

UCP1 基因启动子甲基化与成人肥胖的关系



陈燕子 付晓丽 戚敏杰 詹芳芳¹ 王雅轩² 蔡佳霖²
卢明³ 刘莉^{2,4} 平智广⁴

郑州大学公共卫生学院卫生统计学教研室, 郑州 450001

摘要:目的 探索解偶联蛋白 1 (UCP1) 基因启动子甲基化水平与肥胖的关系。
方法 选取某医院腹部手术患者 116 例, 超重/肥胖组 50 例 (BMI ≥ 24.0), 正常体重组 66 例 (18.5 ≤ BMI < 24), 提取两组白细胞 DNA 并进行甲基化处理, 采用质谱法定量检测 UCP1 基因甲基化水平, 比较两组甲基化差异及各 CpG 位点的甲基化水平与 BMI 的关系。结果 *t* 检验结果显示, 正常体重组和超重/肥胖组的各 CpG 位点的差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 多重线性回归分析发现, 位点 UCP1-2_CpG_10.11.12.13 与 BMI 存在线性关系 (回归系数为 15.370, $P < 0.05$)。结论 UCP1 基因甲基化可能与肥胖存在一定关系。

关键词: 解偶联蛋白 1 甲基化 肥胖 质谱法

中图分类号: R589.2 R181.37

文献标志码: A

Relationship between uncoupling protein 1 gene promoter methylation and obesity in adult

Chen Yanzi, Fu Xiaoli, Qi Minjie, Zhan Fangfang, Wang Yaxuan,
Cai Jialin, Lu Ming, Liu Li, Ping Zhiguang

Department of Health Statistics, College of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China

Abstract: Objective To observe the relationship between the methylation status in promoter region of uncoupling protein 1 (UCP1) gene and obesity. **Methods** A case-control study based on the hospital consisted 116 people was carried out, according to the body mass index (BMI), the subjects were divided into two groups, the overweight and obesity group with 50 samples (BMI ≥ 24.0) and the normal weight group with 66 samples (18.5 ≤ BMI < 24), DNA samples were extracted from white blood cell and treated by hydrogen sulfite. Then mass spectrometry method was used to quantitatively detect the methylation level UCP1 gene promoter. The difference between the two groups was compared and the relationships between CpG sites and BMI were explored. **Results** Statistical analysis showed that the methylation differences between normal weight and

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 81001280, 81202277, 81373096); 郑州大学 2016 年度大学生创新创业训练计划项目

作者简介: 陈燕子, 女, 硕士, 研究方向: 慢性非传染性疾病分子流行病学, E-mail: 15225191773@163.com

1 天津市健康教育所

2 郑州大学基础医学院

3 焦作市人民医院护理部

4 通信作者: 刘莉, 女, 硕士, 副教授, 研究方向: 肥胖及相关疾病分子流行病学及防治, E-mail: liulixh@zhu.edu.cn;

平智广, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 慢性非传染性疾病分子流行病学, E-mail: pingzhg@zhu.edu.cn

overweight or obese group were not statistically significant, however, the CpG site UCP1-2_CpG_10.11.12.13 had statistical significance in correlation coefficients with BMI according to multiple linear regression method (regression coefficient was 15.370, $P < 0.05$). **Conclusion** The UCP1 gene promoter methylation may be a factor for adult obesity.

