

肥胖及超重人群中血清 Wnt5a 水平与肝脏脂肪变和纤维化程度的相关性研究*

梁利波¹, 王霞², 何詠², 高赞³, 贾丹¹, 安振梅³, 李双庆^{1△}

1. 四川大学华西医院 全科医学科(成都 610041); 2. 四川大学华西医院 实验医学科(成都 610041);
3. 四川大学华西医院 内分泌代谢科(成都 610041)

【摘要】 目的 探讨肥胖及超重人群中血清 Wnt5a 水平与肝脏脂肪变及纤维化程度的相关性。**方法** 134 例在我院体检中心参加体检并在内分泌代谢科就诊,同时完成了瞬时弹性扫描仪(Fibroscan)检查的肥胖或超重患者,根据 Fibroscan 检测结果[肝脏实时受控衰减参数(controlled attenuation parameter, CAP)评估肝脏脂肪变性程度,瞬时肝脏弹性测量值(elasticity, E)评估纤维化程度]分为正常对照组(27 例)、轻度非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)组(51 例)和中重度 NAFLD 组(56 例)。同时测量腰围(waist circumference, WC)、臀围(hip circumference, HC),进行糖耐量试验和胰岛功能试验,检测血清转氨酶、血脂等,并采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清 Wnt5a 和 β -连环蛋白(β -catenin)水平。**结果** 对照组、轻度 NAFLD 组和中重度 NAFLD 组 3 组间年龄、性别、体质量指数(BMI)、WC、HC 差异均无统计学意义($P>0.05$)。3 组间空腹及餐后 2 h 血糖、空腹胰岛素水平和胰岛素抵抗指数差异有统计学意义($P<0.05$),而餐后 2 h 胰岛素水平差异无统计学意义($P>0.05$)。轻度 NAFLD 组与对照组的 CAP 值、E 值、血清 Wnt5a 和 β -catenin 水平相当,差异均无统计学意义($P>0.05$)。中重度 NAFLD 组 CAP 值、E 值和血清 Wnt5a 均高于对照组和轻度 NAFLD 组,差异有统计学意义($P<0.05$)。Spearman 相关分析显示,血清 Wnt5a 水平与 CAP 值呈负相关(相关系数 $r=-0.19$, $P<0.0001$),与 E 值无显著相关关系($r=0.02$, $P=0.241$)。**结论** 血清 Wnt5a 水平与 NAFLD 有关,在肥胖或超重合并 NAFLD 的发病不同阶段可能起着不同的病理生理作用。

【关键词】 肥胖 Wnt5a 肝脂肪变性 肝纤维化

Serum Wnt5a and Its Associations with Liver Steatosis and Fibrosis in Overweight and Obese People LIANG Li-bo¹, WANG Xia², HE He², GAO Yun³, JIA Dan¹, An Zhen-mei³, LI Shuang-qing^{1△}. 1. Department of General Practice, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 3. Department of Endocrinology and Metabolism, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: 1259594471@qq.com

【Abstract】 Objective To determine serum Wnt5a and its associations with liver steatosis and fibrosis in overweight and obese people. **Methods** The study participants were recruited from those who visited our hospital for health examinations. They were divided into three groups according to body mass index (BMI), controlled attenuation parameter (CAP) values and elasticity (E) values of liver fibroscan: Control ($n=27$), Mild NAFLD (non-alcoholic fatty liver disease, $n=51$) and Moderate/severe NAFLD ($n=56$). The waist circumference (WC), hip circumference (HC), oral glucose tolerance test (OGTT), insulin releasing test (IRT), liver function, blood lipid, serum Wnt5a and β -catenin of those participants were measured. **Results** The three groups of participants had no significant differences in age, gender, BMI, WC or HC ($P>0.05$). Significant differences appeared in fasting glucose, 2 h postprandial glucose and fasting insulin level between the three groups ($P<0.05$), but not in 2 h postprandial insulin level ($P>0.05$). The participants with NAFLD had higher levels of serum Wnt5a and β -catenin than controls ($P<0.05$). Wnt5a level was correlated with CAP value ($r=-0.19$, $P<0.0001$), but barely with E value ($r=0.02$, $P=0.241$). **Conclusion** Wnt5a may play a role at different stages of NAFLD in overweight/obese people.

