

基础研究

聚集蛋白聚糖基因串联重复多态性和肥胖交互作用
与中国北方男性腰椎间盘突出症易感性的关系

王昊鹏,屠冠军,丛琳

(中国医科大学附属第一医院脊柱外科 110001 沈阳市)

【摘要】目的:探讨中国北方汉族男性人群聚集蛋白聚糖(Aggrecan)基因串联重复多态性(variable number of tandem repeat, VNTR)与肥胖的交互作用对腰椎间盘突出症(LDH)发病的影响。**方法:**收集 2004 年 1 月~2015 年 12 月在中国医科大学附属第一医院骨科住院且符合纳入及排除标准的 299 例男性志愿者的资料。病例组为 101 例临床诊断为 LDH 患者,对照组为 198 例无 LDH 症状的志愿者。对本研究知情同意,每人捐献一份血液样本。测量两组的身高、体重,计算体重指数(BMI);采用 PCR 技术检测 Aggrecan VNTR 分布情况;应用 Hwang's 模型分析 Aggrecan VNTR 与肥胖的交互作用对 LDH 发病的影响。**结果:**相较于既无 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因危险因素也没有肥胖危险因素的个体,仅有 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因危险因素而没有肥胖危险因素的个体的 LDH 发病率为 1.027 倍 [$P=0.938$; 95%CI: 0.520~2.028]; 仅有肥胖危险因素而没有 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因危险因素的个体 LDH 发病率为 1.050 倍 [$P=0.885$; 95%CI: 0.543~2.030]; 既有 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因危险因素也有肥胖危险因素的个体 LDH 发病率为 4.521 倍 [$P=0.000016$; 95%CI: 2.277~8.978]。**结论:**中国北方男性 LDH 患者中,较短的 Aggrecan VNTR 串联重复序列片段(≤ 25)出现频率较高; Aggrecan 基因 VNTR 与肥胖之间存在交互作用,影响 LDH 的发病。

【关键词】腰椎间盘突出症;聚集蛋白聚糖;基因串联重复多态性;肥胖;交互作用

doi: 10.3969/j.issn.1004-406X.2021.01.09

中图分类号: R681.5, Q786 文献标识码: A 文章编号: 1004-406X(2021)-01-0063-06

The interaction between Aggrecan gene variable number of tandem repeat polymorphism and obesity in susceptibility of lumbar disc herniation in northern Chinese male/WANG Haopeng, TU Guanjun, CONG Lin//Chinese Journal of Spine and Spinal Cord, 2021, 31(1): 63-68

【Abstract】 Objectives: To study the interaction between Aggrecan gene variable number of tandem repeat (VNTR) polymorphism and obesity, and its effects on susceptibility of lumbar disc herniation(LDH) in Chinese Han male population lived in northern China. **Methods:** To collect the clinical data of 299 male volunteers who met the inclusion and exclusion criteria and were hospitalized in the Department of Orthopedics at the First Affiliated Hospital of China Medical University from January 2004 to December 2015. The case group included 101 patients clinically diagnosed with LDH and the control group included 198 volunteers without symptoms. Every subject gave informed consent to this study and donated a blood sample. Height and weight were measured and body mass index(BMI) was calculated. Aggrecan VNTR information was detected by PCR technique. The Hwang's model was used to determine the interaction between aggrecan gene VNTR polymorphism and obesity, and its influence in susceptibility of LDH. **Results:** The data indicated that participants carrying allele ≤ 25 repeats who were non-obese showed a 1.027-fold increase in risk for LDH ($P=0.938$; 95%CI 0.520-2.028), and participants carrying two alleles >25 repeats who were obese showed a 1.050-fold increase risk ($P=0.885$; 95%CI 0.543-2.030), while participants carrying allele ≤ 25 repeats who were obese showed a 4.521-fold increase in risk for LDH($P=0.000016$; 95%CI 2.277-8.978). **Conclusions:** In

基金项目:国家自然科学基金面上项目(编号:81871803)

第一作者简介:男(1996-),硕士研究生,研究方向:脊柱外科

电话:(024)83283360 E-mail:hopper.wong@foxmail.com

通讯作者:丛琳 E-mail:chinaconglin@163.com

northern Chinese male LDH patients, shorter AggreCan VNTR fragments(≤ 25 repeats) are more frequent, and there are interactions between AggreCan gene VNTR polymorphism and obesity to affect LDH incidence.

