

奶牛 Leptin 及其受体研究进展

李 锋¹, 张建宏¹, 陈付英², 徐照学^{2*}

(1. 河南农业大学 牧医工程学院, 河南 郑州 450002; 2. 河南省农业科学院 畜牧兽医研究所, 河南 郑州 450002)

摘要: Leptin 是由肥胖基因 *OB* 编码, 由白色脂肪组织合成分泌的蛋白质类激素, 主要参与调节体质量、采食量以及妊娠和分娩过程, 在生殖、神经等组织器官中都有较高水平的表达。Leptin 在血浆中的浓度是能量代谢过程中最明显的生理学指标之一。主要综述了 *leptin* 基因及其受体 (Ob-R) 在奶牛机体代谢过程中生理作用的研究进展。

关键词: 奶牛; 瘦素; *leptin* 基因受体 (Ob-R)

中图分类号: S823 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2012)09-0018-04

Recent Advances in Researches on Leptin and Leptin Receptor in Dairy Cattle

LI Feng¹, ZHANG Jian-hong¹, CHEN Fu-ying², XU Zhao-xue^{2*}

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Institute of Animal Science and Veterinary, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: Leptin is a hormone encoded by the obese gene and secreted by adipose tissues, which shows high levels of expression in the nervous system, reproductive system and other organs. It is mainly involved in the regulation of body weight, feed intake, milk yield, pregnancy and parturition. Leptin concentration in plasma is the most obvious characteristic in energy metabolism of the physiologic variable. This review focused on the research progresses of the physiological role of leptin gene and leptin receptor (Ob-R) involved in the metabolism of dairy cattle.

Key words: dairy cattle; leptin; Ob-R

Leptin 即瘦素, 是由肥胖基因 (*OB*) 编码的蛋白质, 主要由白色脂肪组织合成和分泌, 具有调节体内脂肪储存量和维持能量平衡的作用, 可直接作用于脂肪细胞, 抑制脂肪的合成, 促进脂肪分解, 避免肥胖发生^[1-3]。Leptin 前体由 167 个氨基酸残基组成, N 末端有 21 个氨基酸残基信号肽, 该前体的信号肽在血液中被切掉而成为 146 个氨基酸, 分子量为 16 kD, 形成 Leptin。Leptin 具有广泛的生物学效应, 其中较重要的是作用于下丘脑的代谢调节中枢, 从而抑制食欲、减少能量摄取、增加能量消耗、抑制脂肪合成, 其对动物的体质量、采食量、繁殖力、妊娠、分娩都有重要作用^[4]。为此, 对奶牛 Leptin 的研究进展进行综述, 以期为进一步研究提供帮助。

1 奶牛 *leptin* 基因及其受体 (Ob-R)

由于 *leptin* 基因在奶牛生产中具有重要作用, 其试验研究逐渐增加。早在 1999 年, Konfortov 等^[1]测定了当地杂交牛的 *leptin* 基因部分序列, 发现 *leptin* 基因具有丰富的多态性, 在测序的内含子以及外显子中共发现 20 个多态位点, 外显子中每 84 个碱基对就可能有一个多态位点出现。Liefers 等^[2]研究发现, *leptin* 基因多态与肉牛的胴体成分和奶牛的产奶量高度相关。Lagonigor 等^[3]在 *leptin* 基因第二外显子上发现 1 个非保守突变, 该突变引起 *leptin* 蛋白信号传导氨基酸序列改变, 携带该稀有等位基因个体的采食量比正常个体增加 19%。

收稿日期: 2012-04-01

基金项目: 河南省重点攻关项目 (112102110208); 现代农业 (肉牛) 产业技术体系专项经费资助项目

作者简介: 李 锋 (1986-), 男, 河南三门峡人, 在读硕士研究生, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖。E-mail: lfgavin@163.com

* 通讯作者: 徐照学 (1961-), 男, 陕西华县, 研究员, 博士, 主要从事动物遗传育种与繁殖工作。E-mail: xuzhaoxue11@163.com

