

内肥素与儿童青少年肥胖、非酒精性脂肪肝的关联研究

文晗 王海俊 董彬 马军

【摘要】 目的 探讨血清内肥素与儿童青少年肥胖、非酒精性脂肪肝(NAFLD)的关联。方法 采用双抗体夹心ELISA法,测定69名体重正常无NAFLD和106名肥胖儿童青少年(肥胖无NAFLD 49名及合并NAFLD 57名,其中轻度42名、中重度15名)的血清内肥素水平。结果 体重正常组与肥胖组血清内肥素水平分别为(1.75±0.37)、(1.71±0.37)ng/ml,差异无统计学意义($P=0.455$);肥胖儿童青少年血清内肥素水平随着脂肪肝程度的加重而上升[肥胖无NAFLD组为(1.59±0.36)ng/ml、肥胖合并轻度NAFLD组为(1.74±0.36)ng/ml、肥胖合并中重度NAFLD组为(1.97±0.36)ng/ml,三者之间差异有统计学意义($P<0.05$)],与年龄($\hat{\beta}=-0.326, P=0.000$)、丙氨酸转氨酶活性($\hat{\beta}=0.286, P=0.004$)相关,不同程度NAFLD者内肥素水平差异有统计学意义($\hat{\beta}=0.246, P=0.014$)。结论 肥胖儿童青少年中血清内肥素水平与NAFLD相关。

【关键词】 内肥素;肥胖;脂肪肝;儿童

Relationship between serum visfatin level and children and adolescent obesity and non-alcoholic fatty liver disease WEN Han, WANG Hai-jun, DONG Bin, MA Jun. Institute of Child and Adolescent Health, School of Public Health, Peking University, Beijing 100191, China

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

This work was supported by a grant from the Research Fund for the Doctoral Program of Ministry of Education of China (RFDP) (No. 200800010067).

【Abstract】 Objective To examine the relationships between the level of serum visfatin and obesity, nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in children and adolescents. **Methods** Serum visfatin levels of 106 obese children/adolescents (including 49 non-NAFLD children and adolescents and 57 NAFLD children/adolescents in which consisting of 42 mild ones, 15 moderate-to-severe ones) with another 69 lean children/adolescents as their controls, were examined by indirect sandwich ELISA. **Results** When comparing the serum visfatin levels, there was no significant difference noticed between the obese group (1.71±0.37) ng/ml and the lean group (1.75±0.37) ng/ml ($P=0.455$). With the severity of NAFLD, the serum visfatin level showed an elevation in obese children and adolescents [obese without NAFLD (1.59±0.36) ng/ml, obese with mild NAFLD (1.74±0.36) ng/ml, obese with moderate-to-severe NAFLD (1.97±0.36) ng/ml, $P<0.05$]. In the obese group, serum visfatin levels seemed to be related to age ($\hat{\beta}=-0.326, P=0.000$), alanine aminotransferase (ALT) ($\hat{\beta}=0.286, P=0.004$) and the degree of NAFLD ($\hat{\beta}=0.246, P=0.014$). **Conclusion** The level of serum visfatin was related to non-alcoholic fatty liver in obese children and adolescent.

【Key words】 Visfatin; Obesity; Fatty liver; Child

内肥素(visfatin)最早由Fukuhara等^[1]提出,可由脂肪组织分泌,内脏脂肪组织是其主要来源。内肥素可能与人体的肥胖程度相关,儿童与青少年肥胖者血液中的内肥素水平要高于体重正常者^[2-5]。

在成年人中结果不一,有研究报道肥胖人群中内肥素水平高于非肥胖人群^[6-8],也有研究发现肥胖人群内肥素水平低于非肥胖人群^[9,10],或内肥素水平与肥胖指标不相关^[11,12]。内肥素也可能与非酒精性脂肪肝(NAFLD)相关,Jarrar等^[13]发现NAFLD患者内肥素水平高于非肥胖对照人群,差异具有统计学意义,但与肥胖无NAFLD个体之间差异没有统计学意义;Dahl等^[12]报道NAFLD患者内肥素水平比非肥胖人群还要低,不仅如此NAFLD患者肝脏组织中内肥素

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2012.03.005

基金项目:教育部博士点基金(200800010067)

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

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

whjun1@bjmu.edu.cn

的表达也有下调。本研究通过检测肥胖合并 NAFLD、肥胖无 NAFLD 及体重正常无 NAFLD 儿童青少年的血清内脂素水平,研究内脂素与儿童青少年肥胖、NAFLD 之间的关联。

