

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.04.009
文章编号: 1005-8982 (2023) 04-0046-05

临床研究·论著

广西人群 *microRNA-208* 基因多态性 分布特征及与血脂的关系*

刘潮¹, 罗艳萍¹, 谷嬉嬉¹, 王腾¹, 陈健明¹, 蓝艳², 韦叶生¹

(1. 桂林医学院附属医院 检验科, 广西 桂林 541000; 2. 右江民族医学院附属医院 皮肤科, 广西 百色 533000)

摘要: 目的 探究 *microRNA-208* (*miR-208*) 基因 rs10136106 位点在广西人群中的分布特征, 并将其多态性与其他地区人群比较, 进一步探究其多态性与血脂水平的关系。**方法** 选取2021年1月—2021年6月来桂林医学院附属医院体检的无亲缘关系的健康群众168例。采用高通量SNPscan技术检测研究对象rs10136106位点的基因分型; 对比研究对象的血脂指标, 并分析其差异。**结果** 基因分型结果显示rs10136106存在AG(3.57%)和GG(96.43%)2种基因型, 等位基因A、G频率分别为1.79%、98.21%。男女性间rs10136106位点的基因型频率、等位基因频率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。广西人群分别与美国犹他州人群、尼日利亚伊巴丹约鲁人群及意大利托斯卡纳人群rs10136106位点基因型频率、等位基因频率比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而广西人群分别与日本东京人群、中国北京汉族人群基因型频率、等位基因频率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。广西人群rs10136106位点AG和GG基因型携带者甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 而AG基因型携带者总胆固醇较GG基因型携带者低($P < 0.05$)。**结论** 广西人群 *miR-208* 基因 rs10136106 位点单核苷酸多态性与其他地区人群存在不同程度的差异, rs10136106位点多态性与总胆固醇相关。

关键词: 基因多态性; 血脂; miR-208; 广西人群

中图分类号: R394.3

文献标识码: A

Distribution of *microRNA-208* polymorphism and its correlation with blood lipids in Guangxi people*

Liu Chao¹, Luo Yan-ping¹, Gu Xi-xi¹, Wang Teng¹, Chen Jian-ming¹, Lan Yan², Wei Ye-sheng¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541000, China; 2. Department of Dermatology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi 533000, China)

Abstract: Objective To explore the distribution of *microRNA-208* rs10136106 polymorphism in Guangxi people and to compare the distribution with that of people in other regions, and further to investigate the correlation between rs10136106 polymorphism and the levels of blood lipids. **Methods** A total of 168 unrelated healthy individuals undergoing health checkup in Affiliated Hospital of Guilin Medical University from January 2021 to June 2021 were enrolled. The high-throughput SNPscan technology was used to determine the genotyping of rs10136106. The blood lipid profiles in all individuals were collected, and the differences among them were analyzed. **Results** Two genotypes, AG (3.57%) and GG (96.43%), were found at the rs10136106 locus, and the frequencies of A and G

收稿日期: 2021-09-08

* 基金项目: 国家自然科学基金(No: 82060617, No: 82060570); 广西自然科学基金(No: 2020GXNSFAA297147); 桂林医学院硕士研究生科研项目(No: GYYK2021004)

[通信作者] 韦叶生, E-mail: yeshengwei56@163.com; Tel: 0773-2822730

alleles were 1.79% and 98.21%. There was no significant difference in the genotype frequency and allele frequency at the rs10136106 locus between males and females among the Guangxi people ($P > 0.05$). The genotype frequency and allele frequency at the rs10136106 locus in the Guangxi people differed from those in the Utah people, Yoruba people, and Tuscany people ($P < 0.05$), while they were not different from those in the Tokyo people and Han people from Beijing ($P > 0.05$). There was no difference in the levels of triglyceride, high density lipoprotein cholesterol or low density lipoprotein cholesterol between AG and GG carriers ($P > 0.05$), whereas the level of total cholesterol in AG carriers was lower than that in GG carriers ($P < 0.05$). **Conclusions** There are different degrees of variation in the *microRNA-208* rs10136106 polymorphism among Guangxi people and those from other regions. Besides, the rs10136106 polymorphism is related to the level of total cholesterol.

