

代谢正常肥胖人群中 Klotho 蛋白与氧化应激相关性研究

韩艳平¹, 王佑民²

摘要 目的 探讨代谢正常肥胖(MHO)人群中抗衰老蛋白(Klotho 蛋白)与氧化应激的相关性。方法 选择的资料,共180例纳入研究,其中正常组60例、MHO组60例、肥胖伴代谢综合征组60例,记录测量对象空腹血糖(FBG)、餐后2h血糖(2 hBG)、三酰甘油(TG)、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)、收缩压、舒张压、腰围、身高、体重、体质指数(BMI),ELISA法测定血清丙二醛(MDA)的含量,血清超氧化物歧化酶(SOD)、总抗氧化能力(TAOC)的活性及 Klotho 蛋白水平。采用协方差分析校正其他影响因素比较各组间临床生化指标、氧化应激水平及 Klotho 蛋白水平的差异, Pearson 相关分析和多元逐步回归分析了解 Klotho 蛋白水平与氧化应激的相关性。结果 与正常组比较, MHO 组和肥胖伴代谢综合征组 MDA 含量均升高($P < 0.05$), TAOC、SOD、Klotho 蛋白活性均降低($P < 0.05$)。与 MHO 组比较,肥胖伴代谢综合征组血清 TAOC、Klotho 蛋白含量降低($P < 0.05$)。经相关分析, Klotho 蛋白与 SOD、TAOC 呈正相关性($r = 0.654, 0.557, P < 0.05$),与腰围、BMI、2 hBG、FBG、收缩压呈负相关性($r = -0.182, -0.225, -0.221, -0.202, -0.188, P < 0.05$), SOD、TAOC 是 Klotho 蛋白的主要影响因素。结论 MHO 人群存氧化-抗氧化紊乱状态, Klotho 蛋白可能通过调节机体的氧化应激维持机体的正常代谢状态。关键词 代谢正常肥胖;氧化应激;Klotho 蛋白

中图分类号 R 589.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)05-0678-04

随着人们对肥胖研究的深入,代谢正常肥胖(metabolically healthy obese, MHO)这一特殊亚群被提出。目前, MHO 以肥胖且有高胰岛素敏感性为特征,无其他代谢异常^[1]。当机体氧化与抗氧化系统失衡,氧自由基过量产生及其代谢产物过量积聚就出现了氧化应激。氧化应激参与了心血管疾病、代谢综合征(metabolic syndrome, MS)等疾病的病理过程。抗衰老蛋白(Klotho 蛋白)基因是一组与衰老有

关的基因,可通过调节维生素 K 和钙、磷代谢,保护心血管系统,影响机体免疫功能,减少氧化应激等多种途径对动脉硬化、骨质疏松等衰老及衰老相关性疾病进行调节^[2]。该研究旨在探讨 MHO 人群的氧化抗氧化状态及与 Klotho 蛋白的相关性,为 MHO 人群的防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选择2011年1月~12月在安徽医科大学第一附属医院体检人群资料,共180例纳入研究,其中男90例,女90例,年龄35~83(53.61 ± 10.22)岁,研究获得受试者的知情同意。其中正常组60例, MHO 组60例,肥胖伴代谢综合征组60人,各组男女比例1:1。

1.2 入组标准 代谢综合征诊断标准:按照2007年《中国成人血脂异常防治指南》诊断标准^[3],即有以下3项或3项以上者:①腰围:男性 >90 cm,女性 >85 cm;②血三酰甘油(triglyceride, TG) ≥ 1.70 mmol/L;③高密度脂蛋白-胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C) < 1.04 mmol/L;④血压 $\geq 17.29/11.31$ kPa;⑤空腹血糖(fasting blood glucose, FBG) ≥ 6.1 mmol/L或餐后2小时血糖(2 h blood glucose, 2 hBG) ≥ 7.8 mmol/L或有糖尿病史。肥胖伴代谢综合征组诊断标准:体质指数(body mass index, BMI) ≥ 25.0 kg/m²且合并代谢综合征。正常组诊断标准:体重正常且未合并代谢指标异常者,即符合以下全部者:①体重正常:18.5 kg/m² $\leq$ BMI < 23.0 kg/m²;②腰围:男性 ≤ 90 cm,女性 ≤ 85 cm;③既往无高脂血症病史,未使用任何调脂药物,血 TG < 1.70 mmol/L;④ HDL-C ≥ 1.04 mmol/L;⑤既往无高血压病病史,未使用任何降压药物,血压 $< 17.29/11.31$ kPa;⑥既往无糖尿病病史,未使用任何降糖药物, FBG < 6.1 mmol/L, 2 hBG < 7.8 mmol/L。MHO 组诊断标准^[4-5]:肥胖且未合并代谢指标异常者,即符合以下全部者:①肥胖: BMI ≥ 25.0 kg/m²;②既往无高脂血症病史,未使用任何调脂药物,血 TG < 1.70 mmol/L;③ HDL-C ≥ 1.04 mmol/L;④既往无高血压病病史,未使用任何降压药物,血