对象与方法

1. 对象:2007 年在北京市海淀区选择 3 所中学和 2 所小学,共调查 1093 名 7~18 岁儿童青少年,其中体重正常 456 名、超重 318 名、肥胖 319 名^[14];根据以下标准再从中选择部分样本:①肥胖组:体重指数(BMI)≥P₉₇;②体重正常组:P₁₅≤BMI<P₅₀(BMI 百分位数参考文献[15]),共筛选出 175 名样本,包括体重正常 69 名,肥胖 106 名。体重正常组中无 NAFLD 个体,肥胖组中合并 NAFLD 57 名(包括轻度 42 名、中重度 15 名)。

2. 身体测量:依据文献[15]测量身高、体重,按文献[14]的方法测量腰围、收缩压(SBP)与舒张压(DBP)。测量臀围时,两腿并拢直立,两臂自然下垂,皮尺水平放在耻骨联合和臀大肌最凸处,计算腰围臀围比(WHR)、腰围身高比(WtHR),并根据文献[5]中各年龄、性别、城市儿童青少年 BMI 的均值(\bar{x})和标准差(s),计算 BMI 标准化得分(BMI-SDS);用 Genius-220 八导联体成分测定仪测量身体脂肪含量,计算脂肪百分比。

3. 肝脏 B 超检查:使用德国西门子 G50 彩色超声仪检查肝脏,NAFLD 诊断依据为: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。具备上述第 1 项及第 2~4 项中 1 项者为轻度脂肪肝;具备上述第 1 项及第 2~4 项中 2 项者为中度脂肪肝;具备上述第 1 项以及第 2~4 项中 2 项和第 5 项者为重度脂肪肝^[16]。

4. 血样采集及生化指标测定:抽取所有受试者(清晨空腹)3 ml 静脉血,室温凝固后离心,分离血清于-80℃保存。用美国泰尔康 RA-1000 型全自动生化分析仪,测定血清中空腹血糖(FBG)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、丙氨酸转氨酶(ALT)水平。采用双抗体夹心 ELISA 法测定血清内脂素浓度,试剂盒来自武汉华美生物工程有限公司,使用血清 50 μl,1:1 稀释后加样,按说明书进

行检测。

5. 统计学分析:用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,由于内脂素、ALT、TG 数据不符合正态分布,所以取自然对数进行分析。两组间比较计数资料采用 χ^2 检验,计量资料采用独立样本 t 检验;多组间两两比较采用方差分析的 Bonferroni 多重比较;为控制年龄因素影响,进行协方差分析;采用线性回归模型进行单因素及多因素分析,以血清内脂素水平为因变量,其他指标为自变量,其中性别(男生=1,女生=2)、NAFLD 分度(无=1,轻度=2,中度=3,重度=4)为分类变量,其余均为连续变量。

结 果

1. 基本情况:男生 95 名(54.3%)、女生 80 名(45.7%),平均年龄(11.32±2.80)岁。体重正常组与肥胖组在年龄、BMI-SDS、腰围、臀围、WHR、WtHR、脂肪百分比、ALT、TG、TC、LDL-C、HDL-C、SBP、DBP、FBG 等指标上差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。这些指标差异与性别无关($P>0.05$)。

表 1 69 名体重正常儿童青少年与 106 名肥胖儿童青少年基本情况

因素	体重正常组 (n=69)	肥胖组 (n=106)	t 值 (或 χ^2 值)	P 值
女生(人数,构成比)	33(47.83)	47(44.34)	0.21	0.651
年龄(岁)	11.88±2.99	10.95±2.62	2.17	0.031
BMI-SDS	-0.55±0.18	3.20±0.74	-49.77	0.000
腰围(cm)	59.95±5.59	86.11±9.99	-22.08	0.000
臀围(cm)	76.56±9.27	96.29±10.68	-12.52	0.000
WHR(%)	78.71±5.11	89.55±5.69	-12.78	0.000
WtHR(%)	39.30±2.16	55.74±4.40	-32.77	0.000
脂肪百分比(%)	12.29±5.41	30.52±4.51	-22.62	0.000
ALT(U/L)	2.22±0.61	2.95±0.77	-6.91	0.000
TG(mg/dl)	4.08±0.26	4.59±0.42	-10.04	0.000
TC(mmol/L)	3.94±0.46	4.30±0.77	-3.89	0.000
LDL-C(mmol/L)	1.89±0.07	2.50±0.65	-8.18	0.000
HDL-C(mmol/L)	1.72±0.28	1.34±0.25	9.43	0.000
SBP(mm Hg)	98.72±10.95	112.30±13.77	-7.23	0.000
DBP(mm Hg)	58.72±7.22	65.72±9.64	-5.47	0.000
FBG(mmol/L)	5.22±0.29	5.51±0.42	-5.53	0.000

