

# NOS1AP 基因 rs12742393 位点多态性对瑞格列奈治疗我国汉族 2 型糖尿病患者疗效的影响<sup>Δ</sup>

王涛<sup>1\*</sup>, 鲁茜<sup>2</sup>, 高杏<sup>1</sup>, 李伟<sup>3</sup>, 吕冬梅<sup>1#</sup> (1. 徐州医科大学附属医院药学部, 江苏徐州 221002; 2. 江苏省新药研究与临床药学重点实验室, 江苏徐州 221004; 3. 徐州医科大学附属医院内分泌科, 江苏徐州 221002)

中图分类号 R969.3; R587.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)10-1347-06

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.10.13

**摘要** 目的: 探讨一氧化氮合酶 1 调节蛋白(NOS1AP)基因 rs12742393 位点多态性对瑞格列奈治疗我国汉族 2 型糖尿病患者(T2DM)患者疗效的影响。方法: 选取 2015 年 8 月—2017 年 3 月于徐州医科大学附属医院初诊为 T2DM 且未接受过任何降糖治疗的汉族患者 100 例, 在常规治疗的基础上加用瑞格列奈片 1.0 mg, tid, 连续治疗至少 8 周。采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性法检测患者 NOS1AP 基因 rs12742393 位点的基因型, 并观察其治疗前后空腹血糖(FPG)、餐后血糖(PPG)、糖化血红蛋白(HbA<sub>1c</sub>)、空腹胰岛素(FINS)、餐后胰岛素(PINS)、胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇水平。结果: 退出和失访的患者各有 1 例, 共有 98 例患者完成本研究。NOS1AP 基因 rs12742393 位点 AA、AC、CC 型患者分别有 39、42、17 例, 分布频率分别为 39.8%、42.9%、17.3%, 均符合 Hardy-Weinberg 平衡( $P > 0.05$ )。治疗 8 周后, 所有患者的 FPG、PPG、HbA<sub>1c</sub>、HOMA-IR、TC、TG 水平较治疗前显著下降, FINS、PINS 水平较治疗前显著升高, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。治疗前, 各基因型患者各项临床指标比较, 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。治疗后, 各基因型患者 FPG、PPG、HbA<sub>1c</sub> 水平, AA 型患者 HOMA-IR 水平, CC 型患者 TC 水平, AA、CC 型患者 TG 水平均较治疗前显著下降; 各基因型患者 PINS 水平, AC、CC 型患者 FINS 水平, CC 型患者 HOMA-IR 水平均较治疗前显著升高; CC 型患者 FPG、PPG 水平显著高于 AA、AC 型患者, 其较治疗前的下降值显著小于 AA、AC 型患者; AC 型患者 FPG 水平显著高于 AA 型; AC、CC 型患者 FINS 水平及较治疗前的上升值、HOMA-IR 水平均显著高于或大于 AA 型, 各基因型患者 HOMA-IR 较治疗前的变化值两两比较, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。而其余指标在治疗前后、组间比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论: NOS1AP 基因 rs12742393 位点多态性可能影响瑞格列奈治疗我国汉族 T2DM 患者的疗效, 其风险基因 C 可能通过影响患者的 FPG、PPG、FINS 和 HOMA-IR 水平来降低瑞格列奈的疗效。

**关键词** NOS1AP 基因; rs12742393 位点; 基因多态性; 2 型糖尿病; 汉族; 瑞格列奈; 疗效; 血糖; 血脂; 胰岛素

[3] 许超飞, 黄家宇, 郝阳, 等. HPLC 测定赤胫散中的 3, 3'-二甲基鞣花酸和 3, 3', 4'-三甲基鞣花酸[J]. 华西药学杂志, 2015, 30 (2): 230-231.

[4] 周贤霞, 黄家宇, 刘兰, 等. 赤胫散中总鞣质含量测定及提取工艺优化[J]. 贵州医科大学学报, 2017, 42 (6): 688-690.

[5] 向红, 王绪英, 孙爱群. 蓼属植物赤胫散乙醇提取物水溶液的抑菌作用[J]. 毕节师范高等专科学校学报, 2003, 21 (2): 65-68.

[6] 蔡泽贵, 梁光义, 周欣, 等. 贵州赤胫散挥发油化学成分及其抗菌活性研究[J]. 贵州大学学报(自然科学版), 2004, 21(4): 377-379.

[7] 杜连祥, 路福平. 微生物学实验技术[M]. 北京: 中国轻工出版社, 2006: 7-12.

[8] 梁硕, 杨志萍, 费振涛, 等. 罗汉果抑菌性能的研究[J]. 食品工业, 2016 (7): 207-209.

[9] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1989: 1340-1360.

[10] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 3 版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 1647-1662.

