

doi:10.3969/j.issn.1000-9760.2015.02.007

河北汉族人群 CYP1A2 C163A 基因多态性研究^{*}

冯晓娟 范志亮 康聚贤 豆真珍 范志刚 尹少华

(河北医科大学附属邢台市人民医院,河北 邢台 054001)

摘要 目的 探讨河北汉族人群细胞色素 P450 1A2(cytochrome P450 1A2,CYP1A2)C163A 基因多态性的分布情况。**方法** 应用聚合酶链式反应—限制性酶切片长度多态性(PCR-RFLP)方法对 210 例河北汉族正常人进行 CYP1A2 C163A 基因多态性分析。**结果** 河北汉族人群 CYP1A2 C163A 基因 A 和 C 等位基因的频率为:68.3%、31.7%。AA、AC、CC 基因型频率分别为 48.1%、40.5%、11.4%。符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律($\chi^2=1.22, P>0.05$),具有代表性。**结论** 河北汉族人群 CYP1A2 基因存在 C163A 位点多态性。

关键词 细胞色素 P450 1A2;基因;多态性

中图分类号:R394.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-9760(2015)04-103-03

Genetic polymorphism of CYP1A2 C163A in Chinese Han Population in Hebei province

FENG Xiaojuan, FAN Zhiliang, KANG Juxian, DOU Zhenzhen, FAN Zhigang, YIN Shaohua

(Xingtai People's Hospital Affiliated of Hebei Medical University, Xingtai 054001, China)

Abstract: Objective To identify the gene polymorphisms of CYP1A2 C163A in Chinese Han Population in Hebei province. **Methods** Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) was used to detect the genotype of CYP1A2 C163A in 210 Chinese Han people in Hebei province. **Results** The frequency of A and C alleles were 68.3% and 31.7% respectively. The frequency of each genotype was 48.1% (AA), 40.5% (AC), 11.4% (CC). The genotype distribution of the Chinese Han Population in Hebei province coincided with Hardy-Weinberg equilibrium($\chi^2=1.22, P>0.05$). **Conclusion** C163A locus polymorphism of the CYP1A2 gene is present in Han Population in Hebei province.

Keywords: Cytochrome P-450 1A2; Gene; Polymorphism.

细胞色素 P450(cytochrome P450, CYPs), 是一类在内源性化合物, 在药物的代谢中起关键作用^[1]。细胞色素 P450 由一类功能和结构类似的酶组成, 属于超家族酶系, 其编码基因存在多态性。这种多态性在很大程度上会影响个体对药物的反应和不良反应^[2]。细胞色素 P450 1A2(CYP1A2)属于该家族成员之一, 在临床常用药物的代谢以及前致癌物质激活或灭活过程中起着重要的作用。研究表明 CYP1A2 具有遗传多态性, 并且存在种族和区域的差异^[3]。本文探讨 CYP1A2 C163A 基因多态性在河北健康汉族人群中的分布, 为以后其与多种疾病相关性、药物代谢研究打下基础。

1 资料与方法

1.1 受试对象

为 210 例无直接血缘关系的健康河北省汉族个体, 且符合以下标准: 1) 汉族, 祖籍河北; 2) 无任何遗传倾向性疾病; 3) 在取样当时均未诊断有各种肿瘤、心脑血管病、精神异常及其他重大健康问题。其中男性为 121 例, 女性为 89 例。平均年龄为(42.27±9.31)岁(23~71 岁)。本试验经伦理委员会讨论通过, 受试者签署知情同意书。

1.2 试验方法

采用聚合酶链式反应—限制性酶切片长度多态性(PCR-RFLP)方法研究分析 CYP1A2 C163A 的基因多态性。

1.2.1 DNA 的提取 血液样品 DNA 通过北京

^{*} [基金项目] 河北省邢台市科学技术研究与发展计划项目(项目编号: 2013ZC171)

天根公司的血液基因组 DNA 提取试剂盒进行提取。步骤如下:1)将-80℃冻存的抗凝血混匀,取300 μ L放入1.5ml离心管中,加入750 μ L的细胞裂解液 CL,颠倒混匀5次;2)10000g离心1min,弃上清,倒置于干净吸水纸上停留2min;3)向此管中加入缓冲液 FG 和蛋白酶 K 的混合液 151.5 μ L,立即漩涡至溶液无团块;56℃水浴10min,其间颠倒混匀数次;4)加入异丙醇150 μ L,颠倒混匀,10000g离心3min,弃上清,倒置于干净吸水纸上停留2min;5)加入70%乙醇150 μ L,漩涡振荡5s,10000g离心3min,弃上清,倒置于干净吸水纸上停留5min,空气干燥5min;6)加入洗脱缓冲液 TB 200 μ L,低速漩涡5s,65℃水浴1h,其间颠倒混匀数次助溶。最后保存于4℃冰箱中备用。

