

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.23.013

# INS 基因遗传多态性与 2 型糖尿病发病风险及血清 IAA-Ab 水平相关性研究\*

李 泉<sup>1</sup>, 乔正荣<sup>2</sup>, 刘钉宾<sup>1</sup>, 曾建涛<sup>1</sup>, 张 吉<sup>1</sup>, 柏 艳<sup>1</sup>, 向 勤<sup>2</sup>, 胡 渠<sup>2</sup>, 吴 逊<sup>2</sup>, 董姗姗<sup>1</sup>  
(重庆市长寿区人民医院:1. 检验科;2. 内分泌科 401220)

**[摘要]** **目的** 探讨 INS 基因启动子区单核苷酸多态性与 2 型糖尿病发病风险和血清 IAA-Ab 水平的相关性。**方法** 利用 Sequenom MassArray SNP 分型检测技术,对该院 497 例 2 型糖尿病患者(病例组)和 500 例健康体检人员(对照组)INS 的 3 个启动子区单核苷酸多态性位点(rs689、rs71464177 和 rs3842738)进行基因分型并分析两组间分布情况;检测糖尿病患者 IAA-Ab 水平。用  $\chi^2$  检验统计分析病例组和对照组,病例中 IAA-Ab 阳性组和阴性组的 SNP 位点基因型频率分布,采用非条件 Logistic 回归分析,校正性别、年龄影响,计算比值比(OR)和 95% 置信区间(CI),评价多态性位点与 2 型糖尿病易感性和血清 IAA-Ab 水平的相关性。**结果** rs689AA、TT、AT 基因型在病例组的分布频率分别为 58.75%、28.77% 和 12.47%,在对照组的分布频率分别为 50.40%、35.60% 和 14.00%,两组间差异有统计学意义( $\chi^2=3.923, P<0.05$ );且相对于 AA 基因型,TT 基因型者患糖尿病的危险性减少,风险度 OR 值为 0.35(95% CI:0.18~1.06)。AA、TT、AT 各基因型在 IAA-Ab 阳性患者的分布频率与 IAA-Ab 阴性患者比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 中国人群 INS 基因 rs689 位点多态性与中国人群 2 型糖尿病发病风险相关,并且可能与 IAA-Ab 水平相关。

**[关键词]** 糖尿病,2 型;多态性,单核苷酸;IAA-Ab;INS 基因

**[中图分类号]** R394.4

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2015)23-3210-03

## Study on relationship among INS genetic polymorphisms and the occurrence of type 2 diabetes and serum IAA-Ab levels\*

Li Quan<sup>1</sup>, Qiao Zhengrong<sup>2</sup>, Liu Dingbin<sup>1</sup>, Zeng Jiantao<sup>1</sup>, Zhang Ji<sup>1</sup>,  
Bai Yan<sup>1</sup>, Xiang Qin<sup>2</sup>, Hu Qu<sup>2</sup>, Wu Xun<sup>2</sup>, Dong Shanshan<sup>1</sup>

(1. Clinical Laboratory; 2. Department of Endocrinology, People's Hospital of  
Changshou Distract, Chongqing 401220, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the relationship between polymorphisms of gene promoter region INS 5'UTR single nucleotide and type 2 diabetes and serum IAA-Ab levels. **Methods** By Sequenom MassArray SNP genotyping detection technology, INS 3 pyomter regime single nucleotide polymorphisms (rs689, rs71464177 and rs3842738) of 497 patients in Chongqing with type 2 diabetes cases(treatment group) and 500 cases(control group) were genotyped and analyzed. IAA-Ab levels in diabetes patients was detected. The  $\chi^2$  test statistic was used to analyze the treatment group and control groups. The genotype frequency distribution of IAA-Ab-positive and negative groups SNP was analyzed by non-conditional logistic regression, adjusted for sex, age impact, calculated the odds ratio (OR) and 95% confidence interval(CI). The polymorphic loci with type 2 diabetes susceptibility and serum GAD-Ab levels was evaluated. **Results** The genotype frequency distribution of rs689AA, TT and AT was 58.75%, 28.77% and 12.47%, respectively. The control group are 50.40%, 35.60% and 14.00% respectively. The difference was statistically significant ( $\chi^2=3.923, P<0.05$ ). Compared with the genotype of AA, TT genotype can decrease risky of diabetes, with OR values 0.35(95% CI:0.18~1.06). There was significant difference of AA, TT, AT genotypes between IAA-Ab negative and IAA-Ab positive patients ( $P<0.05$ ). **Conclusion** INS polymorphisms might be related to the risky of type 2 diabetes and serum IAA-Ab level in chinses population.