[11] 林海, 龚又明, 邓广海, 等. 黄柏及其炮制品水提物体内、外抑菌作用研究[J]. 中国药房, 2012, 23(31): 2900-2902.

[12] 华亚南, 陈辉, 张其中. 100 种中草药水提物体外抑杀无乳链球菌的药效研究[J]. 生态科学, 2015, 34 (3): 26-30.

[13] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 四部[S]. 2015 年版. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 160-164.

[14] 陶翠. 油樟叶提取物的抑菌、镇痛和抗炎活性及其作用机制研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2011.

[15] 胡志明. 3 种药用植物抗菌活性研究[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2012.

(收稿日期: 2017-10-31 修回日期: 2018-02-26)

(编辑: 段思怡)

## Effects of *NOS1AP* rs12742393 Polymorphism on Therapeutic Efficacy of Repaglinide in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus in Chinese Han Patients

WANG Tao<sup>1</sup>, LU Qian<sup>2</sup>, GAO Xing<sup>1</sup>, LI Wei<sup>3</sup>, LYU Dongmei<sup>1</sup> (1. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Jiangsu Xuzhou 221002, China; 2. Jiangsu Key Lab of New Drug Research and Clinical Pharmacy, Jiangsu Xuzhou 221004, China; 3. Dept. of Endocrinology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Jiangsu Xuzhou 221002, China)

**ABSTRACT** **OBJECTIVE:** To investigate the effects of *NOS1AP* rs12742393 polymorphism on therapeutic efficacy of repaglinide in the treatment of type 2 diabetes mellitus (T2DM) in Chinese Han patients. **METHODS:** A total of 100 newly-diagnosed T2DM Han patients without any hypoglycemic therapy were selected from the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University during Aug. 2015-Mar. 2017. Based on routine therapy, they were additionally given Repaglinide tablets 1.0 mg, tid, for consecutive 8 weeks at least. PCR-RFLP was used to detect the genotypes at *NOS1AP* rs12742393 in patients. The levels of FPG, PPG, HbA<sub>1c</sub>, FINS, PINS, HOMA-IR, TC, TG, HDL-C and LDL-C were observed before and after treatment. **RESULTS:** There were 1 case of withdrawal and 1 case of follow-up loss, and 98 patients accomplished the study. There were 39 cases of *NOS1AP* rs12742393 AA genotype, 42 cases of AC genotype and 17 cases of CC genotype, the frequency of them were 39.8%, 42.9%, 17.3%, which were in line with Hardy-Weinberg equilibrium ( $P>0.05$ ). After 8 weeks, the levels of FPG, PPG, HbA<sub>1c</sub>, HOMA-IR, TC and TG were decreased significantly, compared with before treatment; the levels of FINS and PINS were increased significantly, compared with before treatment, with statistical significance ( $P<0.05$ ). Before treatment, there was no statistical significance in each index among different genotypes ( $P>0.05$ ). After treatment, the levels of FPG, PPG and HbA<sub>1c</sub> in all genotypes, the level of HOMA-IR in AA genotypes, the level of TC in CC genotype, the level of TG in AA and CC genotype were decreased significantly; the level of PINS in all genotype, the level of FINS in AC and CC genotype and the level of HOMA-IR in CC genotype were increased significantly; the levels of FPG and PPG in CC genotype were significantly higher than AA and AC genotype, and the decrease of two indexes than before treatment were significantly less than AA and AC genotype; the level of FPG in AC genotype was significantly higher than AA genotype; the level and increase than before treatment of FINS, and the level of HOMA-IR in AC and CC genotype was significantly higher than AA genotype; there was statistical significance in the change than before treatment of HOMA-IR among all genotypes ( $P<0.05$ ). There was no statistical significance in other indexes among all groups before and after treatment ( $P>0.05$ ). **CONCLUSIONS:** *NOS1AP* rs12742393 polymorphism may influence therapeutic efficacy of repaglinide in the treatment of T2DM in Chinese Han patients, and risk gene C may weaken therapeutic efficacy of repaglinide by influencing the levels of FPG, PPG, FINS and HOMA-IR.

**KEYWORDS** *NOS1AP* gene; rs12742393; Gene polymorphism; Type 2 diabetes mellitus; Han population; Repaglinide; Therapeutic efficacy; Blood glucose; Blood lipid; Insulin

随着人们生活方式的转变,2型糖尿病(Type 2 diabetes mellitus, T2DM)的发病率迅速上升,已成为重要的公众健康问题<sup>[1]</sup>。T2DM的发病机制尚未完全明确,但学者普遍认为是环境与易感基因相互作用的结果<sup>[2]</sup>。饮食控制和运动虽有助于维持T2DM患者的血糖水平,但T2DM患者最终仍需接受药物治疗<sup>[3]</sup>。瑞格列奈是一种广泛用于治疗T2DM的口服降糖药物,其作用于胰岛B细胞,调节腺苷三磷酸(ATP)敏感的钾离子通道,影响钙离子内流,快速促进餐后胰岛素的释放<sup>[4]</sup>。近年来研究发现,瑞格列奈单药治疗T2DM的疗效及相关不良反应存在较大的个体差异,且一定程度上与基因相关的药物吸收、分布、代谢过程,作用靶点以及T2DM发病通路中相关基因的突变有关<sup>[5-6]</sup>,提示T2DM相关易感基因的多态性可能会影响瑞格列奈的疗效。

