

• 调查报告 •

桂西壮族人蛋氨酸合成酶及其还原酶基因多态性分析*

陆小婵, 卢冬, 滕元姬, 潘云

(右江民族医学院附属医院检验科, 广西百色 533000)

摘要:目的 了解桂西壮族人群蛋氨酸合成酶及其还原酶基因的分布特点。方法 应用聚合酶链反应技术对 220 例桂西壮族健康成年人蛋氨酸合成酶(MS)及蛋氨酸合成酶还原酶(MTRR)基因进行扩增,进行图谱分析。并结合文献进行不同种族间的分析比较。结果 桂西壮族人群中 MS 基因型以 AA 最多见,AG 次之。AA 基因型频率为 79.09%、AG 为 19.55%、GG 为 1.36%。A 基因频率为 88.86%、G 为 11.14%。MTRR 基因第 66 位点 AA、AG 和 GG 基因型分别为 37.73%、53.18%、9.09%,与其他种族相比较,MS 基因型在中国正常人群中的分布与白种人群中的分布差异有统计学意义。结论 蛋氨酸合成酶及其还原酶基因多态性在不同地域不同种族间分布存在着明显的差异。

关键词:甲硫氨酸; 基因型; 聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.08.029

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)08-0976-01

Analysis of human methionine synthase and its reductase gene polymorphism in the west of Guangxi Zhuang Autonomous Region*

Lu Xiaochan, Lu Dong, Teng Yuanji, Pan Yun

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China)

Abstract: Objective To investigate the population distribution feature of methionine synthase and its reductase gene in the west of Guangxi Zhuang Autonomous Region. **Methods** Application of polymerase chain reaction in 220 cases of healthy adult Zhuang nationality of methionine synthase(MS) and methionine synthase reductase(MTRR) gene was amplified, for mapping analysis. Combined with literature analysis and comparison between different ethnic groups. **Results** MS genotype in Western Guangxi Zhuang population are most commonly seen in AA, followed by AG. The AA genotype frequency was 79.09%, AG 19.55%, GG 2.36%. The A genotype frequency was 88.86%, G was 11.14%. MTRR gene sixty-sixth loci AA, AG and GG genotypes in the control group were 37.73%, 53.18%, 9.09%, compared with other races, there are significant differences between the distribution of MS genotypes in Chinese in normal population and Caucasian population. **Conclusion** Methionine synthase and its reductase gene polymorphism exist obvious differences which in different regions and different ethnic distribution.

Key words: methionine; genotype; polymerase chain reaction

同型半胱氨酸(Hcy)是造成和加速动脉粥样硬化进而导致脑梗死的一个重要指标^[1-2]。蛋氨酸合成酶(MS)及其还原酶(MTRR)是 Hcy 再甲基化途径中的重要酶,其编码酶的基因发生突变,可导致 Hcy 代谢异常。研究表明 MS 与心脑血管疾病和出生缺陷如神经血管畸形的发生有关^[1-2]我国各民族蛋氨酸合成酶基因的分布定有不同。本文对 220 例桂西壮族人蛋氨酸合成酶及其还原酶基因的多态性进行检测分析,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 桂西各县市来本院体检的健康成年人 220 例,其中男 112 例,女 108 例,平均年龄 36 岁。

1.2 方法

1.2.1 模板 DNA 的制备 所有试验对象均采肘静脉血 4 mL,用 EDTA-K₂ 抗凝,采用已建立的碘化钠裂解、氯仿及戊醇提取法^[3]提取白细胞基因组 DNA,置-30℃保存备用。

1.2.2 引物的设计及合成 (1)参照文献^[3]设计一对引物,扩增 MS 基因第 2 756 位点上、下游的一段 DNA 序列。上游引物:5'-CAT GGA AGA ATA TGA GAT ATT AGA -3',下游引物:5'-GAA CTA GAA-GAC AGA AAT TCT CTA-3'。(2)参照文献^[4]设计一对引物,扩增 MTRR 基因第 66 位点上、下游的一段 DNA 序列。上游引物:5'-CAG GCA AAG GCC ATC GCA-GAA GAC AT-3',下游引物:5'-CAC TTC CCA ACC AAC-CAA AAT TCT AG-3'。

1.2.3 扩增条件 (1)MS 基因:取 PCR 扩增产物 8 μL,用 6 U Hae III 限制性内切酶于 37℃ 酶切 6 h。反应终止后,产物经

3%琼脂糖凝胶电泳,EB 染色,染色后以 DL 200 DNA 片段长度标准物为参考,在紫外灯下判断结果,并拍照。(2)MTRR 基因:取 PCR 扩增产物 10 μL,用 8 U Nde I 限制性内切酶于 37℃ 酶切 16 h。反应终止后,产物经 3%琼脂糖凝胶电泳,EB 染色,染色后以 DL200 DNA 片段长度标准物为参考,在紫外灯下判断结果,并拍照。

