

· 实验室研究 ·

JAK2 基因甲基化与肥胖因果关联的孟德尔随机化研究

刘晓田 屠润琪 何亚玲 董小康 李瑞颖 侯建 李玉倩 王重建

郑州大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系, 郑州 450001

通信作者: 王重建, Email: tjwcj2008@zzu.edu.cn

【摘要】 目的 采用孟德尔随机化法探讨酪氨酸激酶 2 (JAK2) 基因甲基化水平与肥胖的因果关联。方法 从河南农村队列中选取 1 021 例研究对象, 其中 440 例肥胖者 (内脏脂肪指数 ≥ 10) 和 581 例对照者 (内脏脂肪指数 < 10)。采用 MethylTarget™ 目标区域甲基化测序技术检测 JAK2 基因甲基化水平; 采用 logistic 回归模型分析 JAK2 基因甲基化水平与肥胖的关联; 进一步以单核苷酸多态性为工具变量, 采用孟德尔随机化法分析 JAK2 基因甲基化水平与肥胖的因果关联。结果 JAK2 基因的启动子区发现 1 个甲基化位点 (Chr9: 4984943) 与肥胖呈正相关 ($OR=1.22, 95\%CI: 1.04\sim 1.42$)。外显子区发现 5 个甲基化位点 (Chr9: 4985378、Chr9: 4985404、Chr9: 4985407、Chr9: 4985409 和 Chr9: 4985435) 与肥胖呈负相关 [OR 值 ($95\%CI$) 分别为 0.53 (0.29~0.95)、0.58 (0.36~0.93)、0.69 (0.49~0.97)、0.72 (0.53~0.99) 和 0.58 (0.35~0.98)]。3 种孟德尔随机化法 (逆方差加权孟德尔随机化法、基于中位数孟德尔随机化法和最大似然比法) 的结果均显示 JAK2 基因甲基化水平与肥胖存在因果关联, 其相应的 β 值 ($95\%CI$) 分别为 -1.985 (-3.520~-0.450)、-3.547 (-6.301~-0.792) 和 -3.900 (-6.328~-1.472)。结论 JAK2 基因甲基化水平与肥胖存在因果关联。

【关键词】 肥胖; 酪氨酸激酶 2; DNA 甲基化; 孟德尔随机化

临床试验注册: 中国临床试验注册中心, ChiCTR-OOC-15006699

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFC0900803); 国家自然科学基金 (82003543); 河南省高校科技创新团队项目 (21HIRTSTHN029)

Mendelian randomization analysis: the causal relationship between the DNA methylation levels of JAK2 and obesity

Liu Xiaotian, Tu Runqi, He Yaling, Dong Xiaokang, Li Ruiying, Hou Jian, Li Yuqian, Wang Chongjian

Department of Epidemiology and Biostatistics, College of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China

Corresponding author: Wang Chongjian, Email: tjwcj2008@zzu.edu.cn

【Abstract】 Objective Based on the Mendelian randomization analysis, to assess the causal relationship between DNA methylation levels of Janus kinase 2 (JAK2) and obesity. **Methods** A case-control study was carried out, including 1 021 individuals [obesity (visceral fat index ≥ 10) vs. no obesity (visceral fat index < 10) was 440 vs. 581] from the Henan Rural Cohort Study. MethylTarget™ target region methylation sequencing technology was used for testing the DNA methylation level of JAK2. logistic regression models were used to assess the association between the DNA methylation level of JAK2 and obesity. With SNP as the instrumental variable, the association between the DNA methylation level of JAK2 and obesity was explored by using the Mendelian randomization analysis method. **Results** There was a positive association between

DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20220318-00200

收稿日期 2022-03-18 本文编辑 万玉立

引用格式: 刘晓田, 屠润琪, 何亚玲, 等. JAK2 基因甲基化与肥胖因果关联的孟德尔随机化研究[J]. 中华流行病学杂志, 2022, 43(8): 1315-1320. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20220318-00200.

Liu XT, Tu RQ, He YL, et al. Mendelian randomization analysis: the causal relationship between the DNA methylation levels of JAK2 and obesity[J]. Chin J Epidemiol, 2022, 43(8):1315-1320. DOI: 10.3760/cma.j.cn112338-20220318-00200.



