

## 2型糖尿病患者LEP-2548位点SNP与非酒精性脂肪肝的关系

丁百静, 王震, 杨勇, 刘充, 朴云峰

### ■背景资料

2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝(NAFL)的高患病率, 严重影响着患者的生活质量及生存期, 对其易患性分析有着重要的现实意义, 特别是通过遗传因素的分析有利于预测个体发病风险、建立早期诊断方法及指导治疗。

丁百静, 王震, 杨勇, 刘充, 芜湖市第二人民医院消化内科 安徽省芜湖市 224100

朴云峰, 吉林大学第一临床医院消化科 吉林省长春市 130021

作者贡献分布: 丁百静与朴云峰对此文所作贡献均等; 此课题由朴云峰与丁百静设计; 研究过程由丁百静、王震、杨勇及刘充操作完成; 数据分析由丁百静、王震及杨勇完成; 本论文写作由丁百静与朴云峰完成。

通讯作者: 朴云峰, 教授, 博士生导师, 130021, 吉林省长春市, 吉林大学第一临床医院消化科. piaoyunfeng66@163.com

电话: 0431-85612437

收稿日期: 2009-07-02 修回日期: 2009-09-07

接受日期: 2009-09-07 在线出版日期: 2009-09-18

### Association between single nucleotide polymorphisms at the -2548 site in leptin gene and nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes

Bai-Jing Ding, Zhen Wang, Yong Yang, Chong Liu, Yun-Feng Piao

Bai-Jing Ding, Zhen Wang, Yong Yang, Chong Liu, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Wuhu, Wuhu 224100, Anhui Province, China

Yun-Feng Piao, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China

Correspondence to: Professor Yun-Feng Piao, Department of Gastroenterology, the First Hospital of Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China. piaoyunfeng66@163.com

Received: 2009-07-02 Revised: 2009-09-07

Accepted: 2009-09-07 Published online: 2009-09-18

### Abstract

**AIM:** To evaluate the association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) at the -2548 site in leptin gene and nonalcoholic fatty liver (NAFL) in patients with type 2 diabetes (T2DM).

**METHODS:** Two hundred and eight patients with T2DM were randomly selected, of which 98 had NAFL and the remaining 110 had no NAFL. One hundred sex- and age-matched healthy volunteers were used as normal controls. The SNPs at the -2548 site in leptin gene in these subjects were detected by ligase detection reaction

(LDR). Meanwhile, the body height, body mass, waistline and hip circumference of all subjects were measured, and clinical parameters such as fasting serum C peptide, liver function, blood glucose, and plasma lipid were determined.

**RESULTS:** The distribution of SNPs at the -2548 site in leptin gene in patients with concurrent T2DM and NAFL was significantly different with that in patients with T2DM alone and healthy volunteers (both  $P < 0.01$ ). The genotype of SNPs at the -2548 site in leptin gene was correlated with the development of abdominal obesity. The A/A genotype was associated with a 2.720-fold increased risk for abdominal obesity than the GG genotype ( $OR = 2.720$ ; 95%CI: 1.186-6.235;  $P < 0.05$ ). The genotype of SNPs at the -2548 site in leptin gene was an independent variable associated with the development of NAFL in T2DM patients. The A/A genotype was a risk factor for the development of NAFL in T2DM patients ( $OR = 3.035$ ; 95%CI: 1.210-7.615;  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The A/A genotype at the -2548 site in leptin gene may increase the risk for the development of abdominal obesity and NAFL in T2DM patients.

**Key Words:** Nonalcoholic fatty liver; Leptin; Genetic polymorphism; Diabetes

Ding BJ, Wang Z, Yang Y, Liu C, Piao YF. Association between single nucleotide polymorphisms at the -2548 site in leptin gene and nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(26): 2732-2737

### 摘要

**目的:** 探讨2型糖尿病(type 2 diabetes, T2MD)患者瘦素基因(leptin gene promoter, LEP)启动子区-2548单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)与其合并非酒精性脂肪肝的关联。

**方法:** 以208例T2MD患者为病例组, 其中合

### ■同行评议者

邵先玉, 主任医师, 泰山医学院附属医院消化内科; 王承党, 副教授, 福建医科大学附属第一医院消化内科

并非酒精性脂肪肝患者98例, 无脂肪肝者110例, 同时选择在性别、年龄上与之匹配的100例健康体检者为正常对照组; 采用基于连接酶(ligase detection reaction, LDR)的测序分型方法, 检测LEP-2548G>A位点的SNP; 同时测量受试者的身高、体质量、腰围、臀围, 并检测空腹C肽水平、肝功能、血糖、血脂等临床指标。

