DOI:10.13471/j.cnki.j.sun.yat-sen.univ(med.sci).2005.0047

瘦素基因 Codn25(CAA/CAG)和 G-2548A 变异与肥胖症易感性的关系

吴 华，修玲玲，隋 昳，翁建平
（中山大学附属第一医院内分泌科，广东 广州 510080）

摘 要：【目的】观察瘦素基因变异[codn25(CAA/CAG)、G-2548A]与中国人肥胖及其临床表型的关系。【方法】用 PCR-RFLP 方法，对 271 例中国南方汉族人，其中正常组 66 例、Ⅰ度肥胖组 153 例和Ⅱ度肥胖组 52 例，进行瘦素基因 2 个变异的基因型分析。【结果】①在女性Ⅱ度肥胖亚组中的 Codn25 CAA/CAG 基因型及 CAG 等位基因频率明显高于正常组（$P< 0.05$）；②肥胖患者中腰围的变化在 G-2548A 不同的基因型中有明显差异（$F=6.259$，$P=0.015$），A/A 纯合子组的腰围显著低于 A/G、G/G 基因型组；③在不同的基因型分组中，两个基因变异对临床表型的影响相互间没有协同性。【结论】①瘦素基因 Codn25(CAA/CAG) 基因型与女性Ⅱ度肥胖者密切相关，提示该基因变异对肥胖易感性的影响存在着肥胖度及性别的差异；②瘦素基因 G-2548A 的变异则与肥胖人群的腹部脂肪分布相关；③两个瘦素基因变异之间对肥胖的临床影响没有明显的协同效应。

关键词：肥胖；瘦素基因；变异
中图分类号：R587.1 **文献标识码**：A **文章编号**：1672-3554(2005)03-0300-04

Association of Leptin Gene Codn25(CAA/CAG) and G-2548A Variants with Obesity Susceptibility

WU Hua, XIU Ling-ling, SUI Yi, WENG Jian-ping
(Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 51008, China)

Abstract: 【Objective】To observe the association of leptin gene variants [codn25(CAA/CAG) and G-2548A] with obesity and its phenotype in Han population in China.【Methods】A total of 271 southern China Han persons, including 153 Ⅰ degree obesity, 52 Ⅱ degree obesity and 66 normal controls was enrolled. The leptin gene variants was detected by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). 【Results】(1) Both genotype and allele frequencies of codn25 (CAA/CAG) in women with II degree obesity were significantly higher than those in normal group ($P < 0.05$). (2) There were significant differences in waist circumferences among different G-2548A genotype groups ($F=6.259$, $P=0.015$). The waist circumferences in the group carried with A/A homozygous was remarkably lower than that in the group carried with A/G and G/G genotypes. (3) The synergy of codn25(CAA/CAG) and G-2548 variants to obese phenotype in different genotype groups was not found.【Conclusions】(1) There is a close relationship between leptin gene variant of codn25 (CAA/CAG) in Ⅱ degree obese of China Han women. This association indicates that the effect of this variant on obesity susceptibility is various in different obese degree and sex. (2) The G-2548A variant in leptin gene contributes to the regional body fat distribution, especially the adipose depots in abdomen. (3) There is no obvious synergic effect of these 2 leptin gene variants on obese phenotype.

Key words: obesity; leptin gene; variant

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci),2005,26(3):300-303]

多基因遗传背景和环境因素的相互作用是肥胖发病的基本原因，在不同肥胖的个体中可能存在着易感主基因。瘦素基因作为一种食欲及能量代谢调节的激素发挥着重要的作用，瘦素基因上的一些变异或与它们连锁不平衡的功能性变异可能影响到基因的结构、功能及表达而改变了肥胖