Chr9:4984943 (one DNA methylation site in the promoter of JAK2) and obesity, and the *OR* (95%*CI*) was 1.22(1.04-1.42). Methylation level of five sites in the exon of JAK2 (Chr9: 4985378, Chr9: 4985404, Chr9: 4985407, Chr9: 4985409 and Chr9: 4985435) were negatively associated with obesity, the corresponding *OR* (95%*CI*) were 0.53 (0.29-0.95), 0.58(0.36-0.93), 0.69 (0.49-0.97), 0.72 (0.53-0.99) and 0.58 (0.35-0.98), respectively. Mendelian randomization analysis showed that there was a causal relationship between the DNA methylation levels of JAK2 and obesity, and the corresponding β (95%*CI*) were -1.985 (-3.520 - -0.450), -3.547 (-6.301 - -0.792) and -3.900 (-6.328 - -1.472) for Mendelian randomization method of inverse variance weighted, Mendelian randomization method of median based and Maximum-likelihood method, respectively. **Conclusion** This study supported there was a causal relationship between the DNA methylation level of JAK2 and obesity.

【Key words】 Obesity; Janus kinase 2; DNA methylation; Mendelian randomization analysis

Trial registration: Chinese Clinical Trial Registry, ChiCTR-OOC-15006699

Fund programs: National Key Program of Research and Development of China (2016YFC0900803); National Natural Science Foundation of China (82003543); Science and Technology Innovation Team Support Plan of Colleges and Universities in Henan Province (21IRTSTHN029)

肥胖是一种由多因素共同引起的能量代谢紊乱性相关疾病,已成为心脑血管疾病发生的重要危险因素,特别是由于内脏脂肪堆积导致的腹型肥胖,但其发生机制尚不完全清楚^[1-3]。研究表明,酪氨酸激酶 2 (Janus kinase, JAK2) 在能量代谢异常所致肥胖的发生发展中起到重要调控作用^[4-6],但相关研究主要集中在单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 上^[7],而 SNP 等位基因仅能解释部分肥胖的遗传易感性。近年研究揭示 DNA 甲基化的表观遗传在肥胖易感性中扮演着重要角色^[8-9]。不同区域甲基化的水平对基因的影响不同,当甲基化发生在启动子区时,会使基因的表达沉默,而发生在基因体(尤其是外显子区)时能够激活基因的表达^[10-11]。内脏脂肪指数可用于评价内脏脂肪型肥胖^[12-13]。尽管有研究指出基因的甲基化水平与肥胖存在关联^[14],但关于 JAK2 基因甲基化水平与内脏脂肪型肥胖的关联尚不清楚。孟德尔随机化法是利用工具变量来推断暴露因素和研究结局之间的因果关联^[15]。本研究拟采用病例对照研究设计,以 SNP 为工具变量,利用孟德尔随机化法分析 JAK2 基因甲基化水平与肥胖的关联,以期对肥胖的发生发展的分子机制提供理论依据。

对象与方法

1. 研究对象:从河南农村队列(注册号:ChiCTR-OOC-15006699)中选取 1 021 例研究对象^[16],其中肥胖者 440 例,对照者 581 例。本研究通

过郑州大学生命科学伦理委员会审查[批准文号:[2015]MEC(S128)],所有研究对象均签署了知情同意书。

2. 调查内容:由经过统一培训的调查员收集研究对象的相关资料。主要包括:①问卷调查:一般人口学特征(性别、年龄、婚姻状况等)、社会经济状况(文化程度、人均月收入等)、生活习惯(吸烟、饮酒、体力活动、水果蔬菜摄入、高脂饮食等)。吸烟定义为每天至少吸 1 支烟并持续 6 个月及以上,分为从未吸烟、戒烟和现在吸烟 3 个变量。饮酒定义为过去一年中饮酒至少 12 次以上(包括白酒、啤酒、红酒或黄酒等种类),分为从未饮酒、戒酒和现在饮酒 3 个变量。参照《中国居民膳食指南(2016)》简介,过去一年中,平均每天摄入的畜肉和禽肉总量 ≥ 75 g 即为高脂饮食,平均每天摄入的蔬菜和水果总量 ≥ 500 g 即为较多蔬菜水果摄入^[17]。基于问卷调查的 3 类体力活动(剧烈体力活动、适度体力活动和步行活动)的频次和时间,分别计算 3 类体力活动的每周代谢当量 (metabolic rate, MET) 值;最后依据国际体力活动量表,将体力活动分为轻、中和重度 3 个等级^[18]。②体格检查:根据操作指南采用日本欧姆龙 HBF-371 体脂仪测量内脏脂肪指数。③血液样本采集:空腹至少 8 h 后,由专业医护人员采集研究对象肘静脉血 10 ml 于乙二胺四乙酸二钾抗凝采血管,分别收集全血、血浆和白细胞于 1.5 ml 的 EP 管中,编号记录,并保存于 -80 °C 冰箱中,用于生化指标检测和 DNA 的提取。

