

## 瘦素受体基因 *Gln223Arg* 位点多态性与超重肥胖的相关性研究

何青芳<sup>1</sup>, 俞敏<sup>1</sup>, 陈雅萍<sup>1</sup>, 王云<sup>2</sup>

**摘要:** **目的** 探讨瘦素受体(*LEPR*)基因 *Gln223Arg* 多态性与超重肥胖的相关性,以及超重肥胖的相关危险因素。**方法** 选取 177 例对照组和 128 例体质指数  $\geq 24$  kg/m<sup>2</sup> 超重肥胖组作为研究对象作问卷调查、医学体检和血液生化检测,应用聚合酶链反应、限制性片段长度多态性分析(PCR-RFLP)技术分析研究对象 *LEPR* 基因 *Gln223Arg* 多态性,Logistic 回归分析超重肥胖的危险因素。**结果** 超重肥胖组的 GG 基因型频率 72.7%,G 等位基因频率 84.0%,均高于对照组的 66.7%和 80.2%,但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。除腰围在对照组内 *Gln223Arg* 不同基因型间差异有统计学意义外( $P<0.05$ ),年龄、胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、血糖(FBG)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、尿酸(UA)、血红蛋白(Hb)、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)在超重肥胖组内和对照组内 *Gln223Arg* 不同基因型间差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。多因素 Logistic 回归结果表明,超重肥胖的危险因素主要是腰围和低 HDL-C。**结论** *LEPR* 基因 *Gln223Arg* 多态性可能与超重肥胖的发生无关。

**关键词:** 瘦素受体基因;多态性;超重肥胖;危险因素

中图分类号: R151.1

文献标识码: A

文章编号: 1003-9961(2008)06-0378-04

**Research on the relationship between leptin receptor gene *Gln223Arg* polymorphism and Overweight-Obesity** HE Qing-fang\*, YU Min, CHEN Ya-ping, WANG Yun. \*Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention. Zhejiang Province, Hangzhou 310009, China

**Corresponding author:** HE Qing-fang, Email: qfhe@cdc.zj.cn

**Abstract:** **Objective** The present study was conducted to explore the relationship between leptin receptor (*LEPR*) gene *Gln223Arg* polymorphism and overweight-obesity, as well as multiple risk factors of overweight-obesity. **Methods** A total of 177 normal weight subjects(control group) and 128 overweight-obese subjects were selected and arranged to take questionnaire, physical examination and blood biochemical tests. PCR-RFLP was applied to analyze the the polymorphism of *LEPR* gene *Gln223Arg*, and logistic regression was used for the analysis of the risk factors of overweight-obesity. **Results** There was no significant difference of GG genotype and G allele of *LEPR* gene between the overweight-obesity group (72.7%, 84.0%) and the control group (66.7%, 80.2%). In each group, there was no significant difference for the level of age, systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), and the plasma level of total cholesterol(TC), triglyceride(TG), fasting blood glucose(FBG), high-density lipoprotein cholesterol(HDL-C), total protein(TP), albumin(ALB), uric acid(UA) and hemoglobin (Hb)between the two *Gln223Arg* genotypes, except waist circumference (WC) between the two *Gln223Arg* genotypes in the control group ( $P<0.05$ ). The logistic regression analysis showed that WC and low HDLC were the risk factors for overweight-obesity. **Conclusion** The polymorphism of *LEPR* gene *Gln223Arg* may not be associated with overweight-obesity.

**Key words:** *LEPR* gene; polymorphism; overweight-obesity; risk factor

瘦素是由脂肪细胞合成和分泌的激素,其功能

作者单位:1. 浙江省疾病预防控制中心,浙江 杭州 310009;2. 宁波市第一人民医院

作者简介:何青芳,女,浙江省人,主要从事慢性病生化与分子生物学研究工作

通讯作者:何青芳, Tel: 0571-87115165, Email: qfhe@cdc.zj.cn

收稿日期:2008-03-24

是调节机体的能量代谢、脂肪储存等。瘦素受体(leptin receptor, *LEPR*)属 I 类细胞因子受体家族,介导瘦素功能信号的传递。1996 年 Considine 等<sup>[1]</sup>首次报道 *LEPR* 基因 *Gln223Arg* 多态性与肥胖的关系,但随后的相关研究得出的结论并不一致<sup>[2,3]</sup>。为此,本研究以浙江省社区居民为对象,探讨 *LEPR* 基

