

脂联素分子构成在代谢正常肥胖人群中的变化

孙 燕, 王佑民, 周换丽

摘要 目的 初步探讨代谢正常肥胖(MHO)人群中脂联素(APN)分子构成的变化及临床意义,分析MHO人群代谢正常的原因,并探讨其与MHO的相关性。方法 根据纳入标准选取成年人161例,分为MHO组($n=52$)、肥胖伴代谢综合征(MS)组($n=52$)、正常对照组($n=57$)。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定患者血清总APN、高分子量脂联素(HMW-adp)浓度,并分析其分子构成在MHO人群中的变化及相关临床意义。结果 ①与正常对照组相比,肥胖伴MS组及MHO组血清总APN、HMW-adp均明显降低($P < 0.01$);②MHO组总APN、HMW-adp较肥胖伴MS组明显升高($P < 0.01$);③MHO组HMW-adp/总APN(H/A)较肥胖伴MS组及正常对照组均升高($P < 0.05$);④多元逐步回归

分析显示体质指数(BMI)、腰围、餐后2h血糖(2hPBG)是总APN的重要危险因素,腰围、2hPBG是HMW-adp的阴性预测因子,而高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)是其唯一的阳性预测因子,而H/A的主要影响因素却是BMI、腰围、HDL-C。结论 APN分子构成在MHO人群中呈高水平状态,该人群代谢之所以正常可能与这两种因子的保护作用有关,尤其HMW-adp。由此可以认为血清总APN、HMW-adp的检测可作为定量检测MHO人群及其转归以及判断预后的指标。

关键词 代谢正常肥胖;肥胖伴代谢综合征;脂联素分子构成;总脂联素;高分子量脂联素

中图分类号 R 589.25; R 392.114

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)02-0250-05

2015-11-06 接收

基金项目:安徽省科技攻关项目(编号:1206c0805034)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院内分泌科,安徽省内分泌代谢病省级实验室,合肥 230001

作者简介:孙 燕,女,硕士研究生;

王佑民,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: youminwang@21.cn.com

随着研究的深入,人们发现肥胖个体存在不同亚群,有些肥胖个体代谢指标并无异常,通常称之为代谢正常肥胖(metabolically healthy but obese, MHO)^[1],其以胰岛素敏感性高为主要特征。有研究^[2]表明,MHO是一种低度炎症状态,但尚未达到

Different expression and significance of WWP1 and p53 in keloid and normal skin

Wang Hui, Sang Pengfei, Wang Min, et al

(Dept of Plastic Surgery, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective The purpose of the study was to detect the expression of E3 ubiquitin ligase WWP1 and p53 in human normal skin and keloid tissues and its correlation with the occurrence of keloid. **Methods** 10 cases of keloid tissues and 10 cases of normal skin were recruited. The expressions of WWP1 and p53 in the keloid group and the controls were measured using immunohistochemical methods. And the mRNA expression of WWP1 and p53 in the two groups were detected by RT-PCR methods. We also measured integrated optical density (IOD) of the proteins by Image-Pro Plus analysis system, and calculated the relative quantity of mRNA referring to β -actin, then made a comparative analysis of the two groups for the expressions of WWP1, p53. **Results** The immunohistochemical results showed that the expression of p53 protein in keloid was significantly lower compared with the controls, and WWP1 protein deposition was significantly higher than that of normal skin. The mRNA expression of p53 and WWP1 was detected by RT-PCR and confirmed the same results. All the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** E3 ubiquitin ligase WWP1 and anti oncogene p53 is related to the formation of keloid, which provides a new direction of the mechanism and new targets for the treatment of keloid.

