

过氧化物酶体增殖物激活受体单核苷酸多态性以及基因-基因交互作用与体重异常的关系

骆文书 郭志荣 武鸣 陈秋 周正元 俞浩 张丽君 刘景超

【摘要】 目的 探讨过氧化物酶体增殖物激活受体(PPARs) 10个位点单核苷酸多态性(SNP)以及多个SNP间交互作用与体重异常的关联。方法 研究对象均来自于“江苏省多代谢异常和代谢综合征综合防治研究(PMMJS)”队列人群。采用单纯随机抽样方法抽取其中的820名研究对象的基线血标本进行PPARs的10个SNP(rs135539、rs4253778、rs1800206、rs2016520、rs9794、rs10865710、rs1805192、rs709158、rs3856806、rs4684847)多态性分析,以随访时所测得的体重指数(BMI)确定体重异常。运用logistic回归模型计算10个SNP对体重异常发生的OR值和95%CI。采用GMDR模型检测10个SNP的基因-基因交互作用。结果 820名研究对象平均年龄(50.05±9.41)岁,体重正常者513人,体重异常者307人。体重异常组rs2016520的C等位基因频率显著低于体重正常组(26% vs. 33%, $P < 0.01$),而体重异常组rs10865710的G等位基因频率显著高于体重正常组(37% vs. 31%, $P = 0.01$)。多因素logistic回归分析显示,与野生型基因(TT)携带人群相比,rs2016520突变等位基因携带人群(TC+CC)发生体重异常的OR=0.63(95%CI:0.47~0.84),未发现其他SNP与体重异常的发生具有统计学相关性。GMDR模型结果显示,rs2016520和rs10865710的SNP间交互作用有统计学意义($P = 0.0010$),交叉验证一致性为9/10,平均检验准确度为0.5746。rs2016520、rs9794和rs10865710的SNP间交互作用有统计学意义($P = 0.0010$),交叉验证一致性为9/10,平均检验准确度为0.5834,其中三阶模型为最佳模型。结论 PPAR δ 的rs2016520基因多态性与较低BMI的关联具有统计学意义,rs2016520、rs9794和rs10865710三个SNP之间的交互作用对体重异常的发生风险存在显著影响。

【关键词】 过氧化物酶体增殖物激活受体;多态性;体重指数;交互作用

Association of both peroxisome proliferator-activated receptor, gene-gene interactions and the body mass index LUO Wen-shu^{1,2}, GUO Zhi-rong¹, WU Ming³, CHEN Qiu⁴, ZHOU Zheng-yuan⁵, YU Hao³, ZHANG Li-jun⁶, LIU Jing-chao¹. 1 Department of Radiology & Public Health, Soochow University, Suzhou 215123, China; 2 Changzhou Center for Disease Control and Prevention; 3 Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention; 4 Department of Radiation Biology, Soochow University; 5 Changshu Center for Disease Control and Prevention; 6 Jinchuan District Institute of Health Inspection and Supervision
Corresponding authors: GUO Zhi-rong, Email: guozhirong28@163.com; WU Ming, Email: jswuming@vip.sina.com

This work was supported by a grant from the Scientific Research Fund of National Ministry of Health (No. WKJ2004-2-014).

【Abstract】 Objective To investigate the association of ten single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the peroxisome proliferator-activated receptor (α, δ, γ) with obesity and the additional role of a gene-gene interaction among 10 SNPs. **Methods** Participants were recruited within the framework of the PMMJS (Prevention of Multiple Metabolic Disorders and Metabolic Syndrome in Jiangsu Province)-cohort-population-survey in the urban community of Jiangsu province, China. 820 subjects (513 non obese subjects, 307 obese subjects) were randomly selected and no individuals were related to each other. Ten SNPs (rs135539, rs4253778, rs1800206, rs2016520, rs9794, rs10865710,

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.07.021

基金项目: 卫生部科学研究基金项目(WKJ2004-2-014)

作者单位: 215123 苏州大学医学部放射医学与公共卫生学院流行病与卫生统计教研室(骆文书、郭志荣、刘景超); 江苏省常州市疾病预防控制中心(骆文书); 江苏省疾病预防控制中心慢病科(武鸣、俞浩); 苏州大学医学部放射生物学教研室(陈秋); 江苏省常熟市疾病预防控制中心慢病科(周正元); 苏州市金阊区卫生监督所(张丽君)

