

中国汉族人群LIPA rs1051338位点多态性与非酒精性脂肪性肝病发病风险的相关性分析

李梦昆¹, 杜水仙^{2*}

¹青岛大学医学部, 山东 青岛

²青岛市市立医院感染性疾病科, 山东 青岛

收稿日期: 2024年4月29日; 录用日期: 2024年5月22日; 发布日期: 2024年5月29日

摘要

目的: 非酒精性脂肪性肝病(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是最重要的慢性肝脏疾病, 其发生发展受遗传等因素影响。国外研究报道LIPA rs1051338是影响NAFLD发生的潜在位点, 但在中国人人群中尚未有报道。本研究拟探讨LIPA基因rs1051338位点多态性与中国北方汉族人群NAFLD发生风险的相关性, 并揭示其对于血脂等指标的影响。方法: 本研究采用病例对照研究方法, 对比NAFLD组与健康对照组间LIPA rs1051338位点的等位基因及基因型分布之间的差异, 并通过logistic回归模型分析LIPA rs1051338位点基因多态性与NAFLD易感性的关系。对比不同基因型携带者之间临床资料间的差异揭示该位点突变对于各种指标的影响。结果: LIPA rs1051338位点的等位基因和基因型在NAFLD组和健康对照组间的分布均无显著差异($P=0.195$ 和 0.434)。二元logistic回归模型分析LIPA rs1051338位点基因多态性与NAFLD发生风险无显著相关。在全部受试者和NAFLD患者中, CA/CC基因型携带者的SBP、DBP和LDL水平较AA基因型携带者明显升高(P 均 <0.05)。结论: 在我国北方汉族人群中, LIPA基因rs1051338位点多态性与NAFLD发生风险不具有相关性。在全部受试者和NAFLD患者中, CA/CC基因型携带者的SBP、DBP和LDL水平较AA基因型携带者明显升高。

关键词

非酒精性脂肪性肝病, 基因多态性, LIPA rs1051338

Correlation Analysis of LIPA rs1051338 and Risk of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Chinese Han Population

Mengkun Li¹, Shuixian Du^{2*}

¹Medical Science Center, Qingdao University, Qingdao Shandong

²Department of Infectious Disease, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao Shandong

*通讯作者。

文章引用: 李梦昆, 杜水仙. 中国汉族人群 LIPA rs1051338 位点多态性与非酒精性脂肪性肝病发病风险的相关性分析[J]. 临床医学进展, 2024, 14(5): 1891-1901. DOI: 10.12677/acm.2024.1451631

Abstract

Objective: Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) has become the most prevalent chronic liver diseases, and its occurrence and development are influenced by genetic factors. Foreign studies showed that LIPA rs1051338 was associated with the risk of NAFLD, but no related studies were reported in China. This study aims to explore the correlation between LIPA rs1051338 polymorphism and the risk of NAFLD in northern Han population China, and to reveal its influence on lipid and other indicators. **Methods:** A case-control study was conducted to compare the distribution of alleles and genotypes of LIPA rs1051338 between NAFLD group and healthy control group, and the relationship between LIPA rs1051338 polymorphism and the risk of NAFLD was analyzed by logistic regression model. Comparison of clinical data between carriers of different genotypes revealed the effect of LIPA rs1051338 polymorphism on various indicators. **Results:** There was no significant difference in the distribution of alleles and genotypes of LIPA rs1051338 between NAFLD group and healthy control group ($P = 0.195$ and 0.434). There was no significant correlation between LIPA rs1051338 polymorphism and the risk of NAFLD by binary logistic regression analysis. In all subjects and NAFLD patients, the levels of SBP, DBP and LDL in CA/CC genotype carriers were significantly higher than those in AA genotype carriers (all $P < 0.05$). **Conclusion:** There is no correlation between LIPA rs1051338 polymorphism and the risk of NAFLD in northern Han population, China. In all subjects and NAFLD patients, the levels of SBP, DBP and LDL in CA/CC genotype carriers were significantly higher than those in AA genotype carriers.

Keywords

Nonalcoholic Fatty Liver Disease, Gene Polymorphism, LIPA rs1051338

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

据统计非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)影响全球近 1/3 人口, 已成为世界范围内最常见的慢性肝脏疾病[1]。在美国和欧洲国家 NAFLD 已成为最常见的肝移植指征之一[2]。在我国, NALFD 也同样取代病毒性肝病成为慢性肝病最重要的病因, 同时 NAFLD 成为健康查体肝脏功能生化指标异常的首要原因[3]。除全球范围的广泛流行外, NAFLD 的患病率也在迅速升高, 与 1990~2006 年统计全球患病率 25.26%相比, 2016~2019 年统计的全球患病率达 38.00%, 上升幅度达到 50.4% [4]; 并且同期统计的超声诊断的 NAFLD 患病率也从 25.16%上升到了 34.59% [4]。在地区分布上, NAFLD 患病率也存在显著差异, 患病率最高的是拉丁美洲(44.37%), 亚太地区(28.02%)和西欧(25.10%)患病率较低, 包括我国在内的东亚地区(29.71%) NALFD 患病率处于中等水平[4]。以目前形势来看, 对 NAFLD 的预防和诊治成为全球范围有待解决的公共健康问题。

