

多聚双磷酸腺苷核糖聚合酶-1 基因与儿童肥胖和非酒精性脂肪肝的关联

李晨雄¹, 宋洁云², 宋绮莹¹, 刘峥¹, 王海俊¹

1. 北京大学公共卫生学院妇幼卫生系, 北京 100191; 2. 北京大学儿童青少年卫生研究所

【摘要】 目的 研究多聚双磷酸腺苷核糖聚合酶-1 (*PARP1*) 基因 rs1136410 多态性与儿童青少年肥胖和非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 的关系, 为阐明儿童青少年肥胖和 NAFLD 的发病机制与制定早期预防策略提供依据。**方法** 选取北京市 2 030 名 7~18 岁中小学生进行身体测量, 并对部分学生进行肝脏 B 超检查。利用基质支持的激光释放/电离飞行时间质谱分析 (MALDI-TDF MS) 对 *PARP1* 基因 rs1136410 多态性进行检测。采用多元 Logistic 回归分析 rs1136410 多态性与儿童青少年肥胖或 NAFLD 的关系。**结果** 2 030 名中小学生中, 检出肥胖者 705 名。在所有样本中, *PARP1* 基因 rs1136410 的 G 和 A 的等位基因频率分别为 43.86% 和 56.14%。校正性别、年龄和研究人群后发现, *PARP1* 基因 rs1136410 多态性每增加 1 个 A 等位基因, 发生肥胖的风险增加为 1.17 倍 (95% CI = 1.02~1.33, $P=0.03$), 发生非酒精性脂肪肝的风险增加为 1.43 倍 (95% CI = 1.11~1.85, $P=0.01$); 进一步校正 BMI 后, rs1136410 多态性与 NAFLD 无相关性 ($P=0.70$)。**结论** *PARP1* 基因 rs1136410 多态性与儿童青少年肥胖和 NAFLD 有相关性, 该基因多态性对 NAFLD 的作用可能是通过影响 BMI 实现。

【关键词】 聚腺苷二磷酸核糖; 肥胖症; 脂肪肝; 儿童

【中图分类号】 R 723.14 R 179 R 575 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-9817(2019)06-0900-03

Association between poly (ADP-ribose) polymerase-1 polymorphism and obesity and non-alcoholic fatty liver disease among children and adolescents/LI Chenxiong*, SONG Jieyun, SONG Qiying, LIU Zheng, WANG Haijun.* Department of Maternal and Child Health, Peking University, Beijing (100191), China

【Abstract】 Objective To study the relationship between rs1136410 polymorphism in poly (ADP-ribose) polymerase-1 gene (*PARP1*) with obesity and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in children and adolescents, and to provide a reference for demonstrating the mechanism of obesity and NAFLD of children and adolescents and making the early prevention strategies. **Methods** In total, 2 030 children and adolescents aged 7~18 years old were recruited. Anthropometric measurements were performed. Liver B-ultrasound detection were performed in a subgroup. The matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry (MALDI-TDF MS) was used for genotyping the rs1136410 polymorphism. Logistic regression was used to analyze the relationship between rs1136410 polymorphism and obesity or NAFLD in children and adolescents. **Results** Totally, 1 325 subjects were in non-obese group and 705 subjects were in obese group. The frequency of G allele and A allele were 43.86% and 56.14%. After adjusting for gender, age, and study population, the risk of obesity increased by 1.17 times for each additional A allele of rs1136410 polymorphism ($OR=1.17$, 95% CI = 1.02~1.33, $P=0.03$). And the risk of NAFLD increased by 1.43 times for each additional A allele of rs1136410 polymorphism ($OR=1.43$, 95% CI = 1.11~1.85, $P=0.01$). After further adjustment for BMI, rs1136410 polymorphism was not associated with NAFLD ($P=0.70$). **Conclusion** The rs1136410 polymorphism in *PARP1* gene is associated with obesity and NAFLD in children and adolescents. The effect of the gene polymorphism on NAFLD is mediated by BMI.

【Key words】 Poly adenosine diphosphate ribose; Obesity; Fatty liver; Child

近年来, 发达国家及发展中国家儿童青少年肥胖率均呈持续上升趋势^[1], 已成为一个越来越严重的全球公共卫生问题。肥胖与脂代谢异常和非酒精性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 密切相关^[2]。肥胖和 NAFLD 是心血管疾病的危险因素^[3]。

