

厦门大学医学院硕士学位论文

学校编码: 10384

分类号 \_\_\_\_\_ 密级 \_\_\_\_\_

学号: 24520121153133

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学

硕 士 学 位 论 文

**PNPLA3 基因变异在运动干预非酒精性脂肪肝  
中的作用研究**

**The effect of PNPLA3 polymorphism in the intervention of  
non-alcoholic fatty liver disease**

黄竹锋

指导教师姓名: 杨叔禹 教授

专业名称: 内 科 学

论文提交日期: 2015 年 4 月

论文答辩时间: 2015 年 5 月

学位授予日期: 2015 年 月

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2015 年 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

本人呈交的学位论文是本人在导师指导下,独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考其他个人或集体已经发表的研究成果,均在文中以适当方式明确标明,并符合法律规范和《厦门大学研究生学术活动规范(试行)》。

另外,该学位论文为( )课题(组)的研究成果,获得( )课题(组)经费或实验室的资助,在( )实验室完成。(请在以上括号内填写课题或课题组负责人或实验室名称,未有此项声明内容的,可以不作特别声明。)

声明人(签名):

年 月 日

## 厦门大学学位论文著作权使用声明

本人同意厦门大学根据《中华人民共和国学位条例暂行实施办法》等规定保留和使用此学位论文，并向主管部门或其指定机构送交学位论文（包括纸质版和电子版），允许学位论文进入厦门大学图书馆及其数据库被查阅、借阅。本人同意厦门大学将学位论文加入全国博士、硕士学位论文共建单位数据库进行检索，将学位论文的标题和摘要汇编出版，采用影印、缩印或者其它方式合理复制学位论文。

本学位论文属于：

（        ） 1. 经厦门大学保密委员会审查核定的保密学位论文，于  
年    月    日解密，解密后适用上述授权。

（        ） 2. 不保密，适用上述授权。

（请在以上相应括号内打“√”或填上相应内容。保密学位论文应是已经厦门大学保密委员会审定过的学位论文，未经厦门大学保密委员会审定的学位论文均为公开学位论文。此声明栏不填写的，默认为公开学位论文，均适用上述授权。）

声明人（签名）：

年    月    日

厦门大学博硕士学位论文摘要库

# 摘要

## 研究目的

运动是治疗非酒精性脂肪性肝疾病的一个重要方法，而脂肪滋养蛋白基因（PNPLA3）是非酒精性脂肪性肝疾病的一个重要的基因遗传因子。本研究的目的是为了探讨脂肪滋养蛋白基因的多态性表达是否影响到运动干预非酒精性脂肪性肝疾病的过程。

## 研究方法

本研究共招募 40-65 岁中心性肥胖受试者 1059 人，进行常规体检，并运用彩超检测脂肪肝。并随机抽取 476 名肥胖受试者进行  $^1\text{H-MRS}$  对其肝内甘油三酯进行定量测定。在这 476 名肥胖受试者中，随机抽取 220 人分为三组，强化运动组（先进行 6 个月的强化运动期，然后转入常规运动期），对照组（常规的健康教育），常规运动组（快步行走 12 个月）。随后进行为期一年的随访，随访内容包括病史和生活方式等信息调查、测量人体形态学指标、进行腹部超声检查、测定生化指标以及进行胰岛功能评估。同时受试者进行肝内甘油三酯含量（IHTC）、内脏脂肪含量及体脂率的测定，分析三组人员的不同脂肪滋养蛋白基因（PNPLA3）与相关代谢指标在随访过程中的变化程度。

## 研究结果

一、在这阶段的研究分析发现：1.在 1059 肥胖患者中，NAFLD 的患病率约 56.28%，男性 NAFLD 的患病率比女性高出近 20%。NAFLD 与 Non-NAFLD 相比，除 LDL 外，各项指标均有明显统计学差异。2.将 PNPLA3-rs738409 SNPS 进行基因型分组比较后发现，三组基因型不同的受试者只在 NAFLD 的患病率上有统计学差异（ $P=0.021$ ）。进一步进行 Logistic 回归分析发现，在校正了多项相关指标后，PNPLA3-rs738409 SNPS（GG 型）NAFLD 患病的风险提高近 46% [OR（95% CI）；1.464（1.192-1.798）， $p<0.001$ ， $c=0.827$ ]。3.在随机选取的 476 名肥胖受试者进行 IHTC