【Key words】 Obesity Wnt5a Liver steatosis Liver fibrosis

* 四川省科技厅软科学计划项目(No. 20152R0105 和 No. 20142R0165)资助

△ 通信作者, E-mail: 1259594471@qq.com

随着全球经济的高速发展,肥胖和非酒精性脂肪肝(NAFLD)的发病率均呈逐年增加趋势。NAFLD 患者有代谢综合征的倾向,常常伴发肥胖、

胰岛素抵抗和 2 型糖尿病^[1]。由于 NAFLD 与肥胖症的高度共病率,一些与肥胖的发生相关的细胞因子,很可能与 NAFLD 存在内在联系,而表现为与肥胖相关。Wnt5a 是 Wnt 家族成员之一,由巨噬细胞产生,发挥炎症效应。研究显示,它可以增加胰岛素抵抗从而影响机体代谢^[2]。肥胖患者中,NAFLD 形成肝脏细胞脂肪样变和肝纤维化时均有巨噬细胞参与,而 Wnt5a 作为巨噬细胞因子,可能参与肥胖与 NAFLD 病理变化的形成。因此,本研究通过测定伴和不伴 NAFLD 的肥胖或超重患者中血浆 Wnt5a 水平以及通过瞬时弹性扫描仪(Fibroscan)检查肝脏脂肪变及肝纤维化程度,探讨血清 Wnt5a 水平与 NAFLD 肝脏脂肪变及纤维化的相关性。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取 2014 年 1 月至 2016 年 1 月在我院体检中心参加体检后,在内分泌代谢科门诊就诊并经纳入/排除标准筛选的患者。纳入标准:①既往未使用降糖、降脂、降压、减肥药物,未接受减重手术的患者;②参照标准为《中国成人超重和肥胖症预防控制指南》,符合肥胖或超重的诊断标准〔体质量指数(BMI) $>24\text{ kg/m}^2$ 〕;③完成肝脏瞬时弹性扫描仪(Fibroscan)检查;④受试者知情同意参加本研究。排除标准:①病毒性肝炎患者、由药物和(或)自身免疫性疾病引起的脂肪肝或肝炎患者;②甲状腺功能异常或长期使用糖皮质激素者;③长期饮酒者和(或)饮酒过量(男性饮酒量每周 $\geq 140\text{ g}$,女性每周 $\geq 70\text{ g}$)者;④恶性肿瘤、以及严重的肝肾功能损害者。最终纳入受试者 134 例。

1.2 研究方法

所有受试者均空腹 8~12 h,于次晨 8~10 点抽取左肘正中静脉血。常规测量 BMI、腰围(waist circumference, WC)、臀围(hip circumference, HC)。

1.2.1 实验室检测指标 采用 Roche Cobas 8000 全自动生化分析仪测定空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG),餐后 2 h 血糖(postprandial 2 h glucose, 2 h PG),天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST),谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT),碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP), γ -谷胱酰氨(gamma-glutathione amide, GGT),总胆红素(total bilirubin, TB),直接胆红素(direct bilirubin, DB),甘油三酯(triglyceride, TG)和胆固醇(cholesterol,

CHOL),高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C),低密度脂蛋白(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C);采用 Roche Cobas 6000 全自动电化学发光分析仪测定空腹胰岛素(fasting insulin, FIns)和餐后 2 h 胰岛素(postprandial 2 h insulin, 2 h Ins)。采用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)测定血清 Wnt5a 和 β -连环蛋白(β -catenin)水平。采用稳态模型评估法(homeostasis model assessment, HOMA)计算胰岛素抵抗指数(insulin resistance, IR), $\text{HOMA-IR} = \text{FIns}(\text{mU/L}) \times \text{FPG}(\text{mmol/L}) \div 22.5$ 。

1.2.2 Fibroscan 检测 固定 1 名经过训练的专业医师进行 Fibroscan(法国 EchoSenS 公司)检测。以肝脏实时受控衰减参数(controlled attenuation parameter, CAP)评估肝脏脂肪变性程度,瞬时肝脏弹性测量值(elasticity, E)评估纤维化程度。