因此, 在儿童青少年中进行肥胖和 NAFLD 的研究, 对于心血管疾病等慢性疾病的早期预防有重要作用。

多聚双磷酸腺苷 (ADP)-核糖聚合酶-1 (*PARP1*) 是一个在人体组织中广泛存在的核 DNA 损伤修复酶^[4]。有研究表明, 不同谱系小鼠 *PARP1* 基因敲除后引发不同的表现, C57BL/6 小鼠群体中出现体重下降^[5], 而 129 遗传背景的小鼠中正常饮食则出现增重更多的现象^[6]。高脂饮食喂养的 *PARP1* 基因敲除 C57BL/6 小鼠, 肝脏重量明显升高, 血清胆固醇水平升高, 肝脏发生脂肪变性^[7]。提示 *PARP1* 基因可能在肥胖和肝脏脂肪化发生中有作用。但到目前为止, *PARP1* 基因多态性对人群肥胖以及 NAFLD 的关系还

【基金项目】 国家自然科学基金项目 (81573170)。

【作者简介】 李晨雄 (1994-), 男, 北京市人, 在读硕士, 主要研究方向为儿童肥胖的遗传易感性。

【通讯作者】 王海俊, E-mail: whjun1@bjmu.edu.cn。

DOI: 10.16835/j.cnki.1000-9817.2019.06.030

不清楚。因此,本研究旨在分析 *PARP1* 基因 rs1136410 多态性与儿童青少年肥胖及 NAFLD 的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象 研究对象来自课题组前期收集的 2 批样本,共 2 030 名中小學生。第一批研究人群(研究 1)是 2004 年从北京市东城区 9 所中学选择的 937 名 14~17 岁初中生,平均年龄(14.64 ± 0.59)岁,体重正常者 151 名,超重者 400 名,肥胖者 386 名;第二批研究人群(研究 2)是 2006 年从北京市海淀区 3 所中学和 2 所小学选择的 1 093 名 7~18 岁中小學生,平均年龄(11.41 ± 2.86)岁,体重正常者 456 名,超重者 318 名,肥胖者 319 名。研究 1 和 2 样本的体重正常组是从入选学校每个年级抽取 2 个班中获得,超重组和肥胖组为抽取学校中所有超重和肥胖中小學生。根据病史和体检资料,排除心、肺、肝、肾等重要脏器疾病,身体发育异常,由于内分泌疾病、药物副作用等引起的肥胖。以上 2 项研究均获得所有研究学生及其家长的知情同意,并通过北京大学生物医学研究伦理委员会的审批。

1.2 方法

1.2.1 身体测量及肥胖判定 对所有研究对象进行身高、体重的测量,测量依据全国学生体质与健康调研检测方法, $BMI = \text{体重}(\text{kg}) / \text{身高}^2(\text{m}^2)$ 。参照《中国学龄儿童青少年超重、肥胖体重指数值筛查分类标准》^[8] 对研究对象按照性别、年龄进行营养状况的判定。

1.2.2 *PARP1* 基因 rs1136410 多态性分型 采用常规酚/氯仿法从血凝块中提取基因组 DNA。用基质支持的激光释放/电离飞行时间质谱分析(MALDI-TOF MS)检测 rs1136410 多态性的基因型,主要步骤为:(1)多重 PCR 反应扩增;(2)虾碱性磷酸酶反应去除未反应完全的 dNTP;(3)单碱基延伸反应;(4)所得产物去除盐分并转移到芯片上使用质谱仪进行基因型检测。每轮实验均设置 2 个阴性对照和 2 对平行样本。2 030 个样本中共有 2 021 个样本(99.6%)基因分型成功。

1.2.3 肝脏 B 超检查和 NAFLD 的判定方法 在第二批研究(研究 2)儿童中进行肝脏 B 超检测。NAFLD 判定方法为排除酒精史,依据 B 超检测结果^[9]:(1)肝区近场回声弥漫性增强(强于肾脏和脾脏),远场回声逐渐衰减;(2)肝内管道结构显示不清;(3)肝脏轻至中度肿大,边缘角圆钝;(4)彩色多普勒血流显像提示肝内彩色血流信号减少或不易显示,但肝内血管走向正常;(5)肝右叶包膜及横膈回声显示不清或不完整。具备上述(1)及(2)(3)(4)中 1 项者为轻度脂肪肝;具备上述(1)及(2)(3)(4)中 2 项者为中度脂肪肝;具备上述(1)及(2)(3)(4)项中 2 项和(5)项者为重

