

# 瘦素受体 Gln223Arg 基因多态性与肥胖关系的研究

陈祚 郭东双 李莹 孔宪毅 郭敏 武阳丰

**【摘要】** 目的 研究瘦素受体 Gln223Arg 基因多态性与肥胖的关系。方法 2004 年在山西省孟县选取一组人群,调查其心血管病危险因素,同时抽血检测瘦素受体 Gln223Arg 基因多态性的基因型,并分析 Gln223Arg 基因多态性与肥胖的关系。**结果** 该组人群 GG、GA 及 AA 的基因型频率分别为 0.7679、0.2171 和 0.0151;G 和 A 等位基因频率分别为 0.8764 和 0.1236。基因型频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡( $P=0.934$ )。单因素分析结果表明携带 A 等位基因的研究对象具有更高的体重( $63.2\text{ kg vs. }61.9\text{ kg}; P=0.0307$ )和体重指数( $24.4\text{ kg/m}^2\text{ vs. }24.1\text{ kg/m}^2; P=0.0898$ );在调整年龄、性别、体力活动和膳食之后,携带 A 等位基因者仍然具有较高的体重指数( $24.5\text{ kg/m}^2\text{ vs. }24.1\text{ kg/m}^2; P=0.0396$ )和肥胖患病率( $OR=1.30, 95\% CI: 0.957\sim 1.767; P=0.0935$ )。**结论** 瘦素受体 Gln223Arg 基因多态性与肥胖可能有关。

**【关键词】** 肥胖;瘦素受体基因

**Study on the relationship between Gln223Arg variant in leptin receptor gene and obesity** CHEN Zuo\*, GUO Dong-shuang, LI Ying, KONG Xian-yi, GUO Min, WU Yang-feng. \*Department of Epidemiology, Cardiovascular Institute and Fu Wai Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100037, China

Corresponding author: WU Yang-feng, Email: yangfengwu@263.net

**【Abstract】 Objective** To investigate the association between Gln223Arg variant in leptin receptor (LEPR) gene and obesity. **Methods** The subjects were from Yu county, Shanxi province, China. Data on cardiovascular risk factors was collected with questionnaire and their Gln223Arg variants in LEPR gene were genotyped. The relation between Gln223Arg variant in LEPR and obesity was analyzed. **Results** The genotype frequencies of G, G, G. A and AA were 0.7679, 0.2171 and 0.015 respectively and the allele frequencies of G and A were 0.8764 and 0.1236. The distribution of genotype was in Hardy-Weinberg equilibrium ( $P=0.934$ ). The results of single factor analysis showed that the carriers with the Arg223 alleles had higher weight ( $63.2\text{ kg vs. }61.9\text{ kg}; P=0.0307$ ) and body mass index ( $24.4\text{ kg/m}^2\text{ vs. }24.1\text{ kg/m}^2; P=0.0898$ ) than those noncarriers of these alleles. Results from multivariate analysis indicated that the carriers with the Arg223 alleles had higher body mass index ( $24.5\text{ kg/m}^2\text{ vs. }24.1\text{ kg/m}^2; P=0.0396$ ) and prevalence of obesity ( $OR=1.30, 95\% CI: 0.957-1.767; P=0.0935$ ). **Conclusion** These data indicated that Gln223Arg variant in LEPR gene was possibly associated with obesity, respectively.

**【Key words】** Obesity; Leptin receptor gene

近年来,随着我国人民生活水平不断提高,肥胖的发病率迅速增加。“中国居民 2002 年营养与健康状况调查”结果显示<sup>[1]</sup>,全人群超重率和肥胖率合计为 23.2%,超重和肥胖比例最大的 45~59 岁组人群

在城市和农村分别达到了 52.5% 和 34.2%;杨功焕等<sup>[2]</sup>同期进行的研究表明,体重指数(BMI) > 24 者(15 岁以上人群)达到了 23.7%,城市和农村人群中 BMI > 24 者分别为 31% 和 23%。超重和肥胖是高血压及其他心脑血管疾病、2 型糖尿病等最主要的危险因素之一,因此对肥胖的研究包括病因、机制、防治手段等日益引起人们的重视。目前认为,肥胖是遗传因素、膳食、体力活动等多种因素造成的。近年分子生物学发展迅速,对肥胖相关基因的研究亦

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30471494)