3. DNA 提取:利用全血基因组 DNA 提取试剂

盒Ⅲ(北京百泰克生物技术有限公司)对储存于 -80°C 的血样经水溶解冻后提取全血 DNA。为保证 SNP 分型和甲基化检测结果的可靠性,要求待测样本的 DNA 浓度在 $50\text{ ng}/\mu\text{l}$ 左右(不低于 $20\text{ ng}/\mu\text{l}$), A_{260}/A_{280} 在 1.7~2.0 之间,且凝胶电泳实验显示 DNA 无明显降解。

4. JAK2 基因 SNP 位点的选择:①生物信息学方法:从 HapMap 数据库下载中国汉族人群的 JAK2 基因信息,应用 Haploview 4.2 软件,以 SNP 连锁不平衡 $r^2>0.8$ 和 $\text{MAF}>0.05$ 为标准,选择标签 SNP (12 个)。或②查阅文献,筛选出文献报道的可能与肥胖相关的 JAK2 基因 SNP 位点(8 个)。且③选择与 JAK2 基因甲基化水平相关的 SNP ($P<0.05$) 作为工具变量候选集(5 个)。结合上述筛选标准,最终本研究共纳入 JAK2 基因的 5 个 SNP 位点(rs2149556、rs2230724、rs3780378、rs7847294 和 rs7849191)。

5. 基因型检测:采用 SNPscan[®] 技术对提取的 DNA 样本进行 SNP 基因分型,取 $4.0\ \mu\text{l}$ 样本经过裂解、连接反应和多重荧光 PCR 反应后,利用 ABI3730XL 进行测序,获得基因各位点的基因型。

6. 甲基化水平检测:在 GenBank 中查找 JAK2 基因序列,并扩大 $5\ 000\ \text{bp}$,基于欧洲生物信息研究所的数据库(EMBL-EBI, https://www.ebi.ac.uk/Tools/seqstats/emboss_cpplot/),查询 JAK2 基因启动子区和外显子区上的 CpG 岛(观察/预期比率 >0.60 , $\text{C}\%+\text{G}\%>50.00\%$, 长度 $>200\ \text{bp}$),得到 3 个 CpG 片段(包含 63 个 CpG 位点):片段 252 (4984509~4984760) 和片段 441 (4984775~4985215) 位于启动子区,片段 218 (4985238~4985455) 位于外显子区。每个 CpG 片段设计一对引物进行检测,利用 MethylTarget[™] 目标区域甲基化测序技术(中国上海天昊生物有限公司)对 JAK2 基因的 DNA 甲基化水平检测,在引物和 PCR 条件优化的基础上,取 $2.0\ \mu\text{l}$ 样本,经过重亚硫酸盐处理,通过多重 PCR 添加特异性标签,定量后最终采用 Illumina HiSeq/MiSeq 进行高通量测序。然后与参考序列比对,得到甲基化位点 DNA 甲基化水平。

7. 肥胖定义:根据日本欧姆龙 HBF-371 体脂仪操作指南,内脏脂肪指数 ≥ 10 定义为肥胖组,内脏脂肪指数 < 10 定义为对照组^[12]。

8. 质量控制:现场调查阶段:采用标准化问卷,并进行预调查对问卷进行评估。在正式调查前对所有参与的调查人员进行统一培训,考核合格后方可参加现场调查,确保调查规范执行。在调查期

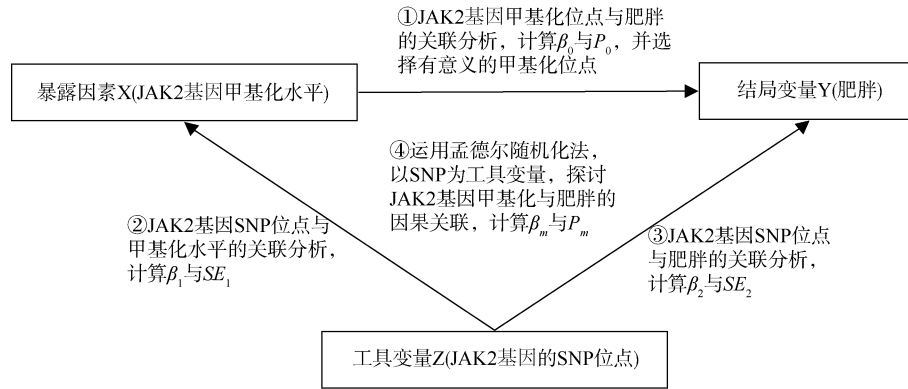
间,对已完成的问卷进行审核,确保问卷的完整性。实验室检测阶段:采集血样后,迅速进行离心和分装,并全程进行冷链运输。并随机抽取 3% 的样本进行复测,确保结果的可信性。数据录入阶段,对调查问卷进行一致性检验和逻辑纠错,以确保问卷信息的正确性和完整性。

