

基因多态性对儿童肥胖和代谢异常的影响

张美仙 赵小元 席波 沈玥 吴丽君 程红 侯冬青 米杰

【摘要】 目的 在中国儿童中验证肥胖相关基因多态性对肥胖及代谢异常的影响。**方法** 研究对象来源于 2004 年北京儿童青少年代谢综合征研究(BCAMS)的 3 503 名 6~18 岁学龄儿童,包括肥胖组 1 229 名、超重组 655 名和正常体重组 1 619 名。采用盐析法从外周血白细胞中提取 DNA。使用 ABI Prisms™-7900 实时荧光定量 PCR 仪对 11 个基因的多态性位点(FTO rs9939609、MC4R rs17782313、GNPDA2 rs10938397、FAIM2 rs7138803、BDNF rs6265、NPC1 rs1805081、PCSK1 rs6235、KCTD15 rs29941、BAT2 rs2844479、SEC16B rs10913469 和 SH2B1 rs4788102)进行分型检测。采用中国肥胖问题工作组推荐的 BMI 分类标准判定超重和肥胖。采用多因素分析基因多态性对儿童期肥胖相关性状的影响。采用错误发现率(FDR)方法校正多重检验。**结果** 控制年龄、性别和青春发育期的影响后,FTO rs9939609-A、MC4R rs17782313-C、GNPDA2 rs10938397-G 和 FAIM2 rs7138803-A 等位基因增加儿童 BMI($\beta = 0.352 \sim 0.747$)、体脂百分比($\beta = 0.568 \sim 1.113$)、腰围($\beta = 0.885 \sim 1.649$)和腰围身高比($\beta = 0.005 \sim 0.010$)的水平($P < 0.01$),BDNF rs6265-G 等位基因增加儿童 BMI($\beta = 0.251, P = 0.020$)和体脂百分比($\beta = 0.416, P = 0.040$)水平。校正多重检验后,除 rs6265 与体脂百分比的关联消失外,其余 SNP 与肥胖评价指标的关联仍有意义。FTO rs9939609-A、MC4R rs17782313-C、GNPDA2 rs10938397-G、FAIM2 rs7138803-A 和 BDNF rs6265-G 等位基因增加儿童肥胖风险($OR = 1.386, 95\% CI: 1.171 \sim 1.642; OR = 1.367, 95\% CI: 1.196 \sim 1.563; OR = 1.242, 95\% CI: 1.102 \sim 1.400; OR = 1.154, 95\% CI: 1.021 \sim 1.305; OR = 1.156, 95\% CI: 1.031 \sim 1.296$);其中 FAIM2 rs7138803 仅增加男童肥胖风险($OR = 1.234, 95\% CI: 1.043 \sim 1.460$)。校正多重检验后,上述 SNP 与儿童肥胖的关联仍有意义。同时,GNPDA2 rs10938397-G 等位基因还增加儿童胰岛素抵抗风险($OR = 1.205, 95\% CI: 1.069 \sim 1.359$),但在控制 BMI 后关联消失。**结论** FTO rs9939609-A、MC4R rs17782313-C、GNPDA2 rs10938397-G 和 FAIM2 rs7138803-A 增加儿童肥胖评价指标(BMI、体脂百分比、腰围和腰围身高比)的水平及肥胖风险,BDNF rs6265-G 等位基因增加儿童 BMI 水平和肥胖风险;其中 GNPDA2 rs10938397-G 通过影响 BMI 可增加儿童胰岛素抵抗的风险。

【关键词】 儿童; 肥胖症; 基因多态性; 代谢异常

Impact of obesity-related gene polymorphism on risk of obesity and metabolic disorder in childhood

Zhang Meixian*, Zhao Xiaoyuan, Xi Bo, Shen Yue, Wu Lijun, Cheng Hong, Hou Dongqing, Mi Jie.

* Department of Epidemiology, Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China

Corresponding author: Mi Jie, Email: jiemj@vip.163.com

【Abstract】 Objective To examine the impact of single nucleotide polymorphisms in obesity-related genes on risk of obesity and metabolic disorder in childhood. **Methods** A total of 3 503 Chinese children aged 6 to 18 years participated in the study, including 1 229 obese, 655 overweight and 1 619 normal weight children (diagnosed by the Chinese age- and sex- specific BMI cutoffs). Body size parameters were assessed and venipuncture blood samples were collected after a 12-hour overnight fast. Plasma glucose, insulin and serum lipid profiles were measured. Genomic DNA was isolated from peripheral blood white cells using the salt fractionation method. A total of 11 single nucleotide polymorphisms were genotyped by TaqMan allelic

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2014.09.007

基金项目:国家重点基础研究发展计划(2013CB530605);北京市科技计划重点项目(D111100000611002);“十二五”国家科技支撑计划(2012BAI03B03)

作者单位:100020 北京,首都儿科研究所流行病学研究室(张美仙、赵小元、吴丽君、程红、侯冬青、米杰);北京协和医学院研究生院(张美仙、米杰);山东大学公共卫生学院流行病与卫生统计学教研室(席波);国家人口计生委科学技术研究所人类遗传资源中心(沈玥)

通信作者:米杰,Email:jiemj@vip.163.com

discrimination assays with the GeneAmp 7900 sequence detection system (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) (FTO rs9939609, MC4R rs17782313, GNPDA2 rs10938397, FAIM2 rs7138803, BDNF rs6265, NPC1 rs1805081, PCSK1 rs6235, KCTD15 rs29941, BAT2 rs2844479, SEC16B rs10913469 and SH2B1 rs4788102). Multiple factor analysis was performed to estimate the association between the variant and obesity-related traits. The false discovery rate (FDR) approach was used to correct for multiple comparisons. **Results** After sex, age and pubertal stage adjustment and correction for multiple testing, the rs9939609-A, rs17782313-C, rs10938397-G, and rs7138803-A alleles were associated with higher BMI ($\beta = 0.352-0.747$), fat mass percentage ($\beta = 0.568-1.113$), waist circumference ($\beta = 0.885-1.649$) and waist-to-height ratio ($\beta = 0.005-0.010$) (all P values < 0.01) in Chinese children. The rs6265-G allele increased BMI ($\beta = 0.251, P = 0.020$). The rs9939609-A, rs17782313-C, and rs10938397-G and rs6265-G alleles were also associated with risk of obesity ($OR = 1.386, 95\% CI: 1.171-1.642$; $OR = 1.367, 95\% CI: 1.196-1.563$; $OR = 1.242, 95\% CI: 1.102-1.400$; $OR = 1.156, 95\% CI: 1.031-1.296$). Rs7138803 was associated with risk of obesity only in boys ($OR = 1.234, 95\% CI: 1.043-1.460$). GNPDA2 rs10938397-G allele was associated with risk of insulin resistance ($OR = 1.205, 95\% CI: 1.069-1.359$), but there was no significance after adjusting for BMI. **Conclusion** The association of FTO rs9939609-A, MC4R rs17782313-C, GNPDA2 rs10938397-G, and FAIM2 rs7138803-A with higher BMI, fat mass percentage, waist circumference, and waist-to height ratio and risk of obesity, and BDNF rs6265-G allele may increase BMI and obesity risk in Chinese children. GNPDA2 rs10938397-G may increase the risk of childhood insulin resistance depending on BMI.

