

DNA 甲基化在女性出生体重与成年期肥胖风险关联中的中介效应

李吉¹ 方圆¹ 肖千一¹ 高莹² 徐望红¹

¹复旦大学公共卫生学院教育部公共卫生安全重点实验室, 上海 200032; ²中国科学院上海生命科学研究院营养科学研究所 200031

通信作者: 徐望红, Email: wanghong.xu@fudan.edu.cn

【摘要】 目的 了解 DNA 甲基化在女性出生体重与成年期肥胖风险关联中可能的中介效应。方法 2016 年 3—12 月对 1 602 名上海市闵行区有亲缘关系的 2~4 代女性进行调查, 收集出生体重和身长、当前生活方式和疾病史等信息, 并测量身高、体重、腰围(WC)、臀围。利用所采集的外周血, 采用焦磷酸法检测鸟苷酸结合蛋白活性刺激肽反义 RNA1 (GNAS)、胰岛素样生长因子 2 (IGF2)、胰岛素样生长因子 2 受体 (IGF2-R)、白介素 10 (IL10) 和瘦素 (LEP) 5 个基因上特异性位点的甲基化水平。采用结合限制性立方样条函数的广义估计方程模型评估出生体重与成年期 BMI、WC、腰臀比 (WHR)、腰围身高比 (WHtR) 的关联, 使用多水平回归模型分别评估出生体重及上述体型指标与各特异位点甲基化水平的关联。中介效应基于多水平结构方程模型进行评估。结果 出生体重与 WC 及 WHtR 均呈现显著的非线性关联 ($P < 0.05$), 与 IGF2 差异甲基化区 (IGF2-DMR) CpG1、2, IGF2-R CpG8、10、13、16 和 17 的甲基化水平呈显著的负向关联, 回归系数 β 值 (95% CI) 分别为 -4.35 (-7.30 ~ -1.39)、-4.50 (-7.59 ~ -1.41)、-2.33 (-4.60 ~ -0.05)、-1.78 (-3.88 ~ -0.33)、-2.58 (-4.82 ~ -0.34)、-2.03 (-4.00 ~ -0.06) 和 -1.87 (-3.73 ~ -0.01), 与 LEP CpG16 的甲基化水平呈正向关联 ($\beta = 4.19$, 95% CI: 0.37 ~ 8.00)。IGF2-DMR CpG7, IGF2-R CpG3、5、8、9、10、14、17 和 19, 以及 LEP CpG3、8 和 10 的甲基化水平均与 WC 呈显著的负向关联, 相应的 β 值在 -0.016 ~ -0.040 之间 ($P < 0.05$)。IGF2-R CpG8 的甲基化水平可能在出生体重与成年期 WC 关联中起中介作用 ($P < 0.001$), 可以解释两者关联的 3.3%。结论 DNA 甲基化水平可能介导生命早期营养状况对女性成年期腹部肥胖的影响。

【关键词】 肥胖; 出生体重; DNA 甲基化; 中介效应

基金项目: 国家自然科学基金 (81573221); 上海市第四轮公共卫生行动计划 (15GWZK0801)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.05.019

Mediation effect of DNA methylation in associations between birth weight and adulthood obesity in women in China

Li Ji¹, Fang Yuan¹, Xiao Qianyi¹, Gao Ying², Xu Wanghong¹

¹School of Public Health and Key Laboratory of Public Health Safety, Fudan University, Shanghai 200032, China; ²Shanghai Institute of Nutrition and Health, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China

Corresponding author: Xu Wanghong, Email: wanghong.xu@fudan.edu.cn

【Abstract】 Objective To evaluate the possible mediation effect of DNA methylation in the associations between birth weight and adulthood obesity in women in China. **Methods** A cross-sectional survey was conducted in 1 602 women with genetic relationship in urban area of Shanghai during March-December 2016. Information about their birth weight, birth length, current lifestyle and disease history were collected and body measurement was conducted at the interview. DNA methylation at specific sites of GNAS, IGF2, IGF2-R, IL10 and LEP were measured using bisulphite pyrosequencing. Generalized estimating equations models with restricted cubic spline functions were used to estimate the associations of birth weight with BMI, waist circumference (WC), waist-to-hip ratio (WHR), and waist-to-hip ratio (WHtR) in adulthood, and their associations with DNA methylation were evaluated using multilevel linear models. Multilevel structural equation models were used to evaluate the mediation effect of DNA methylation. **Results** A significant non-linear association was observed between birth weight and WC as well as WHtR ($P < 0.05$). Lower birth