通信作者: 郭志荣, Email: guozhirong28@163.com; 武鸣, Email: jswuming@vip.sina.com

rs1805192, rs709158, rs3856806, rs4684847) were selected from the HapMap database, which covered PPAR α , PPAR δ and PPAR γ . Logistic regression model was used to examine the association between ten SNPs in the PPARs and obesity. Odds ratios (OR) and 95% confident interval (95% CI) were calculated. Interactions were explored by using the Generalized Multifactor Dimensionality Reduction (GMDR). **Results** A group of 820 participants (mean age was 50.05 \pm 9.41) was involved. The frequency of the mutant alleles of rs2016520 in obese populations was less than that in non-obese populations (26% vs. 33%, $P < 0.01$). The frequency of the mutant alleles of rs10865710 in obese populations was more than that in non-obese populations (37% vs. 31%, $P = 0.01$). C allele carriers had a significantly lower obesity occurrence than TT homozygotes [OR (95% CI): 0.63 (0.47–0.84)] for rs2016520 but no significant association was observed between other SNP and incident obesity. GMDR analysis showed a significant gene-gene interaction among rs2016520, rs9794 and rs10865710 for the three-dimension models ($P = 0.0010$), in which prediction accuracy was 0.5834 and cross-validation consistency was 9/10. It also showed a significant gene-gene interactions between rs2016520 and rs10865710 in all the two-dimensional models ($P = 0.0010$), in which predictive accuracy was 0.5746 and cross-validation consistency was 9/10. **Conclusion** Our data showed that rs2016520 was associated with lower obesity risk, as well as interactions among rs2016520, rs9794 and rs10865710 on incident obesity.

【Key words】 Peroxisome proliferator-activated receptors; Polymorphism; Body mass index; Interaction

肥胖是复杂的代谢紊乱疾病^[1],其发病是遗传背景和环境因素共同作用的结果,因此在一定的环境因素下,遗传因素在肥胖的发生过程中起主要作用,这在双胞胎人群研究中已得到证实^[2,3]。过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPAR)是配体激活的转录因子核受体超家族成员,是肥胖的候选基因之一,主要有 PPAR α 、PPAR δ 和 PPAR γ 三种亚型,分别位于人体第 22、6 和 3 号染色体。在多个种族间已报道有关 PPAR α 和 PPAR γ 与肥胖的关联^[4-8],但有关 PPAR δ 与体重异常关系的研究尚少,研究结论也存在较大分歧^[8-10]。近年来认为体重异常等常见复杂疾病的遗传易感性可能涉及多个单核苷酸多态性(SNP),其中多为微效基因,体重异常也可能是多个微效基因共同作用的结果,因此易感基因位点之间往往存在交互作用。为此,本研究以“江苏省多代谢异常和代谢综合征综合防治研究(PMMJS)”队列人群为基础,探讨 PPAR α 的 rs135539、rs4253778、rs1800206, PPAR δ 的 rs2016520、rs9794 和 PPAR γ 的 rs10865710、rs1805192、rs709158、rs3856806、rs4684847 与体重异常的关联以及多个 SNP 之间的交互作用。

对象与方法

1. 研究对象:来自 PMMJS 队列人群^[11]。入组时间为 1999 年 4 月至 2004 年 6 月。2006 年 3 月至 2007 年 10 月随访 4582 名基线调查满 5 年的对象,共随访到 4083 名(随访率为 89.11%,失访人群与未失访人群基线时的年龄、性别及生活方式各项指标的差异无统计学意义, $P > 0.05$)。该队列随访的终点为心血管疾病、糖尿病和代谢综合征各组分代谢异常。

2009 年 10 月对随访得到的 4083 名对象,在排除基线时心血管疾病(心肌梗死、中风、外周血管性疾病)(36 例,其中 11 例死亡)、糖尿病(289 例,其中 31 例死亡)、BMI < 18.5 kg/m²(27 例,其中 2 例死亡)后的 3731 名对象基础上,采用单纯随机抽样方法(抽样中如有 ≥ 2 个对象之间有血缘关系,则按 ID 号上下延伸选取对象),共对 820 名研究对象的基线血标本进行 PPAR 基因多态性检测。研究中涉及的各项临床生化指标以及人口统计学和环境危险因素均来源于基线数据,各项指标在被抽取的研究对象与未被抽取的对象间差异均无统计学意义。以随访时所测得的 BMI 值确定体重异常。本研究得到苏州大学伦理委员会批准,进行基线调查和队列随访时均获得所有调查对象知情同意。

2. 问卷调查和体格检查:研究对象均填写饮食和体力活动问卷,并采集空腹 8 h 静脉血(用于检测和建立细胞库)。流行病学调查内容包括一般人口学特征(姓名、性别、年龄、文化程度、婚姻状况、经济状况等)、既往病史(高血压、冠心病、脑卒中和糖尿病病史及其家族史、个人用药、诊断治疗史等)、生活习惯危险因素(吸烟、饮酒、体力活动状况等)。采用标准方法测量身高、体重、腰围等指标^[12],并计算 BMI(kg/m²)。基线时问卷、体格检查方法与随访时一致。体重异常的判定采用 WHO 推荐的亚洲人群标准(BMI ≥ 24 kg/m²)^[13]。