因 *Gln223Arg* 多态性与超重肥胖的关系,以期从分子水平初步探索人类超重肥胖的发病机制。

## 1 对象与方法

1.1 研究对象 研究对象来自近年浙江省社区慢性病基线调查 35 岁以上人群,该调查在全省 9 个调查点共调查 12 106 人。根据 2003 年《中国成人超重和肥胖症预防控制指南》建议的判断超重和肥胖程度的界限值,将研究对象划分为①超重肥胖组:体质指数(BMI)≥24 kg/m<sup>2</sup>者,随机筛选 128 例;②对照组:18 kg/m<sup>2</sup>≤BMI<24 kg/m<sup>2</sup>者,随机筛选 177 例。BMI=[体重(kg)/身高<sup>2</sup>(m<sup>2</sup>)]。

### 1.2 方法

1.2.1 临床生化检测 所有研究对象均测定空腹静脉血糖(FBG)、甘油三酯(TG)、胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、尿酸(UA)、血红蛋白(Hb)。

1.2.2 聚合酶链反应(PCR)扩增 取经 EDTA 抗凝的空腹静脉外周血, QIAamp DNA Blood Mini kit (Qiagen 公司)提取全血脱氧核糖核酸(DNA)。以 0.2 μg DNA 为模板、反应体积 30 μl 进行 PCR 扩增,引物参考 Matsuoka 等所采用的引物序列<sup>[4]</sup>: 5'-ACC CTT TAA GCT GGG TGT CCC AAA TAG-3'; 5'-AGC TAG CAA ATA TTT TTG TAA GCA ATT-3',引物由 TaKaRa 公司合成。PCR 反应条件: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 45 s, 55 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 90 s, 共 30 个循环;最后 72 °C 延伸 10 min。

1.2.3 限制性内切酶酶切分析 PCR 扩增产物长度为 421 bp,以 2%琼脂糖凝胶电泳确认扩增结果。以限制性内切酶 *Msp* I (Promega 公司)在 37 °C 酶解 PCR 扩增产物 4 h, 2%琼脂糖凝胶电泳分离酶切产物片段: 120 V 电泳 5~6 min 后,改为 60 V 继续电泳 30~40 min,凝胶成像系统分析并拍照。Marker 采用 100 bp DNA Ladder(Promega 公司)。

1.2.4 问卷调查、医学体检 问卷调查采用统一编制的调查表;医学体检包括体格检查[身高、体重、腰围(WC)]以及收缩压(SBP)、舒张压(DBP)检测。

1.3 统计学分析 用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行分析。计量资料用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间均数比较采用 *t* 检验;基因型频率及等位基因频率比较用  $\chi^2$  检验。以超重肥胖为因变量,问卷内容(性别、年龄、慢性病家族史、是否口味较咸、吸烟、饮酒、烹调用油、职业性体力活动、生活和工作紧张程度等)、生化指标(Hb、FBG、TC、TG、HDL-C、TP、ALB、UA、WC、SBP、

DBP 等)以及 *LEPR* 基因 *Gln223Arg* 多态性基因型为自变量,先进行单因素分析,对自变量进行筛选,然后对经单因素分析有显著意义的自变量,再做多因素 Logistic 回归分析超重肥胖的相关危险因素。

## 2 结果

2.1 PCR 产物酶切结果 PCR 扩增产物为 421 bp。若在 *LEPR* 基因第 6 外显子第 668 位核苷酸(第 223 号密码子)处由 A 突变为 G,则产生一个新的 *Msp* I 酶切位点和 *Gln223Arg* 变异,经 *Msp* I 内切酶酶切成 294 bp 和 127 bp 2 个片段。因此,PCR-RFLP 电泳结果可显示:AA 型,野生型的 *Gln223* 纯合子,421 bp;GG 型,突变型的 *Arg223* 纯合子,294 bp 和 127 bp;AG 型,*Gln223/Arg223* 杂合子,421 bp、294 bp 和 127 bp,见图 1。

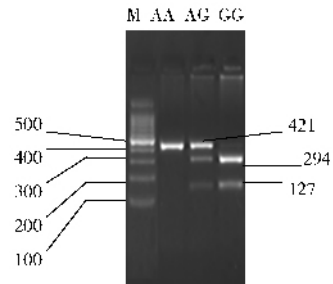


图 1 *LEPR* 基因 *Gln223Arg* 多态性片段分析  
Figure 1 Polymorphism fragments analysis of the *Gln223Arg* *LEPR* gene(bp)  
M: Marker, 100 bp(Promega)

2.2 *LEPR* 基因 *Gln223Arg* 多态性基因型和等位基因频率分布比较 经检验,超重肥胖组与对照组 *LEPR* 基因 *Gln223Arg* 多态性基因型分布结果符合 Hardy-Weinberg 平衡法则,说明所选样本具有人群代表性。超重肥胖组 GG 基因型的频率(72.7%)高于对照组(66.7%)、AG 基因型的频率(22.6%)低于对照组(27.1%),但差异均无统计学意义;*LEPR* 基因在 *Gln223Arg* 位点存在核苷酸 A→G 变异,超重肥胖组的 G 等位基因频率为 84.0%,对照组的 G 等位基因频率为 80.2%,经检验,超重肥胖组 G 等位基因频率分布与对照组相比差异亦无统计学意义。见表 1。

