

肥胖患者脂联素基因第45位点单核苷酸多态性与血浆脂联素水平及胰岛素抵抗的相关性研究

陈晓毓 李希圣 林夏鸿 高宏志 李秋兰 查金顺

【摘要】 目的 研究福建省泉州地区汉族肥胖人群脂联素基因第45位点单核苷酸多态性(SNP45)与血浆脂联素水平及胰岛素抵抗的关系。方法 随机选择肥胖症患者248例,正常对照组223例,采用液相平衡竞争放射免疫分析法测定血浆中空腹胰岛素(FINS)水平;利用自动生化分析仪测定空腹血糖(FPG)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(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;计算体重指数(BMI)、腰臀比、稳态模型胰岛素抵抗指数(HOMA-IR);采用酶联免疫吸附试验测定空腹血浆脂联素水平;采用PCR-限制性片段长度多态性技术检测脂联素基因SNP45。结果 ①肥胖症组和正常对照组脂联素基因SNP45的GT+GG基因型的分布分别为61%和44%($\chi^2=14.182, P<0.01$),G等位基因频率分别为35%和25%($\chi^2=10.708, P<0.01$)。②肥胖症组中,脂联素基因SNP45的GG+GT型与TT型相比,前者的TG、LDL-C水平($t=2.604, P<0.01; t=5.507, P<0.01$)升高,而脂联素和HDL-C水平($t=2.275, P<0.05; t=10.100, P<0.01$)降低。③正常对照组中,脂联素基因SNP45的GG+GT型与TT型相比,前者的脂联素、TG、TC水平($t=2.510, P<0.05; t=2.922, P<0.01; t=3.272, P<0.01$)显著低于后者。④以脂联素基因SNP45为因变量进行Logistic回归分析,肥胖症组中脂联素基因SNP45的GG+GT型与TT型相比,GG+GT型血清脂联素水平减少($OR=0.810, 95\%CI: 0.673\sim0.975, P<0.05$),胰岛素抵抗风险增加($OR=1.746, 95\%CI: 1.060\sim2.875, P<0.05$);正常组中GG+GT型胰岛素抵抗风险增加($OR=3.962, 95\%CI: 1.089\sim14.411, P<0.05$)。结论 ①脂联素基因SNP45的基因型和等位基因频率在肥胖症组与正常对照组中的分布有显著性差异。②脂联素基因SNP45与肥胖症患者的胰岛素抵抗及血脂水平相关。③肥胖症组中脂联素基因SNP45与脂联素水平相关。

【关键词】 肥胖症;脂联素;多态性,单核苷酸;胰岛素抗药性;放射免疫测定

Association of single nucleotide polymorphism at position 45 in adiponectin gene with plasma adiponectin level and insulin resistance in obesity CHEN Xiao-yu*, LI Xi-sheng, LIN Xia-hong, GAO Hong-zhi, LI Qiu-lan, ZHA Jin-shun. *Department of Endocrinology, the Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Quanzhou 362000, China

Corresponding author: ZHA Jin-shun, Email: Zjs630805@126.com

【Abstract】 Objective To explore the association of single nucleotide polymorphism at position 45 (SNP45) in adiponectin gene with plasma adiponectin level and insulin resistance in obesity in Quanzhou area of Fujian province. **Methods** Two hundred and forty-eight patients with obesity and 225 normal control subjects were enrolled in this study. Fasting insulin (FINS) were measured by radioimmunoassay and fasting plasma glucose (FPG), total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein-cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) were measured by BECKMAN DXC800 biochemistry analyzer. Body mass index (BMI), waist to hip ratio, homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) were calculated. Plasma adiponectin levels were examined by means of enzyme-linked immunosorbent assay. The adiponectin gene SNP45 was identified by PCR-restriction fragment length polymorphism. **Results** ① Frequencies of GG+GT genotype in obesity group and normal control group were 61% and 44%

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2012.05.003

作者单位: 362000 泉州, 福建医科大学附属第二医院内分泌代谢科(陈晓毓, 李希圣, 林夏鸿), 中心实验室(高宏志, 李秋兰), 核医学科(查金顺)

