

海南黎族人群 VEGF 基因多态性和嚼槟榔习惯在 2 型糖尿病中的作用

陈宗存 符沙沙 陈金逸 张 鸾 陈清华 吴祖荣

摘 要 **目的** 探讨海南黎族人群血管内皮生长因子(VEGF)-460C/T 多态性和嚼槟榔习惯与 2 型糖尿病(T2DM)的联系及交互作用。**方法** 选取 2016 年 1 月~2020 年 1 月在海南地区住院的 116 例黎族 2 型糖尿病患者作为 T2DM 组,180 例黎族健康体检者作为对照组。收集研究对象的年龄、性别、吸烟、嚼槟榔习惯、血压、血糖、血脂等资料,抽血采用多聚酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)法检测 VEGF-460C/T 基因型分布情况。采用 Logistic 回归分析各基因型与 2 型糖尿病易感性的关系及和嚼槟榔习惯的交互作用。**结果** T2DM 组的 C 等位基因比例高于对照组(64.7% vs 53.9%, $P < 0.05$)。Logistic 回归分析显示,C 基因携带者(CC 型/CT 型)患病风险是非 C 基因携带者(TT 型)的 1.89 倍(OR = 1.89, 95% CI: 1.01 ~ 3.57)。VEGF 基因多态性和嚼槟榔习惯具有交互作用($RERI = 30.24$, 95% CI: 19.20 ~ 99.68),CC/CT 型且有嚼槟榔习惯者患 T2DM 的风险是 TT 基因型且无嚼槟榔习惯者的 2.95 倍(OR = 2.95, 95% CI: 1.50 ~ 5.81)。**结论** VEGF-460C/T 多态性和海南黎族人群患 2 型糖尿病有关,同时有 CC/CT 基因型和嚼槟榔习惯者患 T2DM 的风险更高。

关键词 血管内皮生长因子 基因多态性 2 型糖尿病 槟榔

中图分类号 R587.1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.08.023

Role of Polymorphisms of VEGF and Areca Nut Chewing in Type 2 Diabetes Mellitus in Li Population of Hainan Province. Chen Zong-cun, Fu Shasha, Chen Jinyi, et al. Department of Endocrinology, The Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Hainan 570311, China

Abstract **Objective** To investigate the relationship between 460C/T site polymorphisms of vascular endothelial growth factor (VEGF) and type 2 diabetes mellitus (T2DM) and the interaction with areca nut chewing in Hainan Li population. **Methods** Totally 116 cases of patients hospitalized and diagnosed with T2DM from January 2016 to January 2020 were enrolled as the T2DM group and 180 volunteers who had physical examination in the same period were enrolled as the control group. Data of age, sex, smoking, areca nut chewing, blood pressure, glycosylated hemoglobin (HbA1c) and blood lipid were collected. Genomic DNA was extracted from peripheral blood, and the polymorphisms of VEGF gene 460C/T site were examined by polymerase chain reaction based restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). **Results** In the T2DM group, the frequency of C allele at 460C/T of VEGF gene were significantly higher than those of the control group (64.7% vs 53.9%, $P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that there was increased risk of developing T2DM for CC/CT genotype carriers compared with TT (Adjusted OR = 1.89, 95% CI: 1.01 ~ 3.57). The OR of the additive interaction indexes RERI between VEGF polymorphisms and areca nut chewing on T2DM development was 30.24 (95% CI: 19.20 ~ 99.68). **Conclusion** VEGF-460C/T polymorphism is associated with T2DM in Li population of Hainan, and those with CC/CT genotype and areca chewing have a higher risk of developing T2DM.

Key words Vascular endothelial growth factor; Polymorphism; Diabetes mellitus; Areca

中国 2 型糖尿病(diabetes mellitus, T2DM)发生率高达 10.9%^[1]。血管内皮生长因子(vascular en-

dothelial growth factor, VEGF)具有调节能量代谢、改善胰岛素抵抗等作用,与 T2DM 有关^[2]。基因多态性和 T2DM 密切相关。而目前关于海南黎族人群中 VEGF 基因多态性和 T2DM 关系的报道较少。海南部分居民有嚼槟榔习惯。有文献报道嚼槟榔习惯和 T2DM 有关^[3]。但目前关于海南黎族人群中 VEGF 基因多态性、嚼槟榔习惯在 T2DM 中是否存在交互作用及强度如何尚不清楚。本研究探讨海南黎族人群

