

少数民族中小學生 B 族維生素关联基因多态性地域分布特征

张春红, 霍军生, 孙静, 黄建, 朴玮, 王鸥

中国疾病预防控制中心营养与健康所, 北京 100050

【摘要】 目的 研究中国少数民族在校学生 B 族维生素缺乏风险的关联基因多态性(SNP)位点地域特征, 为基因多态与在校学生人群营养素缺乏风险关系研究提供基础资料。**方法** 搜集以往研究中报道的 25 个 SNP 位点, 采用 2016 年广西、内蒙和新疆地区 384 名贫困农村学生的凝固血细胞, 用磁珠法提取 DNA, Sequenom MassArray 飞行质谱检测系统进行基因分型检测, 采用 SPSS 16.0 软件对数据结果进行分析。**结果** 11 个 SNP 位点分型结果在地域分布上差异存在统计学意义(P 值均 <0.05)。19 号染色体上 rs492602 和 rs602662 进行连锁分析结果显示, 3 个地区均出现强连锁不平衡, r^2 值均为 1。21 号染色体上 rs234706 和 rs234713 进行连锁分析的结果显示, 3 个地区均显示出强连锁不平衡, 广西地区 r^2 值为 0.81。**结论** 3 个少数民族在校学生的 B 族维生素营养状况关联基因多态性存在区域差异。

【关键词】 维生素 B12; 维生素 B6; 基因; 血液化学分析; 学生

【中图分类号】 R 151 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1000-9817(2018)10-1463-03

Regional feature in vitamin B12 related gene polymorphisms among minority students in primary and middle schools/
ZHANG Chunhong, HUO Junsheng, SUN Jing, HUANG Jian, PIAO Wei, WANG Ou. Key Laboratory of Trace Element Nutrition of National Health and Family Planning Commission of the People's Republic of China, National Institute for Nutrition and Health, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing(100050), China

【Abstract】 Objective To analyze the regional feature vitamin B12-related gene polymorphisms in minority students, and to provide basic data for the relevant study. **Methods** This study collected 25 SNPs of the previous reports and the blood cell samples of 384 minority adolescents in the poor rural areas from Guangxi, Inner Mongolia and Xinjiang in 2016, DNA was extracted with immunomagnetic beads, Sequenom MassArray genotyping assay, and data results were analyzed by SPSS 16.0. **Results** The results showed that 11 SNPs were of statistically significant differences in the geographical distribution. The r^2 were 1 between rs492602 and rs602662 on chromosome 19 for Uygur, Mongolian and Zhuang. The r^2 between rs234706 and rs234713 on chromosome 21 was found imbalanced in the three areas. The r^2 was 0.81 for students in Guangxi. **Conclusion** The study showed regional differences in vitamin B12 gene polymorphisms among minority adolescents.

【Key words】 Vitamin B12; Vitamin B6; Genes; Blood chemical analysis; Students

叶酸作为辅助因子与各种酶共同参与许多细胞间的反应, 蛋氨酸合酶依赖维生素 B12 激发活性, B6 在同型半胱氨酸转化为胱硫醚时作为辅酶发挥作用。人体对于叶酸、维生素 B6 和 B12 的吸收利用程度受到环境和遗传等多种因素的影响, 1995 年 Frosst 等^[1]提出 MTHFR 基因第 677 位碱基对的突变导致丙氨酸替代缬氨酸, 从而引起 MTHFR 酶热稳定性和活性降低, 从而降低了对体内叶酸的利用程度。叶酸、维生素 B6 和 B12 代谢能力关联的基因多态性(SNP)研究

随后不断增加, 在校学生由于生长发育迅速, 可造成叶酸、维生素 B6 和 B12 缺乏而产生巨细胞性贫血, 引起生长发育滞后和神经系统障碍^[2]。本研究基于以往文献中报道的一碳单位代谢通路中与叶酸、维生素 B6 和 B12 代谢能力关联的 25 个 SNP 位点, 随机采集了 2016 年广西、内蒙和新疆地区 6~16 岁 384 名少数民族在校学生静脉血进行研究, 结果报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象 在 2016 年“农村义务教育学生营养改善计划”营养监测项目中选择广西上林县、内蒙扎旗县和新疆喀什地区泽普县, 每个县抽取 1~2 所学校, 每所学校选择一~九年级学生, 每个年级抽取 40 人左右, 男、女生基本各半, 由经过培训的专业人员用采血管取空腹静脉血 5 mL, 采血后将采血管轻轻颠倒混