9. 统计学分析:对 JAK2 基因 3 个片段上 63 个 CpG 位点甲基化水平与肥胖易感性的关联进行初步的单因素条件 logistic 回归分析,共发现 6 个 CpG 位点 (Chr9: 4984943、Chr9: 4985378、Chr9: 4985404、Chr9: 4985407、Chr9: 4985409 和 Chr9: 4985435) 甲基化水平与肥胖相关 ($P<0.05$), 随后对 6 个 CpG 位点甲基化水平与肥胖的关联进行分析。通过 EpiData 软件建立数据库,并对问卷进行双人双机双录入。连续变量报告 $\bar{x}\pm s$, 分类变量报告人数(百分比)。采用 t 检验或 χ^2 检验比较一般人口学特征、社会经济状况和生活习惯在肥胖和非肥胖组间差异。采用多因素 logistic 回归模型分析 JAK2 基因 DNA 甲基化水平和 SNP 基因型与肥胖的关联,用 OR 值及其 95% CI 表示,调整因素包括年龄、性别、文化程度、婚姻状况、人均月收入、肉类及蔬菜水果摄入和体力活动等。

采用孟德尔随机化法探讨 DNA 甲基化水平与肥胖之间的因果关联,具体步骤见图 1。首先分析 SNP 位点与 CpG 甲基化位点及肥胖的关联,确认工具变量选取的合理性:采用 Hardy-Weinberg 平衡检验 5 个 SNP 位点之间独立性,以排除工具变量之间的强共线性对模型的影响;采用 Spearman 秩相关和单因素 logistic 回归分析 5 个 SNP 位点与 JAK2 基因甲基化水平相关性;采用 Egger 回归孟德尔随机化法 (Mendelian randomization-Egger method, MR-Egger) 的截距检验工具变量是否具有水平多效性^[19]。然后,以 SNP 为工具变量,分别应用逆方差加权孟德尔随机化法 (Mendelian randomization method of inverse variance weighted, MR-IVW)、基于中位数孟德尔随机化法 (Mendelian randomization method of median based, MR-Median) 和最大似然比法 (Maximum-likelihood method) 对 JAK2 基因甲基化水平与肥胖之间的因果关联进行评估。以上分析全部在 R 4.0.0 软件中进行,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

结 果

1. 一般人口学特征:共纳入研究对象 1 021 例,



注: JAK2: 酪氨酸激酶 2; SNP: 单核苷酸多态性

图 1 河南农村队列调查对象 JAK2 基因甲基化与肥胖的孟德尔分析流程

其中肥胖组人数为 440 例, 对照组人数为 581 例。年龄为 (59.5±8.6) 岁, 其中肥胖组 (60.0±8.3) 岁, 对照组 (59.1±8.8) 岁, 肥胖组和对照组的年龄差异无统计学意义 ($P=0.122$)。男性 443 例, 女性 578 例, 性别在肥胖组和对照组的分布差异有统计学意义 ($P<0.001$)。对照组不吸烟和不饮酒的比例高于肥胖组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。文化程度、婚姻状况、人均月收入、高脂饮食、较多蔬菜水果摄入以及体力活动在肥胖组和对照组的分布差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

2. JAK2 基因甲基化水平与肥胖关联分析: 本研究在启动子区发现 1 个甲基化位点 (Chr9: 4984943) 与肥胖呈正相关, 其 OR 值 (95%CI) 为 1.22 (1.04~1.42)。在外显子区, 共发现 5 个甲基化位点 (Chr9: 4985378、Chr9: 4985404、Chr9: 4985407、Chr9: 4985409 和 Chr9: 4985435) 与肥胖呈负相关, OR 值 (95%CI) 分别为 0.53 (0.29~0.95)、0.58 (0.36~0.93)、0.69 (0.49~0.97)、0.72 (0.53~0.99) 和 0.58 (0.35~0.98)。见表 2。

3. JAK2 基因 SNP 与肥胖的关联分析: 对于 rs2149556 和 rs3780378 位点, 与野生纯合子 CC 基因型相比, 突变杂合子 CT 基因型与肥胖呈负相关, OR 值 (95%CI) 分别为 0.67 (0.49~0.91) 和 0.68 (0.49~0.94)。见表 3。