基金项目:海南省卫生计生行业科研项目(16A200071, 20A200489)

作者单位:570311 海口,海南医学院附属第二医院内分泌科(陈宗存、陈金逸、陈清华、吴祖荣);570208 海口市人民医院呼吸与危重症医学科(符沙沙);570100 海口市第三人民医院内分泌科(张鸾)

通讯作者:符沙沙,电子信箱:422731749@qq.com

VEGF 多态性是否与 T2DM 有关,以及和嚼槟榔习惯的交互作用,对临床实践有指导意义。

对象与方法

1. 对象与分组:选取 2016 年 1 月~2020 年 1 月于海南医学院第二附属医院、东方市、琼中县及五指山市人民医院住院的黎族 2 型糖尿病患者 116 例作为 T2DM 组。2 型糖尿病诊断采用 1999 年 WHO 标准。选取同期医院体检中心体检的黎族非 T2DM 者 180 例作为对照组。纳入标准:①年龄 18~80 岁;②黎族;③有 2 型糖尿病。排除标准:1 型糖尿病、继发性糖尿病、汉族等其他民族、有明确的遗传性疾病、严重肝、肾功能及心功能不全、不配合研究者。本研究经笔者医院医学伦理学委员会批准,并取得受试者的知情同意书。

2. 一般资料及血清指标:收集患者年龄、性别、体重指数 (body mass index, BMI)、血压、吸烟、嚼槟榔习惯等基本资料。在入院第 2 天清晨抽取受试者的空腹静脉血,送医院检验科测糖化血红蛋白 (glycated hemoglobin, HbA1c)、总胆固醇 (total cholesterol, TC) 等生化指标。每周进食槟榔果 2 次以上,并持续半年以上视为有嚼槟榔习惯。

3. VEGF-460C/T 多态性:清晨抽取受试者肘静脉血 2ml,用 2% 的 EDTA 进行抗凝处理,保存于-20℃ 冰箱。采取酚-氯仿经典法提取外周血基因

组 DNA。采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性检测 VEGF-460C/T 基因多态性。根据 VEGF 基因的核苷酸序列设计各个位点的扩增引物,采用聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增目基因片段。VEGF-460C/T 引物,上游引物:5'-CTCTTTTAGCCAGAGCCGGG-3',下游引物:5'-TG-GCCTTCTCCCCGCTCCGAC-3'。用限制性内切酶酶切后进行 3% 琼脂糖电泳,Goldview 染色成像,判断酶切产物的基因型。

4. 统计学方法:采用 SPSS 22.0 统计学软件对数据进行统计分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料用频数(百分比)[$n(\%)$]表示。计量资料两组间比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验。基因型进行 Hardy-Weinberg 平衡检验。采用 Logistic 回归评估 VEGF-460C/T 多态性与 T2DM 的关联及与嚼槟榔习惯的交互作用,计算相对超额危险度比 (relative excess risk of interaction, RERI)、归因比 (attributable proportions of interaction, API) 及其 95% CI^[4]。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 一般情况比较:两组患者年龄、性别、BMI、血压、总胆固醇比较,差异无统计学意义(P 均 > 0.05),而 T2DM 组吸烟情况、嚼槟榔习惯、HbA1c 高于对照组(P 均 < 0.05 ,表 1)。

表 1 两组患者一般情况比较($\bar{x} \pm s$)

项目	对照组 ($n = 180$)	T2DM 组 ($n = 116$)	χ^2/t	P
年龄 (岁)	52.15 ± 7.61	52.39 ± 8.58	0.25	0.81
男性/女性	98/82	70/46	1.01	0.32
吸烟	54 (30.0)	49 (42.2)	4.66	0.03
嚼槟榔习惯	44 (24.4)	54 (46.6)	15.56	0.01
BMI (kg/m ²)	23.21 ± 3.21	23.46 ± 3.06	0.64	0.52
收缩压 (mmHg)	132.68 ± 17.87	133.38 ± 20.53	0.31	0.76
舒张压 (mmHg)	81.14 ± 9.54	79.50 ± 10.53	-1.38	0.17
HbA1c (%)	6.09 ± 1.57	8.83 ± 2.45	11.72	0.01
总胆固醇 (mmol/L)	4.71 ± 1.11	4.43 ± 1.32	-1.92	0.06

