

# 鸡 MC3R 基因多态性及其与屠体和肉质性状的相关性

王彦<sup>1</sup>⊙, 苏毅<sup>1,2</sup>⊙, 刘益平<sup>1</sup>, 蒋小松<sup>2</sup>, 李亮<sup>1</sup>, 杜华锐<sup>2</sup>, 朱庆<sup>1\*</sup>

(1. 四川农业大学动物科技学院, 雅安 625014; 2. 四川省畜牧科学研究院, 成都 610066)

**摘要:** 以四川大恒家禽育种有限公司和四川省畜牧科学研究院培育的 5 个新品系纯系和 3 个杂交系鸡群为试验材料, 对 MC3R 基因进行 PCR 扩增, 采用 PCR-SSCP 技术结合测序分析了 MC3R 基因在上述鸡群中的多态性。结果表明: 8 个鸡群中存在 A 1424 G 的突变。经过基因型与屠体性状的关联分析得知: 各基因型除与半净膛率 (SEP) 和腿肌率 (LMP) 无显著影响 ( $P > 0.05$ ) 外, 对其它屠体性状则有显著 ( $P < 0.05$ ) 和极显著影响 ( $P < 0.01$ ); 与肉质性状相关分析结果显示, 1424 位点仅对粗蛋白 (CP) 含量和肌内脂肪含量 (IMF) 影响显著 ( $P < 0.05$ )。

**关键词:** 鸡; MC3R 基因; 单核苷酸多态性; 屠体及肉质性状

中图分类号: S831.2

文献标识码: A

文章编号: 0336-6964(2007)10-1027-05

## Genetic Diversity of MC3R Gene and Its Association with Slaughter Traits and Meat Quality Traits in Chickens

WANG Yan<sup>1</sup>⊙, SU Yi<sup>1,2</sup>⊙, LIU Yi-ping<sup>1</sup>, JIANG Xiao-song<sup>2</sup>,  
LI Liang<sup>1</sup>, DU Hua-rui<sup>2</sup>, ZHU Qing<sup>1\*</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China; 2. Sichuan Province Institute of Animal Husbandry Research, Chengdu 610066, China)

**Abstract:** In present study, 8 populations (including 5 pure lines and 3 crossbreeds developed by Dahan Poultry Breeding Company and Sichuan Animal Science Academy) were used to analyze MC3R gene polymorphism by PCR-SSCP. Result indicated that there was one mutation sites in 8 populations (A 1424 G). The statistics analysis results showed that the MC3R polymorphism was no significant difference for SEP and LMP trait ( $P > 0.05$ ), while there were significant difference ( $P < 0.05$ ) and high significant difference ( $P < 0.01$ ) for other slaughter traits. In addition, the significant difference of CP and IMF value were also observed only at meat quality traits ( $P < 0.05$ ).

**Key words:** chicken; MC3R gene; SNPs; slaughter and meat quality traits

黑素皮质素受体 (MCRs) 基因共有 MC1R、MC2R、MC3R、MC4R 和 MC5R 5 个成员, 属 G 蛋白偶联受体的一个亚家族, 广泛的参与肌体内能量代谢和采食调控。自 1992 年, Chhajlani 等利用

PCR 技术克隆出人和小鼠 MC1R, MC2R 基因以来, 各个模型动物的 MCRs 相继被发现并克隆。小鼠 MC1R, MC2R 基因分别编码由 315 和 325 个氨基酸组成的蛋白质。Mountjoy 等<sup>[1]</sup>, Gantz 等<sup>[2]</sup>和

收稿日期: 2006-09-13

基金项目: 四川省畜禽育种攻关项目资助 (01NG002-06)

作者简介: 王彦 (1979-), 女, 重庆人, 在读博士, 主要从事家禽遗传育种研究, E-mail: wangyan519723614@yahoo.com.cn; 苏毅 (1979-), 男, 四川雅安人, 硕士, 主要从事家禽遗传育种研究。⊙并列第 1 作者

