

脂糖代谢疾病

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001883

黑皮质素受体 4 基因 rs17782313 位点基因多态性与
减重手术治疗肥胖症患者的减重效果的关系刘冰阳¹, 王 勇², 刘 聪¹, 李 玲¹

(1. 中国医科大学附属盛京医院内分泌科, 沈阳 110004; 2. 中国医科大学附属第四医院普外科, 沈阳 110000)

【摘要】目的:研究我国北方汉族肥胖症患者黑皮质素受体 4(melanocortin-4 receptor, MC4R) 基因的 rs17782313 位点基因多态性对腹腔镜 Roux-en-Y 胃旁路术(laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass, LRYGB)减重效果的影响。**方法:**回顾性分析中国医科大学附属盛京医院 2011 年 1 月至 2013 年 12 月收治的 81 例病态性肥胖接受 LRYGB 治疗的患者临床资料, 提取患者外周血 DNA, PCR 扩增目的基因后应用直接测序法, 对 rs17782313 位点基因型进行检测。根据基因型分组: 风险基因携带组和非携带组, 比较分析 2 组代谢指标、体质指数(body mass index, BMI), 多余体重减少率(excess weight loss, EWL)等术后变化, 评价该基因对减重效果的影响。**结果:**①rs17782313 位点的 3 种基因型 TT、TC、CC, 基因频率分别为 50.62%(41 例)、35.80%(29 例)、13.58%(11 例)。②不同基因型的各组间, 体质量、BMI、血脂、空腹血糖、糖化血红蛋白等指标无明显差异。③风险基因携带者术后 BMI、EWL 下降少于非携带者, 但未达到统计学差异(女性患者 BMI 术后 6 个月 $P=0.296$, 12 个月 $P=0.179$; EWL $P=0.139$, 0.094。男性患者 BMI 术后 6 个月 $P=0.295$, 12 个月 $P=0.072$; EWL $P=0.106$, 0.077)。**结论:**MC4R 基因 rs17782313 位点 C 等位基因(风险基因)携带者与非携带者的减重效果相似。

【关键词】黑皮质素受体 4; 基因多态性; 肥胖; 减重效果

【中图分类号】R589.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2018-10-11

Association of melanocortin-4 receptor gene rs17782313 polymorphism with
weight loss after bariatric surgery in obese patientsLiu Bingyang¹, Wang Yong², Liu Cong¹, Li Ling¹

(1. Department of Endocrinology, Shengjing Hospital of China Medical University;

2. Department of General Surgery, No.4 Hospital of China Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the influence of melanocortin-4 receptor(MC4R) gene rs17782313 polymorphism on the weight-reducing effect of laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass(LRYGB). **Methods:** A retrospective analysis was performed for the clinical data of 81 patients with morbid obesity who were admitted to Shengjing Hospital of China Medical University from January 2011 to December 2013 and underwent LRYGB. Peripheral blood DNA was extracted, the target gene was amplified by PCR, and then direct sequencing was used to determine the genotype of rs17782313. According to the genotype, the patients were divided into risk gene group and non-risk gene group, and the two groups were compared in terms of the changes in metabolic indices, body mass index (BMI), and excess weight loss (EWL) after surgery. **Results:** The frequencies of TT, TC, and CC genotypes of rs17782313 were 50.62% (41 patients), 35.80% (29 patients), and 13.58% (11 patients), respectively. There were no significant differences between the patients with different genotypes in body weight, BMI, blood lipids, fasting blood glucose, and glycosylated hemoglobin. The non-risk gene group had slightly greater reductions in BMI and EWL than the risk gene group at 6 and 12 months after surgery (BMI in female patients: $P_{6\text{ months}}=0.296$, $P_{12\text{ months}}=0.179$; EWL in female patients: $P_{6\text{ months}}=0.139$, $P_{12\text{ months}}=0.094$; BMI in male patients: $P_{6\text{ months}}=0.295$, $P_{12\text{ months}}=0.072$; EWL in male patients: $P_{6\text{ months}}=0.106$, $P_{12\text{ months}}=0.077$). **Conclusion:** The patients who carry C allele(risk gene) in MC4R rs17782313 have a similar weight loss as those who do not carry this allele.

