

CYP11B2 基因 -344C/T 位点多态性 在云南彝族人群中的分布

彭红瑜 范志祥 张延洁 舒 蕊 张馥麟 龙 莉

摘要 目的 研究云南省彝族人群 CYP11B2 基因 -344C/T 位点多态性的分布情况,分析其多态分布是否存在民族和种族特异性。**方法** 采集 286 例云南省晋宁县双河乡彝族居民外周血 DNA,采用 PCR-RFLP 技术特异扩增目的片段,限制性内切酶 Hae III 酶切后产生不同大小片段以鉴定基因型,计算基因型和等位基因频率,并与其他人群进行比较。**结果** 彝族人群中 CYP11B2 基因 -344C/T 位点基因型频率分别为 TT(59.79%),CT(33.92%)和 CC(6.29%),等位基因 T/C 频率为 76.75% 和 23.25%,与不同民族、国家人群比较,除汉族与韩国人群外,不同人群此位点多态分布比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** CYP11B2 基因 -344C/T 位点多态性分布存在民族和种族差异。

关键词 CYP11B2 基因 基因多态性 彝族

中图分类号 R181

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.05.029

CYP11B2 Gene -344C/T Polymorphism in Yunnan Yi Population. Peng Hongyu, Fan Zhixiang, Zhang Yanjie, et al. School of Basic Medicine, Kunming Medical University, Yunnan 650000, China

Abstract Objective To investigate the distribution of CYP11B2 gene -344C/T polymorphism in Yi population of Yunnan Province, explore the ethnic specificity. **Methods** Totally 286 cases of cross-blood DNA from Yi population in Shuanghe Township, Jinning County, Yunnan Province were collected, and PCR-RFLP was used to specifically expand the target fragments. The fragments of different length were generated after digestion with endonuclease Hae III. Genotypes and allele frequencies were calculated and compared with other populations. **Results** In Yi minority, CYP11B2 (-344C/T) genotype frequencies for the TT, CT and CC were 59.79%, 33.92%, 6.29%, and the allele frequencies of T/C were 76.75%, 23.25% respectively. Except Han population and Korean, significant differences in the distribution of CYP11B2 (-344C/T) genotypes and the allele frequencies were observed between the people in Yi population and other different minorities or countries ($P < 0.05$). **Conclusion** The CYP11B2 (-344C/T) polymorphism has national and racial differences.

Key words CYP11B2 gene; Gene polymorphism; Yi population

醛固酮合成酶(CYP11B2)基因位于8号染色体长臂2区4带(8q24.3),负责编码的醛固酮合成酶属于细胞色素P450超家族的一员,位于线粒体内膜,具有18-羟化酶、11 β -羟化酶和18-氧化酶活性^[1]。CYP11B2是合成醛固酮最后阶段的关键限速酶,而醛固酮是人体中最重要的盐皮质激素,是肾素-血管紧张素-醛固酮系统的重要组成部分^[2]。多项研究发现CYP11B2基因启动子区域的-344 C/T(rs1799998)多态性,2号内含子转换多态性,3号外显子K173R多态性等突变会影响CYP11B2基因功能,CYP11B2基因启动子区域-344C/T多态性会影响其与转录调节因子SF-1的结合,-344C与SF-

1的结合率比-344T高4倍^[3-5]。CYP11B2基因-344C/T位点的突变所引发的醛固酮合成水平失调会导致体内水钠滞留,与机体多种疾病例如女性子痫、原发性及继发性高血压、肥胖、肾病等密切相关,CYP11B2基因多态作为国内外心血管及肾脏疾病中的研究热门,在多个国家不同民族不同人种中均有数据^[6-11]。本研究探讨了CYP11B2基因-344C/T位点在云南省少数民族彝族人群中的多态分布以及与其他民族、国家人群对比的结果是否具有特异性,为研究CYP11B2基因相关疾病的发病机制奠定基础。

资料与方法

1. 研究对象:本研究样本均来自云南省昆明市晋宁县双河乡居民,所有入选者均为当地彝族,年龄为7~84岁,无异族通婚史,排除肝脏、肾脏、甲状腺功能异常,高血压和其他心血管疾病,最终入选286例,