一氧化氮合成酶1调节蛋白(*NOS1AP*)又称为一氧化氮合酶羧基末端PDZ结合配体(CAPON),通过作用于神经一氧化氮合酶(*nNOS*)PDZ区来调节*nNOS*的活性<sup>[7]</sup>。*nNOS*可催化生成一氧化氮,后者在调节心血管功

能和葡萄糖代谢中具有重要作用,且胰岛B细胞的*nNOS*功能紊乱与胰岛素作用及分泌密切相关<sup>[8]</sup>。*NOS1AP*基因多态性与T2DM易感性的相关性已被证实,其中以rs12742393位点多态性与T2DM的关联性为最强<sup>[9]</sup>,但目前尚未见*NOS1AP*基因rs12742393位点多态性与瑞格列奈疗效相关性的报道。故本研究以我国汉族T2DM患者为对象,初步探讨了*NOS1AP*基因rs12742393位点多态性对瑞格列奈疗效的影响,为以基因为导向的个体化药物治疗提供遗传药理学依据。

### 1 资料与方法

#### 1.1 研究对象

纳入标准:①符合世界卫生组织糖尿病分型诊断标准<sup>[10]</sup>;②淮海地区汉族居民;③年龄25~70岁, BMI 18.5~30.0 kg/m<sup>2</sup>;④无胰岛素促泌剂使用史;⑤为细胞色素P<sub>450</sub>(*CYP*)2C8\*3 139Arg和有机阴离子转运体1B1(*OATP1B1*)521TT基因型。排除标准:①接受过胰岛素治疗的患者;②使用过*CYP2C8*、*CYP3A4*、*OATP1B1*酶激动剂或抑制剂(如克拉霉素、吉非贝齐、环孢霉素等)

的患者;③妊娠期或哺乳期妇女;④患有严重疾病(如急性心肌梗死、脑血管意外、严惩创伤和肝肾疾病)的患者。脱落标准:①发生不良反应且不能耐受者;②依从性差者;③主动退出本研究者;④缺乏疗效等相关临床资料者;⑤失访者。本研究方案经医院医学伦理委员会审核批准,所有受试者均知情同意并签署了知情同意书。

选取2015年8月—2017年3月于徐州医科大学附属医院内分泌门诊初次确诊为T2DM且未接受过任何降糖治疗的汉族患者100例,其中男性58例、女性42例,平均年龄为(47.84±12.15)岁,平均体质量指数(BMI)为(25.16±3.20)kg/m<sup>2</sup>。

## 1.2 治疗方法

所有患者在常规降压、调脂治疗的基础上,加用瑞格列奈片(德国Novo Nordisk A/S公司,注册证号:H20130023,批号:06406340D,规格:1.0 mg)1.0 mg, tid,于餐前15 min口服。所有患者均连续治疗至少8周,治疗期间饮食、运动习惯保持不变。

## 1.3 基因型检测与分析

采用树脂型基因组DNA提纯试剂盒(上海赛百盛基因技术有限公司)从患者外周血白细胞中提取DNA。采用聚合酶链反应-限制性片断长度多态性法(PCR-RFLP)、使用Applied Biosystems 2720型PCR仪(美国Thermal Cycler公司)检测患者NOS1AP基因rs12742393位点的基因型。PCR引物由生工生物工程(上海)有限公司设计合成(上游引物:5'-GGTGAATGCTGTACAAAGGAGAAGG-3',下游引物:5'-CAAACGTGAAATGGACCACAAAGAG-3')。PCR反应体系(25 μL)包括DNA模板2.5 μL,10×Buffer 2.0 μL(含MgCl<sub>2</sub> 10 mmol/L),dNTP 1.0 μL(10 mmol/L),上、下游引物各0.5 μL(10 μmol/L),Easy Taq DNA聚合酶0.25 μL(5 U/μL),灭菌双蒸水18.25 μL。PCR反应条件:94℃预变性5 min,94℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸30 s,共32个循环;72℃再延伸8 min。扩增产物经Bsr I酶酶切,酶切反应体系(20 μL)包括Bsr I内切酶0.5 μL(10 U/μL)、Buffer 2.0 μL、PCR产物10.0 μL、灭菌双蒸水7.5 μL。于65℃下消化4 h后,酶切产物经2.0%琼脂糖凝胶进行电泳分离,使用Tanon-1600R型凝胶成像系统(上海天能科技有限公司)对电泳结果进行分析。

