

妊娠糖尿病患者胎盘 LPL 基因 Hind 片段多态性与新生儿发生胰岛素抵抗风险的相关性研究

丁洁^a, 何晓一^b, 刘彦君^b, 李静^a

(中国人民解放军联勤保障部队第九八七医院 a. 妇产科; b. 内分泌科, 陕西宝鸡 721000)

摘要:目的 研究妊娠糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 患者胎盘脂蛋白酯酶 (lipoprotein lipase, LPL) 基因 Hind 片段多态性与新生儿发生胰岛素抵抗 (insulin resistance, IR) 的关系。方法 收集 2018 年 4 月~2020 年 4 月 84 例 GDM 患者作为观察组, 另纳入同期 84 例健康孕妇作为对照组。比较两组孕妇 LPL 多态性分布, 比较两组新生儿血糖 (FPG, HbA1c 及 2h PG) 和血脂 (TC, TG, HDL-C 及 LDL-C) 指标水平, 计算胰岛素抵抗指数 (homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR) 值。分析胎盘 LPL 多态性与子代胰岛素抵抗的关系。结果 观察组 H+H+ 基因型 48 例, H+H- 基因型 24 例, H-H- 基因型 12 例。对照组 H+H+ 基因型 32 例, H+H- 基因型 38 例, H-H- 基因型 14 例, 两组孕妇胎盘 LPL 基因型分布比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.52, P<0.05$)。GDM 不同基因型患者所生新生儿 TC, TG, HDL-C, LDL-C 及 HOMA-IR 水平差异均有统计学意义 ($F=5.29\sim16.33$, 均 $P<0.05$)。多元逐步回归分析结果显示胎盘 LPL 多态性是新生儿 HOMA-IR 的重要影响因素 ($t=2.86, P<0.05$)。结论 胎盘 LPL 多态性与 GDM 发病有关, H+H+ 基因型产妇产子代发生胰岛素抵抗的风险更高。

关键词: 胎盘; 脂蛋白酯酶; 基因多态性; 妊娠糖尿病; 胰岛素抵抗

中图分类号: R714.256; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2021) 06-070-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.06.014

Relevance between Hind Fragment Polymorphism of Placental LPL Gene and the Risk of Neonatal Insulin Resistance in Patients with Gestational Diabetes Mellitus

DING Jie^a, HE Xiao-yi^b, LIU Yan-jun^b, LI Jing^a

(a. Department of Obstetrics and Gynecology; b. Department of Endocrinology, No. 987 Hospital of the Joint Service Support Force of the Chinese People's Liberation Army, Shaanxi Baoji 721000, China)

Abstract: Objective To study the relevance between Hind fragment polymorphism of placental lipoprotein lipase (LPL) gene and the risk of neonatal insulin resistance (IR) in patients with gestational diabetes mellitus (GDM). **Methods** 84 GDM patients from April 2018 to April 2020 were collected as observation group, 84 healthy pregnant women were selected as control group in addition. The distribution of LPL polymorphism was compared between the two groups, the levels of blood glucose (FPG, HbA1c and 2h PG) and blood lipids (TC, TG, HDL-C and LDL-C) were compared between the two groups, the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) were calculated. The relationship between placental LPL polymorphism and insulin resistance in offspring were analyzed. **Results** There were 48 cases of H+H+ genotype, 24 cases of H+H- genotype and 12 cases of H-H- genotype in the observation group. There were 32 cases of H+H+ genotype, 38 cases of H+H- genotype and 14 cases of H-H- genotype in the control group. There was significant difference in the distribution of LPL genotype between the two group ($\chi^2=6.52, P<0.05$). There were significant differences in TC, TG, HDL-C, LDL-C and HOMA-IR levels in newborns with different GDM genotypes ($F=5.29\sim16.33$, all $P<0.05$). The multiple stepwise regression analysis showed that placental LPL polymorphism was an important influencing factor of neonatal HOMA-IR ($t=2.86, P<0.05$). **Conclusion** The placental LPL polymorphism was associated with GDM, and the risk of insulin resistance in the offspring of H+H+ genotype was higher.

