

## 老年糖尿病人群 ALDH2 基因型与颈动脉内-中膜厚度相关性研究

李国春<sup>1</sup>, 王 忆<sup>2</sup>, 龚丽娜<sup>3</sup>, 徐雪保<sup>1</sup>, 袁 辉<sup>1</sup>, 巫开文<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>南京市中心医院检验科, <sup>2</sup>心血管内科, <sup>3</sup>物理诊断科, 江苏 南京 210018)

**[摘要]** 目的:研究老年 2 型糖尿病患者(type 2 diabetic mellitus, T2DM)乙醛脱氢酶 2(aldehyde dehydrogenase 2, ALDH2)基因型与颈动脉内-中膜厚度(carotid intima-media thickness, CIMT)的相关性。方法:选取符合标准老年 T2DM 人群 60 例,检测 ALDH2 基因型及常规生化指标, B 超测量 CIMT, 按照 CIMT 是否  $\geq 0.1$  cm 将研究人群分为 CIMT 正常组及 CIMT 增厚组, 比较 2 组生化指标及 ALDH2 基因型分布差异;以 CIMT 是否增厚为因变量, ALDH2 基因型为自变量, 行单因素及多因素 Logistic 回归分析。结果:老年 T2DM 人群中 ALDH2 多态性基因型在 CIMT 增厚组中比例高于 CIMT 正常组(64.3% vs. 28.3%,  $P < 0.05$ ), Logistic 回归分析显示多态性基因型发生 CIMT 增厚的 OR 值在调整前后分别为 4.569 和 5.756。结论:ALDH2 多态性基因型与老年糖尿病人群 CIMT 增厚相关, 可能增加并发心脑血管疾病的风险。

**[关键词]** ALDH2 基因多态性; 2 型糖尿病; 颈动脉内-中膜厚度

**[中图分类号]** R587.1

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2017)10-1307-03

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20171017

我国老年人口增加, 预期寿命延长, 糖尿病、冠心病等老年人常见慢性病的经济负担加重<sup>[1]</sup>。乙醛脱氢酶 2(aldehyde dehydrogenase 2, ALDH2)有 3 种基因型: 野生型 Glu504Glu 及 2 种多态性基因型 Glu504Lys、Lys504Lys。研究发现多态性基因型与高血压、冠心病等多种慢性疾病相关<sup>[2]</sup>, 老年 2 型糖尿病(type 2 diabetes, T2DM)人群是心血管疾病高危人群, 本研究探讨老年 T2DM 人群中 ALDH2 基因型与颈动脉内-中膜厚度(carotid intima-media thickness, CIMT)的关系, 试分析 ALDH2 基因型与 T2DM 合并心血管疾病之间的关系。

### 1 对象和方法

#### 1.1 对象

选取 2015 年 4 月—2016 年 9 月本院住院的“基本健康”或“生活能自理”老年 T2DM 患者 60 例, 年龄 60~95 岁, 中位年龄 86 岁。住院期间使用胰岛素注射或口服药物控制血糖, 血糖控制良好。入选研究对象均未出现糖尿病并发症, 无明确冠心病史, 且无明确饮酒行为。

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 临床资料收集

详细询问病史, 收集年龄、性别、既往史、家族史、吸烟饮酒嗜好等临床资料。

##### 1.2.2 生化检查

所有研究对象至少空腹 8 h, 次日清晨空腹抽静脉血 5 mL, 自然凝固后, 3 000 r/min 离心 5 min, 制备血清, 检测肝肾功能等生化指标。

测定空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、尿素氮(blood urine nitrogen, BUN)、糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin A1c, HbA1c)。FBG 测定采用葡萄糖氧化酶法, TC、TG 检测方法为酶试剂法, HDL-C 采用免疫抑制直接法, LDL-C 选择计算法, ALT 采用连续检测法, BUN 采用酶偶联速率法, 试剂均购自德国 Diasys 公司, 使用日立 R7180 完成。HbA1c 采用微柱层析法, 试剂及仪器购自美国 Bio-Red 公司。