目前 NAFLD 发病机制尚需要进一步研究明确, 之前得到较多认可的“二次打击学说”也被目前的“多重打击学说”所取代。多重打击学说认为, NAFLD 受到胰岛素抵抗、脂肪组织所分泌的激素、营养状况、肠道菌群及遗传因素等共同影响[5], 并且中 NAFLD 的发生发展过程中, 遗传因素也被发现起到

越发重要的作用。

LIPA 基因负责编码的蛋白质为溶酶体酸性脂肪酶(lysosomal acid lipase, LAL), 其可将受体介导内吞的脂蛋白相关胆固醇酯、甘油三酯(triacylglycerol, TG)水解为 FA 和游离胆固醇及甘油等物质[6], 是脂质代谢的重要组成部分。LAL 活性的降低导致了溶酶体内脂质积累和胞浆中游离胆固醇降低[7]。这可以促进甾醇调节元件结合蛋白活性的增加[8], 导致脂肪生成、胆固醇生物合成和极低密度脂蛋白生成增加。此外, LAL 活性下降会导致肝脏 X 受体介导的信号传导减少, 导致胆固醇外排减少[9][10]、胆固醇逆向转运[11], 从而引发血脂异常。LIPA 基因突变造成的 LAL 活性下降与多种疾病相关, 包括血脂异常/MetS [12]、心血管疾病[6] (cardiovascular disease, CVD)、NAFLD [13]以及溶酶体酸性脂肪酶缺乏症[14]。

2017 年时 Morris 等人发现 LIPA 基因 rs1051338 位点罕见等位基因突变导致 LAL 结构改变, 从而引发 LAL 水平和活性受到影响, 进而对脂质代谢产生影响, 最终引发心血管疾病发病[15]。2021 年 Andrea Pasta 等人曾在 NAFLD 相关血脂异常患者中开展的研究中发现 LIPA rs1051338 位点罕见等位基因导致 NAFLD 患者甘油三酯和肝转氨酶水平升高, 高密度脂蛋白胆固醇水平降低, 并且与 NAFLD 患者更严重的脂肪变性程度独立相关[16]。

目前国内尚未开展 LIPA rs1051338 位点同 NAFLD 易感性的相关研究, 本研究希望探究 LIPA 基因 rs1051338 位点单核苷酸多态性与中国青岛地区汉族人群 NAFLD 易感性的相关性, 以完善 NAFLD 遗传易感性相关研究, 为 NAFLD 发病机制及新的治疗方法提供思路。

2. 研究方法

2.1. 研究人群

本研究受试者均为 2022 年 6 月至 2023 年 6 月期间就诊于青岛市市立医院消化内科、感染性疾病科以及健康体检中心的患者和健康人群。受试者经肝胆胰脾肾超声评估肝脏情况, 根据《非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018 更新版)》进行 NAFLD 诊断[17], 达到诊断标准的患者纳入 NAFLD 组。健康对照组选取同期就诊的健康查体人群, 经病史、查体及辅助检查排除 NAFLD 及明显疾病, 纳入健康对照组。根据诊断标准对受试者人群进行筛选纳入 320 名受试者, 包括 NAFLD 组受试者 214 名和健康对照组 106 名。

2.2. 临床指标

受试者统一进行基本信息采集和身高、体重、血压的测量, 并根据 $BMI = \text{体重(kg)} / \text{身高}^2(\text{m})$ 计算获得体质量指数(body mass index, BMI)。受试者经 12 小时以上禁饮食后抽取静脉血进行血液生化指标检测, 具体包括: 血清丙氨酸氨基转移酶(alanine amino transferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate amino transferase, AST)、 γ -谷氨酰转移酶(Gama-glutamyl transferase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、TG、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)等。同时留取血液样本提取基因组 DNA 并检测 LIPA rs1051338 位点基因型。

2.3. 统计学分析

本研究为病例对照研究, 采用 EPITOOLS 在线工具并以如下数据计算样本量: 暴露率为 0.25010 (参考 Andrea Pasta 等人研究中提及全球次要等位基因频率), 可信区间设置为 90%, 把握度设置为 0.8, 当预设比值比为 2 时计算所需最小样本量为 236, 当预设比值比为 2.5 时所需最小样本量为 130 例, 以此为目标进行受试者人群筛选。

本研究统计分析通过 SPSS 26.0 版软件进行数据统计分析。应用 Pearson χ^2 检验分别检测 NAFLD 组及健康对照组相关等位基因及基因型的分布是否满足 Hardy-Weinberg (H-W) 平衡定律, 用以表明受试样本的群体代表性, 以 $P > 0.05$ 表明具备群体代表性。比较组间基因型和等位基因频率等定性资料是采用卡方检验(χ^2), 对于连续型定量资料经过方差齐性检验后, 以均数 \pm 标准差方式描述符合正态分布的变量, 符合非正态分布的变量通过四分位数进行描述, 即 P50 (P25, P75)。比较两组之间连续型定量资料是否存在通过 t 检验进行组间比较, 否则通过非参数检验进行比较。使用 logistic 回归模型评估 LIPARs1051338 位点等位基因与 NAFLD 易感性之间的关系, 并计算比值比(odds ratio, OR)及 95%可信区间(95% credibility interval, 95%CI)。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