**[Key words]** diabetes mellitus, type 2; polymorphism, single nucleotide; IAA-Ab; INS gene

2 型糖尿病是一种典型的多基因疾病,受多种遗传因素影响<sup>[1-3]</sup>。胰岛素释放功能在 2 型糖尿病发病过程中扮演重要作用<sup>[4-5]</sup>。编码基因 INS 位于 11 号染色体上,人体内有多种形式的 INS 可能会与免疫系统相互作用,胰岛素自身抗体(IAA)是一组能与胰岛素结合的抗体,表位定位于 INS 的 B 链,绝大部分与胰岛素结合成复合物而使胰岛素失去生物活性。因此,IAA 的测定能为糖尿病提供重要的治疗方案依据,也是评价药用胰岛素的一个理想指标。本文探讨血清 IAA 水平与 INS 基因多

态性之间的关系,以期为确定胰岛素治疗的最佳时机和个性化治疗提供数据和理论基础。基因的启动子区遗传多态性是调节基因表达的主要作用机制。在生物信息学分析的基础上,从 dbSNP 数据库选取了 INS 基因启动子区的 3 个单核苷酸多态性(SNP)位点。在 497 例患者与 500 例正常对照人群中进行这 3 个 SNP 位点的基因分型和血清中 IAA 水平的检测。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择自 2009~2011 年就诊于重庆市长寿区

\* 基金项目:重庆市卫生局科研资助项目(2011-2-469)。 作者简介:李泉(1963—),主任检验技师,本科,主要从事骨髓细胞及糖尿病免疫学相关抗体研究。

人民医院 2 型糖尿病患者血液样本 497 例(病例组),正常血液标本 500 例(对照组)。患者均为重庆市及其周边区域的汉族居民,相互间无血缘关系。所有病例经临床资料检查确诊,正常对照为同期健康体检人员。病例组男 208 例,女 289 例,平均年龄(62.42±14.89)岁;对照组男 264 例,女 236 例。平均年龄(59.44±15.22)岁。本研究中病例组和对照组年龄匹配,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。在获得患者知情同意后,抽取外周静脉血 1~2 mL,置于-70 °C 保存。本研究通过院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 SNP 位点的选择 3 个 SNP 位点 rs689、rs71464177 和 rs3842738,位于 INS 基因的启动子区,并在 Hapmap 数据库数据中显示有多态性。3 个位点基因型在两组中分布频率符合 Hardy-Weinberg 平衡( $P>0.05$ )。

1.2.2 DNA 的提取 取外周静脉血 200 μL,用 DNA 提取试剂盒(天根生物技术有限公司,TIANamp Genomic DNA Kit)提取 DNA(按说明书操作),DNA 保存于-70 °C 备用。

1.2.3 引物设计与合成 根据 INS 基因的目标序列和所选择的单核苷酸多态性位点,用 Sequenom MassArray Designer 3.0 软件设计针对这 3 个位点的 PCR 扩增引物及延伸引物,其中特异性扩增引物序列为 5'-GCT CGT GAA GCA TGT GGG GGT GA-3'(289 bp)和 5'-CGG GGC GGG GGA AGG AGG TG-3'(301 bp);针对 rs689 的单碱基延伸引物序列为 5'-TGG CAG AAG GAC AGT GAT CTG GG-3'(266 bp);针对 rs71464177 的单碱基延伸引物序列为 5'-CCT GTC CCC ACA CCC CTG TCC CCA-3'(365 bp);针对 rs3842738 的单碱基延伸引物序列为 5'-CCC TGC CGC CTG GCC CAT TAG GGC C-3'(269 bp)。引物由上海英骏生物公司(Invitrogen)合成。

1.2.4 基因分型分析 利用 Sequenom MassArray 质谱阵列技术对 INS 基因启动子区 SNP 位点进行基因分型。具体步骤如下:(1)提取纯化后的基因组 DNA 样品定量稀释,按设计顺序加样于 384 孔板上,然后添加 PCR 扩增体系使反应物的终浓度如下:0.1 U 的 Taq 聚合酶,5 ng 基因组 DNA,各 2.5 pmol 的 PCR 引物,2.5 mmol 的脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP)。PCR 反应条件为:95 °C 15 min,然后 45 个循环的 95 °C 20 s,56 °C 30 s,72 °C 30 s。剩余的 dNTP 经添加 0.3 U 的虾碱性磷酸酶(SAP)去除。(2)单碱基延伸反应通过添加 5.4 pmol 的延伸引物,50 μmol 的双脱氧核苷三磷酸(ddNTP)混合物,0.5 U 的 Thermosequenase DNA 聚合酶,反应条件为 94 °C 2 min,然后 40 个循环的 94 °C 5 s,50 °C 5 s,72 °C 5 s。反应产物用树脂脱盐 20 min 后经自动点样仪点样于 SpectroCHIP(Sequenom)芯片。点样后的芯片用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(SpectroREADER,Sequenom)检测。此外对 DNA 样品进行质量控制,保证基因分型成功率大于 95%。