weight was associated with higher level of methylation at *IGF2*-DMR (CpG1, 2), *IGF2-R* (CpG8, 10, 13, 16 and 17), with β coefficients and 95% CI being -4.35 (-7.30- -1.39), -4.50 (-7.59- -1.41), -2.33 (-4.60- -0.05), -1.78 (-3.88- -0.33), -2.58 (-4.82- -0.34), -2.03 (-4.00- -0.06) and -1.87 (-3.73- -0.01), respectively, but related with a lower level of methylation at *LEP* CpG16 ($\beta=4.19$, 95% CI: 0.37-8.00). Lower level of methylation at *IGF2*-DMR (CpG7), *IGF2-R* (CpG3, 5, 8, 9, 10, 14, 17, 19) and *LEP* (CpG3, 8, 10) was associated with larger WC, with β coefficients ranging from -0.016 to -0.040 (all $P<0.05$). Methylation at *IGF2-R* CpG8 was observed to mediate the association of birth weight and WC, and could explain 3.3% of the association. **Conclusion** Our results suggested that DNA methylation might mediate the effect of nutrition in utero on adulthood central obesity in women in China.

【Key words】 Obesity; Birth weight; DNA methylation; Mediation effect

Fund programs: National Natural Science Foundation of China (81573221); The Action Plan on Public Health, Phase IV, Shanghai, China (15GWZK0801)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2019.05.019

肥胖已成为我国及世界各国的重大公共卫生问题。除膳食、体力活动等生活方式影响肥胖的发生外,生命早期尤其是胚胎时期的营养状况对成年期肥胖及其他代谢异常的发生有重要影响。作为反映宫内不良暴露的重要指标,低和高出生体重均与成年后全身性肥胖或腹部肥胖的高风险有关^[1-6]。国外研究提示,高或低出生体重可能伴随DNA甲基化水平的改变,从而影响肥胖相关基因的表达^[7-8]。一些基因特异位点的甲基化水平可能作为后期肥胖和MS等发生的预测因子^[9]。本研究采用中介分析方法,探索DNA甲基化在女性出生体重与成年期肥胖风险关联中的作用。

对象与方法

1. 研究对象:2016年3—12月在上海市闵行区13家社区卫生服务中心招募志愿者及部分家庭成员开展横断面调查。纳入标准:上海市闵行区常住女性居民;有直系血缘关系的2~4代女性家庭。排除标准:无血缘关系(婆媳、养母和养女等)或无连续直系血缘关系(仅外祖母和外孙女参加);妊娠期女性;调查当时患有严重疾病者,包括已确诊患有恶性肿瘤、痴呆、智力低下、精神病、长期瘫痪卧床、身体极度虚弱或有严重的心脑血管疾病。共调查2 147名女性。本次调查通过了复旦大学公共卫生学院伦理委员会审查。所有研究对象均在实验室检查和问卷调查前签署知情同意书。

2. 数据收集:数据采集由经过统一培训的社区医生,使用结构式问卷,采用一对一面访调查与身体测量相结合的方式。问卷调查收集的信息包括一般人口学信息(包括出生年月、文化程度等)、出生时信息(包括孕周、出生身长及出生体重)、当前生活方式状况(吸烟、饮酒、体育运动情况)及常见慢性病史(高血压、糖尿病、冠心病等)。对 ≥ 20 岁的研

究对象测量身高、体重、腰围(WC)和臀围。基于测量数据,分别计算BMI、腰臀比(WHR)和腰围身高比(WHtR)。

3. 生物标本采集:在知情自愿情况下,使用抗凝管共抽取2 047名研究对象的静脉血,于4℃冰箱中临时保存,并于当日送至实验室分装,置-80℃冰箱中长期保存。

4. 候选基因位置及基因序列:通过检索PubMed、Web of Science等数据库,寻找既往报道的与宫内营养不良相关的基因甲基化位点,综合考虑基因类型(父源印记、母源印记或非印记基因)、甲基化敏感转录因子的结合、DNA甲基化与基因表达的关联、印记位点差异甲基化区(differentially methylated region, DMR)等因素。最终选择鸟苷酸结合蛋白活性刺激肽反义RNA1(*GNASAS*)、胰岛素样生长因子2(*IGF2*)、胰岛素样生长因子2受体(*IGF2-R*)3个印记基因,白介素10(*IL10*)和瘦素(*LEP*)2个非印记基因进行分析。

