2C9*(rs1799853、rs1057910)、*TCF7L2*(rs12255372、rs290487)及 *IRS1*(rs1801278) 位点进行分型, 旨在探究上述 SNP 位点的多态性对格列齐特缓释片和盐酸二甲双胍片联合治疗 T2DM 的疗效差异, 为临床用药提供理论依据。

1 材料、对象和方法

1.1 药品与仪器

盐酸二甲双胍片(格华止, 中美上海施贵宝制药有限公司, 批号: ABZ8849; 规格: 每片 0.5 g)。格列齐特缓释片[达美康, 施维雅(天津)制药有限公司, 批号: 2020111; 规格: 每片 30 mg]。

Cobas 8000 全自动生化分析仪、Cobas e602 全自动化学发光分析仪均来自 Roche; Premier Hb9210 全自动糖化血红蛋白检测仪(Primus); MassARRAY[®] Analyzer(Agena Bioscience)。

1.2 研究对象

纳入 2021 年 1—12 月首诊于浙江中医药大学附属嘉兴中医院内分泌科标准化代谢性疾病管理中心门诊, 新诊断的 T2DM 患者 81 例, 并进行为期 3 个月的随访。本研究经浙江中医药大学附属

嘉兴中医院医学伦理委员会批准(批文号: ME-C-JHTCM2019-1002), 遵循赫尔辛基宣言且每位受试者均签署知情同意书。

T2DM 诊断标准参考《中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)》^[1]。纳入标准: 年龄 16~65 岁, 新发 T2DM 且此前未经治疗, 目前用药为盐酸二甲双胍片(0.5 g, bid)与格列齐特缓释片(30 mg, qd)。排除标准: 患有自身免疫性疾病、家族遗传性疾病、急慢性炎症疾病、心脑血管事件; 服用其他影响糖代谢的疾病或服用影响糖代谢的药物; 其他认为不适宜本研究的情况。脱落标准: 随访过程中更换药物、增加剂量、依从性差, 或其他不适宜继续本研究的情况。

1.3 研究方法

1.3.1 基础资料收集 纳入研究的 T2DM 患者, 收集包括年龄、性别、身高、体质量、腰臀围、血压、烟酒史及直系血亲糖尿病发病情况等基础资料, 计算体质量指数和腰臀比。同时, 所有纳入的患者于治疗前空腹状态下采集外周静脉血, 检测血脂、肝肾功能。

1.3.2 基因分型 与上海宝藤生物科技有限公司合作, 通过 MassARRAY 质谱对受试者的 *ATM*(rs11212617)、*KCNJ11*(rs5219)、*CYP2C9*(rs1799853、rs1057910)、*TCF7L2*(rs12255372、rs290487)、*IRS1*(rs1801278) 基因进行分型。利用 <https://agenacx.com> 网站为每个 SNP 设计扩增引物及延伸引物, 具体见表 1。采用 Typer Analyzer 4.0 软件进行数据管理和分析。

1.3.3 空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)及糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin type Alc, HbA1c)检测 所有纳入研究的患者, 在使用盐酸二甲双胍片和格列齐特缓释片治疗前及治疗 3 个月后, 禁食 12 h, 于次日晨采集外周静脉血, 检测 FPG、FINS 及 HbA1c。计算 $\Delta FPG = FPG_{\text{治疗前}} - FPG_{\text{治疗后}}$, $\Delta FINS = FINS_{\text{治疗后}} - FINS_{\text{治疗前}}$, $\Delta HbA1c = HbA1c_{\text{治疗前}} - HbA1c_{\text{治疗后}}$ 。本研究根据《中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)》的建议^[1], 以 $FPG = 7 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, $HbA1c = 7\%$ 为阈值, 判断空腹血糖、糖化血红蛋白控制是否达标。

1.3.4 统计学分析 使用 SPSS 统计学软件进行统计分析。计量资料行正态检验, 正态分布资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 非正态分布资料以中位数(上下四分

