

# MCP-1 基因-2518A/G 与 GPx-1 基因 Pro198Leu 多态性的交互作用与非酒精性脂肪性肝病的关系

张超贤<sup>1\*</sup>, 郭李柯<sup>2</sup>, 秦咏梅<sup>1</sup>, 李光艳<sup>1</sup>

(新乡医学院第一附属医院 1.消化内科, 2. 口腔科, 河南 卫辉 45310)

**摘要:**【目的】探讨单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)基因-2518A/G 与谷胱甘肽过氧化物酶-1(GPx-1)基因 Pro198Leu 多态性的交互作用及其与非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)的关系。【方法】采用病例-对照研究的方法,以 NAFL、NASH、NAFHC 患者及健康对照者各 600 例的外周血白细胞为样本,利用聚合酶链反应(PCR)技术分析了 MCP-1 基因-2518A/G 和 GPx-1 基因 Pro198Leu 多态性。【结果】-2518A/G (GG)基因型和 Pro198Leu (LL)基因型频率分布分别为 49.67%和 49.83% (NAFL 组)、63.50% 和 63.50% (NASH 组)、75.17% 和 75.50% (NAFHC 组)及 23.50% 和 23.33% (对照组),上述基因型频率在各病例组与对照组之间有显著差异( $P < 0.01$ )。-2518A/G (GG)基因型患 NAFLD 的风险显著增加( $OR_{NAFL} = 3.21$ ;  $OR_{NASH} = 5.66$ ;  $OR_{NAFHC} = 9.85$ )。Pro198Leu(LL)基因型者患 NAFLD 的风险也显著增加( $OR_{NAFL} = 3.26$ ;  $OR_{NASH} = 5.72$ ;  $OR_{NAFHC} = 10.13$ )。基因突变的协同分析发现-2518A/G (GG)/ Pro198Leu (LL)基因型者在 NAFL、NASH、NAFHC 组和对照组中的分布频率分别为 39.17%、53.17%、65.33%和 12.17%,经  $\chi^2$  检验有统计学差异( $P < 0.01$ )。-2518A/G (GG)/ Pro198Leu (LL)基因型者患 NAFLD 的风险显著增加( $OR_{NAFL} = 5.30$ ;  $OR_{NASH} = 10.91$ ;  $OR_{NAFHC} = 23.92$ )。-2518A/G (GG)和 Pro198Leu (LL)基因型有交互作用( $\gamma_{1 NAFL} = 3.50$ ,  $\gamma_{2 NAFL} = 3.37$ ;  $\gamma_{1 NASH} = 4.79$ ,  $\gamma_{2 NASH} = 4.72$ ;  $\gamma_{1 NAFHC} = 6.19$ ,  $\gamma_{2 NAFHC} = 5.90$ )。【结论】-2518A/G (GG)和 Pro198Leu (LL)基因型均是 NAFLD 的易患因素,基因多态性的交互作用增加了 NAFLD 的发病风险。

**关键词:** 非酒精性脂肪性肝病;单核细胞趋化蛋白-1 基因-2518A/G;谷胱甘肽过氧化物酶-1(GPx-1)基因 Pro198Leu;多态现象

中图分类号:R57

文献标志码:A

文章编号:1672-3554(2015)05-0739-06

## Interaction of Polymorphisms of MCP-1 Gene -2518A/G and GPx-1 Gene Pro198 Leu in Nonalcoholic Fatty Liver Disease

ZHANG Chao-xian<sup>1\*</sup>, GUO Li-ke<sup>2</sup>, QIN Yong-mei<sup>1</sup>, LI Guang-yan<sup>1</sup>

(1.Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, China;

2.Department of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, China)

Corresponding to: ZHANG Chao-xian, g75zh@aliyun.com

**Abstract:** 【Objective】To investigate the interaction of polymorphisms of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene -2518A/G and glutathione peroxidase-1 (GPx-1) gene Pro198Leu in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). 【Methods】The genetic polymorphisms of MCP-1 gene -2518A/G and GPx-1 gene Pro198Leu were analyzed by polymorphism-polymerase chain reaction (PCR) technique in peripheral blood leukocytes of 600 NAFL, 600 NASH and 600 NAFHC cases and 600 healthy persons. 【Results】The frequencies of -2518A/G (GG) and Pro198Leu (LL) were 49.67% and 49.83% in NAFL cases, 63.50% and 63.50% in NASH cases, 75.17% and 75.50% in NAFHC cases and 23.50% and 23.33% in healthy controls respectively. Statistical tests showed significant difference in the frequencies between case group and control group ( $P < 0.01$ ). The risk of NAFLD with -2518A/G (GG) was significantly higher than those of controls ( $OR_{NAFL} = 3.21$ ;  $OR_{NASH} = 5.66$ ;  $OR_{NAFHC} = 9.85$ ). The individuals who carried with Pro198Leu (LL) had a high risk of NAFLD ( $OR_{NAFL} = 3.26$ ;  $OR_{NASH} = 5.72$ ;  $OR_{NAFHC} = 10.13$ ). Combined analysis of the polymorphisms showed that percentage of -2518A/G (GG)/ Pro198Leu (LL) in NAFL, NASH, NAFHC and control groups was

收稿日期:2015-01-04

基金项目:河南省教育厅科研基金资助项目(No.2011A320015)