**结果:** LEP-2548G>A位点SNP的分布在正常对照组及合并非酒精性脂肪肝、无脂肪肝的T2MD组间差异有显著性( $P<0.01$ ); SNP的分布与中腹部肥胖相关, 且LEP-2548AA基因型发生中腹部肥胖的风险高, 为GG基因型的2.720倍( $OR = 2.720$ , 95%CI: 1.186-6.235,  $P<0.05$ ); LEP-2548G>A位点的基因型作为独立变量与T2MD患者合并非酒精性脂肪肝患病相关, AA基因型是T2MD患者合并非酒精性脂肪肝的危险因素(95%CI: 1.210-7.615,  $P<0.05$ )。

**结论:** LEP-2548AA基因可能通过调控机体脂肪分布, 增加中腹部肥胖风险, 促进T2MD合并非酒精性脂肪肝的发生。

**关键词:** 非酒精性脂肪肝; 瘦素; 基因多态性; 糖尿病

丁百静, 王震, 杨勇, 刘充, 朴云峰. 2型糖尿病患者LEP-2548位点SNP与非酒精性脂肪肝的关系. 世界华人消化杂志 2009; 17(26): 2732-2737

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2732.asp>

## 0 引言

非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver, NAFL)是一种环境-遗传-代谢应激相关的临床病理综合征, 在临床上常与肥胖、2型糖尿病(type 2 diabetes, T2MD)伴发存在。随着肥胖和T2MD患病率的增加, T2MD并发NAFL也明显增多, 据不同国家统计其患病率在21%-78%, 远高于普通人群<sup>[1]</sup>, 特别是在肥胖的T2MD患者可达100%<sup>[2-3]</sup>。糖尿病的存在使肝脏损害加重, 促进脂肪肝进展成肝纤维化、肝癌, 而脂肪肝的出现又增加了T2MD患者病死率, 尤其对肥胖患者<sup>[3]</sup>。瘦素基因(leptin gene promoter, LEP)作为最早被人们所认识的脂肪因子, 其基因启动子区的-2548G/A单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)可影响基因转录和瘦素在脂肪组织分泌<sup>[4]</sup>, 与NAFL的胰岛素抵抗有关<sup>[5]</sup>。因此, 推测LEP-2548G>A位点SNP多态性可能与T2MD合并NAFL有关。

## 1 材料和方法

1.1 材料 选择2006-01/2007-05在本地区诊断明

确的T2MD组患者208例, 均符合1999年美国糖尿病学会(ADA)诊断标准, 其中男124例, 女84例, 年龄20-79岁。排除标准: 除外有饮酒史, 以及肝炎病毒感染、全胃肠外营养、药物性因素等可导致肝损害者。由经验丰富的医师行肝脏B超和/或肝脏CT检查, 根据2002年制定的非酒精性脂肪性肝病诊断标准<sup>[6]</sup>, 确定其中合并非酒精性脂肪肝患者98例, 未合并非酒精性脂肪肝110例。并选择同期至本院的健康体检者100例, 男61例, 女39例, 年龄22-73岁。受试对象均为于本地长期居住的汉族人群, 所有受试者均签署书面知情同意书。引物: 上游5'-TTC CTG TAA TTT TCC CGT GAG-3', 下游5'-CTC CAG CCG ATC TCT CTG TT-3'; 探针: modify, P-GCA ACC CTG TCG CAA AAC AAA ACA ATT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TT-FAM, A-TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TGG GAG ACT GAG GCG GGA GGT TCA GT, G-TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TTT TGG GAG ACT GAG GCG GGA GGT TCA GC。PCR反应体系20  $\mu$ L模板(50 mg/L)1  $\mu$ L、1 $\times$ Buffer 2  $\mu$ L、Mg<sup>2+</sup>(2.5 mmol/L)1.2  $\mu$ L、dNTP(2 mmol/L)2  $\mu$ L、Taq酶(5 U/ $\mu$ L)0.2  $\mu$ L、1 $\times$ Q-solution 4  $\mu$ L、引物0.4  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 9.2  $\mu$ L补齐; LDR反应体系10  $\mu$ L: PCR产物(100 mg/L)3  $\mu$ L, LDR探针混合物(12.5 mol/ $\mu$ L)0.4  $\mu$ L, 1 $\times$ Buffer 1  $\mu$ L, 连接酶(40 U/ $\mu$ L)0.05  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 5.55  $\mu$ L补齐。

