

· 论 著 ·

## 肥胖基因 3'-末端区微卫星多态性与上海地区汉族人群超重和肥胖的关系

鲁 瑾, 邹大进\* (第二军医大学长海医院内分泌科, 上海 200433)

**[摘要]** **目的:** 研究肥胖(ob)基因 3'-末端区微卫星多态性与上海地区汉族人群肥胖的关系。**方法:** 运用 PCR 法分析 232 例上海地区汉族人群(包括 130 例肥胖组及 102 例对照组)的 ob 基因 3'-末端区的微卫星多态性的基因型, 比较不同基因型身高、体质量、腰围、臀围、体质量指数、腰/臀比、血糖、血胰岛素、血脂和尿酸的差异。**结果:** 肥胖组和对照组的基因型频率(I/I 0.115, I/II 0.331, II/II 0.554 vs I/I 0.059, I/II 0.333, II/II 0.608)和等位基因频率(I 0.281, II 0.719 vs I 0.225, II 0.775)无显著差异;在肥胖组中,携带 ob 基因(I/I + I/II)基因型的患者腰臀比较携带 II/II 基因型者大(0.91±0.05 vs 0.86±0.03, P=0.047)。Logistic 回归分析证实,腰臀比与 ob 基因 3'-末端区的微卫星多态性独立相关(P=0.042)。**结论:** Ob 基因 3'-末端区微卫星多态性与上海地区汉族人群中心性肥胖相关。

**[关键词]** 汉族;肥胖;肥胖基因;微卫星多态性

**[中图分类号]** R 589.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)09-0933-03

### Correlation between microsatellite polymorphisms in ob gene 3' flanking region with overweight and obesity in Chinese Han ethnicity in Shanghai

LU Jin, ZOU Da-jin\* (Department of Endocrinology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To investigate the correlation between the microsatellite polymorphisms in ob gene 3' flanking region with obesity in Chinese Han ethnicity in Shanghai. **Methods:** The genotypes of polymorphisms in ob gene 3' flanking region were determined by PCR in 232 Chinese Han subjects (including 130 obese patients and 102 normal controls). The clinical data, including height, weight, waist circumference, hip circumference, body mass index, waist-to hip ratio (WHR), blood glucose, serum insulin, blood lipids, and uric acid, were compared between the 2 groups. **Results:** No significant difference of genotype frequency (I/I 0.115, I/II 0.331, II/II 0.554 vs I/I 0.059, I/II 0.333, II/II 0.608) and allele frequency (I 0.281, II 0.719 vs I 0.225, II 0.775) of ob gene 3' flanking region was observed between the 2 groups. In obese group, patients with I + II genotype was associated with increased WHR compared with those with II/II genotype (0.91±0.05 vs 0.86±0.03, P=0.047). Logistic regression analysis showed that WHR was independently correlated with ob gene polymorphisms (P=0.042). **Conclusion:** Polymorphisms in ob gene 3' flanking region are correlated with central obesity in obese patients of Chinese Han ethnicity in Shanghai.

**[KEY WORDS]** Han nationality; obesity; ob gene; microsatellite polymorphism

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(9): 933-935]

肥胖是一复杂的基因表型,表现为多基因遗传。研究发现,染色体 7q22-35 上的广泛区域与体质量指数(body mass index, BMI)相关。肥胖(ob)基因定位毗邻该区域,其蛋白产物是瘦素,通过瘦素受体介导,具有体质量调节的作用,可能为肥胖的候选基因之一<sup>[1]</sup>。已有多项研究表明,ob 基因 3'-末端区的微卫星多态性与肥胖等代谢指标相关,但不同群体的研究结果存在差异<sup>[2-6]</sup>。因此,我们选用上海地区汉族肥胖人群为研究对象,观察 ob 基因 3'-末端区的微卫星多态性与肥胖及其相关表型的相关性。