作者简介: \* 通信作者:张超贤,副主任医师,副教授,研究方向:慢性肝病的分子生物学基础研究, E-mail: g75zh@aliyun.com

39.17%, 53.17%, 65.33% and 12.17%, respectively ( $P < 0.01$ ). The people who carried with -2518A/G (GG)/ Pro198Leu (LL) had a high risk of NAFLD ( $O_{\text{NAFL}} = 5.30$ ;  $OR_{\text{NASH}} = 10.91$ ;  $OR_{\text{NAFHC}} = 23.92$ ), and statistical analysis suggested a positive interaction between -2518A/G (GG) and Pro198Leu (LL) in increasing the risk of NAFLD ( $\gamma_1_{\text{NAFL}} = 3.50$ ,  $\gamma_2_{\text{NAFL}} = 3.37$ ;  $\gamma_1_{\text{NASH}} = 4.79$ ,  $\gamma_2_{\text{NASH}} = 4.72$ ;  $\gamma_1_{\text{NAFHC}} = 6.19$ ,  $\gamma_2_{\text{NAFHC}} = 5.90$ ). 【Conclusion】 -2518A/G (GG) and Pro198Leu (LL) cigarette smoking are the risk factors in NAFLD, and significant interactions between genetic polymorphisms of -2518A/G and Pro198Leu added the risk of NAFLD.

**Key words:** nonalcoholic fatty liver disease; monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene -2518A/G; glutathione peroxidase -1 (GPx-1) gene Pro198Leu; polymorphism

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2015, 36(5): 739-744; 752]

非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) 的确切发病机制目前尚不清楚, 但二次打击学说较为流行, 该学说认为胰岛素抵抗会导致肝脏脂肪沉积, 成为 NAFLD 发病过程中的一次打击, 而在肝脏脂肪沉积基础上所发生的氧化应激和脂质过氧化则形成二次打击, 最终导致 NAFLD 的发生<sup>[1-3]</sup>。单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1) 是一种主要由白色脂肪细胞分泌的重要的炎症趋化刺激因子, 在趋化单核细胞和 T 淋巴细胞, 诱导单核细胞、内皮细胞表达黏附分子, 使各种炎性细胞尤其是单核/巨噬细胞向病变部位聚集的过程中发挥了决定性作用。而这种免疫和炎症过程有可能导致胰岛素抵抗和 NAFLD 的发生和发展<sup>[4]</sup>。谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPx) 不仅具有清除自由基和衍生物的作用, 还与过氧化氢酶 (catalase, CAT), 磷脂氢过氧化物谷胱甘肽过氧化物酶 (phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase, PHGPx) 和谷胱甘肽 S 转移酶 (glutathione S transferase, GST) 构成不同的基质特异性的多水平的还原有机氢过氧化物系统, 减少脂质过氧化物的形成, 增强机体抗氧化损伤的能力, 从而成为 NAFLD 进展的重要控制因素<sup>[5]</sup>。MCP-1、GPx 基因具有多态性, 即具有多个等位基因, 不同的等位基因编码的 MCP-1 或 GPx 活性有差异。MCP-1 或 GPx 基因的多态性可使机体对外界环境 (如吸烟) 的反应能力有所不同, 这是决定机体 NAFLD 易感性的一个重要因素。MCP-1、GPx 基因多态性与 NAFLD 易感性的研究日渐增多, 但尚未见上述基因多态性的联合作用对 NAFLD 易感性影响的报道。为了研究 MCP-1 和 GPx 在当地人群中的分布状态, 进而探索两基因多态性的相互作用与 NAFLD 高发的关系, 我们开展了 MCP-1 和 GPx 联合基因多态性与 NAFLD 易感性关系的研究。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象及相关资料

2010 年 10 月-2014 年 7 月在我院门诊和病房诊治的 NAFLD 患者 1800 例, 其中 NAFL、NASH 和 NAFHC 患者各 600 例, NAFLD 的诊断参照中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组的诊断标准<sup>[6]</sup>。对照组 600 例为健康体检人群, 排除 2 型糖尿病、肥胖、高血压、高脂血症及其他代谢性疾病, 排除饮酒史。4 组在年龄、性别、民族、籍贯和生活习惯统计学处理差异无显著性, 无血缘关系。每人各抽取静脉血 2~3 mL, 置乙二胺四乙酸钠抗凝管, 分离白细胞层。用 QIAampDNA 提取试剂盒 (德国 QIAgen 公司) 提取白细胞 DNA, DNA 置 -30 °C 低温冰箱保存备用。

### 1.2 基因测定

1.2.1 MCP-1 基因-2518A/G 多态性分析 引物序列为: 上游引物 5'-: CCGAGATGTTCCAGCACAG 3', 下游引物 5'-: CTGCTTTGTTTGTGCCTCTT -3', 由上海生工生物技术有限公司合成, PCR 反应体系包括: 反应体系为 50  $\mu$ L, 其中 Premix Taq DNA 聚合酶 Mix 液 (Takara 公司) 25  $\mu$ L, 上下游引物各 1  $\mu$ L (20  $\mu$ mol/L), ddH<sub>2</sub>O 19  $\mu$ L。反应条件为: 95 °C 预变性 5 min, 然后 94 °C 变性 1 min, 61 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1.5 min, 35 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经 Bio-Rad 染色琼脂糖凝胶电泳确认扩增结果后, 以限制性内切酶 PVU II 酶切, 37 °C 孵育 4 h, 取酶切产物 4  $\mu$ L 经 Bio-Rad 染色琼脂糖凝胶电泳后, 酶切产物放入 GelDoc 凝胶成像系统观测<sup>[7]</sup>。

