

RAB7L1 基因多态性与济宁地区汉族人群 PD 发病风险的关系

田文静,杨燕,吕占云,孙祖真

摘要 目的:探讨RAB7L1基因多态性与济宁地区汉族人群帕金森病(PD)发病的关系。方法:选取2015年10月至2016年4月在我院就诊的PD患者200例(观察组),同时选取健康体检者200例作为对照组。对2组受试者进行RAB7L1基因rs1775143和rs823144位点的多态分析。结果:rs1775143位点显示3种基因型(TT型、CT型和CC型),rs823144位点显示3种基因型(AA型、AC型和CC型);观察组和对照组rs1775143基因型和等位基因频率比较差异有统计学意义($P<0.05$);观察组和对照组rs823144基因型和等位基因频率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:RAB7L1基因rs1775143位点的多态性可能与济宁地区汉族人群PD的发生有一定关系,而rs823144位点可能与PD的发生无关。

关键词 帕金森病;RAB7L1基因;多态性;rs1775143位点;rs823144位点

中图分类号 R741;R742.5 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.2018.07.014

作者单位

济宁医学院附属医院
神经内科

山东 济宁 272000

基金项目

济宁市科技发展计划项目

[济科字(2015)57号-28]

收稿日期

2016-10-26

通讯作者

田文静

yangrl72@126.com

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是临床上较为常见的神经系统疾病,相关研究显示PD近年来发病率呈现出一定上升趋势^[1,2]。临床上PD的长期发生发展可以导致患者致残率和病死率的上升,临床预后不佳^[3]。基因多态性可以通过影响到基因转录或者蛋白翻译水平的相关变化,进而影响相关靶物质的表达。RAB7L1基因多态性可以通过影响到多巴胺类神经递质的合成和释放,进而影响到局部脑神经元组织中的多巴胺的含量,进而导致PD的发生发展^[4,5]。RAB基因多态性研究可以为本地区PD的公共卫生领域的预防或者决策提供参考。本研究选取PD患者200例,探讨其RAB7L1基因rs1775143和rs823144位点的基因型分布,进而为揭示基因多态性对于PD发生的影响提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2015年10月至2016年4月在我院就诊的PD患者200例作为观察组,其中男87例,女113例;年龄41~67岁,平均(51.01±8.32)岁。纳入标准:①济宁地区汉族人群;②诊断符合英国帕金森协会脑库标准^[6];③患者及家属知情同意并且签署同意书。排除标准:①继发性PD综合征;②合并恶性肿瘤等严重疾病。同时选取健康体检者200例作为对照组,无PD家族史、自身免疫性疾病、肿瘤、感染及其他神经系统疾病,其中男90例,女110例;年龄40~70岁,平均(50.92±9.42)岁。2组性别、年龄比较差异无统计学意义($\chi^2=0.091$, $t=0.101$, 均 $P>0.05$)。

1.2 基因多态性检测

取冻存血清保存液体,10 000 r/min离心分离,每1 mL TRIZOL试剂裂解样品中加入0.2 mL氯仿,进行裂解操作,4℃冰上采用无酶RNA冲洗液洗涤,

再次10 000 r/min离心5 min,得到RNA。混合液先70℃干浴3 min,取出后立即冰水浴至管内外温度一致,然后加逆转录酶MMLV 0.5 μ L, 37℃水浴60 min,室温放置5 min使其完全溶解,使其逆转录为cDNA。以 β -actin为模版,在反应体系中加入SYBR Green 1染料、上游引物、下游引物、dNTP,使总体积达20 μ L,上机,反应条件为:93℃ 2 min、93℃ 1 min、55℃ 2 min,共40个循环。PCR扩增产物进行rs1775143和rs823144基因多态性检测:参考multiplexkit试剂盒(南京凯基生物科技有限公司)使用说明,加入各位点对应延伸引物进行单碱基测序反应,并且在ABI1310(Life Technologies,美国)进行电泳,结果用GENEMAPPER软件(Life Technologies,美国)进行分析。

1.3 统计学处理

采用SPSS19.0分析数据,采用Hardy-Weinberg平衡检验样本群体代表性。计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较使用t检验,计数资料以率表示,组间比较使用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基因型检测