3. DNA 的提取和基因多态性检测:

(1)DNA 的提取:采用德国 QIAGEN 公司试剂盒,包括 QIAGEN Protease、Buffer AL、Buffer AW1、Buffer AW2、双蒸水。DNA 质量用琼脂糖凝胶电泳法检验,并用分光光度法定量。

(2)基因多态性检测:采用两种方法检测本研究中 10 个基因位点(rs135539、rs4253778、rs1800206、rs2016520、rs9794、rs10865710、rs1805192、rs709158、rs3856806、rs4684847)的多态性,其中 rs4253778 位点采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析方法(PCR-RFLP),其余 9 个位点采用 TaqMan 荧光探针法。PCR-RFLP 采用聚合酶链反应(PCR)扩增含有突变位点的 DNA 片段,采用限制性内切酶识别并切割特异的序列,酶切产物经电泳由限制酶图谱分析,根据片段的多样性对基因型进行判断。上游引物:5'-ACA ATC ACT CCT TAA ATA TGG TGG -3';下游引物:5'-AAG TAG GGA CAG ACA GGA CCA GTA -3'。TaqMan 荧光探针法是 PCR 扩增时,在加入 1 对引物的同时加入 1 个荧光探针(为一寡核苷酸,两端分别标记 1 个报告荧光基团和 1 个淬灭荧光基团)。探针完整时,报告基团发射的荧光信号被淬灭基团吸收,此时检测不到荧光信号;PCR 扩增时,Taq 酶的 5'~3' 外切酶活性将探针酶切降解,使报告荧光基团和淬灭荧光基团分离,打破能量的传递,激发报告基团产生的荧光信号从而被荧光检测系统检测到,SNP 多态性的检测所采用的探针序列见表 1。最终以 ABI Prism7000 软件 Allelic Discrimination 程序进行基因分型。

4. 统计学分析:正态分布的计量资料以均数(\bar{x})±标准差(s)表示,组间比较采用 t 检验;计数资料计算率并采用 χ^2 检验进行比较。等位基因和基因型频率采用直接计数法统计, χ^2 检验以确定体重异常与体重正常组中基因频数分布有无差异及全人群是否符合 Hardy-Weinberg(H-W)遗传平衡定律,当 $P>0.05$ 时表明所选样本符合遗传平衡定律^[14,15]。应用 SHEsis(<http://analysis.bio-x.cn>)软件对各位点进行连锁平衡检验,计算 D' 值(<0.75 表明不存在强烈的连锁不平衡状态)。运用 logistic 回归模型分析计算基因多态性对体重异常发生的 OR 值和

95%CI;多因素分析时,将体重异常可能的混杂因素如性别、年龄、吸烟、饮酒、体力活动、高脂肪饮食和低纤维饮食纳入调整。采用 GMDR 模型,以随访时 BMI 作为结局变量,并将性别、年龄、吸烟、饮酒、体力活动、高脂肪饮食和低纤维饮食作为协变量引入模型进行调整,进行符号检验和置换检验,并计算各个维度不同因子组合的交叉验证一致性、平衡检验准确度。

结 果

1. 研究对象一般特征:820 名对象(男性 270 人、女性 550 人),其中体重正常者 513 人,体重异常者 307 人,平均年龄(50.05±9.41)岁。体重异常组和体重正常组除年龄外,性别、文化程度、经济收入、吸烟、饮酒、高脂肪饮食、低纤维饮食、职业体力活动间的差异无统计学意义(表 2)。

2. H-W 遗传平衡检验和基因连锁平衡检验:H-W 遗传平衡检验结果显示 10 个基因位点各基因型频数的实际值与期望值的差异无统计学意义($P>0.05$),表明样本基因型在人群中为均匀分布,处于群体遗传平衡状态。对 10 个基因位点之间进行的连锁平衡检验结果显示,任意两位点间的 D' 值均 <0.75 ,不存在强烈的连锁不平衡状态。

3. 体重异常组和正常组 PPAR 等位基因的频数分布:PPAR δ 家族的 rs2016520 位点和 PPAR γ 家族的 rs10865710 位点的等位基因在两组间分布差异有统计学意义,体重异常组 rs2016520 位点的 C 等位基因频率显著低于体重正常组(26% vs. 33%, $P<0.01$),而体重异常组 rs10865710 位点的 G 等位基因频率显著高于体重正常组(37% vs. 31%, $P=0.01$)。未发现其余位点突变等位基因频率在两组间的差异有统计学意义(表 3)。

