

# 过氧化物酶体增殖物激活受体多态性及其单体型对 C 反应蛋白的影响及与体重异常的交互作用

俞璐刚 周正元 郭志荣 武鸣 顾淑君

**【摘要】** 目的 探讨过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR) $\alpha/\delta/\gamma$  多态性及单体型与 C 反应蛋白(CRP)的关联,并分析单体型和体重异常的交互作用对 CRP 的影响。方法 在“江苏省代谢异常和代谢综合征综合防治研究队列人群”的基础上,采用单纯随机抽样方法,选取 644 名研究对象。应用方差和  $t$  检验,以线性回归模型分析单核苷酸多态性(SNP)基因型与 CRP 水平的关联。采用 SNPStats 软件对 PPAR 三个亚型 SNP 分别构建单体型,并分析单体型与体重异常的交互作用对 CRP 水平的影响。结果 调整性别、年龄、血压、吸烟和饮酒等因素后,rs1800206 和 rs9794 与 CRP 水平有显著关联( $P < 0.05$ )。调整相同因素后,PPAR $\alpha$  中 AVG 和 CVG 两个单体型、PPAR $\delta$  中 CG 单体型与 CRP 水平升高有关( $P < 0.05$ );PPAR $\delta$  中 CC 单体型、PPAR $\gamma$  中 CPCAC 单体型与 CRP 水平降低有关( $P < 0.05$ )。调整相同因素后,PPAR $\alpha$  的 AVG 和 CVG 单体型与体重异常对 CRP 水平有交互作用( $P < 0.05$ )。PPAR $\delta$  中,CG 单体型与体重异常对 CRP 水平有交互作用( $P < 0.05$ )。结论 PPAR 多个 SNP 及其单体型与 CRP 有显著关联;PPAR $\alpha/\delta$  单体型与体重异常存在交互作用并对 CRP 水平产生影响。

**【关键词】** 体重异常;过氧化物酶体增殖物激活受体;C 反应蛋白;交互作用

**Roles of peroxisome proliferator-activated receptors polymorphisms, haplotypes, levels on C-reactive protein and their interactions with abnormal body weight** YU Lu-gang<sup>1</sup>, ZHOU Zheng-yuan<sup>2</sup>, GUO Zhi-rong<sup>3</sup>, WU Ming<sup>4</sup>, GU Shu-jun<sup>3</sup>. 1 Suzhou Industrial Park Center for Disease Control and Prevention, Suzhou 215021, China; 2 Changshu Center for Disease Control and Prevention; 3 Department of Epidemiology, School of Public Health, Soochow University; 4 Jiangsu Provincial Center for Disease Control and Prevention

Corresponding author: GUO Zhi-rong, Email: guozhirong28@163.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 explore the roles of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) on the levels of serum C-reactive protein (CRP) and the interactions of PPARs haplotypes with abnormal body weight. **Methods** Subjects ( $n=644$ ) were randomly selected from the cohort 'Prevention of Multiple metabolic disorders and Metabolic syndrome in Jiangsu province (PMMJS)'. Variance test,  $t$  test and lineal regression were used to analyze the associations between PPARs polymorphisms and the levels of CRP. The association between PPARs haplotypes and serum CRP levels as well as the interaction of PPARs haplotypes with abnormal body weight were analyzed, under the SNPStats software. **Results** After adjusting for sex, age, blood pressure, cigarette smoking, alcohol drinking and so on, data showed that both rs1800206 and rs9794 were associated with the changes along with the levels of CRP ( $P < 0.05$ ). After adjusting for the same factors, haplotypes of AVG and CVG in PPAR $\alpha$ , CG in PPAR $\delta$  appeared to be associated with the increase ( $P < 0.05$ ) while haplotypes of CC in PPAR $\delta$ , CPCAC in PPAR $\gamma$  were associated with the decrease of CRP levels ( $P <$

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2013.10.019

基金项目:卫生部科学研究基金(WKJ2004-2-014)

作者单位:215021 苏州工业园区疾病防治中心(俞璐刚);江苏省常熟市疾病预防控制中心(周正元);苏州大学公共卫生学院流行病与卫生统计学教研室(郭志荣、顾淑君);江苏省疾病预防控制中心慢病科(武鸣)

俞璐刚、周正元同为第一作者

通信作者:郭志荣, Email: guozhirong28@163.com

0.05)。Results from the Interaction analysis also noted that the interactions did exist between abnormal body weight and both AVG, CVG in PPAR $\alpha$ , and CG in PPAR $\delta$ . **Conclusion** PPARs polymorphisms and haplotypes were associated with CRP. Interaction between PPAR  $\alpha/\delta$  and abnormal body weight might contribute to the levels of CRP.

**【Key words】** Abnormal weight; Peroxisome proliferator-activated receptors; C-reactive protein; Interaction

C 反应蛋白(CRP)是炎症应答细胞特征激活的结果,并伴随突发性心肌梗死及脑卒中危险性的增加<sup>[1]</sup>。家系和双生子研究发现 27%~40%的 CRP 水平变化来自遗传因素<sup>[2-4]</sup>,提示 CRP 水平不仅受临床因素的影响也由遗传因素决定。已有研究发现 CRP 基因、白介素(IL)-6 基因和肝核因子-1 $\alpha$ 基因多态性与 CRP 有关<sup>[5-7]</sup>。CRP 产生于肝细胞,其合成主要受细胞转录因子复合物的转录调控,过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR)是配体激活的转录因子核激素受体超家族成员,主要有 PPAR $\alpha$ 、PPAR $\delta$ 和 PPAR $\gamma$ 三种亚型,分别位于人类第 22、6 和 3 号染色体。虽然 PPAR 各亚型的结构不同,且在不同的组织中表达,但 3 个亚型在控制炎性细胞因子的表达、调节炎症反应以及抗炎过程可能均发挥作用<sup>[8,9]</sup>,但目前却鲜见有关 PPAR $\alpha/\delta/\gamma$ 的诸多单核苷酸多态性(SNP)与 CRP 的关联研究,以 PPAR $\alpha/\delta/\gamma$ 的 SNP 构建单体型与 CRP 的关联未见报道。