Key words: uncoupling protein 1, methylation, obesity, mass spectrometry method

随着社会经济的快速发展,人们的生活水平不断提高,饮食结构和生活方式逐渐发生改变,肥胖已成为当今社会的公共健康问题。肥胖是遗传和环境因素共同作用的结果。解偶联蛋白 1 (uncoupling protein 1, UCP1) 主要存在于脂肪组织的线粒体膜上,可参与机体能量代谢,增加机体尤其是脂肪组织中的能量消耗^[1]。动物在冷环境下,脂肪组织主要通过增加组织重量、线粒体蛋白含量和 UCP1 的含量来增加产热^[2-4]。有研究发现,成人体内存在棕色脂肪组织,且组织量与体质指数 (body mass index, BMI) 呈负相关,冷刺激可诱导成人棕色脂肪组织中 UCP1 基因的表达^[5-6]。同时有研究发现,白色脂肪组织在一定条件下向棕色化发展,皮下脂肪组织棕色化标志 UCP1 基因表达升高,产热增加^[7]。DNA 甲基化是一种重要的表观遗传学修饰方式,能够调控基因的表达,DNA 甲基化水平受到疾病、环境、年龄和性别等因素的影响,处于动态的变化过程中。多个研究表明,DNA 甲基化可调控脂肪组织的生长发育,可能在肥胖的发生发展中起重要作用^[8-10]。动物实验发现,UCP1 增强子甲基化水平下降与小鼠棕色脂肪组织 UCP1 基因表达增加有关^[11]。本研究旨在通过研究 UCP1 基因启动子甲基化在正常人群和肥胖人群中的差异,探索 UCP1 基因甲基化与肥胖的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取 2013 年 4—12 月河南省某市级医院的腹部手术(接受阑尾炎手术、腹外疝手术、胆囊结石手术等)患者 116 例。排除残障或精神障碍者、孕妇、各种继发性肥胖者、各种恶性肿瘤患者及艾滋病、乙肝、结核等传染性疾病的患者。

纳入研究的患者均于术前测定其身高、体重、

腰围 (waist circumference, WC)、臀围 (hip circumference, HC), 计算 BMI 和腰臀比 (waist to hip ratio, WHR)。按照国内肥胖诊断标准^[12] 将研究对象分为正常体重组 ($18.5 \leq \text{BMI} < 24$) 50 例和超重肥胖组 ($\text{BMI} \geq 24.0$) 66 例; 并采集空腹肘静脉血, 检测生化指标。该研究已通过郑州大学伦理委员会批准, 患者知情同意, 并签订知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 样本收集及生理指标测定 所有研究对象均于手术前抽取清晨空腹肘静脉血 2 mL, EDTA-K₂ 抗凝, -80 °C 冰箱保存备用。空腹血糖 (fasting plasma glucose, FPG) 测定采用葡萄糖氧化酶法, 甘油三酯 (triglyceride, TG)、总胆固醇 (total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇 (high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇 (low density lipoprotein cholesterol, LDL-C) 均采用全自动生化分析仪检测。

1.2.2 提取两组研究对象白细胞 DNA 并用亚硫酸氢盐对其进行转化处理 采用上海莱枫公司基因组 DNA 提取试剂盒 (目录号 DK604-02) 提取白细胞 DNA, 检测 DNA 浓度及纯度, 于 -20 °C 保存备用。采用美国 Zymo 公司的 EZ DNA Methylation-Kit 试剂盒 (目录号 D5002) 取 14 μL DNA 样本按照说明书步骤进行操作, 对 DNA 进行亚硫酸氢盐修饰处理, 最终加入 10 μL M-Elution Buffer 洗脱修饰后的 DNA, 于 -20 °C 保存备用。

1.2.3 引物设计与合成 对 UCP1 基因启动子目的区域进行检测, 在 UCSC 基因数据库 (<http://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgNear>) 中查找 UCP1 基因启动子序列, 将待测序列输入到 EpiDesigner 软件 (Sequenom) 中, 确定可检测的区段。可检测区段见图 1, UCP1 基因的引物由上海英骏公司合成, 见表 1。

表 1 UCP1 基因目的片段引物及产物大小

基因片段	引物序列	产物/bp
UCP1-1	L AGGAAGAGAGGGTAAGTTGGAGAGTTGTATTTGGA	499
	R CAGTAATACGACTCACTATAGGGAGAAGGCTACCTCACCTTCTATCACCCCTTAAC	
UCP1-2	L AGGAAGAGAGGAAGGTGTGTAGTTAAAGGCTGATA	478
	R CAGTAATACGACTCACTATAGGGAGAAGGCTAAAAATTCCTTTCCCTTACTCTTCA	