1.2.2 GPx-1 基因 Pro198Leu 多态性分析 引物序列为: 上游引物 5'CCTACGCAGGTACAGCC3', 下游引物: 5'CAACAGGACCAG CAC CCATCTC3'

由上海生工生物技术有限公司合成。应用 TaKaRa PCR Amplification Kit (大连宝生物工程有限公司) PCR 试剂盒在 25  $\mu$ L PCR 反应体系中进行基因组 DNA 扩增, 包括模板 DNA 1  $\mu$ L (10 mg/L), 10 $\times$ PCR Buffer (含 3 mmol/L MgCl<sub>2</sub>) 2.5  $\mu$ L, dNTP Mixture 2  $\mu$ L, TaKaRa Taq DNA 聚合酶 0.125  $\mu$ L (5 U/ $\mu$ L), 引物各 1  $\mu$ L (0.5  $\mu$ mol/L), 灭菌去离子水 17.375  $\mu$ L。PCR 反应条件如下: 93  $^{\circ}$ C 预变 3 min, 然后 93  $^{\circ}$ C 变性 1 min, 66  $^{\circ}$ C 退火 1 min, 70  $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 35 个循环, 最后 70  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。取 12  $\mu$ L 的 PCR 反应产物与限制性内切酶 *Dde* I (NEB 公司) 于 37  $^{\circ}$ C 温浴过夜。酶切产物经 35 g/L 琼脂糖凝胶电泳 (含 0.5  $\mu$ g/mL 溴乙啶) 进行分析 (图 2)<sup>[8]</sup>。

### 1.3 统计学方法

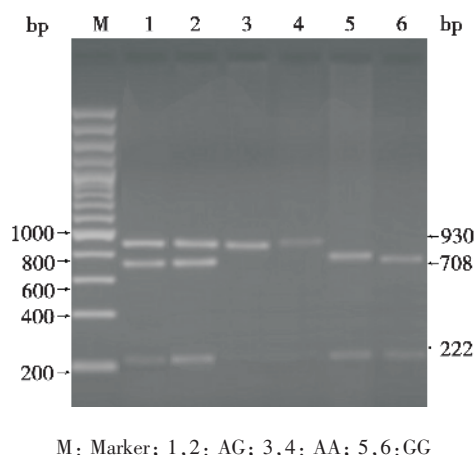
Hardy-Weinberg 平衡检验研究样本的群体代表性, 以  $P > 0.05$  为符合 Hardy-Weinberg 规律。用比值比 (OR) 值和 95% 可信区间 (95% CI) 评价相对风险, 病例组和对照组之间的基因型频率和等位基因频率采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。条件 logistic 回归模型分析交互作用。根据 Khoury 和 Wagener 提出的交互作用模型和交互系数 ( $\gamma_1 = \beta_{1*2}/\beta_2$ ;  $\gamma_2 = \beta_{1*2}/\beta_1$ ) 判断基因-基因交互作用模型以及交互作用类型<sup>[9]</sup>。判定依据 1:  $\gamma > 1$ , 表示一基因对另一基因的效应有所放大作用, 正向交互作用;  $\gamma < 1$ , 表示表示一基因对另一基因的效应有所减弱作用, 负向交互作用;  $\gamma = 1$ , 表示一基因和另一基因没有交互作用。在病例对照研究中,  $\gamma$  为两变量 lgOR 的比值。判定依据 2:  $OR_{1*2} = OR_1 \times OR_2$  为相乘模型;  $OR_{1*2} > OR_1 \times OR_2$  为超相乘模型;  $OR_{1*2} < OR_1 \times OR_2$  为次相乘模型;  $OR_{1*2} = OR_1 + OR_2 - 1$  为相加模型。其中  $OR_{1*2}$  表示 2 个因素共存时的 OR 值,  $OR_1$ 、 $OR_2$  是其中一个因素存在时的 OR 值。采用 SPSS for Windows 11.0 统计软件包进行统计分析。

## 2 结 果

### 2.1 MCP-1 基因-2518A/G 和 GPx-1 基因 Pro198Leu 多态性检测结果的判断

MCP-1 基因-2518A/G PCR 扩增片段长度为 930 bp, 扩增产物经 *Pvu* II 内切酶消化后分为 3 种基因型: GG 纯合子为 708 bp 和 222 bp 的 2 条

区带, AA 纯合子为 930 bp 的 1 条区带, AG 杂合子为 930 bp、708 bp 和 222 bp 的 3 条区带 (图 1)。



M: Marker; 1, 2: AG; 3, 4: AA; 5, 6: GG

图 1 MCP-1 基因-2518A/G PCR 产物检测

Fig.1 The electrophoretogram of PCR products of MCP-1 gene -2518A/G

PCR 扩增后的 GPx-1 基因 Pro198Leu 片段为 240 bp, 经限制性内切酶 *Dde* I 酶切分为三种基因型: GPx-1 基因 Pro198Leu (PP) 纯合子基因型个体显示 1 条 240 bp 长的 DNA 片段, GPx-1 基因 Pro198Leu (LL) 纯合子基因型个体显示 163 bp 和 77 bp 两条区带, 而 GPx-1 基因 Pro198Leu (PL) 杂合子基因型个体则显示 240 bp、163 bp 和 77 bp 的 3 条区带 (图 2)。