收稿日期：2004-07-08
基金项目：广东省卫生厅科研基金资助项目（A2002159）
作者简介：吴 华（1971-），男，湖北麻城人，硕士，主治医师，现深圳市宝安人民医院；修玲玲，通讯作者. E-mail：xlingling58@yahoo.com.cn
(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的遗传易感性。本文以瘦素基因 Codn25(CAA/CAG)和 G-2548A 变异为标记，探讨广州地区肥胖人群中瘦素基因的变异与肥胖的关系。

1　对象与方法

1.1　研究对象

根据 2000 年亚太地区肥胖诊断标准[1]：正常体质量组(BMI=18.5~23 kg/m²)：66 例，男 16 例，女 50 例，年龄(49.1±11.1)岁；Ⅰ度肥胖组(BMI=25~30 kg/m²)：153 例，男 49 例，女 104 例，年龄(51.5±14.9)岁；Ⅱ度肥胖组(BMI≥30 kg/m²)：52 例，男 16 例，女 36 例，年龄(48.1±15.7)岁。所研究对象彼此间无亲缘关系，肥胖组进行口服葡萄糖耐量试验(OGTT)排除糖尿病、继发性肥胖，并签署知情同意书。

1.2　检查方法

由专人对受检者进行体质量指数(BMI)[体质量(kg)/身高²(m²)]、腰围(肋弓最低点与髂前上棘连线中点)、臀围（臀部最大周径处)、腰臀比(WHR)[腰围(cm)/臀围(cm)]和体脂百分比(生物电阻抗法，TANITA，TBF-300GS 型)检测。放免法测定血清瘦素水平（北京华英生物技术研究所提供)；胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白(HDL-C)、低密度脂蛋白(LDL-C)均在全自动生化分析仪上完成。

1.3　实验方法

按常规抽提患者外周血 DNA，根据不同的目的基因和扩增条件进行 PCR-RFLP 检测，酶切产物经 2.5 g/L 琼脂糖凝胶电泳分离，凝胶仪(GDS7600)扫胶，图像分析结果。

1.3.1　Codn25(CAA/CAG)基因型　上游引物：5′-TCTTTTCTATGTCCAAGCTGT GCCCCTGCA-3′，下游引物：5′-TTCTACTTTGTCCCCCCATACTCTCC TTAC-3′，扩增片段130 bp，94 ℃ 30 s、58 ℃ 60 s、72 ℃ 30 s，30 个循环；内切酶为 *Pst* Ⅰ（NEB 公司)。含 CAG 等位基因链上有 *Pst* Ⅰ的识别位点，而含 CAA 等位基因链的则无该酶识别位点，酶切电泳图谱为：CAA/CAA 纯合子为 130 bp 的 1 条带，CAA/CAG 杂合子为 130 bp、100 bp 和 30 bp 3 条带(图 1)。

1.3.2　G-2548A 位点基因型　上游引物为 5′-AAAGCAAAGACAGGCATA AAAA-3′，下游引物为：5′-TTTCCTGTAATTTTCCCGTGAG-3′，扩增片段 242 bp，94 ℃、58 ℃、72 ℃各 60 s，30 个循环；内切酶 *Hha* Ⅰ(NEB 公司)。含 G 等位基因链的有 *Hha* Ⅰ的识别位点，而含 A 等位基因链的没有此酶的识别位点，酶切电泳图谱：G/G 纯合子为 183 bp 和 59 bp 2 条带，A/A 纯合子为 242 bp 1 条带，G/A 杂合子为 242 bp、183 bp、59 bp 3 条带见图 2。