RAB7L1基因rs1775143位点的PCR扩增片段经酶切后显示3种基因型(TT型、CT型和CC型),rs823144位点显示3种基因型(AA型、AC型和CC型),见图1。

2.2 Hardy-Weinberg 平衡检验

观察组和对照组RAB7L1基因rs1775143和rs823144位点基因型分布符合Hardy-Weinberg平衡,具有群体代表性,见表1,2。

2.3 2组受试者rs1775143和rs823144等位基因及基因型分布比较

2组 rs1775143 基因型和等位基因频率比较差异有统计学意义($P<0.05$),见表3。2组 rs823144 基因型和等位基因频率比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表4。

3 讨论

自身免疫性因素、遗传易感基因或者中枢神经系统慢性疾病病史等,均可以导致PD的发生发展,特别是在年龄大于55岁的老龄人群中,PD的发病率更高,可较普通对照人群上升3~4倍^[7]。近年来基础研究显示,基因水平的改变可以通过影响转录或者蛋白翻译等环节,进而影响相关基因的表达。基因多态性是靶基因的部分位点发生的基因突变,进而导致基因或者基因型的改变,影响到中枢神经系统递质的合成和释放^[8,9]。

RAB7L1 基因是编码多巴胺末端修饰蛋白的重要基因,其

rs1775143 和 rs823144 位点的多态性变化可以导致乙酰胆碱能神经元的相对亢进,患者可表现为震颤麻痹、手足徐动等症状^[10,11]。另外,生物化学研究也显示,RAB7L1 基因相关位点的多态性问题,可以显著影响神经元对于多巴胺的再摄取^[12,13]。本研究发现,rs1775143 位点的PCR扩增片段经酶切后显示3种基因型(TT型、CT型和CC型),缺少G基因及A基因表位,提示rs1775143 位点的基因突变主要向C或者T型等位基因转变,而rs823144 位点主要向A或者C型等位基因转变。RAB7L1 基因相关多态性位点的等位基因在向对应的基因转换或者突变的过程中,白小燕等^[14]和Roses等^[15]研究通过回顾性分析82例样本量的临床资料,发现rs823144 位点的C等位基因的比例可达35%以上,而A型等位基因的比例可达55%以上,二者占据总数的80%以上,C及A型等位基因共同构成rs823144 位点的多态性,