Keywords: placenta; lipoprotein esterase; gene polymorphism; gestational diabetes mellitus; insulin resistance

妊娠糖尿病 (gestational diabetes mellitus, GDM) 是妊娠期常见糖脂代谢紊乱疾病, 报道显示 GDM 发生率可超过 14%, GDM 不仅是巨大儿、早产等

不良妊娠结局的诱发因素, 更可能造成子代胰岛素抵抗^[1-2], 影响新生儿发育。脂蛋白酯酶 (lipoprotein lipase, LPL) 是由肌肉脂肪组织合成分泌的限速酶,

作者简介: 丁洁 (1978-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 妇科内分泌, E-mail: baojidingjie@163.com。

通讯作者: 何晓一 (1980-), 女, 本科, 主治医师, 研究方向: 内分泌糖尿病代谢, E-mail: 249248826@qq.com。

LPL 活化后能促进 TG 水解和 HDL-C 水平升高^[3]。MA 等^[4]报道显示 LPL 基因 Hind III 多态性与 2 型糖尿病发病进展相关, 动物实验则显示 LPL 基因 Hind 片段多态性可参与脂质代谢紊乱^[5]。因而, 推测胎盘 LPL 可能有助于判断脂质代谢紊乱和胰岛素抵抗风险。本研究纳入 84 例 GDM 与健康孕妇临床资料, 探讨胎盘 LPL 多态性表达的临床意义。报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 纳入 2018 年 4 月~2020 年 4 月 84 例 GDM 患者作为观察组, 孕妇年龄 29.65 ± 5.43 岁, 孕前体重指数 $21.57 \pm 1.66 \text{ kg/m}^2$; 孕周 38.75 ± 1.22 周; 分娩方式: 顺产 37 例, 剖宫产 47 例; 胎儿性别: 男性 42 例, 女性 42 例。另纳入同期 84 例健康孕妇作为对照组。孕妇年龄 28.19 ± 6.06 岁, 孕前体重指数 $22.01 \pm 1.71 \text{ kg/m}^2$; 孕周 39.01 ± 0.98 周; 分娩方式: 顺产 29 例, 剖宫产 55 例; 胎儿性别: 男性 36 例, 女性 48 例。两组产妇基本资料差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

纳入标准: ① GDM 诊断符合美国糖尿病学会推荐标准^[6]; ②患者临床资料完整; ③均为单胎妊娠。

排除标准: ①产妇并发遗传代谢性疾病者; ②肝肾功能严重不全者; ③产妇并发有原发性糖尿病者。

1.2 仪器和试剂 引物 (上海生工生物工程技术有限公司提供), Mix dNTP, 异戊醇试剂 (国药集团化学试剂有限公司), DNA 试剂盒 (艾美捷科技有限公司), KS48+ 型 PCR 扩增仪 (冠森生物科技有限公司), Tanon 1600 全自动数码凝胶图像分析系统 (原平皓生物技术有限公司), 西门子 ADVIA2400 型全自动血液生化分析仪。

1.3 方法 胎盘 LPL 多态性检测: ①胎盘组织获取: 在胎儿分娩后即刻于胎盘母体面取胎盘组织, 大小 $2.0 \text{ cm} \times 2.0 \text{ cm} \times 2.0 \text{ cm}$, 提取标本时注意避开出血和坏死区域, 用生理盐水洗净晾干, 冷冻备用。②总 DNA 提取和引物设计: 采用氯仿: 异戊醇 (24:1) 提取基因组 DNA, 保存备用。依据 Genbank 全序列数据, 利用 Primer Premier 5.0 设计引物: 上游: 5'-CTTGGTGAAAGCCCAGTAAC-3', 下游: 5'-TTTAGCCCAGAATGCTCAGG-3'。③ PCR 反应: PCR 反应体系 ($20 \mu\text{l}$), 包括 Mix dNTP $2.5 \mu\text{l}$, 基因组 DNA $0.6 \mu\text{l}$, 上下游引物各 $1.2 \mu\text{l}$, 核酸聚合酶 $1 \mu\text{l}$, 加双蒸水至 $20 \mu\text{l}$ 。扩增条件: 94°C 预变性 5min, 94°C 变性 2min, 58°C 退火 1min, 72°C 延伸 5min, 共 40 个循环。取 PCR 反应产物, 用 1.5 g/dl 琼脂糖凝胶电泳处理。④限

制性片段长度多态性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 法: 取 PCR 产物 $8 \mu\text{l}$, $10 \times$ Hind III 内切酶 $2 \mu\text{l}$, 加双蒸水至 $20 \mu\text{l}$, 37°C 消化 6h, 2.0 g/dl 琼脂糖凝胶电泳 1h 后染色, 采用凝胶成像系统分析记录酶切结果。

胎儿出生后对新生儿进行随访, 在新生儿出生后 4 周采集指尖血 3ml, 采用全自动血液分析仪检测空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG)、餐后 2h 血糖 (2-hour plasma glucose, 2h PG)、三酰甘油 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) 及低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 水平。