3. 结果

3.1. NAFLD 组与健康对照组临床指标的比较

本研究共纳入 NAFLD 患者 214 例, 其中男性 109 例(50.93%), 女性 105 例(59.07%), 年龄区间 29~86 (52.75 \pm 13.33)岁; 纳入健康对照 106 名, 其中男性 53 例(50%), 女性 53 例(50%), 年龄区间为 19~68 (40.87 \pm 12.77)岁。与对照组相比, NAFLD 组受试者表现为较高的 BMI、SBP、ALT、AST、GGT、ALP、TC、TG、LDL 水平和较低的 HDL 水平。两组人群中性别、DBP、TG 和 LDL 的差异无统计学意义(P 均 >0.05), 其余指标均具有显著差异(P 均 <0.05)。具体结果见表 1。

Table 1. Comparison of clinical data between NAFLD group and control group
表 1. NAFLD 组和健康对照组的临床资料对比

各类指标	NAFLD 组	对照组	$\chi^2/t/Z$	P 值
性别(男/女)	109/105	53/53	0.025	0.875
年龄	52.75 \pm 13.33	40.87 \pm 12.77	7.561	<0.001
BMI (kg/m ²)	26.87 \pm 3.48	24.63 \pm 3.86	5.098	<0.001
SBP (mmHg)	130.00 (121.00, 142.00)	121.00 (114.00, 127.50)	-3.726	<0.001
DBP (mmHg)	77.00 (71.00, 84.00)	74.00 (69.00, 83.00)	-1.607	0.108
ALT (U/L)	28.36 (17.56, 41.96)	17.00 (12.95, 26.00)	-5.806	<0.001
AST (U/L)	24.45 (19.77, 32.97)	19.05 (16.07, 23.33)	-5.572	<0.001
GGT (U/L)	31.00 (21.15, 55.81)	18.00 (12.00, 26.00)	-7.138	<0.001
ALP (U/L)	87.17 (72.49, 105.37)	74.55 (58.66, 86.33)	-3.829	<0.001
FPG (mmol/L)	5.12 (4.59, 5.85)	4.91 (4.49, 5.20)	-2.543	0.011
TC (mmol/L)	5.09 (4.41, 5.80)	4.91 (4.26, 5.49)	1.286	0.199
TG (mmol/L)	1.74 (1.14, 2.46)	1.04 (0.79, 1.44)	-6.995	<0.001
HDL (mmol/L)	1.15 (1.00, 1.32)	1.30 (1.13, 1.49)	-4.186	<0.001
LDL (mmol/L)	3.11 (2.63, 3.53)	3.00 (2.45, 3.45)	-1.179	0.238

注: ① 缩写: 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)、身体质量指数(BMI)、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、血清丙氨酸转移酶(ALT)、血清天冬氨酸转移酶(AST)、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)、碱性磷酸酶(ALP)、空腹血糖(FPG)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL); ② 符合正态分布的资料通过均数 \pm 标准差表示, 符合非正态分布的资料用 P50 (P25, P75)表示; ③ 以 $P < 0.05$ 的差异有统计学意义。

3.2. LIPA 基因 rs1051338 位点 Hardy-Weinberg 遗传平衡分析

LIPA rs1051338 位点根据测序法获得三种基因型: AA、CA、CC, NAFLD 组中 AA 基因型携带者为 93 例, CA 基因型携带者为 95 例, CC 基因型携带者 26 例。其中 AA、CA、CC 基因型分别占 NAFLD 组 43.46%、44.39%和 12.15%。健康对照组中 AA 基因型携带者 53 例, CA 基因型携带者 44 例, CC 基因型携带者 9 例, 其中 AA、CA、CC 基因型分别占健康对照组的 50%、41.51%和 8.49%。对于 LIPA 基因 rs1051338 位点, NAFLD 组和健康对照组 Hardy-Weinberg 平衡定律检验 χ^2 值分别为 0.05 和 0.00, P 值分别为 0.97 和 1.00。本实验研究符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律, 具有群体代表性。具体结果见表 2。

Table 2. Hardy-Weinberg genetic balance test of LIPA rs1051338

表 2. LIPA 基因 rs1051338 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验

组别	NAFLD 组			健康对照组		
	AA	CA	CC	AA	CA	CC
频数(%)	93 (43.46)	95 (44.39)	26 (12.15)	53 (50.00)	44 (41.51)	9 (8.49)
预计频数	92	97	25	53	44	9
χ^2 值		0.05			0.00	
P 值		0.97			1	

注: ① 缩写: 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD); ② 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3.3. NAFLD 组和健康对照组中 LIPA rs1051338 等位基因及基因型的频率分布比较

根据本研究测得的实验数据, LIPA 基因 rs1051338 位点在 NAFLD 组和健康对照组之间的基因型分布频率差异不具有统计学意义($P = 0.434$), 各等位基因型分布频率差异同样不具有统计学意义($P = 0.195$)。见表 3。

Table 3. LIPA rs1051338 Genotype and allele frequency distribution

表 3. LIPA rs 1051338 位点基因型及等位基因频率分布

	rs1051338	NAFLD 组(n = 214)	健康对照组(n = 106)	χ^2	P
等位基因	A	281 (281.5)	150 (142.8)	1.677	0.195
	C	147 (136.5)	62 (69.2)		
基因型	AA	93 (97.6)	53 (48.4)	1.668	0.434
	CA	95 (93.0)	44 (46.0)		
	CC	26 (23.4)	9 (11.6)		
显性模型	CC + CA	121 (116.4)	53 (57.6)	1.223	0.269
	AA	93 (97.6)	53 (48.4)		
隐性模型	AA + CA	188 (190.6)	97 (94.7)	0.974	0.324
	CC	26 (23.40)	9 (11.6)		