【Key words】 Child; Obesity; Gene polymorphism; Metabolic disorder

儿童肥胖已成为影响人口健康的重大公共卫生问题。目前中国学龄儿童男、女生超重合并肥胖检出率分别达到 18.5% 和 10.6%^[1], 并且超过 50% 的超重或肥胖儿童将持续发展为超重或肥胖的成年人^[2]。与正常体重者相比, 这些超重或肥胖儿童将较早发生糖尿病和心血管疾病, 进而导致早期死亡和机体残疾。

肥胖是一种常见、复杂性多基因疾病, 由多种基因和环境因素共同作用所致。遗传因素在肥胖的发生中约占 40% ~ 70%^[3-4]。全基因组关联研究 (genome-wide association study, GWAS) 已发现许多与肥胖相关的基因^[5-8], 如 FTO、MC4R 和 GNPDA2 基因等, 但这些结果多来源于欧裔成年人的研究。由于肥胖具有明显的遗传异质性、表型复杂性和种族差异性, 这些结果是否适用于其他人种还有待验证。儿童的能量摄入和行为方式等随生长发育过程而变化, 基因变异和环境因素的相互作用非常复杂, 肥胖的遗传易感性也可能与成年人不同。所以, 针对国外 GWAS 发现的肥胖相关基因位点, 有必要在中国人特别是儿童中进行重复研究予以验证。

笔者利用 2004 年北京市儿童青少年代谢综合征 (Beijing child and adolescent metabolic syndrome, BCAMS) 研究资源, 筛选并检测欧裔成年人研究发现的 11 个肥胖相关基因的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP), 旨在验证这些基因位点是否与中国儿童肥胖及相关代谢异常关联, 并探讨遗传和生活行为因素及其相互作用对儿童肥胖的影响。

对象与方法

一、对象

来源于 2004 年建立的 BCAMS 研究^[9] 中 6 ~ 18 岁中小学生, 以筛查出的肥胖学生并接受静脉采血者为肥胖组 (1 229 名), 同时按照 1:2 招募非肥胖 2 274 名学生作为对照组 (包括超重 655 名和正常体重 1 619 名), 调查对象共计 3 503 名。本研究和方案得到首都儿科研究所伦理委员会批准, 调查对象均由本人或家长签署书面知情同意书。

二、方法

1. 问卷调查: 包括儿童的年龄、性别、城乡居住地、膳食习惯 (包括豆制品、海产品、奶制品、蔬菜、水果)、吸烟、饮酒、看电视、使用计算机和游戏机、业余体育活动等情况。采用自我报告方法收集父、母身高和体重数据, 计算 BMI, 以 $BMI \geq 28 \text{ kg/m}^2$ 作为判断父、母肥胖的标准。其中双亲至少 1 名肥胖视为有肥胖家族史。

2. 体格检查: (1) 标准测量法测定身高和体重, 计算 BMI^[9]。(2) 腰围 (WC): 受试者直立, 双足并拢, 取双侧腋中线髂骨上缘与肋骨下缘连线中点水平, 于正常呼气末测量, 读数精确至 0.1 cm, 测 2 次, 取平均值^[10]。计算腰围身高比 (WHtR) = 腰围/身高。(3) 体脂百分比 (FMP): 采用日本百利达 (TANITA) 公司生产的体脂肪测量仪 (TBF-300) 进行测量, 精确至 0.1 kg。(4) 采用汞柱式血压计测量坐位右上臂肱动脉血压, 记录 Korotkoff 第 I 音为收缩压 (SBP), 第 IV 音为舒张压 (DBP), 连续测量

3 次,每次间隔 1 min 并抬高右臂 5 ~ 6 s;相邻两次读数之差不超过 4 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa),取后两次读数的平均值作为受试者的 SBP 和 DBP。(5) 青春期发育:采用现况法(status quo method),按照 Tanner 5 分期法评价男童睾丸容积和女童乳房发育水平。

3. 生化指标检测:采集空腹静脉血,分离血清、血浆和白细胞,置 -80 °C 保存待用。血浆葡萄糖(FPG)采用己糖激酶法,血清 TG、TC 采用酶法,血清 HDL-C、LDL-C 采用直接法,由美国罗氏公司提供试剂,统一在日立 7060C 全自动生化分析仪上完成检测。采用双抗体夹心放大酶联免疫吸附法(BA-ELISA)测定血浆胰岛素(FPI)水平。

4. 基因分型检测:采用盐析法从外周血白细胞中提取基因组 DNA。通过文献查阅和专家研讨,筛选并确定 11 个基因的多态性位点:FTO rs9939609、MC4R rs17782313、GNPDA2 rs10938397、FAIM2 rs7138803、BDNF rs6265、NPC1 rs1805081、PCSK1 rs6235、KCTD15 rs29941、BAT2 rs2844479、SEC16B rs10913469 和 SH2B1 rs4788102,使用 ABI Prisms™-7900 实时荧光定量 PCR 仪进行分型检测。