【Key words】 Lumbar disc herniation; AggreCan; Variable number of tandem repeat; Obesity; Interaction

【Author's address】 Department of Spine Surgery, The First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang, 110001, China

约 1/5 的腰腿痛患者是由腰椎间盘突出症(lumbar disc herniation, LDH)引起的, LDH 是发病率较高、医疗保健费用消耗较大的疾病之一^[1]。尽管目前已有较多关于 LDH 的病因及病理学的研究, 但该病的具体发病机制仍无法确定。聚集蛋白聚糖(AggreCan)是透明软骨组织中的一种主要蛋白多糖, 其聚合体分子与胶原结合形成涵养大量水分的网眼状结构, 满足人体活动对椎间盘的生物力学要求。人类是迄今已分析的物种之中唯一拥有一拥 AggreCan 基因串联重复多态性(variable number of tandem repeat, VNTR)的种群^[2]。本课题组前期研究结果证实腰椎间盘突出髓核中 AggreCan 含量与 LDH 存在相关性, AggreCan VNTR 与 AggreCan 表达及 LDH 发病存在相关性^[3]。LDH 的发病是一个复杂的多阶段的过程, AggreCan VNTR 与这个过程之中的某一个中间表型或阶段相关, 而不是直接引起疾病的发生, 在这个过程中可能存在基因和环境因素交互作用。现有的研究仅针对某一环境或遗传因素, 存在一定的局限性。本研究通过对纳入对象的临床资料包括性别、年龄、体重指数(BMI)、职业、吸烟史等进行进一步分析, 探讨中国北方汉族男性 AggreCan VNTR 与肥胖的交互作用对 LDH 发病的影响。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选取 2004 年 1 月~2015 年 12 月在中国医科大学附属第一医院骨科住院的患者。使用调查问卷采集所有志愿者的一般资料, 包括性别、年龄、身高(cm)、体重(kg)、是否存在导致腰痛的腰椎外伤史、吸烟史、职业、体力工作量(依据职业进行确定, 并分为轻、中、重度)。

纳入标准: 男性、年龄 14~49 岁、汉族、长期居住在我国北方地区居民、每周运动量 $<50\text{min}$ 。排除标准: 存在职业和/或生活方式的危险因素(如长期吸烟史、重体力劳动和长时间驾驶等)以及具有包括风湿病、类风湿、强直性脊柱炎、骨肿瘤、代谢性骨病、近期腰椎外伤史在内的其他相关

病史。最终共筛选出 299 例志愿者参与本研究。将收集到的病例按是否确诊 LDH 分 LDH 组和对照组。LDH 组 101 例, 均为临床确诊为 LDH 并在我科手术治疗的患者, 均有持续 6 周以上的坐骨神经痛, 并且有相应的影像学资料(MRI)支持(由一名影像学医师及两名骨科医师一致判定), 临床资料齐全(包括实验室生化检查及影像学检查结果); 对照组 198 例, 为未患有 LDH 的志愿者。所有研究对象均填写完成一份调查问卷并自愿捐赠一份血液样本(-70°C 保存)。所有志愿者均签署知情同意书并予以积极配合。本研究已获得我院伦理委员会批准(No.201272)。

1.2 BMI 计算

采用世界卫生组织推荐的亚洲人群 BMI 计算方式及标准^[4]: $\text{BMI} = \text{体重}(\text{kg}) / \text{身高}^2(\text{m}^2)$ 。BMI $< 18.5\text{kg}/\text{m}^2$ 为低体重, $18.5\text{kg}/\text{m}^2 \leq \text{BMI} < 23.0\text{kg}/\text{m}^2$ 为正常体重, $23.0\text{kg}/\text{m}^2 \leq \text{BMI} < 27.5\text{kg}/\text{m}^2$ 为超重, $\text{BMI} \geq 27.5\text{kg}/\text{m}^2$ 为肥胖。