基因-环境相互作用在表型复杂性方面往往起到十分重要的作用。Szalai 等<sup>[10]</sup>发现吸烟与 CRP 基因对 CRP 水平有交互作用,而 IL-1 和 CRP 基因型交互作用对 CRP 的影响已有报道<sup>[11]</sup>。目前普遍认为肥胖是一种慢性低度炎症状态<sup>[12]</sup>,Aronson 等<sup>[13]</sup>发现肥胖是代谢综合征患者血清 CRP 水平升高的原因之一,CRP 水平与 BMI 呈正相关,表明 CRP 水平与总体脂肪含量关系密切。因此探讨体重异常(超重或肥胖)和 CRP 水平升高是否受 PPAR 的影响,PPAR 和体重异常对 CRP 是否存在交互作用,可为探索影响 CRP 水平变化的原因提供重要的遗传流行病学证据。为此本研究选取 PPAR $\alpha/\delta/\gamma$ 的 10 个 SNP 分析①多个 SNP 与 CRP 的关联;②不同单体型与 CRP 的关联;③单体型和体重异常交互作用对 CRP 的影响。

## 材料与方 法

1. 研究对象:来自“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<sup>[14]</sup>。2009 年 10 月在随访的 4083 名对象中,采用单纯随机抽样方法抽取 820 名对象(排除基线时患有心血管疾病、糖尿病、BMI<18.5 kg/m<sup>2</sup>者),并检测其基线血标本

PPAR 基因多态性。本研究涉及的各项临床和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,且排除可能由于感染、外伤或其他原因引起的 CRP 异常升高( $\geq 10$  mg/L)和基线时 CRP 数据缺失者,共计 644 人纳入研究。PMMJS 的基线调查和队列随访时均获得所有调查对象知情同意。本研究通过苏州大学伦理审查委员会审查和批准。

2. 研究方法:基线和随访调查均采集空腹 8 h 静脉血(用于检测和贮存)。基线调查包括一般情况即主要病史、家族病史、吸烟、饮酒、高脂低纤饮食等。其中低纤饮食与高脂饮食是以“膳食宝塔”<sup>[15]</sup>作为标准;吸烟定义为以往至少吸过 100 支烟且现在还在吸者,而至少 2 年内未吸烟或一生中吸烟<100 支者定义为不吸烟;平均每日饮白酒 $\geq 1$ 两(50 ml),并连续饮 $\geq 1$ 年者定义为饮酒。人体测量包括身高、体重、腰围、臀围,并计算 BMI。按照《中国成人超重和肥胖症预防控制指南》定义 BMI<24 kg/m<sup>2</sup>为正常体重, BMI $\geq 24$  kg/m<sup>2</sup>且<28 kg/m<sup>2</sup>为超重, BMI $\geq 28$  kg/m<sup>2</sup>为肥胖<sup>[16]</sup>,本研究将超重和肥胖人群合并为体重异常。采用粒子增强免疫胶乳凝集高敏测定法检测高敏 C 反应蛋白(hs-CRP),GPO-PAP 法检测 TG,磷钼法检测 TC,磷钨酸沉淀法检测 HDL-C。检测仪器为日立 7020 型全自动生化分析仪。

3. SNP 的选取:按照最小等位基因频率(MAF) $\geq 5\%$ 、PPAR $\alpha/\delta/\gamma$ 亚型中与多代谢异常有关的 SNP<sup>[5-8]</sup>及所选的 SNP 位于基因片段功能区或可能改变功能的区域。本研究 10 个 SNP 位置:rs1800206(L162V)位于 PPAR $\alpha$  基因第 5 外显子;rs4253778(G7C)位于 PPAR $\alpha$  的第 7 内含子;rs135539(intro1A3C)位于 PPAR $\alpha$  的第 1 内含子;rs2016520(-87T>C)位于 PPAR $\delta$  的第 4 外显子;rs9794(C2806G)位于 PPAR $\delta$  的第 9 外显子;rs10865710(C681G)位于 PPAR $\gamma$ 3 外显子 A2 上游;rs1805192(Pro12Ala)位于 PPAR $\gamma$ 2 外显子 B 上;rs4684847(introCT)位于 PPAR $\gamma$  第 3 内含子上;rs709158(introAG)位于 PPAR $\gamma$  第 2 内含子上;rs3856806(C161T)位于 PPAR $\gamma$ 2 第 6 外显子。

4. DNA 的提取和基因多态性检测:采用德国 QIAGEN 有限公司的 QIAGEN 试剂盒,DNA 的质量

用琼脂糖凝胶电泳法检测,浓度用分光光度法测定。采用两种方法检测10个SNP位点的多态性,其中rs4253778位点采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)分析方法,其余9个位点采用Taqman荧光探针法。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'。最终以ABI Prism7000软件Allelic Discrimination程序进行基因分型。