4. 孟德尔随机化分析: Hardy-Weinberg 平衡分析显示 5 个 SNP 位点之间的 r^2 均 <0.8 , 说明 5 个 SNP 位点之间连锁不平衡, 相互独立。Spearman 秩相关和单因素 logistic 回归分析结果显示, 6 个 SNP 位点与 JAK2 基因甲基化水平相关 ($P<0.05$)。MR-Egger 回归截距的结果显示, JAK2 基因甲基化与肥胖之间的相关性无方向性多效性 (MR-Egger 截距 = -0.002, $P=0.952$)。

表 1 研究对象一般人口统计学特征

变量	合计 (n=1 021)	肥胖组 (n=440)	对照组 (n=581)	P 值
年龄 (岁, $\bar{x}\pm s$)	59.5±8.6	60.0±8.3	59.1±8.8	0.122
性别				<0.001
男	443 (43.4)	260 (59.1)	183 (31.5)	
女	578 (56.6)	180 (40.9)	398 (68.5)	
文化程度				0.189
小学及以下	560 (54.8)	231 (52.5)	329 (56.6)	
中学及以上	461 (45.2)	209 (47.5)	252 (43.4)	
婚姻状况				0.104
在婚/同居	914 (89.5)	386 (87.7)	528 (90.9)	
未婚/离婚/丧偶/分居	107 (10.5)	54 (12.3)	53 (9.1)	
人均月收入 (元)				0.520
<500	406 (39.8)	170 (38.6)	236 (40.6)	
500~	323 (31.6)	136 (30.9)	187 (32.2)	
≥1 000	292 (28.6)	134 (30.5)	158 (27.2)	
吸烟状况				<0.001
不吸烟	727 (71.2)	271 (61.6)	456 (78.5)	
戒烟	86 (8.4)	62 (14.1)	24 (4.1)	
吸烟	208 (20.4)	107 (24.3)	101 (17.4)	
饮酒状况				<0.001
不饮酒	805 (78.8)	318 (72.3)	487 (83.9)	
戒酒	62 (6.1)	38 (8.6)	24 (4.1)	
饮酒	154 (15.1)	84 (19.1)	70 (12.0)	
高脂饮食				0.060
否	821 (80.4)	342 (77.7)	479 (82.4)	
是	200 (19.6)	98 (22.3)	102 (17.6)	
较多蔬菜水果摄入				0.445
否	351 (34.4)	157 (35.7)	194 (33.4)	
是	670 (65.6)	283 (64.3)	387 (66.6)	
体力活动				0.129
轻度	272 (26.6)	131 (29.8)	141 (24.3)	
中度	458 (44.9)	192 (43.6)	266 (45.8)	
重度	291 (28.5)	117 (26.6)	174 (29.9)	

注: 括号外数据为人数, 括号内数据为构成比 (%)

表2 JAK2 基因外显子区域甲基化水平及其与肥胖的 logistic 回归分析

甲基化位点	Distance2TSS	区域	病例组(%) ^a	对照组(%) ^a	OR 值(95%CI)	P 值
Chr9:4984943	-142	启动子	0.54(0.00, 1.09)	0.47(0.00, 1.04)	1.22(1.04~1.42)	0.012
Chr9:4985378	293	外显子	0.71(0.58, 0.88)	0.77(0.61, 0.90)	0.53(0.29~0.95)	0.033
Chr9:4985404	319	外显子	0.82(0.62, 1.01)	0.85(0.67, 1.04)	0.58(0.36~0.93)	0.024
Chr9:4985407	322	外显子	1.05(0.80, 1.34)	1.13(0.88, 1.41)	0.69(0.49~0.97)	0.033
Chr9:4985409	324	外显子	1.06(0.85, 1.42)	1.14(0.86, 1.46)	0.72(0.53~0.99)	0.045
Chr9:4985435	350	外显子	0.87(0.72, 1.04)	0.90(0.73, 1.07)	0.58(0.35~0.98)	0.040