表 1 MassARRAY 引物序列

Tab. 1 Primer sequences for MassARRAY

基因	SNP ID	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')	延伸引物(5'-3')
<i>ATM</i>	rs11212617	acgttgatgATACCAATTACAAAGGGCAG	acgttgatgGTGGGTTGCTTGTGGATAAC	AAAAGGGCAGATCAGAGA
<i>KCNJ11</i>	rs5219	acgttgatgCCTTTCTTGACACAAAGCG	acgttgatgAGGAATACGTGCTGACACGC	CACGGTACCTGGGCT
<i>CYP2C9</i>	rs1799853	acgttgatgCATGACGCTGCGGAATTTTG	acgttgatgTATGGAGTAGGGTCACCCAC	GAGGAGCATTGAGGAC
	rs1057910	acgttgatgATGCAAGACAGGAGCCACAT	acgttgatgTGTCACAGGTCACTGCATGG	TGCACGAGGTCCAGAGATAC
<i>TCF7L2</i>	rs12255372	acgttgatgTGCAAATCCAGCAGGTTAGC	acgttgatgCAGAGGCCTGAGTAATTATC	AGGAATATCCAGGCAAGAAT
	rs290487	acgttgatgCTTCCAACCCAGTACAAATC	acgttgatgATCTGCAGACTGACAACCTGG	CCTTTCTCATTTTCAATTTGC
<i>IRS1</i>	rs1801278	acgttgatgATGGTCATGTAGTACCCCG	acgttgatgAGAGCACTGGGGTCGAGATG	GGATTGGCCCTGCACCTCCC

注：小写字母为 Tag 引物。

Note: Lowercase letters meant Tag primer.

位数)表示;组间比较采用方差分析或 Kruskal-Wallis 检验;两两比较采用 *t* 检验或 Mann-Whitney *U* 检验;计数资料采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 基因型分布与遗传平衡检验

在本研究中,共有 5 个基因的 7 个 SNP 位点被检测,各位点检出率为 100%。结果显示 *ATM* (rs11212617)、*KCNJ11*(rs5219)、*TCF7L2* (rs290487) 位点的突变频率较高;在 *CYP2C9* (rs1057910)和 *TCF7L2*(rs12255372)中也检测到少量突变,且均为杂合;而在本研究中并未检测到 *CYP2C9* (rs1799853)及 *IRS1*(rs1801278)的突变,见图 1 和表 2。所有位点的等位基因频率均与 NCBI dbSNP 数据库(东亚人群)间的差异均无统计学意义,符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,拟合度良好,样本具有代表性,见表 3。因此,将突变频率较高的 *ATM* (rs11212617)、*KCNJ11*(rs5219)、*TCF7L2* (rs290487) 纳入接下来的研究中。

2.2 一般资料

本研究共纳入 81 例患者,回收有效数据 81 例,有效率 100%。所有患者在使用盐酸二甲双胍片和格列齐特缓释片联合治疗 3 个月内均未出现低血糖等不良反应。根据 rs11212617、rs5219、rs290487 位点基因型将 81 例患者进行分组,各组受试者在基础资料、血脂和肝肾功能的差异均无统计学意义,结果见表 4。

2.3 *ATM*(rs11212617)、*KCNJ11*(rs5219)、*TCF7L2* (rs290487)多态性对盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片联用 T2DM 患者 FPG 的影响

所有受试者的 FPG 在经过 3 个月的盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片治疗后均显著下降(均 $P<0.001$)。但 *ATM*(rs11212617)和 *TCF7L2*(rs290487)

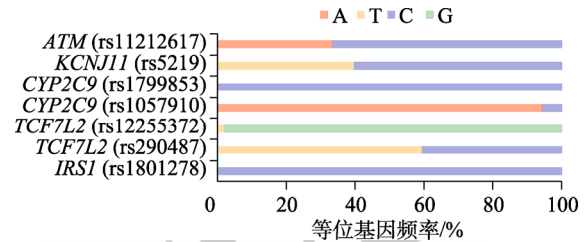


图 1 7 个 SNP 位点等位基因在受试人群中的分布

Fig. 1 Distribution of alleles at 7 SNP in study population

表 2 7 个 SNP 位点基因型在受试人群中的分布

Tab. 2 Distribution of alleles at 7 SNPs in study population

基因	SNP ID	基因型	n(%)
<i>ATM</i>	rs11212617	CC	41(20.6)
		AC	26(32.1)
		AA	14(17.3)
<i>KCNJ11</i>	rs5219	CC	30(30.7)
		CT	38(46.9)
		TT	13(16.0)
		TT	13(16.0)
<i>CYP2C9</i>	rs1799853	CC	81(100.0)
		CT	0(0.0)
		TT	0(0.0)
	rs1057910	AA	72(88.9)
		AC	9(11.1)
		CC	0(0.0)
<i>TCF7L2</i>	rs12255372	GG	78(96.3)
		GT	3(3.7)
		TT	0(0.0)
	rs290487	TT	32(39.5)
		CT	32(39.5)
		CC	17(21.0)
<i>IRS1</i>	rs1801278	CC	81(100.0)
		CT	0(0.0)
		TT	0(0.0)