5. 统计学分析: TG和CRP为偏态分布资料,在分析前进行对数转换,使其保持正态分布;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验;计数资料计算率,等位基因型采用频数和构成比表示,并采用 $\chi^2$ 检验统计推断;按照基因型分组,采用方差分析和 $t$ 检验比较各组CRP水平的差异。以上均使用双侧检验, $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义,并采用SPSS 16.0软件进行分析。Hardy-Weinberg(H-W)平衡检验( $P > 0.05$ 表明所选样本符合遗传平衡定律)、连锁平衡检验( $D'$ 值 $< 0.75$ 表示不存在强烈的连锁不平衡)、单体型与CRP水平的关联以及单体型-体重异常交互作用(差异值 $> 0$ 则认为该单体型或交互作用与CRP升高有关,反之亦然)均采用SNPStats软件<sup>[17]</sup>。

## 结 果

1. 基本情况: 644名研究对象中男性234人,女性410人。与女性相比,男性具有较高的TG、SBP、DBP和腰围,和较低的HDL-C( $P < 0.05$ ),且吸烟率、饮酒率和高脂饮食率均明显高于女性( $P < 0.05$ )。其他指标性别间的差异无统计学意义(表1)。

2. PPAR $\alpha/\delta/\gamma$ 基因H-W平衡检验和连锁平衡检验: H-W平衡检验结果显示,10个SNP基因型频数的实际值与期望值差异未达到统计学显著水平,处于群体遗传平衡状态;连锁平衡检验结果显示,任意两个SNP之间均不存在强烈的连锁不平衡状态( $D' < 0.75$ )。

3. 单个SNP与CRP的关联: rs135539-C等位基因与较低水平的CRP有显著关联( $P < 0.05$ ), rs1800206-V等位基因和rs9794-G等位基因与较高水平的CRP有显著关联( $P < 0.05$ )。调整了性别、年龄、血压、血脂、高脂低纤饮食、吸烟和饮酒因素后, rs1800206-V等位基因和rs9794-G等位基因仍与较高水平的CRP有显著关联( $P < 0.05$ )。即使经Bonferroni校正( $P < 0.006$ )后, rs1800206-V等位基

表1 研究对象基本特征的性别分布

特 征	男性( $n=234$ )	女性( $n=410$ )	$P$ 值
年龄(岁) <sup>a</sup>	51.1 $\pm$ 9.9	50.2 $\pm$ 9.1	0.241
TC(mmol/L) <sup>a</sup>	5.1 $\pm$ 1.1	5.1 $\pm$ 1.1	0.657
TG(mmol/L) <sup>a</sup>	1.5 $\pm$ 0.7	1.4 $\pm$ 0.5	0.002
HDL-C(mmol/L) <sup>a</sup>	1.2 $\pm$ 0.3	1.3 $\pm$ 0.3	0.001
LDL-C(mmol/L) <sup>a</sup>	3.6 $\pm$ 1.2	3.5 $\pm$ 1.2	0.413
FPG(mmol/L) <sup>a</sup>	5.0 $\pm$ 0.8	5.1 $\pm$ 0.7	0.525
SBP(mm Hg) <sup>a</sup>	124.9 $\pm$ 19.3	120.0 $\pm$ 16.3	0.001
DBP(mm Hg) <sup>a</sup>	79.5 $\pm$ 10.2	76.4 $\pm$ 9.0	$< 0.001$
BMI(kg/m <sup>2</sup> ) <sup>a</sup>	23.1 $\pm$ 3.0	23.0 $\pm$ 3.2	0.733
腰围(cm) <sup>a</sup>	81.5 $\pm$ 8.5	77.4 $\pm$ 9.0	$< 0.001$
CRP(mg/L) <sup>a</sup>	1.0 $\pm$ 2.5	1.0 $\pm$ 2.0	0.828
吸烟 <sup>b</sup>	148(63.2)	15(3.7)	$< 0.001$
饮酒 <sup>b</sup>	147(62.8)	30(7.3)	$< 0.001$
高脂饮食 <sup>b</sup>	49(20.9)	57(13.9)	0.021
低纤饮食 <sup>b</sup>	7(3.0)	12(2.9)	0.963

注:<sup>a</sup>  $\bar{x} \pm s$ ; <sup>b</sup> 频数(百分率)

因仍与较高水平的CRP有显著关联( $P < 0.001$ ),未发现其余SNP与CRP水平之间的关联(表2)。

4. PPAR $\alpha/\delta/\gamma$ 单体型与CRP的关联: PPAR的多个SNP对CRP产生影响,对PPAR各亚型所包含的位点构建单体型, $\alpha$ 、 $\delta$ 、 $\gamma$ 三种亚型分别得到5、3、7个频率 $> 0.05$ 的常见单体型。在PPAR $\alpha$ 中,以频率最高的ALG单体型作为参考,调整性别、年龄、血压、血脂、高脂低纤饮食、吸烟和饮酒后(下同),CLG单体型有降CRP的作用,AVG和CVG两个单体型具有升高CRP水平的作用,其中AVG单体型者CRP平均增加0.75(95%CI: 0.25 ~ 1.24)mg/L( $P = 0.0033$ ), CVG单体型者CRP平均增加0.86(95%CI: 0.26 ~ 1.45)mg/L( $P = 0.0050$ ), CLG单体型者CRP平均减少0.36(95%CI: -0.70 ~ -0.12)mg/L( $P = 0.0410$ )(表3)。在PPAR $\delta$ 中,以频率最高的TC单体型作为参考,CC单体型具有较低的CRP,即平均下降0.47(95%CI: -0.77 ~ -0.17)mg/L( $P = 0.0019$ )(表4)。PPAR $\gamma$ 中,以频率最高的CPCAC单体型作为参考,CPCAT、GPCAC单体型均具有降低CPR的作用,CRP分别平均降低0.63(95%CI: -1.24 ~ -0.05)mg/L( $P = 0.0410$ )和0.69(95%CI: -1.27 ~ -0.10)mg/L( $P = 0.0210$ )(表5)。