注: ① 缩写: 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD); ② 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3.4. LIPA 基因 rs1051338 基因多态性与 NAFLD 易感性分析

应用二元 Logistic 回归模型分析 LIPA rs1051338 位点基因多态性与 NAFLD 易感性的关系, 结果如表 4 所示, LIPA rs1051338 位点基因型及等位基因分布与 NAFLD 易感性无明显相关(等位基因 OR = 1.266, 95%CI: 0.886~1.808, $P = 0.195$; 显性模型 OR = 1.301, 95%CI: 0.816~2.075, $P = 0.296$; 隐性模型 OR = 0.671, 95%CI 位 0.302~1.488, $P = 0.649$), 经过对 BMI、年龄、性别混杂因素进行校正后, LIPA rs1051338 位点基因多态性与 NAFLD 易感性的相关关系仍无统计学意义(显性模型 OR' = 1.225, 95%CI': 0.705~2.217, $P' = 0.471$; 隐性模型 OR' = 0.739, 95%CI: 0.302~1.810, $P' = 0.508$)。

Table 4. Logistic regression analysis of NAFLD risk factors

表 4. NAFLD 危险因素的 Logistic 回归分析结果

	等位基因及基因型	OR	95%CI	P 值	OR'	95%CI'	P'
等位基因	A	1.266	(0.886, 1.808)	0.195			
	C						
显性模型	CA/CC	1.301	(0.816, 2.075)	0.296	1.225	(0.705, 2.127)	0.471
	AA						
隐性模型	AA/CA	0.671	(0.302, 1.488)	0.649	0.739	(0.302, 1.810)	0.508
	CC						

注: ① 缩写: 非酒精性脂肪肝(NAFLD); ② OR'、95%CI'、 P' 值分别为校正年龄、性别、BMI 后的 OR、95%CI、 P 值; ③ 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3.5. 全部受试者人群中 CA/CC 基因型携带者与 AA 基因型携带者之间各项指标比较

在全部受试者人群中, LIPA 基因 rs1051338 位点 CA/CC 基因型受试者相比较于 AA 基因型受试者, 在 BMI、SBP、DBP、TC、TG、HDL 和 LDL 水平上较高, 在 ALT、AST、GGT 和 ALP 水平上较低, 其中差异具有统计学意义的仅有 SBP、DBP 和 LDL (P 均 <0.05), 其余差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。见表 5。

Table 5. Comparison of various indexes between CA/CC genotype carriers and AA carriers in all subjects

表 5. 全受试者人群中 CA/CC 基因型携带者与 AA 携带者各项指标比较

指标	AA	CA/CC	$\chi^2/t/Z$	P 值
性别(男/女)	92/82	70/76	0.771	0.380
年龄	48.81 ± 14.35	48.91 ± 14.24	0.061	0.951
BMI (kg/m ²)	25.88 ± 3.70	26.38 ± 3.78	1.169	0.243
SBP (mmHg)	127 (118.00, 135.00)	129 (120.75, 143.75)	-2.569	0.010
DBP (mmHg)	75 (71.00, 79.00)	78.5 (71.00, 86.50)	-2.557	0.011
ALT (U/L)	26.085 (14.76, 39.31)	21.43 (15.26, 33.86)	-1.133	0.257
AST (U/L)	23.99 (18.3675, 29.77)	21 (18.0175, 27.79)	-1.401	0.161
GGT (U/L)	28 (18.175, 46.99)	22.71 (17, 41.02)	-1.905	0.057

续表

ALP (U/L)	86.28 (70.76, 100.71)	83 (69.71, 99.91)	-0.689	0.491
FPG (mmol/L)	5.09 (4.595, 5.8)	4.98 (4.49, 5.70)	-1.407	0.159
TC (mmol/L)	4.97 (4.24, 5.68)	5.17 (4.46, 5.86)	-1.468	0.142
TG (mmol/L)	1.39 (2.14, 2.14)	1.4 (4.53, 5.71)	-0.656	0.512
HDL (mmol/L)	1.17 (1.02, 1.36)	1.24 (1.08, 1.43)	-1.848	0.065
LDL (mmol/L)	2.96 (2.50, 3.47)	3.16 (2.68, 3.57)	-2.169	0.030

注: ① 缩写: 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)、身体质量指数(BMI)、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、血清丙氨酸转移酶(ALT)、血清天冬氨酸转移酶(AST)、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)、碱性磷酸酶(ALP)、空腹血糖(FPG)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL); ② 符合正态分布的资料通过均数 \pm 标准差表示, 符合非正态分布的资料用 P50 (P25, P75)表示; ③ 以 $P < 0.05$ 的差异有统计学意义。

3.6. NAFLD 组人群中 CA/CC 基因型携带者与 AA 基因型携带者之间各项指标比较

在 NAFLD 患者中, 对比 NAFLD 组患者不同基因型之间的各项指标发现, CA/CC 基因型携带者的 SBP、DBP、TC、HDL 和 LDL 水平较高, BMI、ALT、AST、GGT、ALP、FPG 和 TG 的水平较低。其中仅血压 SBP、DBP 与 LDL 差异存在统计学意义($P < 0.05$)。见表 6。