### 1.2 方法

1.2.1 身体指标的测量: 血压及身高、体质量、腰围、臀围的测量均由固定的人员进行, 并计算体质量指数(BMI) = 体质量(kg)/[身高(m)]<sup>2</sup>, 腰臀比(WHR) = 腰围(cm)/臀围(cm)。并将总受试人群分别按不同性别、中国肥胖标准(BMI<24 kg/m<sup>2</sup>, BMI $\geq$ 24 kg/m<sup>2</sup>)、中腹部肥胖标准(WHR男<0.9、女<0.85, WHR男 $\geq$ 0.9、女 $\geq$ 0.85)分别分为2组, 进行SNP与临床特征相关性分析。

1.2.2 血样收集与处理: 空腹12 h, 晨起抽取肘静脉血7 mL, 2 mL用EDTA抗凝, -80℃保存待用; 5 mL加入含促凝剂及分离胶的试管, 取血清进行AST、ALT、 $\gamma$ -GT及AU、TC、TG、LP、HDL-c、LDL-c、FPG、FC-P临床指标的检测。

1.2.3 LDR的测序分型: (1)DNA提取: 按白细胞提取基因组DNA纯化试剂盒说明书进行DNA提取, 在紫外分光光度仪上进行DNA纯度测定; (2)PCR反应条件: 预变性95℃ 15 min $\rightarrow$ 变性94℃ 30 s $\rightarrow$ 梯度-退火温度(1℃ 30 s) $\rightarrow$ 延伸72℃

## ■ 研发前沿

目前的研究显示瘦素启动子区-2548位点存在基因多态性, 并影响脂肪组织分泌瘦素, 与NAFL的有关, 但是否与2型糖尿病合并NAFL的易感性有关尚无定论。

## ■相关报道

Petersen *et al*报道对存在严重IR和脂质代谢异常的脂肪肝患者使用瘦素治疗后,肝脏胰岛素敏感性增加,肝脏内的TG含量减少,认为瘦素可逆转IR和肝脏脂肪变性;马赞颂 *et al*报道对NAFL有效治疗,可使肝脏瘦素受体mRNA的表达增加,改善瘦素抵抗。

表 1 正常对照组与T2DM组的基本特征比较 (mean  $\pm$  SD)

项目	正常对照组	T2DM组
n(男/女)	61/39	124/84
年龄(岁)	52.87 $\pm$ 11.93	55.34 $\pm$ 12.12
WHR	0.87 $\pm$ 0.05	0.91 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	22.27 $\pm$ 3.17	24.33 $\pm$ 3.29 <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常对照组。

1 min  $\rightarrow$  最后72℃延伸10 min, 35个循环。电泳检测30 g/L的琼脂糖凝胶电泳检测, 观察PCR产物的效果。确定其作为模板在LDR反应中加入的量; (3)LDR反应条件, 预变性95℃ 2 min, 变性94℃ 30 s, 退火60℃ 2 min, 35个循环; (4)LDR产物测序分型将LDR产物在377 DNA测序仪上进行测序电泳, 通过Genemapper软件分析得到相应的峰值, 直接判读SNP分型。

1.2.4 LEP-2548G>A位点SNP与T2MD合并NAFL患病进行相关性分析。

**统计学处理** 采用SPSS12.0软件进行统计学分析, 计数资料用mean  $\pm$  SD表示, 非正态分布者为取自然对数, 采用独立样本的 $t$ 检验, 计量资料采用 $\chi^2$ 检验, 以Hardy-Weinberg平衡定律检验样本的群体代表性, 以比值比(OR)和95%CI表示相对风险度, SNP与T2MD组合并NAFL的关联采用多因素非条件Logistic回归分析, 以单独的遗传因素、环境因素为自变量, 以是否合并NAFL为应变量(合并NAFL为1, 无脂肪肝为0), 将LEP-2548G>A的基因型按二分类变量处理, 在分析变量中赋值(AG+GG型 = 0, AA型 = 1),  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 研究人群的特征

