

脂联素基因 rs2241766 多态性与代谢综合征的相关性研究

唐映华^{1,3}, 杨 兰², 莫武宁¹

(1. 广西医科大学, 南宁 530021; 2. 南宁市第二人民医院, 南宁 530031;
3. 广西中医药大学第一附属医院, 南宁 530023)

摘要:目的 探讨脂联素(adiponectin, APN) rs2241766 基因多态性与代谢综合征(metabolic syndrome, MS)患者发生的关系。方法 410例MS患者和203例健康人群纳入研究。使用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测研究对象的血清APN水平,采用限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP)技术检测APN基因 rs2241766 位点T/G基因的多态性,分析各基因型与MS发生的关系。结果 MS患者血清APN水平明显低于对照组(15.3 ± 4.4 mg/ml vs 27.2 ± 6.5 mg/ml),差异有统计学意义($\chi^2 = 41.7, P < 0.001$); rs2241766 位点三种基因型在MS组与对照组间的分布,差异有统计学意义($\chi^2 = 39.222, P < 0.001$), MS组G等位基因频率高于健康人群,差异有统计学意义($\chi^2 = 36.657, P < 0.001$); logistic 回归分析显示研究组G等位基因发生MS的风险高于T等位基因(OR = 2.19, 95% CI: 1.17 ~ 3.01 vs OR = 1.00ref),差异有统计学意义($P = 0.034, < 0.05$)。TG和GG基因型发生MS的风险较TT基因型增高(OR = 1.55, 95% CI: 0.79 ~ 2.83; OR = 2.48, 95% CI: 1.67 ~ 7.35 vs OR = 1.00ref),将TG和GG基因型合并后发生MS风险同样增高(OR = 2.23, 95% CI: 1.21 ~ 6.09),差异均有统计学意义($P = 0.019, 0.006, 0.029$),且TG(15.7 ± 4.1 mg/ml)及GG(14.3 ± 4.5 mg/ml)基因型研究对象的APN水平低于TT基因型(18.7 ± 4.9 mg/ml),差异有统计学意义($F = 7.621, P < 0.001$)。结论 MS的发生可能与rs2241766位点的基因变异相关,尤其是T向G变异的个体发生MS的风险更高,使APN水平降低。

关键词:脂联素; 基因多态性; 代谢综合征

中图分类号: Q786; R58 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414(2020)01-005-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2020.01.002

Association Study between the Polymorphism of Adiponectin Gene rs2241766 and Metabolic Syndrome

TANG Ying-hua^{1,3}, YANG Lan², MO Wu-ning¹

(1. Guangxi University of Medicine, Nanning 530021, China; 2. the Second People's Hospital of Nanning, Nanning 530031, China; 3. the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530023, China)

Abstract: **Objective** To investigate the association between adiponectin (APN) rs2241766 gene polymorphism and patients with metabolic syndrome (MS). **Methods** 410 patients with MS and 203 healthy subjects were included in the study. The serum APN level of the subjects was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the polymorphism of APN gene locus rs2241766 T/G was detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), analyzing the relationship that occurs with MS. **Results** Serum APN levels in the MS group were significantly lower than those in the control group (15.3 ± 4.4 mg/ml vs 27.2 ± 6.5 mg/ml), the difference was statistically significant ($t = 41.7, P < 0.001$). The distribution of the three genotypes of rs2241766 between MS patients and the control group were statistically significant ($\chi^2 = 39.222, P < 0.001$), and the G allele frequency of MS patients was higher than healthy population, the difference was statistically significant ($\chi^2 = 36.657, P < 0.001$). Logistic regression analysis showed that the risk of MS in the G allele was higher than that in the T allele (OR = 2.19, 95% CI: 1.17 ~ 3.01 vs OR = 1.00ref), the difference was statistically significant ($P = 0.034$), and the risk of MS in TG and GG genotypes was higher than that in the TT genotype (OR = 1.55, 95% CI: 0.79 ~ 2.83; OR = 2.48, 95% CI: 1.67 ~ 7.35 vs OR = 1.00ref), the risk of MS was still increased after the combination of TG and GG genotypes (OR = 2.23, 95% CI: 1.21 ~ 6.09), the difference was statistically significant

基金项目:广西高校中青年教师科研基础能力提升项目(2019KY0149),广西壮族自治区卫生和计划生育委员会课题(Z20170797)。

作者简介:唐映华(1986-),女,硕士,主管技师,研究方向:分子生物及免疫学。E-mail: 271101521@qq.com。

通讯作者:莫武宁,女,医学博士,E-mail: mown16300@126.com。

($P=0.019, 0.006, 0.029$). And the APN levels of the TG (15.7 ± 4.1 mg/ml) and GG (14.3 ± 4.5 mg/ml) subjects were lower than those of the TT (18.7 ± 4.9 mg/ml), the difference was statistically significant ($F=7.621, P<0.001$).