【基金项目】 HarvestPlus Program 项目(2014H8332.FFO)。

【作者简介】 张春红(1984-), 女, 山东德州人, 在读博士, 主要研究方向为营养与食品卫生学。

【通讯作者】 霍军生, E-mail: jshuo@263.net.cn。

DOI: 10.16835/j.cnki.1000-9817.2018.10.007

匀,放置 30 min 后离心分离血清,收集去掉血清后的凝固血细胞。共纳入研究 384 名少数民族学生,其中广西 213 名壮族学生,内蒙 78 名蒙古族学生,新疆 93 名维吾尔族学生;男生 197 名,女生 187 名。所有学生及家长均已详细阅读和签署了课题知情同意书。调查通过中国疾病预防控制中心营养与健康所伦理学审查(2016019)

1.2 方法 将样本凝固血细胞用磁珠法全基因组 DNA 提取试剂盒进行 DNA 提取,提取的 DNA 产物使用紫外光密度检测仪检测 A 值,DNA 提取物 A260/A280 比值在 1.6~2.0 之间为合格。合格样本分别经过目标片段扩增实验和单碱基延伸实验处理后,使用 Sequenom MassArray 飞行质谱检测系统进行分型检测,响应率大于 85%为分型合格样本。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 16.0 软件对数据结果进

行分析,应用 HaploView 4.2 软件进行 Hardy-Weinberg 平衡检验,连锁不平衡和单倍型分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 平衡检验 来自广西,内蒙和新疆的血样样本 25 个 SNP 位点基因分型检验结果均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡($P>0.05$),说明 3 个地区人群样本均代表不同的群体。

2.2 少数民族学生 B 族维生素关联 SNP 位点基因型频率 结果显示,rs10904850,rs11790991,rs162036,rs1801131,rs1805087,rs2118981,rs234706,rs234713,rs3733890,rs492602 和 rs602662 共 11 个 SNP 在 3 个地区的基因型频率分布结果有统计学意义(P 值均 <0.05)。见表 1。

表 1 少数民族在校学生 B 族维生素关联 SNP 位点基因型频率分析

rs 编号	基因	染色体	位置	χ^2 值	P 值	野生型/杂合型/突变型
1801131 ^[3]	MTHFR	1	11794419	13.69	0.03	TT/GT/GG
1805087 ^[4]	MTR	1	236885200	28.00	<0.01	AA/AG/GG
2274976 ^[5]	MTHFR	1	11790870	4.24	0.64	CC/CT/TT
1801133 ^[6]	MTHFR	1	11796321	6.35	0.39	GG/AG/AA
4654748 ^[7]	NBPF3	1	21459575	8.60	0.20	CC/CT/TT
153734 ^[7]	PRICKLE2-AS1	3	64092333	8.91	0.18	TT/CT/CC
2118981 ^[8]	RBP2	3	139460011	93.99	<0.01	CC/CT/TT
11790991 ^[8]	SPTLC1	9	92111042	22.97	0.00	AA/AG/GG
5882 ^[8]	CETP	16	56982180	12.90	0.05	AA/AG/GG
162036 ^[9]	MTRR	5	7885846	24.63	<0.01	AA/AG/GG
10380 ^[9]	MTRR	5	7897078	6.79	0.34	CC/CT/TT
1801394 ^[10]	MTRR	5	7870860	2.50	0.87	AA/AG/GG
3733890 ^[11]	BHMT	5	79126136	15.43	0.02	GG/GA/AA
202676 ^[12]	FOLH1	11	49206068	5.09	0.53	AA/AG/GG
1001761 ^[13]	TYMS	18	662103	5.71	0.46	AA/AG/GG
2847149 ^[13]	TYMS	18	666371	8.09	0.23	AA/AG/GG
502396 ^[13]	TYMS	18	659236	5.06	0.54	CC/CT/TT
492602 ^[14]	FUT2	19	48703160	—	0.00	AA/AG/GG
602662 ^[15]	FUT2	19	48703728	—	0.00	GG/AG/AA
1051266 ^[16]	SLC19A1	21	45537880	8.49	0.20	TT/CT/CC
2851391 ^[17]	CBS	21	43067294	9.32	0.16	CC/CT/TT
234713 ^[18]	CBS	21	43067781	26.75	<0.01	GG/GA/AA
234706 ^[19]	CBS	21	43065240	32.35	<0.01	GG/AG/AA
2236225 ^[20]	MTHFD1	14	64442127	6.55	0.37	GG/AG/AA
2236224 ^[21]	MTHFD1	14	64442433	5.57	0.47	GG/AG/AA