2016-03-04 接收

基金项目:安徽省科技攻关项目(编号:1206a0805034)

作者单位:¹安徽医科大学第二临床学院,合肥 230032²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 230022

作者简介:韩艳平,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@21cn.com

表1 各组间一般资料及临床生化指标比较($\bar{x} \pm s$)

指标	正常组	MHO组	肥胖伴代谢综合征组	F值
年龄(岁)	51.57 ± 10.43	50.73 ± 8.86	58.53 ± 9.59 * **	11.825
BMI(kg/m ²)	21.48 ± 1.45	27.42 ± 2.13 * *	27.43 ± 2.36 * *	185.807
腰围(cm)	76.59 ± 5.87	94.21 ± 5.93 * *	92.91 ± 5.53 * **	173.093
收缩压(kPa)	15.05 ± 1.35	15.38 ± 1.36	19.60 ± 2.54 * **	114.303
舒张压(kPa)	9.61 ± 1.03	10.15 ± 1.09	10.60 ± 1.51 * **	9.796
FBG(mmol/L)	5.07 ± 0.38	5.03 ± 0.40	7.19 ± 2.71 * **	36.301
2 hBG(mmol/L)	5.77 ± 1.07	5.66 ± 1.13	10.58 ± 4.33 * **	66.564
TG(mmol/L)	0.97 ± 0.26	0.96 ± 0.27	2.71 ± 1.81 * **	53.616
HDL-C(mmol/L)	1.32 ± 0.26	1.39 ± 0.28	1.13 ± 0.27 * **	15.013

与正常组比较: * $P < 0.01$; 与 MHO 组比较: ** $P < 0.01$

压 $< 17.29/11.31$ kPa; ⑤ 既往无糖尿病病史, 未使用任何降糖药物, FBG < 6.1 mmol/L, 2 hBG < 7.8 mmol/L。

1.3 排除标准 排除代谢组分资料缺失、乙型肝炎标志物阳性、过量吸烟或饮酒、合并严重感染性疾病者, 甲状腺功能亢进症、甲状腺功能减退及其他系统疾病, 严重肝、肾、呼吸道、心脏疾病及恶性肿瘤者。

1.4 方法 体检者一般指标如身高、体重、腰围、收缩压、舒张压分别由体检中心固定的 3 名医务人员进行检测, BMI = 体重/身高 (kg/m²)。血液及生化指标的检测: 测定 TG、HDL-C、FBG、2 hBG, 统一由瑞士罗氏公司的 MODULP800 全自动生化分析仪检测, 由同一组专业检验室操作。血清丙二醛 (malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、总抗氧化能力 (total antioxidant capacity, TAOC)、Klotho 蛋白的测定: 选用上海源叶生物科技有限公司提供的 ELISA 试剂盒, 采用双抗体夹心法测定血清 MDA、SOD、TAOC、Klotho 蛋白水平。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示; 多样本均数比较采用单因素方差分析, 采用协方差分析校正混杂因素的影响。各因素间的相关关系用 Pearson 相关分析和多元逐步回归分析。

2 结果

2.1 一般资料及临床指标比较 3 组间年龄比例差异有统计学意义, 经协方差分析排除年龄的影响后, 进行 3 组间临床及生化指标的比较。MHO 组 BMI、腰围均明显高于正常组 ($P < 0.01$), 与肥胖伴代谢综合征组比较差异无统计学意义。收缩压、舒张压、FBG、2 hBG、TG、HDL-C 在 MHO 组及正常组差异无统计学意义, 与肥胖伴代谢综合征组差异有