作者单位:650000 昆明医科大学

通讯作者:龙莉,电子信箱:2001lli@sina.com

其中男性 88 例,女性 198 例。本研究经昆明医科大学医学伦理学委员会批准,本项研究入选者均已知情并同意。

2. 研究方法:取 EDTA 抗凝处理后的测试者外周血,采用酚-氯仿法提取基因组 DNA,置于 -20℃ 备用。以该 DNA 样品作为模板,采用 PCR-RFLP 技术特异性扩增目的基因片段,上游引物序列如下:5'-CAG GAG GAG ACC CCA TGT GAC-3',下游引物序列如下:5'-CCT CCA CCC TGT TCA GCC C-3'。使用 1.1x T3 Super PCR Mix (北京擎科生物科技 TSE030),按比例加入模板与引物配制成 20μl PCR 体系,设置 PCR 仪循环条件为:预变性 98℃ 2min;变性 98℃ 15s;退火 58℃ 15s;延伸 72℃ 30s,共进行 38 个循环;最后 72℃ 延伸 2min,4℃ 冰箱保存。PCR 产物使用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测条带,有目的条带的 PCR 样品继续使用限制性内切酶 Hae III (美国 Thermo Fisher Scientific 公司)酶切,37℃ 水浴 4h,酶切产物用 3% 的琼脂糖凝胶电泳分离条带, Bio-Rad 凝胶成像分析系统拍照并保存结果,使用 Image-Lab 软件分析基因型。

3. 统计学方法:分别计算 CYP11B2 基因 -344C/T 多态位点的基因型频率和等位基因频率,卡方检验检测哈迪·温伯格平衡及组间基因型、等位基因频率,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. CYP11B2 基因 -344C/T 位点多态性:PCR 特异性扩增目的产物后,产生了一条长度为 537bp 的目的片段(图 1),将扩增出目的片段的 PCR 产物继续酶切,由于 Hae III 的酶切位点为 GGCC,而位于 CYP11B2 基因启动子区域的 -344 位点(-GGCT)可发生胸腺嘧啶(T)与胞嘧啶(C)的互换,产生了能被切开的位点,经 Hae III 内切酶消化后,等位基因 T 会产生 273bp 的片段,等位基因 C 则被切开产生 202bp 和 71bp 两个片段,138bp 和 126bp 为共有片段,故 TT 基因型的酶切结果为 273bp、138bp 和 126bp 3 个片段,CT 型会产生 273bp、202bp、138bp、126bp 和 71bp 共 5 个片段,CC 型会产生 202bp、138bp、126bp 和 71bp 共 4 个片段,由于 71bp 片段过小很难被琼脂糖凝胶电泳检测到,故胶图中不展示 71bp 条带(图 2),由此可以清晰地鉴定出所有样本的基因型。对所有样品的基因型统计后进行哈迪·温伯格平衡检验($\chi^2 = 0.341, P > 0.05$)。

2. CYP11B2 基因 -344C/T 位点多态性在云南

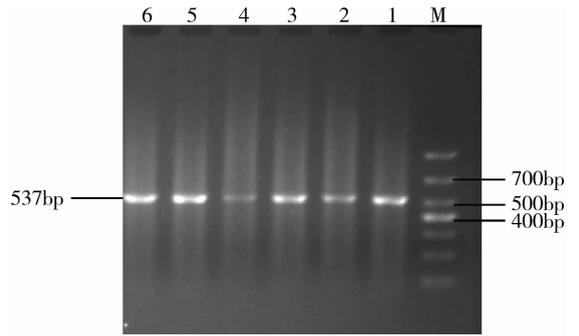


图 1 CYP11B2 基因 PCR 产物琼脂糖凝胶电泳图
M. DL1000bp DNA Marker,泳道 1-6. 不同样本的同一基因 PCR 产物,大小为 537bp

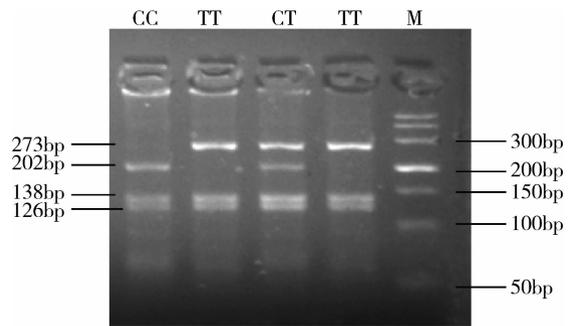


图 2 CYP11B2 基因 -344C/T 位点基因型多态性
M. DL 500bp DNA Marker;CC,TT,CT 为 Hae III 酶切后产生的对应基因型