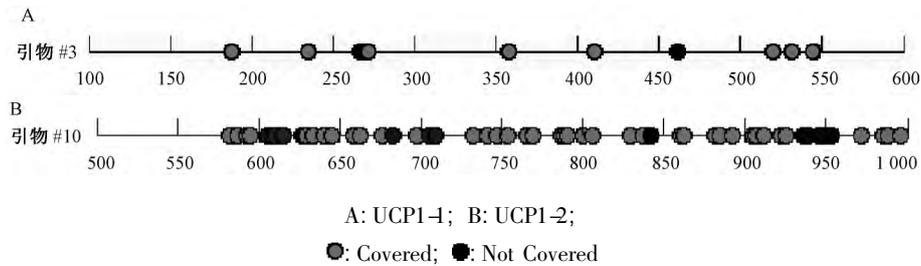


图 1 UCPI 可检测区段 UCPI-1 和 UCPI-2

1.2.4 反应过程 (1) PCR 反应: 95 °C 预变性 4 min, 95 °C 变性 20 s, 56 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 60 s, 循环 45 次, 72 °C 终延伸 3 min, 25 °C 保温。(2) SAP 酶消化反应: 37 °C 20 min, 85 °C 5 min, 25 °C 保温。(3) 转录和酶切反应: 37 °C 3 h。(4) 树脂纯化: 将反应产物的 384 孔板中每孔加入 20 μL 三蒸水, 2000 r/min 离心 3 min, 加入树脂, 在反应摇匀仪上做树脂纯化反应 15 min, 脱盐, 反应完成后 2000 r/min 离心 3 min, 将脱盐处理后的样本点在样品靶上, 自然结晶。(5) 质谱检测: 采用美国 Sequenom 公司的 Massarray 质谱分析仪 (目录号 9034) 经基质辅助激光解析电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF-MS) 分析鉴定, Epityper 软件检测质谱峰, 根据质谱峰图判断甲基化程度。本研究的质谱法检测服务由北京京鸿汇盛科技有限公司提供。

1.2.5 质量控制 调查问卷由专业人员设计并核查, 调查人员、样本收集人员、实验人员及数据处理人员均进行统一培训; 检测甲基化水平时, 随

机选取 2% 的样本进行重复测量验证, 一致率达到 100%。

1.3 统计学分析

采用 IBM SPSS Statistics 21.0 进行统计学分析。计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用两独立样本 *t* 检验, 计数资料采用 χ^2 检验; 各 CpG 位点的甲基化水平与 BMI 之间关系采用多重线性回归分析; 检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 研究对象一般情况

正常体重组男性 12 人, 女性 38 人, 超重肥胖组男性 13 人, 女性 53 人, 两组间性别分布的差异无统计学意义 ($\chi^2 = 0.312, P = 0.577$)。由表 2 可见, 经两独立样本 *t* 检验, 年龄、身高等指标在两组间的差异没有统计学意义 ($P > 0.05$), 体重、腰臀比、BMI 及 TG 在两组间的差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且超重/肥胖组均高于正常体重组。

表 2 正常体重组和超重/肥胖组定量指标的组间比较结果 ($\bar{x} \pm s$)

指标	体重正常 (n = 50)	超重/肥胖 (n = 66)	t	P
年龄/岁	55.560 ± 15.162	51.894 ± 11.571	1.424	0.158
身高/cm	161.639 ± 7.106	161.228 ± 7.133	0.308	0.759
体重/kg	58.005 ± 6.935	70.820 ± 8.125	-8.951	<0.001
体质指数	22.128 ± 1.349	27.231 ± 2.507	-14.069	<0.001
腰围/cm	57.677 ± 25.798	63.233 ± 29.041	-1.076	0.284
臀围/cm	65.042 ± 30.106	68.091 ± 30.305	-0.532	0.596
收缩压/mmHg	127.513 ± 17.813	131.036 ± 17.180	-1.076	0.284
舒张压/mmHg	77.600 ± 9.867	78.798 ± 9.451	-0.663	0.508
空腹血糖/(mmol/L)	5.347 ± 1.079	6.104 ± 3.392	-1.701	0.093
总胆固醇/(mmol/L)	4.181 ± 1.181	4.512 ± 1.055	-1.591	0.114
甘油三酯/(mmol/L)	1.422 ± 1.355	2.122 ± 2.264	-2.068	0.041
高密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L)	1.139 ± 0.369	1.106 ± 0.311	0.521	0.603
低密度脂蛋白胆固醇/(mmol/L)	2.585 ± 1.074	2.400 ± 0.957	0.976	0.331
腰臀比	0.896 ± 0.052	0.925 ± 0.064	-2.633	0.010