注:表中各指标均以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示且比较采用 t 检验;1 mm Hg=0.133 kPa

2. 内脂素水平的组间比较:控制年龄因素后,体重正常组与肥胖组的血清内脂素水平分别为(1.75±0.37)、(1.71±0.37)ng/ml,两组差异无统计学意义($P=0.455$)。体重正常男、女生和肥胖男、女生的血清内脂素水平依次为(1.81±0.37)、(1.70±

0.37)、(1.75 ± 0.37)、(1.66 ± 0.37)ng/ml。无论体重正常组或肥胖组,男生内脂素水平均高于女生,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。体重正常无NAFLD、肥胖无NAFLD、肥胖合并轻度及中重度NAFLD组内脂素水平分别为(1.75 ± 0.37)、(1.59 ± 0.36)、(1.74 ± 0.36)、(1.97 ± 0.36)ng/ml。肥胖合并中重度NAFLD组内脂素水平高于肥胖无NAFLD组,差异有统计学意义($P = 0.004$),其他组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。肥胖组中内脂素水平为肥胖合并中重度NAFLD组 > 肥胖合并轻度NAFLD组 > 肥胖无NAFLD组,提示肥胖儿童青少年血清内脂素水平随着脂肪肝程度的加重而上升,男女生变化趋势与总体趋势相近,见图1、2。

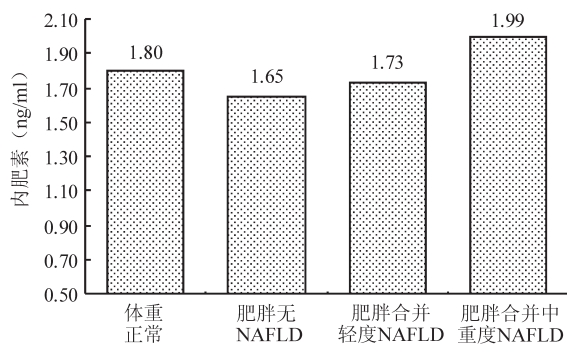


图1 95名男生内脂素水平比较

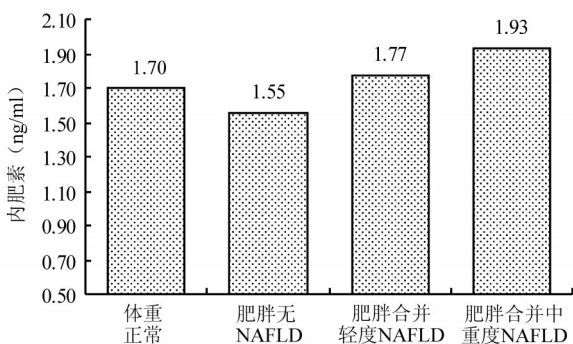


图2 80名女生内脂素水平比较

3. 内脂素水平的相关因素分析:在体重正常组中,单因素回归分析显示,内脂素水平与年龄、腰围、臀围、脂肪百分比、SBP呈负相关($P < 0.05$),见表2。多元线性回归采用逐步法筛选变量,最终纳入模型的变量只有年龄(标准化回归系数 $\hat{\beta} = -0.393$, $P = 0.001$)。在肥胖组中,单因素回归分析显示,内脂素水平与年龄、ALT、NAFLD分度相关($P < 0.05$),见表2。多元线性回归采用逐步法筛选变量,最终纳入模型的变量是年龄($\hat{\beta} = -0.326$, $P = 0.000$)、ALT($\hat{\beta} = 0.286$, $P = 0.004$)、NAFLD分度($\hat{\beta} = 0.246$, $P = 0.014$),与单因素回归分析结果一致。