不同基因型在治疗中 FPG 获益无显著差异。而 *KCNJ11*(rs5219) C 等位基因纯合患者相较于 T 等位基因携带患者拥有更低的治疗后 FPG 和更高的 FPG 达标率(均 $P<0.05$)。说明 rs5219 位点 C 等位基因纯合患者的 FPG 控制能从盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片联合治疗中获益更多。结果见表 5。

表 3 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验
Tab. 3 Hardy-Weinberg equilibrium test

基因	SNP ID	等位基因	本研究		dbSNP 数据库(东亚人群)		χ^2	<i>P</i>
			样本数	基因频率/%	样本数	基因频率/%		
<i>ATM</i>	rs11212617	C	81	66.7	4 500	60.1	2.855	0.091
		A		33.3		39.9		
<i>KCNJ11</i>	rs5219	C	81	60.5	4 912	61.1	0.026	0.872
		T		39.5		38.9		
<i>CYP2C9</i>	rs1799853	C	81	100.0	1 958	99.9	0.083	0.774
		T		0.0		0.1		
<i>TCF7L2</i>	rs12255372	A	81	94.4	4 858	95.6	0.540	0.463
		C		5.6		4.4		
		G		98.1		99.2		
		T		1.9		0.8		
	rs290487	T	81	59.3	304	57.9	0.098	0.754
		C		40.7		42.1		
<i>IRS1</i>	rs1801278	C	81	100.0	1 902	99.2	1.374	0.241
		T		0.0		0.8		

注: dbSNP 数据库网址 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>。
Note: dbSNP database URL <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>。

表 4 基础临床资料
Tab. 4 Basic clinical data

项目	<i>ATM</i> (rs11212617)			<i>KCNJ11</i> (rs5219)			<i>TCF7L2</i> (rs290487)		
	CC	AC	AA	CC	CT	TT	TT	CT	CC
数量/例	41	26	14	30	38	13	32	32	17
性别(男/女)/例	29/12	12/14	10/4	20/10	23/15	8/5	21/11	21/11	9/8
年龄/岁	43.9±10.4	42.3±11.9	41.9±8.7	44.30±11.02	42.68±9.91	41.31±11.64	41.28±10.96	43.88±9.97	44.88±10.86
BMI	24.82±2.47	25.52±4.29	25.16±2.93	25.38±2.75	24.92±3.65	25.08±2.77	25.16±3.72	24.84±2.79	25.44±2.93
WHR	0.93±0.05	0.92±0.05	0.90±0.05	0.93±0.04	0.92±0.06	0.90±0.05	0.925±0.05	0.913±0.04	0.923±0.07
收缩压/mmHg	136±15	133±16	143±20	138±14	134±18	136±14	134±15	134±15	144±18
舒张压/mmHg	86±11	86±8	92±14	88±9	85±12	89±8	86±11	85±10	93±10
吸烟史(+/-)/例	13/28	8/18	4/10	10/20	11/27	4/9	10/22	9/23	6/11
饮酒史(+/-)/例	11/30	4/22	4/10	4/26	10/28	5/8	8/24	6/26	5/12
家族史(+/-)/例	11/30	11/15	5/9	9/21	14/24	4/9	15/17	6/26	6/11
TG/mmol·L ⁻¹	1.80±0.81	1.94±1.11	1.86±1.47	1.67±0.69	1.94±1.04	2.03±1.58	1.81±0.86	2.02±1.28	1.62±0.78
LDL-C/mmol·L ⁻¹	2.74±0.73	2.60±0.75	2.38±0.57	2.62±0.73	2.70±0.70	2.49±0.75	2.67±0.75	2.57±0.69	2.69±0.74
ALT/U·L ⁻¹	27.85±22.95	26.35±18.63	22.43±12.53	23.83±14.10	31.16±25.25	18.62±8.57	24.28±14.96	27.16±22.55	29.12±23.83
AST/U·L ⁻¹	20.61±10.29	19.38±6.90	17.57±4.72	17.93±4.59	21.95±11.16	17.15±4.34	18.75±6.03	19.78±8.41	21.29±12.30
Scr/ μ mol·L ⁻¹	72.56±12.65	67.46±12.62	74.64±15.33	70.43±9.29	71.89±15.03	71.46±16.18	71.09±10.89	72.66±11.97	69.06±19.00

注: BMI=体质量指数=体质量(kg)/身高(m)²; WHR=腰臀比=腰围/臀围; TG=甘油三酯; LDL-C=低密度脂蛋白胆固醇; ALT=丙氨酸氨基转移酶; AST=天门冬氨酸氨基转移酶; Scr=血清肌酐。

Note: BMI=body mass index=weight(kg)/height(m)²; WHR=waist-to-hip ratio=waistline/hipline; TG=triglyceride; LDL-C=low-density lipoprotein cholesterol; ALT=alanine aminotransferase; AST=aspartate aminotransferase; Scr=serum creatinine.