1.4 统计学分析 选用 SPSS 22.0 软件包对数据进行统计学分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间行重复测量的方差分析, 两两比较行 LSD-*t* 检验, 计数资料以 (%) 表示, 组间行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组孕妇胎盘 LPL 多态性结果比较 孕妇胎盘 LPL 多态性检测结果显示, 观察组中, H+H+ 基因型 48 例, H+H- 基因型 24 例, H-H- 基因型 12 例。对照组 H+H+ 基因型 32 例, H+H- 基因型 38 例, H-H- 基因型 14 例。两组孕妇胎盘 LPL 基因型分布比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2=6.52$, $P=0.04$)。

2.2 GDM 不同基因型患者糖脂代谢指标比较 见表 1。GDM 不同基因型患者所生新生儿 TC, TG, HDL-C, LDL-C 及 HOMA-IR 水平差异均有统计学意义 ($F=5.29 \sim 16.33$, 均 $P < 0.05$)。

2.3 影响 HOMA-IR 的多元逐步回归分析结果 见表 2。以 84 例 GDM 患者所生新生儿的 HOMA-IR 为因变量, 以新生儿 TC, TG, HDL-C, LDL-C 及 HOMA-IR 为自变量进行多元逐步回归分析, 结果显示胎盘 LPL 多态性是新生儿 HOMA-IR 的重要影响因素 ($t=2.86$, $P < 0.05$)。

3 讨论

报道证实 GDM 患者子代成年后 2 型糖尿病风险较正常孕妇的子代显著增加^[7], 而 GDM 发病机制复杂, 随着人类基因组计划的实施和完成, 有关 GDM 机制的研究已深入基因分子领域。GDM 基因易感性的问题逐渐成为关注焦点。庄丽颖等^[8]研究发现脂联素基因外显子 2 在 GDM 患者不同位点存在多态性表现, 国内一项报道则发现 GDM 患者人白细胞抗原 -B41 等位基因频率与健康正常孕妇水平差异有统计学意义^[9]。但因基因高度多态性、单倍型遗传等因素, 可能造成同一基因在不同地区、种族患者中表达差异显著^[10]。因而有关 GDM 易感

基因的研究尚需完善基因序列, 扩大样本量随访观察, 以深入探讨。

表1 GDM不同基因型患者糖脂代谢指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	H+H+ (n=48)	H+H- (n=24)	H-H- (n=12)	F值	P值
FPG (mmol/L)	5.41 ± 0.82	5.38 ± 0.86	5.34 ± 0.77	0.04	0.96
HbA1c (%)	6.53 ± 1.76	6.22 ± 1.60	5.67 ± 1.58	1.30	0.28
2h PG (mmol/L)	6.85 ± 1.02	6.75 ± 0.98	6.73 ± 0.93	0.12	0.89
TC (mmol/L)	6.43 ± 0.74	5.98 ± 0.79	5.26 ± 0.82	11.89	<0.01
TG (mmol/L)	3.36 ± 0.69	2.87 ± 0.66	2.19 ± 0.52	16.33	<0.01
HDL-C (mmol/L)	0.93 ± 0.24	1.21 ± 0.31	1.28 ± 0.29	13.39	<0.01
LDL-C (mmol/L)	3.42 ± 0.85	2.67 ± 0.74	2.55 ± 0.69	10.13	<0.01
HOMA-IR	2.26 ± 0.92	1.88 ± 0.83	1.39 ± 0.71	5.29	0.01

表2 影响HOMA-IR的多元逐步回归分析结果

项目	偏回归系数	标准误	标准偏回归系数	t值	P值
TC	1.08	0.45	0.47	0.52	0.41
TG	1.35	0.59	0.29	0.33	0.72
HDL-C	1.52	0.33	0.26	1.38	0.09
LDL-C	1.08	0.61	0.52	0.75	0.13
胎盘LPL多态性	1.75	0.49	0.32	2.86	0.01
常数项	-38.85	20.13		-1.77	0.06

LPL是由LPL基因编码的糖蛋白,与孕妇和胎儿脂质代谢密切相关。LPL通过水解乳糜微粒和低密度脂蛋白,促进脂蛋白的转化,增加母体和胎儿对脂肪酸利用率^[11]。朱文芳等^[12]还认为LPL的这种作用随孕周时间延长而逐渐增强。有关LPL在GDM子代并发症中的作用,临床也有相关报道。胎盘LPL表达异常可影响胎儿脂质的转运代谢过程,进而成为胎儿出生后脂质代谢紊乱的诱因^[13]。陈金斌等^[14]解释其机制可能是因活性增强后,使胎儿游离脂肪酸梯度水平相关增加,这直接促进了胰岛素细胞的增殖和胰岛素的分泌。而LPL水平异常,则可能造成脂质代谢紊乱和胰岛素敏感性降低。李阳雪等^[15]动物实验也说明敲除LPL基因可成为血脂代谢紊乱和胰岛素抵抗的重要原因。