##### 1.2.3 ALDH2 基因型检测

研究对象空腹至少 8 h, 次日清晨空腹抽取 EDTA 抗凝血 3 mL, 检测 ALDH2 基因型。检测方法为微阵列芯片法, 试剂购自上海百傲科技。具体步骤如下。

采用吸附柱法提取样本 DNA。扩增管中加入 22  $\mu$ L ALDH2 扩增液(主要成分为  $< 0.001\%$  dATP、dGTP、dCTP、dTTP、dUTP 和  $< 0.001\%$  ALDH2 基因特异性引物, 0.1% TMS), 10  $\mu$ L *Taq* 酶和 UNG 酶, 再加入 2  $\mu$ L 样本 DNA 溶液混匀, 按下列条件进行

**[基金项目]** 南京市医学科技发展课题(YKK15225)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: wukaiwennjgh@126.com

PCR 扩增 50 °C 5 min→94 °C 5 min→94 °C 25 s, 60 °C 25 s, 72 °C 30 s, 35 个循环→72 °C 5 min。

使用 BaiO-Hyb 全自动杂交仪进行杂交显色。杂交显色后的基因芯片放入生物芯片识别仪中, 用 BaiO 基因芯片图像分析软件 V.2.0 进行图像扫描与数据分析, 野生型探针和突变型探针信号平均值比值 >0.3, 即认为该检测位点为杂合子, 比值 <0.3, 即认为该检测位点为信号值大的探针对应的纯合子。

#### 1.2.4 CIMT 检测

在颈总动脉分叉上方 1 cm 处测量颈内动脉和颈外动脉外侧的 CIMT, 颈总动脉分叉处近心端 2 cm 处测量颈总动脉外侧的 CIMT。每个点测量 3 次, 计算平均值, 以最大的 CIMT 代表颈动脉 CIMT。CIMT <0.1 cm 表示 CIMT 正常, CIMT ≥0.1 cm 为 CIMT 增厚<sup>[3]</sup>。B 超探头沿双侧颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉检查有无斑块形成。有斑块形成者, 认为 CIMT 增厚<sup>[3]</sup>。本研究人群 CIMT 检测由医院影像科执业医师操作, 在飞利浦 HDI2 超声仪上完成。

#### 1.3 统计学方法

数据收集、统计运算用 SPSS18.0 和 Excel 软件完成。连续变量用均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, *t* 检验分析组间差异; 分类变量用百分比表示, 卡方检验比较组间差异; 用 Logistic 回归进行多因素分析, 计算比值比 (odds ratio, OR) 和 95% 可信区间 (95% confidence interval, 95%CI)。P ≤ 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 临床特征

研究对象中 Glu504Glu、Glu504Lys 和 Lys504Lys 基因型的比例为 61.3%、35.5% 和 3.2%。CIMT 正常组及增厚组临床特征见表 1。CIMT 增厚组中 ALDH2 多态性基因型比例高于 CIMT 正常组 (64.3% vs. 28.3%, P < 0.05)。

### 2.2 影响 CIMT 的多因素分析

以 CIMT 是否 ≥0.1 cm 为因变量进行单因素和多因素二分类变量 Logistic 回归分析, 多因素回归分析调整因素为常规 CIMT 增厚高危因素, 包括年龄、性别、收缩压 (SBP)、舒张压 (DBP)、FBG、TG、TG、LDL-C、HDL-C (表 2)。Glu504Lys 和 Lys504Lys 基因型在调整前后均为 CIMT 增厚的危险因素。调整后携带 ALDH2 多态性基因型人群发生 CIMT 增厚的危险性较野生型增加 5.756 倍。