作者单位:100037 北京,中国医学科学院中国协和医科大学心血管病研究所阜外心血管病医院流行病学研究室(陈祚、李莹、孔宪毅、郭敏、武阳丰);山西省孟县人民医院(郭东双)

通讯作者:武阳丰, yangfengwu@263.net

不断深入,人类瘦素受体(leptin receptor, LEPR)基因就是其中之一。本研究拟在山西省孟县地区的一组人群中研究 LEPR 基因 Gln223Arg 变异的频率及其与肥胖的关系。

### 对象与方法

1. 研究对象:来源于参加国家“十五”科技攻关课题“冠心病、脑卒中综合危险度评估及干预方案的研究”中山西省孟县的一组人群,2004 年进行相关危险因素的调查,共有 2002 人。删去关键变量缺失者 210 人,用于分析的数据为 1792 例。调查对象空腹 12 h 后采集肘静脉血标本。经 1500×g 离心分离血清,余下的血块置于 -20℃ 冰箱冷冻保存。

2. 心血管病危险因素调查:采用标准化方法制定调查方案、培训手册及调查表收集人口学资料、人体测量指标及疾病史和家族史等<sup>[3]</sup>。问卷调查均由培训合格的调查员在现场完成。调查内容包括一般情况、身高、体重、膳食、体力活动等,以及空腹血糖、血脂等生化指标。膳食调查询问研究对象每日或每周某种食物食用量,再根据资料特点定义主食每日 > 9 两(450 g)为高主食者,肉食每周 > 4.6 两(230 g)为高肉食者。BMI = 体重(kg)/身高(m)<sup>2</sup>, 肥胖标准定义为 BMI ≥ 28.0 kg/m<sup>2</sup><sup>[4]</sup>。由于 BMI 与年龄不是线性关系,故在多因素分析中采用三分位法将年龄作为分类变量使用。体力活动水平以代谢当量估计(mets)<sup>[5]</sup>。

3. 基因型测定:采用盐析法抽提 DNA。PCR 扩增:引物设计参照 GenBank 序列设计,由北京华大中生公司采用专业软件完成设计及合成,P1:ACG TTG GAT GAT GGG CTG AAC TGA CAT TAG, P2:ACG TTG GAT GCA AAC TCA ACG ACA CTC TCC, P3:GAA CTG ACA TTA GAG GTG AC。PCR 反应体系: ddH<sub>2</sub>O 2.8 μl, 10× buffer

0.625 μl, 25 mmol/L dNTP 0.05 μl, 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 0.25 μl, P1、P2(1 μmol)引物各 1.25 μl, DNA (1 ng/μl) 3 μl, hot star Taq 酶(5 U/μl) 0.025 μl, 共 8 μl。95℃ 预变性 15 min, 95℃ 变性 20 s, 56℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 共 45 个循环, 72℃ 终末延伸 3 min。SAP 消化 PCR 产物 37℃ 30 min, 85℃ 灭活 5 min。体系: ddH<sub>2</sub>O 1.53 μl, hME buffer 0.17 μl, SAP(1.0 U/μl) 0.3 μl, 总体积 2.0 μl。延伸 PCR: 94℃ 预变性 2 min; 94℃ 变性 5 s, 52℃ 退火 5 s, 72℃ 延伸 5 s, 共 60 个循环。延伸体系: ddH<sub>2</sub>O 1.728 μl, Extend Mix 0.200 μl, P3(100 μmol) 0.054 μl, TSQ (32 U/μl) 0.018 μl。基因型的测定由北京华大中生公司采用 Sequenom MassARRAY 系统检测基因多态性(SNP)。

4. 统计学分析:所有资料两遍录入核对,比较无误后建立分析用数据集,使用 SAS 8.2 软件进行统计分析。定性资料使用  $\chi^2$  检验,定量资料以均数( $\bar{x}$ ) ± 标准差( $s$ )表示,使用  $t$  检验或校正  $t$  检验,多因素分析使用 GLM 模型和 logistic 回归分析。运用 Hardy-Weinberg(H-W)平衡检验确认研究样本的群体代表性。