5. 实验检测:外周血DNA抽提使用天根生化科技(北京)有限公司DP348血液基因组DNA提取试剂盒(型号:DP348),按照试剂盒说明书进行操作。去除质量不符合要求的DNA样本后,最终对1 717人的DNA样本进行了甲基化检测,本研究仅对 ≥ 20 岁的1 602名女性进行分析。DNA经过亚硫酸氢盐转化后,进行PCR扩增。扩增引物由上海境像生物科技有限公司设计提供,5对PCR引物序列见表1。采用次世代定序(Next Generation Sequencing, NGS)测序方法,由上海境像生物科技有限公司对*IL10*基因CpG1~4、*GNASAS*基因CpG1~19、*LEP*基因CpG2~32、*IGF2-R* CpG1~22及*IGF2*基因DMR(*IGF2-DMR*)CpG1~8进行DNA甲基化水平测定。

样本转化效率为(99.26 \pm 2.12)%。测序错误率与碱基质量有关,受测序仪、测序试剂、样品等因素

表1 各基因引物信息

基因	引物序列(5'~3')
<i>IL10</i>	TGATTGGTTGAATGAATTTTGTATT CACCCCTCATTTTTACTTAAAA
<i>GNASAS</i>	GTAATTTGTGGTATGAGGAAGAGT TAAATAACCCAACTAAATCCCAACA
<i>LEP</i>	GTTTTGGAGGGATATTAAGGATTT CTACCAAAAAAAAAACCAACAAAAAAA
<i>IGF2-R</i>	TTTTGAAAAGGAGGTAGAAAAAGG CCTAACATATTAATAACAAATCTTAAAAAC
<i>IGF2</i>	GATTATTAGTAAGAAATTGGATAGGAGA AAACCCCAACAAAAACCACT

共同影响。通常测序序列(sequenced reads)5'端及3'端前几个碱基的错误率相对较高,本研究测序为2×150 bp 双端测序(illumina hiSeq X)。利用FastQC工具分析测序获得原始序列的质量情况,并对所有样本的两端读序分别进行质控评估。采用TrimGalore工具进行序列过滤,去除接头引物以及低质量序列;采用Bowtie2 v2.3.4软件进行基因比对,Bismark v0.19.0软件对结果进行解读。

6. 统计学分析:采用EpiData 3.0软件进行数据录入和逻辑校错、SAS 9.4软件进行数据分析、Mplus 7.4软件进行中介分析。将研究对象拆分成804对母女进行分析,其中792对来自二代户家庭,12对来自于6个三代户家庭。运用配对*t*检验与配对 χ^2 检验比较母女两代的基本特征。采用结合了限制性立方样条函数(restricted cubic spline, RCS)的广义估计方程(generalized estimating equations, GEE)模型^[10],分析出生体重与女性成年期BMI、WC、WHR和WHtR的关联。RCS采用5个百分位数(P_5 、 P_{25} 、 P_{50} 、 P_{75} 、 P_{95})作为节点。以家庭作为第二水平,个体为第一水平,采用多水平回归模型分别估计出生体重及肥胖指标与各特异CpG位点甲基化水平的关联。对与出生体重及成年期肥胖指标均有显著关联的甲基化位点进行基于多水平结构方程模型(multilevel structural equation model, MSEM)的中介效应分析。所有检验均为双侧, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 基本信息:母代年龄为(66.1±9.62)岁,子代为(40.8±9.74)岁。与子代相比,母代的平均出生体重较低,BMI、WC、WHR、WHtR较高、文化程度较低、参加锻炼的比例较高($P<0.05$)。两代在孕周、吸烟和饮酒方面差异无统计学意义(表2)。