5. BMI与CRP的关联: 考虑体重异常与CRP水平的关联性,在固定了各SNP(排除基因对CRP的影响),分别在不同多态性中比较体重异常者与体重正常者CRP的水平(表6)。在rs135539-AA、rs1800206-LL、rs4253778-GC + CC、rs2016520-TT、rs9794-CC、rs10865710-CC、rs1805192-PA + AA、rs4684847-CT + TT、rs709158-AA、rs3856806-CT +

表2 基因型与CRP水平的关联

基因型	基因频率 (%)	CRP (mg/L) <sup>a</sup>	P值 <sup>b</sup>	基因型	CRP (mg/L) <sup>a</sup>	P值 <sup>c</sup>
rs135539						
AA	345(53.6)	1.12±2.58	0.048 (0.300)	AA	1.12±2.58	0.047
AC	244(37.9)	0.81±1.52		AC+CC	0.81±1.53	(0.120)
CC	55(8.5)	0.83±1.57				
rs1800206						
LL	447(69.4)	0.71±1.96	<0.001 (<0.001)	LL	0.71±1.96	<0.001
LV	184(28.6)	1.62±2.48		LV+VV	1.59±2.45	(<0.001)
VV	13(2.0)	0.82±1.35				
rs4253778						
GG	460(71.4)	0.99±2.12	0.762 (0.910)	GG	0.99±2.12	0.868
GC	161(25.0)	0.90±2.15		GC+CC	0.95±2.26	(0.860)
CC	23(3.6)	1.25±2.91				
rs2016520						
TT	305(47.3)	1.12±2.35	0.148 (0.320)	TT	1.12±2.35	0.082
TC	290(45.0)	0.88±2.07		TC+CC	0.86±1.98	(0.160)
CC	49(7.6)	0.67±1.34				
rs9794						
CC	383(59.5)	0.84±1.79	0.039 (0.098)	CC	0.84±1.79	0.043
CG	226(35.1)	1.16±2.61		CG+GG	1.18±2.59	(0.034)
GG	35(5.4)	1.29±2.50				
rs10865710						
CC	292(45.3)	1.07±2.07	0.450 (0.300)	CC	1.07±2.07	0.300
CG	289(44.9)	0.94±2.37		CG+GG	0.90±2.23	(0.230)
GG	63(9.8)	0.72±1.40				
rs1805192						
PP	327(50.8)	1.01±2.29	0.800 (0.910)	PP	1.01±2.29	0.677
PA	250(38.8)	0.91±2.07		PA+AA	0.94±2.01	(0.720)
AA	67(10.4)	1.06±1.78				
rs4684847						
CC	413(64.1)	1.03±2.25	0.520 (0.630)	CC	1.03±2.25	0.340
CT	200(31.1)	0.89±2.08		CT+TT	0.87±1.99	(0.360)
TT	31(4.8)	0.73±1.32				
rs709158						
AA	315(48.9)	0.94±2.09	0.206 (0.180)	AA	0.94±2.09	0.663
AG	273(42.4)	1.11±2.41		AG+GG	1.01±2.23	(0.520)
GG	56(8.7)	0.56±0.80				
rs3856806						
CC	316(49.1)	0.89±2.30	0.310 (0.390)	CC	0.89±2.30	0.327
CT	263(40.8)	1.02±2.00		CT+TT	1.06±2.01	(0.300)
TT	65(10.1)	1.21±2.04				

注：<sup>a</sup>同表1；<sup>b</sup>采用方差检验；<sup>c</sup>采用t检验；括号内P值为采用多元线性回归，调整性别、年龄、血压、血脂、高脂低纤饮食、吸烟和饮酒

表3 PPARα 5个单体型与CRP水平的关联

单体型	SNP1	SNP2	SNP3	频率	差异值(95%CI)	P值
H1	A	L	G	0.5331	0.00	-
H2	C	L	G	0.1837	-0.36(-0.70 ~ -0.12)	0.0410
H3	A	L	C	0.0901	0.22(-0.19 ~ 0.63)	0.2900
H4	A	V	G	0.0839	0.75(0.25 ~ 1.24)	0.0033
H5	C	V	G	0.0541	0.86(0.26 ~ 1.45)	0.0050
Rare	*	*	*	0.0551	-0.18(-0.72 ~ 0.35)	0.5000