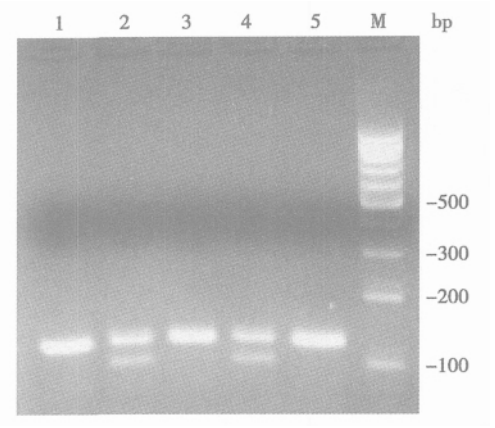

图 1　Codn25 位点的瘦素基因 PCR-RFLP 酶切图谱

Fig.1　Result of codn 25 (CAA/CAG) variants in leptin gene using PCR-RFLP

M: 100 bp DNA ladder; 1, 3, 5: the genotype were CAA/CAG; 2,4: the genotype were CAA/CAG

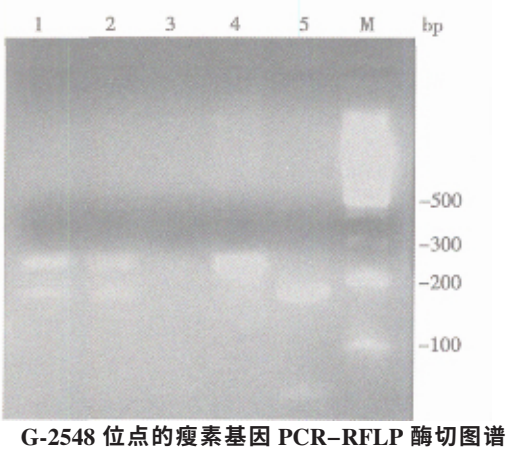

图 2　G-2548 位点的瘦素基因 PCR-RFLP 酶切图谱

Fig.2　Result of G-2548A variants in leptin gene using PCR-RFLP

M: 100 bp DNA ladder; 1, 2: the genotype were G/A; 4: the genotype was A/A; 5: the genotype was G/G

1.4　统计学处理

研究样本的群体代表性采用 Hardy-Weiberg 平衡检验确认；基因计数法计算各组基因型频率及等位基因频率，组间基因型、等位基因频率的比

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

较用卡方检验。基因型间的临床资料中均数的比较用双因素方差分析（确定不同性别的影响），偏态变量经以 10 为底的对数转换后服从正态分布后再予比较，受 BMI 影响的临床变量（体脂百分比、腰围、臀围、WHR 及血清瘦素）均予以双因素协方差分折校正后比较，以上统计处理均采用 SSPS10.0 for Windose 软件，以双侧 $P< 0.05$ 为有统计学意义。

2 结 果

2.1 瘦素基因 Codn25(CAA/CAG) 变异对肥胖症和正常人的影响

在女性组肥胖与正常组间的基因型频率及等位基因频率的分布存在显著性差异（$P = 0.009$，$P = 0.015$），而男性组的基因分布频率改变不明显（$P = 0.90$，$P = 0.909$）。进一步对女性亚组中Ⅰ度、Ⅱ度肥胖分别与正常组再比较，结果Ⅰ度肥胖组与正常体重组的基因型、等位基因频率分布无显著性差异（$P = 0.673$，$P = 0.685$）；而Ⅱ度肥胖组与正常组间的基因型、等位基因频率分布明显不同（$P = 0.032$，$P = 0.047$），Ⅱ度肥胖组具有较高的 CAG 等位基因频率（表 1）。肥胖组中以 Codn25 基因型、性别为变量分组，经双因素方差分析及双因素协方差分析，不同基因型、性别之间与临床各参数之间没有相互影响（$P >0.05$）。

表 1 不同性别 3 组人群间 Codn25 位点的基因型及等位基因频率

Table 1 The frequency of genotypes and alleles at codn 25 in 3 groups in male and female $n(\%)$