Key words WWP1; p53; keloid; normal skin

肥胖伴代谢综合征(metabolic syndrome ,MS) 者的水平。而 MS 却是以中心性肥胖、糖代谢异常、高血压和脂代谢紊乱等为特征。近年来,血清脂联素(adiponectin ,APN) 在抗炎、抗糖尿病等方面的作用研究广泛,现有的研究^[3]多是以测定总 APN 为目标,但其主要活性形式是高分子量脂联素(high-molecular-weight adiponectin ,HMW-adp) 在肥胖人群中研究相对较少,尤其是 MHO 人群。该研究旨在初步探讨 MHO 人群中 APN 分子构成的变化及临床意义,分析 MHO 人群代谢正常的原因,并探讨其与 MHO 的相关性。

1 材料与方法

1.1 研究对象 于合肥市 2011 年 6~9 月流行病学调查资料中根据纳入标准选取成年人 161 例,其中选择体质指数(body mass index ,BMI) $>25.0 \text{ kg/m}^2$ 但代谢正常(无糖尿病、高血压病、高脂血症等) 者 52 例(男 25 例,女 27 例) 为 MHO 组; BMI $>25.0 \text{ kg/m}^2$ 伴 MS 者 52 例(男 22 例,女 30 例) 为肥胖伴 MS 组; 体重正常($18.5 \text{ kg/m}^2 \leq \text{BMI} < 23.0 \text{ kg/m}^2$) 且未合并代谢指标异常者 57 例(男 29 例,女 28 例) 为正常对照组。诊断标准: 肥胖诊断标准采用 2003 年中国成人超重和肥胖症预防控制指南(试用),MS 采用 2013 年糖尿病防治指南中已修订关于代谢综合征的定义^[4]。MHO 即肥胖但代谢正常者,需同时符合下列 4 项^[5-6]: ① BMI $\geq 25.0 \text{ kg/m}^2$ 。② 既往无糖尿病病史,未使用降糖药物,且空腹血糖 $\leq 6.1 \text{ mmol/L}$ 。③ 既往无高血压病史,未使用降压药物,且血压 $< 18.62/11.97 \text{ kPa}$ 。④ 既往无高脂血症病史,未使用调脂药物,且空腹血三酰甘油(triglyceride ,TG) $< 1.7 \text{ mmol/L}$ 及空腹高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol ,HDL-C) $> 0.9 \text{ mmol/L}$ (男) 或 $\geq 1.0 \text{ mmol/L}$ (女)。肥胖伴 MS 诊断标准: 肥胖合并 MS 者符合以下①,同时达到②、③、④、⑤、⑥中 3 项或更多项即可诊断。① BMI $\geq 25.0 \text{ kg/m}^2$; ② 腹型肥胖,男性腰围 $\geq 90 \text{ cm}$,女性腰围 $\geq 85 \text{ cm}$; ③ 高血糖: 空腹血糖 $\geq 6.1 \text{ mmol/L}$ 或糖负荷后餐后 2 h 血糖 $\geq 7.8 \text{ mmol/L}$ 和(或) 已确诊为糖尿病并治疗者; ④ 高血压: 血压 $\geq 18.62/11.31 \text{ kPa}$ 和(或) 已确认为高血压并治疗者; ⑤ 空腹 TG $\geq 1.7 \text{ mmol/L}$; ⑥ 空腹 HDL-C $< 1.04 \text{ mmol/L}$ 。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集 包括性别、年龄、身高、体

重、腰围、血压(均采用电子血压计测量)、高血压史、糖尿病史、血脂异常史等。BMI = 体重/身高² (kg/m^2) 。

1.2.2 各项生化指标测定 统一采用自动生化分析仪检测: 流调资料人群至少空腹 8 h 抽取肘静脉血,测定空腹血糖(fasting blood-glucose ,FBG)、糖化血红蛋白(hemoglobin A1c ,HbA1c)、总胆固醇(total cholesterol ,TCH)、TG、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol ,LDL-C)、HDL-C 等指标,进食 2 h 后再次抽取肘静脉血,测定餐后 2 h 血糖(2 hour postprandial blood glucose ,2 h PBG) 。

1.2.3 血清总 APN、HMW-adp 浓度测定 清晨空腹抽取肘静脉血,注入已预先加入 EDTA 及抑肽酶的试管中,立即放置冰上,于高速冷冻离心机中 3000 r/min 离心 15 min,分离出血清,置于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱集中保存待检,避免反复冻溶。应用酶联免疫吸附法(ELISA) 测定血清总 APN、HMW-adp 的水平。试剂盒来自上海源叶生物科技有限公司,具体操作步骤严格按照试剂盒说明书进行,检测仪器为德国生产的酶标仪 MODE-550。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表达,多组间均数比较采用方差分析,分类资料采用 χ^2 检验,分析各因素间关系采用多元逐步回归分析。