通信作者: 查金顺(Email: Zjs630805@126.com)

respectively($\chi^2=14.182$, $P<0.01$), and G allele frequencies were 35% and 25%($\chi^2=10.708$, $P<0.01$). ②In obesity group, the subjects with SNP45 GG+GT genotype had higher TG and LDL-C levels than those with TT genotype ($t=2.604$, $P<0.01$; $t=5.507$, $P<0.01$), and had lower adiponectin level than those with TT genotype ($t=2.275$, $P<0.05$), and had significantly lower HDL-L level than those with TT genotype ($t=10.100$, $P<0.01$). ③ In normal control group, the subjects with SNP45 GG +GT genotype had significantly lower adiponectin, TG, TC levels than those with TT genotype ($t=2.510$, $P<0.05$; $t=2.922$, $P<0.01$; $t=3.272$, $P<0.01$). ④ Logistic analysis proved that the SNP45 GG+GT genotype in obesity group was associated with decreased risk of plasma adiponectin level ($OR=0.810$, 95%CI: 0.673–0.975, $P<0.05$), and with increased risk of HOMA-IR ($OR=1.746$, 95%CI: 1.060–2.875, $P<0.05$). The SNP45 GG+GT genotype in normal control group was associated with increased risk of HOMA-IR ($OR=3.962$, 95%CI: 1.089–14.411, $P<0.05$).

Conclusions ①The distribution of adiponection of genotype and allele frequencies of the SNP45 were different in obesity and normal control groups. ②The SNP45 in adiponectin was associated with obesity, insulin resistance and the total cholesterol, triglyceride, high density lipoprotein, low density lipoprotein levels. ③ The SNP45 in adiponectin was associated with the fasting adiponectin levels in obesity group.

【Key words】 Obesity; Adiponectin; Single nucleotide, polymorphism; Insulin resistance; Radioimmunoassay

目前,肥胖症在全世界呈流行趋势,它既是一种独立的疾病,又是2型糖尿病、心血管病、高血压、中风和多种癌症的危险因素,被世界卫生组织列为导致疾病负担的十大危险因素之一。正常人脂联素基因序列中存在相当数量的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP),其中,脂联素基因第45位点SNP(SNP45)可能影响血浆中的脂联素水平,并与肥胖症患者的胰岛素抵抗有关。本研究通过测定血清胰岛素、脂联素水平及脂联素基因SNP45等指标,研究福建省泉州地区汉族肥胖人群脂联素基因SNP45与胰岛素抵抗的关系。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择无亲缘关系的福建省泉州地区汉族人471名,均为本院体检中心接收的健康体检者,根据1999年亚太地区诊断标准^[1],以体重指数(body mass index, BMI) ≥ 25 kg/m²诊断为肥胖症,分组如下:正常对照组223名,其中,男性73名、女性150名;肥胖症组248例,其中,男性85例、女性163例,均排除继发性肥胖症、糖尿病、恶性肿瘤、近期口服调脂药物和减肥药物史。两组间年龄、性别构成比例差异均无统计学意义,具有组间可比性。

1.2 方法

由专人对受试者检测身高、体重、腰围、臀围。其中, BMI=体重/身高的平方;腰臀比=腰围/

臀围;稳态模型胰岛素抵抗指数(homeostasis model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)=空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG) \times 空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)/22.5。所有受试者均于采血前夜22:00后禁食,次晨7:00–8:00采静脉血,将新鲜血清分成3份,第1份采用液相平衡竞争放射免疫分析法检测FINS水平;第2份直接利用美国BECKMAN DXC800全自动生化分析仪检测FPG、总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoproteins-cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoproteins-cholesterol, LDL-C)等水平;第3份采用酶联免疫吸附试验测定空腹血清脂联素水平。此外,采200 μ l静脉血全血于抗凝管中,在-80℃低温冰箱中贮存,1个月内利用血液基因组DNA提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]提取DNA,采用PCR-限制性片段长度多态性技术检测脂联素基因SNP45。