## 1.4 观察指标

检测患者的糖脂代谢和胰岛素相关指标。①采用葡萄糖氧化酶法以Cobas 8000型全自动生化分析仪(瑞士罗氏公司)测定空腹血糖(FPG)和餐后血糖(PPG)水平;采用离子交换高效液相色谱法以HLC-723 G8型全自动糖化血红蛋白分析仪(日本东曹株式会社)测定糖化血红蛋白(HbA<sub>1c</sub>)水平。②采用电化学发光法以Cobas 6000型全自动生化分析仪(瑞士罗氏公司)测定血浆胰岛素[空腹胰岛素(FINS)、餐后胰岛素(PINS)]水平;采用稳态模式评估法<sup>[11]</sup>计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR),HOMA-IR(mU·mmol/L<sup>2</sup>)=

FPG(mmol/L)×FINS(mU/L)/22.5。③采用比色法以Microlab 300型半自动生化分析仪(荷兰威图科学公司)测定血浆总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平。

## 1.5 统计学方法

采用SPSS 13.0软件对数据进行统计分析。计数资料以例数和率表示,组间比较及基因型分布是否符合Hardy-Weinberg平衡均采用χ<sup>2</sup>检验。正态性检验采用Shapiro-Wilk检验,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用配对t检验;不符合正态分布的计量资料以M(P25, P75)表示,多组间比较采用Kruskal-Wallis H检验,两组间比较采用Wilcoxon符号秩检验。P<0.05为差异有统计学意义。

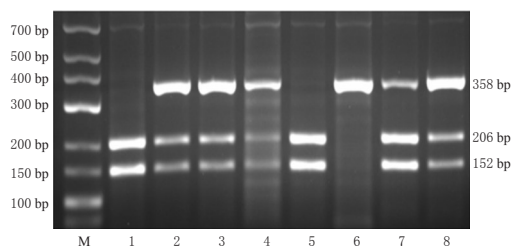
## 2 结果

### 2.1 脱落情况

100例T2DM患者中有1例主动退出、1例失访,共有98例完成了本研究。

### 2.2 NOS1AP基因rs12742393位点的基因型检测结果及分布频率

按“1.3”项下条件进行PCR扩增后,得长度为358 bp的扩增产物。该产物经Bsr I酶酶切后,共检出AA(野生)型、AC(杂合子)型、CC(突变纯合子)型3种基因型,其中AA型表现为152、206 bp 2个条带,AC型表现为152、206、358 bp 3个条带,CC型表现为358 bp 1个条带,详见图1。98例患者中,AA、AC、CC型患者各39、42、17例,分布频率分别为39.8%、42.9%、17.3%;A、C等位基因分布频率分别为61.2%和38.8%。各基因型分布频率均符合Hardy-Weinberg平衡(P>0.05)。



注:M为DNA marker;1、5为AA型;2、3、4、7、8为AC型  
Note: M was DNA marker; 1, 5 were AA genotype; 2, 3, 4, 7, 8 were AC genotype; 6 was CC genotype

图1 NOS1AP基因扩增产物经酶切后的电泳图

Fig 1 Electropherogram of amplified products of NOS1AP gene after enzyme digestion

### 2.3 治疗前后T2DM患者各项临床指标比较

98例T2DM患者接受瑞格列奈连续治疗8周后,其FPG、PPG、HbA<sub>1c</sub>、HOMA-IR、TC、TG水平较治疗前均显著下降,FINS、PINS水平较治疗前均显著升高,差异均有统计学意义(P<0.05);而治疗前后患者HDL-C、LDL-C水平比较,差异均无统计学意义(P>0.05),详见表1。

表1 98例T2DM患者治疗前后各项临床指标比较(n=98)

Tab 1 Comparison of clinical indexes in 98 patients with T2DM before and after treatment (n=98)

时期	FPG( $\bar{x}\pm s$ ), mmol/L	PPG( $\bar{x}\pm s$ ), mmol/L	HbA <sub>1c</sub> ( $\bar{x}\pm s$ ), %	FINS[M(P25,P75)], mU/L	PINS[M(P25,P75)], mU/L	HOMA-IR[M(P25,P75)], mU·mmol/L <sup>2</sup>	TC( $\bar{x}\pm s$ ), mmol/L	TG[M(P25,P75)], mmol/L	HDL-C( $\bar{x}\pm s$ ), mmol/L	LDL-C( $\bar{x}\pm s$ ), mmol/L
治疗前	10.21±2.26	17.20±3.91	9.59±1.86	8.01(6.00,10.56)	27.47(17.97,37.41)	3.60(2.50,4.53)	5.18±1.37	1.78(1.22,2.84)	1.40±0.44	3.10±1.08
治疗后	7.30±1.76	11.38±3.36	7.01±0.84	10.26(7.55,13.40)	43.34(29.80,51.43)	3.30(2.16,4.66)	4.83±1.06	1.56(1.01,2.39)	1.37±0.45	3.16±1.08
t/T	12.639	15.012	16.874	-5.359	-11.198	2.223	2.714	2.212	0.422	-0.508
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.029	0.008	0.029	0.674	0.613