### 结 果

1. 一般情况:本次分析研究对象共 1792 人,其中男性 715 人,女性 1077 人。GG、GA 及 AA 的基因型频率分别为 0.7679、0.2171 和 0.0151; G 和 A 等位基因频率分别为 0.8764 和 0.1236。基因型频率分布符合 H-W 平衡( $P=0.934$ )。由于研究人群的 AA 基因型频率(0.0151)极低,故将 AA 基因型与 GA 基因型合并统计。男、女性基因型频率差异无统计学意义( $P=0.6462$ ); 男性年龄、身高、体重、体力活动水平、高膳食比例均高于女性( $P<0.01$ ); BMI 和肥胖率则低于女性( $P<0.01$ )(表 1)。

表 1 研究人群的一般特征

因素	合计( $n=1792$ )	男性( $n=715$ )	女性( $n=1077$ )	$\chi^2/t$ 值	$P$ 值
基因型(AA + AG)	416(23.21)*	170(23.78)*	246(22.84)*	0.21	0.6462
等位基因(A)	0.1236	0.1252	0.1226	-	-
H-W 平衡( $P$ 值)	0.934	0.452	0.606	-	-
年龄(岁) <sup>△</sup>	53.1 ± 10.3	55.3 ± 10.4	51.6 ± 9.9	7.63	<0.0001
身高(cm) <sup>△</sup>	160.4 ± 7.9	166.8 ± 6.2	156.1 ± 5.8	36.61	<0.0001
体重(kg) <sup>△</sup>	62.2 ± 10.7	64.5 ± 10.9	60.7 ± 10.3	7.42	<0.0001
体力活动(met) <sup>△</sup>	1.6 ± 0.3(1757) <sup>#</sup>	1.6 ± 0.4(692) <sup>#</sup>	1.5 ± 0.2(1065) <sup>#</sup>	5.11	<0.0001
主食 > 9.0 两者	550(30.69)*	338(47.27)*	212(19.68)*	153.75	<0.0001
肉食 > 4.6 两者	524(29.24)*	289(40.42)*	235(21.82)*	71.85	<0.0001
BMI(kg/m <sup>2</sup> ) <sup>△</sup>	24.2 ± 3.7	23.1 ± 3.4	24.9 ± 3.7	10.30	<0.0001
肥胖者	270(15.07)*	54(7.55)*	216(20.06)*	52.50	<0.0001

\* 括号外数据为例数,括号内数据为比例(%); # 括号内数据为人数; △  $\bar{x} \pm s$

2. 不同基因型间相关因素的比较:GG 和 GA + AA 组之间性别构成、年龄、身高、体力活动、膳食差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。携带 A 等位基因者的体重显著高于 GG 基因型( $P = 0.0307$ );BMI 高于 GG 基因型( $P = 0.0898$ );肥胖患病率高于 GG 基因型,差异无统计学意义( $P = 0.1931$ )(表 2)。

表2 不同基因型间有关因素的比较

因素	GG (n=1376)	GA+AA (n=416)	$\chi^2/t$ 值	P 值
男性人数	545(39.61)	170(40.87)	0.21	0.6462
年龄(岁)	53.3±10.4	52.4±9.9	1.60	0.1101
身高(cm)	160.3±8.0	160.7±7.8	0.95	0.3421
体重(kg)	61.9±10.5	63.2±11.3	2.16	0.0307
体力活动(met)	1.6±0.3(406)	1.6±0.3(1351)	0.24	0.8125
主食>9.0两者	415(30.16)	135(32.45)	0.79	0.3744
肉食>4.6两者	411(29.87)	113(27.16)	1.13	0.2877
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	24.1±3.6	24.4±3.8	1.70	0.0898
肥胖者	199(14.46)	71(17.07)	1.69	0.1931

注:同表 1

3. LEPR 基因 Gln223Arg 多态性与 BMI 关系的多元因素分析(表 3):与 GG 基因型相比,携带 A 等位基因者具有较高的 BMI( $P = 0.0898$ ),在调整了其他的混杂因素,如性别、年龄、体力活动和膳食之后,差异有统计学意义( $P = 0.0396$ )。以 BMI ≥ 28 kg/m<sup>2</sup>为切点,进行肥胖患病率的 logistic 回归分析。结果表明,年龄、性别、体力活动和膳食是肥胖的独立危险因素( $P < 0.05$ ),而 Gln223Arg 多态性则不具有统计学意义( $OR = 1.30, 95\% CI: 0.957 \sim 1.767, P = 0.0935$ )。