的定量分析后发现。不同基因型，只在 IHTC 水平中存在统计学差异，而在内脏脂肪水平及胰岛素抵抗水平则无显著差异。4. 进一步的，我们对肝内甘油三酯含量与各项指标（包括 PNPLA3- rs738409 基因多态性）进行相关性分析及逐步回归分析。PNPLA3-rs738409 基因多态性、血清甘油三酯、HOMA-IR、舒张压及内脏脂肪面积均为肝内甘油三酯含量的独立影响因素。（ $p$  均 $<0.05$ ）

二、在本阶段的随访研究中，1.在 6 个月及 12 个月的随访中，携带 GG 型运动组的受试者 IHTC 下降程度优于携带对照组受试者，且差异明显（6 个月：-12.0% vs. -3.9%，12 个月：-8.7% vs. -3.3%； $p$  均 $<0.05$ ）。2. 在 6 个月及 12 个月内脏脂肪面积的观测中，携带 GG 型运动组的受试者内脏脂肪面积下降程度优于携带对照组受试者，而在皮下脂肪面积 6 个月的随访中也有同样的结论，但 12 个月时，这种差异并不显著。3.在 6 个月及 12 个月的总体脂率/量改善方面，三组均未因基因型的不同而有所区别。4.在 6 个月及 12 个月体重观测中，体重的变化并未因基因型的不同而出现差异；而在腰围方面，携带 GG 型的运动组受试者腰围下降程度优于携带 GG 型对照组受试者。5.进一步分析基因型在影响运动干预的作用，基因型与运动干预减低肝内脂肪含量存在交互作用，与内脏脂肪面积、皮下脂肪、腰围和体重变化不存在交互作用。

## 结论

一、本部分的研究在验证了 PNPLA3-rs738409 基因多态性中 GG 型编码 148M/M 变体的人群，具有较高的 NAFLD 患病率，并且独立于年龄、性别、血清甘油三酯、高密度脂蛋白等一系列相关因素。更进一步运用  $^1\text{H-MRS}$  量化肝内脂肪含量，从而证明 PNPLA3-rs738409 基因多态性中，GG 型编码 148M/M 变体人群的肝内甘油三酯含量较 CC 型的人群更高，且 GG 型是 IHTC 的一个独立影响因素。

二、拥有 PNPLA3 rs738409 基因 GG 基因型的患者对运动干预 NAFLD 改变肝内甘油三酯含量的作用更敏感，同时影响运动干预内脏脂肪面积的过程。

**关键词：**非酒精性脂肪肝； PNPLA3；肝内甘油三酯含量；肥胖；运动

## **Abstract**

### **Objective**

Exercise is an important treatment method for the non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), and patatin-like phospholipase 3 (PNPLA3) is one of the most important genetic factor of NAFLD. This study aimed to investigate whether the expression of PNPLA3 polymorphisms effect the process for the exercise intervention of non-alcoholic fatty liver disease.

### **Study design and methods**

This study recruited 1059 40-65 years in central obese subjects who carry out routine physical examination, and the use of ultrasound to detect fatty liver. Then a random sample of 476 obese subjects were 1H-MRS quantitative determination of triglyceride in the liver. This 476 obese subjects also randomly divided into three groups of 220 people randomly, strengthening exercise group (To receive 6 months of intensive exercise period, and then transferred to the normal movement period), the control group (accepting health education), regular exercise (brisk walking for 12 months). For a period of one year follow-up, follow-up investigation information includes history and way of life, human body morphology index measurement; abdominal ultrasound and biochemical markers and measured assessment of islet function. Meanwhile subjects accept intrahepatic triglyceride content (IHTC), visceral fat content and body fat rate determination, to analysis change in the follow-up of two groups of different adiponutrin gene and metabolic index.