\* 通讯作者: 朱庆, 教授, 博士生导师, 主要从事家禽遗传育种研究, E-mail: zhuqing5959@163.com

Desarnaud 等<sup>[3]</sup>分别在研究中发现了人的 MC3R、MC4R,小鼠 MC3R 及 MC5R 基因分别编码长为 361、333、323 和 325 个氨基酸的蛋白质。小鼠 MCRs 与人 MCRs 氨基酸序列的一致性为 70%~80%。人 MC1R、MC2R、MC3R、MC4R 和 MC5R 基因都已被完整发现并分别定位于染色体 16q24.3,18p11.2,20q13.2,18q22 和 18q11.2;鸡的 MCRs 基因迄今被完整发现和定位的有 MC1R、MC2R 和 MC4R(GenBank,2006),分别定位于鸡 11,2 号染色体,但鸡 MC3R、MC5R 基因信息则不完整。

研究表明,MC3R 基因所在染色体位点与控制体重指数、皮下脂肪量和禁食胰岛素水平的基因连锁,Martin 等<sup>[4]</sup>发现该位点内还定位一个影响雌激素水平的数量性状基因。MC3R 主要在中枢神经系统(CNS)中发现,但也在胎盘、小肠、胰腺、脂肪组织、骨骼肌、肾和心脏中表达。众多的研究表明 MC3R 基因与维持能量的稳态有关。Levine<sup>[5]</sup>在其文章中提到,MC3R 可能与不依赖胰岛素肥胖的候选基因受体有关,或许对调节采食行为有重要的作用。为了确定 MC3R 在能量稳态调节中是否具有作用,Butler 等<sup>[6]</sup>删除了鼠基因组中绝大多数 MC3R 基因编码序列,并用敲除 MC4R 基因鼠做为对照,研究结果表明:MC3R<sup>-/-</sup>(MC3R 基因敲除)鼠呈现出独有的代谢综合征,虽然其体重没有明显的增加,但脂肪含量却增加了 50%~60%,并降低能量消耗。据此,Butler 等认为 MC3R 参与调节能量稳态的可能性很高。Chen 等<sup>[7]</sup>的研究也表明:同野生型鼠比较,4~6 月龄 MC3R<sup>-/-</sup>鼠体脂含量增加,瘦肉量降低,饲料效率较高,而体重没有差异;而同时缺乏 MC3R 和 MC4R 基因的鼠,由于 MC3R 基因缺失,加剧了 MC4R 基因缺失引起的肥胖。Li 等<sup>[8]</sup>在人的 MC3R 基因编码区 5'端发现了几个变异体,但没有发现变异体与人肥胖表型关系。尽管有大量的研究表明,MC3R 与能量调控体系有密切关系,但是至今仍然没有将 MC3R 的功能完全认识。

Takeuchi 等<sup>[9]</sup>还发现鸡的 MC3R 基因仅在肾上腺表达,与其他的 MCRs 比较相对不同,可能暗示着在体重,采食的调控上存在不同于哺乳动物的机制。蒋思文等<sup>[10]</sup>的研究发现了鸡 MC3R 编码区内 5 个 SNP 位点,其中一个导致氨基酸翻译的变异,一个 SNP 位于限制性内切酶 *Dde* I 位点内,通过 PCR-RFLP 分型发现该 SNP 的 2 种不同等位基因对鸡的屠宰性状有显著影响。

本研究拟以 MC3R 基因作为优质肉鸡生长和肌内脂肪(IMF)含量性状的候选基因,根据 GenBank 发表的鸡 MC3R 基因的序列设计引物,以四川大恒家禽育种有限公司培育的 8 个鸡群为试验材料,通过 PCR 产物直接测序法检测 MC3R 基因在鸡不同群中的多态性位点,采用 PCR-SSCP 方法进行个体基因型检测,进而分析不同基因型与屠体性状和肉质性状之间的关系,探讨 MC3R 基因是否能够作为分子标记对家禽肉质性状进行标记辅助选择。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