省彝族人群中的分布:在云南省晋宁县双河乡 286 例健康彝族人群中,基因型为 TT 的人数为 171,基因型为 CT 的人数为 97,基因型为 CC 的人数为 18,各自的基因型频率对应 59.79%,33.92% 及 6.29%。通过计算可得 T 等位基因的频率为 76.75%,C 等位基因的频率为 23.25%(表 1),男性和女性等位基因 T/C 分布比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 云南省彝族人群中 CYP11B2 基因 -344C/T 位点基因型及等位基因频率[n(%)]

项目	n	基因型			等位基因	
		TT	CT	CC	T	C
男性	88	55(62.50)	26(29.55)	7(7.95)	136(77.27)	40(22.73)
女性	198	116(58.59)	71(35.86)	11(5.56)	303(76.52)	93(23.48)
总计	286	171(59.79)	97(33.92)	18(6.29)	439(76.75)	133(23.25)

3. CYP11B2 基因 -344C/T 位点多态性分布与其他人群的比较:云南省彝族人群中 CYP11B2 基因 -344C/T 位点的基因型分布与其在我国新疆维吾尔自治区哈萨克族、维吾尔族人群中的分布略有差异,与福建省、黑龙江省汉族人群比较差异无统计学意

义。其中基因型 TT 在彝族人群中的分布(59.79%)显著高于哈萨克族(10.75%)与维吾尔族(40.08%) ($P < 0.05$),彝族人群中 CT 基因型(33.92%)则低于哈萨克族人群(51.47%) ($P < 0.05$),与维吾尔族

人群比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。等位基因 T 在彝族人群中的分布(77.27%)明显高于哈萨克族(36.48%)和维吾尔族人群(61.71%),等位基因 C 的频率分布则较低($P < 0.05$),详见表 2。

表 2 CYP11B2 基因 -344C/T 位点多态性在云南省彝族与其他人群中的分布 [n(%)]

项目	n	基因型			等位基因	
		TT	CT	CC	T	C
彝族	286	171(59.79)	97(33.92)	18(6.29)	439(76.75)	133(23.25)
福建省汉族	888	459(51.70)	356(40.1)	73(8.2)	1274(71.73)	502(28.27)
黑龙江省汉族	310	218(70.2)	82(26.4)	10(3.4)	518(83.5)	102(16.5)
新疆维吾尔自治区哈萨克族	307	33(10.75)**	158(51.47)*	116(37.79)**	224(36.48)**	390(63.52)**
新疆维吾尔自治区维吾尔族	252	101(40.08)**	109(43.25)	42(16.67)*	311(61.71)*	193(38.29)*
韩国人	134	59(44.03)*	64(47.76)*	11(8.21)	182(67.91)	86(32.09)
土耳其人	240	46(19.17)**	138(57.50)**	56(23.33)**	230(47.92)**	250(52.08)**
法国白人	459	143(31.15)**	236(51.42)*	80(17.43)*	522(56.86)*	396(43.14)*
意大利白人	1386	471(33.98)**	706(50.94)*	209(15.08)*	1648(59.45)*	1124(40.55)*
德国白人	163	37(22.7)**	71(43.56)	55(33.74)**	145(44.48)**	181(55.52)**
印度白人	394	112(28.43)**	195(49.49)*	87(22.08)*	419(53.17)**	369(46.83)**
非洲突尼斯黑人	444	51(11.49)**	181(40.77)	212(47.75)**	283(31.87)**	605(68.13)**

与彝族比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

通过比较彝族与不同国家、不同种族的人群得出以下差异,例如彝族人群中 CYP11B2 基因 -344C/T 位点 TT 基因型(59.79%)显著高于韩国人(44.03%)、土耳其人(19.17%)、法国白人(31.15%)、意大利白人(33.98%)、德国白人(22.7%)、印度白人(28.43%)与非洲突尼斯黑人(11.49%) ($P < 0.05$)。而彝族人群中基因型 CT 频率(33.92%)则较韩国人(47.76%)、土耳其人(57.5%)、法国白人(51.42%)、意大利白人(50.94%)及印度白人(49.49%)较低($P < 0.05$),与德国白人(43.56%)及非洲突尼斯黑人(40.77%)比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。基因型 CC 频率在彝族与韩国人群中较低,且两者比较差异无统计学意义($P > 0.05$),彝族人群中基因型 CC 的频率(6.29%)显著低于土耳其人(23.33%)、法国白人(17.43%)、意大利白人(15.08%)、德国白人(33.74%)、印度白人(22.08%)及非洲突尼斯黑人(47.75%) ($P < 0.05$)。比较等位基因 T/C 的分布频率可知,在彝族人群和韩国人群中等位基因 T/C 的分布频率较为接近($P > 0.05$),在土耳其人、法国白人、意大利白人、德国白人、印度白人及非洲突尼斯黑人中,等位基因 T 的频率较低,等位基因 C 的频率较高($P < 0.01$),详见表 2。