Keywords: genetic polymorphism; blood lipid; *microRNA-208*; Guangxi people

MircoRNA (miRNA) 是近年来研究广泛的内源性非编码小分子RNA, 长度为20~25个核苷酸, 通过与靶 mRNA 的3'-UTR 区特异性结合, 从而降解靶 mRNA 或者抑制其表达, miRNA 还参与调控细胞增殖、分化、凋亡等多种生物学过程, 在机体正常发育、新陈代谢以及疾病发生、发展等过程中发挥重要作用^[1]。miRNA 在心脑血管疾病的表达调控是目前心脑血管疾病研究的热门领域之一, 有研究发现多种 miRNA 在心脑血管疾病的发生、发展中有不同的调控作用。心脑血管疾病仍是当今世界严重的健康问题^[2], 已明确的病因主要包括高血脂症、血液黏稠、动脉粥样硬化及斑块形成、高血压等常见因素^[3]。

miR-208 基因作为目前临床研究广泛的 miRNA 之一, 除了参与体内众多复杂过程的调控外, 还被证明在多种疾病中异常表达, 如心肌梗死^[4]、急性冠脉综合征^[5]和短暂性脑缺血发作等心脑血管疾病。血脂异常是上述多种心脑血管疾病发病的重要基础, 早期发现和血脂控制是避免上述疾病发生的重要手段。关于 *miR-208* 基因 rs10136106 位点单核苷酸多态性与血脂相关性的研究尚未查阅到有关的文献。因此, 本研究采用高通量 SNPscan 技术检测广西人群 *miR-208* 基因 rs10136106 位点基因分型, 探究 rs10136106 位点在不同地区、不同种族健康人群中的分布特征, 并进一步探讨 rs10136106 位点基因多态性与血脂的相关性, 为群体遗传学研究和与血脂相关疾病的研究提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2021年1月—2021年6月来桂林医学院附属医院体检的无亲缘关系的健康群众168例。其中

男性95例, 女性73例; 年龄21~79岁, 平均(53.98±8.71)岁; 体检各指标正常, 排除患有重大疾病。本研究经医院医学伦理委员会批准, 患者家属均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 基因组DNA提取 采用EDTA-K2抗凝管收集各体检者静脉血3.0 mL。按照试剂盒说明书方法提取基因组DNA并于-70℃分装储存。基因组DNA提取试剂盒(吸附柱法)购自北京天根生化科技有限公司, 将DNA样本浓度在20~50 ng/μL、OD260/280值在1.7~2.0的合格样本用于后续基因分型实验。

1.2.2 引物的设计与合成 登录美国国家生物技术信息中心官网查询 *miR-208* 基因 rs10136106 的DNA序列, 引物序列的设计采用Premier 3.0在线软件, 将设计好的引物序列交给上海天昊公司合成。引物序列: 正向引物: 5'-CCTGTCATGGTTTACTGTTGCTG-3', 反向引物: 5'-GAAGGAGGAGAGAAAATGAACTAGG-3', 长度分别为24 bp和25 bp。

1.2.3 DNA连接反应 采用Thermal Cycler PCR仪(美国Applied Biosystems公司, 2720型)进行DNA连接反应, 总体积为20.0 μL, 其中样本DNA 8.0 μL, 2×连接缓冲液10.0 μL, 耐热DNA连接酶0.2 μL, 连接探针混合液0.8 μL, 剩余体积用灭菌双蒸水补足。连接反应参数: 94℃变性1 min, 58℃退火3 h, 循环5次, 94℃变性2 min, 72℃延伸forever。