所用优质肉鸡全部来自四川省畜牧科学研究院和四川大恒家禽育种有限公司。共 8 个群体,包括 5 个新品系纯系,为 S01(30)、S02(29)、S03(28)、S05(27)、D99(27);3 个杂交组合,为 S01×D99(26)、S01×S10(29)、S01×S05(29),共 225 个个体。饲养全阶段由专人管理,单笼饲养,管理及营养水平一致,自由采食,达到适宜上市体重和日龄时屠宰。结合屠宰测定进行采样,自翅静脉采集血样,EDTA 抗凝,低温保存带回实验室。-20℃保存。

### 1.2 引物的选择与合成

根据 GenBank 发布的 MC3R 基因序列(AB017137),通过软件 Oligo 6.0 设计,由上海英骏生物公司进行合成。(表 1)

### 1.3 试验方法

基因组 DNA 的抽提参照孟安明等<sup>[11]</sup>的方法进

表 1 MC3R 基因各引物信息

Table 1 Information of primers designed according to MC3R gene sequences

引物 Primers	引物序列 Sequence of primer	产物长度/bp Product length	最佳退火温度/℃ Annealing temp.
X	Upper: 5'-ATG CCC TCC TTT ACC ACA GTA-3'	204	53.6
	Lower: 5'-GGC GTG CAA ACA GGA ACA T-3'	1 318~1 521	
Y	Upper: 5'-CCC GAT GAA TCC ATA CTG T-3'	210	53.2
	Lower: 5'-TTC CTC TGC TCC CAC ACA AAG-3'	1 673~1 882	

行。PCR 扩增反应体系为:模板 DNA (50~100  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )0.8  $\mu\text{L}$ ;正向引物(10  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )0.3  $\mu\text{L}$ ;反向引物(10  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ )0.3  $\mu\text{L}$ ;Taq-Master Mixture(包含了 dNTP,  $\text{MgCl}_2$ ,  $10\times$  buffer)5  $\mu\text{L}$ ,加超纯水至总反应体积为 10  $\mu\text{L}$ 。反应程序为:95  $^{\circ}\text{C}$  预变性 10 min;94  $^{\circ}\text{C}$  变性 45 s,53.6 或 53.2  $^{\circ}\text{C}$  退火 55 s,72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 45 s,35 个循环;72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 6 min。

用 1% 琼脂糖凝胶(含 EB)电泳抽检扩增产物是否在所需的长度范围,以致是否有扩增产物。10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳分离各基因型,银染法检测电泳结果。

#### 1.4 统计分析

根据固定效应模型,调用 SAS 8.0 软件包 GLM 过程分析基因型效应对性状测定值的影响,分别采用 LSMEAN 进行最小二乘分析,MEANS 进行 Duncan's 多重比较。统计分析模型为:

$$Y_{ijk} = \mu + G_i + L_j + S_k + (GL)_{ij} + E_{ijk}$$

其中: $Y_{ijk}$  = 性状测定值, $\mu$  = 群体均值, $G_i$  = 基因型效应, $L_j$  = 鸡群效应, $S_k$  = 性别效应( $k=1,2$ ), $(GL)_{ij}$  = 基因型与鸡群的交互效应, $E_{ij}$  = 随机残差效应。

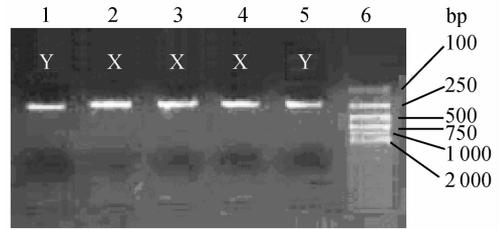
## 2 结果与分析

### 2.1 PCR 扩增

用引物 X、Y 对 MC3R 基因组 DNA 进行 PCR 扩增,产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶检测,扩增片段与目的片段大小一致且特异性好(图 1),可以直接进行 SSCP 分析。