Table 6. Comparison of various indexes between CA/CC genotype carriers and AA carriers in NAFLD

表 6. NAFLD 组人群中 C 等位基因携带者与非携带者各项指标比较

指标	AA	CA/CC	$\chi^2/t/Z$	P 值
性别(男/女)	61/60	48/45	0.003	0.862
年龄	53.49 \pm 13.24	52.17 \pm 13.42	-0.718	0.474
BMI (kg/m ²)	26.78 \pm 3.40	26.94 \pm 3.56	0.326	0.745
SBP (mmHg)	127 (118.00, 135.00)	131.5 (123.25, 147.75)	-2.294	0.022
DBP (mmHg)	75 (71.00, 79.00)	79 (71.75, 88.00)	-2.284	0.022
ALT (U/L)	29.63 (17.39, 50)	24.22 (18, 37.5)	-1.345	0.179
AST (U/L)	25.63 (19.79, 34.74)	22.13 (19.84, 30.84)	-1.452	0.146
GGT (U/L)	34.53 (23.14, 58.94)	28 (20.24, 47.66)	-1.634	0.102
ALP (U/L)	89.36 (76.01, 103.54)	84.51 (70.67, 106.24)	-1.094	0.274
FPG (mmol/L)	5.14 (4.60, 5.92)	5.09 (4.585, 5.78)	-1.077	0.281
TC (mmol/L)	5.06 (4.25, 5.06)	5.10 (4.81, 5.78)	-1.235	0.217
TG (mmol/L)	1.79 (1.21, 2.59)	1.64 (1.13, 2.42)	-0.590	0.555
HDL (mmol/L)	1.14 (0.97, 1.32)	1.18 (1.05, 1.31)	-1.549	0.121
LDL (mmol/L)	2.96 (2.53, 3.48)	3.18 (2.81, 3.61)	-2.128	0.033

注: ① 缩写: 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)、身体质量指数(BMI)、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、血清丙氨酸转移酶(ALT)、血清天冬氨酸转移酶(AST)、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)、碱性磷酸酶(ALP)、空腹血糖(FPG)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL); ② 符合正态分布的资料通过均数 \pm 标准差表示, 符合非正态分布的资料用 P50 (P25, P75)表示; ③ 以 $P < 0.05$ 的差异有统计学意义。

3.7. 健康对照组中 CA/CC 基因型携带者与 AA 基因型携带者各项指标比较

在健康对照组人群中, 对比于 CA/CC 基因型携带者, AA 基因型携带者的年龄、BMI、SBP、DBP、AST、GGT、FPG 和 TG 水平较低, ALT、ALP、TC、HDL 和 LDL 水平较高, 各项指标之间差异不显著(P 均 >0.05)。见表 7。

Table 7. Comparison of various indexes between CA/CC genotype carriers and AA carriers in control
表 7. 健康对照组中 CA/CC 基因型携带者与 AA 携带者各项指标比较

指标	AA	CA/CC	T 值	P 值
性别(男/女)	61/60	48/45	0.003	0.862
年龄	40.58 ± 12.48	41.16 ± 13.19	0.227	0.821
BMI (kg/m ²)	24.14 ± 3.68	25.10 ± 4.00	0.326	0.745
SBP (mmHg)	121 (109.5, 126.5)	122.50 (116.50, 127.50)	-0.845	0.398
DBP (mmHg)	74 (64, 79.5)	75.5 (70.25, 83)	-0.966	0.334
ALT (U/L)	18 (13, 25)	16.42 (13, 25)	-0.465	0.642
AST (U/L)	21.30 ± 12.45	21.33 ± 8.33	-0.472	0.638
GGT (U/L)	17.59 (12.23, 23.57)	18.79 (12, 28)	-0.410	0.682
ALP (U/L)	74.55 (62.17, 87.25)	74.32 (57.97, 85.52)	-0.744	0.444
FPG (mmol/L)	4.84 (4.47, 5.15)	5 (4.47, 5.15)	-0.874	0.382
TC (mmol/L)	4.98 (4.30, 5.60)	4.83 (4.25, 5.33)	-0.278	0.781
TG (mmol/L)	1.01 (0.80, 1.53)	1.1 (0.77, 1.32)	-0.885	0.376
HDL (mmol/L)	1.35 ± 0.29	1.29 ± 0.25	-1.182	0.240
LDL (mmol/L)	3.10 (1.19, 1.17)	2.97 (2.46, 3.35)	-0.923	0.356

注: ① 缩写: 非酒精性脂肪性肝病(NAFLD)、身体质量指数(BMI)、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、血清丙氨酸转移酶(ALT)、血清天冬氨酸转移酶(AST)、 γ -谷氨酰转移酶(GGT)、碱性磷酸酶(ALP)、空腹血糖(FPG)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白(HDL)、低密度脂蛋白(LDL); ② 符合正态分布的资料通过均数 \pm 标准差表示, 符合非正态分布的资料用 P50 (P25, P75)表示; ③ 以 $P < 0.05$ 的差异有统计学意义。