#### 1 材料和方法

1.1 研究对象 为本院门诊的超重和单纯性肥胖患者 130 例,诊断按照 WHO 标准:超重 BMI≥25 kg/m<sup>2</sup>,肥胖 BMI≥30 kg/m<sup>2</sup>。其中男性 56 例,女

性 74 例,年龄 18~60 岁,平均年龄(34±12)岁。选择同期参加门诊体检的非肥胖对照者 102 例,两组在年龄、性别上相匹配。肥胖组和对照组在血压、空腹血糖、尿酸和血脂等方面无显著性差异。肥胖组 BMI(30.31±3.39)和腰臀比(0.90±0.05)显著高于对照组(21.20±3.72, 0.78±0.06, P<0.01)。所有研究对象均无亲缘关系,且排除心、肺、肾疾病和糖尿病及其他内分泌疾病病史。

1.2 代谢指标的检测 所有研究对象均由专人测量身高、体质量,腰围、臀围,计算 BMI 和腰臀比。空腹抽取静脉血用于血糖(FPG)、血胰岛素(FIN)、

**[作者简介]** 鲁瑾,博士,讲师、主治医师。

E-mail: lujin12@gmail.com

\* Corresponding author. E-mail: zwj22@medmail.com.cn

血甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)和尿酸测定。

1.3 外周血白细胞基因组 DNA 的抽提 采用常规苯酚/氯仿法。

1.4 Ob 基因微卫星多态性测定 应用 PCR 法。PCR 引物由上海博亚公司合成,序列为:正义链 5'-AGT TCA AAT AGA GGT CCA AAT CA-3',反义链 5'-TTC TGA GGT TGT GTC ACT GGC A-3'。PCR 扩增体系如下:50~200 ng 基因组 DNA,引物 0.4 μmol/L,4 种 dNTP 各 120 μmol/L,1× PCR 缓冲液,2.0 mmol/L MgCl<sub>2</sub>,Taq DNA 聚合酶 2.5 U(上海生工生物工程技术有限公司)。PCR 采用热启动法,即先于 95℃ 变性 5 min,降至 80℃ 时再加入 Taq DNA 聚合酶。PCR 扩增的循环参数为:变性 94℃ 60 s,退火 55℃ 60 s,延伸 72℃ 90 s,35 个循环,最后一个循环完毕后于 72℃ 继续延伸 7 min。扩增结束后,取 5 μl 扩增产物与 DNA 分子量标准参照物同时点样于含 0.5 μg/ml EB 的 2% 琼脂糖凝胶上,4 V/cm 电泳 1 h 左右,紫外灯下检测扩增片段并拍照。

1.5 统计学处理 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组组间临床变量比较用 *t* 检验。运用基因计数法计算各组基因频率及等位基因频率, $\chi^2$  检验比较两组间频率的差异。运用 Logistic 回归分析 ob 基因型的独立相关变量。所有过程均由 SPSS 11.0 统计软件完成。

## 2 结果

2.1 两组 ob 基因的 PCR 扩增 ob 基因经 PCR 扩增后分为两类产物,一类由较短的片段组成(121~145 bp),称为 I 带;一类由稍长的片段组成(197~225 bp),称为 II 带。短片段的纯合子电泳带型为 I 带,长片段的纯合子电泳带型为 II 带,短片段和长片段的杂合子电泳带型为 I 带和 II 带,见图 1。

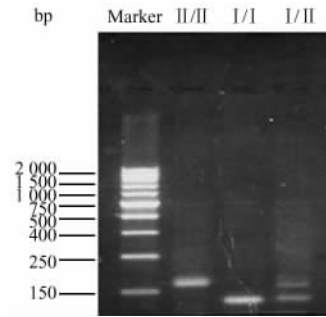


图 1 Ob 基因 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳结果

Fig 1 Agarose gel electrophoresis of the PCR products of ob gene

2.2 Ob 基因多态性的频率分布 见表 1。上海地区汉族人群 ob 基因多态性的基因型和等位基因频率在肥胖组和对照组之间无明显差异,对照组的基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡。