但胎盘LPL基因型分布是否与GDM有关尚待研究,本研究发现GDM与健康孕妇胎盘LPL基因型分布差异显著,且胎盘LPL多态性是新生儿HOMA-IR的独立影响因素,提示LPL多态性不仅与GDM发病有关,还可能成为子代胰岛素抵抗的诱因,进而影响新生儿的生长发育。Hind III是LPL基因常见多态性位点,李丹丹等^[16]发现LPL Hind III多态性在不同种族人群中存在显著性差异,而李薪等^[17]的研究则说明对于LPL Hind III多态性分布可能是脂质代谢紊乱的影响因素。本研究还说

明胎盘LPL Hind III多态性可能影响GDM患者子代胰岛素抵抗,这可能与LPL Hind III多态性的连锁不平衡机制有关。PEACOCK等^[18]认为H+基因可引起LPL外显子结构突变,并造成LPL基因侧翼序列核苷酸异常改变,进而导致LPL活性降低,功能异常,影响脂质转运,增加胰岛素抵抗发生率。另外,胎盘LPL基因转录功能受损引起基因型变异也可能是其影响GDM患者子代胰岛素抵抗的原因^[19-20],但这还有待进一步研究证实。

综上,胎盘LPL多态性与GDM发病密切相关,胎盘LPL基因H+H+基因型患者子代发生胰岛素抵抗的风险更高。

参考文献:

- [1] 吴曼莉,赵敏,袁媛.妊娠期高血糖患者血浆同型半胱氨酸水平和脐动脉血流参数改变的相关性[J].现代检验医学杂志,2019,34(3):96-98,103.
WU Manli,ZHAO Min,YUAN Yuan. Correlation analysis of homocysteine and changes in umbilical arterial with color doppler ultrasound with gestational diabetes mellitus [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine,2019,34(3):96-98,103.
- [2] 刘然. 体质指数与血清C反应蛋白和糖化血红蛋白在妊娠期糖尿病诊断中的意义[J]. 现代检验医学杂志,2018,33(5):49-52.
LIU Ran. Diagnostic significance of BMI,serum CRP and HbA1c in gestational diabetes mellitus [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine,2018,33(5):49-52.
- [3] 张艳,刘翔,李鸿钊,等.血清脂蛋白磷脂酶A2和血浆抗凝血酶Ⅲ对2型糖尿病患者发生缺血性脑卒中风险的评估价值[J]. 现代检验医学杂志,2020,35(4):71-74.
ZHANG Yan,LIU Xiang,LI Hongchuan,et al. Evaluation value of serum lipoprotein-associated phospholipase A2 and plasma antithrombin Ⅲ on the risk of ischemic stroke in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine,2020,35(4):71-74.
- [4] MA Wenqi, WANG Ying, HAN Xiqiong, et al. Associations between LPL gene polymorphisms and