【Key words】melanocortin-4 receptor; gene polymorphism; obesity; weight loss

近年来,随着经济的快速发展和国人们生活习

惯的改变,我国肥胖症发病率逐年上升。肥胖症是一种复杂慢性疾病,是由遗传、环境、行为等多方面因素引起。对于病态性肥胖症患者,减重手术是最有效的治疗方法^[1]。目前多项研究已证实减重手术不仅能长期控制体质量,而且可以显著改善肥胖伴

作者介绍:刘冰阳, Email: 1191by@163.com,

研究方向: 2 型糖尿病和肥胖的基础和临床研究。

通信作者: 李 玲, Email: lililing@sj-hospital.org。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20181031.0956.004.html>

(2018-11-01)

随的并发症,如高血压、2 型糖尿病、呼吸睡眠暂停综合征等^[2]。但是,有研究显示,仍有 20%~30% 的患者在减重术后体质量下降程度并不理想^[3-4]。

遗传因素可通过摄食行为、昼夜节律、能量代谢等多方面影响肥胖的发生^[5]。全基因组关联分析 (genome wide association study, GWAS) 研究,通过分析减重手术的减重效果与肥胖相关基因位点单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNPs) 的关系,发现遗传因素影响减重手术引起的体质量下降程度^[6-7]。不同研究证实,黑皮质素受体 4 (melanocortin-4 receptor, MC4R) 基因的 rs17782313 位点 SNP 与肥胖症的发生相关^[8-9]。该基因多态性对减重手术效果的影响尚存在争议^[10-11]。目前,国内尚无在北方汉族人群中关于 MC4R 基因 SNP 与减重手术后减重效果的研究。本研究通过回顾性分析我院 2011 年 1 月至 2013 年 12 月收治的 81 例病态性肥胖症患者临床资料,旨在评价 MC4R 基因 rs17782313 位点 SNP 对腹腔镜 Roux-en-Y 胃旁路术 (laparoscopic Roux-en-Y gastric bypass, LRYGB) 减重效果的影响。

1 对象与方法

1.1 一般资料

本研究收集 2011 年 1 月至 2013 年 12 月中国医科大学附属盛京医院普外科行 LSG 的肥胖患者 81 例,其中女性 51 例 (63.0%), 年龄 21~64 岁, 平均年龄 35.7 岁, 体质指数 (body mass index, BMI) 为 32.69~60.91 kg/m², 平均 BMI 为 39.04 kg/m²。纳入标准: 年龄 20~65 岁; BMI ≥ 32.5 kg/m²; 完善术前检查, 肝肾功能检查无明显异常; 血压维持在 70~110/90~160 mmHg。排除标准: 明确诊断 1 型糖尿病; 继发性肥胖; 胰岛 B 细胞功能基本缺失, 血清 C 肽水平 < 0.50 nmol/L 且糖负荷下 C 肽的释放曲线低平; 滥用药物成瘾或酒精成瘾; 智力障碍, 行为不可控制; 自身基础较差, 无法耐受手术; 合并严重的糖尿病并发症。本研究通过中国医科大学附属盛京医院伦理委员会审批, 患者及家属均充分知情并签署知情同意书。

1.2 术前评估与手术方法

手术适应证: ①病态性肥胖症 (BMI ≥ 32.5 kg/m²) 且合并下列之一内科疾病, 如 2 型糖尿病、高血压、脂肪肝、血脂异常; ②年龄 18~65 岁; ③非手术方式治疗 1 年以上疗效不佳; ④排除其他内分泌系统的疾病, 如甲状腺功能低下、库欣综合征等; ⑤无酒精或药物依赖; ⑥无主要器官功能严重异常, 且耐受手术者; ⑦了解手术风险并有承受能力。术前详细询问病史, 完善指南推荐的相关检查, 排除继发性肥胖^[12]。手术由同一个手术团队完成。手术方法: 麻醉成功后, 取分腿仰卧位。建立气腹, 悬吊肝脏。于胃左动脉第 1 与第 2 分支处锐性

