

儿童青少年肥胖与神经肽Y第二受体基因多态性

张俊 王海俊 马军

【摘要】 目的 探讨儿童青少年肥胖与神经肽Y第二受体(NPY2R)基因rs1047214多态性的相关性,及其与代谢综合征的关系。方法 选择北京市2030名7~18岁的中小学生进行身体测量、血液生化指标测定和rs1047214多态性检测。结果 NPY2R基因rs1047214多态性的等位基因突变率($T>C$)为18.6%;非肥胖组的纯合突变CC基因型频率为3.7%,明显高于肥胖组(1.7%, $P<0.05$);不同基因型BMI、腰围、腰臀比和腰围身高比水平的差异有统计学意义($P<0.05$),CC基因型低于非纯合突变型,性别分析显示男性差异有统计学意义;但是,采用多元线性回归分析方法,用BMI调整后,不同基因型腰围、腰臀比和腰围身高比水平的差异无统计学意义($P>0.05$);不同基因型的血脂、血压、血糖指标水平的差异无统计学意义。结论 儿童青少年NPY2R基因rs1047214多态性的突变率与男性肥胖有关,但与血脂、血压、血糖异常可能没有显著关联。

【关键词】 神经肽Y第二受体;基因多态性;肥胖;儿童青少年

Association between obesity and the polymorphism of neuropeptide Y2 receptor gene in children and adolescents ZHANG Ji, WANG Hai-jun, MA Jun. Child and Adolescent Health Institute, School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China

Corresponding author: WANG Hai-jun, Email: whjun1@bjmu.edu.cn; MA Jun, Email: majunt@bjmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To study the relationship between neuropeptide Y2 receptor(NPY2R) gene rs1047214 polymorphism and obesity or metabolic syndrome in Chinese children and adolescents, in order to provide theoretical evidence for obesity control. **Methods** 2030 students at the age from 7 to 18 years were selected in Beijing. Physical indicators, blood pressure, serum lipids and fasting blood glucose and the rs1047214 polymorphism in NPY2R gene were tested for all the subjects. **Results** The mutation rate of the rs1047214 polymorphism ($T>C$) was 18.6% and the CC genotype frequency was significantly higher in non-obese subjects (3.7%) than that in obese subjects (1.7%) ($P<0.05$). The differences of BMI, waist circumference (WC), waist-hip ratio (WHR) and waist-to-height ratio (WtHR) were statistically significant among the subjects with CC genotype having lower BMI, WC, WHR and WtHR than CT+TT carriers ($P<0.05$), shown in males, but not in females. There were no statistical significances for WC, WHR or WtHR levels between different genotypes under the general linear regression model, after adjusted for BMI. There were no statistical significances for blood pressure, serum lipids and FPG level between different genotypes. **Conclusion** The mutation rate of the rs1047214 polymorphism in NPY2R gene in Chinese adolescents was higher than that in foreign populations. Polymorphism seemed to be associated with obesity in males but did not seem to have significant association between polymorphism and other phenotypes of metabolic syndrome.

【Key words】 Neuropeptide Y2 receptor; Polymorphism; Obesity; Child and adolescent

神经肽Y(NPY)是神经元合成并释放的一种神经递质,广泛分布在哺乳动物的中枢和周围神经系统中,参与摄食行为、运动、体温调节等多种生理功

能的控制^[1]。NPY受体的活性直接影响NPY生理作用的发挥,而NPY受体中,以NPY第二受体(NPY2R)与肥胖和代谢综合征(MS)的关系最为密切。有研究发现^[2],在1005名英国白人,NPY2R基因rs1047214位点的突变纯合子(CC基因型)与男性肥胖相关性存在关联,导致较低的BMI和腰臀比(WHR)。Ma等^[3]在对489名印第安成年人的研究也发现,rs1047214与男性重度肥胖之间存在明显的统计学关联。随后国外一些研究针对不同人群探讨NPY2R基因多态性与肥胖和MS的关系^[4-6]。为了解

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.07.012

基金项目:国家自然科学基金(30700668);教育部留学回国人员科研启动基金;科技部“973”项目(2006CB503900)

作者单位:100191 北京大学公共卫生学院/儿童青少年卫生研究所(张俊、马军),妇女与儿童青少年卫生学系(王海俊)