2.4 *ATM*(rs11212617)、*KCNJ11*(rs5219)、*TCF7L2*(rs290487)多态性对盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片联用 T2DM 患者 HbA1c 的影响

与 FPG 相似,所有受试者在接受 3 个月的盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片治疗后 HbA1c 均显著降低(均 $P<0.001$)。而在纳入的 3 个 SNP 位点中,只有 *KCNJ11*(rs5219)的多态性对 HbA1c 获益存在

影响,*ATM*(rs11212617)和 *TCF7L2*(rs290487)的多态性对 HbA1c 获益并无统计学意义。具体表现为 *KCNJ11*(rs5219) C 等位基因纯合患者较 T 等位基因携带患者治疗后 HbA1c 更低,且 HbA1c 下降量更高(均 $P<0.05$)。表明盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片联合治疗对于 *KCNJ11*(rs5219)位点 C 等位基因纯合患者的 HbA1c 控制效果更佳。结果见表 6。

表 5 3 个 SNP 位点多态性对盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片联用 T2DM 患者空腹血糖的影响

Tab. 5 Effects of 3 SNP site polymorphisms on fasting blood glucose levels in T2DM patients treated with combination of metformin hydrochloride tablets and gliclazide sustained-release tablets

基因(SNP ID)	基因型	治疗前 FPG/mm $\cdot$ L $^{-1}$	治疗后 FPG/mm $\cdot$ L $^{-1}$	<i>t</i>	<i>P</i>	Δ FPG	达标率(达标/未达标)
<i>ATM</i> (rs11212617)	CC	8.68 $\pm$ 1.19	6.75 $\pm$ 1.21	12.082	<0.001	1.93 $\pm$ 1.02	53.7%(22/19)
	AC+AA	8.52 $\pm$ 1.14	6.83 $\pm$ 1.12	13.237	<0.001	1.69 $\pm$ 0.81	57.5%(23/17)
	<i>t</i> / χ^2	0.605	-0.327			1.176	0.121
	<i>P</i>	0.547	0.744			0.243	0.728
<i>KCNJ11</i> (rs5219)	CC	8.49 $\pm$ 1.15	6.43 $\pm$ 1.08	11.211	<0.001	2.06 $\pm$ 1.01	73.3%(22/8)
	CT+TT	8.66 $\pm$ 1.17	7.00 $\pm$ 1.16	14.002	<0.001	1.66 $\pm$ 0.85	45.1%(23/28)
	<i>t</i> / χ^2	-0.645	-2.195			1.905	6.099
	<i>P</i>	0.521	0.031			0.060	0.014
<i>TCF7L2</i> (rs290487)	TT	8.72 $\pm$ 1.29	6.74 $\pm$ 1.30	11.132	<0.001	1.98 $\pm$ 1.01	50.0%(16/16)
	CT+CC	8.52 $\pm$ 1.07	6.82 $\pm$ 1.07	13.840	<0.001	1.70 $\pm$ 0.86	59.2%(29/20)
	<i>t</i> / χ^2	0.759	-0.302			1.341	0.661
	<i>P</i>	0.450	0.764			0.184	0.416

注：以 FPG<7 mm $\cdot$ L $^{-1}$ 为控制达标； Δ FPG=FPG_{治疗前}-FPG_{治疗后}。

Note: FPG<7 mm $\cdot$ L $^{-1}$ was considered as the control standard; Δ FPG=FPG_{before}-FPG_{after}.

表 6 3 个 SNP 位点多态性对盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片联用 T2DM 患者糖化血红蛋白的影响

Tab. 6 Effect of 3 SNP site polymorphisms on glycosylated hemoglobin in T2DM patients treated with combination of metformin hydrochloride tablets and gliclazide sustained-release tablets