游离胃壁。用切割闭合器将胃近端与远端离断建立胃小囊, 控制胃小囊容积为 30 mL。距 Treitz 韧带 100~120 cm, 用腹腔镜切割闭合器离断空肠, 将小肠远端提至胃小囊前壁进行吻合, 缝合吻合口。注射美蓝检测吻合口无渗漏。沿胃空肠吻合口向下约 100 cm 处空肠与被离断的空肠近端行侧侧吻合。关闭空肠与空肠吻合之间的肠系膜裂孔及 Peterson 裂孔以防止腹内疝形成, 于吻合口后留置引流管 1 根, 逐层缝合。

1.3 标本采集与检测

1.3.1 体格测量 测量患者术前的身高、体质量、腰围、臀围, 计算 BMI、腰臀比 (waist hip ratio, WHR)。由规范化培训的医师对患者进行身高 (height, H)、体质量 (weight, W)、腰围 (waist circumference, WC)、臀围 (hip circumference, HC) 的测量。测量身高时, 患者赤足直立测量。测量体质量时, 患者穿轻薄的衣物, 测量晨起空腹时的体质量。测量腰围时, 呼气末用无伸缩性皮尺测第 12 肋下缘与髂嵴连线中点的周径。测量臀围时, 测臀部向后最突出部位的水平围度。

1.3.2 血生化指标检测 测定空腹血糖、血脂、糖化血红蛋白。患者于采血前一日 20:00 禁食水, 采血当日 7:00~8:00 抽取空腹静脉血。血液标本于采集后 1 h 内离心, 酶法检测血清甘油三酯 (triglycerides, TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein-cholesterol, LDL-c)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein-cholesterol, HDL-c); 葡萄糖氧化酶法测定空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG), 应用高效液相色谱法检测糖化血红蛋白 (HbA1C)。

1.3.3 DNA 提取 抽取外周静脉血 2~3 mL, 应用宝生物工程公司的通用基因组 DNA 提取试剂盒提取全血 DNA, 测得 DNA 浓度大于 20 ng/mL 为合格测序样品。

1.3.4 rs17782313 位点多态性检测 由上海生工生物工程有限公司提供 rs17782313 位点的扩增引物, 上游引物: 5'-TAAGGGCATAAGCAAGTTCTAC-3'; 下游引物: 5'-TCCCA-GATGCTAAAATGATACT-3', 采用 3730 测序列分析仪 (美国 ABI 公司), 根据 Sanger 双脱氧法测序原理, 测序后所得序列通过 Chromas2 软件进行核对分析, 并人工核对碱基判读结果, 减少误差。

1.4 术后随访及观察指标

术后随访由中国医科大学附属盛京医院减重管理师, 根据患者的手术日期, 通过电话回访, 告知患者术后注意事项。数据收集结合电话回访和门诊复查, 测量患者术后 6 个月、1 年的体质量, 计算 BMI 和多余体质量减少率 (excess weight loss, EWL)。随访时间截至 2014 年 12 月。

1.5 统计学分析

应用 SPSS 22.0 统计软件进行分析, 检验各组变量正态分布情况, 偏态变量经过自然对数转换后分析。所有计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 *t* 检验; 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