2.3 连锁情况和单倍型分析 对位于 1 号染色体上的 rs1801131 和 rs1805087,位于 5 号染色体上的 rs162036 和 rs3733890 均分别进行连锁情况分析,结果显示,1 号和 5 号染色体上的各 2 个位点间均无连锁不平衡情况。

对位于 19 号染色体上 rs492602 和 rs602662 进行连锁分析的结果显示,3 个地区均出现强连锁不平衡, r^2 值均为 1,可以用其中 1 个位点代替另 1 个位点。单倍型分析结果显示,广西和内蒙地区结果极为相近,新疆地区表现出明显的不同结果。

对位于 21 号染色体上 rs234706 和 rs234713 进行连锁分析的结果显示,3 个地区均出现强连锁不平衡,广西地区 r^2 值为 0.82,可以用其中 1 个位点代替另 1 个位点。单倍型分析结果显示,内蒙和新疆的结果较为相近,广西与这 2 个地区的结果差异较大。

3 讨论

大量研究表明,在一碳单位代谢通路中叶酸、维生素 B6 和 B12 摄入不足或代谢发生障碍时易引起体内同型半胱氨酸浓度升高,从而增加心肌梗死、心脑血管

血管病变、冠心病和动脉粥样硬化的危险性^[22]。美国低收入人群中,有 10% 的成年人和 60% 的在校学生及老年人叶酸摄入不足。各地对在校学生营养水平调查的流行病学资料显示,随着近年来学生饮食结构和生活方式的改变,作为水溶性 B 族维生素主要来源的蔬菜和水果等的消费量下降,某种程度上增加了该类营养素的缺乏风险。分子生物学与遗传学研究发现,个体对营养素的吸收利用程度不仅与膳食摄入量有关,更与不同等位基因导致的表达改变有关。

目前,在中国疾病预防控制中心妇幼保健分子遗传医学研究专项计划支持下,有 64 篇中文文献分别研究了来自我国不同地区的育龄女性 MTHFR C677T, A1298C 和 MTRR A666G 的基因多态性分布数据,结果显示,以上 3 个多态性位点的分布呈现出区域化差异。本研究通过对广西、内蒙和新疆地区少数民族在校学生叶酸、维生素 B6 和 B12 关联基因多态性的地域分布特征进行比较发现,基因多态性位点在不同的个体中存在明显差异。对在校学生人群叶酸、维生素 B6 和 B12 关联基因多态性的研究有助于进一步弄清人群中突变等位基因频率,对基因多态与在校学生人群营养素缺乏风险的关系提供有意义的数据积累。