2.1.1 T2MD患者与正常对照人群在性别、年龄方面具可比性( $P > 0.05$ ), 但T2MD组的BMI、WHR的平均值明显高于正常对照组, 有统计学意义( $P < 0.01$ , 表1)。

2.1.2 T2MD患者合并NAFL组的BMI、WHR、AST、ALT、 $\gamma$ -GT、AU、TG、LP、FPG、FC-P平均水平均高于无脂肪肝组, 余各项在2组间有差异无显著性(表2)。

2.2 LEP-2548G/A位点SNP的基因型检测结果 正常对照组与T2MD组(合并NAFL、无脂肪肝)均有AA、AG、GG 3种基因型, 各组LEP-2548G>A位点SNP的基因型分布与Hardy-

表 2 合并NAFL组及无脂肪肝组两组临床指标的比较 (mean  $\pm$  SD)

项目	T2DM	
	无脂肪肝组	合并NAFL组
n(男/女)	66/44	58/40
年龄(岁)	55.49 $\pm$ 11.49	55.16 $\pm$ 12.84
WHR	0.89 $\pm$ 0.05	0.94 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	23.12 $\pm$ 2.82	26.20 $\pm$ 3.11 <sup>b</sup>
AST(U/L) <sup>1</sup>	2.95 $\pm$ 0.31	3.15 $\pm$ 0.49 <sup>b</sup>
ALT(U/L) <sup>1</sup>	2.89 $\pm$ 0.39	3.27 $\pm$ 0.58 <sup>b</sup>
$\gamma$ -GT(U/L) <sup>1</sup>	3.04 $\pm$ 0.52	3.54 $\pm$ 0.68 <sup>b</sup>
AU( $\mu$ mol/L) <sup>1</sup>	5.51 $\pm$ 0.31	5.70 $\pm$ 0.36 <sup>b</sup>
TC(mmol/L)	4.74 $\pm$ 1.37	5.03 $\pm$ 1.78
TG(mmol/L) <sup>1</sup>	0.44 $\pm$ 0.52	0.88 $\pm$ 0.61 <sup>b</sup>
HDL-c(mmol/L)	1.08 $\pm$ 0.29	1.05 $\pm$ 0.19
LDL-c(mmol/L)	2.72 $\pm$ 1.11	2.47 $\pm$ 0.75
LP(mg/L) <sup>1</sup>	4.87 $\pm$ 0.54	5.06 $\pm$ 0.64 <sup>a</sup>
FPG(mmol/L)	8.80 $\pm$ 3.61	10.19 $\pm$ 4.80 <sup>a</sup>
FC-P( $\mu$ g/L)	1.39 $\pm$ 0.86	2.02 $\pm$ 1.15 <sup>b</sup>

<sup>1</sup>取自然对数后; <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs T2DM无脂肪肝组。

Weinberg平衡的理论频数之间差异均无显著性( $P > 0.05$ ), 说明样本基因型分布是均匀的, 具群体代表性。T2MD合并NAFL组的LEP-2548G>A基因型分布与正常对照组、无脂肪肝组间差异均有显著性; T2MD合并NAFL组的A、G等位基因频率与正常对照组间差异有显著性( $P < 0.01$ ), 与T2DM无脂肪肝组间差异无显著性( $P > 0.05$ , 表3)。

2.3 LEP-2548G>A位点SNP与T2MD合并NAFL的风险分析 LEP-2548AG、AG+GG基因型与AA基因型T2MD患者合并NAFL的风险存在差异( $P < 0.05$ ); 经Logistic回归分析校正性别、年龄、BMI、WHR相关因素后, 差异仍存在, AA基因型T2MD合并NAFL的风险高( $P < 0.05$ ), 为AG基因型的3.080倍、G等位基因携带者(AG+GG基因型)的2.287倍, AA型纯合子增加了T2MD合并NAFL患病的风险(表4)。

### 2.4 SNP与临床特征相关性

2.4.1 SNP与性别、WHR、BMI的不同基因型及等位基因分布: 在不同性别间、有无肥胖组间差异均无显著性(均 $P > 0.05$ ), 而在有无中腹部肥胖间差异有显著性( $P < 0.05$ , 表5)。

2.4.2 LEP-2548G>A位点SNP与中腹部肥胖的风险分析: LEP-2548AA基因型发生中腹部肥胖的风险高( $P < 0.05$ ), 为GG基因型的2.720倍; A等位基因携带者发生肥胖的风险为G携带者的1.520倍, A等位基因突变增加了中腹部肥胖发生的风险。