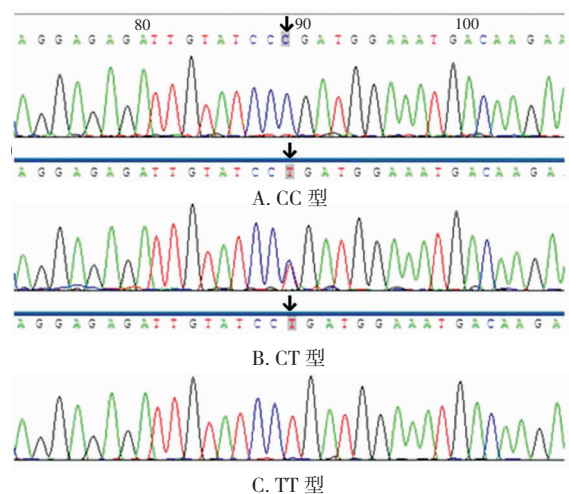
2 结果

2.1 MC4R 基因 rs17782313 位点等位基因和基因型分布频率 对 PCR 产物 Sanger 法直接测序和分型结果显示, MC4R

基因 rs17782313 位点存在 3 种基因型 TT、TC、CC。如图 1 所示。T 等位基因的基因频率为 68.72%, C 等位基因(风险等位基因)的基因频率为 31.28%。TT、TC、CC 基因型频率女性患者分别为 49.02%、39.22%、11.76%; 男性患者分别为 53.33%、30.00%、16.67%。MC4R 基因型在不同性别中的分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律, 具有人群代表性。由于 CC 基因型患者数量较少, 故将患者分为 TT 基因型组和 TC+CC 基因型组, 进行接下来的分析比较。

2.2 不同基因型的临床相关指标及减重效果

在不同性别中, 风险基因携带组(TC+CC 组)与非携带组(TT 组)的体质量、BMI、WHR、空腹血糖、血脂等基线指标无统计学差异(表 1、表 2)。在术后随访 6 个月时, 无论是 BMI、EWL, 在各组间均无统计学差异。随着术后随访时间的延长, 术后 1 年, 不同性别患者中, rs17782313 位点 C 等位基因携带者的 EWL 下降呈现低于非携带者的趋势, 但差异无统计学意义。



黑皮质素受体 4(MC4R)基因 rs17782313 位点(箭头所示)

图 1 Sanger 测序结果

表 1 女性患者 MC4R 基因 rs17782313 不同基因型的临床资料及随访结果

项目		TT组 (n=25)	TC+CC组 (n=26)	t 值	P 值
年龄(岁)		37.50 ± 13.90	38.00 ± 12.60	9.172	0.533
体质量(kg)	基线	99.58 ± 20.95	103.92 ± 28.38	57.905	0.412
BMI(kg/m ²)	基线	36.41 ± 4.07	38.54 ± 6.08	0.893	0.092
WC(cm)	基线	114.3 ± 17.10	121.10 ± 28.80	94.529	0.109
HC(cm)	基线	120.60 ± 9.20	119.90 ± 21.70	-15.31	0.615
WHR	基线	0.95 ± 0.09	1.01 ± 0.13	0.525	0.368
TG(mmol/L)	基线	1.76 ± 0.69	1.82 ± 0.66	0.304	0.294
LDL-C(mmol/L)	基线	1.98 ± 0.72	2.73 ± 1.30	1.857	0.089
HDL-C(mmol/L)	基线	1.89 ± 0.91	1.54 ± 0.65	1.379	0.075
FPG(mmol/L)	基线	7.15 ± 2.82	8.03 ± 2.96	4.194	0.316
HbA1c(%)	基线	6.80 ± 1.17	7.06 ± 1.03	1.635	0.351
BMI(kg/m ²)	术后 6 月	29.94 ± 3.53	32.70 ± 5.81	20.431	0.296
	术后 12 月	26.03 ± 4.19	28.66 ± 4.77	18.046	0.179
EWL(%)	术后 6 月	52.04 ± 17.46	47.68 ± 14.09	-24.013	0.139
	术后 12 月	67.28 ± 25.19	59.73 ± 20.16	-9.026	0.094