1.3 统计学方法

计算SNP45的基因型频率,确认符合Hardy-Weinberg平衡,计算等位基因频率,对基因型分布进行Hardy-Weinberg吻合度检验,等位基因频率和基因型频率的比较采用 χ^2 检验。试验数据先进行正态分布检验(Kolmogorov-Smirnov Z检验),若符合正态分布,则两组间计量资料的比较采用 t 检验;若不符合正态分布,则两组间计量资料的比较采用非参数检验(Mann-Whitney U)。应用Logistic

回归分析对脂联素基因与临床和生化各项指标进行相关性分析,以脂联素基因型作为因变量(Y),临床和生化各项指标作为自变量(X)(显著性水准为0.05、剔除变量的显著性水准为0.10)。以上分析均采用SPSS 16.0统计学软件进行。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脂联素基因 SNP45 基因型分析

脂联素基因 SNP45 可被限制性内切酶 Eco88I 识别,酶切后产物经琼脂糖凝胶电泳出现 3 种类型的条带分布:只于 456 bp 处出现条带为 TT 基因型(纯合子),于 143 bp 和 313 bp 两处出现条带者为 GG 型(纯合子),于 143 bp、313 bp 和 456 bp 3 处出现条带者为 GT 型(杂合子)(图 1)。由于脂联素基因 SNP45 的 GG 型数量较少,故与 GT 型合并为 GT+GG 型。肥胖症组和正常对照组中脂联素基因 SNP45 的 GT+GG 型的分布频率分别为 61% 和 44%,差异有统计学意义($\chi^2=14.182, P<0.01$),G 等位基因的分布频率分别为 35% 和 25%,差异有统计学意义($\chi^2=10.708, P<0.01$)(表 1)。

2.2 脂联素基因 SNP45 不同基因型间临床和生化指标比较

肥胖症组中,脂联素基因 SNP45 的 GG+GT 型与 TT 型相比,前者的 BMI 高于后者($t=2.497, P<$

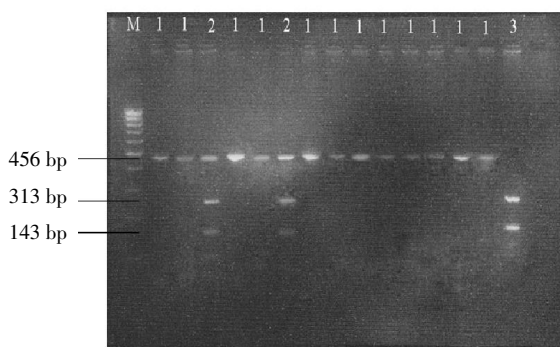


图 1 脂联素基因第 45 位点单核苷酸多态性基因型琼脂糖凝胶电泳图 图中, M: DNA 分子质量标准; 1: TT 型; 2: GT 型; 3: GG 型。

表 1 脂联素基因第 45 位点单核苷酸多态性的不同基因型和等位基因在肥胖症组和正常对照组中的分布频率比较

组别	例数	基因型 [例(%)]		等位基因 [个(%)]	
		TT 型	GT+GG 型	T	G
正常对照组	223	125(56.0)	98(44.0)	335(75.0)	111(25.0)
肥胖症组	248	96(39.0)	152(61.0)	324(65.0)	172(35.0)

0.05),舒张压、TG、LDL-C 显著高于后者($t=3.806, P<0.01; t=2.604, P<0.01; t=5.507, P<0.01$);而前者的腰臀比、脂联素和 HDL-C 水平均低于后者($t=1.880, P<0.05; t=2.275, P<0.05; t=10.100, P<0.01$)(表 2)。

正常对照组中,脂联素基因 SNP45 的 GG+GT 型与 TT 型相比,前者的腰臀比、腰围、FINS($t=2.115, P<0.05; t=10.269, P<0.01; t=2.638, P<0.01$)水平均高于后者;而脂联素、TG、TC($t=2.510, P<0.05; t=2.922, P<0.01; t=3.272, P<0.01$)水平均显著低于后者(表 2)。