2 结果

2.1 各组一般资料与生化资料的比较 各组在性别、年龄、LDL-C 比较无明显差异; 与肥胖伴 MS 组相比,MHO 组收缩压、舒张压、FBG、2 hPBG、HbA1c、TG 明显降低($P < 0.01$),TCH 降低($P < 0.05$),BMI、腰围无明显差异; 与正常对照组相比,MHO 组收缩压、舒张压未见明显差异,BMI 明显增高($P < 0.01$),FBG、2 hPBG、HbA1c、TCH、TG、HDL-C 无明显差异; 肥胖伴 MS 组收缩压、舒张压、BMI、腰围、FBG、2 hPBG、HbA1c、TG 较正常对照组均明显增高($P < 0.01$),TCH 增高($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 各组血清总 APN、HMW-adp、A/H 水平的比较 与肥胖伴 MS 组相比,MHO 组血清总 APN、HMW-adp、H/A 增高($P < 0.01$); 与正常对照组相比,MHO 组及肥胖伴 MS 组血清总 APN、HMW-adp 均明显降低($P < 0.01$),MHO 组 H/A 增高($P < 0.05$),而肥胖伴 MS 组 H/A 降低($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 相关性及多元线性回归分析 以可能对血清

表1 一般资料及生化资料的比较

项目	MHO 组	肥胖伴 MS 组	正常对照组	F 值
总体年龄(岁)	51.88 ± 8.13	53.68 ± 11.04	51.01 ± 7.10	1.26
男性年龄(岁)	53.52 ± 7.83	49.59 ± 8.06	55.69 ± 10.99	2.75
女性年龄(岁)	50.37 ± 8.25	52.06 ± 6.24	51.16 ± 10.89	2.90
BMI(kg/m ²)	28.04 ± 2.25**	27.49 ± 2.41**	21.34 ± 1.11	193.50
腰围(cm)	93.77 ± 6.06**	92.36 ± 4.57**	76.54 ± 5.40	174.60
收缩压(kPa)	15.91 ± 1.43##	19.68 ± 2.86**	16.00 ± 1.52	59.57
舒张压(kPa)	9.65 ± 1.02##	11.40 ± 1.47**	9.59 ± 1.14	34.47
FBG(mmol/L)	4.97 ± 0.44##	7.25 ± 2.75**	5.01 ± 0.76	32.22
2 hPBG(mmol/L)	5.54 ± 0.46##	10.89 ± 4.89**	5.80 ± 1.10	56.31
HbA1c(%)	5.73 ± 0.46##	7.06 ± 1.68**	5.74 ± 0.32	30.31
TCH(mmol/L)	4.30 ± 0.67#	4.75 ± 1.33*	4.27 ± 0.76	4.17
TG(mmol/L)	0.90 ± 0.28##	2.72 ± 2.14**	0.93 ± 0.30	37.41
HDL-C(mmol/L)	1.38 ± 0.22##	1.09 ± 0.24**	1.39 ± 0.22	28.33
LDL-C(mmol/L)	2.38 ± 0.56	2.58 ± 0.96	2.39 ± 0.68	1.19

与正常对照组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01; 与肥胖伴 MS 组比较: # P < 0.05, ## P < 0.01

表2 各组血清总 APN、HMW-adp 的比较

项目	MHO 组	肥胖伴 MS 组	正常对照组	F 值
总 APN(μg/ml)				
总体	7.95 ± 0.72***	7.07 ± 0.66**	9.09 ± 0.64	122.87
男性	7.81 ± 0.46***	6.57 ± 0.56**	8.88 ± 0.40	150.43
女性	8.07 ± 0.88***	7.43 ± 0.46**	9.30 ± 0.79	49.35
HMW-adp(μg/ml)				
总体	3.99 ± 0.54***	3.15 ± 0.50**	4.3 ± 0.46	75.57
男性	3.68 ± 0.44***	2.96 ± 0.53**	4.04 ± 0.42	35.42
女性	4.27 ± 0.47**	3.29 ± 0.43**	4.56 ± 0.34	47.81
HMW-adp/总 APN(H/A)				
总体	0.50 ± 0.61**	0.45 ± 0.64*	0.47 ± 0.55	11.59
男性	0.47 ± 0.46	0.44 ± 0.58	0.46 ± 0.37	1.42
女性	0.53 ± 0.57**	0.44 ± 0.68**	0.49 ± 0.72	13.69