表2 各指标与内脂素水平之间单因素回归分析结果

因素	体重正常组			肥胖组		
	β	$\hat{\beta}$	P值	β	$\hat{\beta}$	P值
年龄	-0.057	-0.385	0.001	-0.031	-0.233	0.016
BMI-SDS	-0.031	-0.013	0.917	0.032	0.067	0.498
腰围	-0.027	-0.342	0.004	-0.002	-0.047	0.635
臀围	-0.017	-0.363	0.002	-0.003	-0.101	0.308
WHR	1.728	0.201	0.098	0.643	0.103	0.298
WtHR	0.905	0.045	0.716	0.721	0.089	0.364
脂肪百分比	-0.021	-0.274	0.028	-0.008	-0.102	0.296
ALT活性	-0.001	-0.010	0.933	0.004	0.344	0.000
NAFLD分度	-	-	-	0.147	0.306	0.001
TG	-0.148	-0.061	0.620	0.099	0.147	0.132
TC	0.060	0.062	0.610	0.053	0.115	0.240
LDL-C	-0.001	0.000	0.997	0.049	0.091	0.355
HDL-C	0.271	0.173	0.156	0.009	0.007	0.945
SBP	-0.012	-0.309	0.010	-0.003	-0.105	0.286
DBP	-0.014	-0.225	0.063	-0.003	-0.075	0.446
FBG	0.030	0.019	0.874	-0.062	-0.074	0.453

注: β 表示粗回归系数, $\hat{\beta}$ 表示标准化回归系数

讨论

本研究发现,体重正常儿童青少年与肥胖儿童青少年之间血清内脂素水平的差异无统计学意义。这与既往文献报道的肥胖儿童内脂素水平高于体重正常儿童有所不同^[2-5]。类似结果在成年人中也有所报道^[9,10]。Pagano等^[10]及Varma等^[17]均发现,随着肥胖程度增加,皮下脂肪组织内脂素表达水平下降,内脏脂肪组织表达水平上升,可能导致血清内脂素水平与肥胖程度负相关或者不相关。Araki等^[3]报道内脂素与儿童内脏脂肪的蓄积呈正相关。这提示脂肪的分布可能比肥胖本身更能影响血清内脂素水平的变化。本研究结果显示无论体重正常组或肥胖组,男生内脂素水平在数值上均高于女生,可能与男、女生中体脂成分分布不同有关。

本研究还发现肥胖儿童青少年血清内脂素水平会随着脂肪肝程度的加重而上升,趋势具有统计学意义。国外成年人中进行的NAFLD与内脂素关联研究,一般以病理活检为依据分期,将NAFLD分为单纯脂肪变性(SS)、非酒精性脂肪肝炎(NASH);本研究则通过超声检查进行分度。国外NAFLD分期研究发现,随着脂肪肝的进展,血液中内脂素水平会下降,主要表现为NASH患者的内脂素水平低于SS患者^[12,13]。本研究对象是儿童青少年,其中的NAFLD个体为筛查发现,疾病严重程度比医院收治的NAFLD患者轻、进展时期并不长,所以内脂素水平应有所升高。国外内脂素与儿童NAFLD的研究也发现,NAFLD儿童的血清内脂素水平高于非肥胖

对照组儿童,差异具有统计学意义,但是血清内脂素水平与人体测量学指标、转氨酶及稳态模型胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)并无相关性^[18]。

国外这几项研究均是选择 NAFLD 患者与无 NAFLD 对照组,测定血清内脂素水平后加以比较,尽管样本量都比较小,但是均发现组间差异。例如:儿童 NAFLD 研究中,Romanowska 和 Lebensztejn^[18]通过超声筛查出 NAFLD 儿童 30 名,同时选择健康儿童 20 人作为对照。成年人 NAFLD 研究中,Dahl 等^[12]选择了 58 名 NAFLD 患者,健康对照 27 人。Jarrar 等^[13]的成年人样本总计 95 人,其中 45 名 NAFLD,38 名肥胖对照,12 名非肥胖对照。根据这些同类研究,本研究估算病例和对照样本各需要 50 名比较合理,所以选择 57 名肥胖合并 NAFLD 和 118 名无 NAFLD 对照。

肥胖组内脂素与 ALT 活性的相关分析结果表明,内脂素在肝脏早期受损时水平会上升,这与其保护作用是一致的,国外也有类似报道^[8]。此外,体重正常组儿童青少年内脂素水平与某些肥胖指标之间的负相关关系具有统计学意义,是由年龄因素的混杂效应所致,这由多元回归结果可以证实。内脂素水平与年龄的负相关性在之前国内的研究中有所报道^[4]。