2.4 NOS1AP基因rs12742393位点多态性对瑞格列奈疗效的影响

3种基因型患者的性别、年龄、BMI、腰臀比等一般资料比较,差异均无统计学意义(P>0.05),具有可比性。治疗前,AA、AC、CC型患者各项临床指标比较,差异均无统计学意义(P>0.05)。治疗后,各基因型患者FPG、PPG、HbA<sub>1c</sub>水平,AA型患者HOMA-IR水平,CC型患者TC水平,AA、CC型患者TG水平均较治疗前显著下降;各基因型患者PINS水平,AC、CC型患者FINS

水平,CC型患者HOMA-IR水平均较治疗前显著升高;CC型患者FPG、PPG水平显著高于AA、AC型患者,其较治疗前的下降值显著小于AA、AC型患者;AC型患者FPG水平显著高于AA型;AC、CC型患者FINS水平及较治疗前的上升值、HOMA-IR水平均显著高于或大于AA型,各基因型患者HOMA-IR较治疗前的变化值两两比较,差异均有统计学意义(P<0.05)。而其余指标在治疗前后、组间比较差异均无统计学意义(P>0.05),详见表2~表4。

表2 各基因型T2DM患者治疗前后血糖水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Tab 2 Comparison of blood glucose levels among T2DM patients with different genotypes before and after treatment( $\bar{x}\pm s$ )

基因型	n	FPG, mmol/L			PPG, mmol/L			HbA <sub>1c</sub> , %		
		治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值
AA型	39	9.99±2.39	6.50±1.27*	-3.49±2.37	17.24±4.03	10.45±3.23*	-6.80±4.10	9.72±1.79	7.01±0.74*	-2.71±1.49
AC型	42	10.45±2.22	7.30±1.50**	-3.15±2.23	17.23±3.50	11.34±2.85*	-5.89±3.61	9.55±1.78	7.07±1.01*	-2.48±1.31
CC型	17	10.10±2.01	9.09±2.05** <sup>Δ</sup>	-1.01±0.85 <sup>Δ</sup>	17.04±4.58	13.61±3.92** <sup>Δ</sup>	-3.44±2.80 <sup>Δ</sup>	9.38±2.27	6.85±0.61*	-2.51±2.03
F/H		0.986	29.056	29.313	0.373	5.446	11.352	1.935	0.432	0.251
P		0.611	<0.001	<0.001	0.830	0.006	0.003	0.488	0.650	0.778

注:与治疗前比较,\*P<0.05;与AA型比较,#P<0.05;与AC型比较,ΔP<0.05

Note: vs. before treatment,\*P<0.05; vs. AA genotype,#P<0.05; vs. AC genotype,ΔP<0.05

表3 各基因型T2DM患者治疗前后胰岛素水平比较[M(P25,P75)]

Tab 3 Comparison of insulin levels among T2DM patients with different genotypes before and after treatment [M(P25,P75)]

基因型	n	FINS, mU/L			PINS, mU/L			HOMA-IR, mU·mmol/L <sup>2</sup>		
		治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值
AA型	39	8.75(5.90,11.43)	8.68(6.84,10.81)	0.60(-2.31,2.05)	27.76(19.73,35.16)	44.38(27.00,47.21)*	12.79(3.95,20.29)	3.41(2.49,4.51)	2.67(1.71,3.39)*	-0.93(-1.69,-0.17)
AC型	42	7.82(5.98,9.91)	12.04(7.86,17.59)**	2.85(1.77,5.39) <sup>#</sup>	27.83(16.35,42.71)	45.06(30.65,57.55)*	16.68(6.02,27.29)	3.73(2.43,4.99)	3.66(2.65,5.08) <sup>#</sup>	0.19(-0.36,0.54) <sup>#</sup>
CC型	17	8.30(5.93,9.89)	11.10(9.23,13.57)**	3.33(1.36,5.25) <sup>#</sup>	26.10(16.11,32.61)	41.10(32.73,46.58)*	15.90(7.67,18.19)	3.55(2.50,4.13)	4.47(3.28,5.51)**	0.89(-0.36,0.54) <sup>Δ</sup>
F/H		0.081	2.973	15.562	0.636	1.099	1.973	0.186	10.087	30.878
P		0.922	0.056	<0.001	0.728	0.577	0.373	0.831	<0.001	<0.001