Group	Genotype frequency		Allele frequency		Genotype	Allele
	CAA/CAA	CAA/CAG	CAA	CAG		
Male group						
Normal	14 (87.5)	2 (12.5)	30 (93.8)	2 (6.2)	χ^2= 0.014	χ^2=0.010
Ⅰ degree obesity	44 (89.8)	5 (10.2)	93 (94.9)	5 (5.1)	P= 0.90	P = 0.909
Ⅱ degree obesity	16 (100)	0	32 (100)	0		
Female group						
Normal	42 (84)	8 (16)	92 (92)	8 (8)	χ^2=9.394	χ^2=8.441
Ⅰ degree obesity	90 (86.5)	14 (13.5)	194 (93.3)	14 (6.7)	P= 0.009	P = 0.015
Ⅱ degree obesity	23 (63.9)	13 (36.1)	59 (81.9)	13 (18.1)		

2.2 瘦素基因 G-2548A 变异对肥胖症和正常人的影响

表 2 结果显示不论是男性或女性组，正常组与Ⅰ度、Ⅱ度肥胖组之间的基因型频率及等位基因频率的分布上虽然没有明显差异（$P >0.05$）。而在肥胖患者中以 G-2548A 基因型、性别为分组变

表 2 不同组间、性别之间 G–2548 位点基因型、等位基因频率

Table 2 The frequency of genotypes and alleles at G–2548 site in different groups of male and female $n(\%)$

Group	Genetype			Allele		Genetype	Allele
	A/A	G/A	G/G	A	G		
Tatal							
Normal	27(58.7)	14(30.4)	5(10.9)	68(73.9)	24(26.1)		
Ⅰdegree obesity	90(58.8)	55(35.9)	8(5.2)	235(76.8)	71(23.2)	χ^2 = 0.796	χ^2 = 1.407
Ⅱdegree obesity	27(51.9)	20(38.5)	5(9.6)	74(71.2)	30(28.8)	P = 0.672	P = 0.495
Male							
Normal	8(50)	7(43.7)	1(6.3)	23(71.9)	9(28.2)		
Ⅰdegree obesity	27(55.1)	19(38.8)	3(6.1)	73(74.5)	25(25.5)	χ^2 = 1.228	χ^2 = 1.648
Ⅱdegree obesity	11(68.8)	5(31.2)	0	27(84.4)	5(15.6)	P = 0.541	P = 0.439
Female							
Normal	19(63.3)	7(23.3)	4(13.3)	45(75)	15(25)		
Ⅰdegree obesity	63(60.6)	36(34.6)	5(4.8))	162(77.9)	46(22.1)	χ^2 = 3.333	χ^2 = 4.502
Ⅱdegree obesity	16(44.4)	15(41.7)	5(13.9)	47(65.2)	25(34.7)	P = 0.189	P = 0.105

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

量，经双因素协方差分析校正 BMI 的影响，结果表明肥胖患者不论男性还是女性，腰围的变化在 G-2548A 不同的基因型中有明显差异（F=6.259，P=0.015），其中男性 A/A 与 G/A+G/G 型的腰围（95.9±7.4 *vs* 99.2±7.1）；女性 A/A 与 G/A+G/G 型的腰围（91.1±10.8 *vs* 95.7±8.7）；即 A/A 纯合子组的腰围显著低于 A/G、G/G 基因型组的。

2.3　联合分析 2 种瘦素基因变异对肥胖的影响

按携带基因组合的不同将肥胖患者分组，结果不同基因型组间的频率分布均没有显著性差异（P>0.05）；而且两个基因变异与性别、肥胖的程度和临床有关变量的影响相互间均没有协同作用。

3　讨　论

虽然不少研究认为瘦素基因蛋白编码区本身的突变并非多基因性肥胖的直接原因，但在高加索人、非洲裔美国人、墨西哥裔美国人等种族中发现，瘦素基因侧翼区的某些遗传标记与重度肥胖、BMI、空腹血清瘦素水平等关系密切[2-4]。