2. 出生体重与肥胖、腹部肥胖的关联:采用结合RCS的GEE模型,调整亲子关系、年龄、文化程度、

表2 母代与子代人群基本特征分析

特征	母代(n=804)	子代(n=804)	P值
文化程度(%)			<0.001
小学及以下	51.2	3.2	
初中	32.2	17.2	
高中	13.1	20.7	
大专及以上	3.5	58.9	
孕周(周, $\bar{x}\pm s$)	39.1±1.12	39.1±1.40	0.440
出生体重(kg, $\bar{x}\pm s$)	2.9±0.37	3.1±0.46	<0.001
BMI(kg/m ² , $\bar{x}\pm s$)	24.7±3.14	22.7±3.23	<0.001
WC(cm, $\bar{x}\pm s$)	83.2±8.39	76.8±8.37	<0.001
WHR($\bar{x}\pm s$)	0.88±0.06	0.84±0.07	<0.001
WHtR($\bar{x}\pm s$)	0.54±0.06	0.48±0.05	<0.001
吸烟(%)	0.6	0.1	0.103
饮酒(%)	2.4	2.4	1.000
锻炼(%)	47.8	40.2	<0.001

注:数据有缺失;<20岁者未纳入分析,连续性变量用配对*t*检验,分类变量用配对 χ^2 检验

吸烟、饮酒、锻炼和BMI后,分析结果显示,出生体重与WC在总体上有显著关联($P=0.005$),且呈显著的非线性关联($P=0.018$)。当出生体重低于2 650 g时,WC随着出生体重的增加呈下降趋势,当出生体重在2 650~3 100 g之间时,WC呈上升趋势,当出生体重在3 101~3 500 g之间时,WC下降,出生体重高于3 500 g时又呈缓慢上升趋势。未提示出生体重与BMI、WHR和WHtR在总体上有统计学关联(表3)。

表3 出生体重与BMI、腰围、腰臀比、腰围身高比的关联

类别	人数	β 值(95%CI)	P值	
			总体关联	非线性关联
BMI(kg/m ²)	1 383	0.08(-0.29 ~ 0.47)	0.790	0.704
WC(cm)	1 383	0.74(0.02 ~ 1.49)	0.005	0.018
WHR	1 381	-0.004(-0.012 ~ 0.004)	0.169	0.158
WHtR	1 384	-0.001(-0.006 ~ 0.004)	0.076	0.039

注:采用广义估计方程模型估计回归系数 β 值(95%CI);采用结合限制性立方样条函数的广义估计方程模型估计总体关联与非线性关联的P值;所有关联估计中都调整了亲子关系、年龄、文化程度、吸烟、饮酒、锻炼;出生体重与WC、WHR、WHtR的关联估计调整了BMI

3. 出生体重与特异性基因位点甲基化水平的关联:分别以5个基因上84个CpG位点的甲基化水平为因变量,采用多水平回归模型,分析出生体重与其的关联。出生体重与*IGF2*-DMR CpG1、2,*IGF2-R* CpG8、10、13、16、17的甲基化水平呈显著的负向关联,出生体重每增加1 kg,这些位点甲基化水平分别降低1.78%~4.50%。出生体重与*LEP* CpG16的甲基化水平呈显著的正向关联。见表4。

进一步将研究对象按出生体重分为低(<2 500 g)、正常(2 500~3 999 g)和高($\geq 4 000$ g)出生体重组,

表4 出生体重与特异性基因位点甲基化水平的关联

基因	CpG位点	人数	β 值	95%CI	P值
IGF2-DMR		1 319			
	1		-4.35	-7.30 ~ -1.39	0.004
	2		-4.50	-7.59 ~ -1.41	0.005
IGF2-R		1 395			
	8		-2.33	-4.60 ~ -0.05	0.045
	10		-1.78	-3.88 ~ -0.33	0.039
	12		-2.19	-4.37 ~ -0.00	0.050
	13		-2.58	-4.82 ~ -0.34	0.024
	16		-2.03	-4.00 ~ -0.06	0.044
	17		-1.87	-3.73 ~ -0.01	0.049
LEP		1 145			
	16		4.19	0.37 ~ 8.00	0.032
	17		3.25	-0.01 ~ 6.50	0.050

注:调整亲子关系与年龄

比较各组甲基化水平。分别以各基因特定 CpG 位点的甲基化水平为因变量,不同出生体重组为自变量,建立多水平回归模型。调整亲子关系与年龄后,分析结果显示,低出生体重组 IGF2-DMR CpG2 的甲基化水平明显高于正常体重组,回归系数 β 值为 6.38 (95%CI: 0.43 ~ 12.34), 其余位点各出生体重组甲基化水平差异无统计学意义(表5)。