1.2.3 研究分组 根据 Fibroscan 检查结果,参照 2010 年中华医学会关于 NAFLD 影像学的诊断标准^[3],134 例受试者分为:无 NAFLD 组(对照组, $n=27$),即 $\text{CAP} < 238$ 及 $E < 7.3$;轻度 NAFLD 组($n=51$),即 $\text{CAP}: 238 \sim 259$, $E: 7.3 \sim 12.4$;中重度 NAFLD 组($n=56$ 例),即 $\text{CAP} > 259$, $E > 12.4$ 。

1.3 统计学方法

计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。组间比较采用 ANOVA 方差分析,进一步两两比较采用 SNK 法;相关性分析采用 Spearman 简单相关。 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组间基本临床检测指标比较

对照组、轻度 NAFLD 组和中重度 NAFLD 组 3 组间在年龄、性别、BMI、WC、HC 方面的差异均无统计学意义($P > 0.05$);轻度及中重度 NAFLD 组的 TB 水平均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);中重度 NAFLD 组中 AST、GGT 水平高于对照组和轻度 NAFLD 组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05),见表 1。

2.2 各组间胰岛功能和胰岛素抵抗指数的比较

3 组间 FPG、2 h PG、FIns 和 HOMA-IR 差异有统计学意义($P < 0.05$),2 h Ins 水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。轻度 NAFLD 组 FPG 和 2 h PG,中重度 NAFLD 组的 FPG、2 h PG、FIns 水平和 HOMA-IR 指数均高于对照组,且差异有统计学意义($P < 0.05$);中重度 NAFLD 组中 FIns 水平和

HOMA-IR 指数高于轻度 NAFLD 组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 1 各组间基本临床资料比较
Table 1 The baseline characteristics of participants

Characteristic	Control group (<i>n</i> =27)	Mild NAFLD group (<i>n</i> =51)	Moderate/severe NAFLD group (<i>n</i> =56)	<i>P</i>
Male : Female/case	23 : 4	30 : 21	30 : 16	0.060
Age/yr.	43.20±11.40	46.80±11.20	45.50±13.70	0.484
BMI/(kg/m ²)	28.10±3.02	28.30±3.57	28.50±3.61	0.153
WC/cm	88.50±8.62	88.70±9.88	89.10±9.70	0.423
HC/cm	97.70±5.39	97.90±7.77	98.10±7.35	0.238
TB/(μmol/L)	10.80±3.38	13.92±6.44*	14.47±5.61*	0.035
DB/(μmol/L)	3.70±1.51	4.20±1.80	4.44±1.80	0.198
AST/(IU/L)	34.00±15.34	32.50±26.56	50.50±30.00*·#	0.002
ALT/(IU/L)	27.70±8.21	31.30±32.20	35.40±18.04	0.380
ALP/(IU/L)	88.00±22.33	78.00±21.48	82.60±27.58	0.263
GGT/(IU/L)	52.70±40.13	35.50±33.98	72.80±81.68#	0.009
TG/(mmol/L)	1.84±1.00	2.08±2.01	2.76±2.23	0.099
CHOL/(mmol/L)	5.00±1.05	4.96±1.10	5.21±1.18	0.502
HDL-C/(mmol/L)	1.31±0.38	1.36±0.40	1.28±0.94	0.812
LDL-C/(mmol/L)	2.76±0.77	2.62±0.82	2.91±0.94	0.251

BMI: Body mass index; WC: Waist circumference; HC: Hip circumference; TB: Total bilirubin; DB: Direct bilirubin; AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; ALP: Alkaline phosphatase; GGT: Gamma-glutathione amide; TG: Triglyceride; CHOL: Cholesterol; HDL-C: High-density lipoprotein cholesterol; LDL-C: Low-density lipoprotein cholesterol. * $P<0.05$, vs. control group; # $P<0.05$, vs. mild NAFLD group

表 2 各组间胰岛功能和胰岛素抵抗指数的比较
Table 2 Islet function and insulin resistance of the participants