通信作者:王海俊,Email: whjun1@bjmu.edu.cn;马军,Email: majunt@bjmu.edu.cn

我国儿童青少年肥胖和MS与该基因位点的相关性,对北京地区2030名儿童青少年进行了研究。

对象与方法

1. 对象:从北京市东城区9所中学选择937名14~17岁初中生为第一批研究对象^[7],其中肥胖组386名,非肥胖组551名;男生607名,女生330名。从北京市海淀区3所中学和2所小学选择1093名7~18岁中小学生为第二批研究对象^[8],其中肥胖组319名,非肥胖组774名;男生611名,女生482名。两批研究对象非肥胖组包括体重正常和超重儿童,是从入选学校中选择自愿参加的学生,肥胖组则是将这些学校所有肥胖学生纳入。

2. 方法:

(1) 身体测量及超重、肥胖的判定:对所有研究对象进行身高、体重、腰围(WC)、臀围的测量,测试方法按照“2000年中国学生健康与体质调研检测细则”进行。根据测量结果,计算BMI、WHR、腰围身高比(WtHR)。根据“中国学龄儿童青少年超重、肥胖BMI筛查分类标准”判定超重和肥胖^[9]。

(2) 血液生化指标的测定:由专职人员采清晨空腹(禁食12h)静脉血标本3ml,于室温下凝固离心后,用自动生化分析仪测定4项血脂指标和空腹血糖(FPG)。总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)采用酶法,高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)采用过氧化物清除法,FPG采用葡萄糖氧化酶法。

(3) *NPY2R* 基因 rs1047214 多态性检测:采用常规酚氯仿法从血凝块中提取DNA。用PCR-RFLP方法,对*NPY2R* 基因 rs1047214 多态性进行检测。PCR引物由北京奥科生物技术公司合成。正向引物序列:5'-tgt ggc aga tct ttt ggt ga-3';反向引物序列:5'-aga cag tgc cat aga tgc tct t-3'。PCR反应体系为25 μl,其中DNA模板50 ng,正反向引物(25 μmol/L)各0.25 μl, dNTPs(10 mmol/L) 0.5 μl, Taq聚合酶1 U。PCR扩增条件:94℃预变性5 min, 94℃变性30 s, 59℃退火30 s, 72℃延伸30 s,共30个循环,最后72℃延伸5 min。PCR产物(385 bp)用1 U限制性内切酶Fok I(美国NEB公司)于37℃酶切1 h。酶切产物用EB染色的2.5%琼脂糖凝胶电泳进行基因型鉴定,3种基因型酶切产物分别为:野生纯合型(TT, 385 bp)、突变杂合型(CT, 385 bp、99 bp、86 bp)及突变纯合型(CC, 299 bp、86 bp)。

3. 统计学分析:用EpiData软件建立数据库,采

用双录入方法进行数据输入和检错。用SPSS软件进行Hardy-Weinberg平衡检验、 χ^2 检验、*t*检验、方差分析和多元线性回归分析。

结 果

1. 肥胖与其他代谢指标水平:在两批样本以及合并样本中,比较肥胖组和非肥胖组的肥胖相关指标(BMI、腰围、WHR和WtHR)和血脂、血压、血糖水平,除HDL-C及空腹血糖水平的差异无统计学意义外($P>0.05$),其他血脂指标(TC、TG、LDL-C)和血压指标(SBP、DBP)的差异均有统计学意义($P<0.05$),均表现为肥胖组>非肥胖组(结果未列出)。

2. *NPY2R* 基因 rs1047214 多态性:

(1) *NPY2R* 基因 rs1047214 多态性基因型构成和等位基因频率:第一批样本937名初中生中,619名(66.1%)为TT型,295名(31.5%)为CT型,23名(2.5%)为CC型;等位基因突变率($T>C$)为18.2%。第二批样本1093名中小学生中,716名(65.5%)为TT型,339名(31.0%)为CT型,38名(3.5%)为CC型;等位基因突变率($T>C$)为19.0%。

(2) Hardy-Weinberg平衡检验:Hardy-Weinberg平衡是指在一个大的相对稳定的群体中,基因变异率保持不变,各种基因型频率也将代代保持不变,成为遗传平衡的群体。本研究分别在两批样本中,对肥胖组和非肥胖组*NPY2R* 基因 rs1047214 多态性进行Hardy-Weinberg平衡检验, P 值均 >0.05 ,表明各组研究对象rs1047214多态性符合Hardy-Weinberg平衡定律。

3. *NPY2R* 基因 rs1047214 多态性与肥胖的相关性:

(1) 比较肥胖组与非肥胖组rs1047214多态性的发生情况:两批样本中肥胖组和非肥胖组等位基因及基因型频率的差异无统计学意义($P>0.05$),在基因型频率分析时参照文献方法选用隐性模型(即合并野生纯合型和杂合突变型)。但用Mantel-Haenszel分析方法对两批样本综合分析时,发现非肥胖组的纯合突变频率高于肥胖组,差异有统计学意义($P<0.05$),OR值为0.467(95%CI:0.245~0.887)。以性别分层分析,发现基因型频率存在性别差异,其中男性非肥胖组的纯合突变频率高于肥胖组($P<0.05$),OR值为0.298(95%CI:0.113~0.791),而女性肥胖组和非肥胖组的频率差异则无统计学意义($P>0.05$)。见表1。

(2) 比较rs1047214多态性不同基因型之间肥胖

表 1 比较肥胖组与非肥胖组 rs1047214 多态性的等位基因和基因型频率

组别	等位基因			P 值	基因组			P 值	OR 值(95%CI)		
	人数	C	T		人数	CC	CT+TT				
肥胖组	男性	肥胖	538	87(16.2)	451(83.8)	0.24	269	3(1.1)	266(98.9)	0.12	0.370(0.101 ~ 1.358)
		非肥胖	676	127(18.8)	549(81.2)		338	10(3.0)	328(97.0)		
	女性	肥胖	234	39(16.7)	195(83.3)	0.21	117	3(2.6)	114(97.4)	0.98	
		非肥胖	426	88(20.7)	338(79.3)		213	7(3.3)	206(96.7)		
	合计	肥胖	772	126(16.3)	646(83.7)	0.08	386	6(1.6)	380(98.4)	0.14	
		非肥胖	1102	215(19.5)	887(80.5)		551	17(3.1)	534(96.9)		
非肥胖组	男性	肥胖	430	69(16.0)	361(84.0)	0.38	215	2(0.9)	213(99.1)	0.04*	0.238(0.054 ~ 1.053)
		非肥胖	792	143(18.1)	649(81.9)		396	15(3.8)	381(96.2)		
	女性	肥胖	208	44(21.2)	164(78.8)	0.97	104	4(3.8)	100(96.2)	0.99	
		非肥胖	756	159(21.0)	597(79.0)		378	17(4.5)	361(95.5)		
	合计	肥胖	638	113(17.7)	525(82.3)	0.33	319	6(1.9)	313(98.1)	0.06	
		非肥胖	1548	302(19.5)	1246(80.5)		774	32(4.1)	742(95.9)		
合并样本	男性	肥胖	968	156(16.1)	812(83.9)	0.16	484	5(1.0)	479(99.0)	0.02*	0.298(0.113 ~ 0.791)
		非肥胖	1468	270(18.4)	1198(81.6)		734	25(3.4)	709(96.6)		
	女性	肥胖	442	83(18.8)	359(81.2)	0.45	221	7(3.2)	214(96.8)	0.81	
		非肥胖	1182	247(20.9)	935(79.1)		591	24(4.1)	567(95.9)		
	合计	肥胖	1410	239(17.0)	1171(83.0)	0.06	705	12(1.7)	693(98.3)	0.03*	
		非肥胖	2650	517(19.5)	2133(80.5)		1325	49(3.7)	1276(97.0)		

注: *P<0.05; 括号外数据为该型人数, 括号内数据为基因型频率(%)

指标水平: 在合并样本中, 比较 rs1047214 多态性不同基因型的肥胖指标(BMI、WC、WHR 和 WtHR)水平, CC 基因型低于非纯合突变型(CT+TT), 差异有统计学意义(P<0.05)。分性别比较发现, BMI、WC 和 WtHR 在男性中差异有统计学意义, 而女性则没有统计学意义。但是, 采用多元线性回归分析方法, 用 BMI 这一指标调整后, 不同基因型 WC、WHR、WtHR 指标的差异无统计学意义(P>0.05)。见表 2。按营养状况分别比较两组不同基因型的肥胖指标水平, 发现差异无统计学意义(P>0.05), 但趋势与合并分析相同(结果未列出)。

表 2 隐性模型下 rs1047214 多态性不同基因型的肥胖相关指标水平比较

肥胖指标	CC/CT+TT (人数/合并 人数)	CC		CT+TT		P 值	调整 P 值 ¹
		($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)		
BMI	男性	30/1188	22.46±3.59	24.57±4.72	<0.01*		
	女性	31/781	22.06±4.89	22.81±4.74	0.39		
	合计	61/1969	22.25±4.27	23.87±4.80	0.01*		
WC	男性	30/1181	75.51±9.83	80.89±12.90	<0.01*	0.99	
	女性	31/775	71.21±11.89	72.48±11.49	0.55	0.57	
	合计	61/1956	73.33±11.05	77.56±13.02	0.01*	0.74	
WHR	男性	30/1180	0.84±0.04	0.86±0.06	0.18	0.79	
	女性	31/775	0.79±0.05	0.80±0.06	0.60	0.76	
	合计	61/1955	0.82±0.05	0.83±0.07	0.02*	0.34	
WtHR	男性	30/1181	0.47±0.04	0.49±0.06	<0.01*	0.76	
	女性	31/775	0.45±0.06	0.47±0.06	0.23	0.33	
	合计	61/1956	0.46±0.05	0.48±0.06	<0.01*	0.32	