4. 特异性基因位点甲基化水平与 WC 的关联: 将 5 个基因中 84 个 CpG 位点的甲基化水平分别作为自变量纳入多水平回归模型,分析其与 WC 的关联。结果显示,共 12 个 CpG 位点的甲基化与 WC 有关,分别为 IGF2-DMR CpG7, IGF2-R CpG3、5、8、9、10、14、17 和 19, 以及 LEP CpG3、8 和 10。见表 6。

5. DNA 甲基化在出生体重与 WC 关联中的可能中介效应: IGF2-R CpG8 和 17 的甲基化水平与出

生体重及成年后 WC 大小均有显著关联,将其分别纳入基于 MSEM 的 1-1-1 模型进行多水平中介效应分析。调整亲子关系、年龄、文化程度、吸烟、饮酒和锻炼等可能的混杂因素,且区分了家庭因素的影响后,在个体层面上,出生体重与 WC 呈显著的正向关联 [$\beta=1.09$ (95%CI: 0.55 ~ 1.63)], IGF2-R CpG8 的甲基化水平与出生体重 [$\beta=-1.85$ (95%CI: -2.36 ~ -1.34)] 和 WC [$\beta=-0.02$ (95%CI: -0.03 ~ -0.01)] 均呈显著的负向关联。出生体重通过 IGF2-R CpG8 甲基化对 WC 产生的间接效应为 0.04 (95%CI: 0.02 ~ 0.06), 中介效应有统计学意义 ($P<0.001$), IGF2-R CpG8 甲基化可以解释出生体重与 WC 关联的 3.3%。但这种中介效应在家庭层面上未达显著水平。

在 IGF2-R CpG17 介导的中介效应分析中,在个体层面上,出生体重与 WC [$\beta=1.07$ (95%CI: 0.44 ~ 1.70)] 及 IGF2-R 基因 CpG17 的甲基化水平 [$\beta=-2.02$ (95%CI: -3.70 ~ -0.01)] 均呈显著关联; 在家庭层面, IGF2-R 基因 CpG17 的甲基化水平与出生体重呈显著关联 [$\beta=-6.71$ (95%CI: -7.52 ~ -5.90)]; 但无论在个体还是家庭层面,均未提示 IGF2-R CpG17 的甲基化水平在出生体重与 WC 关联中有显著的中介效应。

讨 论

中心性肥胖又称腹型肥胖,反映了身体脂肪的分布异常,常采用 WC、WHR 和 WHtR 作为指标进行衡量。国外有研究显示,出生体重与老年女性全身

表5 不同出生体重组特异性基因位点的甲基化水平

基因	CpG位点	甲基化水平(%)		
		低出生体重(n=74)	正常出生体重(n=1 279)	高出生体重(n=42)
IGF2-DMR	1	62.32(49.51 ~ 70.82)	63.51(47.90 ~ 75.49)	59.77(44.35 ~ 73.82)
	2	64.60(50.84 ~ 78.34) ^a	60.29(42.31 ~ 73.58)	58.54(50.39 ~ 72.66)
IGF2-R	8	69.45(58.31 ~ 78.03)	68.21(58.09 ~ 77.44)	64.11(56.11 ~ 79.64)
	10	70.27(60.82 ~ 85.39)	75.00(64.29 ~ 85.17)	74.01(63.42 ~ 84.68)
	12	64.37(54.55 ~ 73.14)	64.68(53.61 ~ 74.58)	63.92(51.94 ~ 79.41)
	13	64.65(54.12 ~ 72.57)	63.16(52.88 ~ 73.05)	59.70(47.28 ~ 76.79)
	16	76.96(68.59 ~ 88.89)	76.57(66.84 ~ 85.71)	70.04(60.89 ~ 85.36)
	17	82.04(72.22 ~ 92.78)	82.55(72.71 ~ 90.93)	80.23(71.37 ~ 92.68)
LEP	16	24.64(9.09 ~ 42.86)	28.57(11.11 ~ 50.00)	38.10(19.44 ~ 50.00)
	17	9.38(0.00 ~ 21.62)	9.75(0.00 ~ 27.05)	9.09(0.00 ~ 22.22)