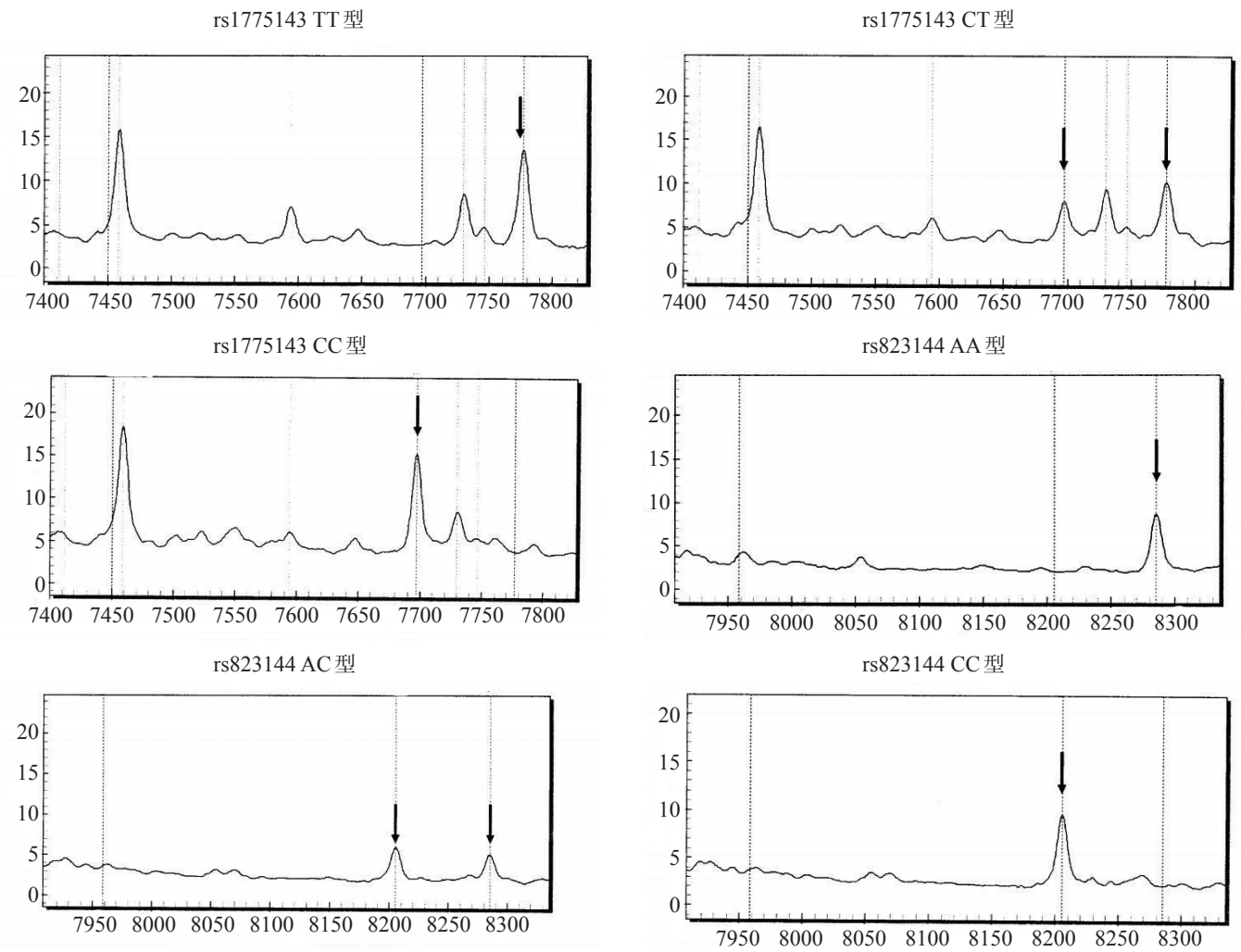


图1 质谱分型

表1 2组受试者rs1775143 基因型分布(例)					
观察组			对照组		
分型	实际频数	预计频数	分型	实际频数	预计频数
TT型	53	48.02	TT型	34	30.42
CT型	90	99.96	CT型	88	95.16
CC型	57	52.02	CC型	78	74.42
χ ² 值	1.986			1.132	
P	>0.05			>0.05	

表2 2组受试者rs823144 基因型分布(例)					
观察组			对照组		
分型	实际频数	预计频数	分型	实际频数	预计频数
AA型	11	15.96	AA型	22	22.78
AC型	91	81.08	AC型	91	89.44
CC型	98	102.96	CC型	87	87.78
χ ² 值	2.996			0.061	
P	>0.05			>0.05	

表3 2组受试者rs1775143 等位基因及基因型分布比较[例(%)]

组别	例数	基因型			等位基因	
		TT	CT	CC	T	C
对照组	200	34(17.00)	88(44.00)	78(39.00)	156(39.00)	244(61.00)
观察组	200	53(26.50)	90(45.00)	57(28.50)	196(49.00)	204(51.00)
χ^2 值		7.439			8.117	
P		<0.05			<0.05	

这与本研究的结论较为一致。Hardy Weinberg 平衡是反映所选样本群体代表性的重要指标,同时可以提供样本统计结论的可靠程度,本研究中纳入的rs1775143 和rs823144 位点相关等位基因的表达符合 Hardy Weinberg 平衡,提示所选样本的代表性较为理想。

具体的基因型分析可以发现,rs1775143 等位基因中CT或者CC型等位基因的比例较高,提示CT或者CC等位基因型可能对于多巴胺神经元功能的影响更为显著。rs823144 等位基因中以AC或者CC等位基因的表达比例较高,提示AC或者CC等位基因的表达可能对于PD的发生更具有临床意义。2组rs1775143 基因型和等位基因频率比较,差异有统计学意义($P<0.05$),提示rs1775143 位点多态性可能与济宁地区汉族人群PD的发生有一定关系;而2组rs823144 基因型和等位基因频率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),提示rs1775143 位点多态性可能与济宁地区汉族人群PD的发生无关。