1.3 AggreCan VNTR 的检测

取两组受试对象血液 3ml, 乙二胺四乙酸二钠(EDTANa2)抗凝, 分离血浆后采用饱和酚氯仿法提取基因组 DNA。应用 PCR 技术扩增 AggreCan 目的基因, 结合文献资料^[2]设计引物, 上游序列为: 5'-TAGAGGGCTCTGCCTCTGGAGTTG-3', 下游序列为: 5'-AGGTCCCCTACCGCAGAGGTAGAA-3'(由 TaKaRa 大连宝生物工程有限公司合成)。反应体系为 20 μl , 包含超纯水 13.2 μl , 10 $\times$ PCR 反应缓冲液 2 μl , 上、下游引物各 0.8 μl , 含有 4 种 dNTP 的底物 2 μl , FastStart Taq DNA 聚合酶(Roche Diagnostics, Branchburg, NJ, USA) 0.2 μl , 目的基因组 DNA 1.0 μl (50ng)。使用自动 PCR 仪(Biometra T1 Thermocycler)扩增 AggreCan 目的基因, 扩增程序为: 变性 95 $^{\circ}\text{C}$ 、30s, 退火 63 $^{\circ}\text{C}$ 、30s, 延伸 72 $^{\circ}\text{C}$ 、2min, 循环次数 33, 自动扩增。采用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳后, 通过与 Marker ladder(TaKaRa Biotechnology, Dalian) 比对及与已确定的个体相互比对, 检测扩增目的基因, 进一步判断每一个体的基因分型。

1.4 统计学处理

应用 SAS(SAS version 9, SAS Institute Inc, Cary, NC) 中 χ^2 检验程序分析较短的 AggreCAN VNTR 串联重复序列片段 (≤ 25) 及肥胖与 LDH 发病间的相关性, 利用 Hwang 氏模型^[5] 分析 AggreCAN VNTR 与肥胖对于 LDH 发病的交互作用, $P \leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 调查问卷数据

LDH 组年龄 12~48 岁 (34.96 ± 6.11 岁), 对照组 15~49 岁 (36.33 ± 5.65 岁), 两组年龄无统计学差异 ($t=1.93, P>0.05$)。两组均不存在职业和/或生活方式的危险因素, 如重体力劳动、长时间驾驶和长期吸烟, 两组患者匹配度较好。LDH 患者腰椎间盘突出节段: 62% 为 L4/5, 38% 为 L5/S1。两组的体重分布见表 1。

2.2 基因频率及交互作用

两组所有研究对象的 AggreCAN VNTR 表型见表 2。共观察到 16 个等位基因和 52 种基因型, AggreCAN VNTR 重复次数为 18~33 次不等。经计算, 病例组及对照组完全符合遗传守恒定律 (Hardy-Weinberg; $P=0.081, P=0.12$)。最频繁出现的等位基因是包含 25 次 AggreCAN VNTR 重复序列的等位基因 Allele 25 (A25), 其与 A26、A27、A28 占有所有等位基因出现频率的 55.4%。这一结果与我们既往研究^[6] 结果相近, 故选择 A25 作为研究的中间值。

两组 AggreCAN VNTR 频率分布有统计学差异, 病例组中有 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因的个体占比显著高于对照组 ($P=0.017$), 即具有较少 VNTR 重复次数 (≤ 25 次) 等位基因可以显著增加 LDH 的患病风险 (表 3, OR=1.973; 95%CI: 1.211~3.213)。两组肥胖人数分布有统计学差异, 病例组中肥胖占比大于对照组 ($P=0.007$), 换言之, 肥胖可以增加 LDH 的发病风险 (表 4, OR=1.950; 95%CI: 1.201~3.167)。与既没有 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因危险因素也没有肥胖危险因素的个体相比, 仅有 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因危险因素而没有肥胖危险因素的个体的 LDH 发病率为 1.027 倍 ($P=0.938$; 95%CI: 0.520~2.028); 仅有肥胖危险因素而没有 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因危险因素的个体的 LDH 发