2. VEGF-460C/T 多态性与 T2DM 易感性的联系:T2DM 组 VEGF-460C/T 基因型中 TT 型占 41 例 (35.4%),CT 型占 47 例 (40.5%),CC 型占 28 例 (24.1%),C 等位基因 75 例 (64.7%)。对照组 VEGF-460C/T 基因型中 TT 型占 83 例 (46.1%),CT 型占 71 例 (39.4%),CC 型占 26 例 (14.5%),C 等位基因 97 例 (53.9%)。两组 VEGF-460C/T 基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($\chi^2 =$

3.73, $P = 0.06$; $\chi^2 = 2.73$, $P = 0.10$)。Logistic 回归调整了年龄、性别、BMI、吸烟、嚼槟榔习惯等混杂因素后,CT 基因型携带者患 2 型糖尿病的风险是 TT 型的 1.83 倍 (OR = 1.83, 95% CI: 1.05~3.19, $P < 0.05$),CC 型的患病风险是 TT 型的 2.24 倍 (OR = 2.24, 95% CI: 1.01~4.97, $P < 0.05$)。C 型基因携带者 (CT 型/CC 型) 患 T2DM 的风险是非 C 型 (TT 型) 的 1.89 倍 (OR = 1.89, 95% CI: 1.01~3.57, $P < 0.05$,表 2)。

表 2 2 型糖尿病和 VEGF -460C/T 多态性的联系

基因型	β	P	OR	95% CI
CC 型	0.81	0.04	2.24	1.01 ~ 4.97
CT 型	0.60	0.03	1.83	1.05 ~ 3.19
TT 型	-	-	1	-
C 型 (CT/CC)	0.64	0.04	1.89	1.01 ~ 3.57
非 C 型 (TT)	-	-	1	-

调整了年龄、性别、吸烟、BMI、血压、HbA1c、总胆固醇

3. VEGF -460C/T 多态性与嚼槟榔习惯的交互作用:T2DM 组有嚼槟榔习惯者 54 例 (46.6%), 其中 CC/CT 型 37 例 (68.5%), TT 型 17 例 (31.5%); 无嚼槟榔习惯者 62 例 (35.4%), 其中 CC/CT 型 28 例 (45.2%), TT 型 34 例 (54.8%)。对照组有嚼槟榔习惯者 44 例 (24.4%), 其中 CC/CT 型 21 例 (47.7%), TT 型 23 例 (52.3%); 无嚼槟榔习惯者 136 例 (75.6%), 其中 CC/CT 型 27 例 (19.9%), TT 型 109 例 (80.1%)。采用 Logistic 回归分析了 VEGF -460C/T 多态性与嚼槟榔习惯的交互作用, 结果显示其相加交互作用差异有统计学意义, 相互作用指标 RERI = 30.24 (95% CI: 19.20 ~ 99.68), API = 0.99 (95% CI: 0.96 ~ 1.03)。CC/CT 型且有嚼槟榔习惯者患 T2DM 的风险是 TT 基因型且无嚼槟榔习惯者的 2.95 倍 (OR = 2.95, 95% CI: 1.50 ~ 5.81, 表 3)。

表 3 VEGF -460C/T 多态性与嚼槟榔习惯的交互作用

分类	β	P	OR	95% CI
CC 型/CT 型 + 有嚼槟榔习惯	1.08	0.01	2.95	1.50 ~ 5.81
CC 型/CT 型 + 无嚼槟榔习惯	-1.54	0.14	0.21	0.03 ~ 1.69
TT 型 + 有嚼槟榔习惯	-0.09	0.88	0.92	0.30 ~ 2.84
TT 型 + 无嚼槟榔习惯	-	-	1	-

调整了年龄、性别、吸烟、BMI、血压、HbA1c、总胆固醇

讨 论

血管内皮生长因子 (VEGF) 基因位于人染色体 6p21.3。文献报道, VEGF 多态性和子痫前期、子宫内膜异位症、急性心肌梗死的易感性有关^[5-7]。遗传因素在 T2DM 发病中有重要作用。黎族人群主要分布在海南东方、琼中、五指山等市县。海南儋州居民中 19% 有嚼槟榔的习惯^[8]。因此, 探讨海南黎族人群 VEGF 多态性及嚼槟榔习惯在 T2DM 中的作用具有重要的临床意义。