基因(SNP ID)	基因型	治疗前 HbA1c/%	治疗后 HbA1c/%	<i>t</i>	<i>P</i>	Δ HbA1c	达标率(达标/未达标)
<i>ATM</i> (rs11212617)	CC	8.97 $\pm$ 1.37	6.84 $\pm$ 1.20	13.271	<0.001	2.13 $\pm$ 1.03	51.2%(21/20)
	AC+AA	8.77 $\pm$ 1.20	6.98 $\pm$ 1.13	17.589	<0.001	1.79 $\pm$ 0.64	47.5%(19/21)
	<i>t</i> / χ^2	0.710	-0.515			1.774	0.112
	<i>P</i>	0.480	0.608			0.081	0.738
<i>KCNJ11</i> (rs5219)	CC	8.75 $\pm$ 1.35	6.53 $\pm$ 1.12	12.725	<0.001	2.22 $\pm$ 0.95	63.3%(19/11)
	CT+TT	8.94 $\pm$ 1.25	7.13 $\pm$ 1.14	16.402	<0.001	1.81 $\pm$ 0.79	41.2%(21/30)
	<i>t</i> / χ^2	-0.649	-2.304			2.074	3.710
	<i>P</i>	0.518	0.024			0.041	0.054
<i>TCF7L2</i> (rs290487)	TT	8.95 $\pm$ 1.44	6.85 $\pm$ 1.31	13.308	<0.001	2.10 $\pm$ 0.89	46.9%(15/17)
	CT+CC	8.81 $\pm$ 1.19	6.95 $\pm$ 1.06	15.359	<0.001	1.87 $\pm$ 0.85	51.0%(25/24)
	<i>t</i> / χ^2	0.463	-0.358			1.169	0.133
	<i>P</i>	0.645	0.722			0.246	0.715

注：以 HbA1c<7%为控制达标； Δ HbA1c=HbA1c_{治疗前}-HbA1c_{治疗后}。

Note: HbA1c<7% was considered as the control standard; Δ HbA1c=HbA1c_{before}-HbA1c_{after}.

2.5 *ATM*(rs11212617)、*KCNJ11*(rs5219)、*TCF7L2*(rs290487)多态性对盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片联用 T2DM 患者 FINS 的影响

为了进一步探究 *ATM*(rs11212617)、*KCNJ11*(rs5219)、*TCF7L2*(rs290487)位点多态性对于血糖控制差异的原因，检测了用药前后 FINS 的变化情况，结果见表 7。所有受试者在经治疗后 FINS 均显著升高(均 $P<0.001$)，但 *ATM*(rs11212617)与 *TCF7L2*(rs290487)的多态性对于 FINS 的影响并无统计学意义。而 *KCNJ11*(rs5219)位点的多态性对于 FINS 的影响与预想的一致，C 等位基因纯合患者的 FINS 升高量显著高于 T 等位基因携带患者

($P<0.05$)，说明盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片联合治疗对于 *KCNJ11*(rs5219)位点 C 等位基因纯合患者的胰岛素分泌作用更强。

3 讨论

本研究共纳入 81 例新诊断 T2DM 患者，所有患者在使用盐酸二甲双胍片联合格列齐特缓释片治疗 3 个月后血糖均得到一定程度的控制，且无低血糖等不良反应。利用 MassARRAY 对多个 SNP 位点进行分型，结果显示，rs11212617(A 33.3%，C 66.7%)、rs5219(T 39.5%，C 60.5%)与 rs290487(T 59.3%，C 40.7%)位点的突变频率较高，具有临床应用价值，纳入后续研究；而 rs1799853(C 100%)、

表 7 3 个 SNP 位点多态性对盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片联用 T2DM 患者空腹胰岛素的影响

Tab. 7 Effect of 3 SNP site polymorphisms on fasting insulin in T2DM patients treated with combination of metformin hydrochloride tablets and gliclazide sustained-release tablets

基因(SNP ID)	基因型	治疗前 FINS/ $\mu\text{IU}\cdot\text{mL}^{-1}$	治疗后 FINS/ $\mu\text{IU}\cdot\text{mL}^{-1}$	Z	P	ΔFINS
ATM(rs11212617)	CC	9.80(7.75, 11.25)	13.10(10.45, 14.80)	-5.581	<0.001	3.40(2.10, 4.20)
	AC+AA	9.25(7.03, 11.48)	12.20(9.75, 14.98)	-5.443	<0.001	3.35(2.00, 4.35)
	Z/ χ^2	-2.930	-0.411			-0.009
	P	0.770	0.681			0.992
KCNJ11(rs5219)	CC	9.90(7.25, 11.73)	13.80(10.95, 15.50)	-4.784	<0.001	3.65(2.63, 4.75)
	CT+TT	9.30(7.60, 10.90)	12.30(10.10, 12.30)	-6.156	<0.001	3.30(1.80, 3.80)
	Z/ χ^2	-0.660	-1.257			-2.045
	P	0.509	0.209			0.041
TCF7L2(rs290487)	TT	9.70(7.45, 11.70)	13.00(10.73, 15.20)	-4.938	<0.001	3.70(2.25, 4.28)
	CT+CC	9.40(7.40, 11.10)	12.40(9.95, 14.55)	-6.032	<0.001	3.30(1.95, 4.20)
	Z/ χ^2	-0.686	-0.865			-0.889
	P	0.493	0.387			0.374