### **Results**

First, at this stage of the study found: 1. in 1059 obese patients, NAFLD prevalence rate of about 56.28%, nearly 20% higher prevalence of NAFLD in men than women. Compare patients with NAFLD and Non-NAFLD, the other indexes were significantly statistical except LDL-c. 2. The PNPLA3-rs738409 SNPS genotype group comparison, the three genotype groups of subjects were statistically differences only in the prevalence of NAFLD ( $p=0.021$ ). Further Logistic regression analysis showed that the subjects with PNPLA3-rs738409 SNPS (GG Type), the risk of NAFLD prevalence increased by nearly

15% [OR (95% CI); 1.464 (1.192-1.798),  $P < 0.001$ ,  $c = 0.827$ ], after correcting a number of relevant indicators. 3. In the random selection of 476 obese subjects with IHTC quantitative analysis found: three groups of obese subjects were significantly in weight and IHTC by different genotypes. In CC type group, with IHTC increases, the proportion decreased, while GG type group is the opposite. 4. Further, we perform IHTG content and the other indicators (including PNPLA3-rs738409 polymorphism) correlation analysis and regression analysis. PNPLA3-rs738409 polymorphism, serum triglycerides, HOMA-IR, diastolic blood pressure and visceral fat area were independent factors of IHTC. ( $p < 0.05$ )

Second, at this stage of the follow-up study, 1. in six-month and 12-month follow-up, subjects carrying GG genotype IHTC degree drop in the exercise group than control subjects carrying GG genotype, and the difference was significant (6 months: -12.0% vs. -3.9%, 12-month: -8.7% vs. -3.3%;  $p < 0.05$ ). 2. Observations 6 months and 12 months in visceral fat area, visceral fat area of subjects carrying GG genotype in the exercise group decreased than carrying control subjects, and in the subcutaneous fat area six month follow-up there are also the same conclusion, but at 12 months, this difference was not significant. 3. In the total fat content and total fat of 6 months and 12 months follow-up, the three groups were not different by different genotypes. 4. In the six-month and 12-month weight observations, changes in body weight has not been discrepancies by different genotypes; and in the waist side, subjects carrying GG genotype waist degree drop in the exercise group than control subjects carrying GG genotype; 5. Further analysis of the interaction in this study about genotype, there was an interaction about genotype and exercise intervention reduced IHTC, and there was no interaction in the visceral fat area, subcutaneous fat, waist circumference and body weight.

## Conclusions

First, study in this section to verify the crowd PNPLA3-rs738409 GG genotype polymorphisms in coding 148M / M variant, with a high prevalence of NAFLD, and is independent of age, sex, serum triglycerides, high density lipoprotein and a series of related factors. Furthermore the use of 1H-MRS to quantify liver fat content, thus proving the crowd PNPLA3-rs738409 GG genotype polymorphisms in coding 148M / M variants, higher IHTC than CC type of crowd. And GG genotype is an independent factor of IHTC.

Second, More sensitive to two patients have PNPLA3 rs738409 GG genotype of the gene occurs nonalcoholic fatty liver disease risk is high, these patients to exercise



intervention NAFLD changing role of intrahepatic triglyceride content, and at the same effects of exercise interventions visceral fat area.

**Keywords:** Non-alcoholic fatty liver diseases; PNPLA3; intrahepatic triglyceride contents; obesity; exercise

厦门大学博硕士论文摘要库

# 目 录

摘 要 .....	I
Abstract .....	III
目 录 .....	VI
前 言 .....	1
第一部分 PNPLA3 基因多态性与非酒精性脂肪性肝病及肝脏脂肪含量的 关系探讨 .....	3
1.1 研究背景 .....	3
1.2 研究方法 .....	4
1.3 研究结果 .....	10
1.4 讨论 .....	19
第二部分 PNPLA3 基因多态性与在运动干预非酒精性脂肪肝中的作用研 究 .....	22
2.1 研究背景 .....	22
2.2 研究方法 .....	22
2.3 研究结果 .....	27
2.4 讨论 .....	47
第三部分 总结及展望 .....	50
参考文献 .....	51
英文缩略词表 .....	55
致 谢 .....	57