表3 Gln223Arg 多态性与肥胖关系

调整变量后的 BMI (kg/m <sup>2</sup> )	基因型		F 值	P 值
	AA + AG	GG		
无调整	24.43	24.08	2.88	0.0898
性别	24.45	24.08	3.44	0.0638
性别 + 年龄	24.46	24.07	3.75	0.0528
性别 + 年龄 + 体力活动	24.47	24.09	3.67	0.0555
性别 + 年龄 + 体力活动 + 膳食	24.49	24.08	4.24	0.0396

### 讨 论

瘦素受体属细胞因子受体超家族, Considine 等<sup>[6]</sup>1996 年首次报道在人类 LEPR 基因第六外显子上存在有 Gln223Arg 变异。既往研究表明,不同种族之间 LEPR 基因 Gln223Arg 变异具有明显的差异<sup>[7-13]</sup>。总的来看,欧洲人携带 A 等位基因的频率约为 0.44~0.50,亚洲人约为 0.10~0.15。

关于该基因多态性与肥胖的关系,现有研究结

论并不一致。1997 年 Matsuoka 等<sup>[7]</sup>的研究显示:LEPR 基因 Gln223Arg 的变异频率在肥胖组和非肥胖组之间差异无统计学意义。Gotoda 等<sup>[9]</sup>报道英国白人男性中未发现 Gln223Arg 与肥胖的关联,但是该人群不符合 H-W 平衡( $\chi^2 = 4.87, P < 0.05$ )。Rosmond 等<sup>[10]</sup>报道瑞典男性携带 A 等位基因者其 BMI 和腰围稍低( $P = 0.142$  和  $P > 0.20$ )。van Rossum 等<sup>[14]</sup>从两个队列研究中选择 259 名体重增加者(平均增加 12.6 kg)和 277 名体重保持稳定者,其研究结果表明,携带 223Arg 等位基因者瘦素水平较高,但是只在男性体重增加者中这种差异才达到有统计学意义,该基因与瘦素之间的交互作用在男性中具有统计学意义,即在男性 223Arg 等位基因携带者中瘦素水平增加才对体重增加具有显著作用。作者认为 223Arg 等位基因可能对瘦素受体功能有一定作用。

国内关于该基因多态性也有一些研究,多数属于小样本的病例对照研究,研究对象多来源于医院患者。谢平等<sup>[13]</sup>报道在 2 型糖尿病患者中未发现该基因多态性与肥胖的关联。张蓉等<sup>[11]</sup>报道在上海地区进行的一个研究中未发现 Gln223Arg 变异与肥胖的相关性。

综上所述,可见 LEPR 基因 Gln223Arg 变异具有明显的种族差异,本研究中基因型频率和等位基因频率的分布与亚洲人的基本一致。亚裔人种的 A 等位基因频率明显低于白种人。关于该基因多态性与肥胖的关系,各个研究的结论不一致。从国内仅见的几个研究来看,原因可能在于:由于肥胖是多因素疾病,遗传因素、膳食、体力活动等对肥胖的发生都有一定作用,且在不同的环境、人种所起的作用可能大不相同,而肥胖相关基因致肥胖效应多数较小,因此,由于国内仅见的几项研究都是从医院就医患者中选取研究对象(肥胖患者或糖尿病患者),这些研究对象虽然从遗传角度符合 H-W 平衡,但是其体力活动、膳食等对肥胖形成有重要作用的因素未予考虑,所选人群代表性并不充分,且有些研究样本量较小,未必能够检测到基因多态性的致肥胖作用。

本项研究是在山西省孟县农村进行的,限定于 35 岁以上的自然人群,调查应答率为 83%。研究的调查表参照标准方法制定<sup>[3]</sup>,并采取了一定的质量控制措施,包括制定调查培训手册,调查前对调查员进行培训并考核,尽量避免调查偏倚。由于男女性比例有差异,分析时除对性别进行多因素调整外,并

做了亚组分析(结果未列出),显示男女性结果类似,性别比例不同应该不会造成偏性。

本项研究结果显示,在调整了其他混杂因素之后,携带 A 等位基因者比 GG 基因型具有更高的 BMI ( $P = 0.0396$ ),以及更高的肥胖患病率 ( $P = 0.0935$ )。从研究结果来看,有理由认为 Gln223Arg 基因多态性与肥胖的发生有一定关系。以肥胖患病率为因变量所做的 logistic 回归分析结果虽然未达到统计学意义,可能是由于样本量等原因造成。实际上,以本次研究的样本量检测 OR 值为 1.30,在  $\alpha = 0.05$  的水平上,把握度为 51.4%。因此,以肥胖患病率为指标需要更大的样本量,如果以定量指标 BMI 做分析则只需要较少的样本量即可。此外,由本次研究结果可知,即使该基因多态性可致肥胖,其作用也较小。当然,尚不能仅以此次结果为依据充分确定该基因多态性与肥胖确实有关,还需要进一步的研究确定。由于该基因多态性种族差异较明显,因此国内应该进一步开展此类研究,明确该基因多态性在中国人群中的作用。