1.2.5 IAA 血清抗体检测 已确诊 2 型糖尿病患者于抽血前停用药物治疗 48 h,于第 3 天上午进行 75 g 葡萄糖(300 mL 水)耐量试验(OGTT)。取 0 min 时的血清标本对 IAA 水平进行蛋白芯片检测,具体方法严格按照说明书操作。

1.3 统计学处理 对病例组和对照组基因型分布频率进行 Hardy-Weinberg 平衡检验后,采用 SPSS13.0 统计软件分析,先利用  $\chi^2$  检验对各位点等位基因及不同基因型进行频率分布有无差异分析。根据 IAA 检测结果,对 IAA 抗体阳性组和 IAA 抗体阴性组 SNP 位点的基因型频率分布差异进行  $\chi^2$  检

验,再根据广义遗传模型,显/隐性遗传模型,利用非条件 Logistic 回归对不同基因型计算相应 OR 值及 P 值。检验水准为  $\alpha=0.05$ ,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SNP 位点 rs689 多态性结果 研究通过对两组 rs689 的基因分型,发现 AA、TT、AT 各基因型在病例组的分布频率与对照组的比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 1。且相对于 AA 基因型,TT 基因型者患糖尿病的危险性减少,风险度 OR 值为 0.35(95% CI:0.18~1.06)。AA、TT、AT 各基因型在 IAA-Ab 阳性患者的分布频率与 IAA-Ab 阴性患者比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 2。相对于 AA 基因型,TT 基因型者 IAA-Ab 阳性率显著上升。

表 1 rs689 基因型分布及其与糖尿病易感性的关系[n(%)]

rs689 基因型	病例组(n=497)	对照组(n=500)	$\chi^2$	P
AA	292(58.75)	252(50.40)	3.923	<0.05
TT	143(28.77)	178(35.60)		
AT	62(12.47)	70(14.00)		

表 2 rs689 基因型分布及其与糖尿病患者 IAA-Ab 水平的关系[n(%)]

rs689 基因型	IAA-Ab 阳性(n=33)	IAA-Ab 阴性(n=464)	$\chi^2$	P
AA	23(69.70)	269(57.97)	4.251	<0.05
TT	6(18.18)	137(29.53)		
AT	4(12.12)	58(12.50)		

2.2 SNP 位点 rs71464177 多态性结果 通过对中国人群 rs71464177 的基因分型,发现 CC、GG、CG 各基因型在病例组的分布频率与对照组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 3。CC、GG、CG 各基因型在 IAA-Ab 阳性患者的分布频率与 IAA-Ab 阴性患者的分布频率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 4。

表 3 rs71464177 基因型分布及其与糖尿病易感性的关系[n(%)]

rs71464177 基因型	病例组(n=497)	对照组(n=500)	$\chi^2$	P
CC	256(51.51)	263(52.60)	0.299	>0.05
GG	213(42.86)	206(41.20)		
CG	28(5.63)	31(6.20)		

表 4 rs71464177 基因型分布及其与糖尿病患者 IAA-Ab 水平的关系[n(%)]

rs71464177 基因型	IAA-Ab 阳性(n=33)	IAA-Ab 阴性(n=464)	$\chi^2$	P
CC	18(54.55)	238(51.29)	0.285	>0.05
GG	14(42.42)	199(42.89)		
CG	1(3.03)	27(5.82)		

**2.3 SNP 位点 rs3842738 多态性结果** 通过对中国人群 rs3842738 的基因型,发现 CC、GG、CG 各基因型在病例组的分布频率与对照组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 5。CC、GG、CG 各基因型在 IAA-Ab 阳性患者的分布频率与 IAA-Ab 阴性患者的分布频率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 6。