2.2 甲基化样本的重复测量验证

由图 2、图 3 可见, 质谱法检测 UCPI 基因启动子甲基化程度, 随机选取 2% 的样本进行重复

测量验证, 重复测量所得结果一致率为 100%, 白色代表没有检测出的 CpG 位点, 从白色到黑色代表甲基化率从 0% 递增至 100%。

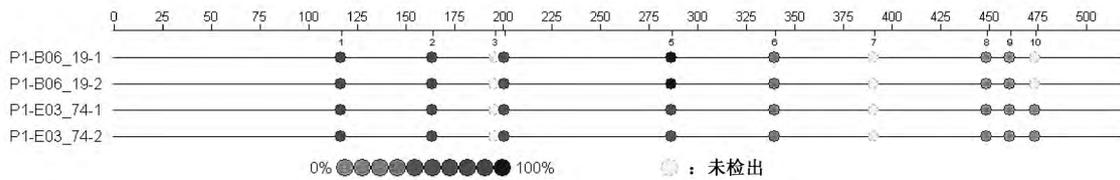


图2 UCPI-1 基因启动子甲基化图谱

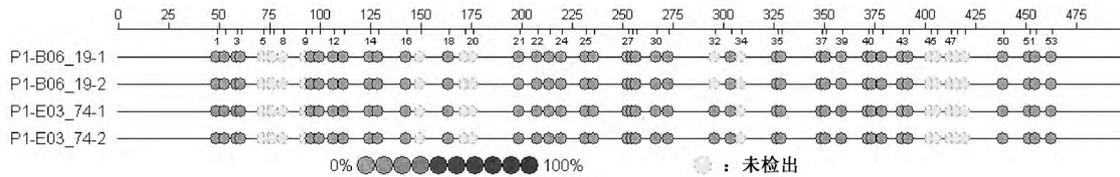


图3 UCPI-2 基因启动子甲基化图谱

2.3 两组甲基化水平的比较

由表3可见经两独立样本 t 检验,正常体重

组和超重/肥胖组各 CpG 位点甲基化程度的差异

没有统计学意义。

表3 正常体重组和超重/肥胖组之间各 CpG 位点甲基化差异的比较($\bar{x} \pm s$)