注: $\Delta\text{FINS}=\text{FINS}_{\text{治疗后}}-\text{FINS}_{\text{治疗前}}$

Note: $\Delta\text{FINS}=\text{FINS}_{\text{after}}-\text{FINS}_{\text{before}}$.

rs1057910(A 94.4%, C 5.6%)、rs12255372(T 1.9%, G 98.1%)与 rs1801278(C 100%)位点由于突变频率较低,临床应用价值欠佳。上述位点的基因频率与 NCBI dbSNP 数据库(东亚人群)间差异无统计学意义,符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,样本代表性良好。

盐酸二甲双胍片是目前临床上最常使用的一线口服降糖药物,共济失调毛细血管扩张症是一种常染色体隐性遗传疾病,在共济失调毛细血管扩张症中发生突变的基因被称为 ATM,其可表达一种丝氨酸/苏氨酸激酶,并在免疫、代谢等方面发挥着重要的作用^[9]。2011 年,GoDARTS 和 UKPDS 药物遗传学研究小组的 1 项针对英格兰和苏格兰的多列队研究显示,ATM 基因的 rs11212617 位点的 C 等位基因与二甲双胍治疗有效率相关^[10]。随后 Van 等^[11]在对荷兰及英国人群的研究中验证了这一观点。同样的,在中国人群中 1 项对 274 例上海汉族 T2DM 患者的研究显示,ATM(rs11212617)位点的 C 等位基因与二甲双胍疗效相关^[12]。但是张思敏等^[13]的 1 项研究认为二甲双胍在 ATM(rs11212617)位点的 A 等位基因携带患者中的疗效优于 C 等位基因,这一结果与大多数的结果相反。虽然关于二甲双胍具体的作用机制尚未完全阐明,但目前研究认为其抗糖尿病作用可能与 AMPK 途径相关^[14],而 ATM 作用于 AMPK 上游,与二甲双胍响应密切相关^[15]。在本研究所纳入的 T2DM 患者中,ATM(rs11212617)多态性对

于盐酸二甲双胍片和格列齐特缓释片联合治疗的疗效并无影响,这可能与本研究样本量的局限性有关,也有可能是治疗中格列齐特缓释片联用的影响。

磺酰脲类药物也是目前中国使用广泛的口服降糖药之一,包括格列美脲、格列齐特、格列吡嗪和格列喹酮等。这类药物主要通过胰岛 β 细胞膜上的 ATP 敏感性钾离子通道(K_{ATP})结合,阻滞钾离子通道,抑制细胞内钾离子外流,使细胞膜去极化,进而引起钙离子通道开放,钙离子内流,促进胰岛素分泌。而 KCNJ11 基因编码 K_{ATP} 的 Kir 6.2 亚基,是 K_{ATP} 通道的重要组件之一,是调节胰岛 β 细胞胰岛素分泌的重要基因,其不同突变位点可导致不同程度的糖代谢异常,磺酰脲类降糖药物可与 K_{ATP} 通道中的磺酰脲类受体 1 结合,导致通道关闭,继而促进胰岛素分泌,因此, KCNJ11 基因突变所致的糖尿病患者可口服磺酰脲类药物治疗^[5]。由于 KCNJ11 基因的多态性可能破坏 K_{ATP} 通道的正常生理功能, KCNJ11(rs5219) (C>T)突变导致 K_{ATP} 通道敏感性降低,开放时间延长,使胰岛素分泌受到抑制^[16],影响磺酰脲类药物的作用疗效。在本研究中,发现 KCNJ11(rs5219)位点的 C 等位基因纯合患者在接受盐酸二甲双胍片和格列齐特缓释片的联合治疗后 FPG 和 HbA1c 的获益均显著优于 T 等位基因携带患者(均 $P<0.05$)。同时笔者进一步检测了用药前后的 FINS 变化, KCNJ11(rs5219)位点的 C 等位基因纯合子携带糖