## Contents

<b>1. Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Chapter 1 The relationship between PNPLA3 and non-alcoholic fatty liver disease</b> .....	<b>3</b>
2.1 Research background .....	3
2.2 Research methods .....	4
2.3 Research results .....	10
2.4 Discussion .....	19
<b>3. Chapter 2 The relationship between PNPLA6 and NAFLD treatment by exercise</b> .....	<b>22</b>
3.1 Research background .....	22
3.2 Research methods .....	22
3.3 Research results .....	27
3.4 Discussion .....	47
<b>4. Summary and prospect</b> .....	<b>50</b>
<b>References</b> .....	<b>51</b>
<b>Abbreviation</b> .....	<b>55</b>
<b>Acknowledgement</b> .....	<b>57</b>

厦门大学博硕士学位论文摘要库

## 前言

非酒精性脂肪性肝病（NAFLD）是代谢综合征在肝脏的表现，并且是全球最常见的导致肝生化异常的一种疾病<sup>[1, 2]</sup>。而 NAFLD 患者的逐步演变过程包括单纯性脂肪肝、脂肪性肝炎（NASH）、NASH 相关性纤维化、最终进展为肝细胞癌<sup>[3-5]</sup>。由于代谢综合征、生活方式包括饮食及运动的干预都与 NAFLD 息息相关，因此对这些重要因素的干预可能降低转氨酶，改善肝内脂肪变性及 NAFLD 组织学的严重程度<sup>[6-8]</sup>。虽然 NAFLD 的改善与体重的减轻程度成正比，但仍有其他一些因素可以用来预测 NAFLD，比如生活方式的干预及遗传等。

单核苷酸多态性（SNP）主要是指在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的 DNA 序列多态性。根据前人的研究，基因关联研究可以分为 2 大类：（1）基于家系基础的研究；（2）候选基因与全基因组关联研究（GWAS）。GWAS 是一个强大的、系统的方法用于测试所有常见变异在人类基因组中和多态性之间的关系，如疾病、药物反应、药理毒性等。GWAS 只能够识别一个地区内的基因与表型相关。而因果或功能多态性的识别需要遵循额外的研究。一个好的 GWAS 需要严格阈值的统计意义，多个测试校正，和一个较大的、特征明显的队列有足够的效力来检测真正的联系。

另一方面，候选基因的选择需要通过推定或者已知疾病发病机理或者基于基因组和蛋白质组学研究的结果。也可以通过一个病例-对照 SNP 关联研究的观测来进行选择。在候选基因研究的最小成本情况下，单核苷酸多态性的选择数量有限。统计意义的临界值较低，尽管需要经过多重检验进行校正。另一个局限是这些目标性研究很难校正人口分层；由于在子组研究对象中有共同的祖先，因此通过系统的差异，可能创建无效关联。从全基因组基因分型中提取数据，可以用来解决这一问题。

基因多态性与疾病之间的关联不断被发现，但在治疗干预的过程中，基因多态性的作用是否也在发挥作用呢？

本研究在厦门市思明区莲前社区筛选中心性肥胖受试者进行数据分析，拟分两部分探讨 PNPLA3 的基因多态性在运动干预 NAFLD 过程中的作用研究。首先，分析及探讨肥胖人群 PNPLA3 的基因多态性与 NAFLD 的关系；并通过氢质子磁共振波谱技术

(<sup>1</sup>H-MRS) 检测部分受试者的肝内甘油三酯含量 (IHTC)，进而观测 PNPLA3 的基因多态性是否影响 NAFLD 的严重程度。其次，在氢质子磁共振波谱技术 (<sup>1</sup>H-MRS) 检测的部分受试者中，随机分位运动组及对照组，进行定期随访检测。对比两组的随访数据，在运动干预 NAFLD 的过程中，PNPLA3 的基因多态性不同分型是否会影响干预效果。

厦门大学博硕士论文摘要库

## 第一部分 PNPLA3 基因多态性与非酒精性脂肪性肝病及肝脏脂肪含量的关系探讨

### 1.1 研究背景

在发达国家及发展中国家，非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 作为一个新的流行病，其发病率不断上升。它的发生发展，跟肥胖、糖尿病等有着很紧密的联系。现在，它不但是预测心血管疾病的一个独立预测指标，更被认为是代谢综合征的一个重要组成部分<sup>[9]</sup>。NAFLD 不仅影响成人，也影响到儿童。事实上，它是小儿肝脏疾病的一个最常见的原因<sup>[10, 11]</sup>。