表 3 3组间基因型及等位基因频率分布的比较  $n(\%)$ 

分组	$n$	基因型			等位基因	
		AA	AG	GG	A	G
正常对照组	99	43(43.43)	42(42.42)	14(14.14)	128(64.64)	70(35.35)
T2DM						
无脂肪肝组	109	57(52.29)	46(42.20)	6(5.50)	160(73.39)	58(26.61)
合并NAFL组	98	65(66.33)	24(24.49)	9(9.18) <sup>ad</sup>	154(78.57) <sup>d</sup>	42(21.43) <sup>d</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs T2DM无脂肪肝组基因型; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 正常对照组基因型。

表 4 LEP-2548G&gt;A位点SNP与T2MD合并NAFL的风险分析

SNP基因型	校正前			校正后		
	OR值	95%CI	P值	OR值	95%CI	P值
AA	1			1		
AG	2.186	1.190–4.016	0.011	3.080	1.515–6.246	0.002
GG	0.760	0.255–2.267	0.622	0.428	0.083–2.207	0.311
AG+GG	1.797	1.024–3.155	0.040	2.287	1.185–4.416	0.014

表 5 SNP与性别、WHR、BMI的不同基因型及等位基因分布

分组	基因型			等位基因		
	$\chi^2$ 值	df	P值	$\chi^2$ 值	df	P值
WHR	6.337	2	0.042	4.597	1	0.034
BMI	0.444	2	0.801	0.446	1	0.504
性别	0.319	2	0.853	0.306	1	0.580

险(表6)。

2.4.3 LEP-2548G>A位点SNP与临床生化指标的相关: GG+AG基因型与AA基因型的各生化指标(ALT、AST、 $\gamma$ -GT、TG、TC、LP、AU、FPG、FCP)进行比较, 结果显示各项生化指标在两组间差异均无显著性(均 $P>0.05$ )。

2.4.4 LEP-2548G>A位点SNP与NAFL分级程度的相关性: 将T2MD合并NAFL患者, 按肝脏B超的判断结果分为轻度、中度+重度两组进行比较, 结果: LEP-2548 G>A位点的各基因型、基因频率在不同程度的脂肪肝组间差异无显著性( $P>0.05$ )。

2.5 LEP-2548G>A位点SNP及其他相关因素与T2MD合并NAFL患病的相关性 LEP-2548G>A位点基因型作为独立自变量与性别、年龄、BMI、WHR及ALT、AST、 $\gamma$ -GT、TG、TC、LP、AU、FPG、FCP共同引入多因素非条件Logistic回归分析模型。结果显示: LEP-2548 G>A位点基因型作为独立变量与T2MD患者合并

NAFL患病相关, 其中AA基因型是T2MD患者合并NAFL的危险因素, 随着AA基因型的增多其患病风险增加( $OR = 3.035$ , 95%CI: 1.210–7.615,  $P<0.05$ ); BMI、FPG、TG、ALT亦均与T2MD患者合并NAFL相关, 均为危险因素(表7)。

### 3 讨论

瘦素是由肥胖基因(ob基因)编码, 脂肪组织所分泌的肽类激素。ob基因位于人染色体7q32上, 由3个外显子和2个内含子组成<sup>[7]</sup>。生理条件下瘦素的主要作用是调节机体脂肪的稳定。研究发现瘦素与非酒精性脂肪性肝病有关, 非酒精性脂肪性肝炎患者血清瘦素水平显著高于正常对照组, 多变量分析提示高血清瘦素水平为脂肪性肝炎独立的致病因素<sup>[8]</sup>。瘦素主要通过促进胰岛素抵抗(insulin resistance, IR), 参与非酒精性脂肪性肝病的发生<sup>[9]</sup>。而Petersen *et al*<sup>[10]</sup>报道对存在严重IR和脂质代谢异常的脂肪肝患者使用瘦素治疗后, 肝脏胰岛素敏感性增加, 肝脏内的TG含量减少, 认为瘦素可逆转IR和肝脏脂肪变性。以上不同结果的可能原因是在脂肪肝患者存在“瘦素抵抗”<sup>[11]</sup>。马赞颂 *et al*<sup>[12]</sup>报道对NAFL有效治疗, 可使肝脏瘦素受体mRNA的表达增加, 改善瘦素抵抗。这为NAFL患者存在“瘦素抵抗”提供了佐证。在T2DM合并NAFL患者其血清瘦素水平亦较无脂肪肝患者高, 可能也与“瘦素抵抗”有关<sup>[13]</sup>。使正常的“胰岛-脂肪细