有报道高加索人群 VEGF 多态性和糖尿病血管病变有关, 而墨西哥人群中 VEGF 多态性和糖尿病视网膜病变无关^[9, 10]。因此, 不同地区、不同种族 VEGF 多态性和 T2DM 的关联有差异。本研究结果

显示海南黎族人群中 VEGF 多态性和 T2DM 有关, 携带 CC 型、CT 型较 TT 型罹患 T2DM 的风险更高, C 基因可能是黎族人群的易感基因。从遗传易感性角度筛查 T2DM 高危人群, 并针对性地早期预防是降低发病风险的有效手段。

Javed 等^[3]报道, 嚼槟榔习惯和 2 型糖尿病有关。本研究显示海南黎族 T2DM 患者中有嚼槟榔习惯者的比例高于非 T2DM 患者, 说明海南黎族人群的 T2DM 患病风险可能和嚼槟榔习惯有关。研究表明, 较大剂量的槟榔碱对肝脏具有明显的毒性作用, 部分可能和肝脏的 CYP2E1 (cytochrome P450 2E1) 有关^[11, 12]。因此, 笔者推测有长期食用槟榔者可能导致槟榔碱在体内积蓄较多, 影响了肝脏的糖异生功能, 加重肝脏胰岛素抵抗, 从而导致血糖升高。此外, 有嚼槟榔习惯者中男性的比例更高, 而男性较女性有更多不良生活习惯 (如吸烟、酗酒等), 间接导致 T2DM 发病风险增高。因此, 建议要像戒烟一样, 戒除长期嚼槟榔这种生活习惯, 可能有助于降低海南黎族人群 T2DM 的发病风险。

本研究进一步发现, VEGF -460C/T 多态性和长期嚼槟榔习惯在 2 型糖尿病发病中的存在交互作用, 其联合作用大于单独作用之和。其中携带 C 基因型且有嚼槟榔习惯者罹患 T2DM 的风险明显比非携带 C 基因型且无嚼槟榔习惯者高, 提示 VEGF -460C/T 基因多态性和长期嚼槟榔习惯对罹患 T2DM 风险具有协同效应。因此, 对这类人群更应该加强健康监控, 及早干预。

综上所述, 本研究发现海南黎族人群中 VEGF -460C/T 多态性和长期嚼槟榔习惯增加了罹患 2 型糖尿病的风险, 对筛查 T2DM 的高危人群具有一定指导价值。但是, 本研究未对 T2DM 患者的长期预后进行随访, 对 T2DM 远期转归及并发症的影响未明确。由于样本量相对较小, 且为横断面研究, 具有一定局限性, 今后需要开展多中心、大样本量、前瞻性研究予以进一步验证。

参考文献

- Wang L, Gao P, Zhang M, *et al.* Prevalence and ethnic pattern of diabetes and prediabetes in China in 2013 [J]. JAMA, 2017, 317 (24): 2515 - 2523
- Faust K, Vajkoczy P, Xi B, *et al.* The effects of deep brain stimulation of the subthalamic nucleus on vascular endothelial growth factor, brain - derived neurotrophic factor, and glial cell line - derived neurotrophic factor in a rat model of Parkinson's disease [J]. Stereotact Funct Neurosurg, 2020, 5: 1 - 11

(下转第 117 页)

betes: from mechanisms to therapeutic targets[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(1): 94–112

9 中华医学会内分泌学分会肥胖学组. 中国成人肥胖症防治专家共识[J]. *中国内分泌代谢杂志*, 2011, 27(9): 711–717

10 Hubbard TJ, Lawson–McLean A, Fearon KC. Nutritional predictors of postoperative outcome in pancreatic cancer[J]. *Br J Surg*, 2011, 987(7): 268–274

11 Piggott KD, Liu A, Monczka J, *et al*. Inadequate preoperative nutrition might be associated with acute kidney injury and greater illness severity postoperatively[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2018, 155(5): 2104–2109

12 Sun G, Li Y, Peng Y, *et al*. Impact of the preoperative prognostic nutritional index on postoperative and survival outcomes in colorectal cancer patients who underwent primary tumor resection: a systematic review and Meta–analysis[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2019, 34(4): 681–689