度脂肪肝。本研究分析时将轻度、中度、重度脂肪肝合并为 NAFLD。

1.3 统计分析 采用 SPSS 24.0 进行统计学分析。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以例数表示,组间比较进行 χ^2 检验。用 χ^2 检验进行 *PARP1* 基因 rs1136410 多态性基因型分布的 Hardy-Weinberg 平衡检验。用 $F_{ST} = (P_1 - P_2)^2 / \{ (P_1 + P_2) \times [2 - (P_1 + P_2)] \}$ 公式计算 F_{ST} , P_1 表示 rs1136410 多态性 A 等位基因在 1 000 G 数据库中其他人群的频率, P_2 表示该多态性 A 等位基因在本研究中的频率^[10-11]。 F_{ST} 反映同一基因多态性在 2 个种族人群的基因频率差异情况。 F_{ST} 在 0~0.05 表示种族差异很小;0.05~0.15 表示中等种族差异;0.15~0.25 表示较大种族差异;大于 0.25 表示非常大的种族差异^[12]。用多元 Logistic 回归分析 *PARP1* 基因 rs1136410 多态性与肥胖及 NAFLD 的相关性,使用加性模型并校正研究人群、年龄和性别的影响,进一步校正 BMI 后分析 rs1136410 多态性与 NAFLD 的相关性。用多元线性回归分析 rs1136410 多态性和 BMI 的相关性,使用加性模型并将研究人群、年龄和性别作为协变量,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 *PARP1* 基因 rs1136410 多态性的基因型分型情况 非肥胖组 rs1136410 多态性的基因型分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律($P > 0.05$)。所有样本中 rs1136410 多态性 G 等位基因的频率为 43.86%, A 等位基因的频率为 56.14%。1 000 G 基因数据库中,东亚人群的 G 等位基因频率为 43.7%, A 等位基因频率为 56.3%,欧洲人群的 G 和 A 等位基因频率分别为 15.4% 和 84.6%。rs1136410 多态性频率与东亚人群非常接近($F_{ST} = 2.60 \times 10^{-6}$),与欧洲人群相比有中等种族差异($F_{ST} = 0.10$)^[13]。

2.2 *PARP1* 基因 rs1136410 多态性与肥胖和 BMI 的相关性 采用多元 Logistic 回归分析,使用加性模型校正研究人群、年龄和性别后,分析 rs1136410 多态性与肥胖的关系。rs1136410 多态性每增加 1 个 A 等位基因,发生肥胖的风险增加 1.17 倍。用多元线性回归分析 rs1136410 多态性与 BMI 的关系,结果无统计学意义,但是 A 等位基因可导致 BMI 升高的趋势($OR = 0.23, 95\% CI = -0.02 \sim 0.47, P = 0.08$)。见表 1。

2.3 *PARP1* 基因 rs1136410 多态性与 NAFLD 的相关性 采用多元 Logistic 回归,使用加性模型校正年龄和性别后分析 rs1136410 多态性与 NAFLD 的关系,发现 rs1136410 多态性每增加一个 A 等位基因,发生 NAFLD 的风险增加为 1.43 倍;进一步校正 BMI 后,rs1136410 多态性与 NAFLD 的相关无统计学意义($P = 0.70$)。见表 1。

表 1 <i>PARP1</i> 基因 rs1136410 多态性与肥胖和 NAFLD 的相关性					
组别	GG	GA	AA	OR 值(OR 值 95%CI)	P 值
是否肥胖					
否	272(20.6)	646(49.0)	400(30.4)		
是	115(16.4)	353(50.2)	235(33.4)	1.17(1.02~1.33)	0.03
是否 NAFLD					
否	174(20.2)	426(49.5)	261(30.3)		
是	16(9.9)	86(53.4)	59(36.6)	1.43(1.11~1.85)	0.01

注:()内数字为构成比/%。

3 讨论

本研究结果发现该多态性 A 等位基因与儿童肥胖和 NAFLD 存在相关性。研究发现每增加一个 A 等位基因,造成儿童肥胖和 NAFLD 的发生风险分别增加为 1.17 和 1.43 倍,进一步校正 BMI 后该基因多态性与 NAFLD 不具有相关性。

PARP1 是一个核 DNA 损伤修复酶,*PARP1* 基因 rs1136410 多态性与肿瘤发生有关^[14]。有研究发现,该多态性 GG 基因型是冠状动脉疾病的保护性因素,也就是说携带 A 等位基因是危险因素^[15]。与本研究结果一致。同一基因多态性对不同疾病的效应方向的不同,提示 rs1136410 多态性在肿瘤和营养代谢性疾病中作用机制的复杂性。

不同谱系小鼠 *PARP1* 基因敲除后引发不同的表现,C57BL/6 小鼠群体中出现体重下降^[5,7],而 129 遗传背景的小鼠中正常饮食则出现增重更多的现象^[6]。而本研究中,*PARP1* 基因 rs1136410 多态性 G 等位基因导致体重下降,与 C57BL/6 品系小鼠表现一致,提示 C57BL/6 品系小鼠基因敲除结果与本研究发现该基因多态性在人体中的作用方向一致。

