

中国北方汉族 2 型糖尿病易感基因位点的定位

赵进英^① 王 姮^② 熊墨森^① 黄 薇^③ 左 瑾^① 陈 竺^③ 强伯勤^① 孙 琦^②
李玉秀^② 刘秋英^② 杜玮南^① 陈家伦^④ 丁 伟^④ 袁文涛^⑤ 赵 阳^③
徐红燕^⑥ 金 力^⑥ 方福德^{①*}

(^①中国医学科学院中国协和医科大学基础医学研究所, 国家人类基因组北方研究中心, 北京 100005; ^②中国医学科学院中国协和医科大学北京协和医院内分泌科, 北京 100730; ^③上海第二医科大学附属瑞金医院上海血液学研究所, 国家人类基因组南方研究中心, 上海 201203; ^④上海内分泌研究所, 上海 200025; ^⑤上海第二医科大学附属瑞金医院, 上海 200025; ^⑥复旦大学遗传研究所, 上海 200433. * 联系人, Email: fangfd@public3.bta.net.cn)

摘要 采用分布于人全基因组上的 358 对荧光标记的微卫星引物, 对收集自中国北方地区 32 个汉族 2 型糖尿病家系 DNA 进行全基因组扫描, 应用有关的软件对扫描所获的信息和图谱进行准确基因分型, 再经参数连锁分析、非参数多点分析以及患病同胞对分析, 初步确定在 1, 12, 18 和 20 号染色体上存在该病易感基因位点, 它们分别位于 D1S214, D1S207, D1S218, D1S235, D12S336, D18S61, D20S118 附近. 上述结果与来自不同地域及种族的相应结果相比较, 显示了 2 型糖尿病多基因参与的复杂性和异质性.

关键词 中国北方汉族 2 型糖尿病 易感基因位点

临床上通常将糖尿病分为两大类, 即 1 型糖尿病(胰岛素依赖性, IDDM)和 2 型糖尿病(非胰岛素依赖性, NIDDM), 后者占有糖尿病病例 90% 以上. 2 型糖尿病是遗传因素与环境因素相互作用所致. 目前由于其发病机理尚不清楚, 故尚无特效防治方法. 近年虽然已发现近 30 种与葡萄糖代谢及胰岛素信号传导等有关的候选基因与 2 型糖尿病发病可能有关, 但只有少数几个在特定的糖尿病类型(如早发型和母系遗传的耳聋型糖尿病)中呈现显著相关性. 2 型糖尿病属复杂性状疾病, 不同民族和地域在遗传和表型上均具有异质性. 因此, 定位、克隆和鉴定 2 型糖尿病易感基因, 对于阐明发病过程的遗传机理具有重要的科学意义. 有关 NIDDM 易感基因的定位工作自 90 年代以来, 文献陆续有所报道^[1~4], 我国在该领域尚属空白. 我们在国家重大项目资助下开展了中国汉族家系 2 型糖尿病易感基因位点的定位工作, 获得了阶段性成果.

1 材料与方法

(i) 主要试剂和仪器. 荧光标记微卫星引物试剂盒(fluorescent dye-labeled linkage mapping set)、内分子量标准、Matrix、分子量标准试剂盒、ABI 377DNA 自动测序仪、PCR 仪(9600 型)、96 孔板专门冷冻离心机、Genescan 2.1 或 3.0 软件、Genotyper 1.1 软件等均购自 PE 公司, Genehunter 分析软件购自 MIT 公司.

(ii) NIDDM 家系样本的采集和基因组 DNA 提取. 同前^[5].

(iii) NIDDM 家系微卫星标志的基因分型. 全基因组扫描和基因型分析等按前述方法^[5]进行.

(iv) 遗传连锁分析. 主要采取非参数分析法(NPL). 在 Unix 操作系统中运用 Genehunter 2.0 多基因疾病分析软件处理基因分型结果. 结果评价的标准: 采用 Z 值及 P 值相结合的综合评判方法. Z 值与最大 LOD 值(MLS)相平行.