2.3 脂联素基因 SNP45 与临床和生化指标的 Logistic 回归分析

在肥胖症组中,将 TT 型分为一组,GG+GT 型分为另一组,进行二项 Logistic 回归分析,以脂联素基因型作为因变量(Y),其它临床和生化指标作为自变量(X_1 : 年龄、 X_2 : BMI、 X_3 : 腰围、 X_4 : 腰臀比、 X_5 : SBP、 X_6 : DBP、 X_7 : TC、 X_8 : TG、 X_9 : LDL-C、 X_{10} : HDL-C、 X_{11} : FPG、 X_{12} : HOMA-IR、 X_{13} : 脂联素),按照入选变量的显著性水准为 0.05、剔除变量的显著性水准为 0.10,通过 Logistic 回归分析,得到以下回归方程:

$$Y=38.996-0.187X_3-29.250X_4+0.089X_6+0.411X_9-7.355X_{10}+0.557X_{12}-0.211X_{13}$$

肥胖症组中脂联素基因 SNP45 的 GG+GT 型与 TT 型相比,血清脂联素水平降低($OR=0.810, 95\% CI: 0.673\sim 0.975, P<0.05$);胰岛素抵抗风险增加($OR=1.746, 95\% CI: 1.060\sim 2.875, P<0.05$)。

在正常对照组中,将 TT 型分为一组,GG+GT 型分为另一组,进行二项 Logistic 回归分析,以脂联素基因型作为因变量(Y),其他临床和生化指标作为自变量(X_1 : 年龄、 X_2 : BMI、 X_3 : 腰围、 X_4 : 腰臀比、 X_5 : SBP、 X_6 : DBP、 X_7 : TC、 X_8 : TG、 X_9 : LDL-C、 X_{10} : HDL-C、 X_{11} : FPG、 X_{12} : HOMA-IR、 X_{13} : 脂联素),按照入选变量的显著性水准为 0.05、剔除变量的显著性水准为 0.10,通过 Logistic 回归分析,得到以下回归方程:

表 2 脂联素基因第 45 位点单核苷酸多态性的不同基因型在肥胖症组和正常对照组中的临床和生化指标比较

组别	肥胖症组		正常对照组	
	TT 型	GT+GG 型	TT 型	GT+GG 型
例数(男/女)	96(34/62)	152(51/101)	125(39/86)	98(34/64)
年龄(岁)	45.17±7.78	45.55±8.94	45.43±10.17	45.35±8.68
BMI(kg/m ²)	27.84±1.95	28.36±1.37	20.07±1.26	19.99±1.33
腰围	88.92±5.97	87.93±5.75	71.79±4.59	79.30±5.86
腰臀比	0.88±0.08	0.87±0.28	0.87±0.27	0.88±0.04
收缩压(mmHg)	128.04±14.79	131.74±14.09	120.36±14.33	117.24±10.69
舒张压(mmHg)	79.54±10.08	84.75±10.60	75.32±10.88	74.04±8.23
TG(mmol/L)	1.16±1.02	1.96±1.03	1.49±0.29	1.37±0.22
TC(mmol/L)	5.24±0.91	5.25±1.13	4.71±0.90	4.30±0.81
HDL-C(mmol/L)	1.37±0.25	1.01±0.28	1.46±0.35	1.39±0.33
LDL-C(mmol/L)	3.23±1.18	4.13±1.28	2.96±0.72	3.17±0.92
FPG(mmol/L)	4.98±0.70	5.01±0.62	4.70±0.70	4.56±0.76
FINS(mU/L)	12.02±4.04	14.12±3.78	5.26±1.71	5.86±1.58
HOMA-IR	2.69±1.07	3.16±1.02	1.11±0.45	1.19±0.38
脂联素(mg/L)	6.83±2.39	6.13±2.41	12.10±2.52	10.98±2.46