综上所述,RAB7L1 基因rs1775143 位点的多态性与PD的发生具有密切关系,rs1775143 等位基因中CT或者CC型与PD的发生关系更为密切。但本研究对于RAB7L1 基因多态性与PD发生的具体内在机制的研究不足,存在一定的局限性。

参考文献

[1] 夏欢,罗琴,李晓霞,等.LRRK2 和RAB7L1 基因多态性与新疆维吾尔族帕金森病相关性研究[J].中国实用内科杂志, 2015, 35: 614-617.
[2] Mallett VM, Ross JP, Alcalay RN, et al. GBAP.T369M substitution in Parkinson disease: Polymorphism or association? A meta-analysis[J]. Neurol Genet, 2016, 2: e104.
[3] 张留福,朱幼玲.帕金森病易感基因的研究进展[J].医学综述, 2012,

表4 2组受试者rs823144 等位基因及基因型分布比较[例(%)]

组别	例数	基因型			等位基因	
		AA	AC	CC	A	C
对照组	200	22(17.00)	91(45.50)	87(43.50)	135(33.75)	265(66.25)
观察组	200	11(5.50)	91(45.50)	98(49.00)	113(28.25)	287(71.75)
χ^2 值		4.321			2.828	
P		>0.05			>0.05	

18: 515-518.
[4] Jiménez-Jiménez FJ, Alonso-Navarro H, García-Martín E, et al. Thr1051le (rs11558538) polymorphism in the histamine N-methyltransferase (HNMT) gene and risk for Parkinson disease: A PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis[J]. Medicine(Baltimore), 2016, 95: e4147.
[5] Jakubauskiene E, Janaviciute V, Peculiene I, et al. G/A polymorphism in intronic sequence affects the processing of MAO-B gene in patients with Parkinson disease[J]. Febs Letters, 2012, 586: 3698-3704.
[6] Hua P, Liu W, Kuo SH, et al. Association of Tef polymorphism with depression in Parkinson disease[J]. Mov Disord, 2012, 27: 1694-1697.
[7] 宋秋霞,张晓莺,李燕云,等.α-突触核蛋白基因多态性与新疆维吾尔族帕金森病相关性研究[J].中华老年医学杂志, 2013, 32: 286-290.
[8] 宋秋霞,张晓莺,李燕云,等.新疆地区PD遗传易感性与α-突触核蛋白和单胺氧化酶B基因多态协同作用的关系[J].中华神经医学杂志, 2013, 12: 1021-1027.
[9] 宁巍,刘洁.左旋多巴药物基因组学的研究进展[J].中国临床药理学与治疗学, 2013, 18: 455-460.
[10] Davis MY, Johnson CO, Leverenz JB, et al. Association of GBA mutations and the E326K polymorphism with motor and cognitive progression in Parkinson disease[J]. JAMA Neurol, 2016, 73: 1217-1224.
[11] Codoni V, Blum Y, Civelek M, et al. Preservation analysis of macrophage gene co-expression between human and mouse identifies PARK2 as a genetically controlled master regulator of oxydative phosphorylation in humans[J]. G3(Bethesda), 2016, 6: 3361-3371.
[12] 梁晨,杨新玲,彭颜晖,等.新疆维吾尔族帕金森病患者Parkin基因V/L380多态性研究[J].临床神经病学杂志, 2011, 24: 338-340.
[13] 李燕云,张晓莺,韩玺河,等.新疆维吾尔族和汉族帕金森病多巴胺β-羟化酶基因多态性分析[J].中华医学杂志, 2014, 94: 808-812.
[14] 白小燕,王萍,付永旺,等.不同Hoehn-Yahr分期α-突触核蛋白基因RS3831458多态性与帕金森病的关系[J].临床神经病学杂志, 2015, 28: 284-286.
[15] Roses AD, Akkari PA, Chiba-Falek O, et al. Structural variants can be more informative for disease diagnostics, prognostics and translation than current SNP mapping and exon sequencing[J]. Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology, 2016, 12: 135-147.

(本文编辑:雷琪)