

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.02.004

PNPLA3 基因多态性与非酒精性脂肪性肝病肝损伤间相关性的系统评价*

魏益国¹, 陈捷^{2△}, 石明巧¹, 吴晓娟¹, 苏真珍², 蔡蓓²

(1. 四川大学华西临床医学院, 成都 610041; 2. 四川大学华西医院实验医学科, 成都 610041)

摘要:目的 系统评价 PNPLA3 rs738409 基因突变与非酒精性脂肪性肝病肝损伤的相关性。方法 计算机检索 Pub Med、CNKI、Embase、Ovid 数据库, 搜索有关 PNPLA3 rs738409 基因多态性与单纯非酒精性肝病肝损伤相关性的横断面研究, 检索时限为建库至 2017 年 4 月, 由 2 位研究人员独立筛选, 提取数据资料后用 STATA12.0 软件进行 Meta 分析。结果 在 PNPLA3 rs738409 位点发生突变的患者体内, 丙氨酸氨基转移酶、天门冬氨酸氨基转移酶水平明显高于未发生突变的人群, 而在三酰甘油、胆固醇水平的研究中二者差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 PNPLA3 基因的突变与非酒精性脂肪性肝病肝损伤有密切相关性。

关键词: PNPLA3 基因; 基因多态性; 非酒精性肝病; meta 分析

中图分类号: R446.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)02-0157-04

Association between the polymorphism of the PNPLA3 rs738409 gene and liver damage and the steatosis of liver: a Meta-analysis*

WEI Yiguo¹, CHEN Jie^{2△}, SHI Mingqiao¹, WU Xiaojuan¹, SU Zhenzhen², CAI Bei²

(1. West China Medical School of Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China; 2. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China)

Abstract: **Objective** To systematically review the association between PNPLA3 polymorphism and liver damage and the steatosis of liver. **Methods** Databases including Pub Med, CNKI, Embase and Ovid were searched via electronically from inception to April 2017, cross-sectional studies about the association between the polymorphism of the PNPLA3 rs738409 gene and liver damage and the steatosis of liver were collected. Two reviewers independently screened literature, extracted data and assessed the methodological quality included studies. Then, Meta-analysis was performed using STATA 12.0 software. **Results** The results of Meta-analysis showed that the level of alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase of the patients with PNPLA3 rs738409 gene mutated were distinctly higher than those of normal patients, while the research of triglyceride and total cholesterol showed no difference between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion** PNPLA3 polymorphism is closely associated with liver damage and the steatosis of liver.

Key words: PNPLA3; polymorphism; non-alcoholic fatty liver; Meta-analysis

非酒精性脂肪性肝病 (NAFLD) 是以单纯脂肪变性、非酒精性脂肪性肝炎、肝纤维化等进行性肝病的统称, 被认为是影响人体健康的一种重要疾病, 患者肝细胞内脂质水平增加, 引起细胞脂肪变性逐渐发展为纤维化, 甚至发展为肝硬化^[1]。近年来相关研究表明, 遗传因素与 NAFLD 有密切关联, 最新研究发现马铃薯糖蛋白样磷脂酶蛋白 3 (PNPLA3) 基因在 NAFLD 中起到了关键的作用^[2], PNPLA3 基因的变异会使肝细胞中的三酰甘油 (TG) 沉积, 导致肝脏发生脂肪变性, 严重影响肝脏代谢, 进而逐渐发展为肝纤维化、肝硬化^[3]。然而, 该位点基因多态性是否与

NAFLD 肝损伤相关还没有达成共识, 本文对相关文献进行全面、严格的 Meta 分析, 探讨 PNPLA3 rs738409 基因多态性与 NAFLD 肝损伤的相关性, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 文献检索策略 通过四川大学图书馆以“PNPLA3”或者“rs738409”为检索词检索 Pub Med、CNKI、Embase、Ovid 数据库, 搜索有关 PNPLA3 基因多态性与 NAFLD 肝损伤的相关文献, 未对检索词进行其他限制, 同时浏览了相关文献的参考文献来补充可能遗失的文献。检索时限为建库至 2017 年 4 月