### 2.2 SSCP 检测结果

利用非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行 MC3R 基因 X、Y 引物扩增产物的 SSCP 检测。发现 X 引物扩增产物呈现多态性,Y 引物没有多态。X 引物扩增产物的 SSCP 检测结果见图 2,从图中可以看到 3 种带型,分别定义为 HH、HL 和 LL。

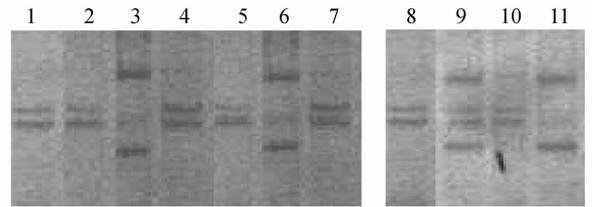


1~5. PCR 产物;6. DL2000 marker

1-5. PCR product;6. DL2000 marker

图 1 长度为 204 bp 和 210 bp 的 PCR 产物

Fig. 1 PCR Product of 204 bp and 210 bp



1,2,4,5,7,8,10. HH 纯合型;3,6,11. LL 纯合型;9. HL 杂合型

1,2,4,5,7,8,10. HH homozygote; 3,6,11. LL homozygote; 9. HL heterozygote

图 2 MC3R 基因 X 引物 PCR 扩增产物 SSCP 电泳

Fig. 2 SSCP analysis of the PCR product of primer X, MC3R

### 2.3 测序结果

在 SSCP 中呈现多态的 PCR 产物送至上海博亚公司直接测序,进一步证实了多态位点的存在(图 3)。将两个纯合型测序结果与 GenBank 上的序列在软件 SeqMan 中进行比对。结果发现存在 A 1424 G 突变。

### 2.4 鸡 MC3R 基因 1424 位点基因型与屠体性状的相关分析

从表 2 可以看出 MC3R 基因 1424 位点的 3 种基因型虽然对半净膛率(SEP)和腿肌率(LMP)均无显著影响,3 种基因型效应差异不显著( $P>0.05$ ),

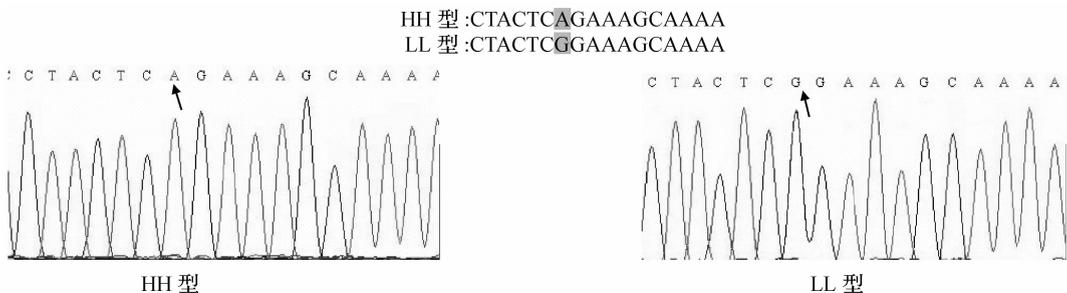


图 3 HH 型和 LL 型测序图谱

Fig. 3 The sequence map of HH and LL genotype

但该位点的各基因型主效应对其他屠体性状则有显著影响。对屠宰前体重(LW)而言,HL型体重均值最高达到了1 867.45 g,与LL基因型间有极显著差异( $P < 0.01$ ),纯合基因型HH体重均值为1 848.15 g与纯合基因型LL有显著差异( $P < 0.05$ );对屠体重(CW)来说,HL基因型均值最高,为1 664.62 g,与LL基因型有极显著差异( $P < 0.01$ )。HH基因型与HL型均值比较接近,差异不显著( $P > 0.05$ ),但与LL基因型之间有显著差异( $P < 0.05$ );在胸肌重(BMW)性状中,HL基因型体