1.2.4 多重PCR反应 采用PCR仪进行多重PCR反应, 总体积为20 μL, 其中包括上述DNA连接产物1.0 μL, 2×PCR缓冲液A 10.0 μL, TaqDNA聚合酶0.4 μL, 多重荧光扩增引物0.5 μL, 灭菌双蒸水8.1 μL。PCR反应参数: 95℃预变性2 min, 94℃变性20 s, 62℃退火40 s(降低0.5℃/循环, 共9个

循环), 72 °C 延伸 1.5 min, 循环 9 次; 94 °C 变性 20 s, 57 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 1.5 min, 循环 25 次, 68 °C 继续延伸 60 min, 4 °C 存放。将所得 PCR 产物收集待测序。

1.2.5 基因分型 将上述得到的产物经双蒸水稀释 10 倍并振荡混匀后, 取 1.0 μ L 该混合液与 0.5 μ L Liz 500 SIZE STANDARD、8.5 μ L Hi-Di 混匀, 最后在 ABI 3730XL 型测序仪(美国 Applied Biosystems 公司)上检测, 采用 Polyphred 软件分析其原始数据。并将广西人群与人类基因组单体型图数据库各人群的基因分型进行比较。

1.2.6 血脂检测 采集各受试者空腹 12 h 静脉血 4 mL, 以 3 000 r/min 离心 10 min, 分离血清, 用全自动生化分析仪(瑞士罗氏公司)及相应的血脂检测试剂盒检测血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、

甘油三酯(Triglycerides, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 20.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 比较用 t 检验; 计数资料以构成比或率(%)表示, 比较用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-208 基因 rs10136106 位点基因分型结果

基因分型结果显示 rs10136106 存在 AG(3.57%) 和 GG(96.43%) 2 种基因型, 等位基因 A、G 频率分别为 1.79%、98.21%。基因分型结果见图 1。

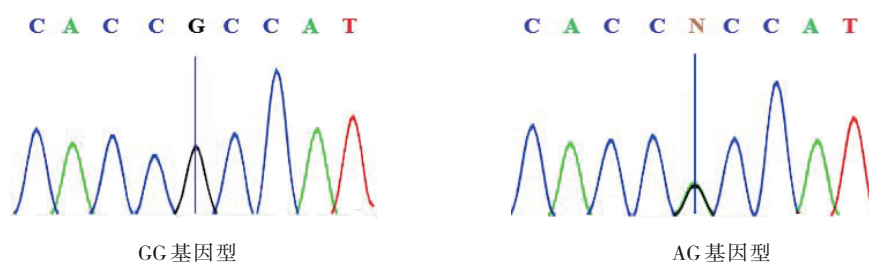


图 1 miRNA-208 基因 rs10136106 位点测序图

2.2 广西人群 miR-208 基因 rs10136106 位点多态性的分布

在广西人群 miR-208 基因 rs10136106 位点中, 常见 GG 基因型(96.43%), 其中等位基因频率最高的等位基因为 G(98.21%)。男女性间 rs10136106 位点的基因型频率比较, 经 χ^2 检验, 差异无统计学意义($\chi^2=0.259, P=0.698$), 说明 rs10136106 位点的基因型与男女性别无关。进一步比较男女性间等位基因频率, 经 χ^2 检验, 差异无统计学意义($\chi^2=0.255, P=0.701$), 说明 rs10136106 位点的等位基因频率与性别无关。见表 1。

2.3 广西人群 miR-208 基因 rs10136106 位点多态性与各族人群的比较

广西人群 rs10136106 位点基因型频率分别与美国犹他州人群、尼日利亚伊巴丹约鲁人群及意大利托斯卡纳人群比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义($\chi^2=16.580, 146.505$ 和 $7.578, P=0.000, 0.000$ 和 0.010), 而广西人群 rs10136106 位点基因型频率分别

表 1 广西人群 miRNA-208 基因 rs10136106 基因型和等位基因频率比较 例(%)