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81301507; 81401666)。

作者简介: 魏益国, 男, 技师, 主要从事乙肝及肝损伤的免疫调控研究。△ 通信作者, E-mail: chenjie_wch@163.com。

20 日,具体检索策略见图 1。

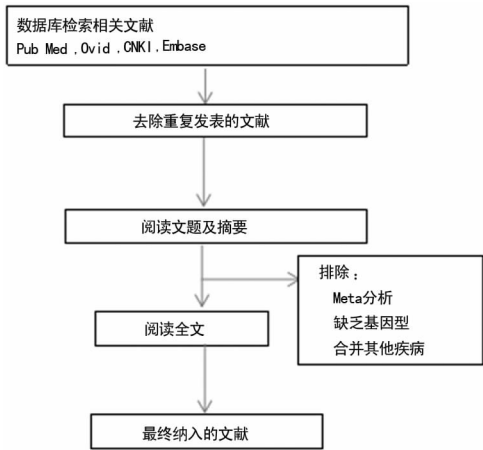


图 1 检索策略流程图

1.2 纳入标准

1.2.1 研究类型 PNPLA3 基因多态性与 NAFLD 肝损伤的横断面研究。

1.2.2 暴露因素 PNPLA3 rs738409 位点多态性。

1.2.3 结局指标 肝脏代谢指标丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、 γ -谷氨酰转氨酶(GGT)、TG、胆固醇(TC)水平。

1.3 排除标准 (1)没有具体基因型数据的文献;(2)合并 HIV/HCV 等感染;(3)肝纤维化未通过病理活检确诊;(4)研究对象为同一人群的重复文献;(5)研究对象有代谢综合征、糖尿病等干扰本研究的基础疾病的文献。

1.4 方法

1.4.1 文献筛选 所有纳入文献均首先由 2 位研究者独立筛选文献、提取资料,然后交叉审核。如遇分歧,则由第 3 位研究者对分歧内容进行校对审核,判定是否纳入。

1.4.2 数据提取 所有纳入文献中的资料由自制提取表提取,包含(1)第一作者,发表年份,国家,受试者的年龄、种族、体质量指数(BMI)、性别;(2)各基因型对应的样本量,相应肝功能指标;(3)是否符合哈-温平衡(HWE)。

1.4.3 纳入文献的质量评价 本研究采用 Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ)量表作为纳入横断面研究的方法学质量评分标准,共分为 6 个条目:是否明确了资料的来源;是否给出了人群选择的纳入及排除标准;是否给出了鉴别患者的时间段;研究对象是否连续;纳入的种族是否相同;是否符合 HWE。分别作出“是”“否”和“不清楚”的评价,“是”得 1 分,“否”或者“不清楚”得 0 分,评价也是先由 2 位研究人员独立完成,如遇分歧,则由第 3 位研究人员进行校对。

1.5 统计学处理 本研究采用 STATA14.0 软件进行分析;计数资料采用比值比(OR)为效应指标,计量资料采用加权均数差(WMD)为效应指标,各效应量均给出其点估计值和 95%CI,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义;纳入研究结果间的异质性采用 χ^2 检验进行分析(检验水准为 $\alpha=0.1$),同时结合 I^2 定量判断异质性的 大小,若各研究结果间无统计学异质性 ($I^2<50\%$),采用固定效应模型进行 Meta 分析;若各研究结果间存在统计学异质性,则采用随机效应模型进行 Meta 分析 ($I^2>50\%$),对有明显的临床异质性采用亚组分析或敏感性分析等方法进行处理。

2 结 果

2.1 纳入文献结果及特点 初筛相关文献 45 篇,其中中文 5 篇,英文 40 篇,经过研究人员逐步筛选,最终纳入 9 篇文献^[2-10]。纳入研究的基本特征见表 1。

表 1 筛选文献基本信息表

纳入研究	种族	测序方法	例数(GG/GC+CC)	结局指标	人群构成	男性	是否符合 H-W 平衡	评分
STATTERMAYER 等 ^[4]	高加索	Real Time PCR	174(104/74)	ALT、AST、GGT、TC、TG	青年	120	是	4
徐静等 ^[2]	亚洲	PCR	176(161/15)	ALT、TG、TC、GGT	青年	121	是	4
ZAIN 等 ^[9]	亚洲	Real Time PCR	144(96/48)	ALT、AST、GGT、TC、TG	青年	NK	是	4
HOTTA 等 ^[5]	亚洲	Taqman assay	253(208/45)	ALT、AST、TC、TG	中老年	NK	是	5
PETTA 等 ^[8]	高加索	Taqman allelic discrimination assay	434(192/242)	ALT、TC、TG	中老年	197	是	5
YASUI 等 ^[6]	亚洲	Taqman assay	276(186/90)	ALT、AST、GGT	中老年	112	是	5
TAI 等 ^[10]	亚洲	Taqman allelic discrimination assay	177(100/77)	ALT、AST、GGT、TC、TG	青年	56	是	5
吴凤娟等 ^[3]	亚洲	Taqman assay	85(71/14)	ALT、AST、GGT、TC、TG	青年	NK	是	5
KANTARTZIS 等 ^[7]	高加索	Taqman assay	330(142/188)	ALT、AST	青年	130	是	6