讨 论

醛固酮主要作用于肾脏,是人体调节血容量的重

要激素,通过调节肾脏对 Na^+ 的重吸收,维持水盐平衡。当细胞外液容量下降时,刺激肾小球旁细胞分泌肾素,激活肾素-血管紧张素-醛固酮系统,醛固酮分泌增加,使肾脏重吸收 Na^+ 增加,进而引起水重吸收增加。近年来,作为醛固酮合成系统的关键基因,CYP11B2 基因成为心血管疾病和肾功能异常的研究热点。在土耳其居民中的一项研究发现,CYP11B2 基因的多态性可能与当地居民的慢性肾病有关,在以韩国年轻人为调查对象的研究中也发现了 CYP11B2 基因与末期肾病的相关性^[11,12]。另外,CYP11B2 基因与疾病的相关性表现出民族和种族差异。周春龙等^[6]研究发现 CYP11B2 基因与深圳地区汉族原发性高血压相关,而赵平等^[13]研究发现 CYP11B2 基因与我国锡林郭勒市蒙古族的原发性高血压不相关。CYP11B2 基因 -344C/T 位点多态性与东亚和南亚人群中脑卒中易感性表现出相关,但在高加索白人中差异无统计学意义,而在有关 IgA 肾病的研究中发现,CYP11B2 基因 -344C/T 位点多态性的分布在中国黄种人中差异无统计学意义,却影响高加索白人的患病风险^[14-16]。

关于彝族人群中醛固酮相关疾病方面研究较少,徐洪吕等^[17]研究证实彝族健康成年人人群中超重和肥胖率在我国处于中等水平,存在一定的健康隐患。同处云南省的南涧、漾濞和建水 3 个行政县内的彝族人群高血压发生率不同,建水县最高,属于高血压高

发人群,本研究涉及到的晋宁县彝族人群则无相关研究数据^[18]。

众所周知,疾病的发生可能受到遗传与环境因素的双重作用,大多数疾病是多种基因共同参与调控的结果,所以在不同的遗传背景下,同一疾病的易感基因可能会根据社会背景、民族及种族差异而发生改变,这些多样化的结果可以更好地帮助了解基因突变所产生的多态性对机体或好或坏的影响,以便提前采取应对措施。已有研究证实彝族的一些基因多态分布具有民族特异性,例如 CR1 基因的 Exon22 (rs2274567), Intron27 (rs11118133) 和 Exon33 (rs3811381) 位点, t-PA 基因 Alu 重复序列 I/D 等^[19-21]。

本研究 CYP11B2 基因 -344C/T 位点的多态性在云南省彝族人群中的分布以及与国内外不同民族、人种的比较发现,在彝族人群中 TT 基因型的分布频率较高,等位基因 T 频率也显著较高,而 CT 及 CC 基因型频率较低,对应的等位基因 C 的分布频率也较低。与同属中国少数民族的新疆维吾尔自治区哈萨克族与维吾尔族比较,彝族 CYP11B2 基因 -344C/T 多态位点的基因型频率和等位基因频率差异有统计学意义,揭示了该位点多态性分布的民族差异。在与土耳其、法国、意大利、德国、印度、非洲突尼斯等不同国家的白人或黑人群比较发现,彝族 CYP11B2 基因 -344C/T 多态位点的基因型频率和等位基因频率比较,差异有统计学意义,说明不同人种之间该位点多态性分布也不相同^[5,10-12,22,23]。该发现从分子流行病学角度验证了 CYP11B2 基因 -344C/T 位点多态性在彝族人群中的民族特异性,为云南地区彝族人群心血管、肾脏疾病等 CYP11B2 基因相关疾病的研究提供了数据,今后还将在不同疾病中继续探索 CYP11B2 基因不同突变位点的多态性与各人群之间的关系,为相关地区疾病防治提供新的思路。

参考文献

- 张沂,常培叶,刘志跃. CYP11B2 基因多态性与原发性高血压关联性的研究进展[J]. 中国现代医生, 2016, 54(19): 165-168
- 王滨,姜春玉,闫晓昆,等. ACE I/D 和 CYP11B2 -344 C/T 基因多态性与齐齐哈尔汉族人群原发性高血压的关系[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2014, 35(18): 2653-2656
- Yu H, Lin S, Zhang Y, et al. Intron-2 conversion polymorphism of the aldosterone synthase gene and the antihypertensive response to angiotensin-converting enzyme inhibitors [J]. J Hypertension, 2008, 26(2): 251-256
- Tang W, Wu H, Zhou X, et al. Association of the C-344T polymorphism of CYP11B2 gene with essential hypertension in Hani and Yi minorities of China [J]. Clin Chim Acta Int J Clin Chem, 2006, 364(1-2): 222-225
- Chen JF, Jing J, Tan H, et al. Lack of association of CYP11B2 -