Conclusion The occurrence of MS may be related to the site variation of rs2241766, especially the individuals with T-to-G variation have higher risk of MS and lower APN level.

Keywords: adiponectin; gene polymorphism; metabolic syndrome

代谢综合征 (metabolic syndrome, MS) 是心血管及糖尿病的重要影响因素, 可使心脏病患病风险增加 2~3 倍^[1]。近年来 MS 的患病率明显上升^[2]。脂联素 (adiponectin, APN) 是由脂肪组织分泌的激素蛋白, 与高血压、糖尿病、冠心病和 MS 等疾病相关^[3-5]。APN 基因位于染色体的 3q27 区域, 是 2 型糖尿病、MS 及冠心病的易感基因区, 具有丰富的基因多态性^[6]。rs2241766 是 APN 常见的多态性位点, 本研究旨在通过检测 MS 患者 APN 水平及其基因位点 rs2241766 基因多态型 (TT, TG, GG) 及等位基因 (T, G) 的分布频率, 探讨它们与 MS 发生的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 410 例 MS 患者为 MS 组, 其中男性 234 例, 女性 176 例, 年龄 35~65 (平均年龄 50.4) 岁, 所有 MS 患者均按照《中国成年人血脂异常防治指南》^[7] 确诊为 MS 的患者。203 例健康人群为对照组, 其中男性 109 例, 女性 94 例, 年龄 32~61 (平均年龄 45.9) 岁。所有研究对象在纳入时均完成了身高 (167.2 ± 13.7 cm vs 167.8 ± 14.4 cm)、体重 (66.4 ± 5.9 kg vs 61.9 ± 7.1 kg)、腰围 (88.4 ± 6.6 cm vs 81.3 ± 4.6 cm)、臀围 (105.4 ± 11.3 cm vs 93.9 ± 8.2 cm) 及血压 (收缩压 137.5 ± 20.5 mmHg vs 109.5 ± 15.7 mmHg, 舒张压 82.4 ± 12.5 mmHg vs 72.1 ± 8.2 mmHg) 的测量。测量结果显示 MS 组体重、腰围、臀围及血压等指标均高于对照组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。但两组在性别、年龄及身高上差异无统计学意义 ($P>0.05$)。本研究遵循知情同意原则, 所有研究对象均属自愿参加。

1.2 仪器与试剂 日立 7600 全自动生化仪 (日本日立公司), 9700 扩增仪 (美国 ABI 公司), RT-6000 酶标仪 (深圳雷杜公司), 超微量紫外分光计 (美国赛默飞世尔公司), 电泳仪 (北京六一仪器厂), 凝胶成像仪 (珠海黑马生物公司), APN 试剂 (美国 GBD 公司), DNA 抽提试剂 (北京天根公司)。TG, TC, LDL-C, HDL-C 及 FPG 试剂 (罗氏公司)。

1.3 方法

1.3.1 样本采集: 抽取每个受试者静脉血 5ml, 分别置入干燥管和乙二胺四乙酸 (EDTA) 抗凝管中。将血样本以 3 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液至 -20℃ 冷冻保存以备检测。血清用于三酰甘油 (TG)、总胆固醇 (TC)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)、空腹血糖 (FPG) 及 APN 检测, EDTA 抗凝血用于 APN 基因位点多态性检测。

1.3.2 生化参数及 APN 检测: 血清 TG, TC, LDL-C, HDL-C 及 FPG 检测按日立 7600 全自动生化仪及相关试剂盒说明书检测。使用酶联免疫吸附试验检测 APN 水平, 并根据试剂说明书进行处理。

1.3.3 APN 基因检测

1.3.3.1 全血 DNA 的制备: 严格按照试剂说明书操作。采用限制性片段长度多态性聚合酶链反应 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) 技术对 APN 基因进行检测。APN 基因位点 rs2241766 多态性检测上游引物为 5'-CTTGGTGAGGAGAGAGAC-3', 下游引物为 5'-GGAGAATCAGATAATGATG-3'。