2 结果

通过对 32 个北方地区 2 型糖尿病的汉族家系 1~22 号常染色体的全基因组扫描, 共有 296 个微卫星标志获得了基因型分析结果, 在此基础上采用多点连锁分析和患病同胞对分析法, 初步确定在 1, 12, 18, 20 号染色体上存在 2 型糖尿病易感基因位点(图 1).

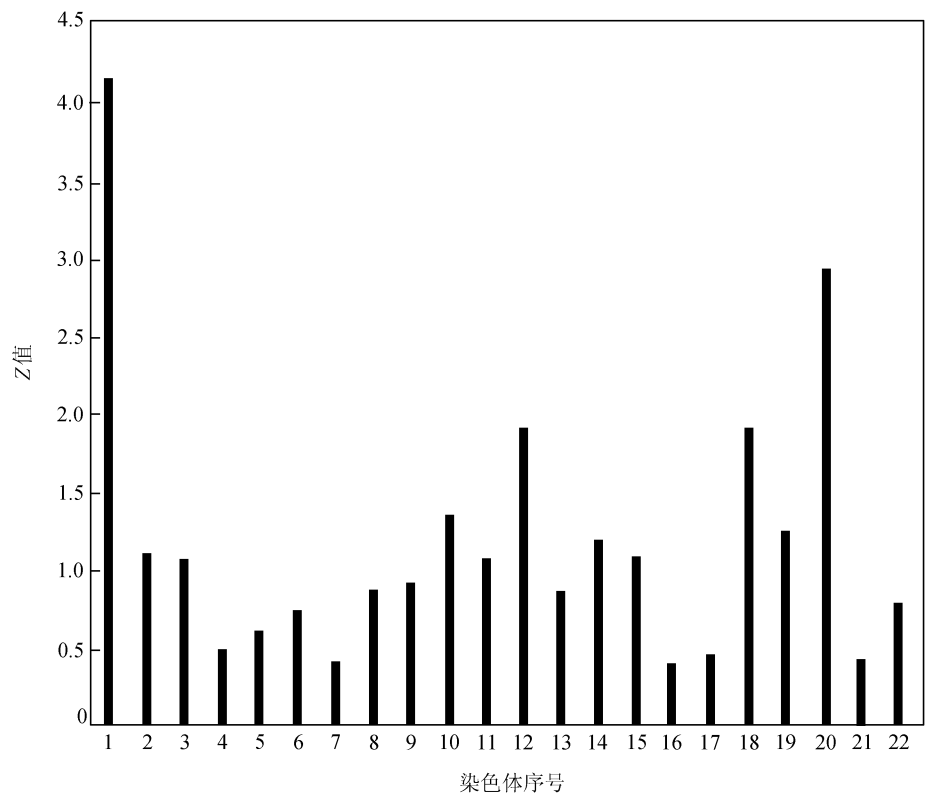


图 1 全基因组扫描 1~22 号染色体多点连锁分析最大 Z 值分布图

2.1 存在于第 1 号染色体的易感基因位点

初步结果表明, 我国北方汉族人群 2 型糖尿病易感基因位点分布于 1 号染色体的数量为最多, 它们分别位于 1P³⁶区域中 D1S214(距 P 末端 16.4 cM)附近, 其 $Z = 2.499$, $P = 0.001\ 8$; 1p³¹区域中 D1S207(距 P 末端 117.6 cM)附近, 其 $Z = 1.541$, $P = 0.035\ 5$; 1q²²区域中 D1S218 (距 P 末端 96.5 cM)附近, 其 $Z = 2.070$, $P = 0.008\ 5$, 以及 1q^{42~43}区域中 D1S235(距 P 末端 258.7 cM)附近, 其 $Z = 1.541$, $P = 0.035\ 6$.