Liefers 等^[4]扫描了 60 头黑白花奶牛的 *leptin* 序列,没有检测到该突变。Almeida 等^[5]研究了 149 头布兰格斯莱牛 *leptin* 基因,发现了该稀有等位基因的频率为 0.06,与产犊间隔和初产体质量相关。Liefers 等^[6]测定了 613 头奶牛的 *leptin* 的启动子区域,共发现 14 个多态位点,其中 1 个多态位点与初产家畜的黄体活化相关,1 个与能量平衡和干物质摄入量相关;在发现的 SNP 中,有 3 个集中在 135 碱基对区域,影响围产期 Leptin 浓度。牛的 *leptin* 基因存在妊娠依赖型增强子,人类胎盘中存在一种特殊 *leptin* 基因启动子的增强子来增强 Leptin 的合成^[7],反刍动物的胎盘中 Leptin 表达没有显著变化。综上所述,Leptin 与能量平衡、采食量、产奶量以及初产牛黄体活化有关。

1995 年,*leptin* 受体基因(*Ob-R*)被发现,*Ob-R* 基因包含了 20 个外显子(4 kb),编码一种跨膜糖蛋白,该蛋白包括有 a、b、c、d、e、f 6 种亚型,其中 OB-Rb 属于长型受体,其余均为短型受体。Liefers 等测定了牛 *Ob-R* 3 个外显子,覆盖编码区 17%,发现了 1 个非保守多态位点(T945M)。该位点与已公布的奶制品特征没有相关性,但是与产前 Leptin 的浓度相关^[8]。

2 Leptin 及其受体在奶牛中的生物学效应

2.1 Leptin 和下丘脑-脑垂体轴

许多研究已经证实,包括反刍动物在内,*leptin* 基因及其受体的 mRNA 在下丘脑中高表达^[9]。下丘脑把 Leptin 信号转化成神经反映,从而引起采食量的变化。NPY(神经肽-Y)的主要作用是增加采食量,降低饱食动物的产热效应,而 Leptin 则通过限制 NPY 信号来限制采食量^[10]。Leptin 通过刺激脑垂体,经由 GnRH-神经元刺激,释放促性腺激素 LH 和 FSH。Leptin 也可以直接刺激脑下垂体释放促生长激素^[11]。

2.2 Leptin 与采食量和体质量

在 ob/ob 小鼠和野生小鼠体内注射 Leptin,两者都表现出采食量和体质量的急剧下降。用 ob/ob 小鼠与 Leptin 处理小鼠进行饲喂试验发现,ob/ob 小鼠比 Leptin 处理小鼠体质量减轻了 30%,这些数据表明,Leptin 不仅经由下丘脑的 Y-神经元控制采食量,而且在脂肪组织的调控中发挥重要作用^[12]。通过人工降低母羊体内 Leptin 浓度,3 d 后其采食量减少了 1/3,解除 Leptin 处理后,绵羊营养状况和采食量都恢复正常^[13]。在反刍动物中,改变饲料组

分或者限制采食量都会引起血浆中 *leptin* 基因的表达水平改变。妊娠羊中,在 5 d 内逐步增加饲料供应量后,Leptin 的血浆浓度在 48 h 内升高^[14]。断绝绵羊饲料供应会引起血浆中 Leptin 的急剧下降,长期限饲会导致血浆中 Leptin 浓度下降^[13],在牛和羊中,断绝饲料供应导致脂肪组织中 Leptin mRNA 浓度降低,从而导致血浆中 Leptin 的急剧变化。

2.3 Leptin 与繁殖力

对繁殖力低下的 ob/ob 小鼠注射 Leptin 处理后,血浆中的 LH 和 FSH 水平以及卵巢质量、睾丸质量、精子数量等都所有所提高或增加,对 ob/ob 小鼠进行重复注射 Leptin 处理,繁殖缺陷小鼠的排卵、妊娠、分娩的生理机制恢复正常^[14]。Leptin 处理刺激了下丘脑中 GnRH 释放神经元,也可以直接刺激垂体释放 LH 和 FSH。在反刍动物中,重组绵羊 *leptin* 基因的应用可以刺激肉牛 LH 的分泌增加,Morrison 等^[15]研究证明,在母羊妊娠期内静脉输入 Leptin 不影响 LH 分泌。妊娠期间,Leptin 表现出抗性的状态,阻止采食量减退,同时也阻止排卵。分娩后,Leptin 长型受体以及短型受体都在下丘脑中表达,在 GnRH 神经元激活之前,Leptin 在下丘脑中的含量达到了刺激垂体分泌 LH 和 FSH 的水平^[16]。