#### 参 考 文 献

- 1 李立明,饶克勤,孔灵芝,等. 中国居民 2002 年营养与健康状况调查. 中华流行病学杂志, 2005, 26: 478-484.
- 2 杨功焕,马杰民,刘娜,等. 中国人群 2002 年饮食、体力活动和体重指数的现状调查. 中华流行病学杂志, 2005, 26: 246-251.
- 3 周北凡,吴锡桂. 心血管病流行病学调查方法手册. 第 1 版. 北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1997.
- 4 中国肥胖问题工作组数据汇总分析协作组. 我国成人超重指数和腰围对相关疾病危险因素异常的预测价值:适宜体重指数和腰围切点的研究. 中华流行病学杂志, 2002, 23: 5-10.
- 5 中国成人超重和肥胖症预防控制指南编写组. 中国成人超重和肥胖症预防控制指南(试行). 中华人民共和国卫生部疾病控制司, 2003. 39-42.
- 6 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. Diabetes, 1996, 45: 992-994.
- 7 Matsuoka N, Ogawa Y, Hosoda K, et al. Human leptin receptor gene in obese Japanese subjects: evidence against either obesity-causing mutations or association of sequence variants with obesity. Diabetologia, 1997, 40: 1204-1210.
- 8 Wauters M, Mertens I, Rankinen T, et al. Leptin receptor gene polymorphisms are associated with insulin in obese women with impaired glucose tolerance. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86: 3227-3232.
- 9 Gotoda T, Manning BS, Goldstone AP, et al. Leptin receptor gene variation and obesity: lack of association in a white British male population. Hum Mol Genet, 1997, 6: 869-876.
- 10 Rosmond R, Chagnon YC, Holm G, et al. Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85: 3126-3131.
- 11 张蓉,郑以漫,项坤三,等. 上海地区汉人瘦素受体基因 Gln223Arg 变异的研究. 上海第二医科大学学报, 1999, 19: 435-437.
- 12 李剑,陆菊明,潘长玉,等. 瘦素受体 Gln223Arg 基因多态性与不同葡萄糖耐量血清瘦素的相关性研究. 军医进修学院学报, 2001, 22: 259-261.
- 13 谢平,张稷,邓振霞,等. II 型糖尿病患者瘦素受体基因变异与肥胖及高血压的相关性研究. 中国优生与遗传杂志, 2002, 10: 34-35.
- 14 van Rossum CTM, Hoebee B, van Baak MA, et al. Genetic variation in the leptin receptor gene, leptin, and weight gain in young Dutch adults. Obesity Research, 2003, 11: 377-386.

(收稿日期:2006-05-12)

(本文编辑:张林东)

## · 消息 ·

### 《预防医学情报杂志》征订启事

《预防医学情报杂志》于 1985 年创刊,是“中华预防医学会系列杂志”。主要刊登预防医学和卫生学领域中,疾病预防控制、科研和管理工作的新成果、新技术、新方法、新进展。设有论著、综述、述评、情报信息、健康教育、调查研究、译文、学术讲座等栏目。本刊作者和读者分布于各级疾控机构、医院、高校和科研单位。期刊评价指标被引频次、影响因子逐年上升,综合质量不断提高,多次获中华预防医学会“优秀期刊出版奖”,2005 年被收录为中国科技论文统计源期刊(中国科技论文核心期刊),为美国化学文摘(CA)收录期刊,是中国核心期刊(遴选)数据库期刊,中国期刊全文数据库收录期刊,中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊。全国各地邮局均可订阅。

刊期:双月刊 邮发代号:62-18 定价:8 元/期 联系人:张云军 电话:028-85586305 85586157(传真)

地址:四川省成都市武侯区中学路 6 号 邮编:610041 Email: yfyxqbzz@tom.com zzs@sccdpc.gov.cn