尿病患者对治疗的胰岛素分泌作用响应强于 T 等位基因携带患者($P<0.05$),这可能是造成血糖控制差异的原因,同时也印证了格列齐特靶位点 *KCNJ11* 基因对胰岛素分泌的作用。此研究结果与大量的既往研究结果一致^[17-19]。在本研究中 *KCNJ11* 基因 rs5219 位点 C 等位基因纯合频率大约为 30%,大部分为 T 等位基因携带者,对于格列齐特的胰岛素分泌作用响应较弱,在临床中可能需要增加用药量来弥补这一缺陷,而一旦增加用药量则会增加低血糖的发生风险。此外,格列齐特主要通过 *CYP2C9* 代谢,而 rs1799853 和 rs1057910 作为 *CYP2C9* 基因中常见的 2 个 SNP 位点,其突变可能会抑制酶活力,延长血浆中药物的半衰期,造成药物堆积,引起低血糖^[6]。值得庆幸的是,rs1799853 和 rs1057910 这 2 个 SNP 位点的突变频率在本研究人群中较低。在临床中需特别关注 *CYP2C9*(rs1799853)和 *CYP2C9*(rs1057910) 位点突变,同时携带 *KCNJ11*(rs5219)的 T 等位基因的患者,由于其对格列齐特的胰岛素分泌作用响应较弱,提高格列齐特缓释片用量则显著增加低血糖的风险。

TCF7L2 被认为是迄今为止发现的 T2DM 最强易感基因,*TCF7L2* 基因第 3 内含子的一段四核苷酸重复序列 *DG10S478* 多态性与 T2DM 的发生风险相关。此后,该序列的 5 个单核苷酸基因多态性(rs12255372、rs7903146、rs7901695、rs11196205 及 rs7895340)与 T2DM 的发生风险在多个国家和人群中得到广泛证实^[20]。*TCF7L2* 参与 WNT/ β -catenin 信号通路的关键转录效应,与 β 细胞功能密切相关^[7,21]。目前研究显示,rs12255372 位点 T 等位基因对磺酰脲类药物的响应较弱^[22-23]。但本研究人群中该 SNP 位点的 T 等位基因频率较低。同时,本研究也纳入了 rs290487 位点,但目前鲜有该位点影响二甲双胍和格列齐特疗效的报道。虽然该位点在本研究的人群中有一定突变率,但本研究并未发现其在 FPG、FINS、HbA1c 方面影响盐酸二甲双胍片与格列齐特缓释片疗效的潜在可能。

胰岛素与其受体结合,将胰岛素受体底物磷酸化,从而进一步激活下游效应物,因此 *IRS1* 基因的多态性可导致胰岛素敏感性的降低^[8]。目前有研究显示 *IRS1* 基因的 rs1801278 位点多态性与 T2DM 的胰岛素抵抗相关^[24]。在本研究中也对该

位点进行了分型,但 81 例受试者均为 C 等位基因纯合,这种极低的突变频率在临床中应用价值有限,因此本研究并未进行进一步的研究。

综上所述,本研究主要探讨了 *ATM* (rs11212617)、*KCNJ11*(rs5219)、*CYP2C9*(rs1799853、rs1057910)、*TCF7L2*(rs12255372、rs290487)、*IRS1*(rs1801278)位点多态性在临床上指导 T2DM 患者盐酸二甲双胍片及格列齐特缓释片联合用药的可能性。结果显示,rs5219 位点 C 等位基因纯合患者使用盐酸二甲双胍片及格列齐特缓释片联合治疗的疗效强于 T 等位基因携带患者,导致这一现象的原因可能是 T 等位基因携带患者对于胰岛素分泌作用的响应较弱。因此,rs5219 位点的多态性与盐酸二甲双胍片及格列齐特缓释片联合用药疗效相关,具有临床应用价值,可为 T2DM 患者个性化用药提供一定的参考。

REFERENCES

- [1] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2020 年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(4): 315-409.
- [2] 中华医学会糖尿病学分会. 中国 2 型糖尿病防治指南(2017 年版)[J]. 中华糖尿病杂志, 2018, 10(1): 4-67.
- [3] NASYKHOVA Y A, TONYAN Z N, MIKHAILOVA A A, et al. Pharmacogenetics of type 2 diabetes-progress and prospects[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(18): 6842.
- [4] CHEN P X, CAO Y M, GUO Y L, et al. Association of *SLC22A1* rs622342 and *ATM* rs11212617 polymorphisms with metformin efficacy in patients with type 2 diabetes[J]. Pharmacogenet Genomics, 2022, 32(2): 67-71.
- [5] KARKHANEH L, TABATABAEI-MALAZY O, BANDARIAN F, et al. Pharmacogenomics of sulfonylureas in type 2 diabetes mellitus; a systematic review[J]. J Diabetes Metab Disord, 2022, 21(1): 863-879.
- [6] DIDARI E, SARHANGI N, AFSHARI M, et al. A pharmacogenetic pilot study of *CYP2C9* common genetic variant and sulfonylureas therapeutic response in type 2 diabetes mellitus patients[J]. J Diabetes Metab Disord, 2021, 20(2): 1513-1519.
- [7] CHEN X, AYALA I, SHANNON C, et al. The diabetes gene and Wnt pathway effector *TCF7L2* regulates adipocyte development and function[J]. Diabetes, 2018, 67(4): 554-568.
- [8] YOUSEF A, BEHIRY E, ABD ALLAH W, et al. *IRS-1* genetic polymorphism (r.2963G>A) in type 2 diabetes mellitus patients associated with insulin resistance[J]. Appl Clin Genet, 2018(11): 99-106.
- [9] CHAUDHARY M W, AL-BARADIE R S. Ataxia-telangiectasia: Future prospects[J]. Appl Clin Genet, 2014(7): 159-167.
- [10] GoDARTS and UKPDS Diabetes Pharmacogenetics Study Group, Wellcome Trust Case Control Consortium, ZHOU K X, et al. Common variants near *ATM* are associated with