**表 5 rs3842738 基因型分布及其与糖尿病易感性的关系 [n(%)]**

rs3842738 基因型	病例组 (n=497)	对照组 (n=500)	$\chi^2$	P
CC	349(70.22)	366(73.20)	0.313	>0.05
GG	32(6.44)	44(8.80)		
CG	116(23.34)	90(18.00)		

**表 6 rs3842738 基因型分布及其与糖尿病患者 IAA-Ab 水平的关系 [n(%)]**

rs3842738 基因型	IAA-Ab 阳性 (n=33)	IAA-Ab 阴性 (n=464)	$\chi^2$	P
CC	24(72.73)	325(70.04)	0.284	>0.05
GG	2(6.06)	30(6.47)		
CG	7(21.21)	109(23.49)		

### 3 讨论

糖尿病是由遗传因素、免疫功能紊乱、微生物感染及其毒素、自由基毒素、精神因素等等各种致病因子作用于机体导致胰岛素供应不足或胰岛素在靶细胞不能发挥正常生理作用下,使体内糖、蛋白质、脂肪、水和电解质等一系列代谢发生紊乱的临床综合征<sup>[1,6]</sup>。胰岛素释放功能在 2 型糖尿病发病过程中扮演重要作用。其中,临床上诊断为 2 型糖尿病的患者中有一部分是自身免疫性糖尿病。这些自身抗体谷氨酸脱羧酶抗体(GAD-Ab)、抗胰岛细胞抗体(ICA)、IAA 可引起胰岛  $\beta$  细胞自身免疫功能损害,逐渐发展为胰岛  $\beta$  细胞功能衰竭,需胰岛素治疗,趋向与 1 型糖尿病的临床表现,血清 GAD-Ab、ICA、IAA 等自身抗体阳性,此类 2 型糖尿病也被称为成人隐匿性自身免疫糖尿病(latent autoimmune diabetes in adult, LADA)<sup>[2,7]</sup>。IAA 是一组能与胰岛素结合的抗体,它不是糖尿病患者体内的特异性抗体,其阳性检出率不及 GAD-Ab 和 ICA<sup>[3]</sup>。IAA 绝大部分与胰岛素结合成复合物而使胰岛素失去生物活性。因此 IAA 的测定能为糖尿病提供重要的治疗方案依据,也是评价药用胰岛素的一个理想指标。

胰岛素由胰腺  $\beta$  细胞分泌,可刺激卵巢间质细胞分泌雄激素,有抑制卵泡凋亡、减少闭锁的作用。胰岛素编码基因 INS 位于 11 号染色体上,在 5' 端 14~15 bp 处存在可变数目串联重复(variability in the number of tandem repeats, VNTR) 的小卫星<sup>[4,8]</sup>。VNTR 的序列和长度多样性,使得 INS 基因在体内转录增加,且长度越长,转录活性越强,从而影响 INS 的分泌<sup>[5]</sup>。人体内有多种形式的 INS 可能会与免疫系统相互作用,IAA 表位定位于 INS 的 B 链。Yu 等<sup>[9]</sup> 研究发现非肥胖糖尿病(NOD)小鼠在 8 周龄时即表达 IAA,且其浓度与发生糖尿病的风险正相关。IAA 在糖尿病患儿中是最早出现的自身抗体之一,阳性率很高。

启动子区遗传多态性是调节基因表达的主要作用机制。本文探讨血清 IAA 水平与 INS 基因的表达量之间的关系,以期确定胰岛素治疗的最佳时机和个性化治疗提供数据和理论基础。在生物信息学分析的基础上,从 dbSNP 数据库选取了 INS 启动子区的 3 个 SNP 位点。已有的一些研究证实了 INS VNTR 基因多态性与儿童期的 BMI 值有关联,而且与脐血中胰岛素样生长因子 II(IGF-II)水平相关,但未发现其多态性与脐血胰岛素的关联<sup>[10]</sup>。已有文献报道 INS VNTR 与 rs689 在非洲人裔中存在紧密连锁现象<sup>[11]</sup>,并且在白种人、日本人群中一致率达 99.6% 以上<sup>[12-13]</sup>。但该位点多态性与糖尿病及胰岛素水平的相关性国内外均未有报道。检测的另外两个位点,本研究中未发现其多态性与糖尿病易感性及 IAA-Ab 水平相关。

综上所述,INS 基因 rs689 位点可能是糖尿病的易感基因位点,并且可能与 IAA-Ab 水平相关。但是,由于国内外关于该位点的报道很少,因此,有关 INS 基因 rs689 位点多态性与糖尿病易感及 IAA-Ab 水平相关性的研究尚需大规模、多地域的人群流行病学的研究来进行综合对比,以进行更深入的研究探讨。