4. 体重异常组和正常组 PPAR 10 个位点突变型基因(杂合子和突变型纯合子)、野生型基因的分布

表 1 检测 PPAR 9 个 SNP 的探针序列

| SNP | rs | 探针序列(5'→3') |
|-----------|----------|--|
| Intro1A3C | 135539 | AGCAGAATTAAATCCTAGGTGATT[A/C]TTAACTCTAATCATACATCTAATGA |
| L162V | 1800206 | CCAGTATTGTCGATTTACAAGTGC[C/G]TTTCTGTCGGGATGTCACACAACGG |
| C2806G | 9794 | CGGCCACATGCCGCGTCCCTGCCCC[C/G]ACCCGGGTCTGGTGCTGAGGATACA |
| TC87 | 2016520 | CCTCTGCCAGGCTGATGGGAACCA[C/T]CCTGTAGAGGTCCATCTGCGTTTCAG |
| C681G | 10865710 | TTGGCATTAGATGCTGTTTTGTCTT[C/G]ATGGAAAATACAGCTATTCTAGGAT |
| C1341T | 3856806 | ACCTCAGACAGATTGTACCGGAACA[C/T]GTGCAGCTACTGCAGGTGATCAAGA |
| introAG | 709158 | AGATACGGGGGAGGAAATTCAGTGG[A/G]TTTTACAATATATTTTCAAGGCAA |
| Pro12Ala | 1805192 | GGTTGACACAGAGATGCCATTCTGG[C/G]CCACCAACTTTGGGATCAGCTCCGT |
| introCT | 4684847 | ATTTATTTAAATCATCTCTAATTCT[C/T]ACAACCTCCGAAAAGATAAGAAAACA |

表 2 两组研究对象基本特征

| 特征类别 | 总人群 (n=820) | 体重正常组 (n=513) | 体重异常组 (n=307) | P 值 |
|-------------------------|------------------|------------------|------------------|-------|
| 男性 | 270(32.9) | 196(32.8) | 74(33.2) | 0.924 |
| 年龄($\bar{x}\pm s$, 岁) | 50.05 \pm 9.41 | 50.49 \pm 9.56 | 48.85 \pm 8.92 | 0.026 |
| 文化程度 | | | | 0.700 |
| 文盲 | 287(35.0) | 214(74.6) | 73(25.4) | |
| 小学 | 255(31.1) | 184(72.2) | 71(27.8) | |
| 中学及以上 | 278(33.9) | 199(71.6) | 79(28.4) | |
| 经济收入(元) | | | | 0.802 |
| <6000 | 564(68.8) | 411(72.9) | 153(27.1) | |
| 6000~ | 213(26.0) | 153(71.8) | 60(28.2) | |
| \geq 15 000 | 43(5.2) | 33(76.7) | 10(23.3) | |
| 现吸烟 | 199(24.3) | 152(25.5) | 47(21.1) | 0.256 |
| 现饮酒 | 205(25.0) | 145(24.3) | 60(26.9) | 0.441 |
| 高脂肪饮食 | 235(28.7) | 171(28.6) | 64(28.7) | 0.987 |
| 低纤维饮食 | 59(7.2) | 45(7.5) | 14(6.3) | 0.535 |
| 体力活动 | | | | 0.209 |
| 全脑力 | 53(6.5) | 42(79.2) | 11(20.8) | |
| 主要脑力 | 100(12.2) | 66(66.0) | 34(34.0) | |
| 主要体力 | 407(49.6) | 304(74.7) | 103(25.3) | |
| 全体力 | 260(31.7) | 185(71.2) | 75(28.8) | |

注: 括号外数据为人数, 括号内数据为发生率(%)