4 参考文献

- [1] FROSST P, BLOM H J, MILOS R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase [J]. *Nat Genet*, 1995, 10(1): 111-3.
- [2] REYNOLDS E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system [J]. *Lancet Neurol*, 2006, 5(11): 949-960.
- [3] YUAN L, SONG Z, DENG X, et al. Association of the MTHFR rs1801131 and rs1801133 variants in sporadic Parkinson's disease patients [J]. *Neurosci Lett*, 2016, 616: 26-31.
- [4] ZENG X T, LU J T, TANG X J, et al. Association of methionine synthase rs1801394 and methionine synthase reductase rs1805087 polymorphisms with meningioma in adults: a meta-analysis [J]. *Biomed Rep*, 2014, 2(3): 432-436.
- [5] ZHENG S, WEI Y, WU C, et al. Association of ulcerative colitis with transcobalamin II gene polymorphisms and serum homocysteine, vitamin B12, and folate levels in Chinese patients [J]. *Immunogenetics*, 2017, 69(7): 1-8.
- [6] 石鸥燕, 吴波, 张瑞苹, 等. 叶酸代谢关键酶基因多态性与儿童神经管缺陷的相关性 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2016, 31(10): 779-782.
- [7] TANAKS T, SCHEET P B, BANDINELLI S, et al. Genome-wide association study of Vitamin B6, Vitamin B12, folate, and homocysteine blood concentrations [J]. *Am J Hum Gen*, 2009, 84(4): 477-482.
- [8] CLIFFORD A J, CHEN K, MCWADE L, et al. Gender and single nucleotide polymorphisms in MTHFR, BHMT, SPTLC1, CRBP2, CETP, and SCARB1 are significant predictors of plasma homocysteine normalized by RBC folate in healthy adults [J]. *J Nutr*, 2012, 142(9): 1764-1771.
- [9] 吴越. MTRR 基因多态性与口服叶酸治疗 HHcy 疗效的关系 [D]. 郑州: 郑州大学, 2015.
- [10] HAERIAN M S, HAERIAN B S, MOLANAEI S, et al. MTRR rs1801394 and its interaction with MTHFR rs1801133 in colorectal cancer: a case-control study and meta-analysis [J]. *Pharmacogenomics*, 2017, 18(11): 1075-1084.
- [11] 刘坚, 戚静, 祝婕, 等. 华中地区神经管缺陷家庭叶酸代谢相关基因的单核苷酸多态性研究 [J]. *中华围产医学杂志*, 2010, 13(5): 384-389.
- [12] ROFFMAN J L, LAMBERTI J S, ACHTYES E, et al. Randomized multicenter investigation of folate plus vitamin B12 supplementation in schizophrenia [J]. *JAMA Psychiatry*, 2013, 70(5): 481-489.
- [13] ETHEREDGE A J, FINNELL R H, CARMICHAEL S L, et al. Maternal and infant gene-folate interactions and the risk of neural tube defects [J]. *Am J Med Gen A*, 2012, 158(10): 2439-2446.
- [14] HAZRA A, KRAFT P, LAZARUS R, et al. Genome-wide significant predictors of metabolites in the one-carbon metabolism pathway [J]. *Hum Mol Gen*, 2009, 18(23): 4677-4687.
- [15] TANWAR V S, CHAND M P, KUMAR J, et al. Common variant in FUT2 gene is associated with levels of vitamin B(12) in Indian population [J]. *Gene*, 2013, 515(1): 224-228.
- [16] ÅSEFREDRIKSEN, MEYER K, UELAND P M, et al. Large-scale population-based metabolic phenotyping of thirteen genetic polymorphisms related to one-carbon metabolism [J]. *Hum Mutat*, 2007, 28(9): 856-65.
- [17] MARINI N J, YANG W, ASRANI K, et al. Sequence variation in folate pathway genes and risks of human cleft lip with or without cleft palate [J]. *Am J Med Gen A*, 2016, 170(11): 2777-2787.
- [18] SHAW G M, WEI L, ZHU H, et al. 118 SNPs of folate-related genes and risks of spina bifida and conotruncal heart defects [J]. *BMC Med Gen*, 2009, 10(1): 1-11.
- [19] MOORE L E, HUNG R, KARAMI S, et al. Folate metabolism genes, vegetable intake and renal cancer risk in central Europe [J]. *Int J Canc*, 2008, 122(8): 1710-1715.
- [20] PRASOONA K R, SUNITHA T, SRINADH B, et al. Paternal transmission of MTHFD1 G1958A variant predisposes to neural tube defects in the offspring [J]. *Dev Med Child Neurol*, 2015, 58(6): 625-631.
- [21] WU J, BAO Y, LU X, et al. Polymorphisms in MTHFD1 gene and susceptibility to neural tube defects: a case-control study in a Chinese Han population with relatively low folate levels [J]. *Med Sci Monitor*, 2015, 21: 2630-2637.
- [22] 吴雪, 叶朴聪, 张爽, 等. 在校学生家族性高胆固醇血症患者血浆同型半胱氨酸和高敏 C 反应蛋白水平的临床价值及与血脂相关性研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(16): 3013, 3048-3051.

收稿日期: 2018-05-20; 修回日期: 2018-09-11