注:与治疗前比较,\*P<0.05;与AA型比较,#P<0.05;与AC型比较,ΔP<0.05

Note: vs. before treatment,\*P<0.05; vs. AA genotype,#P<0.05; vs. AC genotype,ΔP<0.05

表4 各基因型T2DM患者治疗前后血脂水平比较

Tab 4 Comparison of blood lipid levels among T2DM patients with different genotypes before and after treatment

基因型	n	TC( $\bar{x}\pm s$ ), mmol/L			TG[M(P25,P75)], mmol/L			HDL-C( $\bar{x}\pm s$ ), mmol/L			LDL-C( $\bar{x}\pm s$ ), mmol/L		
		治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值	治疗前	治疗后	差值
AA	39	5.06±0.97	4.93±0.91	-0.13±0.88	1.86(1.21,2.48)	1.68(1.15,2.41)*	-0.27(-0.84,0.20)	1.37±0.42	1.42±0.48	0.05±0.56	3.10±0.81	3.25±0.93	0.15±0.92
AC	42	5.26±1.82	4.87±1.17	-0.39±1.61	1.78(1.28,3.05)	1.75(1.06,2.49)	-0.47(-1.07,0.30)	1.41±0.50	1.34±0.42	-0.07±0.66	3.04±1.32	3.15±1.21	0.11±1.35
CC	17	5.28±0.79	4.51±1.09*	-0.77±1.12	1.56(0.83,2.73)	1.04(0.92,1.56)*	-0.29(-1.23,0.02)	1.44±0.31	1.36±0.50	-0.08±0.59	3.25±0.97	2.98±1.12	-0.27±1.22
F/H		1.610	1.220	3.434	2.054	2.354	0.812	0.817	0.370	1.993	2.092	0.368	0.836
P		0.447	0.300	0.180	0.558	0.101	0.666	0.665	0.692	0.369	0.351	0.693	0.437

注:与治疗前比较,\*P<0.05

Note: vs. before treatment,\*P<0.05

### 3 讨论

*NOS1AP* 基因位于染色体 1q23.3, 长度约 299 kb, 编码 *NOS1AP* 蛋白, 后者与线粒体和细胞质中的 nNOS 结合, nNOS 通过抑制钙离子内流来调节细胞内钙离子浓度和胰岛素释放<sup>[8-9]</sup>。有研究指出, 中枢神经系统的一氧化氮合酶(NOS)受到抑制后, 可造成胰岛素抵抗和胰岛素分泌缺陷, 从而引发高血糖<sup>[9]</sup>。Hu C 等<sup>[9]</sup>以我国汉族人群为研究对象, 发现其 *NOS1AP* 基因 rs12742393 位点多态性与 T2DM 易感性最为相关, 该位点位于 *NOS1AP* 基因内含子 2 区域, 突变类型为 A/C, 风险基因为 C。现有文献以 *NOS1AP* 基因 rs12742393 位点多态性与精神分裂症的相关性研究居多, 其机制可能与该位点突变后影响转录因子结合和 *NOS1AP* 基因表达相关<sup>[12]</sup>。有研究显示, *NOS1AP* 基因突变可影响磺脲类和格列奈类药物的疗效<sup>[9]</sup>。一项以上海市汉族人群为对象的研究发现, *NOS1AP* 基因 rs10494366 位点碱基突变可影响瑞格列奈的疗效, 其中 *NOS1AP* 基因 rs10494366 位点 TG 和 GG 型患者的病死率更低<sup>[13-14]</sup>。然而, 另一项以韩国人群为对象的研究结果则显示, *NOS1AP* 基因 rs10494366 位点多态性与格列美脲的疗效无关<sup>[15]</sup>。目前虽未见 *NOS1AP* 基因 rs12742393 位点多态性对瑞格列奈疗效影响的相关报道, 但 *NOS1AP* 基因 rs12742393 位点多态性可直接或间接影响胰岛 B 细胞功能或胰岛素分泌<sup>[8]</sup>, 而瑞格列奈可促进胰岛 B 细胞释放胰岛素, 故探讨 *NOS1AP* 基因 rs12742393 位点多态性与瑞格列奈疗效的相关性具有一定的临床意义。

瑞格列奈在体内经过 *OATP1B1* 转运至肝细胞, 通过肝脏 *CYP2C8* 和 *CYP3A4* 酶代谢为无活性的产物<sup>[16-17]</sup>。因此, *OATP1B1*、*CYP3A4*、*CYP2C8* 基因突变可能会影响瑞格列奈的体内代谢过程<sup>[17-18]</sup>。其中, *OATP1B1* 521T>C 位点的突变可抑制 *OATP1B1* 的转运活性, 从而导致瑞格列奈血药浓度的升高<sup>[18]</sup>; *CYP2C8*\*3 多态性可影响瑞格列奈的药动学和药效学特征<sup>[17]</sup>。因此, 本研究选择了具有相同 *OATP1B1*、*CYP2C8*\*3 基因型(野生型)的患者作为研究对象, 以排除相关基因多态性对药物代谢的影响。由于 *CYP3A4* 存在多个突变位点, 其中大部分位点在我国汉族人群中的突变频率较低<sup>[19]</sup>, 故本研究暂未考虑 *CYP3A4* 基因多态性的影响。