注: *P<0.05; ¹用 BMI 调整的 P 值

4. NPY2R 基因 rs1047214 多态性与其他代谢指标的相关性: 比较 rs1047214 多态性不同基因型的血脂、血压、血糖指标水平, TC、TG、LDL-C、SBP、DBP、FPG 的差异无统计学意义(P>0.05), 仅 HDL-C 的差异有统计学意义(P=0.02)。见表 3。但是在控制 BMI 之后差异也无统计学意义(P=0.29)。

表 3 隐性模型下 rs1047214 多态性不同基因型的代谢指标水平比较

血脂指标		CC/CT+TT (人数合并人数)		CC	CT+TT	P 值
		($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	($\bar{x} \pm s$)	
TC	男性	30/1188	4.28±0.82	4.26±0.75	0.88	
	女性	31/781	4.38±0.92	4.35±0.77	0.86	
	合计	61/1969	4.33±0.87	4.29±0.76	0.74	
TG	男性	30/1188	1.23±1.50	0.95±0.47	0.32	
	女性	31/781	0.88±0.31	0.94±0.47	0.47	
	合计	61/1969	1.05±1.08	0.95±0.47	0.46	
LDL-C	男性	30/1188	2.36±0.56	2.39±0.73	0.85	
	女性	31/781	2.36±0.81	2.38±0.68	0.89	
	合计	61/1969	2.36±0.69	2.38±0.71	0.81	
HDL-C	男性	30/1188	1.23±0.37	1.16±0.42	0.39	
	女性	31/781	1.43±0.51	1.27±0.42	0.10	
	合计	61/1969	1.33±0.46	1.21±0.42	0.02*	
SBP	男性	30/1185	112.33±17.50	116.80±16.80	0.15	
	女性	31/775	110.06±15.71	108.52±14.76	0.57	
	合计	61/1960	111.18±16.51	113.52±16.52	0.28	
DBP	男性	30/1185	69.43±13.34	70.69±11.28	0.55	
	女性	31/775	66.65±10.29	66.80±10.65	0.94	
	合计	61/1960	68.02±11.88	69.15±11.20	0.44	
FPG	男性	30/1188	5.05±0.68	4.94±0.71	0.40	
	女性	31/781	5.02±0.72	4.89±0.67	0.26	
	合计	61/1969	5.04±0.70	4.92±0.69	0.19	

注: *P<0.05

讨 论

最近多项研究表明, NPY 及其受体在摄食行为和能量代谢的调节中有重要作用, 其中 *NPY2R* 基因突变可能与肥胖的发生有密切关系。2004 年 Hung 等^[2] 研究发现, 在 1005 名英国白人, *NPY2R* 基因 rs1047214 位点的突变纯合型(CC)与男性肥胖相关性存在关联, 导致较低的 BMI 和 WtHR。同样, 2005 年 Ma 等^[3] 在对 489 名 Pima 印第安成年人的研究也发现, rs1047214 与男性重度肥胖之间存在明显的统计学关联; 提示 *NPY2R* 对体重的影响也许存在性别特异性的机制。Lavebratt 等^[10] 对 470 名瑞典白人男性中 *NPY2R* 基因 rs1047214 多态性进行了研究, 结果发现肥胖者中 CC 基因型和 C 等位基因频率明显高于正常组, 结果与前两项研究相反。另外, 在 Siddiq 等^[11] 对法国儿童的研究中, 对不同基因型的 BMI 和 WHR 指标水平进行了比较, 发现突变纯合型具有更高的 WHR, 且在男女性中差异均有统计学意义。

本研究发现, 青少年 *NPY2R* 等位基因多态性突变率低于白种人, 在 2030 名中小學生中, 有 65.8% TT 基因型, 31.2% CT 基因型, 3.0% CC 基因型; 等位基因突变率($T > C$)为 19.0%。而在白种人中, 等位基因突变率($T > C$)平均为 40% ~ 50%^[2-6, 10, 11]; 提示 *NPY2R* 基因多态性的基因型和等位基因频率存在种族差异。