统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 1。

2.2 机体血清氧化应激及抗氧化酶水平及 Klotho 蛋白水平 与正常组比较, MHO 组 MDA 含量升高 ($P < 0.05$), TAOC、SOD、Klotho 蛋白活性降低 ($P < 0.05$), 肥胖伴代谢综合征组 MDA 升高 ($P < 0.01$), TAOC、SOD、Klotho 蛋白降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 MHO 组比较, 肥胖伴代谢综合征组 TAOC、Klotho 蛋白活性降低 ($P < 0.05$), MDA、SOD 在两组间差异无统计学意义。见表 2。

表2 各组血清MDA、SOD、TAOC、Klotho蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$)

指标	正常组	MHO组	肥胖伴代谢综合征组	F值
MDA(pg/ml)	2.30 ± 1.22	2.99 ± 1.73 *	3.26 ± 1.27 * *	7.309
SOD(mU/L)	86.25 ± 26.00	77.36 ± 23.71 *	71.77 ± 21.08 *	5.709
TAOC(U/ml)	4.45 ± 1.66	4.08 ± 1.74 *	3.23 ± 1.60 * **	8.398
Klotho(U/L)	50.49 ± 14.97	46.75 ± 16.66 *	39.08 ± 15.72 * **	8.135

与正常组比较: * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$; 与 MHO 组比较: * $P < 0.05$

2.3 Pearson 相关分析 血清 Klotho 蛋白与 SOD、TAOC 呈正相关性 ($r = 0.654, 0.557, P < 0.05$), 与腰围、BMI、2 hBG、FBG、收缩压呈负相关性 ($r = -0.182, -0.225, -0.221, -0.202, -0.188, P < 0.05$), MDA 与 BMI、腰围、TG、收缩压呈正相关性 ($r = 0.223, 0.261, 0.194, 0.170, P < 0.05$)。SOD 与 TAOC 成正相关性 ($r = 0.586, P < 0.05$), 与腰围、BMI、2 hBG、收缩压呈负相关性 ($r = -0.191, -0.200, -0.158, -0.175, P < 0.05$)。TAOC 与 2 hBG、FBG、收缩压呈负相关性 ($r = -0.252, -0.182, -0.243, P < 0.05$)。

2.4 多元逐步回归分析 运用多元逐步回归分析, 对性别、年龄、腰围、BMI、2 hBG、FBG、收缩压、舒张压、TG、HDL-C 和血清 Klotho 蛋白、MDA、SOD、TAOC 进行分析, 见表 3~6。

表3 Klotho 蛋白与各因素的多元逐步回归分析

项目	偏回归 系数	标准偏回 归系数	标准误	t 值	P 值
常数	8.857	—	3.028	2.925	0.004
SOD	0.330	0.490	0.045	7.360	<0.001
TAOC	2.777	0.289	0.641	4.335	<0.001

表4 MDA 与各因素的多元逐步回归分析

项目	偏回归 系数	标准偏回 归系数	标准误	t 值	P 值
常量	-0.302	—	0.959	-0.315	0.753
腰围	0.033	0.220	0.011	2.951	0.004
TG	0.177	0.156	0.085	2.084	0.039

表5 SOD 与各因素的多元逐步回归分析

项目	偏回归 系数	标准偏回 归系数	标准误	t 值	P 值
常量	46.467	—	8.354	5.562	<0.001
年龄	-0.316	-0.131	0.131	-2.409	0.017
Klotho	0.745	0.502	0.097	7.705	<0.001
TAOC	3.816	0.267	0.951	4.014	<0.001

表6 TAOC 与各因素的多元逐步回归分析

项目	偏回归 系数	标准偏回 归系数	标准误	t 值	P 值
常量	2.202	—	0.757	2.909	0.004
SOD	0.024	0.341	0.005	4.467	<0.001
Klotho	0.033	0.322	0.008	4.222	<0.001
收缩压	-0.014	-0.162	0.005	-2.780	0.006