Item	Control group (<i>n</i> =27)	Mild NAFLD group (<i>n</i> =51)	Moderate/severe NAFLD group (<i>n</i> =56)	<i>P</i>
FPG/(mmol/L)	5.50±1.08	7.30±2.70*	7.90±2.94*	0.001
2 h PG/(mmol/L)	8.90±3.69	12.70±5.12*	13.80±5.65*	0.001
FIns/(mU/L)	10.70±5.01	13.30±5.63	17.80±10.53*·#	<0.001
2 h Ins/(mU/L)	71.20±23.71	78.50±43.50	83.60±52.22	0.058
HOMA-IR	2.56±1.36	3.09±1.72	5.82±3.94*·#	<0.001

FPG: Fasting plasma glucose; 2 h PG: Postprandial 2 h glucose; FIns: Fasting insulin; 2 h Ins : Postprandial 2 h insulin; HOMA: Homeostasis model assessment; IR: Insulin resistance; * $P<0.05$, vs. control group; # $P<0.05$, vs. mild NAFLD group

2.3 各组间肝脂肪变、纤维化程度、血清 Wnt5a 和 β-catenin 水平的比较

3 组间肝脏脂肪变性和纤维化程度、血清 Wnt5a 和 β-catenin 水平差异均有统计学意义($P<0.05$)。轻度 NAFLD 组 CAP 值、E 值和血清 Wnt5a、β-catenin 水平与对照组相当,差异均无统计学意义($P>0.05$)。中重度 NAFLD 组的 CAP 值、E 值和血清 Wnt5a 高于对照组和轻度 NAFLD 组,且差异有统计学意义($P<0.05$);而血清 β-catenin

水平在中重度 NAFLD 组高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),高于轻度 NAFLD 组,差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

2.4 Wnt5a、β-catenin 与肝脂肪变、纤维化程度和 HOMA-IR 的相关性分析

Spearman 相关分析显示,血清 Wnt5a 水平与 CAP 值呈负相关(相关系数 $r=-0.19$, $P<0.0001$),血清 Wnt5a 水平与 E 值无显著相关关系($r=0.02$, $P=0.241$),血清 Wnt5a 水平与 HOMA-

表 3 各组间 CAP 和 E 值以及血清 Wnt5a 和 β-catenin 水平的比较
Table 3 Steatosis and fibrosis of liver and serum levels of Wnt5a and β-catenin in the participants

Item	Control group (<i>n</i> =27)	Mild NAFLD group (<i>n</i> =51)	Moderate/severe NAFLD group (<i>n</i> =56)	<i>P</i>
CAP/(dB/m)	258.00±39.82	280.70±36.01	319.90±27.19*·#	<0.001
E/kPa	5.40±1.48	6.40±2.47	8.50±3.92*·#	<0.001
Wnt5a/(ng/mL)	1.45±0.38	1.02±0.43	0.86±0.37*·#	<0.001
β-catenin/(ng/mL)	0.40±0.02	0.44±0.09	0.51±0.07*	<0.001

CAP: Controlled attenuation parameter; E: Elasticity * $P<0.05$, vs. control group; # $P<0.05$, vs. mild NAFLD group

IR 指数呈负相关($r=-0.10,P=0.001$),见图 1。
血清 β -catenin 水平与 CAP 值、E 值和 HOMA-

IR 均无显著相关关系($r=0.03,r=0.01,r=0.02$;
 $P=0.157,P=0.813,P=0.272$),见图 2。

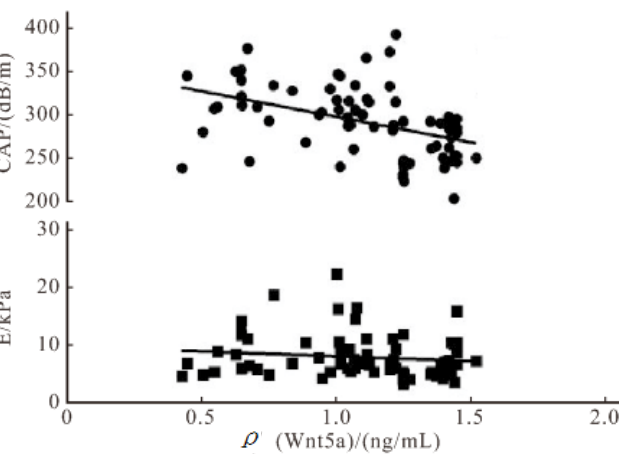


图 1 血清 Wnt5a 水平与肝脏 CAP 值、E 值和 HOMA-IR 的相关性
Fig 1 The relationship between serum Wnt5a and CAP, E and HOMA-IR