5. 评价标准:(1)肥胖:采用中国肥胖问题工作组推荐的中国学龄儿童青少年超重、肥胖筛查 BMI 值分类标准^[11](用于 7 ~ 18 岁)和 2000 年美国 CDC 发布的 BMI 生长曲线的第 85 和第 95 百分位值(P_{85} 、 P_{90})标准^[12](用于 6 岁儿童)判定超重和肥胖。(2)高血压:采用中国儿童青少年血压参照标准,SBP 和(或)DBP \geq 同年龄、同性别的 P_{95} 或正在服用降压药者为高血压;SBP 和 DBP < 同年龄、同性别的 P_{95} 且没有服用降压药者为非高血压^[13]。(3)高血糖:根据美国糖尿病联盟推荐的糖尿病诊断和分类标准^[14],FPG \geq 5.60 mmol/L 诊断为高血糖(包括糖尿病)。(4)血脂异常:依据《儿童青少年血脂异常防治专家共识》^[15]推荐的标准,以下 4 项指标任意 1 项异常即视为血脂异常,即: TG \geq 1.70 mmol/L; TC \geq 5.18 mmol/L; HDL-C \leq 1.04 mmol/L; LDL-C \geq 3.37 mmol/L。(5)胰岛素抵抗(IR):采用稳态模式评估法(homeostasis model assessment, HOMA)计算 IR 简易估测指数(HOMA-IR),即 HOMA-IR = [FPG (mmol/L) \times FPI (mU/L)] / 22.5, HOMA-IR 数值越大表示个体 IR 程度越高。HOMA-IR \geq 2.97 mU/L (调查对象的 P_{75}) 定义为 IR。

6. 统计学分析:采用 EpiData 3.0 软件双录入,SPSS 13.0 软件进行统计学分析。正态分布资料用

$\bar{x} \pm s$ 表示。计量资料组间比较采用方差分析,分类资料组间比较采用 χ^2 检验。基因型和等位基因分布的 Hardy-Weinberg (H-W) 平衡采用 χ^2 检验。以加性遗传模型(additive genetic model)分析每个 SNP 与肥胖及代谢异常的关联。为研究多个 SNP 的组合效应,加权计算个体的遗传危险得分(genetic risk score, GRS)^[16-17],采用多因素模型分析 GRS 对肥胖及代谢异常的影响。采用错误发现率(false discovery rate, FDR)方法进行多重检验校正。对生活行为因素采用主成分方法进行探索性因子分析,提取出公因子,并以因子得分的中位数为界点分为二分类变量,然后采用多因素 logistic 回归分析生活行为因素与各 SNP 的交互作用对儿童肥胖的影响。设 OR_{AB} 为 A、B 两因素的比值比, OR_A 为 A 因素的比值比, OR_B 为 B 因素的比值比,交互作用归因百分比(AP%) = ($OR_{AB} - OR_A - OR_B + 1$) / OR_{AB} ,表示在 A、B 两因素联合效应中,归因于交互作用所占的比重。性别、年龄和青春发育期作为协变量进行控制,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 基本情况:在 3 503 名调查对象中,肥胖组男性比例偏高,年龄和青春发育水平偏低,出生体重偏高,肥胖家族史比率也高于对照组。除 TC 水平差异无统计学意义外,肥胖组 BMI、FMP、WC、WHtR 和代谢指标(SBP、DBP、TG、LDL-C、FPG、FPI 和 HOMA-IR)水平均高于对照组,HDL-C 水平低于对照组(P 值均 < 0.01),详见表 1。肥胖组和对照组中 11 个 SNP 的基因型和等位基因分布均符合 H-W 平衡($\chi^2 = 0.003 \sim 3.431$, $P = 0.064 \sim 0.960$)。

2. SNP 与儿童肥胖评价指标的关联:控制性别、年龄和青春发育期后,FTO rs9939609-A、MC4R rs17782313-C、GNPDA2 rs10938397-G、FAIM2 rs7138803-A 和 BDNF rs6265-G 等位基因增加 BMI 和 FMP 的水平($P < 0.05$);除 BDNF rs6265 外,其余 4 个 SNP 还可增加腹型肥胖的评价指标(WC 和 WHtR)的水平($P < 0.01$)。对这些阳性位点加权计算 GRS,分析多个位点的综合效应,结果显示:GRS 每增加 1 个单位,BMI、FMP、WC 和 WHtR 平均升高 1 个单位。校正多重检验后,除 BDNF rs6265 与 FMP 的关联消失外,其余关联仍有统计学意义。详见表 2。

3. SNP 与儿童肥胖风险的关联:由表 3 可见,控制性别、年龄和青春发育期后,以正常体重组为参

表 1 两组调查对象的基本情况比较

| 指标 | 对照组(2 274 名) | | 肥胖组 (1 229 名) | 统计 检验值 | P 值 |
|--------------------------------------|--------------------|----------------|------------------|-----------------------|-------|
| | 正常体重组 (1 619 名) | 超重组 (655 名) | | | |
| 男性(%) | 41.2(667) | 50.1(328) | 64.0(786) | 144.95 ^e | <0.01 |
| 年龄(岁) | 12.5±3.2 | 13.3±3.0 | 11.8±2.9 | 54.30 ^f | <0.01 |
| 青春期(%) ^a | | | | 230.22 ^e | <0.01 |
| I | 28.1(448) | 19.8(126) | 36.4(425) | | |
| II | 14.9(238) | 10.1(64) | 16.0(186) | | |
| III | 14.2(227) | 13.5(86) | 13.3(154) | | |
| IV | 30.7(490) | 23.7(151) | 14.9(174) | | |
| V | 12.0(191) | 32.9(209) | 19.4(226) | | |
| 出生体重(g) | 3 304.3±513.4 | 3 348.3±554.5 | 3 423.4±516.2 | 16.06 ^f | <0.01 |
| 肥胖家族史(%) ^b | 18.1(275) | 23.5(146) | 33.1(389) | 80.50 ^e | <0.01 |
| BMI(kg/m ²) ^c | 17.8±0.1 | 22.6±0.1 | 26.6±0.1 | 5 324.53 ^f | <0.01 |
| FMP(%) ^c | 17.6±0.1 | 27.0±0.2 | 32.0±0.2 | 2 192.50 ^f | <0.01 |
| WC(cm) ^c | 62.4±0.2 | 73.7±0.3 | 83.4±0.2 | 3 291.90 ^f | <0.01 |
| WHtR ^c | 0.42±0.01 | 0.49±0.01 | 0.55±0.01 | 3 382.34 ^f | <0.01 |
| SBP(mmHg) ^c | 101.4±0.3 | 108.7±0.5 | 114.3±0.4 | 369.31 ^f | <0.01 |
| DBP(mmHg) ^c | 64.1±0.2 | 68.0±0.4 | 72.1±0.3 | 221.07 ^f | <0.01 |
| FPG(mmol/L) ^c | 5.04±0.02 | 5.14±0.03 | 5.15±0.02 | 9.46 ^f | <0.01 |
| FPI(mU/L) ^d | 5.40±1.02 | 8.53±1.03 | 12.44±1.02 | 493.68 ^f | <0.01 |
| HOMA-IR ^d | 1.20±1.02 | 1.93±1.03 | 2.83±1.02 | 469.43 ^f | <0.01 |
| TG(mmol/L) ^d | 0.79±1.01 | 0.93±1.02 | 1.11±1.01 | 165.79 ^f | <0.01 |
| TC(mmol/L) ^e | 4.10±0.02 | 4.07±0.03 | 4.12±0.03 | 0.69 ^f | 0.503 |
| HDL-C(mmol/L) ^e | 1.54±0.01 | 1.37±0.01 | 1.26±0.01 | 256.03 ^f | <0.01 |
| LDL-C(mmol/L) ^e | 2.48±0.02 | 2.55±0.03 | 2.66±0.02 | 16.70 ^f | <0.01 |