性别	n	基因型频率		等位基因频率	
		AG	GG	A	G
男	95	4(4.21)	91(95.79)	4(2.11)	186(97.89)
女	73	2(2.74)	71(97.26)	2(1.37)	144(98.63)
合计	168	6(3.57)	162(96.43)	6(1.79)	330(98.21)

与日本东京人群、中国北京汉族人群比较, 经 χ^2 检验, 差异无统计学意义($\chi^2=2.097$ 和 $0.175, P=0.173$ 和 0.738)(见表 2)。进一步将广西人群 rs10136106 位点等位基因频率分别与人类基因组单体型图数据库公布的美国犹他州人群、尼日利亚伊巴丹约鲁人群及意大利托斯卡纳人群比较, 经 χ^2 检验, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而将广西人群 rs10136106 位点等位基因频率与日本东京人群、中国北京汉族人群两地区人群比较, 经 χ^2 检验, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 3。

表2 各区域人群 *miR-208* 基因 rs10136106 位点
基因型频率比较 例(%)

地区	n	AA	AG	GG
广西人群	168	-	6(3.57)	162(96.43)
美国犹他州人群	224	2(0.90)	34(15.20)	188(83.90)
尼日利亚伊巴丹约鲁人群	224	20(8.90)	110(49.10)	94(42.00)
意大利托斯卡纳人群	176	2(1.10)	18(10.20)	156(88.70)
日本东京人群	170	-	2(1.20)	168(98.80)
中国北京汉族人群	86	-	4(4.70)	82(95.30)

表3 各区域人群 *miR-208* 基因 rs10136106 位点
等位基因频率比较 例(%)

地区	n	A	G	χ^2 值	P值
广西人群	168	6(1.79)	330(98.21)	-	-
美国犹他州人群	224	38(8.50)	410(91.50)	16.253	0.000
尼日利亚伊巴丹约鲁人群	224	150(33.45)	298(66.55)	121.024	0.000
意大利托斯卡纳人群	176	22(6.21)	330(93.79)	8.766	0.003
日本东京人群	170	2(0.60)	338(99.40)	2.072	0.175
中国北京汉族人群	86	4(2.35)	168(97.65)	0.172	0.740

2.4 广西人群 *miR-208* 基因 rs10136106 位点不同基因型血脂水平比较

广西人群 rs10136106 位点 AG 和 GG 基因型携带者 TG、HDL-C 和 LDL-C 比较,经 *t* 检验,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),而两种基因型携带者 TC 比较,经 *t* 检验,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),AG 基因型携带者较 GG 基因型携带者低。见表4。

表4 广西人群 *miR-208* 基因 rs10136106 位点不同基因型
血脂水平比较 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

基因型	TC	TG	HDL-C	LDL-C
AG	4.51 ± 0.27	1.27 ± 0.98	1.48 ± 0.37	2.66 ± 0.59
GG	4.95 ± 0.88	1.80 ± 1.19	1.36 ± 0.40	3.24 ± 1.38
<i>t</i> 值	-3.371	-1.073	0.687	-1.026
<i>P</i> 值	0.008	0.285	0.493	0.306

3 讨论

miR-208 基因家族作为 miRNA 重要成员之一,位于人类第14号染色体上。*miR-208* 基因在心脑血管疾病发生、发展的过程中发挥着重要的作用。其主要的机制包括有 *miR-208a* 可以通过与靶基因活