本研究结果显示, 治疗后各基因型患者 FPG、PPG、HbA<sub>1c</sub> 水平, CC 型患者 TC 水平, AA、CC 型患者 TG 水平均较治疗前显著下降; 各基因型患者 PINS 水平, AC、CC 型患者 FINS 水平均较治疗前显著升高; CC 型患者 FPG、PPG 水平显著高于 AA、AC 型患者, 其较治疗前的下降值显著小于 AA、AC 型患者; AC 型患者 FPG 水平显著高于 AA 型; AC、CC 型患者 FINS 水平及较治疗前的上升值均显著高于或大于 AA 型, 差异均有统计学意

义。这提示经瑞格列奈治疗后, 携带风险基因 C 的 T2DM 患者的 FPG、PPG 和 FINS 水平显著高于 AA(野生)型患者, 从一定程度上揭示了 *NOS1AP* 基因 rs12742393 位点多态性与瑞格列奈疗效的相关性。此外, 治疗后 CC 型患者体内 TC、TG 水平也较治疗前显著下降, 但各基因型患者之间血脂水平差异不大, 提示 *NOS1AP* 基因 rs12742393 位点多态性可能与瑞格列奈的调脂作用无关。

患者体内长期的高血糖水平可加重胰岛素抵抗, 胰岛 B 细胞会代偿性分泌大量胰岛素使血糖维持在正常范围内, 故临床上常用 HOMA-IR 来评估 T2DM 患者的胰岛素抵抗水平<sup>[11]</sup>。本研究结果显示, AA 型患者 HOMA-IR 水平较治疗前显著降低, CC 型患者该指标则较治疗前显著升高, 且 AC、CC 型患者该指标显著高于 AA 型, 各基因型患者 HOMA-IR 较治疗前的变化值两两比较差异显著, 提示 T2DM 患者携带风险基因 C 越多, 其 HOMA-IR 水平越高。其中, CC 型患者胰岛素抵抗水平最高, 其胰岛素敏感性明显下降, 需要释放更多的胰岛素来维持正常的血糖水平。有动物研究表明, 敲除小鼠 nNOS 相关编码基因可诱导其发生胰岛素抵抗<sup>[20]</sup>; 同时, 胰岛 B 细胞 nNOS 功能紊乱与胰岛素抵抗及胰岛素分泌有关<sup>[21-22]</sup>。由此推测, *NOS1AP* 基因 rs12742393 位点风险基因 C 可影响瑞格列奈治疗 T2DM 的疗效, 且可能与胰岛素抵抗有关。

综上所述, *NOS1AP* 基因 rs12742393 位点多态性可影响瑞格列奈治疗我国 T2DM 患者的疗效, *NOS1AP* 基因 rs12742393 位点风险基因 C 可通过影响患者 FPG、PPG、FINS 和 HOMA-IR 水平来降低瑞格列奈的疗效。这一结论可为该药的临床应用提供一定的参考。但本研究尚存在以下不足之处: (1) 仅研究了与 T2DM 相关性明显的 *NOS1AP* 基因 rs12742393 位点, 而其他与之处于连锁不平衡中的重要单核苷酸多态性有可能被忽略; (2) 考虑到患者的依从性及回访率, 入组患者连续接受瑞格列奈治疗至少 8 周, 虽在该时间段内可观察到相关临床指标的明显变化, 但观察 HbA<sub>1c</sub> 下降最理想的时间是在治疗后 12 周<sup>[23]</sup>; (3) 样本量不够大, 可能会造成一定偏倚。因此, 本研究将继续扩大样本量, 并进一步对基因多态性与药物相互作用的机制进行研究, 更深入地阐明降糖药物疗效的遗传药理学决定因素。

### 参考文献

- [1] YANG L, SHAO J, BIAN Y, et al. Prevalence of type 2 diabetes mellitus among inland residents in China: 2000-2014: a meta-analysis[J]. *J Diabetes Investig*, 2016, 7(6):845-852.
- [2] THOMSEN SK, GLOYN AL. Human genetics as a model for target validation: finding new therapies for diabetes [J]. *Diabetologia*, 2017, 60(6):960-970.