注:^a 采用男童睾丸容积、女童乳房发育水平的 Tanner 5 分期法评价青春期,正常体重、超重和肥胖组分别缺失 25、19 和 64 名;^b 父母中至少有 1 名肥胖,正常体重、超重和肥胖组分别缺失 102、35 和 53 名;^c 调整性别、年龄、青春期、出生体重和肥胖家族史后的协方差分析,用校正的均值±标准误表示;^d 呈偏态分布,用几何均数±几何标准误表示;^e 为 χ^2 值,^f 为 *F* 值;FMP:体脂百分比;WC:腰围;WHtR:腰围身高比;SBP:收缩压;DBP:舒张压;FPG:空腹血浆葡萄糖;FPI:空腹血浆胰岛素;HOMA-IR:稳态模型胰岛素抵抗指数

表 2 11 个 SNP 位点与肥胖评价指标的关联

| SNP 位点 | 染色体 | 基因名称 | 等位基 因 1/等 位基因 2 | 等位基因 1 的频率 | | BMI | | | FMP | | |
|------------|-----|--------|-----------------------|---------------|-------|-----------|--------------|--------------------|-----------|--------------|--------------------|
| | | | | CEU | CHB | β 值 | 95% CI 值 | <i>P</i> 值 | β 值 | 95% CI 值 | <i>P</i> 值 |
| | | | | rs9939609 | 16 | FTO | A/T | 0.460 | 0.122 | 0.747 | 0.431~1.062 |
| rs17782313 | 18 | MC4R | C/T | 0.265 | 0.144 | 0.592 | 0.343~0.840 | <0.01 ^a | 0.928 | 0.461~1.394 | <0.01 ^a |
| rs10938397 | 4 | GNPDA2 | G/A | 0.446 | 0.250 | 0.403 | 0.180~0.627 | <0.01 ^a | 0.725 | 0.308~1.142 | <0.01 ^a |
| rs7138803 | 12 | FAIM2 | A/G | 0.345 | 0.314 | 0.352 | 0.123~0.581 | <0.01 ^a | 0.568 | 0.140~0.996 | <0.01 ^a |
| rs6265 | 11 | BDNF | G/A | 0.825 | 0.367 | 0.251 | 0.039~0.463 | 0.020 ^a | 0.416 | 0.019~0.813 | 0.040 |
| rs1805081 | 18 | NPC1 | A/G | 0.527 | 0.756 | 0.146 | -0.100~0.391 | 0.246 | 0.196 | -0.264~0.657 | 0.403 |
| rs6235 | 5 | PCSK1 | C/G | 0.267 | 0.378 | -0.145 | -0.368~0.078 | 0.202 | -0.048 | -0.465~0.369 | 0.823 |
| rs29941 | 19 | KCTD15 | C/T | 0.677 | 0.221 | 0.243 | -0.001~0.487 | 0.051 | 0.312 | -0.143~0.768 | 0.178 |
| rs2844479 | 6 | BAT2 | T/G | 0.668 | 0.616 | 0.056 | -0.154~0.266 | 0.602 | 0.157 | -0.237~0.550 | 0.435 |
| rs10913469 | 1 | SEC16B | C/T | 0.254 | 0.226 | 0.174 | -0.072~0.420 | 0.166 | 0.290 | -0.169~0.749 | 0.216 |
| rs4788102 | 16 | SH2B1 | A/G | 0.381 | 0.151 | 0.190 | -0.093~0.472 | 0.188 | 0.451 | -0.075~0.978 | 0.093 |
| 遗传危险得分 | | | | | | 0.969 | 0.737~1.200 | <0.01 ^a | 0.963 | 0.692~1.234 | <0.01 ^a |

注:控制了性别、年龄和青春发育期因素的影响;^a 经错误发现率(FDR)方法(以 0.05 为标准)多重检验校正后仍有意义。CEU:在 HapMap 数据库中指祖先为北欧和西欧的美国犹他州居民;CHB:在 HapMap 数据库中指中国北京汉族人群;FMP:体脂百分比;WC:腰围;WHtR:腰围身高比

照,FTO rs9939609-A、MC4R rs17782313-C、GNPDA2 rs10938397-G、FAIM2 rs7138803-A 和 BDNF rs6265-G 等位基因增加儿童肥胖风险($P < 0.05$)。GRS 每增

加 1 个单位,儿童肥胖风险增加 9.448 倍(95% CI: 5.214 ~ 17.120)。按性别分层后,FTO rs9939609-A、MC4R rs17782313-C 和 GNPDA2