注:表中, BMI: 体重指数; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; FPG: 空腹血糖; FINS: 空腹胰岛素; HOMA-IR: 稳态模型胰岛素抵抗指数。

$$Y = -6.263 - 0.465X_2 + 0.310X_3 + 0.644X_9 - 1.54X_{10} + 1.377X_{12}$$

正常对照组中脂联素基因 SNP45 的 GG+GT 型与 TT 型相比, 胰岛素抵抗风险增加($OR=3962$, $95\%CI: 1.089\sim 14.411$, $P<0.05$)。

3 讨论

在我国, 超重和肥胖症人群数已接近总人口数的四分之一, 成为影响健康的重要疾患^[1]。肥胖症具有遗传倾向, 脂联素基因是新近发现的与肥胖症相关的具有重要功能的基因。

人脂联素的编码基因位于人染色体 3q27, 长约 17 kb, 由 3 个外显子和 2 个内含子组成。全基因组扫描显示该区域存在 2 型糖尿病和代谢综合征的易感位点^[2]。人脂联素基因存在多种 SNP, 脂联素基因的变异可能会影响血清脂联素的表达水平, 从而可能是导致肥胖症及其相关疾病的一种遗传学基础。

胰岛素抵抗是指机体对一定量的胰岛素的生物学反应低于预计的正常水平的一种现象。现已公认, 肥胖症会引起胰岛素抵抗。Barnea 等^[3]研究发现, 胰岛素抵抗的 ob/ob 型小鼠脂肪和肌肉组织的脂联素受体表达水平降低, 从而出现了脂联素抵抗, 而脂联素抵抗进一步恶化了胰岛素抵抗。Yamamoto 等^[4]研

究证明, 日本肥胖症人群, 特别是内脏脂肪增多的人群血浆脂联素水平降低, 并与胰岛素抵抗程度成反比。脂联素水平受多种因素的影响, 其中基因调控是其重要影响因素之一。脂联素基因的 SNP 和肥胖因素可能引起脂联素水平下降, 从而导致胰岛素抵抗, 而胰岛素抵抗引起脂联素受体表达水平降低而出现脂联素抵抗, 反过来又将进一步加剧胰岛素抵抗。

目前, 国内外对脂联素基因 SNP 45 的研究结果不尽相同。Firoozeh 等^[5]研究发现, 脂联素基因型与胰岛素抵抗无关, 而 TT 型与 GT+GG 型相比, 高密度脂蛋白水平显著升高。Yuko 等^[7]研究发现, 脂联素基因 SNP45 与腹腔内的脂肪面积相关, 同时还发现脂联素基因 SNP45 为 GT+GG 型者易患代谢综合征。另一项研究发现, 肥胖症患者通过摄入低热卡饮食后, 脂联素基因 SNP45 的 TT 型者与 GT 型者相比, 甘油三酯水平明显降低^[8]。王遂军等^[9]研究发现, 脂联素基因 SNP 45 与肥胖症及其类型、血清脂联素水平无相关性。而王长江等^[10]则认为脂联素基因 SNP45 与肥胖症及胰岛素抵抗相关。因此, 不同国家及不同地区的研究者对于脂联素基因 SNP45 的研究结果存在不同, 可能与患者的遗传背景和环境等因素有关。

本研究中肥胖症组和正常对照组脂联素基因

SNP45 的 GT+TT 型的分布频率分别为 61%和 44%，G 等位基因分布频率分别为 35%和 25%，Logistic 回归分析提示：脂联素基因 SNP45 与血清脂联素水平及胰岛素抵抗相关，其中，肥胖症组脂联素基因 SNP45 的 GG+GT 型与 TT 型相比，血清脂联素水平降低，胰岛素抵抗风险增加；而正常对照组脂联素基因 SNP45 的 GG+GT 型的胰岛素抵抗风险增加，但血浆脂联素水平与 SNP45 的基因型无关。这与研究对象同样为亚洲人种的日本学者以及国内王长江等^[10]的研究结果基本符合，但与王遂军等^[9]的研究结果不符，原因可能与研究方法、背景资料和所选地区不同有关。