2.4 Leptin 与妊娠

绵羊妊娠过程中,体质量以及脂肪储备增加,导致脂肪组织分泌的 Leptin 随之增加,体内 Leptin 循环水平持续增加直至妊娠后期,但在妊娠过程中,大部分的 Leptin 是以没有活性的结合态存在,体内 Ob-R 的循环水平在妊娠期的增加,诱导了 Leptin 抗性的出现。在奶牛中,目前没有研究涉及妊娠早期至中期的 *leptin* 基因表达水平,*leptin* 基因表达水平在妊娠后期很高,但是分娩时降至最低点^[17]。一些研究机构解释这种抗性的出现:第一,妊娠期间 *leptin* 基因对血脑屏障中通透性的变化有重要作用。近期在小鼠中研究发现,*leptin* 基因在脑组织中的表达水平直接造成了 Leptin 在血脑屏障转运时的差异,可能由于 Leptin 在通过血脑屏障时的转运受损而导致了妊娠期 Leptin 抗性的出现。因为妊娠期抗性的存在,负反馈调节信号不能够出现从而导致 *leptin* 基因表达的增加;第二,研究显示,在妊娠期间 *leptin* 高水平表达的原因不仅是由于负反馈调节的缺乏,而且还和奶牛妊娠期间增加的体质量和脂肪有关^[17]。在人胎盘中,Leptin 受体呈现高水平表达,但是在反刍动物中,胎盘中 *leptin* 基

因的表达水平可以忽略不计。由于奶牛胎盘 *leptin* 基因表达的缺失,以至于其对体内 *leptin* 基因的表达水平不产生任何影响。综上所述,关于反刍动物妊娠期间血浆中 Leptin 浓度增加的原因是脂肪组织中 *leptin* mRNA 的增加,其主要是由于脂肪组织的增加和负反馈调节的缺乏,胎盘的 Leptin 的影响可以忽略不计。

2.5 Leptin 与分娩

血浆中 Leptin 浓度在妊娠后期增加,却在分娩时迅速衰减。目前关于分娩时 Leptin 衰减的假说大致有以下 2 种:哺乳期的负能量平衡,预示着干物质摄入量减少的同时胎儿摄入能量的需求增加,结果是脂肪组织的减少,这导致了 *leptin* 基因表达的减弱。Block 等^[18] 研究提示,围产期的能量平衡和血浆 Leptin 的曲线非常相似,说明 Leptin 水平在围产期中的降低可能是由于脂肪组织的减少所致^[18]。另外一种假说是 *leptin* 基因的表达调控与胰岛素和生长激素的分泌有关,在分娩时的负能量平衡状态下,血浆中胰岛素水平降低以及 GH 血浆浓度增加^[18],这表明 2 种激素在能量平衡中控制了一部分血浆 Leptin。有证据表明,在啮齿类动物和人类中,胰岛素可以升高 GH,降低血浆中的 Leptin。最近,Leury 等^[19] 研究了胰岛素和 GH 对围产期奶牛 Leptin 水平的影响,在产前以及妊娠后期胰岛素的注入,增加了 Leptin 循环水平,相比之下,GH 处理没有降低 Leptin 血浆浓度。

3 展望

leptin 基因及其受体在奶牛能量代谢和内分泌调节中起重要作用,与奶牛采食量、体内脂肪代谢、产奶量以及发情周期等重要经济性状密切相关,在确立 Leptin 作为营养与繁殖的联系因素之后,可以通过控制营养水平和 Leptin 治疗人为地调节动物初情期,缩短产后发情间期,提高繁殖效率。在奶牛的分子育种中,*leptin* 基因可以作为遗传学上的数量特性位置标记,有利于奶牛优良品种的选育。

参考文献:

- [1] Konfortov B A, Licence V E, Miller J R. Re-sequencing of DNA from a diverse panel of cattle reveals a high level of polymorphism in both intron and exon[J]. Mamm Genome, 1999, 10(12): 1142-1145.
- [2] Liefers S C, Pas M F, Veerkamp R F, et al. Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake, and fertility in Holstein heifers[J]. Dairy Sci, 2002, 85(6): 1633-1638.
- [3] Lagonigro R, Wiener P, Pilla F, et al. A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake[J]. Anim Genet, 2003, 34: 371-374.
- [4] Liefers S C, te Pas M F W, Veerkamp R F, et al. Association of leptin gene polymorphisms with serum leptin concentration in dairy cows[J]. Mamm Genome, 2003, 14(9): 657-663.
- [5] Almeida S E M, Almeida E A, Moraes J C F, et al. Molecular markers in the lep gene and reproductive performance of beef cattle[J]. Anim Breed Genet, 2003, 120: 106-113.
- [6] Liefers S C. Physiology and genetics of leptin in periparturient dairy cows[M]. Ph D, thesis, 2004.
- [7] Bi S, Gavrilova O, Gong DW, et al. Identification of a placental enhancer for the human leptin gene[J]. Biol Chem, 1997, 272(48): 30583-30588.
- [8] Liefers S, Veerkamp R, te Pas M, et al. Short communication: a missense mutation in the bovine leptin receptor gene is associated with leptin concentrations during late pregnancy[J]. Anim Genet, 2004, 35: 138-141.
- [9] Dyer C J, Simmons J M, Matteri R L, et al. Leptin receptor mRNA is expressed in ewe anterior pituitary and adipose tissues and is differentially expressed in hypothalamic regions of well-fed and feed-restricted ewes[J]. Domest Anim Endocrinol, 1997, 14(2): 119-128.
- [10] Jang M, Mistry A, Swick A G, et al. Leptin rapidly inhibits hypothalamic neuropeptide Y secretion and stimulates corticotropin-releasing hormone secretion in adrenalectomized mice[J]. Nutr, 2000, 130(11): 2813-2820.
- [11] Zieba D A, Amstalden M, Morton S, et al. Effects of leptin on basal and GHRH-stimulated GH secretion from the bovine adenohypophysis are dependent upon nutritional status[J]. Endocrinol, 2003, 178(1): 83-89.
- [12] Campfield L A, Smith F J, Guisez Y, et al. Recombinant mouse OB protein: evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural networks[J]. Science, 1995, 269: 546-549.
- [13] Thomas L, Wallace J M, Aitken R P, et al. Circulating leptin during ovine pregnancy in relation to maternal nutrition, body composition and pregnancy outcome[J]. Endocrinol, 2001, 169(3): 465-476.
- [14] Delavaud C, Bocquier F, Chilliard Y, et al. Plasma leptin determination in ruminants; effect of nutritional