- coronary artery disease: evidence based on an updated and cumulative meta-analysis[J]. Bioscience Reports, 2018, 38(2): BSR20171642.
- [5] TAO Fang, WEINSTOCK J, VENNERS S A, et al. Associations of the ABCA1 and LPL gene polymorphisms with lipid levels in a hyperlipidemic population[J]. Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis, 2018, 24(5): 771-779.
- [6] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes-2012[J]. Diabetes Care, 2012, 35 (Suppl 1): S11-S63.
- [7] 陈霏, 王碧. 血清游离雌三醇和脂联素水平与妊娠糖尿病孕晚期发生胎儿窘迫的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(6): 101-104.
CHEN Fei, WANG Bi. Correlation research on serum levels of free estriol and adiponectin in fetal distress in late pregnancy of gestational diabetes mellitus [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(6): 101-104.
- [8] 庄丽颖, 钟伟传, 沈素晶, 等. 妊娠期糖尿病患者血清中 APN 表达及其基因 rs16861194A/G 位点多态性分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2020, 28(1): 16-18.
ZHUANG Liying, ZHONG Weichuan, SHEN Sujing, et al. Expression of APN in serum of patients with gestational diabetes mellitus and polymorphism analysis of APN gene locus rs16861194A/G [J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2020, 28(1): 16-18.
- [9] 唐坎凯, 梅丽娜. 人白细胞抗原 I 类分子在妊娠期高血压和子痫前期患者中的表达分析[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(12): 2318-2322.
TANG Kankai, MEI Lina. Expression of human leukocyte antigen class I molecules in patients with pregnancy induced hypertension and preeclampsia[J]. Maternal & Child Health Care of China, 2020, 35(12): 2318-2322.
- [10] 曹云, 周晓, 张晓艳, 等. 陕西省延安地区育龄女性 MTHFR 基因多态性和国内多地区相关报道比较分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(1): 62-66.
CAO Yun, ZHOU Xiao, ZHANG Xiaoyan, et al. Comparative analysis of MTHFR gene polymorphisms in women of childbearing age in Yan'an Area of Shaanxi province and related reports in many regions in China [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(1): 62-66.
- [11] 杨莉婷, 陈翠, 蒋兴亮. 2 型糖尿病患者血清残余胆固醇水平与超敏 C 反应蛋白表达的相关性研究[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(4): 45-49.
YANG Liting, CHEN Cui, JIANG Xingliang. Association between serum remnant cholesterol levels and expression of high sensitive C-reactive protein in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(4): 45-49.
- [12] 朱文芳, 沈建军, 韩双, 等. 血清 Lp-PLA₂, Hcy 及 CysC 联合检测在妊娠期高血压诊断中的临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(5): 55-58.
ZHU Wenfang, SHEN Jianjun, HAN Shuang, et al. Clinical significance of combined detection of serum Lp-PLA₂, Hcy and Cys C for the diagnosis of hypertensive disorder complicating pregnancy[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(5): 55-58.
- [13] SEGURA M T, DEMMELMAIR H, KRAUSS-ETSCHMANN S, et al. Maternal BMI and gestational diabetes alter placental lipid transporters and fatty acid composition[J]. Placenta, 2017, 57(9): 144-151.
- [14] 陈金斌, 孙敏, 桑苗苗, 等. 血清脂蛋白相关磷脂酶水平与胰岛素功能的相关性分析[J]. 医学临床研究, 2019, 36(10): 2055-2056.
CHEN Jinbin, SUN Min, SANG Miaomiao, et al. Correlation between serum lipoprotein associated phospholipase level and insulin function[J]. Journal of Clinical Research, 2019, 36(10): 2055-2056.
- [15] 李阳雪, 郑爽, 韩亭亭, 等. 脂蛋白脂酶基因敲除小鼠糖脂代谢研究及其胰岛素抵抗的机制探索[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2015, 31(2): 143-147.
LI Yangxue, ZHENG Shuang, HAN Tingting, et al. Glucolipid metabolism of lipoprotein lipase heterozygous mice and the mechanism of insulin resistance [J]. Chinese Journal of Endocrinology and Metabolism, 2015, 31(2): 143-147.
- [16] 李丹丹, 刘扬, 苏冬月, 等. 妊娠期糖尿病患者胎盘组织脂蛋白酶基因多态性与患者胰岛素抵抗的关系探讨[J]. 现代预防医学, 2018, 45(12): 2154-2157, 2194.
LI Dandan, LIU Yang, SU Dongyue, et al. Relationship between lipoprotein lipase Hind III polymorphism of tissues and insulin resistance in gestational diabetes mellitus [J]. Modern Preventive Medicine, 2018, 45(12): 2154-2157, 2194.
- [17] 李薪, 魏力强. 2 型糖尿病患者血清中脂蛋白相关磷脂酶 A2 检测的临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(6): 85-88.
LI Xin, WEI Liqiang. Clinical significance of detection of lipoprotein associated phospholipase A2 in serum of patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(6): 85-88.
- [18] PEACOCK R E, TEMPLE A, GUDNASON V, et al. Variation at the lipoprotein lipase and apolipoprotein AI-CIII gene loci are associated with fasting lipid and lipoprotein traits in a population sample from Iceland: interaction between genotype, gender, and smoking status[J]. Genetic Epidemiology, 1997, 14(3): 265-282.
- [19] 党珊, 杨飞, 吕宏军, 等. GIP 受体抑制剂对诱导的糖尿病小鼠糖脂代谢的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(5): 41-43, 47.
DANG Shan, YANG Fei, LÜ Hongjun, et al. Study on glycolipid metabolism of mice with diabetes induced by peptide receptor antagonist pro3(GIP) [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2017, 32(5): 41-43, 47.
- [20] 张阳东, 陈洁, 楚瑞雪, 等. 2 型糖尿病患者低密度脂蛋白水平及其受体基因表达水平研究[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(5): 97-99.
ZHANG Yangdong, CHEN Jie, CHU Ruixue, et al. Study on low-density lipoprotein levels and its receptor genes expression levels in type 2 diabetes mellitus patients [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2015, 30(5): 97-99.