4 展望

肥胖症是一种多基因遗传性疾病，目前已发现多个肥胖症易感基因，深入研究脂联素基因 SNP 是否与肥胖症相关，可以更加深入地探讨肥胖症的发病机制，并可通过对肥胖症人群脂联素基因 SNP 的检测，对胰岛素抵抗的风险进行评估，为肥胖症的防治提供新的思路 and 手段，具有重大的社会效益。

参 考 文 献

- [1] 陈灏珠. 实用内科学. 12 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 918-919.
- [2] 武阳丰, 马冠生, 胡永华, 等. 中国居民的超重和肥胖流行现状. 中华预防医学杂志, 2005, 39(5): 316-320.
- [3] Francke S, Manraj M, Lacquemant C, et al. A genome-wide scan for coronary heart disease suggests in Indo-Mauritians a susceptibility locus on chromosome 16p13 and replicates linkage with the metabolic syndrome on 3q27. *Hum Mol Genet*, 2001, 10 (24): 2751-2765.
- [4] Barnea M, Shamay A, Stark AH, et al. A high-fat diet has a tissue-specific effect on adiponectin and related enzyme expression. *Obesity*, 2006, 14(12): 2145-2153.
- [5] Yamamoto Y, Hirose H, Saito I, et al. Adiponectin, an adipocyt-derived protein, predicts future insulin-resistance: two-year follow-up study in Japanese population. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(1): 89-90.
- [6] Mousavinasab F, Tähtinen T, Jokelainen J, et al. Common polymorphisms (single-nucleotide polymorphisms SNP+45 and SNP+276) of the adiponectin gene regulate serum adiponectin concentrations and blood pressure in young Finnish men. *Mol Genet Metab*, 2006, 87(2): 147-151.
- [7] Katsuda Y, Asano A, Murase Y, et al. Association of genetic variation of the adiponectin gene with body fat distribution and carotid atherosclerosis in Japanese obese subjects. *J Atheroscler Thromb*, 2007, 14(1): 19-26.
- [8] Tsuzaki K, Kotani K, Nagai N, et al. Adiponectin gene single-nucleotide polymorphisms and treatment response to obesity. *J Endocrinol Invest*, 2009, 32(5): 395-400.
- [9] 王遂军, 贾伟平, 包玉倩, 等. 脂联素基因多态性与肥胖、血清脂联素水平的相关性. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(7): 1295-1299.
- [10] 王长江, 王佑民, 汝颖, 等. 脂联素基因第 45 位点单核苷酸多态性与肥胖及胰岛素抵抗的相关性. 中华糖尿病杂志, 2005, 13(5): 324-325.

(收稿日期: 2012-05-24)

·读者·作者·编者·

关于投稿论文中缩略语使用的规定

关于来稿中涉及的缩略语用法, 本刊规定: 已被公知公认的缩略语可以不加注释直接使用, 例如: DNA、RNA、ATP、PCR、RT-PCR、CT、MRI、PET、SPECT、PET-CT 等。另外, 本刊允许直接使用的与放射医学和核医学相关的缩略语如下:

¹⁸F-FDG: ¹⁸F-氟脱氧葡萄糖 (¹⁸F-fluorodeoxyglucose); ⁹⁹Tc^m-MDP: ⁹⁹Tc^m-亚甲基二膦酸盐 (⁹⁹Tc^m-methylenediphosphonate); ⁹⁹Tc^m-MIBI: ⁹⁹Tc^m-甲氧基异丁基异腈 (⁹⁹Tc^m-methoxyisobutylisonitrile); ⁹⁹Tc^m-DTPA: ⁹⁹Tc^m-二亚乙基三胺五乙酸 (⁹⁹Tc^m-diethylenetriaminepentaacetic acid); ROI: 感兴趣区 (region of interest); TNT: 靶/非靶比 (the ratio of target to non-target); SUV: 标准化摄取值 (standardized uptake value); TLD: 热释光剂量计 (thermoluminescent dosimeter); TNM: 肿瘤、结节、转移 (tumor, node, metastasis) 等。

《国际放射医学核医学杂志》编辑部