表 1 两组 ob 基因多态性的频率分布

Tab 1 Genotypic and allelic distribution of ob gene polymorphism in 2 groups

Subjects	N	I / I	I / II	II / II	I	II
Obese	130	15(0.115)	43(0.331)	72(0.554)	73(0.281)	187(0.719)
Control	102	6(0.059)	34(0.333)	62(0.608)	46(0.225)	158(0.775)

[n(%)]

$\chi^2 = 1.832, P = 0.176$

2.3 Ob 基因多态性与各临床变量的关系 由于研究人群中 I/I 基因型频率较低,故将 ob 基因多态性的基因型分为 I 组(I/I 及 I/II 基因型)和 II 组(II/II 基因型)后进行分析。在肥胖总组中,ob 基因多态性与 BMI(身高及体质量)、腰围及臀围、血压(收缩压及舒张压)、血糖(空腹)、血胰岛素(空腹)、血脂(总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白及高密度脂蛋白)及血尿酸水平均无相关性,而与腰臀比相关( $P = 0.047$ ),携带 I 组基因型的肥胖患者腰臀比偏大,见表 2。

2.4 Ob 基因型与各临床变量关系的 Logistic 回归分析 在肥胖组中,以 ob 基因型为应变量,以各临床变量为自变量进行 Logistic 回归分析显示,排除

其他因素影响之后,腰臀比仍与 ob 基因多态性相关( $P$  值为 0.042,OR 值为 1.835, [95% CI] 为 1.504~2.257)。

## 3 讨论

人类 ob 基因 3'-末端区的微卫星多态性最早由 Shintani 等于 1996 年报道,位于人类 ob 基因第 3 外显子下游 157 bp 处(即 3'-末端区),由四核苷酸组成的重复片段。根据重复片段的长短形成多态性,短的片段由较少的重复的四核苷酸组成(121~145 bp),称为 I 类;长的片段由较多的重复的四核苷酸组成(197~225 bp),称为 II 类<sup>[2]</sup>。

表 2 肥胖组中 ob 基因多态性与各临床变量的关系

Tab 2 Relationship between ob gene polymorphism genotype and clinical characteristics in obese group

Index	Group I ( I / I , I / II , n=58)	Group ( II / II , n=72)	P
SBP ( $p_B$ /mmHg)	123.33±15.06	115.67±11.43	0.344
DBP ( $p_B$ /mmHg)	79.67±10.61	78.33±5.16	0.788
Height (l/cm)	162.00±4.90	162.67±7.65	0.861
Weight (m/kg)	75.83±3.37	74.83±8.35	0.791
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	31.11±1.03	30.21±1.30	0.213
Waist circumference (l/cm)	88.17±7.39	89.08±4.41	0.799
Hip circumference (l/cm)	101.17±7.63	97.50±3.39	0.307
WHR	0.91±0.05	0.86±0.03	0.047
FPG ( $c_B$ /mmol·L <sup>-1</sup> )	4.83±0.43	5.38±0.56	0.086
FIN ( $z_B$ /mU·L <sup>-1</sup> )	14.09±4.34	22.95±12.53	0.315
TC ( $c_B$ /mmol·L <sup>-1</sup> )	4.87±0.71	5.16±1.21	0.621
TG ( $c_B$ /mmol·L <sup>-1</sup> )	1.28±0.78	1.91±1.79	0.450
LDL ( $c_B$ /mmol·L <sup>-1</sup> )	3.13±0.35	2.80±0.53	0.379
HDL ( $c_B$ /mmol·L <sup>-1</sup> )	1.58±0.34	1.60±0.52	0.954
Uric acid ( $c_B$ /mmol·L <sup>-1</sup> )	0.25±0.04	0.24±0.04	0.674