率为 1.050 倍 ($P=0.885$; 95%CI: 0.543~2.030); 既有 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因危险因素也有肥胖危险因素的个体的 LDH 发病率为 4.521 倍 (表 5, $P=0.000016$; 95%CI: 2.277~8.978)。所有

表 1 两组体重等级分布情况

Table 1 Weight distribution of two groups

	体重不足 Under-weight	正常体重 Normal	超重 Over-weight	肥胖 Obese	合计 Total
病例组 LDH group	15	22	13	51	101
对照组 Control group	25	52	53	68	198
合计 Total	40	74	66	119	299

表 2 AggreCAN VNTR 分布情况

Table 2 Frequency of AggreCAN allele repeat number

AggreCAN VNTR 重 复次数 Observed allele repeat number	AggreCAN 基因长度 PCR product size(bp)	频率 Frequency of allele	百分比 (%) Percentage
18	1060	3	0.58
19	1117	2	0.39
20	1174	5	0.97
21	1231	13	1.54
22	1288	18	2.51
23	1345	29	3.67
24	1402	49	7.53
25	1459	106	16.60
26	1516	95	14.48
27	1573	73	12.16
28	1630	63	12.16
29	1687	45	8.69
30	1744	39	7.53
31	1801	32	6.18
32	1858	19	3.67
33	1915	7	1.35
合计 Total		598	100.00

表 3 两组 AggreCAN VNTR 基因频率分布

Table 3 Frequency comparison of AggreCAN allele repeat number

1或2个等位 基因重复次 数 ≤ 25 次 1 or 2 Alleles that ≤ 25 repeats	病例组 LDH group	对照组 Control group	OR 值 OR value	95%可信区 间 95%CI	P 值 P value
+	49	64	1.973	1.211~3.213	0.017
-	52	134			

研究对象肥胖因素与 AggreCan VNTR 之间相关性无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨论

AggreCan 是透明软骨组织中的一种主要蛋白多糖,其单体在连接蛋白的帮助下牢固结合透明质酸而形成 AggreCan 聚合体,并以聚合体的形式在椎间盘基质内发挥作用,其聚合体分子与胶原结合形成涵养大量水分的网眼状结构,这种独特的结构一方面维持了椎间盘内水和离子浓度的相对稳定,另一方面使椎间盘组织保持于流体状态而具有适当的粘弹性,从而满足人体活动对椎间盘的生物力学要求。AggreCan 在 LDH 的发病及进展过程中发挥着重要作用^[7]。本课题组前期一项针对中国北方汉族人群的随机对照研究发现^[6],对照组患者椎间盘髓核中 AggreCan 蛋白的相对表达量高于 LDH 组,该研究从蛋白水平上证实了 AggreCan 与 LDH 存在相关性。人类是迄今已分析的物种之中唯一拥有 AggreCan 基因 VNTR 的种群,LDH 患者中有 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因的个体 AggreCan 含量低表达^[2]。Solovieva 等^[8]发现,具有 26 次 VNTR 的等位基因 Allele 26(A26)在有腰椎黑间盘的个体中显著过表达。具有两个 A26 等位基因的个体可以显著增加腰椎黑间盘的发病风险($OR=2.77$;95%CI:1.24~6.16)。本研究通过 PCR 分析检测不同个体间基因多态性的分布,结果显示两组人群中 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因的 LDH 个体,显著多于有 VNTR 重复次