续表 2 11 个 SNP 位点与肥胖评价指标的关联

| SNP 位点 | WC | | | WHtR | | |
|------------|-----------|----------------|--------------------|-----------|----------------|--------------------|
| | β 值 | 95% CI 值 | <i>P</i> 值 | β 值 | 95% CI 值 | <i>P</i> 值 |
| rs9939609 | 1.649 | 0.853 ~ 2.446 | <0.01 ^a | 0.010 | 0.006 ~ 0.015 | <0.01 ^a |
| rs17782313 | 1.533 | 0.905 ~ 2.160 | <0.01 ^a | 0.009 | 0.005 ~ 0.013 | <0.01 ^a |
| rs10938397 | 0.989 | 0.426 ~ 1.553 | <0.01 ^a | 0.006 | 0.003 ~ 0.010 | <0.01 ^a |
| rs7138803 | 0.885 | 0.308 ~ 1.461 | <0.01 ^a | 0.005 | 0.002 ~ 0.009 | <0.01 ^a |
| rs6265 | 0.447 | -0.088 ~ 0.982 | 0.101 | 0.003 | -0.001 ~ 0.006 | 0.105 |
| rs1805081 | 0.281 | -0.340 ~ 0.901 | 0.375 | 0.002 | -0.002 ~ 0.006 | 0.259 |
| rs6235 | -0.135 | -0.699 ~ 0.428 | 0.637 | -0.002 | -0.005 ~ 0.002 | 0.295 |
| rs29941 | 0.563 | -0.053 ~ 1.178 | 0.073 | 0.003 | -0.001 ~ 0.007 | 0.092 |
| rs2844479 | 0.128 | -0.404 ~ 0.659 | 0.638 | 0.001 | -0.002 ~ 0.005 | 0.369 |
| rs10913469 | 0.402 | -0.219 ~ 1.023 | 0.204 | 0.002 | -0.002 ~ 0.006 | 0.346 |
| rs4788102 | 0.422 | -0.291 ~ 1.135 | 0.246 | 0.003 | -0.002 ~ 0.007 | 0.251 |
| 遗传危险得分 | 0.954 | 0.705 ~ 1.203 | <0.01 ^a | 1.003 | 0.749 ~ 1.257 | <0.01 ^a |

注:控制了性别、年龄和青春发育期因素的影响;^a经错误发现率(FDR)方法(以0.05为标准)多重检验校正后仍有意义。CEU:在HapMap数据库中指祖先为北欧和西欧的美国犹他州居民;CHB:在HapMap数据库中指中国北京汉族人群;FMP:体脂百分比;WC:腰围;WHtR:腰围身高比

rs1093-8397-G 等位基因均可增加男、女儿童肥胖风险,FAIM2 rs7138803-A 和 KCTD15 rs29941-C 等位基因仅增加男童肥胖风险,BDNF rs6265-G 和 SEC16B rs10913469-C 仅增加女童肥胖风险($P < 0.05$)。校正多重检验后,KCTD15 rs29941 与男童肥胖的关联,及 BDNF rs6265 和 SEC16B rs10913469 与女童肥胖的关联均消失。

4. SNP 与儿童肥胖相关代谢异常的关联:进一步分析各 SNP 对高血压、血脂异常、高血糖和 IR 等代谢异常的影响(表 4),结果显示:控制性别、年龄和青春发育期,FTO rs9939609-A、MC4R rs17782313-C、GNPDA2 rs10938397-G 等位基因增加儿童高血压的风险($P < 0.05$),GNPDA2 rs10938397-G 和 KCTD15 rs29941-C 等位基因增加儿童 IR 的风险($P < 0.05$);分别计算 GRS 后,分析 GRS 与儿童高血压和 IR 的关联 OR 值分别为 10.729 (95% CI: 3.540 ~ 32.518) 和 10.495 (95% CI: 3.043 ~ 36.188)。校正多重检验后,仅 GRS 与儿童高血压和 IR 的关联,及 GNPDA2 rs10938397-G 与儿童 IR 的关联仍有统计学意义。控制 BMI 后,上述关联均消失($P > 0.05$)。

5. SNP 与生活行为因素对儿童肥胖的联合作用:对膳食习惯(包括豆制品、海产品、奶制品、蔬菜、水果)、吸烟、饮酒、看电视、使用计算机和游戏机、业余体育活动等 10 个生活行为因素进行因子分析,采用主成分法提取 5 个公因子,分别为蛋白质食物、烟酒、果蔬、静态行为和业余体育活动^[18]。每个公因子以因子得分的中位数为界点分为二分类变量,以各 SNP 的等位基因为二分类变量,分别生成

哑变量,并以性别、年龄和青春期为协变量,进行 logistic 回归分析生活行为因素与 SNP 交互作用对儿童肥胖的影响,结果显示:除 rs7138803 外,其余 SNP 与业余体育活动均有交互作用,AP% 在 4.35% ~ 33.63% 范围内;rs9939609、rs10913469、rs6265 和 rs7138803 与静态行为的 AP% 依次为 13.29%、7.60%、5.65% 和 3.00%;rs9939609、rs10938397、rs7138803、rs1805081 和 rs17782313 与烟酒行为的 AP% 依次为 32.41%、16.03%、8.05%、4.48% 和 2.43%;rs1805081、rs9939609 与蛋白质食物的 AP% 分别为 8.63% 和 1.65%;但各 SNP 与果蔬未见明显交互作用。

讨 论

虽然由于西方白种人的肥胖流行程度最严重,但亚裔人种比欧裔白种人更倾向于腹型肥胖,罹患糖尿病、心血管疾病,或因肥胖死亡的风险相对更高^[19-20]。肥胖表型的这种人群差异可能源于生活环境和行为习惯各异,也可能源于遗传背景的不同。所以,探讨中国人群自己的肥胖遗传易感基因,对于深入研究肥胖的病因和发生机制,进而遏制或减缓肥胖率的上升趋势具有重要意义。

笔者对 GWAS 报道的 11 个与欧裔白种人肥胖相关的基因位点在中国儿童中进行了重复和验证,结果证实 4 个 SNP 的危险等位基因(FTO rs9939609-A、MC4R rs17782313-C、GNPDA2 rs10938397-G 和 FAIM2 rs7138803-A)与中国儿童 BMI 水平和肥胖风险存在关联。由于在儿童青少年阶段 BMI 与身体脂肪发育的轨迹存在较大差别,