4. 讨论

本研究在 320 名青岛地区汉族人群中对 LIPA rs1051338 位点基因多态性与 NAFLD 发生风险的相关性进行了研究, 结果显示该位点等位基因和基因型分布在 NAFLD 患者和健康人群之间的差异并无统计学差异, LIPA rs1051338 位点基因多态性与 NAFLD 发生风险没有明显相关性。此结果与 Andrea Pasta 等人[16]的研究发现 C 等位基因与 NAFLD 脂肪变严重程度相关的结果存在差异, 分析其中缘由, 本研究受试者来自中国汉族人群, 遵循 2018 版《非酒精性脂肪性肝病防治指南》通过 B 型超声诊断 NAFLD 患者进行研究, B 型超声诊断 NAFLD 敏感性低, 难以避免对早期 NAFLD; 而 Andrea Pasta 研究对象为欧洲人群, 并且受试者选择中低程度 LALD 样表现的患者, 受试者人群的差异可能是导致不同研究结论的原因。并且根据 Trent D. Evans 等人[18]在构建不同的体外过表达体系发现在单核巨噬细胞系中携带该位点 C 等位基因可导致 LIPA 轻度过表达, 但同时基因突变引发信号肽结构改变导致 LAL 活性减弱, 两者共同作用导致 LIPA rs1051338 位点对于 CAD 发病的功能意义较小。既往也有多项 CAD 人群中开展研究

发现 LIPA rs1051338 与内含子 SNP 之间存在连锁不平衡状态, 这也为全细胞水平上 LAL 功能未显著丧失提供潜在的候选机制[18]。虽然本研究同上述研究受试者人群存在差异, 但也可由此合理推测该位点对 NAFLD 发病风险影响较小, 目前 LIPA rs1051338 位点多态性与 NAFLD 遗传易感性研究较少, 具体相关性有待扩大试验进一步验证, 此外该位点对于不同种族、不同地区人群中与 NAFLD 发生风险的相关性也需要进一步研究。

尽管本研究中并未发现 LIPA rs1051338 位点与 NAFLD 易感性相关, 但全部受试者人群和 NAFLD 组 CA、CC 基因型携带者与 AA 基因型携带者相比血脂水平较高, 其中 LDL 的差异具有统计学意义。此前研究表明在非脂肪组织中, 随着脂质蓄积, 其潜在细胞脂毒性会导致 NAFLD 炎症途径激活、细胞功能障碍及脂肪凋亡[19]。在受体介导内吞作用下, 脂质不受调节的进入细胞, 肝脏细胞中甘油三酯及胆固醇酯等水平升高出现脂质蓄积, 肝脏细胞通过 LAL 将上述脂质水解为游离脂肪酸和游离胆固醇及甘油等以降低脂毒性对于细胞正常代谢的影响, 反之当 LAL 功能异常则出现血脂代谢异常。受到细胞脂毒性的内在机制限制, 细胞内游离胆固醇等脂质蓄积会导致胆固醇外流上调[20] [21]和游离胆固醇的再酯化形成无毒的、中性 pH 值的脂滴[22]。研究发现在适度脂质负荷条件下巨噬细胞源性泡沫细胞自噬作用增强, 脂滴会被通过自噬作用呈递给溶酶体, 并被溶酶体中脂肪酶水解, 再通过 ABCA1 将水解后的脂质产物外排促进细胞内脂质动员[10]。而在慢性脂质暴露时, 自噬体与溶酶体的融合能力则会衰减[23]。在胆固醇负载的巨噬细胞中, LAL 同样对脂质外排起到关键作用, 当 LAL 的化学抑制使外排水平减少 50%以上[10] [24]。而在 Morris 等人的研究中发现 rs1051338CC 基因型受试者对脂质外排同样有所减少[25], 考虑也是因此导致 LIPA rs1051338 位点 CA、CC 基因型携带者 LAL 活性受抑制, 从而导致在 NAFLD 组和全部受试者中 LDL 水平存在差异。脂质外排受阻条件下, 肝细胞中升高的游离脂肪酸通过肉碱棕榈酰基转移酶 1 (CPT1)与血浆游离脂肪酸一起进入线粒体, 转化为酰基辅酶 a。酰基辅酶 a 通过 β 氧化转化为乙酰辅酶 a, 进入三羧酸循环产生能量。过量 FA 进入线粒体氧化导致线粒体呼吸链的组分被电子异常还原, 与氧发生反应, 产生大量活性氧。活性氧进一步氧化脂质沉积形成脂质过氧化, 上述过程可引发炎症小体激活, 通过抑制过氧化物酶体增殖物激活受体- α (PPAR- α)和促进 TNF- α 诱导的细胞死亡的间接作用等机制, 推动 NAFLD 发生发展[5] [26] [27]。因此, LIPA 基因多态性除通过影响脂质水解外, 也可能间接影响到脂质过氧化等过程影响 NAFLD 发生和发展。