3 讨论

肥胖已成为威胁人类健康的世界性公共卫生问题。MHO 这一特殊肥胖亚群逐渐引起人们的关注, MHO 个体肥胖但代谢指标处于正常范围, 是否有特殊的保护机制能长期处于代谢正常状态, 还是肥胖早期尚未发展到代谢异常状态与其体内的氧化应激状态密切相关。近年来, 研究^[6]提示 Klotho 蛋白有抗氧化的作用, 那么, 探讨代谢正常肥胖人群中氧化应激的状态及与 Klotho 蛋白的相关性对于 MHO 亚群的发生代谢异常风险的预测及其治疗有重大意义。

Hwang et al^[7]发现中国台湾 MHO 个体较正常人有较高的糖尿病及高血压的发生风险, MHO 并不是无害的健康状态。但是 Karelis et al^[8]发现 MHO 有较高的胰岛素敏感性, 在炎症因子谱、体脂分布、发生心血管疾病的风险及减重疗效上均与代谢异常的“高危”肥胖明显不同。本研究结果显示 MHO 组收缩压、舒张压、FBG、2 hBG、TG、HDL-C 与正常组

差异无统计学意义, 与肥胖伴代谢综合征组差异有统计学意义。

研究^[9]显示肥胖与氧化应激之间存在明显的正相关性, 肥胖可能通过多种途径介导氧化应激。在本研究中, 与正常组比较, MHO 组 MDA 明显升高, SOD、TAOC 明显降低, 虽然 MHO 组与肥胖伴代谢综合征组 MDA、SOD 差异无统计学意义, 但肥胖伴代谢综合征组总体抗氧化能力还是降低的, 说明 MHO 虽然血糖、血压、血脂处于正常范围, 但可能是介于正常体重正常代谢与 MS 之间的状态, 属于肥胖早期, 尚未出现代谢异常状态, 已经处于氧化抗氧化系统失衡状态。Pearson 相关分析表明 MDA 与 BMI、腰围、TG、收缩压呈正相关性, SOD 与 BMI、腰围呈负相关性; 多元回归分析显示腰围、TG 是 MDA 的危险因素, 所以对于 MHO 患者, 及时的减重至关重要, 可能有助于机体保持正常代谢状态。研究^[10-11]提示 MHO 人群氧化应激水平较正常人群高, 抗氧化水平较正常人群降低, 与本研究结论一致。而 Brown et al^[12]发现 MHO 人群与正常人群比较, 脂质过氧化物水平升高, SOD 差异无统计学意义, 可能与研究对象处于不同的肥胖水平及个体差异有关。

Klotho 基因主要在肾脏和脑组织中表达, 可通过多种途径发挥抗氧化作用, 如促进多种抗氧化基因如过氧化氢酶、SOD 等的表达, 进而发挥抗氧化的作用^[6]。Klotho 蛋白有抗氧化的作用的同时, 氧化应激也可通过多种途径下调 Klotho 基因的表达。研究^[13-14]表明, Klotho 蛋白在糖尿病、高血压、肾脏病等疾病中含量明显降低, 而氧化应激在这些疾病的发生发展中起着重要的作用。Amitani et al^[15]发现 Klotho 蛋白在肥胖人群中较正常人群中减低。本资料显示, 与正常组比较, Klotho 蛋白在 MHO 组及肥胖伴代谢综合征组明显降低, 且与腰围、BMI、2 hBG、FBG、收缩压呈负相关性, 与上述研究结论一致。随着氧化应激程度的加重及机体抗氧化能力的减弱, Klotho 蛋白的水平逐渐降低, 可能与氧化应激水平的升高抑制 Klotho 基因的表达有关。

综上所述, 代谢正常肥胖人群存在氧化抗氧化紊乱状态, 对于肥胖人群来说, 减重对预防和治疗代谢异常性疾病有着重要意义。Klotho 蛋白可能通过调节机体的氧化应激维持机体的正常代谢状态, 随着人们对 Klotho 蛋白研究的不断深入, Klotho 蛋白有望成为治疗及预防肥胖及代谢异常疾病的新靶点。