表 3 PPARs 等位基因在体重正常组和体重异常组的频数分布

| 位点 | 等位基因 | 等位基因频率分布 | | | P 值 |
|--------------------------------|------|----------------|------------------|------------------|-------|
| | | 总人群 (n=820) | 体重正常组 (n=513) | 体重异常组 (n=307) | |
| PPARα | | | | | |
| rs135539 | A | 1242(75.7) | 771(75) | 471(77) | 0.47 |
| | C | 398(24.3) | 255(25) | 143(23) | |
| rs4253778 | G | 1404(85.6) | 889(87) | 515(84) | 0.12 |
| | C | 236(14.4) | 137(13) | 99(16) | |
| rs1800206 | L | 1435(87.5) | 895(87) | 540(88) | 0.67 |
| | V | 205(12.5) | 131(13) | 74(12) | |
| PPARδ | | | | | |
| rs9794 | C | 1278(77.9) | 792(77) | 486(79) | 0.35 |
| | G | 362(22.1) | 234(23) | 128(21) | |
| rs2016520 | T | 1142(69.6) | 689(67) | 453(74) | <0.01 |
| | C | 498(30.4) | 337(33) | 161(26) | |
| PPARγ | | | | | |
| rs10865710 | C | 1099(67.0) | 711(69) | 388(63) | 0.01 |
| | G | 541(33.0) | 315(31) | 226(37) | |
| rs3856806 | C | 1162(70.9) | 726(71) | 436(71) | 0.91 |
| | T | 478(29.1) | 300(29) | 178(29) | |
| rs709158 | A | 1154(70.4) | 731(71) | 423(69) | 0.31 |
| | G | 486(29.6) | 295(29) | 191(31) | |
| rs1805192 | Pro | 1206(73.5) | 753(73) | 453(74) | 0.86 |
| | Ala | 434(26.5) | 273(27) | 161(26) | |
| rs4684847 | C | 1295(79.0) | 810(79) | 485(79) | 0.98 |
| | T | 345(21.0) | 216(21) | 129(21) | |

注: 括号外数据为人数, 括号内数据为频率(%)

及其与体重异常关系的 logistic 回归分析: PPAR δ 家族的 rs2016520 基因型在两组间分布的差异有统计学意义。单因素 logistic 回归分析显示, 与野生型 (TT) 基因携带人群相比, rs2016520 的 C 等位基因携带 (TC+CC) 人群发生体重异常的 $OR(95\%CI) = 0.65(0.49 \sim 0.87)$, 在调整吸烟、饮酒、高脂肪饮食、低纤维饮食和体力活动后, rs2016520 位点的 C 等位基因携带人群 (TC+CC) 发生体重异常的 $OR(95\%CI) = 0.63(0.47 \sim 0.84)$, 差异依然有统计学意义。未发现其他 SNP 与体重异常的发生有统计学相关性 (表 4)。

5. GMDR 模型分析: 以随访时 BMI 值作为结局变量, 将 10 个位点按基因型纳入 GMDR 模型作为分析因子, 同时将性别、年龄、吸烟、饮酒、高脂肪饮食、低纤维饮食、体力活动作为协变量纳入模型进行调整。结果显示, rs2016520 和 rs10865710 两个 SNP 之间的交互作用达到统计学显著水平 ($P=0.0010$), 交叉验证一致性为 9/10, 平均检验准确度为 0.5746。rs2016520、rs9794 和 rs10865710 三个 SNP 之间的交互作用达到统计学显著水平 ($P=0.0010$), 交叉验证一致性为 9/10, 平均检验准确度为 0.5834。其中三阶显著模型的交叉验证一致性和平均检验准确度高于二阶显著模型, 因此 rs2016520、rs9794 和 rs10865710 三位点交互作用模型为最佳模型 (表 5)。两个显著模型的单元格划分及组合情况见图 1。

讨 论

本研究结果显示, PPAR δ 的 rs2016520 位点基因多态性与低 BMI 显著相关, C 等位基因的频率为 30.4%, 与国内外报道存在异同^[9, 16-18]。有研究证明, PPAR δ 在能量储存和消耗方面发挥重要作用。Wang 等^[19] 动物实验证实, 通过选择性激动剂对 PPAR δ 的激活, 可减少脂肪酸在脂肪细胞中的储存, 进而避免高脂肪饮食引起的体重异常。Oliver 等^[20] 研究发现, 使用 PPAR δ 选择性激动剂 (GW501516) 治疗体重异常猕猴, 可引起 HDL-C 水平升高, LDL-C、TG、胰岛素水平降低为特征的代谢紊乱。Aberle 等^[10] 对 462 名体重异常伴血脂异常的病例研究表明, PPAR δ 的 rs2016520 基因位点与低体重和低 BMI 显著相关。上述结果基本与本研究一致。

以往研究对 PPAR γ 家族的报道较多, 但本研究所选的 5 个 SNP 中 (rs10865710、rs1805192、rs709158、rs3856806、rs4684847) 均未发现显著的主效应, 亦未发现 PPAR α 家族的 rs135539、rs4253778