### 2.2 MCP-1 基因-2518A/G 和 GPx-1 基因 Pro198Leu 基因型、等位基因频率及相关遗传模型关联分析

经 Hardy-Weinberg 平衡检验, -2518A/G 各基因型在对照组中的分布均符合 Hardy-Weinberg 规律 ( $P > 0.05$ ), 说明研究群体具有代表性 (表 1)。AA+AG、GG 基因型频率在病例组和对照组差异有显著性 ( $P < 0.01$ ); 等位基因 G 在 NAFLD 各组 (包括 NAFL、NASH 和 NAFHC 组) 和对照组之间的分布差异均具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 且 OR 值大于 1, 说明含等位基因 G 的个体发生 NAFLD 的风险相对较高; 采用显性和隐性两种遗传模型进行分析发现: 在隐性模型中, 两位点的不同基因型在病例、对照组之间的分布差异均具有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 说明 GG 纯合型个体具有 NAFLD 易感性。结果表明: -2518A/G (A $\rightarrow$ G 突变) 可能增加 NAFLD 的患病风险 (表 1)。Pro198Leu 3 种基因

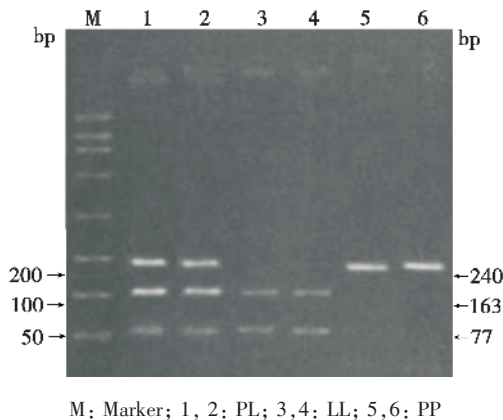


图 2 *GPx-1* 基因 Pro198Leu PCR 产物检测

Fig.2 The electrophoretogram of PCR products of *GPx-1* gene Pro198Leu

型、等位基因频率及相关遗传模型关联亦符合上述规律(表 2)。

2.3 *MCP-1* 基因 -2518A/G 和 *GPx-1* 基因 Pro198Leu 多态性 NAFLD 发病中的交互作用

-2518A/G (GG)/ Pro198Leu (LL) 在 NAFLD 各组 (包括 NAFL、NASH 和 NAFHC 组) 分别占 39.67%、53.17% 和 65.33% , 而对照组仅占 12.17%,-2518A/G (GG) 和 Pro198Leu (LL) 在 NAFLD 发病中存在正向交互作用, 根据交互系数公式( $\gamma_1 = \beta_{1*2}/\beta_2$ ; $\gamma_2 = \beta_{1*2}/\beta_1$ )计算得: $\gamma_{1\text{NAFL}} = 3.50$ ,

$\gamma_{2\text{NAFL}} = 3.37$ ; $\gamma_{1\text{NASH}} = 4.79$ , $\gamma_{2\text{NASH}} = 4.72$ ;  $\gamma_{1\text{NAFHC}} = 6.19$ , $\gamma_{2\text{NAFHC}} = 5.90$ ,交互系数均大于 1。NAFLD 各组  $OR_{1*2}$  均大于  $OR_1 \times OR_2$  为超相乘模型(表 3)。

3 讨 论

作为一种重要的前炎症细胞因子,*MCP-1* 在炎症-胰岛素抵抗相关疾病的病理生理过程中起着重要作用,是导致肝脏胰岛素抵抗、促进肝脏肝脏脂肪沉积的的一种重要细胞因子<sup>[10]</sup>。*MCP-1* 的表达受基因的控制和环境因素的诱导,其表达和诱导表达水平均有显著的个体差异。*MCP-1* 的基因末端 5'端一个特定部分控制着该基因的转录活性,现已证明,-2067A/T 和-2518A/G 是此 5'基因调控区内存在的两个基因多态位点。其中-2067A/T 位点已经证实对 *MCP-1* 的转录和表达没有影响,而-2518A/G 是一种功能性基因多态,调控着这个转录启动区域的活性,进而影响 *MCP-1* 基因的转录活性,从而影响个体中 *MCP-1* 的表达。*MCP-1* 基因-2518A/G 多态性是由该位点的核苷酸碱基 A 突变为 G 所引起,具有三种基因型:-2518A/G (AA)、-2518A/G (AG)和-2518A/G (GG),国内外已有研究报道认为-2518A/G 位点的多态性与代谢综合征有关<sup>[11-12]</sup>。本研究发现-2518A/G (GG)基因型者发生 NAFLD 的风险显著增加,