NAFLD 由于脂质代谢异常引发的细胞内脂质蓄积, 会导致 β -氧化受损和线粒体功能障碍, 引起炎症, 从而引起氧化应激[28]。细胞中的游离脂肪酸在氧化产能过程中需要进入线粒体当中, 其氧化产能过程中氧化呼吸链组分异常还原, 导致在线粒体产生大量活性氧, 导致肝脏细胞内线粒体等超微结构受到破坏。转氨酶作为非特异性细胞内酶, ALT 主要分布于肝脏非线粒体细胞质中, AST 在肝脏中较多分布, 亚细胞定位主要在肝细胞线粒体中, 在肝脏正常功能状态下血清转氨酶水平不会显著升高。随着肝细胞内脂质蓄积引发氧化应激, 细胞炎症损伤状态导致肝细胞内膜通透性增加, 细胞质中 ALT 和 AST 释放入血升高, 从而在血清转氨酶水平上 NAFLD 组和健康对照组存在差异。反之亦然, 由于 LIPA rs1051338 位点多态性对于细胞整体水平上不会引起 LAL 水平和活性差异, 也就导致在本研究中表现出 CA/CC 基因型携带者与 AA 基因型携带者之间, 在 ALT 等代表肝脏损伤程度的酶学指标上并未表现出显著差异。

本研究中在全受试者人群和 NAFLD 组中 rs1051338 位点 CA/CC 基因型携带者与 AA 基因型携带者相比, 均表现出收缩压水平和舒张压水平较高, 并且差异具有统计学意义。Morris 等人发现该位点突变导致单核巨噬细胞系中 LAL 活性和水平下降[25], 引发单核巨噬细胞内脂质沉积并促进其向泡沫细胞分化, 导致动脉粥样硬化斑块形成和进展, 进而影响血压变化。众所周知, 高血压作为 NAFLD 风险因素, 同样不容忽视。尽管本研究中位点多态性对血压的影响与 Frédéric 等人在肥胖患者人群中发现的 C 等位

基因携带者血压较低[29]相反, 同样考虑到受试者人群差异, 该位点对于血压的影响同样需要进一步扩大试验范围进行论证。

综上所述, LIPA rs10513338 基因多态性与 NAFLD 易感性无明显相关性, 但 CA/CC 基因型携带者较 AA 基因型携带者具有更高的 SBP、DBP 及 LDL 水平。由于本研究纳入受试者数量相对较少, 后续需要在更大样本中对该位点多态性与 NAFLD 易感性的相关性进行验证。

5. 结论

在我国北方汉族人群中, LIPA 基因 rs1051338 位点多态性与 NAFLD 发生风险不具有相关性。在全部受试者和 NAFLD 患者中, CA/CC 基因型携带者的 SBP、DBP 和 LDL 水平较 AA 基因型携带者明显升高。

参考文献

- [1] Lonardo, A., Byrne, C.D., Caldwell, S.H., *et al.* (2016) Global Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Meta-Analytic Assessment of Prevalence, Incidence, and Outcomes. *Hepatology*, **64**, 1388-1389. <https://doi.org/10.1002/hep.28584>
- [2] Doycheva, I., Issa, D., Watt, K.D., *et al.* (2018) Nonalcoholic Steatohepatitis Is the Most Rapidly Increasing Indication for Liver Transplantation in Young Adults in the United States. *Journal of Clinical Gastroenterology*, **52**, 339-346. <https://doi.org/10.1097/MCG.0000000000000925>
- [3] Zhu, J.Z., Zhou, Q.Y., Wang, Y.M., *et al.* (2015) Prevalence of Fatty Liver Disease and the Economy in China: A Systematic Review. *World Journal of Gastroenterology*, **21**, 5695-5706. <https://doi.org/10.3748/wjg.v21.i18.5695>
- [4] Younossi, Z.M., Golabi, P., Paik, J.M., *et al.* (2023) The Global Epidemiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) and Nonalcoholic Steatohepatitis (NASH): A Systematic Review. *Hepatology*, **77**, 1335-1347. <https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000000004>
- [5] Buzzetti, E., Pinzani, M. and Tsochatzis, E.A. (2016) The Multiple-Hit Pathogenesis of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). *Metabolism: Clinical and Experimental*, **65**, 1038-1048. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2015.12.012>
- [6] Zechner, R., Madeo, F. and Kratky, D. (2017) Cytosolic Lipolysis and Lipophagy: Two Sides of the Same Coin. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, **18**, 671-684. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.76>
- [7] Shen, F., Zheng, R.D., Mi, Y.Q., *et al.* (2014) Controlled Attenuation Parameter for Non-Invasive Assessment of Hepatic Steatosis in Chinese Patients. *World Journal of Gastroenterology*, **20**, 4702-4711. <https://doi.org/10.3748/wjg.v20.i16.4702>
- [8] Korbélius, M., Kuentzel, K.B., Bradić, I., *et al.* (2023) Recent Insights into Lysosomal Acid Lipase Deficiency. *Trends in Molecular Medicine*, **29**, 425-438. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2023.03.001>
- [9] Viaud, M., Ivanov, S., Vujic, N., *et al.* (2018) Lysosomal Cholesterol Hydrolysis Couples Efferocytosis to Anti-Inflammatory Oxysterol Production. *Circulation Research*, **122**, 1369-1384. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.312333>
- [10] Ouimet, M., Franklin, V., Mak, E., *et al.* (2011) Autophagy Regulates Cholesterol Efflux from Macrophage Foam Cells via Lysosomal Acid Lipase. *Cell Metabolism*, **13**, 655-667. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.03.023>
- [11] Bowden, K.L., Dubland, J.A., Chan, T., *et al.* (2018) LAL (Lysosomal Acid Lipase) Promotes Reverse Cholesterol Transport *in vitro* and *in vivo*. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **38**, 1191-1201. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.310507>
- [12] European Association for the Study of the Liver (2015) EASL-ALEH Clinical Practice Guidelines: Non-Invasive Tests for Evaluation of Liver Disease Severity and Prognosis. *Journal of Hepatology*, **63**, 237-264. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2015.04.006>
- [13] Baratta, F., Pastori, D., Ferro, D., *et al.* (2019) Reduced Lysosomal Acid Lipase Activity: A New Marker of Liver Disease Severity across the Clinical Continuum of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease? *World Journal of Gastroenterology*, **25**, 4172-4180. <https://doi.org/10.3748/wjg.v25.i30.4172>
- [14] Mashima, R. and Takada, S. (2022) Lysosomal Acid Lipase Deficiency: Genetics, Screening, and Preclinical Study. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 15549. <https://doi.org/10.3390/ijms232415549>
- [15] Vargas-Alarcón, G., Posadas-Romero, C., Villarreal-Molina, T., *et al.* (2013) Single Nucleotide Polymorphisms within