表 3 11 个 SNP 位点与儿童肥胖风险的关联

| SNP 位点 | 染色体 | 基因名称 | 等位基因 1/等位基因 2 | 男 | | 女 | | 合计 | |
|------------|-----|--------|---------------|-----------------------|--------------------|------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------|
| | | | | OR(95% CI) 值 | P 值 | OR(95% CI) 值 | P 值 | OR(95% CI) 值 | P 值 |
| rs9939609 | 16 | FTO | A/T | 1.364(1.086 ~ 1.715) | <0.01 ^a | 1.405(1.088 ~ 1.814) | <0.01 ^a | 1.386(1.171 ~ 1.642) | <0.01 ^a |
| rs17782313 | 18 | MC4R | C/T | 1.344(1.119 ~ 1.615) | <0.01 ^a | 1.462(1.197 ~ 1.787) | <0.01 ^a | 1.367(1.196 ~ 1.563) | <0.01 ^a |
| rs10938397 | 4 | GNPDA2 | G/A | 1.225(1.046 ~ 1.436) | 0.012 ^a | 1.276(1.058 ~ 1.539) | 0.011 ^a | 1.242(1.102 ~ 1.400) | <0.01 ^a |
| rs7138803 | 12 | FAIM2 | A/G | 1.234(1.043 ~ 1.460) | 0.014 ^a | 1.050(0.872 ~ 1.264) | 0.606 | 1.154(1.021 ~ 1.305) | 0.022 |
| rs6265 | 11 | BDNF | G/A | 1.151(0.986 ~ 1.344) | 0.074 | 1.191(1.001 ~ 1.417) | 0.048 | 1.156(1.031 ~ 1.296) | 0.013 ^a |
| rs1805081 | 18 | NPC1 | A/G | 1.116(0.935 ~ 1.333) | 0.222 | 1.071(0.872 ~ 1.316) | 0.513 | 1.084(0.949 ~ 1.238) | 0.233 |
| rs6235 | 5 | PCSK1 | C/G | 0.876(0.746 ~ 1.027) | 0.103 | 0.991(0.824 ~ 1.191) | 0.920 | 0.933(0.828 ~ 1.051) | 0.255 |
| rs29941 | 19 | KCTD15 | C/T | 1.194(1.001 ~ 1.424) | 0.049 | 0.964(0.791 ~ 1.175) | 0.716 | 1.082(0.951 ~ 1.231) | 0.232 |
| rs2844479 | 6 | BAT2 | T/G | 0.968(0.833 ~ 1.125) | 0.674 | 1.115(0.940 ~ 1.324) | 0.212 | 1.036(0.926 ~ 1.158) | 0.537 |
| rs10913469 | 1 | SEC16B | C/T | 1.019(0.857 ~ 1.212) | 0.827 | 1.263(1.030 ~ 1.549) | 0.025 | 1.115(0.977 ~ 1.271) | 0.105 |
| rs4788102 | 16 | SH2B1 | A/G | 1.056(0.867 ~ 1.287) | 0.588 | 1.222(0.971 ~ 1.538) | 0.087 | 1.134(0.977 ~ 1.316) | 0.099 |
| 遗传危险得分 | | | | 8.357(3.832 ~ 18.225) | <0.01 ^a | 11.205(5.057 ~ 24.826) | <0.01 ^a | 9.448(5.214 ~ 17.120) | <0.01 ^a |

注:SNP:单核苷酸多态性;以正常体重组为参照,控制了性别、年龄和青春发育期因素的影响;^a 经错误发现率(FDR)方法(以 0.05 为标准)多重检验校正后仍有意义

表 4 11 个 SNP 位点与儿童肥胖相关代谢异常的关联

| SNP 位点 | 高血压 | | 血脂异常 | | 高血糖 | | 胰岛素抵抗 | |
|------------|----------------------------|--------------------|--------------------------|-------|--------------------------|-------|----------------------------|--------------------|
| | OR(95% CI) 值 | P 值 | OR(95% CI) 值 | P 值 | OR(95% CI) 值 | P 值 | OR(95% CI) 值 | P 值 |
| rs9939609 | 1.248 (1.040 ~ 1.497) | 0.017 | 1.033 (0.880 ~ 1.213) | 0.690 | 1.068 (0.856 ~ 1.332) | 0.559 | 1.146 (0.970 ~ 1.355) | 0.109 |
| rs17782313 | 1.194 (1.030 ~ 1.383) | 0.019 | 1.050 (0.925 ~ 1.193) | 0.449 | 1.146 (0.963 ~ 1.363) | 0.125 | 1.064 (0.930 ~ 1.217) | 0.367 |
| rs10938397 | 1.182 (1.035 ~ 1.350) | 0.014 ^a | 0.950 (0.847 ~ 1.065) | 0.379 | 1.092 (0.933 ~ 1.278) | 0.271 | 1.205 (1.069 ~ 1.359) | <0.01 ^a |
| rs7138803 | 0.943 (0.819 ~ 1.086) | 0.414 | 1.045 (0.930 ~ 1.174) | 0.462 | 1.033 (0.878 ~ 1.216) | 0.693 | 1.086 (0.960 ~ 1.229) | 0.192 |
| rs6265 | 0.923 (0.811 ~ 1.050) | 0.224 | 1.063 (0.953 ~ 1.185) | 0.272 | 1.097 (0.942 ~ 1.278) | 0.233 | 1.048 (0.934 ~ 1.177) | 0.426 |
| rs1805081 | 1.026 (0.882 ~ 1.194) | 0.736 | 1.005 (0.886 ~ 1.141) | 0.933 | 1.010 (0.846 ~ 1.205) | 0.914 | 1.007 (0.880 ~ 1.151) | 0.922 |
| rs6235 | 0.984 (0.859 ~ 1.127) | 0.814 | 1.010 (0.901 ~ 1.132) | 0.861 | 0.896 (0.762 ~ 1.054) | 0.186 | 0.951 (0.842 ~ 1.074) | 0.419 |
| rs29941 | 0.884 (0.760 ~ 1.029) | 0.113 | 1.095 (0.968 ~ 1.239) | 0.151 | 0.986 (0.827 ~ 1.176) | 0.875 | 1.151 (1.010 ~ 1.313) | 0.036 |
| rs2844479 | 1.028 (0.905 ~ 1.169) | 0.670 | 0.938 (0.842 ~ 1.045) | 0.244 | 1.086 (0.934 ~ 1.262) | 0.283 | 1.018 (0.908 ~ 1.141) | 0.759 |
| rs10913469 | 1.044 (0.901 ~ 1.210) | 0.563 | 1.063 (0.938 ~ 1.204) | 0.339 | 1.019 (0.856 ~ 1.214) | 0.829 | 1.038 (0.909 ~ 1.186) | 0.578 |
| rs4788102 | 0.999 (0.842 ~ 1.185) | 0.990 | 1.064 (0.922 ~ 1.227) | 0.398 | 1.182 (0.974 ~ 1.435) | 0.091 | 1.018 (0.874 ~ 1.187) | 0.815 |
| 遗传危险得分 | 10.729 (3.540 ~ 32.518) | <0.01 ^a | - | - | - | - | 10.495 (3.043 ~ 36.188) | <0.01 ^a |