表 1 老年糖尿病人群不同 CIMT 临床特征

参数	CIMT < 0.1 cm (n=46)	CIMT ≥ 0.1 cm (n=14)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
年龄 (岁)	83.13±9.14	83.50±7.73	-0.137	0.892
男 (%)	50.0	57.1	0.219	0.640
SBP (mmHg)	137.71±14.48	139.43±13.07	-0.395	0.694
DBP (mmHg)	76.02±7.70	74.00±8.97	0.828	0.411
FBG (mmol/L)	6.24±1.79	5.85±1.49	0.743	0.461
TG (mmol/L)	2.20±5.84	1.16±0.52	0.663	0.510
TC (mmol/L)	3.76±1.11	3.63±0.89	0.398	0.692
HDL-C (mmol/L)	1.19±0.32	1.19±0.24	-0.026	0.979
LDL-C (mmol/L)	1.97±0.93	1.84±0.72	0.457	0.649
BUN (mmol/L)	19.70±12.67	13.50±7.86	1.725	0.900
ALT (U/L)	7.42±3.82	7.04±3.15	0.334	0.740
HbA1c (%)	6.67±0.75	6.65±1.12	0.056	0.956
HBP (%)	93.5	85.7	0.757	0.384
ALDH2 多态性 基因型 (%)	28.3	64.3	5.998	0.014

表 2 ALDH2 多态性基因型对 CIMT 的 Logistic 回归分析

参数	OR 值	95%CI	<i>P</i> 值
调整前	4.569	1.286~16.233	0.019
调整后*	5.756	1.282~25.848	0.022

\* 同时调整年龄、性别、SBP、DBP、FBG、TG、TG、LDL-C、HDL-C。

## 3 讨论

由于 ALDH2 基因外序列 504 位的 G-A 点突变, 导致发生了谷氨酸到赖氨酸的替换, 使 ALDH2 酶活性降低<sup>[4]</sup>。ALDH2 基因的 3 种基因型中, Glu504Lys 和 Lys504Lys 基因型的 ALDH2 活性分别是 Glu504Glu 的 50% 和 1%~4%, 在中国人群中 3 种基因分布比例约为 61%、32%、7%<sup>[5]</sup>。本研究 3 种基因比例为 61.3%、35.5% 和 3.2%, 与相关研究相似。由于我国人群中 ALDH2 基因多态性携带比例较高, 研究 ALDH2 多态性基因型与疾病的关系对疾病的防控有现实意义。

ALDH2 主要功能是氧化乙醛。ALDH2 酶活性降低导致个体无法正常代谢乙醇的氧化产物乙醛, 致使饮酒后体内乙醛堆积, 造成饮酒面红、眩晕等症状; 乙醛清除的下降, 还可造成相关消化道肿瘤的高发<sup>[6]</sup>。除了主要代谢乙醛以外, ALDH2 还能代谢短链脂肪醛、芳香环和多环醛, 对此类毒性醛类物质提供重要的保护作用; 另外, 体内氧化应激产生的丙二醛 (malonaldehyde, MDA)、四羟基壬烯醛 (4-hydroxy-2-nonenal, 4-HNE)<sup>[7]</sup> 及人体环境中摄入的丙烯

醛,ALDH2 都有代谢分解作用<sup>[8]</sup>。本研究选取无特殊饮酒嗜好人群,分析无饮酒行为干扰,即排除了短期内大量乙醇摄入产生乙醛的影响后,ALDH2 基因型与 CIMT 之间的关系。

本研究发现研究人群中 Glu504Lys 和 Lys504Lys 基因型发生 CIMT 增厚的风险是 Glu504Glu 基因型的 5.756 倍。ALDH2 多态性基因型与 CIMT 之间的关系可能与斑块形成时炎症反应相关。实验室研究发现 ALDH2 可抑制炎症反应,其机制可能是通过 MAPK 调节核因子(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)和活化蛋白(activator protein-1, AP-1)信号通道完成。在 ALDH2 过度表达组中,细胞间黏附分子 1(intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1)、白介素 6(interleukin-6, IL-6)、基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase-2, MMP2)、单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein-1, MCP1) 等炎症因子均下降,提示 ALDH2 多态性基因型人群可能由于 ALDH2 活性降低,体内醛类物质堆积造成炎症因子增加,而加速斑块的产生;其次 ALDH2 活性减低,还可能造成斑块中  $\alpha$  平滑肌细胞( $\alpha$ -smooth muscle cells,  $\alpha$ SMC)增加,增加斑块的不稳定性<sup>[9]</sup>。CIMT 是心血管疾病的强有力预测因子<sup>[10]</sup>,对脑血管意外也有预测作用。似乎说明 ALDH2 多态性基因型人群患心血管疾病风险可能增加,并且可能增加心血管意外风险。