CpG 位点	体重正常组 ($n=50$)	超重/肥胖组 ($n=66$)	t	P
UCPI-1_CpG_1	77.860 ± 4.973	77.348 ± 5.822	0.498	0.619
UCPI-1_CpG_2	64.220 ± 4.464	64.152 ± 5.902	0.069	0.946
UCPI-1_CpG_4	49.220 ± 5.556	47.848 ± 6.484	1.199	0.233
UCPI-1_CpG_5	35.960 ± 26.335	33.848 ± 25.700	0.434	0.665
UCPI-1_CpG_6	44.060 ± 6.355	44.667 ± 5.576	-0.546	0.586
UCPI-1_CpG_8_9	12.410 ± 2.824	12.720 ± 2.720	-0.597	0.552
UCPI-2_CpG_10_11_12_13	8.792 ± 4.371	10.782 ± 7.473	-1.640	0.104
UCPI-2_CpG_14_15	5.429 ± 2.799	6.062 ± 4.062	-0.936	0.351
UCPI-2_CpG_16	5.520 ± 3.069	5.662 ± 4.090	-0.202	0.840
UCPI-2_CpG_18	2.531 ± 3.247	2.554 ± 2.622	-0.042	0.966
UCPI-2_CpG_21_22	8.796 ± 4.564	9.308 ± 4.503	-0.597	0.552
UCPI-2_CpG_23_24	6.337 ± 3.061	6.892 ± 3.062	-0.959	0.340
UCPI-2_CpG_25_26	8.541 ± 4.349	8.688 ± 4.567	-0.173	0.863
UCPI-2_CpG_27_28_29	8.449 ± 3.708	8.805 ± 3.651	-0.510	0.611
UCPI-2_CpG_30	6.061 ± 4.074	6.769 ± 4.663	-0.847	0.399
UCPI-2_CpG_31	5.378 ± 3.308	5.477 ± 4.059	-0.140	0.889
UCPI-2_CpG_35_36	5.010 ± 2.829	5.516 ± 3.603	-0.809	0.420
UCPI-2_CpG_37_38	4.173 ± 3.472	4.900 ± 4.279	-0.971	0.333
UCPI-2_CpG_39	9.755 ± 5.085	10.054 ± 5.643	-0.292	0.771
UCPI-2_CpG_40_41_42	6.194 ± 3.097	7.391 ± 3.388	-1.931	0.056
UCPI-2_CpG_43_44	8.224 ± 3.853	8.531 ± 3.582	-0.438	0.663
UCPI-2_CpG_50_51_52	8.438 ± 8.498	9.431 ± 7.982	-0.636	0.526
UCPI-2_CpG_53	2.143 ± 2.791	2.430 ± 3.556	-0.465	0.643

2.4 UCPI 基因启动子区甲基化水平与 BMI 的关系

采用多重线性回归分析 UCPI 基因启动子区甲基化水平与 BMI 的关系,并进行性别和年龄校

正。结果由表4可见,位点 UCPI-2_CpG_10_11_12_13 与 BMI 存在线性关系($P < 0.05$),甲基化程度越高,BMI 越高。

表4 UCPI 基因启动子各 CpG 位点甲基化水平与 BMI 的多重线性回归分析结果⁽¹⁾

模型	CpG 位点	相关系数	标准误	标准系数	t	P
1	UCPI-2_CpG_10_11_12_13	14.912	5.175	0.268	2.881	0.005
2	UCPI-2_CpG_10_11_12_13	15.370	5.269	0.277	2.917	0.004

注:(1)调整年龄和性别

3 讨论

DNA 甲基化属于表观遗传修饰之一,只影响基因转录活性,不改变 DNA 序列。DNA 甲基化包括 DNA 的广泛低甲基化和启动子区域 CpG 岛的高甲基化,目前的研究主要集中于 CpG 岛的高甲基化。最近的全基因组关联分析结果发现,LY86 基因甲基化和肥胖之间有关联^[13]。有研究发现,欧洲人的 BMI 与血细胞和脂肪组织中 HIF3A 位点甲基化水平成正相关^[14]。另外有研究发现,肥胖儿童瘦素基因启动子区平均甲基化水平显著低于正常儿童^[15],腹腔脂肪组织的肿瘤坏死因子- α 基因启动子甲基化可能是新疆维吾尔族人群肥胖和 2 型糖尿病的危险因素^[16]。

UCP1 是线粒体内膜上的一种转运蛋白,可提高机体基础代谢率,增加产热,它的发现为肥胖机制的研究开辟了新的途径。大鼠 UCP1 主要分布在棕色脂肪组织,其产热主要是通过 UCP1 的作用使氧化磷酸化解偶联分解产热。有报道称,通过敲除小鼠 UCP1 基因,其对寒冷不耐受^[1]。藻褐素能使大鼠棕色脂肪组织中的 UCP1 增加,从而减轻因高脂饮食引发的肥胖^[17]。在研究针刺对肥胖大鼠褐色脂肪组织产热作用的影响中发现,棕色脂肪组织 UCP1 的基因表达异常低下可能是大鼠产生肥胖的重要因素之一^[18]。有研究发现,UCP1 基因 A-G(-3826) 突变可能是肥胖患者体质量增加因素^[19-20],说明 UCP1 基因多态性可影响肥胖的发生发展。