1.3.3.2 反应体系: 在 50μl 总体积的反应体系中进行, 包含 DNA 模版 2μl, PCR 混合反应液 8μl (含脱氧核苷三磷酸缓冲液), 上下游引物各 1μl, Taq DNA 聚合酶 0.5 μl 和水 37.5 μl。

1.3.3.3 扩增条件: 94℃ 5min 预变性; 94℃ 1min, 55℃ 45s, 72℃ 1min 持续 35 个循环; 72℃ 延伸 5min。

1.3.3.4 限制性片段长度多态性分析: 取 PCR 扩增产物 20μl, 限制酶 1μl, 缓冲液 3μl, 水 6μl, 在 37℃ 酶切 1h 后, 最后经 2g/dl 琼脂糖凝胶电泳分析酶切后的 DNA 产物, 并判断基因型。每个研究参与者被分为三种可能的基因型之一。

1.4 统计学分析 APN 等位基因进行 Hardy-Weinberg (H-W) 平衡检验, $P>0.05$ 表明样本具有群体代表性。两组间 APN 的基因型和等位基因频率分布采用卡方检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。计数资料采用卡方检验, 计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 t 检验, 多组间计量资料的比较采用方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。rs2241766 各基因型及等位基因发生 MS 的相对风险通过二元逻辑 (logistic) 回归分析比较, 结果用比值比 (OR) 和 95% 置信区间 (95% CI) 表示, OR > 1 表示相对风险增高。所有数据处理使用统计软件 SPSS 20.0 进行。

2 结果

2.1 MS 组与对照组血清中生化指标及 APN 水平 见表 1。MS 组血清 APN 和 HDL-C 水平低于对照组, 而 FPG, TG, TC 及 LDL-C 等水平高于对照组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。

2.2 rs2241766 位点基因型及等位基因频率 见表 2。经 H-W 平衡检验, rs2241766 的基因型和等位基

因频率分布达到平衡($\chi^2 = 3.319, P = 0.068; \chi^2 = 3.808, P = 0.079$)。rs2241766 位点的 TT, TG 及 GG 基因型在 MS 组与对照组间的总体分布上差异有统

计学意义($\chi^2 = 39.222, P < 0.001$), MS 组 GG 基因型高于对照组且 G 等位基因频率也明显高于对照组, 差异均有统计学意义($\chi^2 = 36.657, P < 0.001$)。

表1 MS 组与对照组血清生化指标及 APN 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	MS 组($n = 410$)	对照组($n = 203$)	F/χ^2	P
FPG (mmol/L)	5.81 \pm 2.03	4.47 \pm 0.79	15.1	< 0.001
TG (mmol/L)	2.91 \pm 0.65	1.23 \pm 0.53	31.7	< 0.001
TC (mmol/L)	5.49 \pm 1.73	4.35 \pm 1.26	36.9	< 0.001
LDL-C (mmol/L)	3.42 \pm 1.74	1.74 \pm 0.93	39.6	< 0.001
HDL-C (mmol/L)	1.34 \pm 0.42	1.66 \pm 0.54	8.4	< 0.001
APN (mg/ml)	15.3 \pm 4.4	27.2 \pm 6.5	41.7	< 0.001

表2 MS 患者与对照组 rs2241766 基因检测结果 [$n(\%)$]

组别	n	基因			H-W	等位基因		H-W
		TT	TG	GG		T	G	
MS 组	410	59(14.39)	172(41.95)	179(43.66)	3.319	290(35.37)	530(64.63)	0.068
对照组	203	45(22.17)	114(56.16)	44(21.67)	3.808	204(50.25)	202(49.75)	0.079

2.3 rs2241766 不同基因型发生 MS 的风险比较
logistic 回归分析显示:rs2241766 位点的 TG (OR = 1.55, 95% CI:0.79 ~ 2.83) 和 GG (OR = 2.48, 95% CI:1.67 ~ 7.35) 基因型发生 MS 的风险高于 TT (OR = 1.00ref) 基因型, 将 TG 和 GG 基因型合并, TG + GG (OR = 2.23, 95% CI:1.21 ~ 6.09) 基因型发生 MS 风险同样高于 TT, 差异均有统计学意义 ($P = 0.019, 0.006, 0.029$)。等位基因 T, G 与 MS 发生的相关性分析发现, MS 组 G 等位基因发生 MS 的风险高于 T 等位基因 (OR = 2.19, 95% CI:1.17 ~ 3.01 vs OR = 1.00ref), 差异有统计学意义 ($P = 0.034$)。