表 1 *MCP-1* 基因-2518A/G 基因型与等位基因分布及其遗传模型分析

Table 1 Distribution of polymorphisms of *MCP-1* gene -2518A/G genotypes, allele and analysis of genetic model

| Groups                           | Genotype[ <i>n</i> (%) |                      | Allele[ <i>n</i> (%)] |                      | Dominant model<br>(AG+GG)/AA | Recessive model<br>GG/(AG+AA) |
|----------------------------------|------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                                  | AA+AG                  | GG                   | A                     | G                    |                              |                               |
| Control( <i>n</i> = 600)         | 459(76.50)             | 141(23.50)           | 645(53.75)            | 555(46.25)           | 414:186                      | 141:459                       |
| NAFL ( <i>n</i> = 600)           | 302(50.33)             | 298(49.67)           | 467(38.92)            | 733(61.08)           | 435:165                      | 298:302                       |
| OR <sup>a</sup> <sub>NAFL</sub>  | 1.00                   | 3.21                 | 1.00                  | 1.82                 | 1.18                         | 3.21                          |
| 95% CI <sub>NAFL</sub>           |                        | 2.03-5.21            |                       | 1.20-2.86            | 0.83-1.65                    | 2.03-5.21                     |
| P <sub>NAFL</sub>                |                        | 0.0075               |                       | 0.0271               | 0.1739                       | 0.0075                        |
| NASH ( <i>n</i> = 600)           | 219(36.50)             | 381(63.50)           | 371(30.92)            | 829(69.08)           | 448:152                      | 381:219                       |
| OR <sup>a</sup> <sub>NASH</sub>  | 1.00                   | 5.661)               | 1.00                  | 2.60 <sup>1)</sup>   | 1.32 <sup>2)</sup>           | 5.661)                        |
| 95% CI <sub>NASH</sub>           |                        | 3.44-7.21            |                       | 1.79-3.97            | 0.90-1.76                    | 3.44-7.21                     |
| P <sub>NASH</sub>                |                        | 0.0062               |                       | 0.0097               | 0.0974                       | 0.0062                        |
| NAFHC( <i>n</i> = 600)           | 149(24.83)             | 451(75.17)           | 291(24.25)            | 909(75.75)           | 458:142                      | 451:149                       |
| OR <sup>a</sup> <sub>NAFHC</sub> | 1.00                   | 9.85 <sup>1)3)</sup> | 1.00                  | 3.63 <sup>1)3)</sup> | 1.45 <sup>2)4)</sup>         | 9.85 <sup>1)3)</sup>          |
| 95% CI <sub>NAFHC</sub>          |                        | 6.26-12.32           |                       | 2.30-5.18            | 0.98-1.94                    | 6.26-12.32                    |
| P <sub>NAFHC</sub>               |                        | 0.0037               |                       | 0.0066               | 0.0752                       | 0.0037                        |

OR<sup>a</sup>: Adjusted to gender and age. Compared with OR<sup>a</sup><sub>NAFL</sub>, 1)  $P < 0.01$ , 2)  $P > 0.05$ ; Compared with OR<sup>a</sup><sub>NASH</sub>, 3)  $P < 0.01$ , 4)  $P > 0.05$



表 2 GPx-1 基因 Pro198Leu 基因型与等位基因分布及其遗传模型分析  
Table 2 Distribution of polymorphisms of GPx-1 gene Pro198Leu genotypes, allele and analysis of genetic model

| Groups                           | Genotype[ <i>n</i> (%) ] |            | Allele[ <i>n</i> (%) ] |                      | Dominant model       | Recessive model       |
|----------------------------------|--------------------------|------------|------------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|
|                                  | PP+PL                    | LL         | P                      | L                    | (PL+LL)/PP           | LL/(PL+PP)            |
| Control( <i>n</i> = 600)         | 460(76.67)               | 140(23.33) | 645(53.75)             | 555(46.25)           | 415:185              | 140:460               |
| NAFL( <i>n</i> = 600)            | 301(50.17)               | 299(49.83) | 464(38.67)             | 736(61.33)           | 437:163              | 299:301               |
| OR <sup>a</sup> <sub>NAFL</sub>  | 1.00                     | 3.26       | 1.00                   | 1.84                 | 1.20                 | 3.2638                |
| 95% CI <sub>NAFL</sub>           |                          | 2.04–5.22  |                        | 1.21–2.86            | 0.84–1.66            | 2.04–5.22             |
| P <sub>NAFL</sub>                |                          | 0.0073     |                        | 0.0268               | 0.1638               | 0.0073                |
| NASH( <i>n</i> = 600)            | 219(36.50)               | 381(63.50) | 370(30.83)             | 830(69.17)           | 449:151              | 381:219               |
| OR <sup>a</sup> <sub>NASH</sub>  | 1.00                     | 5.721)     | 1.00                   | 2.61 <sup>1)</sup>   | 1.33 <sup>2)</sup>   | 5.72 <sup>1)</sup>    |
| 95% CI <sub>NASH</sub>           |                          | 3.44–7.21  |                        | 1.79–3.97            | 0.90–1.88            | 3.44–7.21             |
| P <sub>NASH</sub>                |                          | 0.0056     |                        | 0.0092               | 0.0926               | 0.0056                |
| NAFHC( <i>n</i> = 600)           | 147(24.50)               | 453(75.50) | 287(23.92)             | 913(76.08)           | 460:140              | 453:147               |
| OR <sup>a</sup> <sub>NAFHC</sub> | 1.1.00                   | 10.131)3)  | 1.00                   | 3.70 <sup>1)3)</sup> | 1.46 <sup>2)4)</sup> | 10.13 <sup>1)3)</sup> |
| 95% CI <sub>NAFHC</sub>          |                          | 6.27–12.33 |                        | 2.32–5.18            | 0.98–1.95            | 6.27–12.33            |
| P <sub>NAFHC</sub>               |                          | 0.0035     |                        | 0.0063               | 0.0727               | 0.0035                |