注:Chr:位点所在的染色体;Distance2TSS:该位点在参照基因组上相对转录起始位点的距离;^a甲基化水平 $M(Q_1, Q_3)$

表3 JAK2 基因 SNP 位点与肥胖的 logistic 回归分析

SNP 位点	病例组 (n=432)	对照组 (n=578)	OR 值(95%CI)	P 值	
rs2149556	CC	136(31.5)	143(24.7)	1.00	
	CT	207(47.9)	297(51.4)	0.67(0.49~0.91)	0.011
	TT	89(20.6)	138(23.9)	0.69(0.47~1.00)	0.052
rs2230724	GG	170(39.1)	205(35.2)	1.00	
	GA	209(48.0)	283(48.5)	0.91(0.68~1.22)	0.530
	AA	56(12.9)	95(16.3)	0.80(0.53~1.20)	0.273
rs3780378	CC	120(27.5)	133(22.8)	1.00	
	CT	200(45.9)	298(51.1)	0.68(0.49~0.94)	0.021
	TT	116(26.6)	152(26.1)	0.80(0.55~1.15)	0.224
rs7847294	AA	91(20.9)	99(17.0)	1.00	
	AC	205(47.0)	290(49.7)	0.73(0.51~1.04)	0.081
	CC	140(32.1)	194(33.3)	0.80(0.54~1.16)	0.238
rs7849191	CC	149(34.2)	194(33.3)	1.00	
	CT	195(44.7)	291(49.9)	0.83(0.61~1.12)	0.215
	TT	92(21.1)	98(16.8)	1.16(0.80~1.70)	0.432

以 JAK2 基因 5 个 SNP 位点作为工具变量,通过孟德尔随机化法对 JAK2 基因甲基化水平与肥胖的关联进行因果推断。3 种孟德尔随机化方法(MR-IVW, MR-Median 和 Maximum-likelihood method)的结果均显示 JAK2 基因甲基化水平与肥胖存在因果关联,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 4。

表4 以 JAK2 基因 SNP 为工具变量推断 JAK2 基因甲基化与肥胖的因果关联

方法	β 值(95%CI)	SE	P 值
MR-IVW	-1.985(-3.520~-0.450)	0.783	0.011
MR-Median	-3.547(-6.301~-0.792)	1.405	0.012
Maximum-likelihood method	-3.900(-6.328~-1.472)	1.239	0.002

注:MR-IVW:逆方差加权孟德尔随机化法;MR-Median:基于中位数孟德尔随机化法;Maximum-likelihood method:最大似然比法

讨 论

本研究以 SNP 为工具变量,通过孟德尔随机化法探讨 JAK2 基因甲基化水平与肥胖之间的关联,结果显示 JAK2 基因启动子区 1 个甲基化位点

(Chr9:4984943)与肥胖呈正相关,外显子区 5 个甲基化位点(Chr9:4985378、Chr9:4985404、Chr9:4985407、Chr9:4985409 和 Chr9:4985435)水平与肥胖呈负相关,提示 JAK2 基因甲基化水平可能与肥胖的发生相关。多数环境因素并不足以引起基因突变,但基因 DNA 甲基化水平易受环境因素的影响,因此,本研究进一步以 JAK2 基因 SNP 位点为工具变量,通过孟德尔随机化法发现 JAK2 基因高甲基化可抑制肥胖的发生。

基因的 SNP 位点的基因型在出生时就已经确定,并且不受外界环境和行为因素的干扰而改变,因此,在孟德尔随机化法中,基因的 SNP 位点被认为是天然的工具变量。本研究选取 JAK2 基因的 5 个 SNP 位点作为工具变量,显示 JAK2 基因甲基化水平和肥胖存在的因果关联。来自加纳的一项肥胖全血表观遗传学研究发现,基因甲基化水平与肥胖存在关联^[20]。而另一项新生儿队列研究也发现,生命早期肥胖相关基因甲基化的水平与儿童早期肥胖有关^[21],同时也提示了甲基化水平的改变与健康效应存在一定的因果关联。中国双生子队列研究也证实,基因甲基化水平的改变能够影响肥胖的发生^[14],与本研究结果一致。在本研究中 JAK2 是能量代谢通路 JAK/信号转导及转录激活因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)的重要基因。当细胞因子和相应的受体结合之后,诱导 JAK2 发生磷酸化,磷酸化的 JAK2 具有生物活性,进一步促进下游的 STAT 家族的分子发生磷酸化并转移至细胞核与 DNA 相结合激活下游的靶基因,产生生物学作用(降低饥饿感来减少食物摄入,并增加能量消耗)^[22-23]。

本研究发现 1 个启动子区甲基化位点与肥胖呈正相关,而 5 个 JAK2 的外显子区的甲基化位点与肥胖呈负相关。有研究表明,启动子区的甲基化会使基因发生沉默,而基因体发生甲基化会刺激基因的表达^[11],这与本研究结果一致。JAK2 可被许