与正常对照组比较: * P < 0.05, ** P < 0.01; 与肥胖伴 MS 组比较: ## P < 0.01

总 APN、HMW-adp、H/A 有影响的因素 BMI、腰围、TG、HDL-C、LDL、TCH、FBG、2 hPBG、HbA1c 与总 APN、HMW-adp、H/A 采用逐步法进行多元线性回归,其中 BMI、腰围、2 hPBG 是总 APN 的重要影响因素,腰围、2 hPBG、HDL-C 是 HMW-adp 的主要影响因素,而 H/A 的主要影响因素却是 BMI、腰围、HDL-C。见表 3~5。

表3 总 APN 的多元线性回归分析

项目	β	SE	标化β	t 值	P 值	95% CI
常量	12.24	0.620	-	21.301	<0.001	12.015 ~ 14.471
BMI	-0.11	0.037	-0.355	-2.816	0.005	-0.179 ~ -0.031
腰围	-0.02	0.015	0.191	-1.491	0.138	-0.051 ~ 0.007
2 hPBG	-0.08	0.018	0.287	-4.561	<0.001	-0.116 ~ -0.046

表4 HMW-adp 的多元线性回归分析

项目	β	SE	标化β	t 值	P 值	95% CI
常量	5.225	0.567	-	9.212	<0.001	4.104 ~ 6.345
HDL-C	0.589	0.192	0.219	3.066	0.003	0.209 ~ 0.968
腰围	-0.020	0.005	-0.275	-3.909	<0.001	-0.031 ~ -0.010
2 hPBG	-0.052	0.013	-0.283	-3.971	<0.001	-0.078 ~ -0.026

表5 H/A 的多元线性回归分析

项目	β	SE	标化β	t 值	P 值	95% CI
常量	0.372	0.059	-	6.315	<0.001	0.256 ~ 0.489
BMI	0.009	0.003	0.512	3.271	0.001	0.004 ~ 0.014
腰围	-0.002	0.001	-0.356	-2.330	0.021	-0.005 ~ 0.000
HDL-C	0.069	0.019	0.282	3.595	<0.001	0.031 ~ 0.107

3 讨论

MHO 是一类以胰岛素敏感性增高为主要特征

的肥胖亚型, Sims et al^[7] 对其进行了特征化的概括,并一直沿用至今。相关流行病学及机制研究^[8] 表明, MHO 人群可能通过脂肪因子影响脂肪细胞代谢、神经内分泌因子的释放等最终达到维持胰岛素敏感性以使目前无胰岛素抵抗和代谢异常。总

APN 是脂肪细胞分泌的类激素蛋白,通过胶原结构域形成同源三聚体低分子量 APN、六聚体的中分子量 APN、多聚体的 HMW-adp, HMW-adp 具有激活 AMP 活化的蛋白激酶(AMPK)、抑制心血管内皮细胞凋亡效应。因此, HMW-adp 被认为是 APN 的主要活性类型^[3]。近年来,总 APN 的研究相对比较广泛,在抗肿瘤、抗动脉粥样硬化、脂质代谢等方面研究相对比较成熟,在肥胖患者中的表达以及发展中的作用也得到了越来越多的关注,但对 MHO 人群研究相对较少。通过对 MHO 组、肥胖伴 MS 组、正常对照组患者的基本资料及血清总 APN、HMW-adp 浓度的测定,以初步探讨 APN 分子构成在 MHO 人群中的变化,并分析其代谢正常原因,并探讨其与 MHO 的相关性。