本研究选取腹部手术患者,因为课题组不但要研究基因甲基化与肥胖的关系,后期还会对腹腔大网膜和皮下脂肪组织进行 RNA、蛋白质的提取,从 mRNA 转录和蛋白表达水平发现 UCP1 与肥胖的关系。由于研究对象为人,要得到人的脂肪组织必须经过患者知情同意,健康者很少愿意提供自己身上的组织,所以本研究只能针对接受腹部手术的患者进行沟通来获取组织。

本研究采用质谱法检测基因甲基化水平,质谱法一次能够分析覆盖长达 500 bp 内的多个 CpG 位点,从 10% 到 90% 准确地进行甲基化定量检测,标准差只有 5%,可重复性高;亚硫酸盐处理一次样本可检测 50 个片段,能够充分利用样本资源。本研究采用质谱法定量检测 UCP1 基因启动子区域甲基化水平,操作简单,灵敏度高,结果精确。但质谱法也有其不足之处,如果两个 CpG 位点之间的序列没有 U 碱基,这两个位点便只能作为一个整体被检测,得到的甲基化水平为二者均值。

研究发现正常组和超重肥胖组的 BMI、体重、腰臀比、甘油三酯存在差异,且肥胖组高于正常组;在进行正常组和超重肥胖组的甲基化差异的比较时,没有发现有差异的位点;在进行各位点与 BMI 的多重线性回归分析时,经性别和年龄校正前后,均发现位点 UCP1-2_CpG_10. 11. 12. 13 的甲基化水平与 BMI 成正相关,该位点甲基化水平越高,BMI 越高。DNA 甲基化能关闭某些基因活性,甲基化水平越高,基因的表达越受抑制^[21],因此推测,UCP1-2_CpG_10. 11. 12. 13 甲基化水平越高,越抑制基因的表达,UCP1 基因表达减少,产热下降,从而导致 BMI 升高。

本研究在进行结果分析时,首先进行了组间两独立样本 *t* 检验,未发现甲基化水平有差异的位点,然而进行多重线性回归分析时却发现了差异位点。推测该甲基化位点对 BMI 的影响力可能较弱,按 BMI 分组后,数据信息有所损失,因此组间比较时差异难以显现;而多重线性回归分析着眼于甲基化程度与 BMI 的关系,从而检出了甲基化程度有差异的位点。因此,本研究在分析方法方面的尝试对研究遗传或表观遗传因素在复杂疾病中的作用有一定意义。

UCP1 作为肥胖相关基因在肥胖发生发展机制中被广泛关注,本研究通过定量测定 UCP1 基因启动子甲基化水平,发现了 UCP1 基因对肥胖的表观遗传影响,为今后的研究提供新的证据。

参考文献

- [1] FROMME T, KLINGENSPOR M. Uncoupling protein 1 expression and high-fat diets [J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011, 300(1): 1-8.
- [2] WOLKOW C A, ISER W B. Uncoupling protein homologs may provide a link between mitochondria, metabolism and lifespan [J]. *Aging Res Rev*, 2006, 5(2): 196-208.
- [3] ZHANG L, LIU P F, ZHU W L, et al. Variations in thermal physiology and energetics of the tree shrew (*Tupaia belangeri*) in response to cold acclimation [J]. *J Comp Physiol B*, 2012, 182(1): 167-176.
- [4] ZHU W L, HUANG C M, ZHANG L, et al. Changes of energy metabolism, thermogenesis and body mass in the tree shrew (*Tupaia belangeri chinensis* Tupaiidae, Scandebtia) during cold exposure [J]. *Ital J Zool*, 2012, 79(2): 175-181.
- [5] CYPESS A M, LEHMAN S, WILLIAMS G, et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans [J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(15): 1509-1517.