- LIPA (Lysosomal Acid Lipase A) Gene Are Associated with Susceptibility to Premature Coronary Artery Disease. A Replication in the Genetic of Atherosclerotic Disease (GEA) Mexican Study. *PLOS ONE*, **8**, e74703. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074703>
- [16] Pasta, A., Borro, P., Cremonini, A.L., *et al.* (2021) Effect of a Common Missense Variant in LIPA Gene on Fatty Liver Disease and Lipid Phenotype: New Perspectives from a Single-Center Observational Study. *Pharmacology Research & Perspectives*, **9**, e00820. <https://doi.org/10.1002/prp2.820>
- [17] National Workshop on Fatty Liver and Alcoholic Liver Disease, Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association and Fatty Liver Expert Committee, Chinese Medical Doctor Association (2018) [Guidelines of Prevention and Treatment for Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A 2018 Update]. *Chinese Journal of Hepatology*, **26**, 195-203.
- [18] Evans, T.D., Zhang, X., Clark, R.E., *et al.* (2019) Functional Characterization of LIPA (Lysosomal Acid Lipase) Variants Associated with Coronary Artery Disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **39**, 2480-2491. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.119.313443>
- [19] Ahmadian, M., Duncan, R.E., Jaworski, K., *et al.* (2007) Triacylglycerol Metabolism in Adipose Tissue. *Future Lipidology*, **2**, 229-237. <https://doi.org/10.2217/17460875.2.2.229>
- [20] Boadu, E., Bilbey, N.J. and Francis, G.A. (2008) Cellular Cholesterol Substrate Pools for Adenosine-Triphosphate Cassette Transporter A1-Dependent High-Density Lipoprotein Formation. *Current Opinion in Lipidology*, **19**, 270-276. <https://doi.org/10.1097/MOL.0b013e3282feca99>
- [21] Oram, J.F. and Heinecke, J.W. (2005) ATP-Binding Cassette Transporter A1: A Cell Cholesterol Exporter that Protects against Cardiovascular Disease. *Physiological Reviews*, **85**, 1343-1372. <https://doi.org/10.1152/physrev.00005.2005>
- [22] Maxfield, F.R. and Tabas, I. (2005) Role of Cholesterol and Lipid Organization in Disease. *Nature*, **438**, 612-621. <https://doi.org/10.1038/nature04399>
- [23] Koga, H., Kaushik, S. and Cuervo, A.M. (2010) Altered Lipid Content Inhibits Autophagic Vesicular Fusion. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, **24**, 3052-3065. <https://doi.org/10.1096/fj.09-144519>
- [24] Emanuel, R., Sergin, I., Bhattacharya, S., *et al.* (2014) Induction of Lysosomal Biogenesis in Atherosclerotic Macrophages Can Rescue Lipid-Induced Lysosomal Dysfunction and Downstream Sequelae. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **34**, 1942-1952. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.114.303342>
- [25] Morris, G.E., Braund, P.S., Moore, J.S., *et al.* (2017) Coronary Artery Disease-Associated LIPA Coding Variant rs1051338 Reduces Lysosomal Acid Lipase Levels and Activity in Lysosomes. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, **37**, 1050-1057. <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.116.308734>
- [26] Guo, X., Yin, X., Liu, Z., *et al.* (2022) Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Pathogenesis and Natural Products for Prevention and Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 15489. <https://doi.org/10.3390/ijms232415489>
- [27] Miura, K., Kodama, Y., Inokuchi, S., *et al.* (2010) Toll-Like Receptor 9 Promotes Steatohepatitis by Induction of Interleukin-1 β in Mice. *Gastroenterology*, **139**, 323-334. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.03.052>
- [28] Chen, Z., Tian, R., She, Z., *et al.* (2020) Role of Oxidative Stress in the Pathogenesis of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Free Radical Biology & Medicine*, **152**, 116-141. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2020.02.025>
- [29] Guénard, F., Houde, A., Bouchard, L., *et al.* (2012) Association of LIPA Gene Polymorphisms with Obesity-Related Metabolic Complications among Severely Obese Patients. *Obesity*, **20**, 2075-2082. <https://doi.org/10.1038/oby.2012.52>