2.2 存在于第 20 号染色体的易感基因位点

已发现 1 个易感基因位点位于 20P¹²区域中 D20S118(距 P 末端 39.3 cM)附近, 其 $Z = 2.899$, $P = 4.13 \times 10^{-4}$.

2.3 存在于第 12 号染色体的易感基因位点

已发现 1 个易感基因位点位于 12P¹²区域中 D12S336(距 P 末端 3.9 cM)附近, 其 $Z = 1.908$, $P = 0.014\ 2$.

2.4 存在于第 18 号染色体的易感基因位点

已发现 1 个易感基因位点位于 18q²³ 区域中 D18S61(距 P 末端 102.8 cM)附近, 其 $Z = 1.911$, $P = 0.0131$.

3 讨论

从现已报道的文献来看, 由于 2 型糖尿病发病过程的复杂性和异质性, 由不同人群所初步确定的易感基因位点呈现多样性(表 1).

表 1 不同民族中已被初步定位的 NIDDM 易感基因位点

位点	民族	文献
1q(D1S2127)	Pima 印第安人	[3]
1q ²¹⁻²³	Utah 高加索人, 中国汉族, Pima 印第安人	[6,7], 本文
1p ³⁶ (D1S214)	中国汉族	本文
1p ³¹ (D1S207)	中国汉族, Old Order Amish	本文
1q ^{42, 43}	中国汉族	本文, [8]
2q ³⁷ (D2S125)	美籍墨西哥人	[1]
7q(D7S1799)	Pima 印第安人	[1]
7p ^{13, 14} (MODY2)	法国人	[3]
10q(D10S587)	美籍墨西哥人	[9]
11q(D11S4464)	Pima 印第安人	[10]
12q(D12S1349)	芬兰人	[3]
12q ^{24,2} (MoDY3)	美国人	[11]
12p ¹² (D12S336)	中国汉族	[12]
13q ^{12,1} (MODY4)		本文
18q ²³ (D18S61)	中国汉族	[13]
20q(MODY1)		本文
20q(MODY1)		[14]
20q(D2S197)	芬兰人	[2]
20q	芬兰人	[4,11]
20p ¹² (D20S118)	中国汉族	本文
20p	芬兰人	[4]

如美籍墨西哥人群的位于 2q³⁷ 中 D2S125 附近^[1], 芬兰人群的位于 D12S1349 附近^[11], 20q 距 P 末端 57 cM 附近和 20P 距 P 末端 19.5 cM 附近^[4]; Pima 印第安人群的位于 11q, 1q 和 7q^[3]. 本文结果表明我国北方汉族人群的 2 型糖尿病易感基因位点在 1 号染色体上分布较多是其特点, 其中有的与其他民族人群相一致(如 1p³¹, 1q²² 区域)^[7, 8], 有的则不一样, 为我国北方汉族人群所特有. 1 号染色体上出现不同民族相同或高度一致的 2 型糖尿病易感基因位点, 相当于进行了互相验证, 可以认为在这些位点中确实存在 NIDDM 易感基因, 目前国外的一些大公司正在这些区域内克隆易感基因.

关于 20 号染色体及 12 号染色体上的 NIDDM 易感基因, 目前多数研究报道均集中在 20q, 12q MODY3 及 MODY1 基因周围^[2,4,11,15,16]. 最近, Ghosh 等人^[4] 报告, 20 号染色体短臂 19.5 cM 处(20p¹²)也包含芬兰人群 NIDDM 易感基因. 而我们发现的 20 号染色体上的汉族人 2 型糖尿病易感基因最可能的区域位于距 P 末端 39.3 cM 处(20p¹² 区, D20S118 附近), 其 $P = 4 \times 10^{-4}$,

MLS = 4.678 7, $Z = 2.899$, 符合 Lander 等人^[17]提出的“肯定连锁”标准。有意思的是, 我们还在 20 号染色体距 P 末端 20 cM 处发现了 NIDDM 的弱连锁证据(D20S115 标志附近, $P = 0.05$, $Z = 1.35$), 由于 D20S115 与 P 末端之间的遗传标志间隔尚较大(10 cM), 有必要加大样本量及标志密度, 对该区域进行进一步精细定位。