### ■创新盘点

本研究从与肥胖、糖尿病等代谢相关疾病研究的热点-脂肪因子基因SNP入手, 探讨瘦素启动子区-2548G>A的SNP与2型糖尿病合并NAFL的易患性, 为风险预测及早期诊断提供了依据。



## ■应用要点

本研究为今后对2型糖尿病合并NAFL这一特殊NAFL的易感基因筛选, 提供了一个很好的切入点, 并为其个体发病风险预测及建立诊断方法奠定了重要的实验基础。

表 6 LEP-2548G&gt;A位点SNP与中腹部肥胖的风险分析

SNP	中腹部肥胖组n(%)	正常组n(%)	OR值	95%CI	P值
基因型					
AA	131(55.74)	34(47.89)	1		
AG	87(37.02)	25(35.21)	1.107	0.618-1.984	0.732
GG	17(7.23) <sup>a</sup>	12(16.90)	2.720	1.186-6.235	0.015
等位基因					
A	349(74.26)	93(65.69)	1		
G	121(25.74) <sup>c</sup>	49(34.51)	1.520	1.016-2.274	0.034

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 正常组AA基因型; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 正常组A基因。

表 7 多因素Logistic回归分析结果

变量	B	S.E	wald	P值	OR值	95%CI
AA型	1.110	0.469	5.596	0.018	3.035	1.210-7.615
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	0.266	0.076	12.127	0.000	1.304	1.123-1.515
FPG(mmol/L)	0.197	0.058	11.557	0.001	1.217	1.087-1.364
AU(μmol/L)	0.008	0.002	12.407	0.000	1.008	1.004-1.013
TG(mmol/L)	0.396	0.161	6.064	0.014	1.486	1.084-2.038
ALT(U/L)	0.040	0.011	12.608	0.000	1.041	1.018-1.064

胞轴”反馈机制受到破坏, 抑制胰岛素分泌的能力下降。因此, 瘦素可能介导IR对T2DM合并NAFL的发生起作用<sup>[14]</sup>。

“瘦素抵抗”的发生与瘦素及其受体基因SNP有一定关联。Hoffstedt *et al*<sup>[4]</sup>报道LEP启动子区-2548G>A多态性与血清瘦素水平有关, -2548AA携带者脂肪细胞表达瘦素mRNA水平及血清瘦素浓度均较-2548GA/GG携带者高, 其脂肪细胞分泌瘦素的速率亦是-2548GA/GG携带者的2倍, 最终认为人类LEP-2548 G>A多态性可能在转录水平影响LEP的表达, LEP -2548AA在一定程度上促进了“瘦素抵抗”的发生。

我们对受试人群进行LEP-2548G>A位点的检测结果显示; 正常对照组、T2MD合并NAFL及无脂肪肝组均有AA、AG、GG 3种基因型, 其中以GG基因型的频率最低, 与国内的报道相近<sup>[5]</sup>。T2MD合并NAFL组的LEP-2548G>A基因型分布与T2MD无脂肪肝组、正常对照组间差异均有显著性。其中AA基因型T2MD患者合并NAFL的风险高( $P<0.05$ )。进一步以LEP-2548G>A位点基因型作为独立变量与性别、年龄、BMI、WHR及临床生化指标一同进行多因素Logistic逐步回归分析, 结果LEP-2548G>A的SNP与T2MD患者合并NAFL相关, AA基因型是其危险因素, 随着AA基因型增多其患病风险

增加( $OR = 3.035$ , 95%CI: 1.210-7.615,  $P<0.05$ )。提示LEP-2548G>A位点的SNP作为独立变量与T2MD合并NAFL的患病相关, 可能是其易感基因位点, AA基因型增加了其患病。