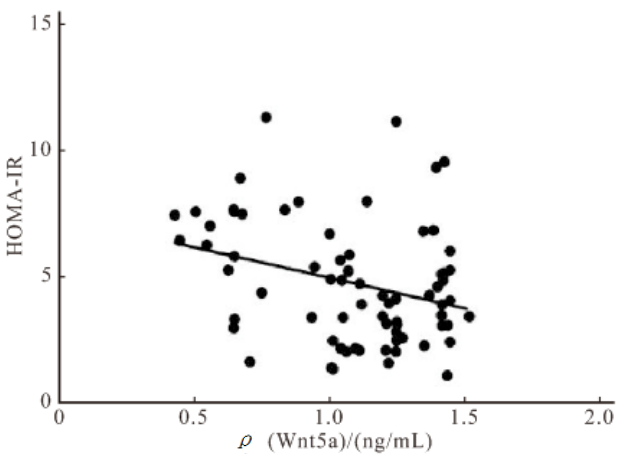


图 2 血清 β -catenin 水平与肝脏 CAP 值、E 值和 HOMA-IR 的相关性
Fig 2 The relationship between serum β -catenin and CAP, E and HOMA-IR

3 讨论

NAFLD 是欧美等西方发达国家最常见的肝脏疾病之一,成年人 NAFLD 的患病率约为 20%~33%,在成年肥胖症患者中 NAFLD 的患病率可高达 60%~90%。FAN 等^[4]通过对我国上海、广州和香港等地进行了 NAFLD 的流行病学调查,发现成人 NAFLD 患病率在 15%左右。国外有学者研究报道肝脂肪含量与肝脏胰岛素敏感性呈线性相关,且独立于 BMI 和腹型肥胖,动物实验已证实周围胰岛素抵抗和促炎症状态继发于肝脏脂肪浸润与肝脏胰岛素抵抗^[5]。在人体研究中,肝脏组织活检被认为是诊断肝脏脂肪变及纤维化的金标准。但是,其有创性使得胰岛素抵抗与 NAFLD 患者肝脏

脂肪变及纤维化程度是否直接相关无法明确^[6-7]。
本研究利用 Fibroscan 检测肥胖人群肝脏脂肪变及纤维化程度,结果显示轻度 NAFLD 组 FPG 和 2 h PG,中重度 NAFLD 组的 FPG、2 h PG、FIns 水平和 HOMA-IR 均高于对照组,且差异有统计学意义;中重度 NAFLD 组中 FIns 水平和 HOMA-IR 高于轻度 NAFLD 组,差异有统计学意义。表明脂肪肝及肝纤维化程度与 HOMA-IR 呈正相关。ISAKSEN 等^[8]研究结果显示,BMI 大于 30 kg/m² 时 HOMA-IR 和肾脏疾病危险度均会增加。NAFLD 会增加肝细胞内脂肪因子从而导致对胰岛素的敏感性降低,而 HOMA-IR 可以导致肝细胞内脂肪过度积聚,引起肝细胞损伤,从而导致肝脏炎症及纤维化形成。

有研究显示 Wnt/ β -catenin 信号途径在 NAFLD 相关的原发性肝细胞癌的发病机制中起着重要的作用^[9]。研究发现肥胖会增加脂肪组织和巨噬细胞浸润,Wnt5a 在肥胖的发生发展过程中可能起重要作用,它主要来源于巨噬细胞,可以通过自分泌或旁分泌作用于脂肪组织。Wnt5a 通过拮抗经典 Wnt/ β -catenin 信号途径作为乳腺癌和甲状腺癌的生长抑制因子,其低表达可能成为肿瘤预后不良的独立危险因子^[10-11]。腹型肥胖组血清 Wnt5a 增高,外周型肥胖组血清 Wnt5a 高于体质量正常对照组^[12]。本研究结果显示,随着 NAFLD 严重程度的增加,Wnt5a 随之逐渐下降, β -catenin 水平在中重度 NAFLD 患者中出现升高。血清 Wnt5a 水平与 CAP 值呈负相关,血清 Wnt5a 水平与 E 值无相关关系,血清 Wnt5a 水平与 HOMA-IR 呈负相关;而血清 β -catenin 水平与 CAP 值、E 值和 HOMA-IR 均无直线相关关系。这些结果并不符合我们的研究假设,提示 Wnt5a 在肥胖与 NAFLD 发病机制中的作用并不确定,其对脂肪组织和肝脏内的脂肪的代谢中可能发挥着不同的作用。同时相关性分析结果显示血清 Wnt5a 水平与 CAP 值呈负相关,血清 Wnt5a 水平与 E 值无显著相关,提示血清 Wnt5a 水平与肝脏脂肪变,而非肝脏纤维化程度相关。提示,肥胖或超重患者从肝脏脂肪变性向肝脏纤维化的过程中,可能出现巨噬细胞的进一步功能障碍。但因本研究纳入的样本量较少,尚需大样本量研究来证实本研究的结果。同时需要更进一步的基础实验探讨肝纤维化形成过程中,巨噬细胞功能障碍的作用。