化蛋白 C、细胞程序性死亡蛋白结合,加重心肌细胞凋亡、氧化损伤和自噬^[6];降低 *miR-208b-3p* 表达能够减轻缺血再灌注损伤心肌细胞氧化应激损伤、炎症反应,从而抑制心肌细胞凋亡、自噬^[7],*miR-208b* 是通过激活 PI3K/Akt 通路发挥心肌保护作用^[8]。随着对基因多态性研究的深入,越来越多的研究表明基因多态性与疾病易感性之间存在相关性。例如 FRAGOSO 等^[9] 研究发现, *miRNA-196a2* C/T (rs11614913) 多态性的 T 等位基因与冠状动脉疾病的风险相关;然而 QIU 等^[10] 研究发现 *miR-196a-2* rs11614913 可能是女性患者非小细胞肺癌的保护因素。*miR-208* 基因上多个具有功能性的 SNPs 位点被发现,而当这些具有功能性的 SNPs 位点多态性发生变化时,可能改变 *miR-208* 基因所编码的下游靶蛋白的活性及 *miR-208* 基因相关疾病遗传易感性,最终使相关疾病朝不同的方向发生、发展。随着人类基因组计划不断完善,越来越多的研究发现微小 RNA 的基因多态性与肿瘤^[11]、癌症^[12] 等多种疾病的发生、发展相关。而关于 *miR-208* 基因多态性在疾病发生中的遗传易感性的作用研究尚未见文献报道。基因多态性受多种因素的影响,常见的影响因素包括地理位置、种族、生活环境、生活习惯、饮食习惯的不同以及遗传突变等。同一 SNP 位点与同一疾病的遗传易感性在不同的地域、人群间也存在不同程度的差异^[13],而同一 SNP 位点基因多态性的差异也能引起不同的疾病。由此可见,对不同基因位点多态性的研究,可以为与其相关的疾病遗传性研究提供参考资料以及数据支持。

本研究将广西人群 rs10136106 位点多态性与人类基因组单体型图数据库公布的5个人群基因多态性数据比较发现,广西人群 rs10136106 位点的基因型和等位基因频率与犹他州人群、尼日利亚伊巴丹约鲁人群及意大利托斯卡纳人群比较差异有统计学意义,与中国北京汉族人群、日本东京人群比较无差异。其原因可能是因为广西人群与中国北京汉族人群和日本东京人群同属于亚洲地区,与犹他州人群、尼日利亚伊巴丹约鲁人群、意大利托斯卡纳人群等相比地缘关系较近,因此,该位点的遗传多态性分布差异相对较小,与遗传学定律中所描述的“亲缘关系越近,其基因型的分布越相似,反之则差异越显著”相符^[14]。犹他州人群、尼日利亚伊巴丹约鲁人群和意大利托斯卡纳人群3种人群大多数为

白种人、黑种人,广西人群为黄种人,其地缘关系、亲缘关系都相对较远,且受饮食习惯、生活习惯和环境因素、遗传因素等影响,种族间遗传物质的交流受到一定的阻碍,久而久之各群体发生的遗传变异朝着不同的方向发展,这可能是遗传多态性在上述5种人群中表现出不同程度差异的原因之一。

有研究表明,血脂异常与动脉粥样硬化的发生、发展有着密切的联系^[15],积极控制、干预血脂水平对于以动脉粥样硬化为病理基础的疾病防治有着重大的意义。人类可遗传变异中最常见是SNPs,是在基因组水平上由于单个核苷酸突变引起的DNA序列多态性^[16]。例如,PAN等^[17]研究发现,北京汉族人群血清TC在不同基因型之间存在差异,G等位基因携带者低于G等位基因非携带者。而*miR-208*基因与血脂的相关性尚未见文献报道。本研究发现广西人群rs10136106位点AG基因型的TC水平较GG基因型低,提示rs10136106位点基因多态性与TC存在相关性,今后关于*miR-208*基因多态性与血脂相关疾病的研究中可以优先考虑该位点。

综上所述,在广西人群*miR-208*基因rs10136106位点中存在基因多态性,其多态性与不同种族和不同地区人群之间存在不同程度差异,不仅为解释*miR-208*基因与其相关疾病在不同种族、地域间的差异性提供了一个新的方向,而且还丰富了人类群体遗传学资料,为进一步研究相关疾病提供了参考资料。

参 考 文 献 :