OR<sup>a</sup>: Adjusted to gender and age. Compared with OR<sup>a</sup><sub>NAFL</sub>, 1) *P* < 0.01, 2) *P* > 0.05; Compared with OR<sup>a</sup><sub>NASH</sub>, 3) *P* < 0.01, 4) *P* > 0.05

表 3 MCP-1 基因-2518A/G 和 GPx-1 基因 Pro198Leu 多态性在 NAFLD 发病中的交互作用  
Table 3 Interaction of polymorphisms of MCP-1 gene -2518A/G, GPx-1 gene Pro198Leu in NAFLD

| Groups                           | Combined genotype of -2518A/G and Pro198Leu |                                        |                                        |                                           |
|----------------------------------|---------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|-------------------------------------------|
|                                  | AA+AG/PP+PL                                 | AA +AG/LL                              | GG/PP+PL                               | GG/LL                                     |
| Control( <i>n</i> = 600)         | 392(65.33)                                  | 67(11.17)                              | 68(11.33)                              | 73(12.17)                                 |
| NAFL( <i>n</i> = 600)            | 238(39.67)                                  | 64(10.67)                              | 63(10.50)                              | 235(39.17)                                |
| OR <sup>a</sup> <sub>NAFL</sub>  | 1.00                                        | 1.57(OR <sub>1</sub> )                 | 1.51(OR <sub>2</sub> )                 | 5.30(OR <sub>1*2</sub> )                  |
| 95% CI <sub>NAFL</sub>           |                                             | 1.10–1.97                              | 1.06–1.96                              | 3.33–7.09                                 |
| β <sub>NAFL</sub>                |                                             | 0.55(β <sub>1</sub> )                  | 0.53(β <sub>2</sub> )                  | 1.85(β <sub>1*2</sub> )                   |
| NASH( <i>n</i> = 600)            | 157 (26.17)                                 | 62(10.33)                              | 62(10.33)                              | 319(53.17)                                |
| OR <sup>a</sup> <sub>NASH</sub>  | 1.00                                        | 2.31(OR <sub>1</sub> ) <sup>1)</sup>   | 2.28(OR <sub>2</sub> ) <sup>1)</sup>   | 10.91(OR <sub>1*2</sub> ) <sup>1)</sup>   |
| 95% CI <sub>NASH</sub>           |                                             | 1.66–3.67                              | 1.65–3.66                              | 6.53–14.11                                |
| β <sub>NAFL</sub>                |                                             | 0.81(β <sub>1</sub> ) <sup>1)</sup>    | 0.80(β <sub>2</sub> ) <sup>1)</sup>    | 3.81(β <sub>1*2</sub> ) <sup>1)</sup>     |
| NAFHC( <i>n</i> = 600)           | 88 (14.67)                                  | 61(10.17)                              | 59(9.83)                               | 392(65.33)                                |
| OR <sup>a</sup> <sub>NAFHC</sub> | 1.00                                        | 4.06(OR <sub>1</sub> ) <sup>1)2)</sup> | 3.86(OR <sub>2</sub> ) <sup>1)2)</sup> | 23.92(OR <sub>1*2</sub> ) <sup>1)2)</sup> |
| 95% CI <sub>NAFHC</sub>          |                                             | 2.74–6.29                              | 2.72–6.28                              | 16.97–31.85                               |
| β <sub>NAFHC</sub>               |                                             | 1.42(β <sub>1</sub> ) <sup>1)2)</sup>  | 1.35(β <sub>2</sub> ) <sup>1)2)</sup>  | 8.35 (β <sub>1*2</sub> ) <sup>1)2)</sup>  |

OR<sup>a</sup>: Adjusted to gender and age; OR<sub>1</sub>: value by simple Pro198Leu homozygous mutants exposure; OR<sub>2</sub>: by simple -2518A/G homozygous mutants exposure; OR<sub>1\*2</sub> value by two interacting genes in homozygous mutant. Compared with OR<sup>a</sup><sub>NAFL</sub>, 1) *P* < 0.01, Compared with OR<sup>a</sup><sub>NASH</sub>, 2) *P* < 0.01

其 OR 和相应 95%CI 为:OR<sub>NAFL</sub> = 3.21, 95%CI<sub>NAFL</sub> = 2.03–5.21;OR<sub>NASH</sub> = 5.66, 95% CI<sub>NASH</sub> = 3.44–7.21;OR<sub>NAFHC</sub> = 9.85, 95%CI<sub>NAFHC</sub> = 6.26–12.32, 与上述结果一致。-2518A/G (G G) 基因型者易患 NAFLD 的机理还不清楚,有研究显示 G 等位基因

可能可能增加启动子区域内的 GC 盒子,而 GC 盒是在启动子近端调控区上特异结合刺激蛋白增强转录的靶点,最终引起 MCP-1 蛋白表达水平的增高,降低胰岛素敏感性<sup>[13]</sup>,从而最终引起肝脏内脂质沉积,增加 NAFLD 发生的危险性。