数 >25 次等位基因的 LDH 个体($P=0.017$)。换言之,具有 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因可以显著增加 LDH 的发病风险($OR=1.973$;95%CI:1.211~3.213)。这一研究结果证实 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因对 LDH 的发病有显著影响。然而,该结论难以解释为何在无 LDH 人群中同样存在 AggreCan VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因或 AggreCan 表达降低,换言之,存在 AggreCan VNTR 重复次数 ≤ 25 次并不意味着必然发生 LDH。对此,课题组认为,LDH 的发病及进展是一个复杂的多级过程,每一阶段都可能存在多个基因或环境因素作用,亦或是基因和环境因素交互作用。AggreCan VNTR 并非直接引起疾病的发生,而是通过某种方式参与、影响 LDH 的发病及进展过程。我们对其详细机制进行了初步探索,通过对纳入对象的临床资料包括性别、年龄、职业、吸烟史等进行进一步统计分析和筛选,发现 LDH 患者的肥胖指数或与 AggreCan VNTR 间存在交互作用。

肥胖与 LDH 间的关系一直是近年来的研究热点与争议焦点。基于流行病学趋势来看,当今社会已经进入肥胖化阶段^[9]。尽管有一些研究^[10,11]认为肥胖与 LDH 之间无显著相关性,但包括本研究在内的多数研究结果^[12,13]发现,肥胖与 LDH 之间存在相关性,肥胖可以导致 LDH 的发病风险增加($OR=1.950$;95%CI:1.201~3.167; $P=0.007$)。一项纳入了 3668 名男性和 4966 名女性的韩国人群横断面研究结果显示,与正常体重的女性相比,超重和肥胖女性的腰椎间盘突出性变风险更高^[14]。与之相反,鹿特丹研究中心的一项大样本量荷兰人群横断面研究对 2819 名 55 岁研究对象进行影像学分析发现,高 BMI 与椎间隙狭窄之间没有相关性^[15]。结合 LDH 自身发病特点,我们推测出现这样矛盾的研究结果的可能原因是:肥胖与遗传因

表 4 两组肥胖易感因素分析

Table 4 Obesity comparison of the two groups

肥胖 Obesity	病例组 LDH group	对照组 Control group	OR 值 OR value	95%可信区间 95%CI	P 值 P value
+	51	68	1.950	1.201~3.167	0.007
-	50	130			

表 5 两组 AggreCan VNTR 基因频率及肥胖易感因素交互作用

Table 5 The interaction between AggreCan gene VNTR polymorphism and obesity

肥胖 Obesity	AggreCan VNTR	病例组 LDH group	对照组 Control group	OR 值 OR value	95%可信区间 95%CI	P 值 P value
-	2 个等位基因重复次数 >25 次 2 Alleles that >25 repeats	32	84	1		
-	1 或 2 个等位基因重复次数 ≤ 25 次 1 or 2 Alleles that ≤ 25 repeats	18	46	1.027	0.520~2.028	0.938
+	2 个等位基因重复次数 >25 次 2 Alleles that >25 repeats	20	50	1.050	0.543~2.030	0.885
+	1 或 2 个等位基因重复次数 ≤ 25 次 1 or 2 Alleles that ≤ 25 repeats	31	18	4.521	2.277~8.978	0.000016

素之间存在交互作用,共同影响 LDH 的发病过程。本研究综合被调查者的 BMI 与 AggreCan VNTR 进行统计学分析,发现单一存在 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因或肥胖指数增加并未显著增加 LDH 的发病风险,而同时存在肥胖和 VNTR 重复次数 ≤ 25 次等位基因使 LDH 的发病风险显著增加(4.52 倍)。这一研究结果证实 AggreCan VNTR 与肥胖之间存在交互作用,影响 LDH 发病。受限于样本量,目前的结果还不足以证明 BMI 与 AggreCan VNTR 之间是否存在交互作用。