有研究选用隐性模型分析(即合并野生纯合型 TT 和杂合突变型 CT), 虽然两批样本肥胖组和非肥胖组基因型频率的差异无统计学意义, 但存在一致的趋势。用 Mantel-Haenszel 分层分析方法对两批样本合并分析, 发现非肥胖组的纯合突变频率明显高于肥胖组。以性别分层分析, 发现基因型频率存在性别差异, 仅男性非肥胖组的纯合突变频率明显高于肥胖组。比较不同基因型的肥胖指标(BMI、WC、WHR 和 WtHR)水平, CC 基因型明显低于非纯合突变型。分性别比较发现, BMI、WC 和 WtHR 在男性中差异有统计学意义, 而女性则没有。这些结果与部分国外文献一致, 提示 *NPY2R* 基因 rs1047214 的多态性与我国儿童青少年肥胖有关, 其在肥胖中的作用可能存在性别特异性。

考虑到所分析的肥胖指标之间可能存在生理病理学联系, 本研究在单独比较不同基因型的四项肥胖指标水平之后, 将 BMI 作为协变量进行多元线性回归分析, 发现在控制了 BMI 后, CC 基因型的其他三项肥胖指标水平与非纯合突变型的差异无统计学意义。提示 *NPY2R* 基因 rs1047214 的多态性可能主

要改变 BMI 导致肥胖, 而其他肥胖相关指标(WC、WHR 和 WtHR)的改变可能是由于 BMI 改变引起的, 并非基因多态性单独的作用。

对 rs1047214 多态性不同基因型的血脂、血压、血糖指标水平进行比较, 纯合突变组的 HDL-C 指标明显高于非纯合突变组, 但控制 BMI 指标之后差异无统计学意义; 其他指标均无明显差异。提示该基因多态性可能仅对 MS 中肥胖这一组分有显著影响, 而对其他组分没有影响, 与国外报道基本一致。因此, 我国儿童青少年的 *NPY2R* 基因 rs1047214 多态性可能与男性肥胖有关, 但与血压、血脂、血糖可能没有显著关联。因此, 肥胖与 MS 遗传机制方面的研究意义重大, 关于 *NPY2R* 基因与肥胖及 MS 的相关性有待进一步研究证实。

参 考 文 献

- [1] Gehlert DR. Multiple receptors for the pancreatic polypeptide (PP-flo) family: physiological implications. Proc Soc Exp Biol Med, 1998, 218(1): 7-22.
- [2] Hung CC, Pirie F, Luan J, et al. Studies of the peptide YY and neuropeptide Y2 receptor genes in relation to human obesity and obesity-related traits. Diabetes, 2004, 53(9): 2461-2466.
- [3] Ma L, Tataranni PA, Hanson RL, et al. Variations in peptide YY and Y2 receptor genes are associated with severe obesity in Pima Indian men. Diabetes, 2005, 54(5): 1598-1602.
- [4] Torekov SS, Larsen LH, Andersen G, et al. Variants in the 5' region of the neuropeptide Y receptor Y2 gene (*NPY2R*) are associated with obesity in 5971 white subjects. Diabetologia, 2006, 49(11): 2653-2658.
- [5] Campbell CD, Lyon HN, Nemes J, et al. Association studies of BMI and type 2 diabetes in the neuropeptide Y pathway: a possible role for *NPY2R* as a candidate gene for type 2 diabetes in men. Diabetes, 2007, 56(5): 1460-1467.
- [6] Wang HJ, Wermter AK, Nguyen TT, et al. No Association of sequence variants in the neuropeptide Y2 receptor (*NPY2R*) gene with early onset obesity in Germans. Horm Metab Res, 2007, 39(11): 840-844.
- [7] 尹遵栋, 马军, 徐铁群, 等. 青少年体质指数、腰臀比与血脂水平的关系. 中国学校卫生, 2005, 26(9): 724-725.
- [8] 马军, 张世伟, 郭盛鑫, 等. 不同营养状况儿童代谢综合征发生情况分析. 中国学校卫生, 2008, 29(2): 103-105.
- [9] 季成叶. 中国学龄儿童青少年超重、肥胖 BMI 筛查分类标准. 中国学校卫生, 2004, 25(1): 125-128.
- [10] Lavebratt C, Alpman A, Persson B, et al. Common neuropeptide Y2 receptor gene variant is protective against obesity among Swedish men. Int J Obes (Lond), 2006, 30(3): 453-459.
- [11] Siddiq A, Gueorguiev M, Samson C, et al. Single nucleotide polymorphisms in the neuropeptide Y2 receptor (*NPY2R*) gene and association with severe obesity in French white subjects. Diabetologia, 2007, 50(3): 574-584.

(收稿日期: 2009-01-19)

(本文编辑: 尹廉)