### 参考文献

- [1] 魏军平,鲍冠秀. 强化降糖与个体化治疗策略[J]. 中国中西医结合杂志,2011,31(4):572-576.
- [2] 张士荣. 成人隐匿性自身免疫糖尿病细胞免疫损伤机制初步探讨[D]. 合肥:安徽医科大学,2010.
- [3] 郭慧淑,蔡春玉,吴泰华. 血清学检测在 1 型糖尿病诊断中的临床意义[J]. 中国现代医学杂志,2009,19(16):2524-2526.
- [4] 刘贞. CYP17 基因,INS 基因,LH $\beta$  基因多态性与多囊卵巢综合征的相关研究[D]. 广东:广州医学院,2011.
- [5] Legro RS, Strauss JF. Molecular progress in infertility: polycystic ovary syndrome[J]. Fertil Steril,2002,78(3):569-576.
- [6] Chang YH, Chang DM, Lin KC, et al. Visfatin in overweight/obesity, type 2 diabetes mellitus, insulin resistance, metabolic syndrome and cardiovascular diseases: a meta-analysis and systemic review[J]. Diabetes Metab Res Rev,2011,27(6):515-527.
- [7] Appel SJ, Wadas TM, Rosenthal RS, et al. Latent autoimmune diabetes of adulthood (LADA): an often misdiagnosed type of diabetes mellitus[J]. J Am Acad Nurse Pract,2009,21(3):156-159.
- [8] Le Stunff C, Fallin D, Bougneres P. Paternal transmission of the very common Class I INS VNTR alleles predisposes to childhood obesity[J]. Nat Genet,2001,29(1):96-99.
- [9] Yu L, Robles DT, Abiru N, et al. Early expression of anti-insulin autoantibodies of man and the NOD mouse: evidence for early determination of subsequent diabetes[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2000,97(4):1701-1706.
- [10] 蒋泓. 孕期体力活动对妊娠结局和婴儿生长发育影响的研究[D]. 上海:复旦大学,2009.
- [11] Vafiadis P, Bennett ST, Colle E, et al. Imprinted and genotype-specific expression of genes at (下转第 3215 页)

硬膜外麻醉复合丙泊酚靶控输注镇静避免患者术中 HR 及 MAP 的升高。此外,硬膜外麻醉复合丙泊酚靶控输注镇静可明显降低术中或术后寒战的发生率,不增加患者术后恶心呕吐或术中低血压等不良反应。

尽管硬膜外麻醉镇痛效果确切,而患者 HR 及血压在术中仍有明显的升高,这可能与硬膜外麻醉对手术牵拉或其他刺激的抑制不足及手术室环境引起的患者焦虑紧张有关<sup>[11]</sup>。复合丙泊酚镇静的患者于镇静开始表现则为 HR 和血压一定程度的降低,术中较为稳定。尽管丙泊酚本身对心脏功能具有一定抑制作用,但鉴于镇静所用剂量较小,推测患者该表现与丙泊酚消除其心理应激有关。前期研究亦表明,神经阻滞或椎管内麻醉复合镇静可减轻手术引起的患者血流动力学波动,有利于维持循环功能稳定<sup>[12]</sup>。徐倩等<sup>[13]</sup>小样本研究发现,硬膜外麻醉复合右美托咪定镇静可安全应用于盆底重建术,稳定患者围术期血流动力学。本研究明确了丙泊酚镇静在硬膜外麻醉下盆底重建术中应用的可行性。

镇静深度的监测是保证全麻药物用于辅助镇静安全的必要措施。本研究采用实时 BIS 监测及 OAA/S 评分评估患者镇静深度,指导调整丙泊酚靶控输注剂量,维持患者 BIS 值于 65~80,OAA/S 评分于 3 分。本研究发现,尽管术中患者镇静程度维持较为平稳,但丙泊酚靶控输注血浆浓度存在一定差异。研究表明,硬膜外麻醉及手术刺激均可能影响患者 BIS 监测及镇静深度评估,硬膜外麻醉可以增强丙泊酚镇静作用<sup>[14-15]</sup>。该结果提示,丙泊酚用于辅助镇静时应依据手术操作及麻醉进展调整其输注速度或用量,以维持平稳的镇静水平。在监测镇静下,本研究中仅 2 例患者出现短暂性呼吸抑制,均在托下颌通气后即好转。