1.2.4 基因型分析 分析 MS 和 MTRR AA、AG 和 GG 3 种基因型。

1.3 统计学处理 计算出正常人群中 MS 及 MTRR 等位基因的频率,然后进行 Hardywein 遗传平衡定律检验。对不同种族间 MS 及 MTRR 基因各亚型频率和等位基因频率采用多样本未配对资料的 R×C 表进行 χ² 检验,以 P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MS 基因和 MTRR 基因及其频率 MS AA 基因型频率为 79.09%、AG 为 19.55%、GG 为 1.36%,A 基因频率为 88.86%、G 为 11.14%;MTRR 基因 AA、AG 和 GG 基因型对分别为 37.73%、53.18%、9.09%,A 基因频率为 64.32%、G 为 35.68%。基因电泳图见图 1。

2.2 MS 基因与其他地区人群的比较 桂西壮族人 MS 基因型以 AA 最多见(79.09%),AG 次之(19.55%)。桂西壮族人 MS 基因型分布与湖南、广东两地无明显差异,但与江苏省所报道的结果(AA 为 57.60%,AG 为 41.60%)比较差异有统计学意义(P<0.05);与白种人群中的分布差(下转第 978 页)

* 基金项目:广西教育厅课题(200810LX087)。 作者简介:陆小婵,女,副主任技师,主要从事血液及心血管疾病的研究。

体质量的同时,有必要定期做肝功能和 B 超影像学检查,尤其要监测总胆汁酸的变化,总胆汁酸可作为诊断脂肪肝的一个辅助指标。

近年来研究认为高尿酸血症是冠心病、脑卒中、高血压病等心脑血管疾病的又一危险因素^[6-7]。血尿酸促进冠状动脉病变产生和发展的机制是尿酸在血中升高后出现的尿酸盐结晶沉积于动脉管壁导致动脉内膜损伤而引起动脉硬化。本研究发现单纯肥胖组患儿血尿酸较对照组明显增高,且学龄期肥胖儿童血尿酸异常比例(29.3%)高于学龄前期(7.1%),表明肥胖儿童患冠脉疾病的风险大于正常对照组,且有随年龄及肥胖度增加风险逐渐加大的趋势。102 例对照组儿童中亦发现 7 例血尿酸异常,非肥胖儿童也应注意均衡饮食,预防高尿酸血症的发生。

随着生活方式、饮食习惯的改变,儿童 II 型糖尿病、糖耐量异常发生率逐年增加并与肥胖发病率呈平行上升趋势^[8]。本研究 100 例肥胖儿童中,空腹血糖仅 1 例达 6.4 mmol/L,虽暂未发现 II 型糖尿病病例,但因未检测餐后 2 h 血糖,不能排除有糖耐量异常的可能。空腹血糖及餐后 2 h 血糖检测应作为肥胖儿童体检时必检的指标。

综上所述,临床医师对肥胖儿童采取干预措施时,除控制饮食、加强体育锻炼外,还应定期监测肥胖儿童的肝功能、血尿酸、空腹血糖及餐后 2 h 血糖,有利于降低因肥胖导致的脂肪肝、冠脉疾病和 II 型糖尿病等代谢性疾病的发病率^[9-12]。

参考文献

[1] 冯一,王旭磊,费俊,等.肥胖儿童糖脂代谢与膳食摄入[J].临床儿科杂志,2010,28(9),818-822.

[2] Zou CC, Liang L, Hong F, et al. Glucose metabolism disorder in obese children assessed by continuous gluco monitoring system[J]. World J Pediatr, 2008, 4(1): 26-30.

[3] Iughetti L, Bacchini E, Dodi I, et al. Liver damage and obesity in pediatric age[J]. Pediatr Med Chir, 1996, 18(1): 57-59.

[4] Tazawa Y, Noguchi H, Nishinomiya F, et al. Serum alanine aminotransferase activity in obese children[J]. Acta Paediatr, 1997, 86(3): 238-241.

[5] 傅君芬, 梁黎, 王春林, 等. 肥胖儿童非酒精性脂肪肝发病状况及机制探讨[J]. 浙江大学学报: 医学版, 2006, 35(1), 65-68.

[6] Feig DI, Johnson RJ. Hyperuricemia in childhood primary hypertension[J]. Hypertension, 2003, 42(3): 247-252.

[7] Mazzali M, Hughes J, Kim YG, et al. Elevated uric acid increases blood pressure in the rat by a novel crystal-independent mechanism [J]. Hypertension, 2001, 38(5): 1101-1106.

[8] Kaufman FR. Type 2 diabetes mellitus in children and youth: a new epidemic[J]. J Pediatr Endocrinol Metab, 2002, 15(Suppl 2): S737-744.

[9] 赵金华, 徐明, 胡小蓉. 单纯性肥胖儿童代谢综合征状况分析[J]. 现代医药卫生, 2011, 27(5): 685-687.