13 Sanz Paris A, Garcia JM, Gomez–Candela C, *et al*. Malnutrition prevalence in hospitalized elderly diabetic patients[J]. *Nutr Hosp*, 2013, 28(3): 592–599

14 Buzby GP, Mullen JL, Matthews DC, *et al*. Prognostic nutritional index in gastrointestinal surgery[J]. *Am J Surg*, 1980, 139(1): 160–167

15 Onodera T, Goseki N, Kosaki G. Prognostic nutritional index in gas-

trointestinal surgery of malnourished cancer patients[J]. *Nihon Geka Gakkai Zasshi*, 1984, 85(9): 1001–1005

16 Keskin M, Hayiroglu MI, Keskin T, *et al*. A novel and useful predictive indicator of prognosis in ST–segment elevation myocardial infarction, the prognostic nutritional index[J]. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2017, 27(5): 438–446

17 Lee SI, Ko KP, Choi CH, *et al*. Does the prognostic nutritional index have a predictive role in the outcomes of adult cardiac surgery? [J]. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2020, 160(1): 145–153

18 Correa–Rodriguez M, Pocovi–Gerardino G, Callejas–Rubio JL, *et al*. The prognostic nutritional index and nutritional risk index are associated with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Nutrients*, 2019, 11(3): 638

19 Sharma Y, Saxena S, Saxena A, *et al*. Interrelationship of elevated serum advanced glycation end–product levels and malnutrition (Subjective Global Assessment) scores with the severity of retinopathy in type II diabetes[J]. *Clin Nutr Espen*, 2015, 10(1): e42–e48

20 Fujioka S, Karashima K, Nishikawa N, *et al*. Optic disk manifestation in diabetic eyes with low serum albumin: late fluorescein staining and high blood flow velocities in the optic disk[J]. *Jpn J Ophthalmol*, 2004, 48(1): 59–64

(收稿日期: 2021–01–06)

(修回日期: 2021–03–10)

(上接第 102 页)

3 Javed F, Al–Hezaimi K, Warnakulasuriya S. Areca–nut chewing habit is a significant risk factor for metabolic syndrome: a systematic review[J]. *J Nutr Health Aging*, 2012, 16(5): 445–448

4 宋莎莎, 赖诗敏, 杨淑娟, 等. 受艾滋病影响的凉山州青少年抑郁症状影响因素及其交互作用分析[J]. *预防医学情报杂志*, 2021, 37(1): 96–103

5 周璐, 黄燕, 洪小苹, 等. 血管内皮细胞功能相关基因多态性与子痫前期的遗传易感性研究[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2019, 27(2): 139–141

6 谷杭芝, 张徐, 王光演, 等. 血管内皮生长因子基因多态性与子宫内膜异位症的相关性[J]. *温州医科大学学报*, 2020, 50(5): 391–394

7 常亚伟, 李赛, 琚绍坦. 血管内皮生长因子基因 936C/T 位点多态性与急性心肌梗死的关系[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2020, 12(2): 151–155

8 郑旭, 杨倩宇, 王少炎, 等. 儋州市居民咀嚼槟榔行为及口腔健

康状况调查分析[J]. *昆明医科大学学报*, 2015, 36(9): 102–105

9 Gala–Błądzińska A, Czech J, Braun M, *et al*. Association of 18bp insertion/deletion polymorphism, at –2549 position of VEGF gene, with diabetic vascular complications in type 2 diabetes mellitus[J]. *Adv Med Sci*, 2019, 64(1): 137–143

10 Gonzalez–Salinas R, Garcia–Gutierrez MC, Garcia–Aguirre G, *et al*. Evaluation of VEGF gene polymorphisms and proliferative diabetic retinopathy in Mexican population[J]. *Int J Ophthalmol*, 2017, 10(1): 135–139

11 孙莹, 于大海, 王涛, 等. 槟榔碱对口腔癌患者及小鼠肝脏功能影响的初步研究[J]. *口腔医学研究*, 2017, 33(6): 589–592

12 黄祥涛, 肖润梅, 王明凤, 等. 槟榔碱对大鼠肝脏 CYP2E1 的体内诱导作用[J]. *药学学报*, 2016, 51(1): 153–156

(收稿日期: 2021–01–04)

(修回日期: 2021–03–22)