- 344C/T polymorphism with essential hypertension: a Meta-analysis [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(6): 9162-9167
- 周春龙,刘爱胜,方霞,等. CYP11B2 基因启动子区域-344T/C 位点多态性与深圳地区原发性高血压人群之间的相关性研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(1): 1-3
- Azimi Nezhad M, Teymoori A, Ebrahimzadeh-Vesal R. Association of CYP11B2 gene polymorphism with preeclampsia in north east of Iran (Khorasan province) [J]. Gene, 2020, 733: 144358
- Gomez-Sanchez CE, Kuppusamy M, Reincke M, et al. Disordered CYP11B2 expression in primary aldosteronism [J]. Horm Metab Res, 2017, 49(12): 957-962
- Abdel Ghafar MT. Association of aldosterone synthase CYP11B2 (-344C/T) gene polymorphism with essential hypertension and left ventricular hypertrophy in the Egyptian population [J]. Clin Exp Hypertens, 2019, 41(8): 779-786
- Casiglia E, Tikhonoff V, Schiavon L, et al. Skinfold thickness and blood pressure across C-344T polymorphism of CYP11B2 gene [J]. J of Hyperten, 2007, 25(9): 1828-1833
- Lee JE, Bae SY, Kim JY, et al. Aldosterone synthase gene (CYP11B2) polymorphism in Korean end-stage renal disease patients on hemodialysis [J]. Electrolyte Blood Press, 2009, 7(2): 67-72
- Meral Y, Ismail S, Binnur B, et al. Aldosterone synthase CYP11B2 gene promoter polymorphism in a Turkish population with chronic kidney disease [J]. Iranian J Kidney Dis, 2015, 9(3): 209-214
- 赵平,赵淑萍,张沂,等. CYP11B2 基因多态性与汉族、蒙古族原发性高血压的关系[J]. 心血管康复医学杂志, 2020, 29(4): 401-405
- Yu Y. The CYP11B2 -344C/T variant is associated with ischemic stroke risk: an updated Meta-analysis [J]. J Renin-angiotensin-aldosterone System JRAAS, 2015, 16(2): 382-388
- Huang HD, Lin FJ, Li XJ, et al. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin-aldosterone system in Chinese patients with end-stage renal disease secondary to IgA nephropathy [J]. Chin Med J (Engl), 2010, 123(22): 3238-3242
- Bantis C, Heering PJ, Siekierka-Harreis M, et al. Impact of aldosterone synthase gene C-344T polymorphism on IgA nephropathy [J]. Ren Fail, 2011, 33(4): 393-397
- 徐洪吕,陆林,彭霞,等. 云南彝族健康成年人超重和肥胖现状及影响因素分析[J]. 社区医学杂志, 2014, 12(7): 71-73
- 杨智丽,郭跃,高路,等. 中国云南彝族人群高血压患病调查[J]. 中华流行病学杂志, 2004, 25(9): 817
- 吴依霖,黄伟,林克勤,等. 云南彝族中人群补体受体 I 型基因遗传多态性研究[J]. 中国优生与遗传杂志, 2016, 24(9): 4-7
- 朱柯颖,蒋涛,盘婕,等. CYP4A11 基因 rs9333025 A/G 多态性在云南彝族人群中的分布[J]. 昆明医科大学学报, 2019, 40(4): 52-56
- 王乐,范志祥,陈志彬,等. t-PA 基因 Alu 重复序列 I/D 多态性在云南彝族人群中的分布[J]. 昆明医科大学学报, 2020, 41(2): 7-11
- Brand E, Schorr U, Ringel J, et al. Aldosterone synthase gene (CYP11B2) C-344T polymorphism in Caucasians from the Berlin Salt-Sensitivity Trial (BeSST) [J]. J Hyperten, 1999, 17(11): 1563-1567
- Pi Y, Zhang LL, Chang K, et al. Lack of an association between CYP11B2 C-344T gene polymorphism and ischemic stroke: a Meta-analysis of 7, 710 subjects [J]. PLoS One, 2017, 8(8): e68842

(收稿日期: 2020-11-18)

(修回日期: 2020-12-26)