1.2.2 PCR 扩增 参照文献^[4] 1)设计引物(由上海生物工程技术有限公司合成):上游引物为:5'-CTACTCCAGCCCCAGAAGTG-3';下游引物为:5'-GAAGGGAACAGACTGGGACA-3'。2)PCR 扩增体系:总体积 20 μ L,体系终浓度:1 $\times$ PCR 缓冲液,0.2 mmol/L dNTP,引物各 300pmol/L,模板 DNA(25~50ng),TaqDNA 聚合酶 0.5U。3)PCR 反应条件:预变性 95℃ 5min,95℃变性 30s,58℃退火 50s,72℃延伸 30s,共 35 个循环,最后 72℃延伸 7min。

1.2.3 PCR 扩增产物鉴定 取 5 μ L 的 PCR 反应产物加样于 3%琼脂糖(1 μ L 的 Goldview I 型核酸染色剂)上,100V 电压条件下,电泳 40min,之后用全自动凝胶成像分析系统扫描,目的条带于 318bp 处显影。

1.2.4 限制性片段长度多态性分析 酶切反应总体积为 20 μ L,含 10 μ L 的 PCR 反应产物、10U 的限制性核酸内切酶 Bsp120I、2 μ L 10 $\times$ buffer、7.6 μ L 的超纯去离子水。以双蒸水代酶作为阴性对照,37℃酶切16h。取酶切产物 5 μ L,加样于 3%琼脂糖凝胶上,100V 电压电泳 40min,再用全自动凝胶成像分析系统扫描。

1.3 统计分析

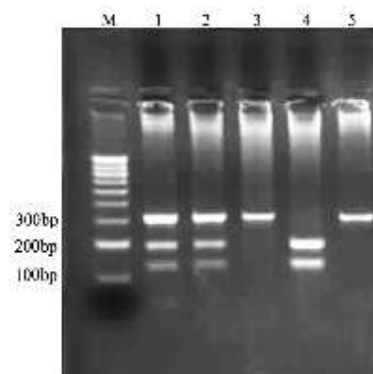
应用 SPSS 19.0 软件进行计数资料统计学分析。

2 结果

2.1 CYP1A2 C163A 基因酶切产物电泳结果

扩增产物经 Bsp120I 酶酶切以后,电泳可见到 318bp 一条带,即为 AA 基因型;若酶切后,产生

193bp、125bp 2 条条带,即为 CC 基因型;若酶切后,产生 318bp、193bp、125bp 3 条条带,即为 AC 基因型。随机从每种基因型 PCR 扩增产物中选取 3 个,进行核苷酸序列测定,其结果均与本试验相同。见图 1。



M:核酸分子量标准;3、5:AA 基因型;
1、2:AC 基因型;4:CC 基因型。

图 1 扩增产物酶切后结果

2.2 CYP1A2 C163A 基因 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验

经检验,河北汉族人群 CYP1A2 C163A 基因频率分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律,结果见表 1。

表 1 CYP1A2 C163A 基因型及基因频数(n,%)

项目	n	基因型			基因	
		AA	AC	CC	A	C
实际频数	210	101(48.1)	85(40.5)	24(11.4)	287(68.3)	133(31.7)
H-W 理论频数		97.86(46.6)	91.14(43.4)	21(10)		
χ^2				1.22		
P				>0.05		

3 讨论

细胞色素 P450 是存在肝脏当中参与药物、维生素、类固醇、脂类代谢的一类酶。遗传、环境等因素都可造成 CYP 基因变异,引起其编码的酶活性变化,从而影响体内由它催化的许多代谢和反应,使其发生明显的差异,因此,CYP 基因多态性是造成个体药物代谢差异的基础^[5]。CYP1A2 是细胞色素 P450 超家族的成员。其基因位于第 15 号染色体上,全长约 7.8 kb,包括 7 个外显子和 6 个内含子。

目前研究发现,CYP1A2 至少存在 14 种单核苷酸多态,其中研究较多是 CYP1A2*1C、CYP1A2*1D、CYP1A2*1E 和 CYP1A2*1F^[6-7]。

CYP1A2*1F 等位基因在内含子 1 中存在一个 C163A 突变,即 CYP1A2 C163A 多态性。CYP1A2 C163A 多态性可能会影响基因的表达和药物在体内的代谢^[2]。CYP1A2 C163A 多态性与抗精神病药物的副作用反应有关^[8]。赵龙等^[6]研究表明:CYP1A2 C163A 多态性可能与 COPD 遗传易感性增加有关。