注:SNP:单核苷酸多态性;控制了性别、年龄和青春发育期因素的影响;^a 经错误发现率(FDR)方法(以 0.05 为标准)多重检验校正后仍有统计学意义

BMI 不能很好地反映体脂含量,也不能反映体脂分布情况,只能评价一般性肥胖,所以笔者又对这些基因位点与其他肥胖评价指标之间的关联进行验证,

结果表明这 4 个 SNP 与 FMP 同样存在关联,还与反映身体脂肪中心型分布的 WC 和 WHtR 存在关联。另外,笔者还发现,BDNF rs6265-G 等位基因可增加

儿童 BMI 水平和肥胖风险。而在 1 688 名 10 ~ 12 岁上海儿童中对 8 个基因位点 (NEGR1、TMEM18、GNPDA2、MTCH2、SH2B1、FTO、MC4R 和 KCTD15) 进行的重复性研究结果则显示,仅 2 个基因位点 (FTO rs9939609 和 TMEM18 rs6548238) 与儿童肥胖指标 (体重、BMI、WHtR 和 FMP) 存在关联^[21]。不同人群研究结果的差异提示,肥胖的遗传易感基因还需要在不同人群中进行不同层次的多方位验证。

目前发现的与人类肥胖相关的基因大多通过调控中枢神经系统和能量代谢来调节体重。体脂量和肥胖相关 (FTO) 基因主要在下丘脑的神经元表达,可影响摄食中枢功能,参与能量平衡过程。对 2 726 名年龄为 4 ~ 10 岁的苏格兰地区儿童进行研究发现,FTO 基因主要参与控制食物选择和摄入,即该基因能导致人类食欲旺盛或者更偏爱于高能量食物^[22],从而引起肥胖。此外,FTO 基因还可能通过参与脂肪细胞的分化及脂质代谢^[23],调节 β 细胞功能^[24],参与氧化应激^[25] 等途径导致肥胖。人黑素皮质素受体 4 (MC4R) 基因也主要在下丘脑神经细胞中表达,是瘦素介导的食欲调节途径中最末端的基因,由阿黑皮素原 (POMC) 衍生的 α -黑素细胞刺激激素 (α -MSH) 在下丘脑与其受体 MC4R 结合,产生包括调节食欲在内的生理效应。MC4R 基因编码的黑素皮质素受体-4 是下丘脑腹内侧核分泌的一类肽类物质。MC4R 蛋白具有介导瘦素的功能,能够调节能量平衡,在控制食欲和控制体重中起重要的作用。葡萄糖胺-6-磷酸盐脱氢酶-2 (GNPDA2) 基因也在大脑和下丘脑高度表达,主要参与氨基糖和核苷酸糖代谢。脂肪酸合成酶凋亡抑制分子-2 (FAIM2) 主要参与 Fas/CD95 信号通路而发挥作用。

笔者进一步分析这些基因位点与高血压、血脂异常、高血糖和 IR 等肥胖相关代谢异常的关联,结果提示,FTO rs9939609、MC4R rs17782313 和 GNPDA2 rs10938397 与儿童高血压可能关联,GNPDA2 rs10938397 和 KCTD15 rs29941 与儿童 IR 可能关联,但在控制 BMI 后关联消失。提示这些基因位点通过影响儿童 BMI 或肥胖,进而导致了高血压、IR 等代谢异常,进一步验证了它们与肥胖之间的关联。由于肥胖导致代谢异常需要时间的累积作用,而本研究对象是学龄儿童,发生代谢异常人数较少,所以本研究没有观察到大部分 SNP 与不同代谢异常之间的关联。这与国内外的研究结果基本一致^[26-27]。

造成不同研究结果差异的原因可能为:样本来源、人群的异质性、基因-基因互作及基因-环境互作。笔者在分析单个基因位点与儿童肥胖相关性状关联的基础上,还通过对阳性位点效应值的加权计算,分析了 GRS 对肥胖相关性状的影响,结果表明多个基因位点与儿童肥胖及其相关性状存在联合作用。同时,笔者还分析了各基因位点与生活行为因素对儿童肥胖的联合作用,结果显示:绝大多数 SNP 与业余体育活动存在交互作用;FTO rs9939609 与吸烟饮酒、运动 (业余体育活动和静态行为) 及膳食习惯 (蛋白类饮食和果蔬) 等生活行为因素均有一定程度的交互作用。说明体育活动不足可以增加儿童肥胖的遗传易感性,对于携带有肥胖危险等位基因的个体,增加体育活动的意义在于,可以减弱或延缓遗传基因的外显率。这些结果提示我们,即使对于具有肥胖基因的个体,健康的生活方式对肥胖的预防仍具有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 马军,蔡赐河,王海俊,等. 1985—2010 年中国学生超重与肥胖流行趋势[J]. 中华预防医学杂志,2012,46(9):776-780.
- [2] Herman KM, Craig CL, Gauvin L, et al. Tracking of obesity and physical activity from childhood to adulthood: The physical activity longitudinal study[J]. Int J Pediatr Obes,2009,4(4):281-288.
- [3] Allison DB, Kaprio J, Korkeila M, et al. The heritability of body mass index among an international sample of monozygotic twins reared apart[J]. Int J Obes Relat Metab Disord,1996,20(6):501-506.
- [4] Maes HH, Neale MC, Eaves LJ. Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity[J]. Behav Genet,1997,27(4):325-351.
- [5] Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity[J]. Science, 2007, 316(5826):889-894.
- [6] Loos RJ, Lindgren CM, Li S, et al. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity[J]. Nat Genet,2008,40(6):768-775.
- [7] Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, et al. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index[J]. Nat Genet,2010,42(11):937-948.
- [8] Thorleifsson G, Walters GB, Gudbjartsson DF, et al. Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity[J]. Nat Genet,2009,41(1):18-24.
- [9] 米杰,程红,侯冬青,等. 北京市 2004 年 2 ~ 18 岁儿童青少年超重和肥胖流行现状[J]. 中华流行病学杂志,2006,27(6):469-474.
- [10] Physical status; the use and interpretation of anthropometry. Report of a WHO Expert Committee [J]. World Health Organ Tech Rep Ser, 1995,854:1-452.
- [11] 季成叶. 中国肥胖问题工作组. 中国学龄儿童青少年超重、肥胖筛查体重指数值分类标准[J]. 中华流行病学杂志,2004, 25(2):97-102.
- [12] Kuczmarski RJ, Ogden CL, Grummer-Strawn LM, et al. CDC growth chart: United States[J]. Adv Data, 2000,314:1-27.