非酒精性脂肪肝肝组织学特点是从简单的脂肪变性到肝脏过多的脂质积累，它可能进展到非酒精性脂肪肝炎 (脂肪肝炎或 NASH)，它甚至可能在某些情况下发展为肝纤维化、肝硬化，甚至肝癌<sup>[9]</sup>。

非酒精性脂肪肝的病因是多因素的。几个因素可能参与其发展，如营养丰富加上久坐不动的生活方式引起的热量不平衡。然而，遗传因素在非酒精性脂肪肝的发生与发展扮演着一个很重要的角色<sup>[12]</sup>。除了家系，相比中国等东方国家，西方国家如美国和意大利已根据种族对非酒精性脂肪肝发病率进行了记录，并证明了两者之间有显著差异<sup>[11, 13]</sup>。美国人口，在矫正了和酒精摄入量体重指数调整后相较于欧裔美国人，西班牙裔人肝脂肪变性的发病率更高，而非裔美国人患病率则较低<sup>[11]</sup>。南亚印度人群的研究中，非酒精性脂肪肝的发生发展也存在较高风险<sup>[14]</sup>。

这些研究表明，民族差异特别是基因变异，对非酒精性脂肪肝的敏感性可能会发挥作用。2008 年，一个全基因组的研究调查了不同的美国人种中脂肪滋养蛋白基因 (PNPLA3) 的一个单核苷酸多态性 (rs738409) 序列差异表现，并将其作为与肝脏脂肪含量增加有关一个新的遗传标记<sup>[15]</sup>。尽管 PNPLA3-rs738409 这一 SNP 与 NAFLD 的相关性不断被研究验证，但其与 NAFLD 的严重程度，特别是肝内脂肪含量之间的相关性，仍鲜见报道。因此，本研究通过对厦门市思明区莲前社区筛选的肥胖人群进行资料收集及数据分析，以求进一步探讨及比较肥胖人群 PNPLA3-rs738409 这一 SNP 与 NAFLD 的相关性并定量分析其与肝内脂肪含量的具体关系。

## 1.2 研究方法

### 一、社区人群资料收集

#### 1. 研究对象

在厦门思明区莲前街道招募肥胖受试者共 1059 名，年龄：40-65 岁。肥胖定义：男性腰围 $\geq 90$  厘米；女性腰围 $\geq 85$  厘米。其中，475 名肥胖受试者同时接受了磁共振质子波谱测定肝内脂肪含量 ( $^1\text{H-MRS}$ )。

本研究征得厦门大学附属第一医院伦理委员会的批准。

#### 2. 入选标准

- (1) 选取年龄处于 40-65 周岁之间；
- (2) 腰围定义：男性 $\geq 90\text{cm}$ , 女性 $\geq 85\text{cm}$ ；
- (3) 饮酒量：男性每日饮用乙醇 $< 20\text{g}$ (每周 $< 140\text{g}$ )，女性每日饮用乙醇 $< 10\text{g}$ (每周 $< 70\text{g}$ )；
- (4) 自愿参加及签署知情同意书。

#### 3. 排除标准

- (1) 排除有糖尿病史和心肌梗死病史者；
- (2) 排除继发性引起脂肪肝和肝酶增高的其他肝病，如：自身免疫性肝病、急慢性病毒性肝炎、肝硬化、肝癌等；
- (3) 排除伴随全身性疾病的继发性脂肪性肝病及影响糖脂代谢的其他疾病，如：炎症性肠病、垂体前叶功能减退、脂肪萎缩症、Cushing 综合征、甲状腺功能亢进或减退症、恶性肿瘤、阻塞性胆道系统疾病、全肠外营养等；
- (4) 除外服用可能导致脂肪肝的药物：如：糖皮质激素、合成雌激素、丙戊酸钠、胺碘酮、三苯氧胺等。

## 二、检查指标

### 1. 检查内容

- (1) 基本情况调查：包括疾病史、用药史、家族史、烟酒史、体力活动情况、饮食问卷等；
- (2) 人体形态学测量：身高、腰围、臀围、体重、血压等；
- (3) 生化指标检测：空腹血糖、OGTT 两小时血糖、甘油三酯、TC、LDL - c、HDL - c、肝功能、肾功能；



Degree papers are in the “[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)”.

Fulltexts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.