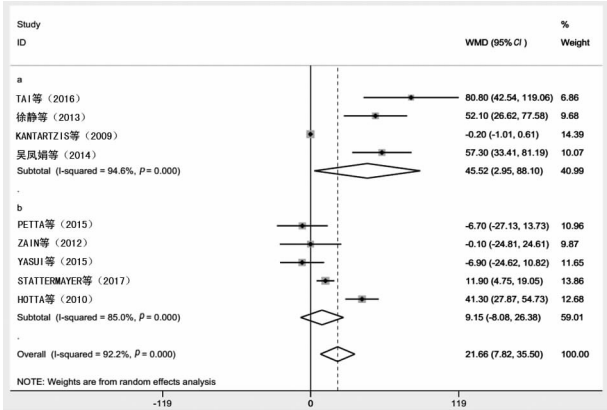
2.2 Meta 分析结果

2.2.1 PNPLA3 rs738409 与 ALT 水平的相关性研究 共纳入 9 个研究,分析结果显示,PNPLA3 rs738409 基因多态性与 ALT 水平相关($MD=21.661,95\%CI:$

$7.818\sim35.504,P=0.002$)。基于年龄的亚组分析结果显示,在青年人中 PNPLA3 rs738409 基因多态性与 ALT 水平相关($MD=45.522,95\%CI:2.947\sim88.098,P=0.036$);而在中老年组中该基因位点多态性与 ALT

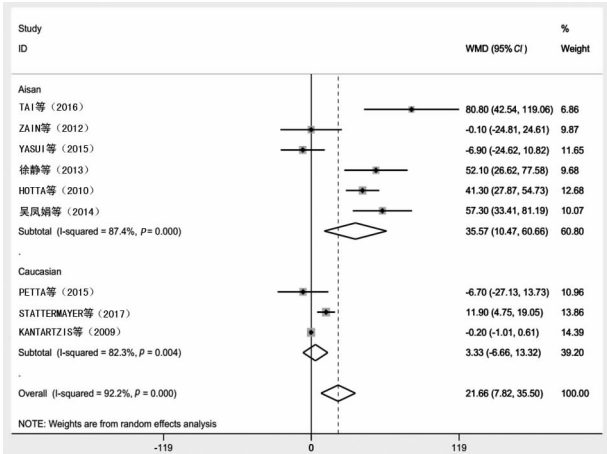
水平无相关性($MD=21.661, 95\%CI: 7.818\sim 35.504, P=0.298$)。基于人种亚组分析显示,在亚洲人群中 PNPLA3 基因的多态性与 ALT 水平相关($MD=35.566, 95\%CI: 10.471\sim 60.662, P=0.005$);但在高加索人群研究中该基因与 ALT 水平无相关性($MD=3.330, 95\%CI: -6.660\sim 13.320, P=0.514$)。见图 2、图 3。

2.2.2 PNPLA3 rs738409 与 AST 水平的相关性研究 共纳入 7 个研究,分析结果显示,PNPLA3 rs738409 基因多态性与 AST 水平相关($MD=13.842, 95\%CI: 3.950\sim 23.735, P=0.006$)。基于亚组分析显示,在亚洲人群中,该基因多态性与 AST 水平相关($MD=22.240, 95\%CI: 2.499\sim 41.981, P=0.027$);但在对高加索人群的分析结果显示,PNPLA3 与 AST 水平无相关性($MD=-0.648, 95\%CI: -3.515\sim 2.220, P=0.658$)。基于年龄分析的结果显示,PNPLA3 基因在青年人($MD=30.797, 95\%CI: -9.956\sim 71.550, P=0.139$)与中老年人($MD=5.739, 95\%CI: -6.845\sim 18.324, P=0.371$)中差异均无统计学意义。见图 4、图 5。