注:括号外数据为 M, 括号内数据为 Q_n; ^a调整亲子关系与年龄后,与正常出生体重组相比 P<0.05

表6 特异性基因位点甲基化水平与腰围的关联

基因	CpG位点	人数	β 值	95%CI	P值
IGF2-DMR		1 521			
	7		-0.025	-0.042 ~ -0.009	0.003
IGF2-R		1 597			
	3		-0.028	-0.049 ~ -0.007	0.010
	5		-0.031	-0.055 ~ -0.007	0.012
	8		-0.028	-0.049 ~ -0.006	0.011
	9		-0.036	-0.063 ~ -0.010	0.008
	10		-0.024	-0.048 ~ -0.002	0.034
	14		-0.028	-0.050 ~ -0.006	0.012
	17		-0.040	-0.066 ~ -0.015	0.002
LEP		1 330			
	3		-0.016	-0.031 ~ -0.002	0.029
	8		-0.023	-0.040 ~ -0.006	0.009
	10		-0.020	-0.037 ~ -0.003	0.021

注:调整亲子关系、年龄、文化程度、吸烟、饮酒和锻炼

性肥胖(BMI)存在非线性关联^[11]。前期我们在上海地区女性中的一项研究也显示,出生体重与全身性肥胖(BMI)和腹部肥胖(WC、WHR、WHtR)均呈显著的非线性关联^[12]。本研究虽未显示出生体重与成年后BMI和WHR有显著关联,但关联方向与我们的前期研究一致^[12]。

本研究结果未显示出生体重与GNASAS基因特异位点甲基化水平有显著关联,与Tobi等^[13]的研究一致,也未显示出生体重与IL10基因特异位点甲基化水平有显著关联,但结果提示,出生体重与IGF2-DMR、LEP基因特异位点的甲基化水平有显著关联。关联方向与Stegers-Theunissen等^[14]的研究一致,均观察到出生体重与IGF2-DMR甲基化水平呈负向关联。研究结果提示宫内营养可能影响IGF2-DMR的甲基化水平。

IGF2-R是一种印记基因,对人体出生前后的生长和发育都非常重要^[15-16],动物实验研究提示,胚胎的过度生长与IGF2-R甲基化水平的下降有关^[17-18]。本研究多水平中介效应分析结果显示,IGF2-R基因CpG8的甲基化可能是出生体重与WC关联的中介因素,甲基化作用可以解释两者的关联的3.3%。但这种中介作用只在个体水平有统计学意义,在家庭水平上的关联未达显著水平,提示该位点在母女两代之间可能不存在传递效应。对母女两代IGF2-R基因CpG8的甲基化水平进行相关分析,结果显示,两者呈正向关联,但未达显著水平,这与多水平中介分析的结论一致。若仅用单水平中介模型进行分析,则中介效应增加至8.3%。可见,尽管IGF2-R基因CpG8甲基化在家庭水平上无显著的中介效应,

但家庭水平上间接效应的混杂作用不可忽视。此外,表观遗传漂移学说认为,DNA甲基化水平会随年龄发生改变,但这种变化通常具有基因或组织特异性^[19]。Talens等^[20]的研究结果显示,某些CpG位点具有时间稳定性,而且印记基因较非印记基因更加稳定。IGF2、IGF2-R都是印记基因,均具有一定的稳定性。本研究未发现这两个印记基因的甲基化水平在母女之间传递。

本研究存在局限性。首先,本研究属于横断面调查,在揭示甲基化作用与肥胖的因果关联可能存在一些局限性。其次,本研究中出生体重多为自我报告所得,可能存在较大的回忆偏倚。再者,本次调查人群年龄跨度比较大(20~93岁),而DNA甲基化会随年龄发生改变。不能排除年龄等因素对研究结果的混杂效应。此外,白细胞构成也可能影响甲基化检测。本研究未能检测白细胞构成情况,可能使研究结果发生偏倚。然而,尽管某些CpG甲基化与血细胞构成有关,但大多数CpG及全基因组甲基化似乎并不受影响^[21]。Dick等^[22]的研究结果显示,调整了淋巴细胞、中性粒细胞、单核细胞计数后并未减弱DNA甲基化与BMI的关联。Talens等^[23]的研究结果显示,血液中性粒细胞比例与IGF2-R、IGF2、GNASAS的甲基化水平无关,但与IL10、LEP的甲基化水平有关。可见,本研究中检测的IGF2-R、IGF2、GNASAS甲基化水平可能并不受此影响。最后,DNA甲基化具有组织特异性,而本次检测了外周血DNA甲基化,未检测组织(如脂肪细胞)中DNA甲基化水平。Crujeiras等^[24]的研究结果显示,只检测血液而非脂肪细胞的DNA甲基化水平可能会错过与肥胖真正关联的特异性位点。但也有研究显示血液可以代替脂肪组织用于研究某些特异位点^[25]。Sliker等^[26]的研究结果显示,血液和脂肪都来源于中胚层,许多位点的甲基化水平具有相关性。Tobi等^[27]对12种死后组织进行分析,结果显示,血液与网膜、皮下脂肪、肾脏周围摄取脂肪中的DNA甲基化水平相关。Wahl等^[28]的研究结果显示,血液与皮下和网膜脂肪、肝脏、肌肉、脾脏和胰腺细胞中DNA甲基化水平相关,脂肪组织和血液中DNA甲基化水平与BMI关联的方向一致。