多关键的 I 类细胞因子受体用于信号转导,如生长激素、红细胞生成素、白细胞介素-3、白细胞介素-6、干扰素- γ 和瘦素^[24]。当基因的启动子区发生甲基化时,会使启动子区的序列改变,从而使基因的表达沉默^[11]。最近一项研究已经证实,基因外显子区的甲基化水平升高时,能通过选择性剪切来提高基因的转录水平,进一步促进基因的表达^[10]。因此 JAK2 基因的启动子区甲基化水平升高可能抑制 JAK2 蛋白的表达,而外显子区甲基化水平的升高可能促进 JAK2 蛋白的表达,进而影响 JAK/STAT 通路的活性,从而改变肥胖的发生发展。

本研究存在局限性。第一,林丽娟等^[25]的研究发现,运用孟德尔随机化法评估暴露因素与疾病结局因果关联时,其检验效能受工具变量 SNP 与甲基化水平的关联强度的影响。本研究结果发现 JAK2 基因 5 个 SNP 位点与甲基化水平相关强度较弱,可能会造成结果的偏差。但是,3 种孟德尔随机化法结果均显示 JAK2 基因高甲基化可降低肥胖的发生风险,在一定程度上反映了本研究结果的可靠性。第二,本研究样本量有限,也可能影响结果的稳定性^[26]。第三,由于本研究对象为农村人群,研究结果推广到其他人群时需要谨慎。在后续研究中,继续增加样本量,并动态检测 JAK2 基因的甲基化水平,以便能更可靠地推断 JAK2 基因甲基化水平与肥胖的关联。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 刘晓田:实验操作、数据整理、统计学分析、论文撰写及修改;屠润琪、何亚玲:论文撰写、数据整理及统计学分析;董小康、李瑞颖、侯建、李玉倩:实验操作、论文修改;王重建:研究指导、经费支持

参 考 文 献

- [1] NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants[J]. *Lancet*, 2016, 387(10026): 1377-1396. DOI: 10.1016/S0140-6736(16)30054-X.
- [2] Flegal KM, Kit BK, Orpana H, et al. Association of all-cause mortality with overweight and obesity using standard body mass index categories: a systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA*, 2013, 309(1): 71-82. DOI: 10.1001/jama.2012.113905.
- [3] Kuk JL, Katzmarzyk PT, Nichaman MZ, et al. Visceral fat is an independent predictor of all-cause mortality in men[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2006, 14(2): 336-341. DOI: 10.1038/oby.2006.43.
- [4] Zhang C, Liu J, Yuan CQ, et al. JAK2/STAT3 is associated with the inflammatory process in periapical granuloma [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(1):190-197.
- [5] Chen YN, Lu W, Jin ZY, et al. Carbenoxolone ameliorates hepatic lipid metabolism and inflammation in obese mice induced by high fat diet via regulating the JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 74: 105498. DOI:10.1016/j.intimp.2019.03.011.
- [6] Gurzov EN, Stanley WJ, Pappas EG, et al. The JAK/STAT pathway in obesity and diabetes[J]. *FEBS J*, 2016, 283(16): 3002-3015. DOI:10.1111/febs.13709.
- [7] Ge DL, Gooljar SB, Kyriakou T, et al. Association of common JAK2 variants with body fat, insulin sensitivity