GSH-Px 家族中至少发现有 4 种同工酶,即细胞内谷胱甘肽过氧化物酶( $GPx-1$ )、胃肠谷胱甘肽过氧化物酶( $GPx-2$ )、血浆谷胱甘肽过氧化物酶( $GPx-3$ )和磷脂氢谷胱甘肽过氧化物酶( $GPx-4$ )。它们在清除组织中有毒的过氧化物、保护生物膜和生物大分子免受氧化损伤等方面发挥着重大作用。但是不同的  $GPx$  具有不同的底物特异性及组织分布。其中胞内  $GPx$  即  $GPx-1$  广泛存在于机体内各个组织,尤其在氧化物产生较多的组织如红细胞、肝、肾或肺等部位活性较高,可清除可溶性自由基如过氧化氢和一些有机过氧化物如脂肪酸过氧化物等,从而减轻细胞膜多不饱和脂肪酸的过氧化作用,从而保护细胞免受损伤。 $GPx-1$  基因定位于 3 号染色体的短臂上 (3p21.3), 包括 2 个外显子和 1 个内含子。目前研究较多是位于  $GPx-1$  基因的 2 号外显子上的 Pro198Leu(rs1050450) 错义突变多态性,现已证实,其突变位点位于第 2 外显子上的 Pro198Leu。198 位碱基 C 被 T 替代后,翻译的脯氨酸变成亮氨酸,会造成  $GPx-1$  二级和三级结构的改变,因为脯氨酸是惟一一个  $\alpha$  碳原子上没有自由氨基的氨基酸,可造成肽链二级结构缠绕,进而导致  $GPx-1$  蛋白表现出较低的酶活力<sup>[14]</sup>。研究证明  $GPx-1$  基因 Pro198Leu 多态性可增加氧化应激相关疾病如膀胱癌、前列腺癌等的发病率<sup>[15-16]</sup>。本研究发现  $GPx-1$  基因 Pro198Leu (LL) 与 NAFLD 的发生有关,与对照组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ),携带 Pro198Leu (LL) 基因型者患 NAFLD 的风险高于携带 Pro198Leu (PP+PL) 的个体 ( $OR_{NAFL} = 3.26, 95\%CI_{NAFL} = 2.04-5.22; OR_{NASH} = 5.72, 95\%CI_{NASH} = 3.44-7.21; OR_{NAFHC} = 10.13, 95\%CI_{NAFHC} = 6.27^{[14]}-12.33$ ), 与相关研究结果一致。

本次研究应用 Khoury 等交互作用模型理论, 探询 MCP-1 基因 -2518A/G 和  $GPx-1$  基因 Pro198Leu 多态性的交互作用, 及其对 NAFLD 发生的意义。本研究发现 -2518A/G 与 Pro198Leu 突变型的交互作用增加了 NAFLD 的发病风险。-2518A/G (GG) 和 Pro198Leu (LL) 基因型对 NAFLD 的发生风险有相互放大效应 ( $\gamma_1_{NAFL} = 3.50, \gamma_2_{NAFL} = 3.37; \gamma_1_{NASH} = 4.79, \gamma_2_{NASH} = 4.72; \gamma_1_{NAFHC} = 6.19, \gamma_2_{NAFHC} = 5.90$ ), 各病例组的  $OR_{1*2}$  均大于相应的  $OR_1 \times OR_2$ , 显示上述两纯合突变基因的交互作用机制在 NAFLD 发生中可能为超相乘模型。本研究显示, 无论是单 -2518A/G 突变基因型、单

Pro198Leu 突变基因型或联合突变基因型各病例组的分布频率及相应 OR 值具有明显差异 ( $P < 0.01$ ), 这进一步验证了 MCP-1 导致的胰岛素抵抗和  $GPx-1$  活力变化引起的氧自由基反应对 NAFLD 进展演变发挥的重要作用。

NAFLD 是涉及环境因子和多种基因相互作用的复杂过程, 本研究提示携带 MCP-1 基因 -2518A/G 和  $GPx-1$  基因 Pro198Leu 突变基因型的个体属 NAFLD 高危人群, NAFLD 防治方案中应加以重视, 虽然尚不能通过改变其 NAFLD 易感的基因型来防治 NAFLD, 但可以通过 MCP-1 基因 -2518A/G 与  $GPx-1$  基因 Pro198Leu 基因检测, 预测个体发生 NAFLD 的风险性, 采取相应的控制环境病因的措施或调控基因表达以达到有效预防 NAFLD 的目的, 具体方案有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] do Nascimento JH, Epifanio M, Soder RB, et al. MRI-diagnosed nonalcoholic fatty liver disease is correlated to insulin resistance in adolescents [J]. Acad Radiol, 2013, 20(11): 1436-1442.
- [2] Nomura K, Yamanouchi T. The role of fructose-enriched diets in mechanisms of nonalcoholic fatty liver disease [J]. J Nutr Biochem, 2012, 23(3): 203-208.
- [3] Morita M, Ishida N, Uchiyama K, et al. Fatty liver induced by free radicals and lipid peroxidation [J]. Free Radic Res, 2012, 46(6): 758-765.
- [4] Daniele G, Guardado Mendoza R, Winnier D, et al. The inflammatory status score including IL-6, TNF- $\alpha$ , osteopontin, fractalkine, MCP-1 and adiponectin underlies whole-body insulin resistance and hyperglycemia in type 2 diabetes mellitus [J]. Acta Diabetol, 2014, 51(1): 123-131.
- [5] Samy W, Hassanian MA. Paraoxonase-1 activity, malondialdehyde and glutathione peroxidase in non-alcoholic fatty liver disease and the effect of atorvastatin [J]. Arab J Gastroenterol, 2011, 12(2): 80-85.
- [6] 葛均波, 徐永健, 梅长林, 等. 内科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 408-409.  
Ge JB, Xu YJ, Mei CL, et al. Internal? Medicine [M]. Peking: People's medical publishing house, 2013: 408-409.
- [7] Zakharyan R, Boyajyan A, Arakelyan A, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 in schizophrenia: -2518A/G genetic variant and protein levels in Armenian