表 4 PPARs 基因型的频数分布及 SNP 与体重异常关系的 logistic 回归分析

| 位点 | 基因型 | 基因型频数 | | OR 值(95%CI) | | P 值 |
|--------------------------------|-------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------|
| | | 体重正常组 (n=513) | 体重异常组 (n=307) | 模型 1 | 模型 2 | |
| PPARα | | | | | | |
| rs135539 | AA | 294 | 190 | 1.00 | 1.00 | 0.217 |
| | AC+CC | 219 | 117 | 0.84(0.63 ~ 1.13) | 0.83(0.61 ~ 1.12) | |
| rs4253778 | GG | 392 | 223 | 1.00 | 1.00 | 0.353 |
| | GC+CC | 121 | 84 | 1.19(0.86 ~ 1.65) | 1.17(0.84 ~ 1.63) | |
| rs1800206 | LL | 386 | 236 | 1.00 | 1.00 | 0.841 |
| | LV+VV | 127 | 71 | 0.96(0.68 ~ 1.36) | 0.96(0.66 ~ 1.40) | |
| PPARδ | | | | | | |
| rs9794 | CC | 304 | 194 | 1.00 | 1.00 | 0.099 |
| | CG+GG | 209 | 113 | 0.80(0.59 ~ 1.08) | 0.78(0.57 ~ 1.05) | |
| rs2016520 | TT | 223 | 165 | 1.00 | 1.00 | 0.002 |
| | TC+CC | 290 | 142 | 0.65(0.49 ~ 0.87) | 0.63(0.47 ~ 0.84) | |
| PPARγ | | | | | | |
| rs10865710 | CC | 240 | 127 | 1.00 | 1.00 | 0.168 |
| | CG+GG | 273 | 180 | 1.23(0.92 ~ 1.64) | 1.23(0.92 ~ 1.65) | |
| rs3856806 | CC | 259 | 159 | 1.00 | 1.00 | 0.806 |
| | CT+TT | 254 | 148 | 0.98(0.73 ~ 1.30) | 0.96(0.72 ~ 1.30) | |
| rs709158 | AA | 261 | 149 | 1.00 | 1.00 | 0.778 |
| | AG+GG | 252 | 158 | 1.09(0.82 ~ 1.46) | 1.04(0.78 ~ 1.40) | |
| rs1805192 | PP | 283 | 176 | 1.00 | 1.00 | 0.919 |
| | PA+AA | 230 | 131 | 0.99(0.74 ~ 1.32) | 0.98(0.73 ~ 1.33) | |
| rs4684847 | CC | 324 | 195 | 1.00 | 1.00 | 0.972 |
| | CT+TT | 189 | 112 | 0.99(0.73 ~ 1.34) | 1.01(0.73 ~ 1.35) | |

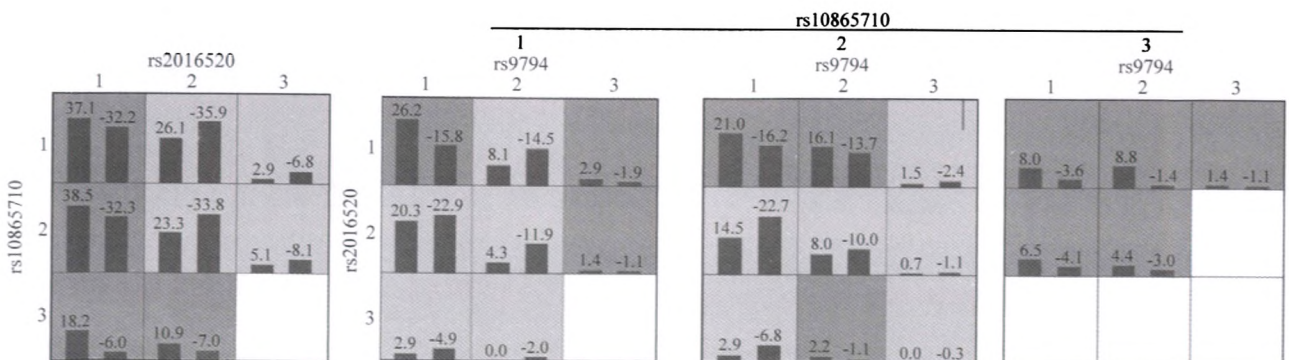
注:模型 1 为单因素分析;模型 2 为调整性别、年龄、吸烟、饮酒、高脂饮食、低纤饮食、体力活动

和以往报道相对较多的 rs1800206 与体重异常存在显著相关性,与 Evans 等^[5]对糖尿病人群的研究结果一致。近来研究认为,体重异常等常见复杂表型的遗传易感性涉及多个基因,其中多为微效基因,由于基因距离的关系,PPAR 家族相邻基因位点之间或与其他体重异常易感基因之间可能存在上位性^[21],使得微效基因对体重异常的单独作用被相邻基因的作用掩盖,导致其与体重异常等复杂疾病的关联在单个 SNP 分析中不被发现,而 PPAR 基因之间和基因环境之间交互作用的存在更增加了单个 SNP 分析结果重复验证的难度,因此体重异常等复杂表型与 PPAR 关联通过单个 SNP 研究常常不能发现易感位点或结果缺乏可重复性,而多个 SNP