综上所述,在镇静深度监测下,丙泊酚靶控输注镇静复合硬膜外麻醉用于中老年盆底功能障碍患者盆底重建手术可减轻患者术中应激,具有良好的可行性及安全性,呼吸抑制可能是需要重点关注的不良反应。

#### 参考文献

- [1] Mannella P, Palla G, Bellini M, et al. The female pelvic floor through midlife and aging[J]. *Maturitas*, 2013, 76(3):230-234.
- [2] Benbouzid S, Cornu JN, Benchikh A, et al. Pelvic organ prolapse transvaginal repair by the prolift system: evaluation of efficacy and complications after a 4.5 years follow up[J]. *Int J Urol*, 2012, 19(11):1010-1016.
- [3] 付燕燕, 鲁菊英, 梁新芳. 全盆底重建术与阴式子宫全切+阴道壁修补术治疗中、重度盆腔器官脱垂对比研究[J]. *实用医学杂志*, 2013, 29(20):3346-3348.

- [4] Zhanaboni S, Krauss B, Buscaglia R, et al. Changes in respiratory and hemodynamic parameters during low-dose propofol sedation in combination with regional anesthesia for herniorrhaphy and genitourinary surgery in children[J]. *Paediatr Anaesth*, 2007, 17(10):934-941.
- [5] 吕洁, 陈霞, 郁万友, 等. 丙泊酚靶控输注用于颈丛神经阻滞下甲状腺手术镇静的可行性[J]. *临床麻醉学杂志*, 2006, 22(12):920-921.
- [6] Ekstein M, Gavish D, Ezri T, et al. Monitored anaesthesia care in the elderly: guidelines and recommendations[J]. *Drugs Aging*, 2008, 25(6):477-500.
- [7] Feiner B, Jelovsek JE, Maher C. Efficacy and safety of transvaginal mesh kits in the treatment of prolapse of the vaginal apex: a systematic review[J]. *BJOG*, 2009, 116(1):15-24.
- [8] Ekin A, Donmez F, Taspinar V, et al. Patient-controlled sedation in orthopedic surgery under regional anesthesia: a new approach in procedural sedation[J]. *Braz J Anesthesiol*, 2013, 63(5):410-414.
- [9] Rasooli S, Moslemi F, Khaki A. Effect of Sub hypnotic Doses of Propofol and Midazolam for Nausea and Vomiting During Spinal Anesthesia for Cesarean Section[J]. *Anesth Pain Med*, 2014, 4(4):e19384.
- [10] 戚志超, 高崇荣, 卢振和. 硬膜外麻醉下异丙酚联合咪达唑仑镇静对内隐记忆的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2004, 24(3):172-175.
- [11] Unic-Stojanovic D, Babic S, Jovic M. Benefits, risks and complications of perioperative use of epidural anesthesia[J]. *Med Arh*, 2012, 66(5):340-343.
- [12] 李健森. 颈浅丛神经阻滞辅以靶控输注丙泊酚-瑞芬太尼麻醉用于双侧甲状腺手术[J]. *天津医科大学学报*, 2012, 18(3):375-377.
- [13] 徐倩, 邓智连. 右美托咪定辅助硬膜外麻醉老年患者盆底重建术中的临床应用[J]. *江西医药*, 2014, 49(8):742-743.
- [14] 权翔, 张钰, 叶铁虎. 脑电双频谱指数监测硬膜外麻醉的镇静作用及其对丙泊酚镇静作用的影响[J]. *基础医学与临床*, 2013, 33(10):1293-1296.
- [15] 龚园, 陈春, 孙德海, 等. 不同硬膜外阻滞平面对手术患者丙泊酚镇静的影响[J]. *华中科技大学学报:医学版*, 2009, 38(5):707-709.

(收稿日期:2015-02-08 修回日期:2015-07-16)

(上接第 3212 页)

- the IDDM2 locus in pancreas and leucocytes[J]. *J Autoimmun*, 1996, 9(3):397-403.
- [12] Bennett AJ, Sovio U, Ruokonen A, et al. variation at the insulin gene VNTR (variable number tandem repeat) polymorphism and early growth: studies in a large Finnish birth cohort[J]. *Diabetes*, 2004, 53(8):2126-2131.
  - [13] Michell SM, Hattersley AT, Knight B. Lack of support

for a role of the insulin gene variable number of tandem repeats minisatellite (INS-VNTR) locus in fetal growth or type 2 diabetes-related intermediate traits in United Kingdom populations[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(1):310-317.

(收稿日期:2015-02-08 修回日期:2015-07-15)