2.3 对照组与超重肥胖组内不同基因型间临床及生化特征比较 对照组按基因型 GG 型和 AG/AA 型分类(因 AA 型较少,与 AG 型合并为 1 组进行分析),将年龄、TC、TG、HDL-C、FBG、TP、ALB、UA、Hb、SBP、DBP、WC 在 2 个基因型间比较,除 WC 在两个基因型间差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),其他指标的差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。超重肥胖组中上述

表 1 LEPR 基因 Gln223Arg 多态性基因型和等位基因频率分布比较

Table 1 Comparison of the frequencies of genotypes and alleles of LEPR gene between the control group and overweight-obesity group

组别	例数	基因型						等位基因			
		AA		AG		GG		A		G	
		例数	构成比(%)	例数	构成比(%)	例数	构成比(%)	例数	构成比(%)	例数	构成比(%)
对照组	177	11	6.2	48	27.1	118	66.7	70	19.8	284	80.2
超重肥胖组	128	6	4.7	29	22.6	93	72.7	41	16.0	215	84.0

所有指标在 2 个基因型间的差异则均无统计学意义 ( $P>0.05$ ), 见表 2。

表 2 对照组与超重肥胖组内不同基因型间临床及生化特征比较

Table 2 Comparison of clinical and biochemical characteristics of different genotypes in the control group and overweight-obesity group

分组	基因型	gender (M/F, n)	age ( $\bar{x}\pm s$ )	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	FBG (mmol/L)	TP (g/L)	ALB (g/L)	UA ( $\mu\text{mol/L}$ )	Hb (g/L)	SBP (mm Hg)	DBP (mm Hg)	WC (cm)
对照组 (n=177)	GG(n=118)	51/67	57.2±9.8	4.73±1.06	1.52±0.90	1.26±0.29	4.95±0.60	75.5±6.3	42.0±3.4	272±72	102.1±54.6	128±23	80±12	74.6±7.2
	AG/AA(n=59)	22/37	57.8±9.2	4.65±0.95	1.48±0.85	1.32±0.32	4.87±0.60	75.3±6.4	42.0±3.8	255±61	102.5±53.8	129±18	81±10	72.3±6.3 <sup>(1)</sup>
超重肥胖组 (n=128)	GG(n=93)	35/58	55.2±10.6	4.98±0.89	2.17±1.72	1.16±0.29	5.13±0.63	76.5±7.6	43.4±3.8	296±80	116.7±48.5	145±26	90±13	88.3±7.6
	AG/AA(n=35)	13/22	54.8±10.1	4.84±0.88	1.69±0.94	1.15±0.28	5.07±0.67	76.7±6.2	43.0±3.4	282±79	121.2±43.2	141±22	86±10	86.3±6.0

注: (1)  $P<0.05$

2.4 超重肥胖的相关危险因素回归分析 以超重肥胖为因变量, 以所选择研究因素(包括问卷内容、生化指标以及 LEPR 基因 Gln223Arg 基因型) 为自变量, 经 Logistic 回归分析, 发现以  $\alpha=0.05$  为显著性水准进入回归模型的变量有: WC ( $P=0.000$ )、HDL-C ( $P=0.046$ ), 提示 WC 和低 HDL-C 是超重肥胖的危险因素。见表 3。

表 3 超重肥胖的相关危险因素 Logistic 回归分析

Table 3 Logistic regression analysis of related risk factors to overweight-obesity

变量	$\beta$	S $\bar{x}$	P 值	OR 值	95%CI
WC	0.320	0.041	0.000	1.377	1.271~1.493
HDL-C	-1.623	0.813	0.046	0.197	0.040~0.971

### 3 讨论

目前, 超重肥胖已成为全球最主要的公共卫生问题之一。超重肥胖受基因和环境共同作用的影响, 其危险因素有很强的遗传成分。瘦素是肥胖基因的蛋白产物, 是由脂肪分泌的循环激素, 通过与瘦素受体 (LEPR) 直接结合来调节体内的能量平衡、脂肪储存。近年来的研究发现在人类肥胖症患者血浆中瘦素浓度反而升高, 因此国内外研究者渐渐转向了对 LEPR 的研究, 并发现 LEPR 基因存在着多态性, 而且这些多态性与许多疾病密切相关。