研究^[9]表明,肥胖患者血清 APN 水平偏低,尤其腹型肥胖更为明显。另有临床试验和基础研究^[6]表明,肥胖患者血清 APN 水平降低的机制可能与脂肪细胞 APN mRNA 表达下调及高胰岛素血症抑制 APN 分泌有关。本研究 MHO 组血清 APN、HMW-adp 高于肥胖伴 MS 组,低于正常对照组,女性高于男性,与研究^[10-11]结果一致,表明 MHO 人群血清总 APN、HMW-adp 水平处于中间状态,二者可能是机体重要的保护性因子。为了进一步了解这两种因子是否与 MHO 的代谢有关,予以讨论其分子构成,在本研究中, MHO 组 H/A 显著高于肥胖伴 MS 组,同时也高于正常对照组,提示由于 HMW-adp 在总 APN 中所占的比例,与血清总 APN 相比,更有可能与代谢紊乱有关并且能够预测 MS 的发生。这与报道^[12]一致,提示 MHO 之所以代谢正常可能与此两种因子的保护作用有关,尤其是 HMW-adp。

研究^[13]表明, MHO 多占肥胖群体的 20% ~ 30%,但不同种族之间存在一定差异。有研究^[2]显示 MHO 脂肪细胞因子与肥胖状态下的慢性低度炎症及肥胖相关并发症的发生存在密切关系。本研究 BMI、腰围、2 hPBG 是总 APN 的重要影响因素,与研究^[14]一致,提示总 APN 与肥胖尤其是腹型肥胖呈负相关。腰围、2 hPBG 是 HMW-adp 的负性预测因子,而 HDL-C 是其唯一的阳性预测因子,可以推测出 HMW-adp 在糖脂代谢的各个环节上可能使胰岛素的作用增强,从而降低血糖血脂,降低发生心血管疾病的风险。而 H/A 的主要影响因素是 BMI、腰围、HDL-C,结果表明 MHO 人群中 H/A 最高,并且与其它两组有显著差异,可以猜测 MHO 人群的代谢正常与 HMW-adp 的保护作用密切相关。因此,

APN 分子构成水平与 MHO 的关系有待进一步的探讨。由于本研究样本量相对较小,以及研究种群、随访时间的差异,可能对结果产生一定影响。而加强对不同种群及地区 MHO 人群的大规模研究,进一步明确 APN 分子构成在 MHO 人群的疾病转归中的作用十分必要。

综上所述, MHO 是胰岛素敏感性高的低度炎症状态,并与脂肪因子密切相关。在 MHO 人群中血清 APN、HMW-adp 的表达均介于正常人群与肥胖伴 MS 人群之间, H/A 水平均高于另外两个人群,其可能是肥胖者由正常向肥胖伴 MS 转变的中间状态,可进一步推断代谢正常可能与血清 APN、HMW-adp 的保护作用有关,尤其是 HMW-adp,但其机制仍待进一步研究。相信随着血清 APN、HMW-adp 机制的进一步阐明及相关药物的研发,将会为 MHO 人群向代谢异常性疾病及正常的转归提供针对性的思路及更有力的理论依据,可以作为 MHO 人群不再进展为存在代谢异常的预防新靶点。