[10] 樊晖. 单纯性肥胖儿童血糖测定结果分析[J]. 中国现代医药杂志, 2006, 8(11): 40.

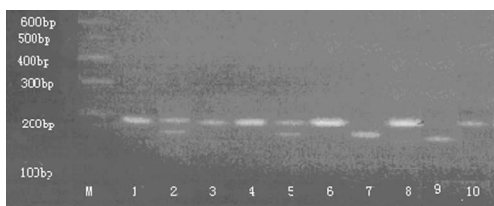
[11] 周光琼, 陈德春. 单纯性肥胖症儿童的社会能力、行为问题的调查分析[J]. 现代医药卫生, 2006, 22(16): 2580-2581.

[12] 丁建湘, 吴利华. 3~7 岁儿童单纯性肥胖调查分析[J]. 现代医药卫生, 2003, 19(1): 76-77.

(收稿日期: 2012-08-09)

(上接第 976 页)

异, $P < 0.05$ ^[5-8]。



M: DNA 分子量标准; 1、3、4、6、8、10 为 A/A 基因型(野生型); 2、5 为 A/G 基因型(突变杂合子); 泳道 7、9 为 G/G 基因型(突变纯合子)

图 1 MS A2756A 等位基因琼脂糖凝胶电泳图

3 讨论

人群中存在的不同 MS 基因型有可能导致不同个体中 MS 的转录表达水平存在着一定的差异。这一推测目前已被一些研究证实: 在对高同型半胱氨酸血症患者进行的 MS 基因多态性的研究中发现, 不同的 MS 基因型与不同个体中 MS 的表达显著相关^[9-11]。MTRR 存在 66A→G 的多态性, 导致蛋氨酸被异亮氨酸替代, 严重的 MTRR 缺陷还可引起高同型半胱氨酸血症使心血管系统病变及恶性肿瘤的发生^[11-12]。本研究结果显示: 桂西壮族人群中以 A/A 型居多, 而 A/G 型次之, G/G 型最少。与江苏省的结果比较, $P < 0.05$, 研究表明 MS 基因多态性的分布在不同地区间存在差异, 这对于今后在研究 MS 基因多态性与疾病间的相互关系奠定了基础。

参考文献

[1] 赵凯. 急性脑梗死患者血浆同型半胱氨酸和 D-二聚体水平变化的研究[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(9): 1007-1008.

[2] 陈月梅, 蒋洪敏, 张婷婷, 等. 急性脑梗死患者血清同型半胱氨酸和 β_2 微球蛋白检测的临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2012, 33

(12): 1489-1490.

[3] Zhang G, Dai C. Gene polymorphisms of homocysteine metabolism-related enzymes in Chinese patients with occlusive coronary artery or cerebral vascular diseases [J]. Thromb Res, 2001, 104(3): 187-195.

[4] Gaughan DJ, Kluijtmans LA, Barbaux S, et al. The methionine synthase reductase(MTRR) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations [J]. Atherosclerosis, 2001, 157(2): 451-456.

[5] 李耀明, 梁剑宁. 广东汉族人蛋氨酸合成酶基因多态性[J]. 中国优生与遗传杂志, 2004, 12(4): 38-39.

[6] Lincz LF, Scorgie FE, Kerridge I, et al. Methionine synthase genetic polymorphism MS A2756G alters susceptibility to follicular but not diffuse large B-cell non-Hodgkin's lymphoma or multiple myeloma [J]. Br J Haematol, 2003, 120(6): 1051-1054.

[7] 王素敏, 石晓燕, 刘晓梅, 等. 地域差异对蛋氨酸合成酶基因多态性分布的影响[J]. 中国优生与遗传杂志, 2006, 14(3): 26-27.

[8] Gaughan DJ, Kluijtmans LA, Barbaux S, et al. The methionine synthase reductase(MTRR) A66G polymorphism is a novel genetic determinant of plasma homocysteine concentrations [J]. Atherosclerosis, 2001, 157(2): 451-456.

[9] 岳红, 王迎, 张华屏, 等. 同型半胱氨酸及其代谢酶基因多态性与脑梗死的关系[J]. 山西医药杂志, 2010, 39(2): 108-111.

[10] 戴文伟, 李明昌, 许绍强, 等. 蛋氨酸合成酶基因多态性与颅内动脉瘤的关系[J]. 解剖学研究, 2011, 33(3): 166-168.

[11] 刘巍, 马玉彦, 吴宇殊, 等. 血清高半胱氨酸含量与恶性肿瘤的关系[J]. 肿瘤防治研究, 2006, 33(3): 191-193.

[12] 刘永生, 尹显贵, 王金凤, 等. 同型半胱氨酸代谢相关酶基因多态性与先天性心脏病的关系[J]. 中国心血管病研究杂志, 2007, 5(3): 210-213.

(收稿日期: 2012-12-18)