本研究对 305 例研究对象进行了 LEPR 基因 Gln223Arg 多态性与超重肥胖关系的研究, 经检验, 所选人群超重肥胖组与对照组 LEPR 基因 Gln223Arg 基因型分布结果符合 Hardy-Weinberg 平衡法则。其中, 超重肥胖组的 GG 基因型频率 72.7%, G 等位基因频率 84.0%, 对照组则分别是

66.7%、80.2%, 经检验, 两组间差异无统计学意义, 提示 LEPR 基因 Gln223Arg 多态性可能并不是影响超重肥胖的关键。本研究对照组的 G 等位基因频率 80.2%、A 等位基因频率 19.8%, 与郑以漫等<sup>[5]</sup>所报道的上海地区正常汉族人 88.9%、11.1% ( $P=0.079$ ), 以及日本人报道的 83.8%、16.2% 分布相似 ( $P=0.462$ )<sup>[6]</sup>, 提示该基因型和等位基因频率分布在亚洲人种中可能保持一致; 但与白种人的 39.0%、61.0% 分布差异有显著统计学意义 ( $P=0.000$ )<sup>[6]</sup>, 提示该基因型和等位基因频率分布存在种族差异。因此, 种族不同, 样本量大小不同, 所得出的研究结果可能存在差异。

在对照组和超重肥胖组内, 因为 AA 型较少, 将 AA 型与 AG 型合并为 AG/AA 组, 与 GG 型组间进行年龄、TC、TG、HDL-C、FBG、TP、ALB、UA、Hb、SBP、DBP、WC 的比较, 发现只有 WC 在对照组的两个基因型间差异有统计学意义, 提示尽管有着相似的 BMI, GG 基因型携带者的腰围明显大于 AA 基因型携带者, 推测人群中的 GG 纯合子可能存在对体脂分布的易感性<sup>[7]</sup>。多因素 Logistic 回归结果证实 WC 是超重肥胖的危险因素, Logistic 回归结果还提示, 低 HDL-C 也是超重肥胖的危险因素; 这可能是由于血清 HDL-C 含量的异常降低, 导致了脂肪代谢紊乱, 过剩的能量物质在体内堆积造成了超重肥胖。超重肥胖与高脂血症实际上是机体能量供需关系失衡的直接后果, 相关研究显示, 体重每减轻 4.5 kg, HDL-C 会相应的增加 2 mg/dL<sup>[8]</sup>。因此, 控制体重, 提倡均衡饮食, 积极锻炼, 尽可能使腰围、血脂等控制在正常范围, 是防治超重肥胖等代谢综合征的重要措施, 对慢性病社区综合防治具有十分重要的意义。

### 参 考 文 献

- [1] Considine RV, Considine EL, Williams CJ, et al. The hypothalamic leptin receptor in humans: identification of incidental sequence polymorphisms and absence of the db/db mouse and fa/fa rat mutations[J]. Diabetes, 1996, 45(7): 992-994.
- [2] Ross JA, Oeffinger KC, Davies SM, et al. Genetic variation in the leptin receptor gene and obesity in survivors of childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Childhood Cancer Survivor Study[J]. J Clin Oncol, 2004, 22(17): 3558-3562.
- [3] Mergen H, Karaaslan C, Mergen M, et al. *LEPR*, *ADBR3*, *IRS-1* and *5-HTT* genes polymorphisms do not associate with obesity[J]. Endocr J, 2007, 54(1): 89-94.
- [4] Matssuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, et al. Human leptin receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutation or association of sequence variants with obesity [J]. Diabetologia, 1997, 40: 1204-1210.
- [5] Zheng YM, Xiang KS, Zhang R, et al. Association of *Gln223Arg* variant in leptin receptor gene with metabolic abnormalities and hypertension in type II diabetes mellitus in Shanghai "Han" population [J]. Zhonghua Nei Ke Za Zhi, 1999, 38 (3):174-177. (in Chinese).
- [6] 郑以漫, 项坤三, 张蓉, 等. 瘦素受体基因 *Gln223Arg* 变异与上海地区糖尿病患者代谢紊乱及合并高血压的关系[J]. 中华内科杂志, 1999, 38(3): 174-177.
- [7] Echwald SM, Srensen TD, Srensen TI, et al. Amino acid variants in the human leptin receptor: lack of association to juvenile onset obesity[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 233(1): 248-252.
- [8] Yiannakouris N, Yannakoulia M, Melistas L, et al. The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(9): 4434-4439.
- [9] Couillard C, Després JP, Lamarche B, et al. Effects of endurance exercise training on plasma HDL cholesterol levels depend on levels of triglycerides: evidence from men of the health, risk factors, exercise training and genetics (HERITAGE) family study[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21(7): 1226-1232.