们还有很长的路要走。

# 参考文献

- [1] Chan AT, Teo PM, Johnson PJ. Nasopharyngeal carcinoma[J]. *Ann Oncol*, 2002, 13(7): 1007-1015.
- [2] Kam MK, Chau RM, Suen J, et al. Intensity-modulated radiotherapy in nasopharyngeal carcinoma: dosimetric advantage over conventional plans and feasibility of dose escalation[J]. *Radiat Oncol Biol Phys*, 2003, 56(1): 145-157.
- [3] Hunt MA, Zelefsky MJ, Wolden S, et al. Treatment planning and delivery of intensity-modulated radiation therapy for primary nasopharynx cancer [J]. *Radiat Oncol Biol Phys*, 2001, 49(3):623-632.
- [4] Parliament MB, Scrimger RA, Anderson SG, et al. Preservation of oral health-related quality of life and salivary flow rates after inverse-planned IMRT for head-and-neck cancer [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2004, 58(3):663-673.
- [5] Chao KS, Ozyigit G, Thorsdahl WL. Toxicity profile of IMRT for head and neck carcinoma and potential role of amifostine[J]. *Semin Oncol*, 2003, 30(1):101-108.
- [6] Lin A, Kim HM, Terrell JE, et al. Quality of life after parotid-sparing IMRT for head-and-neck cancer: a prospective longitudinal study [J]. *Radiat Oncol Biol Phys*, 2003, 57(1):61-70.
- [7] 赵充. 鼻咽癌调强适形放疗进展[J]. *实用肿瘤杂志*, 2004, 19(4):281-284.
- Zhao C. Progress in intensity-modulated radiotherapy of nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Pra Oncol*, 2004, 19(4):281-284.
- [8] Sun Y, Yu XL, Luo W, et al. Recommendation for a contouring method and atlas of organs at risk in nasopharyngeal carcinoma patients receiving intensity-modulated radiotherapy [J]. *Radiat Oncol*, 2014, 110(3):390-397.
- [9] Chen J, Dassarat M, Yin Z, et al. Radiation induced temporal lobe necrosis in patients with nasopharyngeal carcinoma: a review of new avenues in its management [J]. *Radiat Oncol*, 2011(6):128.
- [10] Hall WH, Guio M, Lee NY, et al. Development and validation of a standardized method for contouring the brachial plexus: preliminary dosimetric analysis among patients treated with IMRT for head-and-neck cancer [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2008, 72(5):1362-1367.
- [11] Truong MT, Nadgir RN, Hirsch AE, et al. Brachial plexus contouring with CT and MR imaging in radiation therapy planning for head and neck cancer [J]. *Radiographics*, 2010, 30(4):1095-1103.

(编辑 刘清海)

(上接第744页 from page 744)

- population[J]. *Cytokine*, 2012, 58(3): 351-354.
- [8] Suzen HS, Gucyener E, Sakalli O, et al. CAT C-262T and GPX1 Pro198Leu polymorphisms in a Turkish population[J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(1): 87-92.
- [9] Khoury MJ, Wagener DK. Epidemiological evaluation of the use of genetics to improve the predictive value of disease risk factors [J]. *Am J Hum Genet*, 1995, 56(4): 835-844.
- [10] Uchida Y, Takeshita K, Yamamoto K, et al. Stress augments insulin resistance and prothrombotic state: role of visceral adipose-derived monocyte chemoattractant protein-1[J]. *Diabetes*, 2012, 61(6): 1552-1561.
- [11] Zhang Y, Zhang J, Tian C, et al. The -2518A/G polymorphism in the monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) gene and diabetes risk: a meta-analysis[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011, 94(3): e89-92.
- [12] Jeon HJ, Choi HJ, Park BH, et al. Association of monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) 2518A/G polymorphism with proliferative diabetic retinopathy in Korean type 2 diabetes [J]. *Yonsei Med J*, 2013, 54(3): 621-625.
- [13] Gong T, Yang M, Qi L, et al. Association of MCP-1 -2518A/G and -362G/C variants and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis [J]. *Infect Genet Evol*, 2013, 20:1-7.
- [14] Cao M, Mu X, Jiang C, et al. Single-nucleotide polymorphisms of GPX1 and MnSOD and susceptibility to bladder cancer: a systematic review and meta-analysis [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(1):759-764.
- [15] Paz-y-Miño C1, Muñoz MJ, López-Cortés A, et al. Frequency of polymorphisms pro198leu in GPX-1 gene and ile58thr in MnSOD gene in the altitude Ecuadorian population with bladder cancer [J]. *Oncol Res*, 2010; 18(8):395-400.
- [16] Erdem O, Eken A, Akay C, et al. Association of GPX1 polymorphism, GPX activity and prostate cancer risk [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2012, 31(1):24-31.

(编辑 孙慧兰)