参考文献

- [1] Karelis A D, Faraj M, Bastard J P, et al. The metabolically healthy but obese individual presents a favorable inflammation profile [J]. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 90(7): 4145-50.
- [2] Wood I S, de Heredia F P, Wang B, et al. Cellular hypoxia and adipose tissue dysfunction in obesity [J]. *Proc Nutr Soc* 2009 68(4): 370-7.
- [3] Zhu N, Pankow J S, Ballantyne C M, et al. High-molecular weight adiponectin and the risk of type 2 diabetes in the ARIC study [J]. *J Clin Endocrinol Metab* 2010 95(11): 5097-104.
- [4] 翁建平, 纪立农, 陆菊明, 等. 中国 2 型糖尿病防治指南(2013 版) [J]. *中华糖尿病杂志* 2014 6(7): 447-98.
- [5] Lee K. Metabolically obese but normal weight (MONW) and metabolically healthy but obese (MHO) phenotypes in Koreans: characteristics and health behaviors [J]. *Asia Pac J Clin Nutr* 2009 18(2): 280-4.
- [6] Meigs J B, Wilson P W, Fox C S, et al. Body mass index, metabolic syndrome, anti risk of type 2 diabetes or cardiovascular disease [J]. *J Clin Endocrinol Metab* 2006 91(8): 2906-12.
- [7] Sims E A. Are there persons who are obese, but metabolically healthy? [J]. *Metabolism* 2001 50(12): 1499-504.
- [8] 宋丹丹, 邹大进. 代谢正常肥胖的研究进展 [J]. *中国糖尿病杂志* 2012 20(1): 75-8.
- [9] Guenther M, James R, Marks J, et al. Adiposity distribution influences circulating adiponectin Levels [J]. *Transl Res* 2014 164(4): 270-7.
- [10] Doumatey A P, Bentley A R, Zhou J, et al. Paradoxical hyperadiponectinemia is associated with the metabolically healthy obese (MHO) phenotype in African Americans [J]. *J Endocrinol*

- Metab 2012 2(2): 51 – 65.
- [11] Eglit T, Ringmets I, Lember M. Obesity, high-molecular-weight (HMW) adiponectin, and metabolic risk factors: prevalence and gender-specific associations in Estonia [J]. PLoS One, 2013, 8(9): e73273.
- [12] Kawada T, Hasegawa M. Predictive ability of serum high-molecular-weight adiponectin in combination with serum insulin and serum C-reactive protein for the presence of metabolic syndrome [J]. Ann Hum Biol 2012 39(2): 108 – 12.
- [13] Lopez-Garcia E, Guallar-Castillon P, Leon-Muñoz L, et al. Prevalence and determinants of metabolically healthy obesity in Spain [J]. Atherosclerosis, 2013 231(1): 152 – 7.
- [14] Martínez-Larrad M T, Corbatón Anchuelo A, Del Prado N, et al. Profile of individuals who are metabolically healthy obese using different definition criteria. A population-based analysis in the Spanish population [J]. PLoS One 2014 9(9): e106641.

The variation of adiponectin molecules in metabolically healthy obese individuals

Sun Yan, Wang Youmin, Zhou Huanli

(Dept of Endocrinology, Institute of Endocrinology and Metabolism,
The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To explore the variation and clinical value of serum adiponectin (APN) molecules in metabolically healthy obese (MHO) individuals, and analyze the reason of the normal metabolism, then, to investigate the correlation between adipocytokines and MHO. **Methods** According to the inclusion criteria, 161 adults subjects were chosen, from which 52 subjects who were metabolically healthy but obese were selected as MHO group, 52 subjects who had obesity with metabolic syndrome (MS) as obesity with MS group, 57 subjects of healthy people who received physical health examination were selected as the control group. In order to analyze the variation and clinical value of serum APN molecules in MHO individuals, the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to measure the concentrations of serum total APN and high-molecular-weight adiponectin (HMW-adp) respectively. **Results** ① Both obesity with MS and MHO group serum total APN and HMW-adp concentrations were significantly decreased compared with the control group ($P < 0.01$); ② A comparison of total APN and HMW-adp between MHO group and obesity with MS group showed a significant increase ($P < 0.01$) in MHO group. ③ MHO group serum APN molecules was significantly higher than obesity with MS and the control group ($P < 0.05$); ④ Multiple stepwise regression analysis showed that BMI, waist circumference, 2 h PBG levels were important risk factors for serum total APN; WC, 2 h PBG levels were negative predicting factors for HMW-adp, while HDL-C was independent positive, however H/A was BMI, waist circumference, HDL-C. **Conclusion** The variation of serum APN molecules in MHO individuals is at the high level. It is possible that the metabolically healthy is correlated with the protective total APN and HMW-adp, especially HMW-adp. Serum APN and HMW-adp concentrations have great potential to become clinical indicators, which could be used to quantitatively predict and further determine the outcome and prognosis of MHO individuals.

Key words metabolically healthy obese; metabolic syndrome; adiponectin molecules; serum total adiponectin; high-molecular-weight adiponectin