- [13] 米杰, 王天有, 孟玲慧, 等. 中国儿童青少年血压参照标准的研究制定[J]. 中国循证儿科杂志, 2010, 5(1):4-14.
- [14] American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus[J]. Diabetes Care, 2013, 36 Suppl 1:S67-74.
- [15] 《中华儿科杂志》编辑委员会, 中华医学会儿科学分会儿童保健学组, 中华医学会儿科学分会心血管学组, 等. 儿童青少年血脂异常防治专家共识[J]. 中华儿科学杂志, 2009, 47(6):426-428.
- [16] Cornelis MC, Qi L, Zhang C, et al. Joint effects of common genetic variants on the risk for type 2 diabetes in U. S. men and women of European ancestry [J]. Ann Intern Med, 2009, 150(8):541-550.
- [17] Fava C, Sjögren M, Montagnana M, et al. Prediction of Blood Pressure Changes Over Time and Incidence of Hypertension by a Genetic Risk Score in Swedes[J]. Hypertension, 2013, 61(2):319-326.
- [18] 席波, 张美仙, 沈玥, 等. 血脂和肥胖相关基因多态性与生活行为因素交互作用对学龄儿童肥胖的影响[J]. 中华流行病学杂志, 2010, 31(7):737-741.
- [19] Wang J, Thornton JC, Russell M, et al. Asians have lower body mass index (BMI) but higher percent body fat than do whites; comparisons of anthropometric measurements [J]. Am J Clin Nutr, 1994, 60(1):23-28.
- [20] He W, Zhang S, Song A, et al. Greater abdominal fat accumulation is associated with higher metabolic risk in Chinese than in white people: an ethnicity study[J]. PLoS One, 2013, 8(3):e58688.
- [21] Wang J, Mei H, Chen W, et al. Study of eight GWAS-identified common variants for association with obesity-related indices in Chinese children at puberty [J]. Int J Obes (Lond), 2012, 36(4):542-547.
- [22] Cecil JE, Tavendale R, Watt P, et al. An obesity-associated FTO gene variant and increased energy intake in children [J]. N Engl J Med, 2008, 359(24):2558-2566.
- [23] Wählén K, Sjölin E, Hoffstedt J. The common rs9939609 gene variant of the fat mass- and obesity-associated gene FTO is related to fat cell lipolysis [J]. J Lipid Res, 2008, 49(3):607-611.
- [24] Russell MA, Morgan NG. Conditional expression of the FTO gene product in rat INS-1 cells reveals its rapid turnover and a role in the profile of glucose-induced insulin secretion [J]. Clin Sci (Lond), 2011, 120(9):403-413.
- [25] Guo J, Ren W, Li A, et al. Fat mass and obesity-associated gene enhances oxidative stress and lipogenesis in nonalcoholic fatty liver disease [J]. Dig Dis Sci, 2013, 58(4):1004-1009.
- [26] Olza J, Ruperez AI, Gil-Campos M, et al. Influence of FTO variants on obesity, inflammation and cardiovascular disease risk biomarkers in Spanish children: a case-control multicentre study [J]. BMC Med Genet, 2013, 14:123.
- [27] 曹凌峰, 罗飞宏, 支涤静, 等. FTO 基因 SNP rs9939609, rs1421085 多态性与儿童青少年肥胖及其代谢指标的相关性研究[J]. 中国循证儿科杂志, 2010, 5(1):46-50.

(收稿日期:2014-05-05)

(本文编辑:陈丽)

· 文献速览 ·

世界卫生组织说:每 8 例死亡中有 1 例归咎于空气污染

Gulland A. One in eight deaths is due to air pollution, says WHO. BMJ, 2014, 348:g2379.

2012 年全球因空气污染导致死亡人数为 700 万, 相当于这一年度每 8 例死亡病例中有 1 例归咎于空气污染。

西太平洋地区和东南亚地区是问题最严重的地方。这两个地区共有 330 万人的死亡与室内空气污染有关, 有 260 万人的死亡与室外空气污染有关。

从全球范围来看, 室内空气污染导致了更多的死亡人数, 有 430 万人的死亡是因为使用煤炭或木材为燃料进行烹饪或者使用生物燃料炉。WHO 推测有 370 万人的死亡可归因于室外空气污染。该组织还说有许多人同时受到室内和室外空气污染的危害, 因此两个数据加起来并不等于 700 万。

2012 年, 非洲有接近 68 万人死于空气污染, 地中海东部地区这一数字为 41.5 万人, 欧洲约为 60 万人, 美洲为 23 万

人。

室外空气污染导致死亡的主要因素是缺血性心脏病和卒中(80%), 接着是慢性阻塞性肺病(11%)、肺癌(6%)和儿童急性下呼吸道感染(3%)。

室内空气污染导致死亡的最主要因素是卒中(34%), 其次是缺血性心脏病(26%)、慢性阻塞性肺病(22%)、儿童急性下呼吸道感染(12%)和肺癌(6%)。

Maria Neria 是 WHO 中公共卫生、环境卫生和健康的社会决定因素部门负责人。她说空气污染导致的健康危险比之前预想或了解的要大得多。

[该文摘自《英国医学杂志(BMJ)中文版》2014 年第 17 卷第 3 期第 151-152 页]