T2DM合并脂肪肝的发生与肥胖密切相关<sup>[15]</sup>, 特别是中腹部肥胖<sup>[16]</sup>。我们在LEP-2548G>A位点的SNP与临床特征的相关分析中发现; 其SNP与受试人群的中腹部肥胖有关, LEP-2548AA基因型发生中腹部肥胖的风险高( $P<0.05$ ), 为GG基因型的2.720倍(95%CI: 1.186-6.235)。因此, 我们推测LEP-2548G/A基因变异可能在转录水平影响LEP表达, 变异的-2548AA基因可通过提高瘦素分泌, 促进了“瘦素抵抗”发生, 影响机体脂肪分布, 从而在某种程度上也促进了T2MD患者合并NAFL的发生。

## 4 参考文献

- 1 Younossi ZM, Gramlich T, Matteoni CA, Boparai N, McCullough AJ. Nonalcoholic fatty liver disease in patients with type 2 diabetes. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2004; 2: 262-265
- 2 Trombetta M, Spiazzi G, Zoppini G, Muggeo M. Review article: type 2 diabetes and chronic liver disease in the Verona diabetes study. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22 Suppl 2: 24-27
- 3 陈建林, 刘石平. 新诊断的肥胖和非肥胖2型糖尿病患者的临床比较研究. *医学临床研究* 2006; 23: 388-390
- 4 Hoffstedt J, Eriksson P, Mottagui-Tabar S, Arner P. A polymorphism in the leptin promoter region

- (-2548 G/A) influences gene expression and adipose tissue secretion of leptin. *Horm Metab Res* 2002; 34: 355-359
- 5 赖晓波, 聂玉强, 李瑜元, 石胜利, 杜艳蕾, 周永建. 非酒精性脂肪肝患者瘦素基因G2548A位点多态性与胰岛素抵抗的关系-附107例报告. *新医学* 2008; 39: 781-782
- 6 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性脂肪肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. *中华肝病杂志* 2006; 14: 161-163
- 7 Cohen SL, Halaas JL, Friedman JM, Chait BT, Bennett L, Chang D, Hecht R, Collins F. Human leptin characterization. *Nature* 1996; 382: 589
- 8 Chitturi S, Farrell G, Frost L, Kriketos A, Lin R, Fung C, Liddle C, Samarasinghe D, George J. Serum leptin in NASH correlates with hepatic steatosis but not fibrosis: a manifestation of lipotoxicity? *Hepatology* 2002; 36: 403-409
- 9 Cho YK, Lee WY, Oh SY, Park JH, Kim HJ, Park DI, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, Kim SW, Oh KW, Yun EJ, Oh ES. Factors affecting the serum levels of adipokines in Korean male patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1512-1516
- 10 Petersen KF, Oral EA, Dufour S, Befroy D, Ariyan C, Yu C, Cline GW, DePaoli AM, Taylor SI, Gorden P, Shulman GI. Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. *J Clin Invest* 2002; 109: 1345-1350
- 11 Montez JM, Soukas A, Asilmaz E, Fayzikhodjaeva G, Fantuzzi G, Friedman JM. Acute leptin deficiency, leptin resistance, and the physiologic response to leptin withdrawal. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 2537-2542
- 12 马赞颂, 柳涛, 郑培永, 邢练军, 季光. 中药降脂颗粒对非酒精性脂肪肝大鼠肝脏瘦素受体mRNA及P-JAK2/P-STAT3的影响. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3360-3366
- 13 杨淑芳, 王玉君. 2型糖尿病性脂肪肝瘦素等相关因素的分析. *中国实用内科杂志* 2005; 25: 625-627
- 14 姚定国, 项柏康, 杨建锋, 陈芝芸. 2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝患者血清瘦素与胰岛素抵抗的关系. *中国糖尿病杂志* 2006; 14: 331-332
- 15 于晓静, 王晓梅, 冯海娟. 2型糖尿病合并脂肪肝危险因素临床分析. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2977-2979
- 16 Leite NC, Salles GF, Araujo AL, Villela-Nogueira CA, Cardoso CR. Prevalence and associated factors of non-alcoholic fatty liver disease in patients with type-2 diabetes mellitus. *Liver Int* 2009; 29: 113-119

#### ■同行评价

本研究选题有新意, 研究手段成熟, 结论基本可靠, 对进一步探讨糖尿病合并脂肪肝有一定指导意义。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序. 提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码. 文中如列作者姓名, 则需在“Pang *et al*”的右上角注角码; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上角注角码. 如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣 *et al*<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献, 包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>). 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页. (科学编辑: 李军亮 2009-09-18)