注：调整性别、年龄、血压、血脂、高脂低纤饮食、吸烟和饮酒；SNP1为rs135539, SNP2为rs1800206, SNP3为rs4253778

TT组中,与体重正常者相比,体重异常者均具有较高的CRP水平( $P < 0.05$ )。

6. 单体型和体重异常的交互作用：PPARα单体型与体重异常交互作用分析中,在调整性别、年龄、血压、血脂、高脂低纤饮食、吸烟和饮酒后(下同),与具有最高频率单体型ALG且体重正常对象相比,体重正常且携有CLG单体型者CRP平均下降0.42(95%CI: -0.78 ~ -0.06) mg/L,体重异常且携有ALC、AVG和CVG单体型者CRP水平平均增加,分别为0.59(95%CI: 0.09 ~ 1.15) mg/L、1.10(95%CI: 0.22 ~ 1.98)mg/L和1.09(95%CI: 0.35 ~ 1.83)mg/L(表7)。在PPARδ的单体型中,与具有最高频率单体型TC且体重正常者相比,体重正常且携有CC单体型者,CRP平均下降0.40(95%CI: -0.75 ~ -0.04) mg/L ( $P < 0.05$ )(表8)。在PPARγ单体型中,与具有最高频率单体型CPCAC且体重正常者相比,体重正常且携有CACAC、GPCAC和CPTAC单体型者CRP均降低,分别为-0.62(95%CI: -1.22 ~ -0.02) mg/L、-0.67(95%CI: -1.38 ~ -0.03)mg/L和-0.81(95%CI: -1.51 ~ -0.11)mg/L,但未发现单体型与体重异常对CRP水平有交互作用(表9)。

### 讨 论

本研究分析了PPARα/δ/γ的10个SNP基本特征,以及与体重异常交互作用对CRP水平的影响。结果发现调整性别、年龄、血压、血脂、高脂低纤饮食、吸烟和饮酒后,10个SNP中有2个SNP与CRP水平仍有显著关联。单体型分析结果显示PPARα中rs135539、rs1800206、rs4253778构建的CLG、AVG和CVG单体型,PPARδ中rs2016520、rs9794构建的CC单体型,PPARγ中rs10865710、rs1805192、rs4684847、rs709158、rs3856806构建的CPCAT,GPCAC单体型与CRP水平有显著关联;将单体型和体重异常进行交互作用分析,PPARα的CLG、CLV、AVG和CVG单体型,PPARδ的CC单体型以及PPARγ的CACAC、GPCAC、CPTAC与体重异常对

**表 4 PPAR $\delta$  4 个单体型与 CRP 水平的关联**

单体型	SNP1	SNP2	频率	差异值(95% CI)	P 值
H1	T	C	0.4941	0.00	-
H2	C	C	0.2761	-0.47(-0.77 ~ -0.17)	0.0019
H3	T	G	0.1969	-0.10(-0.42 ~ 0.21)	0.5200
H4	C	G	0.0329	1.35(0.52 ~ 2.19)	0.0015

注:调整性别、年龄、血压、血脂、高脂低纤饮食、吸烟和饮酒; SNP1 为 rs2016520, SNP2 为 rs9794

**表 5 PPAR $\gamma$  7 个常见单体型与 CRP 水平的关联**

单体型	SNP1	SNP2	SNP3	SNP4	SNP5	频率	差异值(95%CI)	P 值
H1	C	P	C	A	C	0.2007	0.00	-
H2	C	P	C	G	C	0.0797	-0.36(-0.93 ~ 0.21)	0.2200
H3	C	P	C	A	T	0.0728	-0.63(-1.24 ~ -0.05)	0.0410
H4	C	A	C	A	C	0.0722	0.09(-0.60 ~ 0.78)	0.8000
H5	G	P	C	A	C	0.0651	-0.69(-1.27 ~ -0.10)	0.0210
H6	G	P	C	G	C	0.0594	-0.18(-0.82 ~ 0.46)	0.5700
H7	C	P	T	A	C	0.0515	-0.49(-1.19 ~ 0.22)	0.1800
Rare	*	*	*	*	*	0.3986	-0.24(-0.59 ~ 0.10)	0.1700

注:调整性别、年龄、血压、血脂、高脂低纤饮食、吸烟和饮酒; SNP1 为 rs10865710, SNP2 为 rs1805192, SNP3 为 rs4684847, SNP4 为 rs709158, SNP5 为 rs3856806

**表 6 按基因型分组 BMI 与 CRP 水平的关联**

基因型	CRP( $\bar{x} \pm s$ , mg/L)		P 值
	BMI < 24 kg/m <sup>2</sup> (n=426)	BMI $\geq$ 24 kg/m <sup>2</sup> (n=218)	
rs135539			
AA	1.00 $\pm$ 2.43	1.33 $\pm$ 2.80	0.025
AC+CC	0.83 $\pm$ 1.59	0.78 $\pm$ 1.38	0.614
rs1800206			
LL	0.61 $\pm$ 1.81	0.88 $\pm$ 2.19	0.036
LV+VV	1.54 $\pm$ 2.41	1.68 $\pm$ 2.57	0.524
rs4253778			
GG	0.93 $\pm$ 2.20	1.09 $\pm$ 1.96	0.348
GC+CC	0.86 $\pm$ 1.60	1.12 $\pm$ 3.01	0.045
rs2016520			
TT	1.04 $\pm$ 2.08	1.27 $\pm$ 2.74	0.041
TC+CC	0.82 $\pm$ 2.05	0.93 $\pm$ 1.81	0.063
rs9794			
CC	0.72 $\pm$ 1.41	1.05 $\pm$ 1.31	0.026
CG+GG	1.18 $\pm$ 2.69	1.19 $\pm$ 2.36	0.876
rs10865710			
CC	0.96 $\pm$ 1.87	1.30 $\pm$ 2.45	0.022
CG+GG	0.86 $\pm$ 2.23	0.96 $\pm$ 2.23	0.478
rs1805192			
PP	1.09 $\pm$ 2.60	0.88 $\pm$ 1.62	0.328
PA+AA	0.75 $\pm$ 1.37	1.36 $\pm$ 2.94	0.002
rs4684847			
CC	1.04 $\pm$ 2.34	1.04 $\pm$ 2.08	0.972
CT+TT	0.71 $\pm$ 1.49	1.21 $\pm$ 2.75	0.007
rs709158			
AA	0.74 $\pm$ 1.42	1.37 $\pm$ 3.01	0.001
AG+GG	1.09 $\pm$ 2.55	0.97 $\pm$ 1.47	0.137
rs3856806			
CC	0.90 $\pm$ 2.38	0.87 $\pm$ 2.15	0.606
CT+TT	0.93 $\pm$ 1.70	1.30 $\pm$ 2.46	0.011