Erener 等^[7]敲除 C57BL/6 品系小鼠的 *ARTD1* 基因(*PARP1* 基因的别名),在高脂饮食喂养后,*ARTD1* 基因敲除小鼠相比野生型小鼠出现了肝脏脂肪堆积,并且肝脏重量增加。而 Huang 等^[8]对 129 品系小鼠研究发现,高脂饮食喂养 10 周并敲除 *PARP1* 基因的小鼠,与高脂饮食喂养 10 周的野生型小鼠相比,*PARP1* 基因敲除小鼠的肝脏脂肪堆积更少。敲除 *PARP1* 基因,并经过高脂饮食喂养后,不同品系小鼠 *PARP1* 基因对肝脏脂肪堆积的影响不一致,提示 *PARP1* 基因在肝脏脂肪堆积的作用机制复杂,需要进一步研究。

本研究发现,*PARP1* 基因与 NAFLD 患病情况的相关性,进一步校正 BMI 后相关性消失,推测该多态性与 NAFLD 的关联可能是通过影响 BMI 实现。有研究指出,肥胖对 NAFLD 有独立作用,与体重正常的人相比,肥胖者患 NAFLD 的增加为 3.5 倍,BMI 和 NAFLD 还存在剂量依赖的相关性,BMI 每升高 1 个单位,患 NAFLD 的风险增加 1.2 倍^[9]。

综上所述,本研究首次在人群研究中发现 *PARP1*

基因 rs1136410 多态性与儿童肥胖和 NAFLD 有相关性,该基因多态性对 NAFLD 的作用可能是通过影响 BMI 实现。

4 参考文献

[1] NG M, FLEMING T, ROBINSON M, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013[J]. Lancet, 2014, 384(9945): 766–781.

[2] U.S. National library of Medicine, National Center for Biotechnology Information db.SNP short genetce variations[EB/OL]. [2018–10–02]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1136410#frequency_tab.

[3] ADAMS L A, ANSTEE Q M, TILG H, et al. Non-alcoholic fatty liver disease and its relationship with cardiovascular disease and other extrahepatic diseases[J]. Gut, 2017, 66(6): 1138–1153.

[4] HASSA P O, HAENNI S S, ELSER M, et al. Nuclear ADP-ribosylation reactions in mammalian cells: where are we today and where are we going? [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2006, 70(3): 789–829.

[5] BAI P, CANTO C, OUDART H, et al. PARP–1 inhibition increases mitochondrial metabolism through SIRT1 activation[J]. Cell Metab, 2011, 13(4): 461–468.

[6] DEVALARAJA-NARASHIMHA K, PADANILAM B J. PARP1 deficiency exacerbates diet-induced obesity in mice[J]. J Endocrinol, 2010, 205(3): 243–252.

[7] ERENER S, MIRSAIDI A, HESSE M, et al. ARTD1 deletion causes increased hepatic lipid accumulation in mice fed a high-fat diet and impairs adipocyte function and differentiation[J]. Faseb J, 2012, 26(6): 2631–2638.

[8] HUANG K, DU M, TAN X, et al. PARP1-mediated PPARalpha poly (ADP-ribosyl) ation suppresses fatty acid oxidation in non-alcoholic fatty liver disease[J]. J Hepatol, 2017, 66(5): 962–977.

[9] LI L, LIU D W, YAN H Y, et al. Obesity is an independent risk factor for non-alcoholic fatty liver disease: evidence from a meta-analysis of 21 cohort studies[J]. Obes Rev, 2016, 17(6): 510–519.

[10] WEIR B S, COCKERHAM C C. Estimating f-statistics for the analysis of population structure[J]. Evolution, 1984, 38(6): 1358–1370.

[11] DUAN S, ZHANG W, COX N J, et al. FstSNP-HapMap3: a database of SNPs with high population differentiation for HapMap3[J]. Bioinformatics, 2008, 3(3): 139–141.

[12] BALLOUX F, LUGON-MOULIN N. The estimation of population differentiation with microsatellite markers[J]. Mol Ecol, 2002, 11(2): 155–165.

[13] KUMAR S, KELLY A S. Review of childhood obesity: from epidemiology, etiology, and comorbidities to clinical assessment and treatment [J]. Mayo Clin Proc, 2017, 92(2): 251–265.

[14] HUA R X, LI H P, LIANG Y B, et al. Association between the PARP1 Val762Ala polymorphism and cancer risk: evidence from 43 studies [J]. PLoS One, 2014, 9(1): e87057.

[15] WANG X B, CUI N H, ZHANG S, et al. PARP–1 variant Rs1136410 confers protection against coronary artery disease in a Chinese han population: a two-stage case-control study involving 5643 subjects[J]. Front Physiol, 2017, 8: 916.