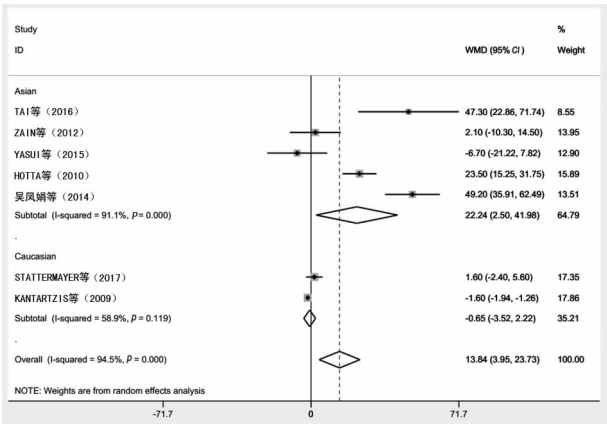
注: a 为青年人群(<50 岁); b 为中老年人(>=50 岁)

图 2 PNPLA3 rs738409 与 ALT 水平的相关性
年龄亚组分析



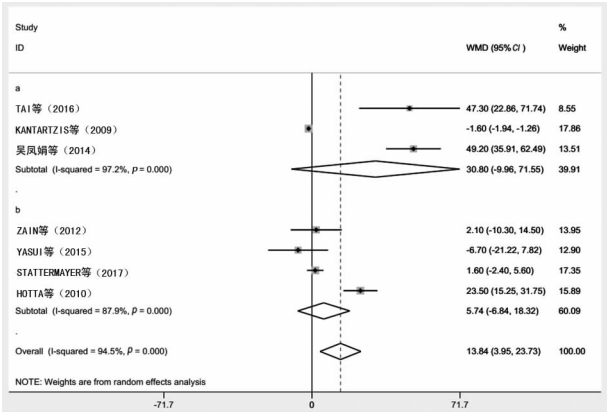
注: Asian 为亚洲人群; Caucasian 为高加索人群

图 3 PNPLA3 rs738409 与 ALT 水平的相关性
种族亚组分析



注: Asian 为亚洲人群; Caucasian 为高加索人群

图 4 PNPLA3 rs738409 与 AST 水平的相关性
种族亚组分析



注: a 为青年人群(<50 岁); b 为中老年人(>=50 岁)

图 5 PNPLA3 rs738409 与 AST 水平的相关性
年龄亚组分析

2.2.3 PNPLA3 rs738409 与 GGT 水平的相关性研究 共纳入 6 个研究,分析结果显示,PNPLA3 rs738409 基因多态性与 GGT 水平无相关性($MD=-1.057, 95\%CI: -13.801\sim 11.687, P=0.871$)。

2.3 PNPLA3 rs738409 与肝细胞脂代谢的相关性

2.3.1 PNPLA3 rs738409 与 TG 水平的相关性研究 共纳入 6 个研究,分析结果显示,该位点基因多态性与 TG 水平无相关性($MD=-19.085, 95\%CI: -38.834\sim 0.665, P=0.058$)。

2.3.2 PNPLA3 rs738409 与 TC 水平的相关性研究 共纳入 6 个研究,分析结果显示,PNPLA3 rs738409 基因多态性与 TC 水平无相关性($MD=-2.793, 95\%CI: -15.282\sim 9.697, P>0.05$)。

2.4 敏感性分析 在逐一剔除每一篇原始文献后,Meta 分析的结果并未发生方向改变,仅在 AST 水平研究中在剔除文献[10]时 MD、95%CI 值稍大于原值,但 I^2 未明显改变,表明 Meta 结果稳定可靠。

3 讨论

含 patatin 样磷脂酶域 3,即 PNPLA3,位于 22 号染色体长臂 1 区 3 带 3 亚带 1 次亚带,是由 3T3-L1 细胞分化为成熟脂肪细胞过程中的一种非分泌型脂

肪因子,所编码的蛋白是由 481 个氨基酸组成的非分泌蛋白,又称脂肪滋养蛋白,其 N 端具有高度的保守序列 Gly-X-Ser-X-Gly,有非特异性酰基水解酶活性,可促进 TG 水解,在肝脏组织中水平最高,部分体外试验证实 PNPLA3 具有 TG 水解酶和酰基甘油转酰基酶活性,但体内生物学活性仍不十分清楚。研究表明 PNPLA3 基因 148 位点基因变异导致酶的活性中心被掩盖,使 PNPLA3 失去水解酶活性,从而影响肝脏脂肪细胞功能并直接反映在 ALT、AST、TG 等指标的明显升高,且 G 等位基因携带者与 C^[11] 等位基因携带者相比,发生 NAFLD 的相对危险度升高。