有研究表明 ALDH2 多态性基因型与血脂紊乱相关<sup>[11]</sup>,ALDH2 多态性基因型人群的高血糖、高 TG、低 HDL 内环境<sup>[12]</sup>,可能是加速动脉斑块形成的原因。本研究并未发现 ALDH2 不同基因型之间血糖血脂的差异,可能和本研究人群年龄偏大,常规使用调整血脂药物有关。原发性高血压的 ALDH2 多态性基因型人群可能增加 CIMT 厚度<sup>[13]</sup>,本研究人群中高血压的高患病率可能增加 CIMT 增厚的风险。

重视老年 T2DM 人群 ALDH2 基因型在 CIMT 增厚中的作用,在老年 T2DM 人群中开展 ALDH2 基因型检查对于预防心脑血管并发症的有重要意义。

#### [参考文献]

[1] 刘 明,孙利华,刘国恩.中国城镇居民 5 种慢性疾病的经济负担和经济风险[J]. 北京大学学报(医学版),2014,46(5): 782-789

[2] Chen CH, Ferreira JC, Gross ER, et al. Targeting aldehyde dehydrogenase 2: a new therapeutic opportunities [J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(1): 1-3

[3] 中国医师协会超声医师分会. 血管超声检查指南[J]. 中华超声影像学杂志, 2009, 18(10): 911-919

[4] Farres J, Wang X, Takahashi K, et al. Effects of changing glutamate 487 to lysine in rat and human liver mitochondrial aldehyde dehydrogenase. A model to study human (Orientaltype) class 2 aldehyde dehydrogenase[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(19): 13854-13860

[5] Li H, Borinskaya S, Yoshimura K, et al. Refined geographic distribution of the oriental ALDH2\*504Lys (nee 487Lys) variant [J]. *Anna Hum Genet*, 2009, 73(3): 335-345

[6] Cai Q, Wu J, Cai Q, et al. Association between Glu504Lys polymorphism of ALDH2 gene and cancer risk: A meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2015, 10 (2): e0117173

[7] Chen CH, Sun L, Mochly-Rosen D. Mitochondrial aldehyde dehydrogenase and cardiac diseases[J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 88(1): 51-57

[8] Yoval-Sánchez B, Rodríguez-Zavala JS. Differences in susceptibility to inactivation of human aldehyde dehydrogenases by lipid peroxidation byproducts [J]. *Chem Res Toxicol*, 2012, 25(3): 722-729

[9] Pan C, Xing JH, Zhang C, et al. Aldehyde dehydrogenase 2 inhibits inflammatory response and regulates atherosclerotic plaque[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24): 35562-35574

[10] Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, et al. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis[J]. *Circulation*, 2007, 115(4): 459-467

[11] Yokoyama A, Yokoyama T, Matsui T, et al. Alcohol dehydrogenase-1B (rs1229984) and Aldehyde Dehydrogenase-2 (rs671) Genotypes Are Strong Determinants of the serum Triglyceride and Cholesterol Levels of Japanese Alcoholic Men [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0133460

[12] Nguyen KH, Lee JH, Nyomba BLG. Ethanol causes endoplasmic reticulum stress and impairment of insulin secretion in pancreatic  $\beta$ -cells[J]. *Alcohol*, 2012, 46(1): 89-99

[13] Ma XX, Zheng SZ, Shu Y, et al. Association between carotid intima-media thickness and aldehyde dehydrogenase 2 Glu504Lys polymorphism in Chinese Han with essential hypertension[J]. *chin J Med*, 2016, 129(12): 1413-1418

[收稿日期] 2016-12-19