2.4 MS 组脂联素基因多态性与血清 APN 水平的关系
进一步对各基因型间的 APN 水平进行分析, 发现 GG 基因型 (14.3 \pm 4.5 mg/ml) 和 TG 基因型 (15.7 \pm 4.1 mg/ml) 的 APN 水平明显低于 TT 基因型 (18.7 \pm 4.9 mg/ml), 将 TG 和 GG 基因型合并后发现 TT + GG 基因型 (14.9 \pm 5.1 mg/ml) 的 APN 水平同样低于 TT 基因型 ($F = 7.621, P < 0.001$)。而 TG, GG 及 TG + GG 组间 ANP 水平无差异。

3 讨论

MS 是一组复杂的代谢紊乱, 由多基因和多种环境相互作用导致的疾病。该病近年在 60 岁以上人群的患病率从 25.5% 上升到 32.4%^[8], 是糖尿病与心血管疾病 (CVD) 的重要危险因素。许多 MS 患者最终会发展为 CVD 和肾脏疾病, 导致心脑血管病的发生率和病死率居高不下^[9]。

APN 是脂肪组织特异性分泌的激素蛋白, 可促进代谢功能并提供心血管保护^[10], 目前被认为是 MS

的生物学标记物^[11]。本研究结果显示 MS 患者血清 APN 水平明显低于健康人群 ($P < 0.001$), 表明 APN 水平降低与 MS 的发生密切相关, 提示 APN 在 MS 的发生、发展中起着重要的作用, 这与相关报道一致^[12-14]。在 APN 基因 rs2241766 位点多态性基因型 (TT, TG, GG) 和等位基因 (T, G) 频率分析中发现, MS 组 GG 基因型分布频率明显高于对照组 ($P < 0.001$), G 等位基因在 MS 组较对照组更为常见。对年龄进行调整后 logistic 回归分析显示 TG 和 GG 基因型的研究对象相对于 TT 基因型发生 MS 的风险分别增高 1.55 倍和 2.48 倍。与 T 等位基因研究对象相比, G 等位基因研究对象发生 MS 的风险增高 2.19 倍。进一步对 TT, TG 及 GG 基因型组间的 APN 水平进行比较, 结果显示 GG 基因型和 TG 基因型研究对象的 APN 水平明显低于 TT 基因型。提示 TG 和 GG 基因型研究对象可能会使 APN 水平降低, 更容易发生 MS, 表明这种基因型是 MS 的危险因素。这之前^[15-17]的研究报道基本一致。此外, 毛维维等^[18]学者提出肥胖患者更容易出现代谢功能异常。顾进等^[19]人也指出肥胖是一种低度炎症性的代谢紊乱。本研究结果显示, MS 患者与对照组间的血糖、血脂、血压和体重的差异均有统计学意义。MS 组 FPG, TG, TC, LDL-C, 体重及血压等指标明显升高。间接反映了肥胖者脂肪组织 TG, TC 贮存代谢能力和胰岛素抵抗程度有关, 致使 APN 水平降低。

综上, APN 基因 rs2241766 位点变异可能与 MS 发生相关。尤其是 T 向 G 变异的个体可能导致 APN 水平降低, 更容易发生 MS。

参考文献:

- [1] SHIN J A, LEE J H, LIM S Y, et al. Metabolic syndrome as a predictor of type 2 diabetes, and its clinical interpretations and usefulness[J]. Journal of Diabetes Investigation, 2013, 4(4): 334-343.
- [2] XU Tao, LIU Junting, LIU Junxiu, et al. Relation between metabolic syndrome and body compositions among Chinese adolescents and adults from a large-scale population survey [J]. BMC Public Health, 2017, 17(1): 337.
- [3] ITO R, NARITA S, HUANG Mingguo, et al. The impact of obesity and adiponectin signaling in patients with renal cell carcinoma: A potential mechanism for the "obesity paradox" [J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0171615.
- [4] 刘运端,林世恒. 脂联素及其基因多态性与广西瑶族冠心病的关系[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(4): 56-59.
LIU Yunduan, LIN Shiheng. Study on relations between adiponectin and its gene polymorphism and Yao Coronary heart disease of Guangxi district [J]. J Mod Lab Med, 2015, 30(4): 56-59.
- [5] 宋静,彭素芳. 妊娠糖尿病患者血清脂联素与炎症因子的关系及临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(3): 139-140, 143.
SONG Jing, PENG Sufang. Clinical significance and relationship of serum adiponectin with inflammatory factors in gestational diabetes mellitus [J]. J Mod Lab Med, 2011, 26(3): 139-140, 143.
- [6] FLYNN C, BAKRIS G L. Interaction between adiponectin and aldosterone[J]. Cardioresenal Medicine, 2011, 1(2): 96-101.
- [7] 中国成人血脂异常防治指南制订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南[J]. 中国实用乡村医生杂志, 2012, 19(18): 5-15.
Joint Committee for Developing Chinese Guidelines on Prevention and Treatment of Dyslipidemia in Adults. Chinese guidelines on prevention and treatment of dyslipidemia in adults [J]. Chinese Practical Journal of Rural Doctor, 2012, 19(18): 5-15.
- [8] LI Ri, LI Wenchen, LUN Zhijun, et al. Prevalence of metabolic syndrome in mainland China: a meta-analysis of published studies [J]. BMC Public Health, 2016, 16: 296.
- [9] YAN Ruohua, LI Wei, YIN Lu, et al. Cardiovascular diseases and risk-factor burden in urban and rural communities in high-, middle-, and low-income regions of China: a large community-based epidemiological study [J]. Journal of the American Heart Association, 2017, 6(2): e004445.
- [10] PARKER-DUFFEN J L, WALSH K. Cardiometabolic effects of adiponectin[J]. Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism, 2014, 28(1): 81-91.
- [11] HOUSHMAND-OEREGAARD A, HANSEN N S, HJORT L, et al. Differential adipokine DNA methylation and gene expression in subcutaneous adipose tissue from adult offspring of women with diabetes in pregnancy [J]. Clinical Epigenetics, 2017, 9: 37.
- [12] CHO S A, JOO H J, CHO J Y, et al. Visceral fat area and serum adiponectin level predict the development of metabolic syndrome in a Community-Based asymptomatic population [J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0169289.
- [13] KANG D R, YADAV D, KOH S B, et al. Impact of serum leptin to adiponectin ratio on regression of metabolic syndrome in High-Risk individuals: the ARIRANG study [J]. Yonsei Medical Journal, 2017, 58(2): 339-346.
- [14] KIM J Y, AHN S V, YOON J H, et al. Prospective study of serum adiponectin and incident metabolic syndrome the ARIRANG study [J]. Diabetes Care, 2013, 36(6): 1547-1553.
- [15] YUAN Huiping, SUN Liang, LI Xinghui, et al. Association of adiponectin polymorphism with metabolic syndrome risk and adiponectin level with stroke risk: a meta-analysis [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 31945.
- [16] ZHAO Na, LI Ningxia, ZHANG Shengjun, et al. Associations between two common single nucleotide polymorphisms (rs2241766 and rs1501299) of ADIPOQ gene and coronary artery disease in type 2 diabetic patients: a systematic review and meta-analysis [J]. OncoTarget, 2017, 8(31): 51994-52005.
- [17] PETERS K E, BEILBY J, CADBY G, et al. A comprehensive investigation of variants in genes encoding adiponectin (ADIPOQ) and its receptors (ADIPOR1/R2), and their association with serum adiponectin, type 2 diabetes, insulin resistance and the metabolic syndrome [J]. BMC Medical Genetics, 2013, 14: 15.
- [18] 毛维维,伊桂叶. 不同肥胖类型患者血清代谢指标与内脏脂肪指数的相关性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(5): 1-3, 8.
MAO Weiwei, YI Guiye. Correlation between serum metabolic indexes of different obesity types and visceral adiposity index [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34(5): 1-3, 8.
- [19] 顾进,侯思南,许海英. 中性粒细胞淋巴细胞比率在衡量肥胖病人炎症状态的初步探讨[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(6): 147-149.
GU Jin, HOU Sinan, XU Haiying. Preliminary study on neutrophil-lymphocyte ratio as an indicator of inflammatory state in obese patients [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2016, 31(6): 147-149.

收稿日期: 2019-11-12

修回日期: 2019-11-29