参考文献

- [1] Primeau V, Coderre L, Karelis A D, et al. Characterizing the profile of obese patients who are metabolically healthy [J]. Int J Obes (Lond), 2011, 35(7): 971–81.
- [2] Kuro-o M. Klotho in health and disease [J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2012, 21(4): 362–8.
- [3] 中国成人血脂异常防治指南制订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南 [J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(5): 390–419.
- [4] Meigs J B, Wilson P W, Fox C S, et al. Body mass index, metabolic syndrome, and risk of type 2 diabetes or cardiovascular disease [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006, 91(8): 2906–12.
- [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] Mitobe M, Yoshida T, Sugiura H, et al. Oxidative stress decreases klotho expression in a mouse kidney cell line [J]. Nephron Exp Nephrol, 2005, 101(2): e67–74.
- [7] Hwang L C, Bai C H, Sun C A, et al. Prevalence of metabolically healthy obesity and its impacts on incidences of hypertension, diabetes and the metabolic syndrome in Taiwan [J]. Asia Pac J Clin Nutr, 2012, 21(2): 227–33.
- [8] 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.
- [9] Keaney J F Jr, Larson M G, Vasan R S, et al. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study [J]. Atheroscler Thromb Vasc Biol, 2003, 23(3): 434–9.
- [10] 沈兴平, 邹森彪, 吴豪杰, 等. 肥胖患者氧化应激和脂肪细胞因子变化 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24(7): 721–3, 6.
- [11] Kim M, Paik J K, Kang R, et al. Increased oxidative stress in normal-weight postmenopausal women with metabolic syndrome compared with metabolically healthy overweight/obese individuals [J]. Metabolism, 2013, 62(4): 554–60.
- [12] Brown L A, Kerr C J, Whiting P, et al. Oxidant stress in healthy normal-weight, overweight, and obese individuals [J]. Obesity (Silver Spring), 2009, 17(3): 460–6.
- [13] Hu M C, Kuro-o M, Moe O W. Renal and extrarenal actions of klotho [J]. Semin Nephrol, 2013, 33(2): 118–29.
- [14] Liu J J, Liu S, Morgenthaler N G, et al. Association of plasma soluble α -klotho with pro-endothelin-1 in patients with type 2 diabetes [J]. Atherosclerosis, 2014, 233(2): 415–8.
- [15] Amitani M, Asakawa A, Amitani H, et al. Plasma klotho levels decrease in both anorexia nervosa and obesity [J]. Nutrition, 2013, 29(9): 1106–9.

Association between serum Klotho and oxidative stress in metabolically healthy obese individuals

Han Yanping¹, Wang Youmin²

(¹The Second Clinical Medical College of Anhui Medical University, Hefei 230032;

²Dept of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the association between serum Klotho and oxidative stress in metabolically healthy obese individuals. **Methods** 180 physical examination subjects were investigated. They were divided into 3 groups: 60 cases of normal weight and metabolic normality, 60 cases of metabolically healthy but obese (MHO), 60 cases of obesity with metabolic syndrome. Fasting blood glucose (FBG), 2 h blood glucose (2 hBG), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), systolic blood pressure, diastolic blood pressure, body height, body weight, waist circumference, body mass index (BMI) were recorded. Malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), total antioxidant capacity (TAOC), Klotho were detected by ELISA. The difference of clinical parameters, metabolic parameters, oxidative stress and Klotho among these three groups was compared by the methods of covariance analysis. Regression analysis and Pearson correlation were used to evaluate the relationship of Klotho with oxidative stress. **Results** Compared with the control group, TAOC, SOD, Klotho were decreased significantly while MDA elevated significantly in both MHO group and obesity with metabolic syndrome group ($P < 0.05$). Compared with MHO group, TAOC, Klotho were significantly lower in obesity with metabolic syndrome ($P < 0.05$). Klotho protein was significantly positively associated with SOD, TAOC, negatively associated with waist circumference, BMI, FBG, 2 hBG ($r = -0.182, -0.225, -0.221, -0.202, -0.188, P < 0.05$). SOD, TAOC were determinants for Klotho. **Conclusion** The balance between oxidative and antioxidative system is disturbed in subjects with MHO. Klotho protein may maintain the normal metabolism of the body by regulating the oxidative stress.

Key words metabolically healthy obese; oxidative stress; Klotho protein