退变椎间盘中蛋白多糖的损失主要以 AggreCan 为主,对椎间盘承重功能影响很大^[7]。AggreCan 蛋白结构包含 3 个球状区域(G1、G2 和 G3)、G1 和 G2 之间的球间区域(IGD)和处于 G2 和 G3 之间较长的葡萄糖胺聚糖(GAG)附着区。G2 与 G3 之间分布着多个糖胺多糖链结合位点,核心蛋白在这些结合位点结合硫酸软骨素链(CS)和硫酸角质素(KS)侧链后成为带负电荷的 AggreCan 单体^[6]。已有研究证明,由结合较小数目 CS 链的 AggreCan 分子所组成的 AggreCan 聚合体,其椎间盘水合能力较弱^[8]。前期研究证明,具有 AggreCan VNTR 重复次数较少等位基因的个体会在 AggreCan 分子上结合较少数目的 CS 链,进而影响 AggreCan 的分子功能,这可能减弱椎间盘对抗压力的能力^[3]。多年来,肥胖被假定可以增加 LDH 的易感性的理由之一是其能够增加椎间盘组织的压缩负载^[17]。脊柱的肌肉骨骼结构需要对抗身体重量即物理负荷^[18]。这些研究结果从生物力学的角度表明,肥胖以物理负荷升高的形式作用并影响椎间盘组织。然而,本研究结果证明,肥胖并不仅仅从增加物理负荷的角度,还能够与作为遗传易感因素之一的 AggreCan VNTR 间发生交互作用,共同导致腰椎间盘突出对抗逐渐增大的物理负荷的能力降低,进而增加 LDH 的发病易感性。目前尚不能明确 AggreCan VNTR 与肥胖交互作用的具体机制。本课题组基于已有研究基础推测,作为人体内活跃的内分泌器官,肥胖 LDH 患者体内大量的脂肪组织一方面增加了腰椎间盘的物理负荷,一方面改变了椎间盘内 AggreCan 的合成与分解过程,破坏了椎间盘基质组分原有的稳态平衡;而作为重要的遗传易感因素之一,较低重复次数的 AggreCan VNTR 表达出结合较小数目

CS 链的 AggreCan 分子,一方面无法达到正常结构 AggreCan 分子的生理效果,一方面更易被 AggreCan 酶等不利因素降解。具有较低重复次数 AggreCan VNTR 的肥胖人群,其椎间盘基质中 AggreCan 受到交互作用的影响,无论从数量或质量上均无法满足椎间盘承担本就大于常人的物理负荷需求,最终导致 LDH 的发生。当然,也不排除可能是由于等位基因在不同人种中的变异或本研究相对较小的样本量使研究结果产生了偏倚。在今后的研究中有待通过较大样本量评估肥胖的剂量效应进一步验证 AggreCan VNTR-肥胖交互作用,并通过进一步的组织及细胞实验探讨两者间的交互机制。

本研究首次关注 AggreCan VNTR 这一遗传因素与肥胖这一环境因素间的交互作用对 LDH 发病的影响,不仅是对已有结果的深入解释,更是对下一步研究方向的初步探索。结果表明,AggreCan VNTR 与肥胖间确实存在交互作用导致 LDH 易感,尽管 AggreCan VNTR 与肥胖交互作用并不能断定某类人群必定罹患 LDH,但通过对其进行检测和分析,可以预测某类人群在较早的年龄更易罹患该病,对 LDH 易感患病危险因素评估具有较大临床价值。本研究结果的意义一方面将有利于建立对非 LDH 患者实施的普遍筛查模型,针对高患病风险的人群进一步健康宣教与监测,建议其选择更加合理健康的生活方式,早期预防该病的发生;另一方面,AggreCan VNTR-肥胖交互作用对于 LDH 患者的临床干预过程,包括治疗策略的选择、手术指征的判定、预后情况的预测等均具有指导价值。将两者间的交互作用纳入考虑范围内,将有效推进 LDH 的早期预防及个性化干预。

4 结论

本研究结果显示,中国北方男性 LDH 患者中较短的 AggreCan VNTR 串联重复序列片段(≤ 25)出现频率较高,AggreCan VNTR 与肥胖之间存在交互作用,影响 LDH 的发病。

5 参考文献

1. Hoy D, Brooks P, Blyth F, et al. The epidemiology of low back pain[J]. Best Pract Res Clin Rheumatol, 2010, 24(6): 769-781.
2. Doege KJ, Coulter SN, Meek LM, et al. A human-specific