致谢 本工作为国家“九七三”计划和“八六三”计划资助项目(102-10-02-02, Z19-01-02-02)。

参 考 文 献

- 1 Hanis C L, Boerwinkle E, Chakraborty R, et al. A genome-wide search for human non-insulin-dependent (type 2) diabetes genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 2. *Nature Genet*, 1996, 13: 161~166
- 2 Ji L, Malecki M, Warram J H, et al. New susceptibility locus for NIDDM is localized to human chromosome 20q. *Diabetes*, 1997, 46: 876~881
- 3 Hanson R L, Ehm M G, Pettitt D J, et al. An autosomal genomic scan for loci linked to type 2 diabetes mellitus and body-mass index in Pima Indians. *Am J Hum Genet*, 1998, 63: 1130~1138
- 4 Ghosh S, Watanabe R M, Hauser E R, et al. Type 2 diabetes: Evidence for linkage on chromosome 20 in 716 finnish affected sib pairs. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96: 2 198~2 203
- 5 赵进英, 王 姮, 左 瑾, 等. 中国人 2 型糖尿病的基因分型和定位. *解剖学报*, 1999, 30: 292~298
- 6 Elbein S C, Hoffman M D, Teng K, et al. A genome-wide search for type 2 diabetes susceptibility genes in Utah Caucasians. *Diabetes*, 1997, 46: 1175~1182
- 7 Hanson R, The Pima diabetes genes group, Phoenix A Z. Genomic scan for markers linked to type 2 diabetes in Pima Indians. *Diabetes*, 1997, 46 (Suppl 1): 51A
- 8 Shuldiner A R, Hsueh W C, Aburomia R, et al. Genome-wide scan for type 2 diabetes susceptibility loci in the Old Order Amish. *Am J Hum Genet*, 1998, 12: A308
- 9 Vionnet N, Hani E H, Lesage S, et al. Genetics of NIDDM in France: studies with 19 candidate genes in affected sib pairs. *Diabetes*, 1997, 46: 1062~1068
- 10 Duggirala R, Blangero J, Almasy L, et al. Linkage of type 2 diabetes mellitus and of age at onset to a genetic location on chromosome 10q in Mexican Americans. *Am J Hum Genet*, 1999, 64: 1127~1140
- 11 Mahtani M M, Widen E, Lehto M, et al. Mapping of a gene for type 2 diabetes associated with an insulin secretion defect by a genome scan in Finnish families. *Nature Genet*, 1996, 14: 90~94
- 12 Yamagata K, Oda N, Kaisaki P J, et al. Mutation in the hepatocyte nuclear factor-1 alpha gene in maturity-onset diabetes of the young (MODY3). *Nature*, 1996, 384: 455~488
- 13 Inoue H, Riggs A C, Tanizawa Y, et al. Isolation characterization and chromosomal mapping of human insulin promoter factor 1 (IPE-1) gene. *Diabetes*, 1996, 45: 789~794
- 14 Bell G I, Xiang K S, Newman M V, et al. Gene for non-insulin-independent diabetes mellitus (maturity-onset diabetes of the young subtype) is link to DNA polymorphism on human chromosome 20q. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88: 1484~1488
- 15 Zouali H, Hani E H, Philippi A, et al. A susceptibility locus for early-onset non-insulin-dependent (type 2) diabetes mellitus maps to chromosome 20q, proximal to the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene. *Hum Mol Genet*, 1997, 6: 1401~1408
- 16 Shaw J T E, Lovelock P K, Kesting J B, et al. Novel susceptibility genes for late-onset NIDDM is localized to human chromosome 12q. *Diabetes*, 1998, 47: 1793~1796
- 17 Lander E, Kruglyak L. Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nature Genet*, 1995, 11: 241~247

(1999-12-23 收稿, 2000-03-17 收修改稿)