

# 基于核磁共振技术的脂蛋白谱揭示遗传变异对 代谢相关脂肪性肝病易感性的贡献

黄庆霞<sup>1</sup>, 易小璇<sup>1</sup>, 唐惠儒<sup>1</sup>

(1. 复旦大学人类表型组研究院生命科学学院, 上海 200438; )

**摘要:** 利用基于核磁共振技术的脂蛋白及其亚类定量分析法发现代谢功能障碍状态可能是 PNPLA3/TM6SF2 突变参与肝脂肪变性发展的先决条件。

**关键词:** 代谢相关脂肪性肝病; 非酒精性脂肪肝; 脂蛋白; 含 Patatin 样磷脂酶域蛋白 3; 跨膜 6 超家族成员 2;

中图分类号: R33.1

文献标识码: A

Insights into contribution of genetic variants towards the susceptibility of  
metabolic associated fatty liver disease revealed by the nuclear magnetic  
resonance-based lipoprotein profilin

Huang Qingxia<sup>1</sup>, Yi Xiaoxuan<sup>1</sup>, Tang Huiru<sup>1</sup>

(1. Human Phenome Institute, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China ;)

**Abstract:** Using the quantitative analysis of lipoprotein subfractions based on nuclear magnetic resonance (NMR), it was found that metabolic dysfunction status may be a prerequisite for the contribution of PNPLA3/TM6SF2 variants to the development of liver steatosis.

**Keywords :** Lipoprotein; Lipoprotein subfractions; Proton nuclear magnetic resonance; Patatin-like phospholipase domain-containing protein 3; transmembrane 6 superfamily 2;

2020 年初, 以悉尼大学 JacobGeorge 教授和索邦大学的 VladRatzu 教授为代表的 15 个国家 31 名专家发表了将 NAFLD 更名为 MAFLD 的专家共识, 根据这个倡议, MAFLD 被定义为: 基于肝活检组织学或影像学甚至血液生物标志物检查提示存在脂肪肝, 同时满足以下三项条件之一: 超重/肥胖、2 型糖尿病、代谢功能障碍<sup>[1]</sup>。与非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的诊断标准相比<sup>[2]</sup>, MAFLD 的定义排除了与代谢功能障碍无关的脂肪肝患者, 但包含了大量伴有代谢性脂肪肝及其他已知肝病的患者。以往的研究发现, NAFLD 与两大基因突变有关: 含 Patatin 样磷脂酶域蛋白 3 (Patatin-like phospholipase

domain-containing protein 3, PNPLA3)<sup>[3]</sup>, 跨膜 6 超家族成员 2 (transmembrane 6 superfamily 2, TM6SF2)<sup>[4]</sup>。然而, 它们与个体代谢紊乱状态在 MAFLD 发生发展中的作用从未被研究过。

基于此, 在上海长风研究的 4,653 名参与者中检测了几种目前公认的 NAFLD 相关基因变异与 NAFLD、MAFLD 和非代谢性脂肪肝患病率的关系。

## 1 研究对象

基于上海长风队列, 于 2009 年 6 月至 2012 年 12 月招募了 6,595 名参与者。其中 4653 名参与者有肝超声数据, 并进一步利用核磁共振技术定量分析该人群的血浆脂蛋白及其亚类组成。

## 2 脂蛋白定量分析

### 2.1 样品前处理

取 350ul 血浆/血清至 1.5mL EP 管中, 加 350ul 磷酸盐缓冲液 (0.085M, 含 10%重水, pH 为 7.4), 颠倒混匀。取 600ul 加至专用 5mm 核磁管, 盖上盖子, 放入 96 孔样品盒后上机检测。

### 2.2 核磁共振谱仪参数设置

血浆代谢组学分析在配备 5mm BBI 探针的 Bruker Avance III HD 600 MHz NMR 光谱仪 (Bruker Biospin GmbH, Germany) 上进行。将处理好的样品放置在配备冷却系统的 Bruker Sample Jet™ 自动进样器中待分析, 冷却系统温度为 4°C。使用标准的 NOESYGPPR1D 脉冲序列采集 1D 核磁共振氢谱, 在 310K 的温度下采集, 谱宽为 20ppm, 线宽因子为 0.3Hz 经过傅里叶变换后, 使用 Bruker Topspin 3.6.0 和 ICON NMR 自动处理数据。然后基于 1H NMR 谱使用 Bruker IVDr 脂蛋白亚类分析 (Bruker IVDr Lipoprotein Subclass Analysis, B.I.LISATM) 方法对脂蛋白参数进行自动定量。

## 3 结果与讨论

结果显示至少有一种代谢紊乱的代谢功能障碍参与者的肝脏脂肪含量在 PNPLA3 和 TM6SF2 基因变异携带者中显著增高 (PNPLA3:  $p$  for trend  $<0.001$ , TM6SF2:  $p$  for trend = 0.002。已调整年龄、性别、BMI 体重指数和空腹血糖) 而无代谢紊乱的参与者, PNPLA3/TM6SF2 基因变异携带者与非携带者肝脂肪含量无显著差异 (图 1A-B)。表明任何代谢功能障碍的存在, 包括但不限于肥胖, 可能是多种基因变异对肝脏脂肪变性的有害影响的先决条件, PNPLA3 rs738409 和 TM6SF2 rs58542926 基因变异与中国成年人 MAFLD 的发生有关。