**表 7 PPAR $\alpha$  5 个常见单体型与体重异常对 CRP 的交互作用**

单体型	差异值(95%CI)	单体型	差异值(95%CI)
ALG	0.00	ALG-体重异常	-0.18(-0.91 ~ 0.56)
CLG	-0.42(-0.78 ~ -0.06)	CLG-体重异常	-0.31(-0.88 ~ 0.26)
ALC	-0.04(-0.60 ~ 0.52)	ALC-体重异常	0.59(0.09 ~ 1.15)
AVG	0.50(-0.45 ~ 1.45)	AVG-体重异常	1.10(0.22 ~ 1.98)
CVG	0.50(-0.45 ~ 1.45)	CVG-体重异常	1.09(0.35 ~ 1.83)

注:调整性别、年龄、血压、吸烟、饮酒; 体重异常为 BMI  $\geq$  24 kg/m<sup>2</sup>

**表 8 PPAR $\delta$  3 个单体型与体重异常对 CRP 的交互作用**

单体型	差异值(95%CI)	单体型	差异值(95%CI)
TC	0.00	TC-体重异常	0.26(-0.35 ~ 0.87)
CC	-0.40(-0.75 ~ -0.04)	CC-体重异常	-0.20(-0.69 ~ 0.29)
TG	-0.11(-0.51 ~ 0.28)	TG-体重异常	0.19(-0.40 ~ 0.78)

注:调整性别、年龄、血压、血脂、高脂低纤饮食、吸烟和饮酒; 体重异常为 BMI  $\geq$  24 kg/m<sup>2</sup>

**表 9 PPAR $\gamma$  7 个常见单体型与体重异常对 CRP 的交互作用**

单体型	差异值(95%CI)	单体型	差异值(95%CI)
CPCAC	0.00	CPCAC-体重异常	-0.15(-0.93 ~ 0.63)
CPCGC	-0.09(-0.78 ~ 0.60)	CPCGC-体重异常	-0.39(-1.14 ~ 0.36)
CPCAT	0.01(-0.76 ~ 0.77)	CPCAT-体重异常	0.74(-0.40 ~ 1.87)
CACAC	-0.62(-1.22 ~ -0.02)	CACAC-体重异常	-0.37(-1.53 ~ 0.81)
GPCAC	-0.67(-1.38 ~ -0.03)	GPCAC-体重异常	-0.38(-1.48 ~ 0.72)
GPCGC	0.38(-0.45 ~ 1.20)	GPCGC-体重异常	-0.499(-1.59 ~ 0.61)
CPTAC	-0.81(-1.51 ~ -0.11)	CPTAC-体重异常	0.60(-0.73 ~ 1.94)

注:调整性别、年龄、血压、血脂、高脂低纤饮食、吸烟和饮酒; 体重异常为 BMI  $\geq$  24 kg/m<sup>2</sup>

CRP 有交互作用。该结果支持了本研究的假设,即 PPAR 的一些 SNP 与 CRP 有关联,且这种关联与体重异常之间存在交互作用。这是除 CRP 基因、IL-6 基因和肝核因子-1 $\alpha$  基因多态性外<sup>[5-7]</sup>,发现其他与 CRP 有关联的基因。

本研究关联分析显示,PPAR 的 2 个 SNP 与 CRP 水平有关联。Tai 等<sup>[18]</sup>在 Framingham 后代的队列研究中发现,经调整年龄、BMI 和吸烟等因素后,rs1800206(位于 PPAR $\alpha$  基因第 5 外显子)的 V 等位基因仍是引起血脂异常的危险因子;李全民等<sup>[19]</sup>对中国重庆地区人群的研究也报道了类似特点;Fruchart<sup>[20]</sup>认为 rs1800206 基因多态性与动脉粥样硬化等心血管疾病有潜在关联;本研究结果显示,与野生型基因携带者相比,rs1800206 的 V 等位基因携带者与 CRP 水平升高有关。Holzapfel 等<sup>[21]</sup>发现,rs9794(位于 PPAR $\delta$  的第 9 外显子)与胆固醇代谢显著相关;本文结果显示,与野生型基因携带者相比,rs9794 的 G 等位基因与 CRP 水平升高有关。

研究表明,在调整了可能对 CRP 水平产生影响的协变量后,PPAR $\alpha$  中的 CLG 单体型有降低 CRP 水平的作用,AVG 和 CVG 单体型均有增高 CRP 水

平的作用, PPAR $\delta$ 中CC单体型、PPAR $\gamma$ 中CPCAT和CPCAC单体型也有降低CRP水平的效应。值得注意的是,虽然在关联分析中rs135539-C等位基因与CRP水平降低有关,但当rs135539-C与rs1800206-V和rs4253778-G等位基因构建单体型后,rs135539-C等位基因降低CRP的作用被rs1800206-V等位基因增加CRP水平的作用掩盖。此外在单位点分析中,虽然PPAR $\gamma$ 的5个SNP均未显示与CRP水平有关联,但构建为CPCAT、CPCAC单体型后,与CRP水平降低显著关联。由此猜想,遗传易感性取决于多个SNP的贡献,同一基因上不同等位基因的组合可能对蛋白功能或转录调控产生不同效应,但其调节机制复杂,还有待进一步研究。