在日本人群中的研究发现，瘦素基因 Codn25（CAA/CAG）基因型和等位基因频率在重度肥胖（BMI>35 kg/m^2）者中明显高于正常人群的，由于 CAA/CAG 是一种静止突变，它们均编码瘦素蛋白质分子中的谷氨酸，突变的本身对瘦素的分子结构和功能没有直接的影响，Ohsiro 等[5]推测这种变异可能是作为一种与瘦素基因附近的一些变异呈连锁不平衡表达的遗传标记，参与了某些人种的肥胖易感性。从本研究的结果显示在女性Ⅱ度肥胖组中具有较高的 CAG 等位基因频率，说明该基因变异对汉族人群肥胖易感性的影响可能存在着肥胖度及性别的差异。

法国学者在瘦素基因 5′非翻译区的一个单核苷酸多态性位点 G-2548A 的研究表明，该位点的变异不但与接受低热量饮食妇女的 BMI 下降程度相关，也与肥胖患者的 BMI 和血清瘦素水平相关联[6]。Li 等[7]对美国白人瘦素基因的研究发现，有 3 个（nt+19,−1823,−2548）的等位基因频率在女性肥胖组（BMI≥40 kg/m^2）明显高于对照组（BMI< 27 kg/m^2）的。亚洲人群的肥胖更倾向于发生腹型肥胖，腹型肥胖的评估有腰臀比和腰围标准，其中腰围标准更适用于亚洲人[8]。在本组瘦素基因 G-2548A 多态性的研究结果中可见，肥胖患者不论男性还是女性，G-2548A 基因型 A/A 纯合子组的腰围明显低于杂合子组的（F=6.259，P=0.015），可能是瘦素基因 G-2548A 变异增加了腹型肥胖的易感性。

有研究 G-2548A 多态性对不同性别人群的血瘦素水平有影响，但本结果没有发现这两个基因变异与血瘦素水平之间存在关联性，提示这两个变异位点对肥胖易感性的影响可能不是直接通过作用瘦素基因表达调控而实现的。大多数的研究结果表明：对瘦素水平影响最大的因素是性别，其次是肥胖的程度[9]，这与本研究的结果相一致。此外，本实验中表明两个瘦素基因变异之间对肥胖的临床变量的影响没有明显的协同效应。

参考文献：

[1] The Asia-Pacific perspective：redefining obesity and its treatment [M].2000, ISBN #0-9577082-1-1.

[2] Roth H, Hinney A, Ziegler A, *et al*. Further support for linkage of extreme obesity to the obese gene in a study group of obese children and adolescents [J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 1997, 105 (6)：341-4.

[3] Jiang Y, Wilk JB, Borecki I, *et al*. Common variants in the 5′ region of the leptin gene are associated with body mass index in men from the National Heart, Lung and Blood Institute Family Heart Study [J]. Am J Hum Genet，2004，75 (2)：220-30.

[4] Hsueh WC, Mitchell BD, Schneider JL, *et al*. Genome-wide scan of obesity in the old order Amish [J]. Clin Endocrinol Metab，2001，86(3)：1199-205.

[5] Ohshiro Y, Ueda K, Nishi M, *et al*. A polymorphic marker in the gene associated with Japanese morbid obesity [J]. Mol Med，2000，78(9)：516-20.

[6] Mammes O, Betoulle D, Aubert R, *et al*. Association of the G-2548A polymorphismin the 5′region of the LEP gene with overwight [J]. Ann Hum Genet，2000，64(5)：391-4.

[7] Li WD, Reed DR, Lee JH, *et al*. Sequence variants in the 5′ flanking region of the leptin gene are associated with obesity in women [J]. Ann Hum Genet, 1999, 63 (3)：227-34.

[8] Seidell JC. Obesity, insulin resistance, and diabetes-a worldwide epidemic[J]. Br J Nutr, 2000, 83(1)：S5-8.

[9] 程　桦，严　励，傅祖植．糖尿病综合研究 10 年（1992-2002）[J]．中山大学学报（医学科学版），2003，24(1)：1-6．

（编辑　张恩健）

(C)1994-2019 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net