本次研究采用 Meta 分析的方法探讨基因 PNPLA3 rs738409 位点的多态性与 NAFLD 肝细胞损伤及脂代谢水平的相关性,结果显示,PNPLA3 rs738409 位点的突变对于肝细胞功能的损伤有着明显相关性,这与 HOTTA 等^[5] 的研究结果保持了一致性。本次研究中 ALT 和 AST 水平分别为 21.661 IU/L、10.221 IU/L,表明 PNPLA3 rs738409 位点的多态性与 NAFLD 肝细胞损伤有相关性。在 PNPLA3 基因与肝细胞脂代谢研究中得到 TG 和 TC 水平分别为 0.215、0.072 mmol/L,PNPLA3 rs738409 位点与 TG 水平无相关性,这与 TAI 等^[10] 研究的结果不一致,分析可能是因为本次研究纳入的文献较少,研究对象数量不足导致最后得到的结果与所查阅的资料不符。

本研究存在的局限性:(1)全文纳入的文献仅 9 篇,共涉及 34 个研究,4 285 例患者,样本量小,导致检验效能较低,导致结果与其他研究人员的结论不一致的情况;(2)所纳入的全部文献中,人种分布不平衡,6 篇文献的研究对象均为亚洲人,仅 3 篇是高加索人,因而导致一些研究无法进行人种亚组分析;(3)通过对年龄的亚组分析,异质性虽减小,但依然很高,提示该研究的差异性可能还有其他因素影响;(4)由于所有研究纳入的文献均少于 10 篇,所以文中并未对纳入的文章进行发表偏移分析,从而可能造成研究结果与真实情况假性相关。

综上所述,PNPLA3 rs738409 位点的突变与 NAFLD 肝细胞功能损伤及脂代谢密切相关,但受限于所纳入研究的文献数量、病例总数、人种分布等影响,以上结论仍需更多的研究加以证实。

参考文献

[1] 石明巧,陈捷,王兰兰,等. TM6SF2 基因 rs58542926 多态性与肝细胞损伤和肝纤维化严重程度相关性的 Meta 分

析[J]. 中国循证医学杂志,2016,16(6):655-662.

[2] 徐静,辛永宁,吕维红. PNPLA3 rs738409 基因多与非酒精性脂肪性肝病遗传易感性的关系[J]. 中华肝脏病杂志,2013,21(8):619-623.

[3] 吴凤娟,徐芸. PNPLA3 基因 rs738409 多态性与非酒精性脂肪性肝病遗传易感性的关联分析[D]. 郑州:郑州大学,2014.

[4] STATTERMAYER A F, TRAUSSNIGG S, AIGNER E, et al. Low hepatic copper content and PNPLA3 polymorphism in non-alcoholic fatty liver disease in patients without metabolic syndrome[J]. J Trace Elem Med Biol, 2017, 39:100-107.

[5] HOTTA K, YONEDA M, HYOGO H, et al. Association of the rs738409 polymorphism in PNPLA3 with liver damage and the development of nonalcoholic fatty liver disease[J]. BMC Med Genet, 2010, 11:172-179.

[6] YASUI K, KAWAGUCHI T, SHIMA T, et al. Effect of PNPLA3 rs738409 variant (I148 M) on hepatic steatosis, necroinflammation, and fibrosis in Japanese patients with chronic hepatitis C[J]. J Gastroenterol, 2015, 50(8):887-893.

[7] KANTARTZIS K, PETER A, MACHICAO F, et al. Dissociation between fatty liver and insulin resistance in humans carrying a variant of the patatin-like phospholipase 3 gene[J]. Diabetes, 2009, 58(11):2616-2623.

[8] PETTA S, VANNI E, BUGIANESI E, et al. PNPLA3 rs738409 I748M is associated with steatohepatitis in 434 non-obese subjects with hepatitis C[J]. Aliment Pharmacol Ther, 2015, 41(10):939-948.

[9] ZAIN S M, MOHAMED R, MAHADEVA S, et al. A multi-ethnic study of a PNPLA3 gene variant and its association with disease severity in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Hum Genet, 2012, 131(7):1145-1152.

[10] TAI C M, HUANG C K, TU H P, et al. Interactions of a PPARGC1A Variant and a PNPLA3 Variant Affect Non-alcoholic Steatohepatitis in Severely Obese Taiwanese Patients[J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(12):e3120.

[10] KIM H, LEE K W, LEE K, et al. Effect of PNPLA3 I148M polymorphism on histologically proven non-alcoholic fatty liver disease in liver transplant recipients[J/OL]. Hepatol Res, 2017[2017-06-25]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Effect+of+PNPLA3+I148M+polymorphism+on+histologically+proven+non-alcoholic+fatty+liver+disease+in+liver+transplant+recipients>.