进一步分析发现在有代谢障碍的参与者中, PNPLA3 变异与极低密度脂蛋白 1 (VLDL1) 中较低的游离胆固醇和甘油三酯浓度相关, 而 TM6SF2 变异与大多数 VLDL、VLDL1、VLDL2 和 VLDL3 成分的减少相关 (图 1C-D)。这些改变可能有助于 PNPLA3 或 TM6SF2 基因变异

携带者心血管死亡率的降低。然而，在没有代谢功能障碍的情况下，整个血清脂蛋白谱显示 PNPLA3 或 TM6SF2 变异携带者没有显著改变，这可能部分解释了在没有代谢功能障碍的参与者中 PNPLA3/TM6SF2 变异与脂肪肝之间联系的断开[5]。

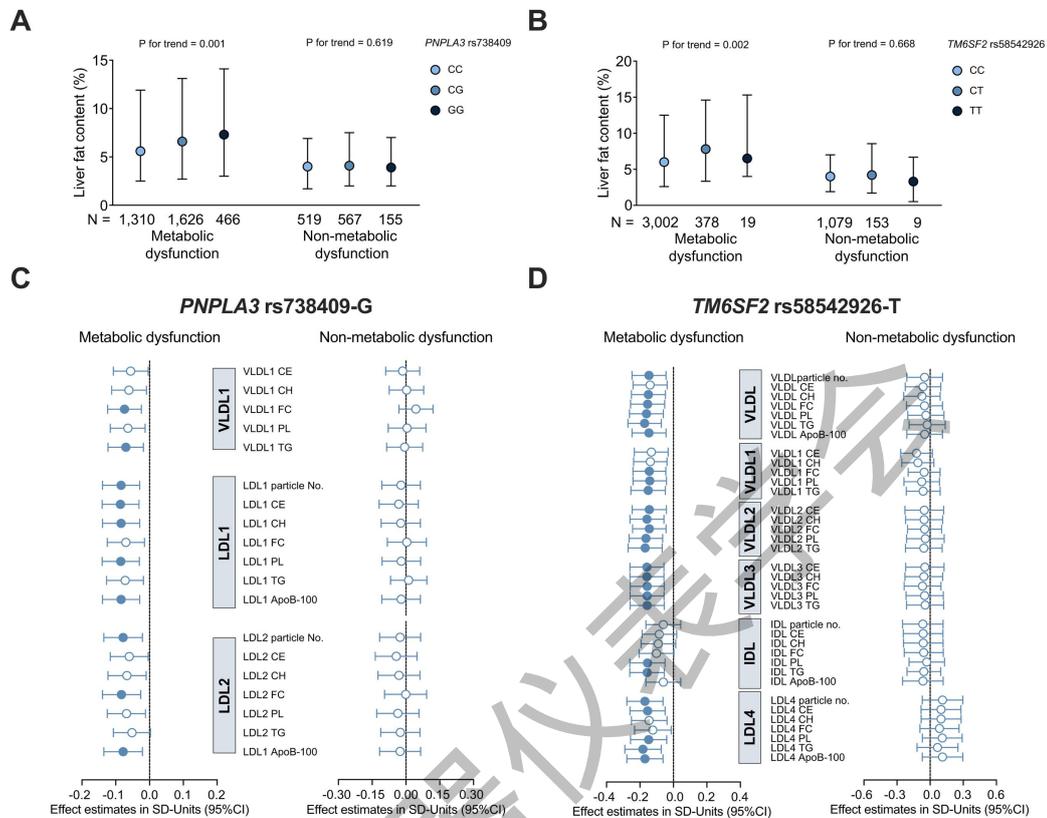


图1 PNPLA3/TM6SF2 变异对按代谢状态划分的参与者的肝脏脂肪含量和脂蛋白谱的影响。

## 4 结论

这些发现，加上先前的动物机制研究表明，代谢功能障碍状态可能是 PNPLA3/TM6SF2 变异对肝脏脂肪变性发展的贡献的先决条件。在 NAFLD 诊断标准下，AFLD/病毒性肝炎患者脂肪肝的遗传风险容易被忽视，而 MAFLD 诊断标准更能代表需要评估脂肪肝遗传风险的人群。

### 参考文献:

- [1]M. Eslam, P.N. Newsome, S.K. Sarin, et al. A new definition for metabolic dysfunction-associated fatty liver disease: an international expert consensus statement. J Hepatol, 73 (1) (2020), pp. 202-209.
- [2]N. Chalasani, Z. Younossi, J.E. Lavine, et al. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College

of Gastroenterology Gastroenterology, 142 (7) (2012), pp. 1592-1609.

[3]S. Romeo, J. Kozlitina, C. Xing, et al. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease Nat Genet, 40 (12) (2008), pp. 1461-1465.

[4]J. Kozlitina, E. Smagris, S. Stender, et al. Exome-wide association study identifies a T M6SF2 variant that confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease Nat Genet, 46 (4) (2014), pp. 352-356.

[5]Xia M F, Zeng H L, Wang S J, et. al. Insights into contribution of genetic variants towards the susceptibility of MAFLD revealed by the NMR-based lipoprotein profiling

[J]. Journal of Hepatology, 2021 74(4): 974-977.

中国仪器仪表学会