- [1] GALAGALI H, KIM J K. The multifaceted roles of microRNAs in differentiation[J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2020, 67: 118-140.
- [2] 中国心血管健康与疾病报告编写组. 中国心血管健康与疾病报告2020概要[J]. *中国循环杂志*, 2021, 36(6): 521-545.
- [3] WU S M, WU B, LIU M, et al. Stroke in China: advances and challenges in epidemiology, prevention, and management[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(4): 394-405.
- [4] WANG X, CHEN X X, XU H, et al. Emerging roles of microRNA-208a in cardiology and reverse cardio-oncology[J]. *Med Res Rev*, 2021, 41(4): 2172-2194.
- [5] 耿国英, 刘恒亮, 赵玉洁, 等. 血清miR-208a在急性冠状动脉综合征早期鉴别诊断中的价值[J]. *中华老年医学杂志*, 2020, 39(8): 874-878.
- [6] LIU F, ZHANG H, ZHANG Z, et al. MiR-208a aggravates H₂O₂-induced cardiomyocyte injury by targeting APC[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 864: 172668.
- [7] 温淑珍, 王娜娜, 徐晓明, 等. 沉默miR-208b-3p对心肌细胞缺血再灌注损伤的保护作用及机制[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(19): 4332-4336.
- [8] ZHOU Y L, SUN Q, ZHANG L, et al. RETRACTED: miR-208b targets Bax to protect H9c2 cells against hypoxia-induced apoptosis[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 1751-1759.
- [9] FRAGOSO J M, RAMÍREZ-BELLO J, MARTÍNEZ-RÍOS M A, et al. miR-196a2 (rs11614913) polymorphism is associated with coronary artery disease, but not with in-stent coronary restenosis[J]. *Inflamm Res*, 2019, 68(3): 215-221.
- [10] QIU H, XIE Z Q, TANG W F, et al. Association between microRNA-146a, -499a and -196a-2 SNPs and non-small cell lung cancer: a case-control study involving 2249 subjects[J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(2): BSR20201158.
- [11] 殷亚俊, 毛小亮, 王烨铭, 等. 非小细胞肺癌组织中微小RNA-423-3p的拷贝数变异和rs6505162位点多态性分析[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2019, 24(11): 1014-1018.
- [12] SUN Q Y, CHONG F F, JIANG X R, et al. Association study of SNPs in LncRNA CDKN2B-AS1 with breast cancer susceptibility in Chinese Han population[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2022, 143: 106139.
- [13] 谷嬉嬉, 曾志能, 何永玲, 等. 广西汉族人群中缺氧诱导因子3A基因rs11672731和rs2072491的多态性[J]. *解剖学报*, 2021, 52(4): 647-651.
- [14] OMARIBA G, XU F Y, WANG M C, et al. Genome-wide analysis of MicroRNA-related single nucleotide polymorphisms (SNPs) in mouse genome[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 5789.
- [15] 帕丽达·阿布来提, 沙吉旦·阿不都热衣木, 高颖. 冠状动脉粥样硬化性心脏病患者同型半胱氨酸与血脂指标的相关性分析[J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(22): 66-70.
- [16] SHULMAN E D, ELKON R. Systematic identification of functional SNPs interrupting 3'UTR polyadenylation signals[J]. *PLoS Genet*, 2020, 16(8): e1008977.
- [17] PAN L, MO M Q, MIAO L, et al. Association of *BDNF* rs11030104 SNP and serum lipid levels in two Chinese ethnic groups[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2018, 11(3): 1466-1483.

(李科 编辑)

本文引用格式: 刘潮, 罗艳萍, 谷嬉嬉, 等. 广西人群*microRNA-208*基因多态性分布特征及与血脂的关系[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(4): 46-50.

Cite this article as: LIU C, LUO Y P, GU X X, et al. Distribution of microRNA-208 polymorphism and its correlation with blood lipids in Guangxi people[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(4): 46-50.