1 mmHg=0.133 kPa

位于人类 ob 基因 3'-末端区的该微卫星多态性在不同人群中发生频率略有差异。我们的研究提示,在 102 例非肥胖的上海地区汉族人群中, I / I 、 I / II 、 II / II 基因频率分别为 0.059、0.333、0.608; I 及 II 等位基因频率分别为 0.225 及 0.775。此与文献报道的日本人频率( I 及 II 等位基因频率分别为 0.262 及 0.738)相近似( $P>0.05$ )<sup>[2]</sup>;而与瑙鲁人群频率( I 及 II 等位基因频率分别为 0.100 及 0.900)差异显著( $P<0.01$ )<sup>[3]</sup>。提示位于人类 ob 基因 3'-末端区的该微卫星多态性在不同人群中发生频率略有差异。

目前该微卫星多态性与肥胖等代谢疾病相关性研究的结果在不同人群中存在差异。日本人群的研究发现携带 I / I 基因型的人群体质量高于其他基因型人群的体质量[(68.8±11.1) vs (60.8±10.3) kg,  $P=0.05$ ],提示 I 类等位基因可能与高体质量相关<sup>[2]</sup>。Silva 等<sup>[3]</sup>报道该微卫星多态性在瑙鲁人群中与体质量和 BMI 均不相关,但与高血压相关。而 Maestrini 等<sup>[6]</sup>在 325 例重度肥胖[平均 BMI 为 (46±6.94) kg/m<sup>2</sup>]患者中未发现 ob 基因 3'-末端区的微卫星多态性与血压相关。Porreca 等<sup>[4]</sup>的研究亦未证实 ob 基因 3'-末端区的微卫星多态性与心血管疾病相关。Hinuy 等<sup>[5]</sup>在巴西人群中的研究结果与 Maestrini 等和 Porreca 等类似,未发现该多态性与血压和心血管疾病的相关性,但发现肥胖者的 I 等位基因(即 I + II 基因型)频率要显著高于非肥胖者,携带 I 等位基因者发生肥胖的风险是非携带者的 2 倍,且 I 等位基因与高体质量指数和高腰围相关<sup>[5]</sup>。我们的研究表明,在上海地区汉族人群中

ob 基因 3'-末端区微卫星多态性的发生频率在肥胖组和对照组之间无明显差异;而通过肥胖组中不同基因型各临床变量的比较发现该微卫星多态性与腰臀比相关,并经 Logistic 回归分析进一步证实,提示 ob 基因 3'-末端区微卫星多态性与上海地区汉族人群的中心性肥胖相关。

## [参考文献]

- [1] Jiang Y, Wilk J B, 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, 75:220-230.
- [2] Shintani M, Ikegami H, Yamato E, et al. A novel microsatellite polymorphism in the human ob gene: a highly polymorphic marker for linkage analysis[J]. Diabetologia, 1996, 39: 1398-1401.
- [3] Silva A, Walder K R, Atiman T J, et al. Combination of polymorphisms in OB-R and the OB gene associated with insulin resistance in Nauruan males[J]. Int J Obes, 1999, 23:816-822.
- [4] Porreca E, Di-Febbo C, Pintor S, et al. Microsatellite polymorphism of the human leptin gene (LEP) and risk of cardiovascular disease[J]. Int J Obes, 2006, 30:209-213.
- [5] Hinuy H M, Hirata M H, Sampaio M F, et al. LEP 3' HVR is associated with obesity and leptin levels in Brazilian individuals [J]. Mol Genet Metab, 2006, 89:374-380.
- [6] Maestrini S, Mencarelli M, Verti B, et al. Lack of association between the tetranucleotide repeat polymorphism in the 3'-flanking region of the leptin gene and hypertension in severely obese patients [J]. J Endocrinol Invest, 2006, 29: 776-780.

[收稿日期] 2007-01-09

[修回日期] 2007-07-09

[本文编辑] 曹 静