- polymorphism in the coding region of the aggrecan gene: variable number of tandem repeats produce a range of core protein sizes in the general population[J]. *J Biol Chem*, 1997, 272(21): 13974–13979.
3. Cong L, Pang H, Xuan D, et al. Association between the expression of aggrecan and the distribution of aggrecan gene variable number of tandem repeats with symptomatic lumbar disc herniation in Chinese Han of Northern China [J]. *Spine*, 2010, 35(14): 1371–1376.
4. Choo V. WHO reassesses appropriate body-mass index for Asian populations[J]. *Lancet*(London, England), 2002, 360(9328): 235.
5. Hwang SJ, Beaty TH, Panny SR, et al. Association study of transforming growth factor alpha (TGF alpha) TaqI polymorphism and oral clefts: indication of gene-environment interaction in a population-based sample of infants with birth defects[J]. *Am J Epidemiol*, 1995, 141(7): 629–636.
6. 丛琳, 朱悦, 屠冠军. 聚集蛋白聚糖基因串联重复多态性与腰椎间盘突出症相关性研究[J]. *中华外科杂志*, 2015, 53(2): 116–120.
7. Sivan SS, Wachtel E, Roughley P. Structure, function, aging and turnover of aggrecan in the intervertebral disc[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1840(10): 3181–3189.
8. Solovieva S, Noponen N, Männikkö M, et al. Association between the aggrecan gene variable number of tandem repeats polymorphism and intervertebral disc degeneration [J]. *Spine*, 2007, 32(16): 1700–1705.
9. Gregg EW, Shaw JE. Global health effects of overweight and obesity[J]. *N Engl J Med*, 2017, 377(1): 80–81.
10. Kanayama M, Togawa D, Takahashi C, et al. Cross-sectional magnetic resonance imaging study of lumbar disc degeneration in 200 healthy individuals[J]. *J Neurosurg Spine*, 2009, 11(4): 501–507.
11. Owens RK 2nd, Djurasovic M, Onyekwelu I, et al. Outcomes and revision rates in normal, overweight, and obese patients 5 years after lumbar fusion[J]. *Spine J*, 2016, 16(10): 1178–1183.
12. Samartzis D, Karppinen J, Mok F, et al. A population-based study of juvenile disc degeneration and its association with overweight and obesity, low back pain, and diminished functional status[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2011, 93(7): 662–670.
13. Samartzis D, Karppinen J, Chan D, et al. The association of lumbar intervertebral disc degeneration on magnetic resonance imaging with body mass index in overweight and obese adults: a population-based study[J]. *Arthritis Rheum*, 2012, 64(5): 1488–1496.
14. Lee SY, Kim W, Lee SU, et al. Relationship between obesity and lumbar spine degeneration: a cross-sectional study from the Fifth Korean National Health and Nutrition Examination Survey, 2010–2012 [J]. *Metab Syndr Relat Disord*, 2019, 17(1): 60–66.
15. de Schepper EI, Damen J, van Meurs JB, et al. The association between lumbar disc degeneration and low back pain: the influence of age, gender, and individual radiographic features[J]. *Spine*, 2010, 35(5): 531–536.
16. Roughley PJ, Melching LI, Heathfield TF, et al. The structure and degradation of aggrecan in human intervertebral disc[J]. *Eur Spine J*, 2006, 15(Suppl 3): S326–332.
17. Rodriguez-Martinez NG, Perez-Orribo L, Kalb S, et al. The role of obesity in the biomechanics and radiological changes of the spine: an in vitro study[J]. *J Neurosurg Spine*, 2016, 24(4): 615–623.
18. Lyons G, Eisenstein SM, Sweet MB. Biochemical changes in intervertebral disc degeneration [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1981, 673(4): 443–453.

(收稿日期:2020-06-29 末次修回日期:2020-10-07)

(英文编审 谭 啸)

(本文编辑 卢庆霞)