综上所述,本研究对生命早期营养与成年期肥胖关联及其机制进行了探索,尽管存在诸多的局限性,研究结果提示了DNA甲基化可能介导生命早期营养状况对中国女性成年期肥胖的影响。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参 考 文 献

- [1] Yu ZB, Han SP, Zhu GZ, et al. Birth weight and subsequent risk of obesity: a systematic review and Meta-analysis[J]. *Obes Rev*, 2011, 12(7): 525–542. DOI: 10.1111/j.1467-789X.2011.00867.x.
- [2] Araújo de França GV, Restrepo-Méndez MC, Loret de Mola C, et al. Size at birth and abdominal adiposity in adults: a systematic review and Meta-analysis [J]. *Obes Rev*, 2014, 15 (2) : 77–91. DOI: 10.1111/obr.12109.
- [3] Rønn PF, Smith LS, Andersen GS, et al. Birth weight and risk of adiposity among adult Inuit in Greenland [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (12) : e115976. DOI: 10.1371/journal.pone.0115976.
- [4] Yuan ZP, Yang M, Liang L, et al. Possible role of birth weight on general and central obesity in Chinese children and adolescents: a cross-sectional study [J]. *Ann Epidemiol*, 2015, 25 (10) : 748–752. DOI: 10.1016/j.annepidem.2015.05.011.
- [5] Johnsson IW, Haglund B, Ahlsson F, et al. A high birth weight is associated with increased risk of type 2 diabetes and obesity [J]. *Pediatr Obes*, 2015, 10(2): 77–83. DOI: 10.1111/ijpo.230.
- [6] Robinson WR, Utz RL, Keyes KM, et al. Birth cohort effects on abdominal obesity in the United States: the Silent Generation, Baby Boomers and Generation X [J]. *Int J Obes (Lond)*, 2013, 37(8): 1129–1134. DOI: 10.1038/ijo.2012.198.
- [7] Pan H, Lin XY, Wu YH, et al. *HIF3A* association with adiposity: the story begins before birth [J]. *Epigenomics*, 2015, 7(6): 937–950. DOI: 10.2217/epi.15.45.
- [8] Liu ZW, Zhang JT, Cai QY, et al. Birth weight is associated with placental fat mass and obesity-associated gene expression and promoter methylation in a Chinese population [J]. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 2016, 29(1): 106–111. DOI: 10.3109/14767058.2014.987749.
- [9] Yoo JY, Lee S, Lee HA, et al. Can proopiomelanocortin methylation be used as an early predictor of metabolic syndrome? [J]. *Diabetes Care*, 2014, 37(3): 734–739. DOI: 10.2337/dc13-1012.
- [10] Desquilbet L, Mariotti F. Dose-response analyses using restricted cubic spline functions in public health research [J]. *Stat Med*, 2010, 29(9): 1037–1057. DOI: 10.1002/sim.3841.
- [11] Newby PK, Dickman PW, Adami HO, et al. Early anthropometric measures and reproductive factors as predictors of body mass index and obesity among older women [J]. *Int J Obes (Lond)*, 2005, 29(9): 1084–1092. DOI: 10.1038/sj.ijo.0802996.
- [12] Xia QH, Cai H, Xiang YB, et al. Prospective cohort studies of birth weight and risk of obesity, diabetes, and hypertension in adulthood among the Chinese population [J]. *J Diabetes*, 2019, 11 (1): 55–64. DOI: 10.1111/1753-0407.12800.
- [13] Tobi EW, Heijmans BT, Kremer D, et al. DNA methylation of *IGF2*, *GNASAS*, *INSIGF* and *LEP* and being born small for gestational age [J]. *Epigenetics*, 2011, 6 (2) : 171–176. DOI: 10.4161/epi.6.2.13516.
- [14] Steegers-Theunissen RP, Obermann-Borst SA, Kremer D, et al. Periconceptional maternal folic acid use of 400 µg per day is related to increased methylation of the *IGF2* gene in the very young child [J]. *PLoS One*, 2009, 4 (11) : e7845. DOI: 10.1371/journal.pone.0007845.