- glycemic response to metformin in type 2 diabetes[J]. *Nat Genet*, 2011, 43(2): 117-120.
- [11] VAN LEEUWEN N, NIJPELS G, BECKER M L, et al. A gene variant near *ATM* is significantly associated with metformin treatment response in type 2 diabetes: A replication and meta-analysis of five cohorts[J]. *Diabetologia*, 2012, 55(7): 1971-1977.
- [12] ZHOU Y, GUO Y, YE W, et al. RS11212617 is associated with metformin treatment response in type 2 diabetes in Shanghai local Chinese population[J]. *Int J Clin Pract*, 2014, 68(12): 1462-1466.
- [13] ZHANG S M, TANG Y, CAI D, et al. A common variant in the *ATM* associate with the hypoglycemic efficacy of metformin[J]. *Chin J Diabetes (中华糖尿病杂志)*, 2012(4 Suppl): 74-75.
- [14] LV Z Q, GUO Y J. Metformin and its benefits for various diseases[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2020(11): 191.
- [15] ZHANG Y J, ZHAO H, DONG L, et al. Resveratrol ameliorates high-fat diet-induced insulin resistance and fatty acid oxidation via *ATM-AMPK* axis in skeletal muscle[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(20): 9117-9125.
- [16] LI Y P, SHEN K Y, LI C Y, et al. Identifying the association between single nucleotide polymorphisms in *KCNQ1*, *ARAP1*, and *KCNJ11* and type 2 diabetes mellitus in a Chinese population[J]. *Int J Med Sci*, 2020, 17(15): 2379-2386.
- [17] LI Q, CHEN M, ZHANG R, et al. *KCNJ11* E23K variant is associated with the therapeutic effect of sulphonylureas in Chinese type 2 diabetic patients[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2014, 41(10): 748-754.
- [18] PHANI N M, VOHRA M, ADHIKARI P, et al. Genetic variants identified from GWAS for predisposition to type 2 diabetes predict sulfonylurea drug response[J]. *Curr Mol Med*, 2017, 17(8): 580-586.
- [19] SONG J W, YANG Y Z, MAUVAIS-JARVIS F, et al. *KCNJ11*, *ABCC8* and *TCF7L2* polymorphisms and the response to sulfonylurea treatment in patients with type 2 diabetes: A bioinformatics assessment[J]. *BMC Med Genet*, 2017, 18(1): 64.
- [20] PENG S H, ZHU Y M, LÜ B J, et al. *TCF7L2* gene polymorphisms and type 2 diabetes risk: A comprehensive and updated meta-analysis involving 121, 174 subjects[J]. *Mutagenesis*, 2013, 28(1): 25-37.
- [21] ZHOU Y D, PARK S Y, SU J, et al. *TCF7L2* is a master regulator of insulin production and processing[J]. *Hum Mol Genet*, 2014, 23(24): 6419-6431.
- [22] DHAWAN D, PADH H. Genetic variations in *TCF7L2* influence therapeutic response to sulfonylureas in Indian diabetics[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2016(121): 35-40.
- [23] CASTELÁN-MARTÍNEZ O D, HOYO-VADILLO C, BAZÁN-SOTO T B, et al. *CYP2C9*3* gene variant contributes independently to glycaemic control in patients with type 2 diabetes treated with glibenclamide[J]. *J Clin Pharm Ther*, 2018, 43(6): 768-774.
- [24] ALBEGALI A A, SHAHZAD M, MAHMOOD S, et al. Genetic association of insulin receptor substrate-1(*IRS-1*, rs1801278) gene with insulin resistant of type 2 diabetes mellitus in a Pakistani population[J]. *Mol Biol Rep*, 2019, 46(6): 6065-6070.

收稿日期: 2023-02-06

(本文责编: 沈倩)