表 2 男性患者 MC4R 基因 rs17782313 不同基因型的临床资料及随访结果

项目		TT组 (n=16)	TC+CC组 (n=14)	t 值	P 值
年龄(岁)		35.13 ± 5.96	30.86 ± 7.93	-0.270	0.097
体质量(kg)	基线	121.63 ± 24.98	127.61 ± 34.73	45.184	0.102
BMI(kg/m ²)	基线	38.41 ± 6.19	39.96 ± 7.38	16.792	0.473
WC(cm)	基线	135.33 ± 20.95	129.33 ± 15.76	3.017	0.084
HC(cm)	基线	137.50 ± 18.48	130.00 ± 23.81	12.417	0.146
WHR	基线	0.98 ± 0.06	1.00 ± 0.07	0.591	0.531
TG(mmol/L)	基线	2.37 ± 1.28	3.52 ± 2.42	-1.988	0.064
LDL-C(mmol/L)	基线	3.04 ± 1.69	3.91 ± 2.00	-2.034	0.140
HDL-C(mmol/L)	基线	1.24 ± 0.70	1.00 ± 0.52	0.662	0.251
FPG(mmol/L)	基线	7.85 ± 3.44	7.80 ± 3.73	-1.271	0.562
HbA1c(%)	基线	8.08 ± 2.41	7.13 ± 1.30	-0.492	0.248
BMI(kg/m ²)	术后 6 月	33.04 ± 7.57	35.83 ± 6.73	26.109	0.295
	术后 12 月	29.08 ± 4.82	30.48 ± 5.67	19.463	0.072
EWL(%)	术后 6 月	53.09 ± 20.45	51.06 ± 15.96	-8.274	0.106
	术后 12 月	69.37 ± 24.08	72.89 ± 28.13	38.031	0.077

3 讨论

本文首次回顾性分析北方汉族肥胖症患者 MC4R 基因 rs17782313 位点 SNP 对 LRYGB 术后减重效果的影响。结果发现本研究中男性患者的 BMI 明显高于女性患者,而 2 组不同基因型的基因频率无差异,故按照不同性别分析评价 LRYGB 术后 BMI、EML 的变化。

在本研究对象中,风险等位基因(TC+CC 基因型)基因频率为 31.28%,与 1 项日本女性人群研究相近,该研究中携带至少 1 个 C 基因的人数占 38.6%^[13]。然而本研究测得的 C 基因携带率低于欧洲人和巴西人为研究对象的发现,研究显示欧洲人群 C 基因频率为 42%^[14],而巴西人群 C 基因频率为 39.7%~48%^[11,15]。C 基因频率的差异可能与入种有关,也可能与本研究的对象均为重度肥胖患者有关。

通过对风险基因携带者的代谢指标分析发现,虽然 C 基因携带者的空腹血糖、甘油三酯、低密度胆固醇等均高于非携带者,但差异无统计学意义。这与 Resende 等^[11]针对 141 名重度肥胖女性的研究发现一致,该研究证实虽然风险基因携带者的肥胖合并症更重,但代谢相关指标、体力活动评估情况跟非携带者相似。然而,前人的研究发现 MC4R 基因的 C 等位基因携带者高血糖症风险升高^[13],且具有更高的空腹血糖水平^[15]。先前的研究对象基线指标与本研究差异较大,可能导致上述差异出现。

通过比较不同基因型的减重效果发现,尽管风险基因携带者 BMI、EWL 的下降慢于非携带者,但该差异并不具有统计学意义。1 项随访长达 5 年的研究发现,减重术后 6 个月、9 个月、1 年时,C 基因携带者的 EWL 明显低于非携带者;在术后 2~5 年,EWL 在风险基因组和非携带组的差异消失,可能与 C 基因携带者 BMI 的增加速度更慢有关^[11]。Valette 等^[10]研究发现,MC4R 基因的功能性突变或 SNP 均不影响减重手术后体质量下降的幅度。上述差异,可能与本研究的样本量较少、随访时间短、无病例对照研究等原因。