- [15] Wang ZQ, Fung MR, Barlow DP, et al. Regulation of embryonic growth and lysosomal targeting by the imprinted *Igf2/Mpr* gene [J]. *Nature*, 1994, 372(6505): 464–467. DOI: 10.1038/372464a0.
- [16] Berkowicz EW, Magee DA, Berry DP, et al. Single nucleotide polymorphisms in the imprinted bovine insulin-like growth factor 2 receptor gene (*IGF2R*) are associated with body size traits in Irish Holstein-Friesian cattle [J]. *Anim Genet*, 2012, 43 (1): 81–87. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2011.02211.x.
- [17] Young LE, Fernandes K, McEvoy TG, et al. Epigenetic change in *IGF2R* is associated with fetal overgrowth after sheep embryo culture [J]. *Nat Genet*, 2001, 27 (2) : 153–154. DOI: 10.1038/84769.
- [18] Ludwig T, Eggenschwiler J, Fisher P, et al. Mouse mutants lacking the type 2 IGF receptor (*IGF2R*) are rescued from perinatal lethality in *Igf2* and *Igf1r* null backgrounds [J]. *Dev Biol*, 1996, 177(2): 517–535. DOI: 10.1006/dbio.1996.0182.
- [19] Kochmanski J, Marchlewicz EH, Savidge M, et al. Longitudinal effects of developmental bisphenol A and variable diet exposures on epigenetic drift in mice [J]. *Reprod Toxicol*, 2017, 68: 154–163. DOI: 10.1016/j.reprotox.2016.07.021.
- [20] Talens RP, Christensen K, Putter H, et al. Epigenetic variation during the adult lifespan: cross-sectional and longitudinal data on monozygotic twin pairs [J]. *Aging Cell*, 2012, 11 (4) : 694–703. DOI: 10.1111/j.1474-9726.2012.00835.x.
- [21] van Dijk SJ, Molloy PL, Varinli H, et al. Epigenetics and human obesity [J]. *Int J Obes (Lond)*, 2015, 39 (1) : 85–97. DOI: 10.1038/ijo.2014.34.
- [22] Dick KJ, Nelson CP, Tsaprouni L, et al. DNA methylation and body-mass index: a genome-wide analysis [J]. *Lancet*, 2014, 383 (9933): 1990–1998. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)62674-4.
- [23] Talens RP, Boomsma DI, Tobi EW, et al. Variation, patterns, and temporal stability of DNA methylation: considerations for epigenetic epidemiology [J]. *FASEB J*, 2010, 24(9): 3135–3144.
- [24] Crujeiras AB, Diaz-Lagares A, Sandoval J, et al. DNA methylation map in circulating leukocytes mirrors subcutaneous adipose tissue methylation pattern: a genome-wide analysis from non-obese and obese patients [J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 41903. DOI: 10.1038/srep41903.
- [25] Huang YT, Chu S, Loucks EB, et al. Epigenome-wide profiling of DNA methylation in paired samples of adipose tissue and blood [J]. *Epigenetics*, 2016, 11(3): 227–236.
- [26] Sliker RC, Bos SD, Goeman JJ, et al. Identification and systematic annotation of tissue-specific differentially methylated regions using the Illumina 450k array [J]. *Epigenetics Chromatin*, 2013, 6(1): 26. DOI: 10.1186/1756-8935-6-26.
- [27] Tobi EW, Sliker RC, Luijk R, et al. DNA methylation as a mediator of the association between prenatal adversity and risk factors for metabolic disease in adulthood [J]. *Sci Adv*, 2018, 4 (1): eaao4364. DOI: 10.1126/sciadv.aao4364.
- [28] Wahl S, Drong A, Lehne B, et al. Epigenome-wide association study of body mass index, and the adverse outcomes of adiposity [J]. *Nature*, 2017, 541 (7635) : 81–86. DOI: 10.1038/nature20784.

(收稿日期: 2018-10-23)

(本文编辑: 万玉立)