本文对 210 例河北健康汉族人群血样标本进行检测,发现河北汉族人群 CYP1A2 C163A 基因 A 和 C 等位基因的频率为:68.3%、31.7%。AA、AC、CC 基因型频率分别为 48.1%、40.5%、11.4%。河北汉族人群 CYP1A2 C163A 基因存在多态性,符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律($\chi^2=1.22$, $P>0.05$)。与中国其他地区的研究结果比较,发现河北地区与沈阳、包头汉族人群在 CYP1A2 C163A 基因型和等位基因分布上的差异不明显,无统计学意义。韩庆梅等^[9]研究发现汉族 A 等位基因频率为 64%,与本文结果十分接近。与国外的研究结果比较,发现河北地区汉族人群与法国、美国人群在 CYP1A2 C163A 基因型和等位基因分布频率上十分相近,与印度人群存在显著差异^[10-12]。虽然印度与中国同处于亚洲,但汉族人与印度人种明显不同,且印度人为多民族国家,基因的这种差别,应虑由人种、民族和区域环境不同所致,当然,这需要进行进一步大样本、多中心研究以证实。

总之,我们发现河北汉族人群 CYP1A2 C163A 基因存在多态性,这可以为人群遗传学提供依据,为临床个体药物治疗起一定指导作用,为以后进一步的疾病相关性研究打下基础。

参考文献:

[1] Kohlrausch F B, Carracedo A, Hutz M H. Characterization of CYP1A2, CYP2C19, CYP3A4 and CYP3A5 polymorphisms in South Brazilians[J]. Molecular biology reports, 2014, 41

(3):1453-1460.
[2] Ingelman-Sundberg M, Sim S C, Gomez A, et al. Influence of cytochrome P450 polymorphisms on drug therapies: pharmacogenetic, pharmacoeigenetic and clinical aspects[J]. Pharmacol Ther, 2007, 116(3):496-526.
[3] 王静宇. 云南省傣族与汉族 CYP1A2 * 1F 多态性研究[D]. 云南, 昆明医学院, 2007.
[4] Fu Y, Fan C H, Deng H H, et al. Association of CYP2D6 and CYP1A2 gene polymorphism with tardive dyskinesia in Chinese schizophrenic patients[J]. Acta Pharmacol Sin, 2006, 27(3):328-332.
[5] 杨明, 唐波, 陈经宝, 等. 染料木素临床不良反应与 CYP1A2、UGT1A7 基因多态性研究[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2008, 13(7):803-808.
[6] 赵龙, 李莹, 陈达, 等. 沈阳汉族人群细胞色素 P450 酶 1A2 基因多态性与慢性阻塞性肺疾病易感性的关联[J]. 中国康复理论与实践, 2014, 20(9):873-876.
[7] 张建祖. CYP1A2 基因多态性与口腔鳞状细胞癌的关系[J]. 包头医学院学报, 2012, 28(5):18-19.
[8] Kohlrausch F B, Severino-Gama C, Lobato M I, et al. The CYP1A2-163C > A polymorphism is associated with clozapine-induced generalized tonic-clonic seizures in Brazilian schizophrenia patients[J]. Psychiatry Res, 2013, 209(2):242-245.
[9] Han X M, Chen X P, Wu Q N, et al. G-2964A and C734A genetic polymorphisms of CYP1A2 in Chinese population[J]. Acta Pharmacol Sin, 2000, 21(11):1031-1034.
[10] Küry S, Buecher B, Robiou-du-Pont S, et al. Combinations of cytochrome P450 gene polymorphisms enhancing the risk for sporadic colorectal cancer related to red meat consumption[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2007, 16(7):1460-1467.
[11] Popat R A, Van Den Eeden S K, Tanner C M, et al. Coffee, ADORA2A, and CYP1A2: the caffeine connection in Parkinson's disease[J]. Eur J Neurol, 2011, 18(5):756-765.
[12] Ghoshal U, Tripathi S, Kumar S, et al. Genetic polymorphism of cytochrome P450 (CYP) 1A1, CYP1A2, and CYP2E1 genes modulate susceptibility to gastric cancer in patients with Helicobacter pylori infection[J]. Gastric Cancer, 2014, 17(2):226-234.

(收稿日期 2015-03-15)

• 读者 • 作者 • 编者 •

文稿中缩略语使用须知

文中尽量少用缩略语,必须使用时于首次出现处先叙述其全称,然后括号注出中文缩略语或英文全称及其缩略语,后两者用“,”分开。如果该缩略语已公知,也可不注出其英文全称。缩略语不得移行。

本刊编辑部