- status and body fatness on plasma leptin concentration assessed by a specific RIA in sheep[J]. *Endocrinol*, 2000, 165(2): 519-526.
- [15] Morrison C D, Daniel J A, Holmberg B J, *et al.* Central infusion of leptin into well-fed and undernourished ewe lambs; effects on feed intake and serum concentrations of growth hormone and luteinizing hormone[J]. *Endocrinol*, 2001, 168(2): 317-324.
- [16] Amstalden M, Garcia M R, Stanko R L, *et al.* Central infusion of recombinant ovine leptin normalizes plasma insulin and stimulates a novel hypersecretion of luteinizing hormone after short-term fasting in mature beef cows[J]. *Biol Reprod*, 2002, 66(5): 1555-1561.
- [17] Liefers S C, Veerkamp R F, te Pas M F W, *et al.* Leptin concentrations in relation to energy balance, milk yield, intake, live weight, and estrus in dairy cows[J]. *Dairy Sci*, 2003, 86(3): 799-807.
- [18] Block S S, Butler W R, Ehrhardt R A, *et al.* Decreased concentration of plasma leptin in periparturient dairy cows is caused by negative energy balance[J]. *Endocrinol*, 2001, 171(2): 339-348.
- [19] Leury B J, Baumgard L H, Block S S, *et al.* Effect of insulin and growth hormone on plasma leptin in the periparturient dairy cow[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2003, 24: 24.
- ~~~~~
- (上接第 5 页)
- [29] 房超, 杨志荣, 刘独臣, 等. 应用 SRAP 分子标记构建茄子遗传图谱初探[J]. *西南农业学报*, 2010, 23(5): 1591-1594.
- [30] 金梦阳, 刘列钊, 付福友, 等. 甘蓝型油菜 SRAP、SSR、AFLP 和 TRAP 标记遗传图谱构建[J]. *分子植物育种*, 2006, 4(4): 520-526.
- [31] 易斌, 陈伟, 马朝芝, 等. 甘蓝型油菜产量及相关性状的 QTL 分析[J]. *作物学报*, 2006, 32(5): 676-682.
- [32] 蔡长春, 傅廷栋, 陈宝元, 等. 甘蓝型油菜遗传图谱的构建及开花期的 QTL 分析[J]. *中国油料作物学报*, 2007, 29(1): 1-8.
- [33] 李缓缓, 沈金雄. 利用 SRAP、SSR 和 AFLP 标记构建甘蓝型油菜遗传连锁图谱[J]. *中国农业科学*, 2007, 40(6): 1118-1126.
- [34] 王峰, 官春云. 甘蓝型油菜遗传图谱的构建及单株产量构成因素的 QTL 分析[J]. *遗传*, 2010, 32(3): 271-277.
- [35] 王强, 张新友, 汤丰收, 等. 基于 SRAP 分子标记的栽培种花生遗传连锁图谱构建[J]. *中国油料作物学报*, 2010, 32(3): 374-378.
- [36] 陈美霞, 张广庆, 祁建民, 等. 红麻 SRAP、ISSR 遗传连锁图谱构建的初步研究[J]. *中国麻业科学*, 2008, 30(3): 121-127.
- [37] 高丽霞, 刘念, 黄邦海. 姜花属 SRAP 分子标记连锁图谱构建[J]. *云南植物研究*, 2009, 31(4): 317-325.
- [38] 赵玉辉, 郭印山, 胡又厘, 等. 应用 RAPD、SRAP 及 AFLP 标记构建荔枝高密度复合遗传图谱[J]. *园艺学报*, 2010, 37(5): 697-704.
- [39] 郭印山, 赵玉辉, 刘朝吉, 等. 利用多种分子标记构建龙眼高密度分子遗传图谱[J]. *园艺学报*, 2009, 36(5): 655-662.
- [40] 陈迪文, 柴利广, 蔡长春, 等. 白肋烟遗传连锁图的构建及黑胙病抗性 QTL 初步分析[J]. *自然科学进展*, 2009, 19(8): 852-961.
- [41] 蔡长春, 柴利广, 王毅, 等. 白肋烟分子标记遗传图谱的构建及部分性状的遗传剖析[J]. *作物学报*, 2009, 35(9): 1646-1654.
- [42] 马红勃, 祁建民, 李延坤, 等. 烟草 SRAP 和 ISSR 分子遗传连锁图谱构建[J]. *作物学报*, 2008, 34(11): 1958-1963.
- [43] 刘伟, 曹珂, 王力荣, 等. 甘肃桃抗南方根结线虫性状的 SRAP 标记[J]. *园艺学报*, 2010, 37(7): 1057-1064.
- [44] 沈志军, 马瑞娟, 俞明亮, 等. 油蟠桃组合遗传连锁图谱构建及糖酸性状 QTL 分析[J]. *园艺学报*, 2010, 37(11): 1735-1744.
- [45] 刘恩英, 王源秀, 徐立安, 等. 基于 SSR 和 SRAP 标记的簸箕柳×绵毛柳遗传框架图[J]. *林业科学*, 2011, 47(5): 23-30.
- [46] 王从彦, 李晓慧, 胡小丽, 等. SRAP 技术在西瓜种子纯度鉴定中的应用[J]. *河南农业大学学报*, 2008, 42(5): 491-495.
- [47] 李晓慧, 田朝阳, 王从彦. SRAP 分子标记分析西瓜遗传多态性[J]. *生物技术*, 2007, 17(3): 23-26.