表 5 PPAR 基因-基因交互作用与 BMI 关系的 GMDR 模型

| 模型维度 | 最优因子组合 | 交叉验证一致性 | 平均检验准确度 | P 值 |
|------|---|---------|---------|--------|
| 2 | rs2016520, rs10865710 | 9/10 | 0.5746 | 0.0010 |
| 3 | rs2016520, rs9794, rs10865710 | 9/10 | 0.5834 | 0.0010 |
| 4 | rs2016520, rs9794, rs10865710, rs1805192 | 6/10 | 0.5449 | 0.0547 |
| 5 | rs9794, rs10865710, rs3856806, rs1805192, rs4684847 | 7/10 | 0.5369 | 0.1719 |
| 6 | rs135539, rs9794, rs10865710, rs3856806, rs1805192, rs4684847 | 5/10 | 0.5289 | 0.1719 |
| 7 | rs135539, rs2016520, rs10865710, rs3856806, rs709158, rs1805192, rs4684847 | 6/10 | 0.4777 | 0.8281 |
| 8 | rs135539, rs9794, rs2016520, rs10865710, rs3856806, rs709158, rs1805192, rs4684847 | 9/10 | 0.4600 | 0.9893 |
| 9 | rs135539, rs4253778, rs9794, rs2016520, rs10865710, rs3856806, rs709158, rs1805192, rs4684847 | 10/10 | 0.5587 | 0.1719 |

注:调整性别、年龄、吸烟、饮酒、高脂饮食、低纤维饮食、体力活动



注:深色表示高风险,浅色表示低风险;1,2,3 分别代表野生型、杂合子和突变型纯合子

图 1 GMDR 方法的量优模型(二阶模型和三阶模型)

的交互作用分析可以解决上述问题。

本研究采用GMDR模型分析10个SNP交互作用对体重异常发生的影响,并将性别、年龄、吸烟、饮酒、高脂肪饮食、低纤维饮食和体力活动等因素作为协变量引入GMDR模型进行调整。结果发现1个二阶模型(包括rs2016520和rs10865710)和1个三阶模型的交互作用(包括rs2016520、rs9794和rs10865710)有统计学意义,其中三阶模型为最优,包含PPAR δ 和PPAR γ 两个家族。有研究指出^[22,23],PPARs亚型之间在表达水平方面存在功能上的相互干扰,表现为PPAR δ 激活后抑制PPAR γ 介导靶基因的表达或PPAR δ 依赖PPAR γ 的激活。有研究认为^[19,24],PPAR δ 能够促进PPAR γ 辅激活因子21 α (PGC21 α)的表达,后者是机体参与适应性产热、抵御体重异常的重要分子,在棕色脂肪组织和骨骼肌中促进线粒体呼吸作用,其表达能增加脂肪酸的 β 氧化,加强肌肉组织中线粒体呼吸链的活性,消耗能量,从而抑制脂肪蓄积,减少体重。另外,本研究中rs9794和rs10865710两位点的突变型等位基因与BMI的关联无统计学意义,但同rs2016520位点突变型等位基因一起,可显著改变体重异常的发生风险,未发现在单个SNP分析中主效应显著的rs135539位点与其他位点存在交互作用,由此提示,虽然体重异常与某些强主效应基因有关,但并非意味弱主效应基因不起作用,由于多基因交互作用的存在,弱主效应基因(甚至主效应接近0的基因)与强主效应之间的交互作用可能远远超过其独立作用的总和^[25,26]。因此通过对PPAR家族多个位点的交互作用研究可更好解释其与体重异常的复杂关系。总之,本研究证实PPAR δ 家族的rs2016520与BMI显著相关,且与rs9794和rs10865710两位点在体重异常的发生过程中存在显著的交互作用。