重均值最高,为200.32 g,与LL基因型有显著差异( $P < 0.05$ )。HH基因型均值与HL型均值比较接近,与LL基因型均值相差较大,多重比较结果显示差异均不显著( $P > 0.05$ );对于腿肌重(LMW)来说,HL型均值最高,为290.39 g,与LL型有极显著差异( $P < 0.01$ ),但与HL型差异不显著( $P > 0.05$ );另外HL型与LL也存在极显著差异( $P < 0.01$ )。在腹脂重(AW)和皮脂厚(SFT)性状中,都是HH基因型均值最大,且与HL杂合型差异不显著( $P > 0.05$ ),与LL型差异显著( $P < 0.05$ )。

表2 MC3R-1 424 SNP位点各基因型间屠体性状的方差分析

Table 2 The GLM analysis of carcass traits in different genotypes at MC3R-1 424 SNP locus

屠体性状 Carcass Traits	基因型 Genotypes			加性效应 AE	显性效应 DE
	HH (84)	HL (106)	LL (35)		
屠宰前重/g LW	1 848.15±25.69 <sup>aAB</sup>	1 867.45±23.05 <sup>aA</sup>	1 740.86±39.39 <sup>bb</sup>	53.65	36.47
屠体重/g CW	1 640.48±24.05 <sup>aAB</sup>	1 664.62±21.58 <sup>aA</sup>	1 541.43±36.88 <sup>bb</sup>	49.53	36.83
胸肌重/g BMW	197.38±3.97 <sup>ab</sup>	200.32±3.56 <sup>a</sup>	184.75±6.09 <sup>b</sup>	6.32	4.63
腿肌重/g LMW	290.39±5.42 <sup>aA</sup>	289.78±4.87 <sup>aA</sup>	262.88±8.31 <sup>bb</sup>	13.76	6.57
腹脂重/g AW	41.41±2.23 <sup>a</sup>	39.80±2.00 <sup>ab</sup>	35.97±3.41 <sup>b</sup>	2.72	0.56
皮脂厚/mm SFT	3.85±0.09 <sup>a</sup>	3.80±0.08 <sup>ab</sup>	3.53±0.14 <sup>b</sup>	0.16	0.055
半净膛率/% SEP	92.88±0.27 <sup>a</sup>	92.94±0.24 <sup>a</sup>	92.77±0.41 <sup>a</sup>	0.06	0.06
腿肌率/% LMP	17.59±0.16 <sup>a</sup>	17.22±0.14 <sup>a</sup>	17.10±0.24 <sup>a</sup>	0.245	-0.062 5

同一行中上标不同的小写字母表示差异达到显著水平( $P < 0.05$ ),上标不同的大写字母表示差异达到极显著水平( $P < 0.01$ )  
Values with different letter with the same row differ significantly; the lowercase letters show the level of  $P < 0.05$ ; the capital letters show the level of  $P < 0.01$

## 2.5 鸡MC3R基因1 424位点基因型与肉质性状的相关分析

通过表3的方差分析显示MC3R-1 424 SNP位点对粗蛋白(CP)和肌内脂肪(IMF)含量有显著影响。对粗蛋白性状,该位点的LL基因型最小二乘均值最高,为84.37,与HL型均值83.07之间有极显著差异( $P < 0.01$ );对肌内脂肪含量而言,HL型

均值最大,为5.49,与LL型均值4.50之间有显著差异( $P < 0.05$ ),二者与HH型差异不显著( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

从前面的分析可以看出,MC3R-1 424 SNP位点对屠宰前体重(LW)和屠宰体重(CW)有极显著

表3 MC3R-1 424 SNP位点各基因型间肉质性状的方差分析

Table 3 The GLM analysis of meat quality traits in different genotypes at MC3R-1 424 SNP locus