复杂表型是遗传因素和环境因素共同作用的结果,其中归因于“纯遗传因素”仅占一小部分<sup>[22,23]</sup>。可以假设,即使与表型有关的遗传位点全部定位,单纯应用这些基因位点预测疾病或表型风险的效果仍有限<sup>[24]</sup>,而基因-环境的相互作用可能是影响复杂表型的主要因素。以往的研究也表明,基因-环境交互作用对CRP基因与CRP的关联产生影响<sup>[10,25]</sup>。肥胖往往与CRP低水平持续性升高有关,如Ledue和Rifai<sup>[26]</sup>报道血浆CRP浓度与BMI呈正相关。体重异常可诱发细胞因子如IL-1、IL-6和肿瘤坏死因子异常分泌,而后者可诱导CRP水平升高。本研究结果也显示,排除PPAR对CRP的影响后,在大部分SNP中,体重异常者CRP水平显著高于体重正常者。提示体重异常与CRP的关联在某种程度上独立于PPAR的一些SNP。因此如将体重异常视作影响CRP的一个重要环境因素,PPAR $\alpha/\delta/\gamma$ 常见单体型与体重异常对CRP的交互作用显示,非肥胖并携带PPAR $\alpha$  CLG单体型者有降低CRP水平作用,而体重异常并携带PPAR $\alpha$ 中ALC、AVG和CVG者有协同增高CRP水平的作用,体重正常并携带PPAR $\delta$  CC单体型者有降低CRP水平作用,体重正常并携带PPAR $\gamma$  CACAC、GPCAC和CPTAC单体型者均有显著降低CRP作用,但体重异常并携带PPAR $\gamma$ 单体型者未显示显著的交互效应。表明本研究构建的单体型与CRP的关联似乎在体重正常对象中较为普遍,即PPAR对CRP水平的影响主要在体重正常者中起作用。

PPAR $\alpha/\delta$ 中3个常见单体型和体重异常交互作用,可能是因为PPAR $\alpha/\delta$ 均能在血管内皮细胞、单核细胞/巨噬细胞和血管平滑肌细胞中大量表达。近来研究表明PPAR $\alpha/\delta$ 激动剂可通过干扰炎症细胞的

招募,抑制炎症细胞因子诱导的黏附分子的表达,抑制血管平滑肌细胞的NF- $\kappa$ B信号从而抑制IL-6、前列腺素和环氧化酶(COX)-2等致炎剂的合成发挥抗炎作用<sup>[27]</sup>。此外,PPAR $\alpha/\delta$ 还是脂肪细胞基因表达过程中信号传递的主要调节者,参与脂肪细胞分化和细胞脂代谢调节,与体重异常密切相关<sup>[28]</sup>。PPAR $\alpha/\delta$ 激活后可刺激不同器官脂肪代谢,增加脂肪酸的 $\beta$ 氧化,防止脂肪组织生成和饮食引起的体重增加<sup>[20,29]</sup>。当PPAR $\alpha/\delta$ 基因发生突变或缺失时,导致脂肪酸酯化和脂肪生成。脂肪组织中的巨噬细胞是脂肪组织血管间质的组成部分,是局部产生促炎症细胞因子的主要来源。Diehl<sup>[30]</sup>发现,肝内脂肪聚集可刺激肝脏细胞因子产生,使CRP水平显著增加。由此提示,PPAR $\alpha/\delta$ 中3个常见单体型不但可以直接参与多种组织细胞炎症因子的表达来调控CRP水平,而且可以通过对体重异常的调节来间接影响炎症因子释放。当PPAR $\alpha$ 中AVG、CVG或PPAR $\delta$ 中CG单体型与体重异常同时存在时,可能从多种途径共同对CRP的水平产生影响。

本研究仅涉及PPAR的10个SNP,而更多的SNP及其与环境因素间相互作用的机制还有待深入探讨。总之,本研究首次提出了PPAR基因型、单体型对CRP水平的影响以及单体型与体重异常的交互作用,其结果还有待在更大样本或其他种族人群中得到验证。

#### 参 考 文 献

- [1] Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, et al. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*, 1997, 336(14): 973-979.
- [2] Pankow JS, Folsom AR, Cushman M, et al. Familial and genetic determinants of systemic markers of inflammation: the NHLBI family heart study. *Atherosclerosis*, 2001, 154(3): 681-689.
- [3] Retterstol L, Eikvar L, Berg K. A twin study of C-reactive protein compared to other risk factors for coronary heart disease. *Atherosclerosis*, 2003, 169(3): 279-282.
- [4] MacGregor AJ, Gallimore JR, Spector TD, et al. Genetic effects on baseline values of C-reactive protein and serum amyloid a protein: a comparison of monozygotic and dizygotic twins. *Clin Chem*, 2004, 50(1): 130-134.
- [5] Okada Y, Takahashi A, Ohmiya H, et al. Genome-wide association study for C-reactive protein levels identified pleiotropic associations in the IL6 locus. *Hum Mol Genet*, 2011, 20(6): 1224-1231.
- [6] Reiner AP, Barber MJ, Guan Y, et al. Polymorphisms of the HNF1A gene encoding hepatocyte nuclear factor-1  $\alpha$  are associated with C-reactive protein. *AJHG*, 2008, 82(5): 1193-1201.