综上所述,Wnt5a 水平在肥胖或超重合并中重度 NAFLD 患者中有所下降,Wnt5a 及相关蛋白在肥胖合并 NAFLD 发病机制的不同阶段可能起着不同的病理生理作用。需要进一步的基础研究探讨巨噬细胞及 Wnt 信号通路在 NAFLD 发病机制中的作用。同时也需要大样本前瞻性研究验证本研究的结论。

参 考 文 献

[1] KRUSE M, SEKI Y, VUGUIN PM, *et al.* High-fat intake

during pregnancy and lactation exacerbates high-fat diet-induced complications in male offspring in mice. *Endocrinology*,2013,154(10):3565-3576.

[2] OH DY, OLEFSKY JM. Medicine. Wnt fans the flames in obesity. *Science*,2010,329(5990):397-398.

[3] 中华医学会肝病学会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010 年修订版). 中华肝脏病杂志, 2010,18(3):4.

[4] FAN JG, FARRELL GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol*,2009,50(1):204-210.

[5] ERICKSON SK. Nonalcoholic fatty liver disease. *J Lipid Res*,2009,50(Suppl):S412-S416.

[6] KIM BK, FUNG J, YUEN MF, *et al.* Clinical application of liver stiffness measurement using transient elastography in chronic liver disease from longitudinal perspectives. *World J Gastroenterol*,2013,19(12):1890-1900.

[7] SEBASTIANI G, GHALI P, WONG P, *et al.* Physicians' practices for diagnosing liver fibrosis in chronic liver diseases: a nationwide, Canadian survey. *Can J Gastroenterol*,2014,28(1):23-30.

[8] ISAKSEN VT, LARSEN MA, GOLL R, *et al.* Hepatic steatosis, detected by hepatorenal index in ultrasonography, as a predictor of insulin resistance in obese subjects. *BMC Obes*, 2016 (3): 39 [2016-05-21]. <http://bmcores.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40608-016-0118-0>. doi: 10.1186/s40608-016-0118-0.

[9] TIAN Y, MOK MT, YANG P, *et al.* Epigenetic Activation of Wnt/ β -Catenin Signaling in NAFLD-Associated Hepatocarcinogenesis. *Cancers (Basel)*,2016,8(8):pii: E76. [2016-05-21]. <http://www.mdpi.com/2072-6694/8/8/76>. doi: 10.3390/cancers8080076.

[10] ZHONG Z, SHAN M, WANG J, *et al.* Decreased Wnt5a expression is a poor prognostic factor in triple-negative breast cancer. *Med Sci Monit*,2016(22):1-7.

[11] KREMENEVSKAJA N, VON WASIELEWSKI R, RAO AS, *et al.* Wnt-5a has tumor suppressor activity in thyroid carcinoma. *Oncogene*,2005,24(13):2144-2154.

[12] SCHULTE DM, MULLER N, NEUMANN K, *et al.* Pro-inflammatory wnt5a and anti-inflammatory sFRP5 are differentially regulated by nutritional factors in obese human subjects. *PloS one*,2012,7(2):e32437[2016-05-21]. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0032437>.

(2016 - 11 - 03 收稿,2016 - 11 - 22 修回)

编辑 沈 进