肉质性状 Meat quality traits	基因型 Genotypes		
	HH (27)	HL (35)	LL (18)
干物质/% DM	88.74±1.80 <sup>a</sup>	91.64±1.62 <sup>a</sup>	91.54±2.26 <sup>a</sup>
粗蛋白/% CP	83.94±0.43 <sup>ABab</sup>	83.07±0.38 <sup>bb</sup>	84.37±0.54 <sup>Aa</sup>
肌内脂肪/% IMF	5.07±0.35 <sup>ab</sup>	5.49±0.32 <sup>a</sup>	4.50±0.44 <sup>b</sup>
肌苷酸/(mg/g) IMP	1.50±0.032 <sup>a</sup>	1.46±0.029 <sup>a</sup>	1.50±0.041 <sup>a</sup>
谷氨酸含量/(mg/g) Glu	5.45±0.12 <sup>a</sup>	5.15±0.11 <sup>a</sup>	5.29±0.15 <sup>a</sup>
肌纤维密度/(根/mm <sup>2</sup> ) MFN	879.71±46.85 <sup>a</sup>	908.25±44.03 <sup>a</sup>	836.86±61.21 <sup>a</sup>
肌纤维直径/ $\mu$ m MFD	34.68±0.89 <sup>a</sup>	34.88±0.83 <sup>a</sup>	35.88±1.16 <sup>a</sup>

同一行中上标不同的小写字母表示差异达到显著水平( $P < 0.05$ ),上标不同的大写字母表示差异达到极显著水平( $P < 0.01$ )  
Values with different letter with the same row differ significantly; the lowercase letters show the level of  $P < 0.05$ ; the capital letters show the level of  $P < 0.01$

的影响( $P < 0.01$ ),等位基因 H 对该性状有正向加性效应,同时也表现出显性作用;该位点对半净膛(SEP)率没有显著影响( $P > 0.05$ ),但对胸肌重(BMW)有显著影响( $P < 0.05$ ),且等位基因 H 仍表现出正向加性效应和显性作用;对腿肌重(LMW),该位点作用极显著( $P < 0.01$ ),虽然 HH 型与 HL 型的腿肌重几乎相同,但 HH 还是高于 HL,因此笔者认为互作效应不明确,而在腿肌率(LMP)性状上,3 种基因型间没有显著差异( $P > 0.05$ );对腹脂重(AW)性状和皮脂厚(SFT)指标,HH 型均值都最高,并与 LL 型差异显著( $P < 0.05$ ),而与 HL 型则没有显著差异( $P > 0.05$ ),等位基因 H 表现出正向加性效应。为此笔者认为 MC3R-1 424 SNP 位点对优质鸡屠宰性状的影响较广泛,特别是对腹脂重(AW)及皮下脂厚(SFT)性状的影响尤为突出。Butler 等<sup>[12]</sup>在 MC3R 基因敲除鼠上研究发现,该种鼠表现出特有的代谢综合征;Chen 等<sup>[13]</sup>的研究也发现,MC3R 基因敲除鼠体重和采食量虽没有明显变化,但其瘦肉率降低,体脂肪含量增加;蒋思文等<sup>[10]</sup>采用参考家系对 MC3R 基因多态性进行研究,结果显示该基因多态对脂肪性状的影响达到极显著水平,由此可以看出本研究的结果与文献报道的结果基本一致。