- [7] Elliott P, Chambers JC, Zhang W, et al. Genetic loci associated with C-reactive protein levels and risk of coronary heart disease. *JAMA*, 2009, 302(1):37-48.
- [8] Robinson E, Grieve DJ. Significance of peroxisome proliferator-activated receptors in the cardiovascular system in health and disease. *Pharmacol Therapeut*, 2009, 122:246-263.
- [9] Hamblin M, Chang L, Fan Y, et al. PPARs and the cardiovascular system. *Antioxid Redox Signal*, 2009, 11(3):1415-1452.
- [10] Szalai AJ, Wu J, Lange EM, et al. Single-nucleotide polymorphisms in the C-reactive protein (CRP) gene promoter that affect transcription factor binding, alter transcriptional activity, and associate with differences in baseline serum CRP level. *J Mol Med*, 2005, 83(6):440-447.
- [11] Eklund C, Lehtimäki T, Hurme M. Epistatic effect of C-reactive protein (CRP) single nucleotide polymorphism (SNP) + 1059 and interleukin-1B SNP + 3954 on CRP concentration in healthy male blood donors. *Int J Immunogenet*, 2005, 32(4):229-232.
- [12] Das UN. Is obesity an inflammatory condition? *Nutrition*, 2001, 17(11-12):953-966.
- [13] Aronson D, Bartha P, Zinder O, et al. Obesity is the major determinant of elevated C-reactive protein in subjects with the metabolic syndrome. *Int J Obesity*, 2004, 28(5):674-679.
- [14] 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(9):751-756. (in Chinese)  
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(9):751-756.
- [15] Chinese Nutrition Society. Chinese dietary guidelines. 2007 ed. Lhasa: Tibetan People's Publishing House, 2008:15-55. (in Chinese)  
中国营养学会. 中国居民膳食指南. 2007 版. 拉萨: 西藏人民出版社, 2008:15-55.
- [16] The People's Republic of China Ministry of Health Disease Control Division. The guidelines for prevention and control of overweight and obesity in Chinese adult. 2006 ed. Beijing: People's Health Publishing House, 2006:9-13. (in Chinese)  
中华人民共和国卫生部疾病控制司. 中国成人超重和肥胖症预防控制指南. 2006 版. 北京: 人民卫生出版社, 2006:9-13.
- [17] Xin X, Yang S, Kowalski J, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligands are potent inhibitors of angiogenesis in vitro and in vivo. *J Biol Chem*, 1999, 274(13):9116-9121.
- [18] Tai ES, Demissie S, Cupples LA, et al. Association between the PPARA L162V polymorphism and plasma lipid levels: the Framingham Offspring Study. *Arterioscl Throm Vas*, 2002, 22(5):805-810.
- [19] Li QM, Zhang SH, Ren W, et al. Association between the PPARA polymorphism and plasma lipid levels in the Type 2 diabetic pedigrees. *Chin J Diabetes*, 2004, 12(1):41-42. (in Chinese)  
李全民, 张素华, 任伟, 等. 过氧化物酶体增殖物激活受体 $\alpha$ 基因突变与 2 型糖尿病家系血脂的关系. *中国糖尿病杂志*, 2004, 12(1):41-42.
- [20] Fruchart JC. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  (PPAR  $\alpha$ ): at the crossroads of obesity, diabetes and cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 2009, 205(5):1-8.
- [21] Holzapfel J, Heun R, Lütjohann D, et al. PPARD haplotype influences cholesterol metabolism but is no risk factor of Alzheimer's disease. *Neurosci Lett*, 2006, 408(1):57-61.
- [22] Shpilberg O, Dorman J, Ferrel M, et al. The next stage: molecular epidemiology. *J Clin Epidemiol*, 1997, 50(6):635-638.
- [23] Khoury M. Genetic and epidemiological approaches to the search for gene-environment interaction: the case of osteoporosis. *Am J Epidemiol*, 1998, 147(1):1-2.
- [24] Shen HB, Jin GF. Genome-wide association study (GWAS) and risk prediction of complex disease: advances and prospects. *Chin J Epidemiol*, 2011, 32(7):643-649. (in Chinese)  
沈洪兵, 靳光付. 全基因组关联研究与复杂疾病风险预测的现状与展望. *中华流行病学杂志*, 2011, 32(7):643-649.
- [25] Teng MS, Hsu LA, Wu S, et al. Association between C-reactive protein gene haplotypes and C-reactive protein levels in Taiwanese: Interaction with obesity. *Atherosclerosis*, 2009, 204(2):64-69.
- [26] Ledue TB, Rifai N. Preanalytic and analytic sources of variations in C-reactive protein measurement: implications for cardiovascular disease risk assessment. *Clin Chem*, 2003, 49(8):1258-1271.
- [27] Azhar S. Peroxisome proliferator-activated receptors, metabolic syndrome and cardiovascular disease. *Future Cardiol*, 2010, 6(5):657-691.
- [28] Finck BN, Chinetti G, Steals B. PPARs/RXR $\alpha$  in cardiovascular physiology and disease. *PPAR Research*, 2008, Article ID 173780.
- [29] Wang YX, Lee CH, Tjep S, et al. Peroxisome-proliferator-Activated receptor  $\delta$  activates fat metabolism to prevent obesity. *Cell*, 2003, 133(2):159-170.
- [30] Diehl AM. Nonalcoholic steatosis and steatohepatitis IV: nonalcoholic fatty liver disease abnormalities in macrophage function and cytokines. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 282(1):G1-G5.

(收稿日期: 2013-05-27)

(本文编辑: 张林东)