本研究发现肥胖儿童青少年中血清内脂素水平与 NAFLD 之间存在相关性,提示内脂素可能对肥胖儿童青少年发生 NAFLD 有一定的作用,为儿童青少年肥胖及 NAFLD 的深入研究提供线索。

参 考 文 献

- [1] Fukuhara A, Matsuda M, Nishizawa M, et al. Visfatin: a protein secreted by visceral fat that mimics the effects of insulin. *Science*, 2005, 307(5708): 426-430.
- [2] Haider DG, Holzer G, Schaller G, et al. The adipokine visfatin is markedly elevated in obese children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2006, 43(4): 548-549.
- [3] Araki S, Dobashi K, Kubo K, et al. Plasma visfatin concentration as a surrogate marker for visceral fat accumulation in obese children. *Obesity (Silver Spring)*, 2008, 16(2): 384-388.
- [4] Jin H, Jiang B, Tang J, et al. Serum visfatin concentrations in obese adolescents and its correlation with age and high-density lipoprotein cholesterol. *Diabetes Res Clin Pract*, 2008, 79(3): 412-418.
- [5] Davutoglu M, Ozkaya M, Guler E, et al. Plasma visfatin concentrations in childhood obesity: relationships with insulin resistance and anthropometric indices. *Swiss Med Wkly*, 2009, 139(1-2): 22-27.
- [6] Choi KM, Kim JH, Cho GJ, et al. Effect of exercise training on plasma visfatin and eotaxin levels. *Eur J Endocrinol*, 2007, 157(4): 437-442.
- [7] Zahorska-Markiewicz B, Olszanecka-Glinianowicz M, Janowska J, et al. Serum concentration of visfatin in obese women. *Metabolism*, 2007, 56(8): 1131-1134.
- [8] Catalan V, Gomez-Ambrosi J, Rodriguez A, et al. Association of increased Visfatin/PBEF/NAMPT circulating concentrations and gene expression levels in peripheral blood cells with lipid metabolism and fatty liver in human morbid obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2010.
- [9] Jian WX, Luo TH, Gu YY, et al. The visfatin gene is associated with glucose and lipid metabolism in a Chinese population. *Diabet Med*, 2006, 23(9): 967-973.
- [10] Pagano C, Pilon C, Olivieri M, et al. Reduced plasma visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in obesity is not related to insulin resistance in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006, 91(8): 3165-3170.
- [11] Fernandez-Real JM, Moreno JM, Chico B, et al. Circulating visfatin is associated with parameters of iron metabolism in subjects with altered glucose tolerance. *Diabetes Care*, 2007, 30(3): 616-621.
- [12] Dahl TB, Haukeland JW, Yndestad A, et al. Intracellular nicotinamide phosphoribosyltransferase protects against hepatocyte apoptosis and is down-regulated in nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010, 95(6): 3039-3047.
- [13] Jarrar MH, Baranova A, Collantes R, et al. Adipokines and cytokines in non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*, 2008, 27(5): 412-421.
- [14] Ma J, Zhang SW, Wu SX, et al. China prevalence of metabolic syndrome among children with different nutritional status in Beijing. *Chin J School Health*, 2008, 29(2): 103-105. (in Chinese)
马军,张世伟,邬盛鑫,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.
- [15] Ministry of Education, State Sport General Administration, Ministry of Health, et al. Report on the physical fitness and health surveillance of Chinese school students. Beijing: China Higher Education Press, 2007: 18-20, 175, 220-222. (in Chinese)
中华人民共和国教育部,国家体育总局,卫生部,等. 2005 年中国学生体质与健康调研报告. 北京: 高等教育出版社, 2007: 18-20, 175, 220-222.
- [16] Graif M, Yanuka M, Baraz M, et al. Quantitative estimation of attenuation in ultrasound video images-correlation with histology in diffuse liver disease. *Investig Radiol*, 2000, 35(5): 319-324.
- [17] Varma V, Yao-Borengasser A, Rasouli N, et al. Human visfatin expression: relationship to insulin sensitivity, intramyocellular lipids, and inflammation. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007, 92(2): 666-672.
- [18] Romanowska A, Lebensztejn DM. Evaluation of serum visfatin concentrations in children with nonalcoholic fatty liver disease. *Pol Merkur Lekarski*, 2010, 28(168): 459-461.

(收稿日期: 2011-07-07)

(本文编辑: 万玉立)