不同基因型对肉质性状的影响分析发现 MC3R-1 424 SNP 位点对粗蛋白(CP)含量和肌肉脂肪含量(IMF)有显著影响,在粗蛋白(CP)含量指标上,基因型 LL 表现出优势,与 HL 杂合型均值有极显著差异( $P < 0.01$ );在肌肉脂肪(IMF)含量指标上,HL 型表现出优势,其均值与 LL 型均值有显著差异( $P < 0.05$ ),但与 HH 型均值间没有显著差异( $P > 0.05$ )。由于 IMF 是肉品质的一个重要性状,与肉味的风味、多汁性和嫩度密切相关,且 IMF 含量的下降也是造成肉品质下降的主要原因之一,为此在本研究中发现的 1 424 SNP 位点对 IMF 有显著影响,这表明 MC3R 基因与肉质性状之间还是有一定关联作用的。

综上所述,本研究发现 MC3R 基因的变异不但与鸡腹脂重和皮下脂肪有显著的相关,还发现该基因的变异对屠体性状和肉质性状都有一定的影响,有关这方面的结果在其它文献中报道较少,这为继续研究 MC3R 基因的功能奠定了良好的基础。结合该基因的功能和本研究得到的结果,推断该基因的变异影响腹脂沉积和屠体性状及其肉质,因此可

以建议将 MC3R 基因作为影响优质肉鸡屠宰性状特别是体脂肪性状方面的主效基因或者紧密连锁分子标记。

#### 参考文献:

- [1] Mountjoy K G, Robbins L S. The cloning of a family of genes that encode the melanocortin receptors [J]. *Science*, 1992, 257 (5 074): 1 248~1 251.
- [2] Gantz I, Shimoto Y. Molecular cloning, expression, and characterization of a fifth Melanocortin receptor [J]. *Biochem Biophys Rescommun*, 1994, 200 (3): 1 214~1 220.
- [3] Desarnaud F, Labbe O, Eggerickx D, *et al.* Molecular cloning, functional expression and pharmacological characterization of a mouse melanocortin receptor gene [J]. *Biochemistry*, 1994, 299: 367~373.
- [4] Martin I J, Rogers J. A quantitative trait locus influencing estrogen levels maps to a region homologous to human chromosome 20 [J]. *Physiology Genomics*, 2001, 5 (2): 75~80.
- [5] Levine A S. From melanoma to obesity: the many roles of the melanocortins [J]. *Trends in Endocrinol Metab*, 2001, 12 (1): 41~42.
- [6] Butler A A, Khong K. A unique metabolic syndrome cause obesity in the melanocortin-3 receptor-deficient mouse [J]. *Endocrinology*, 2000, 141 (9): 3 518~3 521.
- [7] Chen A S, Marsh D J, Trumbauer M E, *et al.* Inactivation of the mouse melanocortin-3 receptor results in increased fat mass and reduced lean body mass [J]. *Nat Genet*, 2000, 26 (1): 97~102.
- [8] Li W D, Joo E J, Furburg E B, *et al.* Melanocortin 3 receptor (MC3R) gene variants in extremely obese women [J]. *Int J Relat Metab Disord*, 2000, 24 (2): 206~210.
- [9] Takeuchi S, Takahashi S. A possible involvement of melanocortin 3 receptor in the regulation of adrenal gland functions in the chicken [J]. *Biochem Biophys Acta*, 1999, 1 448 (3): 512~518.
- [10] 蒋思文, Lina J, Susanne K, 等. 参考家系鸡黑素皮质素受体 3 基因多态性与体重关系研究[J]. *遗传学报*, 2002, 29 (4): 322~325.
- [11] 孟安明, 齐顺章. 四个探针产生的家禽 DNA 指纹图谱 [J]. *生物化学与生物物理进展*, 1993, 20(2): 139~141.
- [12] Butler A A, Khong K. A unique metabolic syndrome cause obesity in the melanocortin-3 receptor-deficient mouse [J]. *Endocrinology*, 2000, 141(9): 3 518~3 521.
- [13] Chen A S, Marsh D J, Trumbauer M E, *et al.* Inactivation of the mouse melanocortin-3 receptor results in increased fat mass and reduced lean body mass [J]. *Nat Genet*, 2000, 26 (1): 97~102.