本研究通过评估不同基因型患者接受 LRYGB 后的减重效果,初步得出以下结论:MC4R 基因 rs17782313 位点 C 等位基因携带者与非携带者的减重效果相似。鉴于研究对象样本量较小,本研究仍需要扩大样本量、延长随访时间、设置配对病例对照等方法进行重复分析,以得到更全面的评价结果。

参考文献

- [1] Garvey WT, Mechanick JL, Brett EM, et al. American Association of Clinical Endocrinologists and American College of Endocrinology Comprehensive Clinical Practice Guidelines for medical care of patients with obesity[J]. *Endocr Pract*, 2016, 22(s3): 1-203.
- [2] Cefalu WT, Bray GA, Home PD, et al. Advances in the science, treatment, and prevention of the disease of obesity: reflections from a diabetes care editors' expert forum[J]. *Diabetes Care*, 2015, 38: 1567-1582.
- [3] Brethauer SA, Kothari S, Sudan R, et al. Systematic review on re-operative bariatric surgery: American Society for Metabolic and Bariatric Surgery Revision Task Force[J]. *Surg Obes Relat Dis*, 2014, 10(5): 952-972.
- [4] Cooper TC, Simmons EB, Webb K, et al. Trends in weight regain following Roux-en-Y gastric bypass (RYGB) bariatric surgery[J]. *Obes Surg*, 2015, 25(8): 1474-1481.
- [5] Locke AE, Kahali B, Berndt SI, et al. Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology[J]. *Nature*, 2015, 518(7538): 197-206.
- [6] Hatoun IJ, Greenawald DM, Cotsapas C, et al. Heritability of the weight loss response to gastric bypass surgery[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2011, 96: 1630-1633.
- [7] Velázquez-Fernández D, Mercado-Celis G, Flores-Morales J, et al. Analysis of gene candidate SNP and ancestral origin associated to obesity and postoperative weight loss in a cohort of obese patients undergoing RYGB[J]. *Obes Surg*, 2017, 27(6): 1481-1492.
- [8] Loos RJF, Lindgren CM, Li S, et al. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity[J]. *Nat Genet*, 2008, 40: 768-775.
- [9] Tan K, Pogozheva ID, Yeo GSH, et al. Functional characterization and structural modeling of obesity associated mutations in the melanocortin-4 receptor[J]. *Endocrinol*, 2009, 150: 114-125.
- [10] Valette M, Poitou C, Le Beyec J, et al. Melanocortin-4 receptor mutations and polymorphisms do not affect weight loss after bariatric surgery[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e48221.
- [11] Resende CMM, Durso DF, Borges KBG, et al. The polymorphism rs17782313 near MC4R gene is related with anthropometric changes in women submitted to bariatric surgery over 60 months[J]. *Clin Nutr*, 2018, 37(4): 1286-1292.
- [12] 中华医学会外科学分会内分泌外科学组, 中华医学会外科学分会腹腔镜与内镜外科学组, 中华医学会外科学分会胃肠外科学组, 等. 中国肥胖病外科治疗指南[J]. *中国实用外科杂志*, 2007, 27(10): 759-762.
- [13] Katsuura-Kamano S, Uemura H, Arisawa K, et al. A polymorphism near MC4R gene(rs17782313) is associated with serum triglyceride levels in the general Japanese population: the J-MICC study[J]. *Endocrine*, 2016, 47(1): 81-89.
- [14] Daly K, Cuff MA, Fung F, et al. The importance of colonic butyrate transport to the regulation of genes associated with colonic tissue homeostasis[J]. *Biochem Soc Trans*, 2005, 33(Pt 4): 733e5.
- [15] Fernandes AE, de Melo ME, Fujiwara CT, et al. Associations between a common variant near the MC4R gene and serum triglyceride levels in an obese pediatric cohort[J]. *Endocrine*, 2015, 49(3): 653e8.

(责任编辑:唐秋姗)