- [ 3 ] GALLWITZ B. Type 2 diabetes: criteria for the selection of the antidiabetic drug[J]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2016, 141(4):285-288.
- [ 4 ] JIANG DQ, LI MX, WANG Y. Comments on “comparison of repaglinide and metformin versus metformin alone for type 2 diabetes: a meta-analysis of randomized controlled trials”[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2015, 108(1): e1-e2.
- [ 5 ] MOHLKE KL, BOEHNKE M. Recent advances in understanding the genetic architecture of type 2 diabetes[J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(R1):R85-R92.
- [ 6 ] SONG JF, WANG T, ZHU J, et al. PPAR $\delta$  rs2016520 polymorphism affects repaglinide response in Chinese Han patients with type 2 diabetes mellitus[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2015, 42(1):27-32.
- [ 7 ] JAFFREY SR, SNOWMAN AM, ELIASSON MJ, et al. CAPON: a protein associated with neuronal nitric oxide synthase that regulates its interactions with PSD95[J]. *Neuron*, 1998, 20(1):115-124.
- [ 8 ] HINCHEE-RODRIGUEZ K, GARG N, VENKATAKRISHNAN P, et al. Neuronal nitric oxide synthase is phosphorylated in response to insulin stimulation in skeletal muscle [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 435 (3) : 501-505.
- [ 9 ] HU C, WANG C, ZHANG R, et al. Association of genetic variants of *NOS1AP* with type 2 diabetes in a Chinese population[J]. *Diabetologia*, 2010, 53(2):290-298.
- [10] GABIR MM, HANSON RL, DABELEA D, et al. Plasma glucose and prediction of microvascular disease and mortality: evaluation of 1997 American Diabetes Association and 1999 World Health Organization criteria for diagnosis of diabetes[J]. *Diabetes Care*, 2000, 23 (8) : 1113-1118.
- [11] REAVEN GM. What do we learn from measurements of HOMA-IR? [J]. *Diabetologia*, 2013, 56(8):1867-1868.
- [12] WRATTEN NS, MEMOLI H, HUANG Y, et al. Identification of a schizophrenia associated functional noncoding variant in *NOS1AP*[J]. *Am J Psychiatry*, 2009, 166 (4) : 434-441.
- [13] QIN W, ZHANG R, HU C, et al. A variation in *NOS1AP* gene is associated with repaglinide efficacy on insulin resistance in type 2 diabetes of Chinese[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2010, 31(4): 450-454.
- [14] BECKER ML, AARNOUDSE AJ, NEWTON-CHEH C, et al. Common variation in the *NOS1AP* gene is associated with reduced glucose-lowering effect and with increased mortality in users of sulfonylurea[J]. *Pharmacogenet Genomics*, 2008, 18(7):591-597.
- [15] CHO HJ, LEE SY, KIM YG, et al. Effect of genetic polymorphisms on the pharmacokinetics and efficacy of glimepiride in a Korean population[J]. *Clin Chim Acta*, 2011, 412(19/20):1831-1834.
- [16] PAHWA S, ALAM K, CROWE A, et al. Pretreatment with rifampicin and tyrosine kinase inhibitor dasatinib potentiates the inhibitory effects toward OATP1B1-and OATP1B3-mediated transport[J]. *J Pharm Sci*, 2017, 106 (8):2123-2135.
- [17] TOMALIK-SCHARTE D, FUHR U, HELLMICH M, et al. Effect of the CYP2C8 genotype on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide[J]. *Drug Metab Dispos*, 2011, 39(5):927-932.
- [18] KALLIOKOSKI A, NEUVONEN M, NEUVONEN PJ, et al. Different effects of *SLCO1B1* polymorphism on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of repaglinide and nateglinide[J]. *J Clin Pharmacol*, 2008, 48 (3) : 311-321.
- [19] HSIEH KP, LIN YY, CHENG CL, et al. Novel mutations of CYP3A4 in Chinese[J]. *Drug Metab Dispos*, 2001, 29(3):268-273.
- [20] TURINI P, THALMANN S, JAYET PY, et al. Insulin resistance in mice lacking neuronal nitric oxide synthase is related to an alpha-adrenergic mechanism[J]. *Swiss Med Wkly*, 2007, 137(49/50):700-704.
- [21] RIZZO MA, PISTON DW. Regulation of beta cell glucokinase by S-nitrosylation and association with nitric oxide synthase[J]. *J Cell Biol*, 2003, 161(2): 243-248.
- [22] SHANKAR RR, WU Y, SHEN HQ, et al. Mice with gene disruption of both endothelial and neuronal nitric oxide synthase exhibit insulin resistance[J]. *Diabetes*, 2000, 49(5):684-687.
- [23] LIPSKA KJ, KRUMHOLZ HM. Is hemoglobin A<sub>1c</sub> the right outcome for studies of diabetes? [J]. *JAMA*, 2017, 317(10):1017-1018.

(收稿日期:2017-07-09 修回日期:2018-03-16)

(编辑:张元媛)