- and lipid profile[J]. *Obesity (Silver Spring)*, 2008, 16(2): 492-496. DOI:10.1038/oby.2007.79.
- [8] Pant R, Fimal P, Shah VK, et al. Epigenetic regulation of adipogenesis in development of metabolic syndrome[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 8: 619888. DOI: 10.3389/fcell.2020.619888.
- [9] Ling C, Rönn T. Epigenetics in human obesity and type 2 diabetes[J]. *Cell Metab*, 2019, 29(5): 1028-1044. DOI: 10.1016/j.cmet.2019.03.009.
- [10] Shayevitch R, Askayo D, Keydar I, et al. The importance of DNA methylation of exons on alternative splicing[J]. *RNA*, 2018, 24(10):1351-1362. DOI:10.1261/rna.064865.117.
- [11] Jones PA. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond[J]. *Nat Rev Genet*, 2012, 13(7):484-492. DOI:10.1038/nrg3230.
- [12] Oh SK, Cho AR, Kwon YJ, et al. Derivation and validation of a new visceral adiposity index for predicting visceral obesity and cardiometabolic risk in a Korean population [J]. *PLoS One*, 2018, 13(9): e0203787. DOI: 10.1371/journal.pone.0203787.
- [13] 朱玉凤,张美琳,李萍,等.膳食多不饱和脂肪酸与女性内脏肥胖的关系[J]. *中国慢性病预防与控制*, 2016, 24(3):192-195. DOI:10.16386/j.cjpcd.issn.1004-6194.2016.03.008. Zhu YF, Zhang ML, Li P, et al. Relationship between dietary polyunsaturated fatty acids intake and female visceral obesity[J]. *Chin J Prev Control Chron Dis*, 2016, 24(3): 192-195. DOI: 10.16386/j. cjpcd. issn. 1004-6194.2016.03.008.
- [14] 高莹,王碧琦,高文静,等. DNA 甲基化与肥胖相关性的孟德尔随机化研究[J]. *中华预防医学杂志*, 2017, 51(2):137-142. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2017.02.008. Gao Y, Wang BQ, Gao WJ, et al. Mendelian randomization analysis of the relationship between obesity and DNA methylation[J]. *Chin J Prev Med*, 2017, 51(2): 137-142. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2017.02.008.
- [15] Emdin CA, Khera AV, Kathiresan S. Mendelian randomization[J]. *JAMA*, 2017, 318(19): 1925-1926. DOI: 10.1001/jama.2017.17219.
- [16] Liu XT, Mao ZX, Li YQ, et al. Cohort profile: the henan rural cohort: a prospective study of chronic non-communicable diseases[J]. *Int J Epidemiol*, 2019, 48(6):1756-1756j. DOI: 10.1093/ije/dyz039.
- [17] 杨月欣,张环美.《中国居民膳食指南(2016)》简介[J]. *营养学报*, 2016, 38(3):209-217. DOI:10.13325/j.cnki.acta.nutr.sin.2016.03.002.
- [18] Yang YX, Zhang HM. Introduction of "The Chinese Dietary Guidelines (2016)"[J]. *Acta Nutr Sin*, 2016, 38(3): 209-217. DOI:10.13325/j.cnki.acta.nutr.sin.2016.03.002. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity[J]. *Med Sci Sports Exerc*, 2003, 35(8):1381-1395. DOI:10.1249/01.MSS.0000078924.61453.FB.
- [19] Burgess S, Thompson SG. Interpreting findings from Mendelian randomization using the MR-Egger method[J]. *Eur J Epidemiol*, 2017, 32(5): 377-389. DOI: 10.1007/s10654-017-0255-x.
- [20] Meeks KAC, Henneman P, Venema A, et al. An epigenome-wide association study in whole blood of measures of adiposity among Ghanaians: the RODAM study[J]. *Clin Epigenet*, 2017, 9: 103. DOI: 10.1186/s13148-017-0403-x.
- [21] van Dijk SJ, Peters TJ, Buckley M, et al. DNA methylation in blood from neonatal screening cards and the association with BMI and insulin sensitivity in early childhood[J]. *Int J Obes*, 2018, 42(1):28-35. DOI:10.1038/ijo.2017.228.
- [22] Wunderlich CM, Hovelmeier N, Wunderlich FT. Mechanisms of chronic JAK-STAT3-SOCS3 signaling in obesity[J]. *JAKSTAT*, 2013, 2(2): e23878. DOI: 10.4161/jkst.23878.
- [23] Kiu H, Nicholson SE. Biology and significance of the JAK/STAT signalling pathways[J]. *Growth Factors*, 2012, 30(2): 88-106. DOI:10.3109/08977194.2012.660936.
- [24] Waters MJ, Brooks AJ. JAK2 activation by growth hormone and other cytokines[J]. *Biochem J*, 2015, 466(1):1-11. DOI: 10.1042/BJ20141293.
- [25] 林丽娟,魏永越,张汝阳,等.孟德尔随机化方法在观察性研究因果推断中的应用[J]. *中华预防医学杂志*, 2019, 53(6):619-624. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2019.06.015. Lin LJ, Wei YY, Zhang RY, et al. Application of mendelian randomization methods in causal inference of observational study[J]. *Chin J Prev Med*, 2019, 53(6):619-624. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2019.06.015.
- [26] 高雪,杨晓晨,孟玲先,等.睡眠与冠心病的孟德尔随机化因果关联研究[J]. *中华流行病学杂志*, 2020, 41(4):611-614. DOI:10.3760/cma.j.cn112338-20190624-00462. Gao X, Yang XC, Meng LX, et al. Causal relationship between sleep and coronary artery disease: a Mendelian randomization study[J]. *Chin J Epidemiol*, 2020, 41(4): 611-614. DOI:10.3760/cma.j.cn112338-20190624-00462.