- [6] VIRTANEN K A , LIDELL M E , J ORAVA , et al . Functional brown adipose tissue in healthy adults [J]. *N Engl J Med* , 2009 , 360(15) : 1518-1525.
- [7] WU J , BOSTROM P , SPARKS L M , et al . Beige adipocytes are a distinct type of thermogenic fat cell in mouse and human [J]. *Cell* , 2012 , 150 (2) : 366-376.
- [8] CAMPIÓN J , MILAGRO F I , MARTÍNEZ J A . Individuality and epigenetics in obesity [J]. *Obes Rev* , 2009 , 10(4) : 383-392.
- [9] LOMBA A , MILAGRO F I , GARCIA-DIAZ D F , et al . Obesity induced by a pair-fed high fat sucrose diet: methylation and expression pattern of genes related to energy homeostasis [J]. *Lipids Health Dis* , 2010 , 9: 60.
- [10] D' ALESSIO A C , WEAVER I C , SZYF M . Acetylation-induced transcription is required for active DNA demethylation in methylation-silenced genes [J]. *Mol Cell Biol* , 2007 , 27 (21) : 7462-7474.
- [11] SHORE A , KARAMITRI A , KEMP P , et al . Role of Ucp1 enhancer methylation and chromatin remodelling in the control of Ucp1 expression in murine adipose tissue [J]. *Diabetologia* , 2010 , 53 (6) : 1164-1173.
- [12] 国际生命科学学会中国办事处中国肥胖问题工作组联合数据汇总分析协作组. 中国成人体质指数分类的推荐意见简介 [J]. *中华预防医学杂志* , 2001 , 35(5) : 349.
- [13] SU S , ZHU H , XU X , et al . DNA methylation of the LY86 gene is associated with obesity , insulin resistance , and inflammation [J]. *Twin Res Hum Genet* , 2014 , 17(3) : 183-191.
- [14] DICK K J , NELSON C P , TSAPROUNI L , et al . DNA methylation and body-mass index: a genome-wide analysis [J]. *Lancet* , 2014 , 383 (9933) : 1990-1998.
- [15] 申文雯,郑东旂,刘兆秋,等. 肥胖儿童食欲调节因子基因启动子区 DNA 甲基化探讨 [J]. *中国儿童保健杂志* , 2013 , 21(11) : 1132-1135.
- [16] 张望强,许彭,王婷婷,等. 腹腔脂肪组织肿瘤坏死因子- α 基因启动子区 DNA 甲基化及其 mRNA 的表达与维吾尔族肥胖及 2 型糖尿病的相关性研究 [J]. *中国糖尿病杂志* , 2015 , 23(6) : 489-493.
- [17] WOO M N , JEON S M , SHIN Y C , et al . Anti-obese property of fucoxanthin is partly mediated by altering lipid-regulating enzymes and uncoupling proteins of visceral adipose tissue in mice [J]. *Mol Nutr Food Res* , 2009 , 53(12) : 1603-1611.
- [18] 刘志成,孙凤岷,赵东红,等. 针刺对肥胖大鼠褐色脂肪组织产热作用的影响 [J]. *中国临床康复* , 2003 , 7(27) : 3665-3667.
- [19] SRAMKOVA D , KREJBICHOVA S , VCELAK J , et al . The UCP1 gene polymorphism A-3826G in relation to DM2 and body composition in Czech population [J]. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* , 2007 , 115(5) : 303-307.
- [20] DHALL M , CHATURVEDI M M , RAI U , et al . Sex-dependent effects of the UCP1-3826 A/G polymorphism on obesity and blood pressure [J]. *Ethn Dis* , 2012 , 22(2) : 181-184.
- [21] HIRST M , MARRA M A . Epigenetics and human disease [J]. *Int J Biochem Cell Biol* , 2009 , 41(1) : 136-146.

收稿日期: 2016-05-18

文献类型和标识代码

(摘自 GB/T 7714—2015《信息与文献 参考文献著录规则》)

参考文献类型	标识代码	参考文献类型	标识代码
普通图书	M	专利	P
会议录	C	数据库	DB
汇编	G	计算机程序	CP
报纸	N	电子公告	EB
期刊	J	档案	A
学位论文	D	舆图	CM
报告	R	数据集	DS
标准	S	其他	Z