参 考 文 献

- [1] James PT, Rigby N, Leach R. The obesity epidemic, metabolic syndrome and future prevention strategies. *Eur J Cardiovasc Prec Rehabil*, 2004, 11: 3-8.
- [2] Albert JS, Foch TT, Hrubec Z. A twin study of human obesity. *JAMA*, 1986, 256: 51-54.
- [3] Faith MS, Pietrobelli A, Nuñez C, et al. Evidence for independent genetic influences on fat mass and body mass index in a pediatric twin sample. *Pediatrics*, 1999, 104: 61-67.
- [4] Bosse Y, Despre JP, Bouchard C, et al. The Peroxisome proliferator-activated receptor L162V mutation is associated with reduced adiposity. *Obes Res*, 2003, 11: 809-816.
- [5] Evans D, Aberle J, Wendt D, et al. A polymorphism, L162V, in the peroxisome proliferator-activated receptor α (PPAR α) gene is associated with lower body mass index in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Mol Med*, 2001, 79(4): 198-204.
- [6] Rhee EJ, Oh KW, Lee WY, et al. Effects of two common polymorphisms of peroxisome proliferator-activated receptor- γ gene on metabolic syndrome. *Arch Med Res*, 2006, 37: 86-94.
- [7] Cecil JE, Watt P, Palmer CN, et al. Energy balance and food intake: the role of PPAR γ gene polymorphisms. *Physiol Behav*, 2006, 88: 227-233.
- [8] Fornage M, Jacobs DR, Steffes MW, et al. Inverse effects of the PPAR γ 2 Pro12 Ala polymorphism on measures of adiposity over 15 years in African Americans and whites: the CARDIA study. *Metabolism*, 2005, 54: 910-917.
- [9] Shin HD, Park BL, Kim LH, et al. Genetic polymorphisms in peroxisome proliferator-activated receptor delta associated with obesity. *Diabetes*, 2004, 53(3): 847-851.
- [10] Aberle J, Hopfer I, Beil FU, et al. Association of peroxisome proliferator-activated receptor delta + 294T/C with body mass index and interaction with peroxisome proliferator-activated receptor alpha L162V. *Int J Obes*, 2006, 30: 1709-1713.
- [11] Hu XS, Guo ZR, Zhou H, et al. Study on the prevalence of metabolic syndrome among 35-74 year-olds in Jiangsu province. *Chin J Epidemiol*, 2006, 27: 751-756. (in Chinese)
- [12] 胡晓抒, 郭志荣, 周惠, 等. 江苏省35~74岁人群代谢综合征的流行病学调查. *中华流行病学杂志*, 2006, 27: 751-756.
- [13] WHO Expert Committee. Physical status: the use and interpretation of anthropometry. *World Health Organ Tech Rep Ser*, 1995, 854: 1-452.
- [14] WHO Consultation. Obesity: preventing and managing the global epidemic. *WHO Technical Report Series*, Geneva, 2000: 894.
- [15] Hardy GH. Mendelian proportions in a mixed population. *Science*, 1908, 18: 5014.
- [16] Weinberg W. On the demonstration of heredity in man// Boyer SH. *Papers on Human Genetics*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ, 1963.
- [17] Yu XJ, Su BL, Wang XM, et al. The relationship of some indices of glycometabolism with peroxisome proliferator-activated receptor delta polymorphism. *Chin J Diabetes*, 2007, 15(10): 596-597. (in Chinese)
- [18] 于晓静, 苏本利, 王小梅, 等. 糖代谢相关指标与PPAR β -87T/C基因多态性的关系研究. *中国糖尿病杂志*, 2007, 15(10): 596-597.
- [19] Skogsberg J, Kannisto K, Cassel TN, et al. Evidence that peroxisome proliferator-activated receptor delta influences cholesterol metabolism in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003, 23(4): 637-643.
- [20] Skogsberg J, McMahon AD, Karpe F, et al. Peroxisome proliferator activated receptor delta genotype in relation to cardiovascular risk factors and risk of coronary heart disease in hypercholesterolaemic men. *J Intern Med*, 2003, 254(6): 597-604.
- [21] Wang YX, Lee CH, Tjep S, et al. Peroxisome proliferator activated receptor delta activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell*, 2003, 113: 159-170.
- [22] Oliver WR, Shenk JL, Snaith MR, et al. A selective peroxisome proliferator-activated receptor agonist promotes reverse cholesterol transport. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98: 5306-5311.
- [23] Fisher R. The correlation between relatives on the supposition of Mendelian inheritance. *Trans R Soc Edin*, 1918, 52: 399-433.
- [24] Consilvio C, Vincent AM, Feldman EL. Neuroinflammation, COX-2, and ALS—a dual role? *Exp Neurol*, 2004, 187: 1-10.
- [25] Shi Y, Hon M, Evans RM. The peroxisome proliferator-activated receptor delta, an integrator of transcriptional repression and nuclear receptor signaling. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 2613-2618.
- [26] Tanaka T, Yamamoto J, Iwasaki S, et al. Activation of peroxisome proliferator activated receptor δ induces fatty acid β -oxidation in skeletal muscle and attenuates metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 15924-15929.
- [27] Hoh J, Ott J. Mathematical multi-locus approaches to localizing complex human trait genes. *Nat Rev Genet*, 2003, 4: 701-709.
- [28] Moore J. The ubiquitous nature of epistasis in determining susceptibility to common human disease. *Hum Hered*, 2003, 56: 73-82.

(收稿日期: 2011-11-30)

(本文编辑: 张林东)