

论著·临床研究

云南普洱地区佤族和汉族维生素 D 受体基因多态性分析*

陈怡颖¹, 杨 涵², 龙丹丹², 陈怡蓉³, 苏 洪², 戴欢欢², 张亚勤^{2△}

(普洱市人民医院:1. 眼科;2. 生殖遗传中心;3. 感染管理科, 云南 普洱 665000)

[摘要] 目的 了解云南普洱地区佤族和汉族的维生素 D 受体(VDR)基因多态性分布情况,为进一步研究该地区 VDR 基因多态性与各种疾病的关系打下基础。方法 以云南普洱地区的汉族和佤族健康人为研究对象,采集口腔黏膜上皮脱落细胞,抽提基因组 DNA,使用 Sanger 测序方法检测 VDR Apa I、Taq I、Fok I 位点的基因多态性,分析基因型和等位基因分布频率,并与已报道的其他民族的数据进行比较。结果 入组对象的基因多态性分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律,各基因型之间不存在连锁不平衡。佤族组研究对象的基因型频率:VDR Apa I 位点 CC、CA、AA 基因型频率分别为 53.0%、39.0%、7.0%,C、A 等位基因频率分别为 73.2%、26.8%;VDR Fok I 位点 TT、TC、CC 基因型频率分别为 28.0%、47.0%、25.0%,T、C 等位基因频率分别为 53.0%、47.0%;VDR Taq I 位点 TT、TC、CC 基因型频率分别为 94.0%、5.0%、0%,T、C 等位基因频率分别为 98.0%、2.0%。汉族组研究对象的基因型频率:VDR Apa I 位点 CC、CA、AA 的基因型频率分别为 55.0%、38.0%、7.0%,C、A 等位基因频率分别为 74.0%、26.0%;VDR Fok I 位点 TT、TC、CC 基因型频率分别为 28.0%、47.0%、25.0%,T、C 等位基因频率分别为 51.5%、48.5%;VDR Taq I 位点 TT、TC、CC 基因型频率分别为 91.0%、8.0%、1.0%,T、C 等位基因频率分别为 95.0%、5.0%。结论 普洱地区汉族与佤族人群 VDR 基因 Apa I、Fok I、Taq I 位点的多态性分布与其他地区及民族有所区别,具有地域及民族特异性。

[关键词] 佤族; 维生素 D 受体; 基因多态性; 汉族; 基因型频率

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2023.17.006

中图法分类号:R394.5

文章编号:1009-5519(2023)17-2909-05

文献标识码:A

Polymorphism analysis of vitamin D receptor gene in Wa and Han nationalities in Pu'er area of Yunnan province*

CHEN Yiyi¹, YANG Han², LONG Dandan², CHEN Yirong³, SU Hong²,
DAI Huanhuan², ZHANG Yaqin^{2△}

(1. Department of Ophthalmology; 2. Department of Reproduction and Genetics; 3. Department of Infection Management, Pu'er People's Hospital, Pu'er, Yunnan 665000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the distribution of vitamin D receptor(VDR) gene polymorphism in Wa and Han nationalities in Pu'er area of Yunnan province, and to lay a foundation for further study on the relationship between VDR gene polymorphism and various diseases in Pu'er area. **Methods** Oral mucosal epithelial exfoliated cells were collected from Han and Wa healthy individuals in Pu'er area of Yunnan province, and genomic DNA was extracted. Sanger sequencing was used to detect the gene polymorphisms of VDR Apa I, Taq I and Fok I locus. The genotype and allele distribution frequencies were analyzed and compared with the data of other ethnic groups reported. **Results** The gene polymorphism distribution of the enrolled subjects was in accordance with the Hardy-Weinberg genetic balance law, and there was no linkage disequilibrium between the genotypes. Genotype frequencies of Wa nationality: the frequencies of CC, CA and AA genotypes at VDR Apa I locus were 53.0%, 39.0% and 7.0%, respectively; the frequencies of C and A alleles were 73.2% and 26.8%, respectively; the frequencies of TT, TC and CC genotypes at VDR Fok I locus were 28.0%, 47.0% and 25.0%, respectively; the frequencies of T and C alleles were 53.0% and 47.0%, respectively; the frequencies of TT, TC and CC genotypes at VDR Taq I locus were 94.0%, 5.0% and 0, respectively; and the frequencies of T and C alleles were 98.0% and 2.0%, respectively. Genotype frequencies of Han nationality:

* 基金项目: 云南省临床医学研究中心开放项目(2020LCZXKF-SZ18); 普洱市人民医院内科研项目(2020YN06; 2020YN03)。

作者简介: 陈怡颖(1988—), 硕士研究生, 主治医师, 主要从事眼科遗传学的研究。△ 通信作者, E-mail: mayizyq@126.com。

the genotype frequencies of CC, CA and AA at VDR Apa I locus were 55.0%, 38.0% and 7.0%, respectively; the allele frequencies of C and A were 74.0% and 26.0%, respectively; the frequencies of TT, TC and CC genotypes at VDR Fok I locus were 28.0%, 47.0% and 25.0%, respectively; the frequencies of T and C alleles were 51.5% and 48.5%, respectively; the frequencies of TT, TC and CC genotypes at VDR Taq I locus were 91.0%, 8.0% and 1.0%, respectively; and the frequencies of T and C alleles were 95.0% and 5.0%, respectively. **Conclusion** The polymorphism distribution of vitamin D receptor gene Apa I, Fok I and Taq I locus in Han and Wa populations of Pu'er area is different from that in other areas and nationalities, and has geographical and ethnic specificity.

[Key words] Wa nationality; Vitamin D receptor; Gene polymorphism; Han nationality; Genotype frequency

维生素 D 与人体内的维生素 D 受体 (VDR) 结合, 发挥重要的生物学功能, 如调节骨代谢^[1]、促进生长分化^[2]等, VDR 基因多态性与儿童生长发育^[3]及肿瘤^[4]、骨质疏松^[5-7]、糖尿病^[8-9]等各种疾病的关系, 一直是研究者关注的热点。根据既往研究结果, VDR 基因多态性在不同的民族、种族、地区间有不同的分布频率。

了解 VDR 基因多态性的遗传分布特点, 有助于进一步为各地区临床及科研提供更精准的依据。本研究分析了普洱地区汉族和佤族的 VDR 基因多态性分布特点, 为后续相关疾病的调查及分析提供遗传数据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 分别收集普洱地区佤族和汉族健康人的口腔黏膜上皮细胞, 将其分为佤族组及汉族组, 进行 VDR 基因多态性分析。本研究经本院医学伦理委员会批准。

1.1.1 佤族组 来自本院生殖遗传中心体检的佤族人群及普洱市西盟佤族自治县的佤族人群, 根据知情同意原则, 共收集了 99 名佤族健康人的口腔黏膜细胞, 年龄分布为 3~65 岁。

1.1.2 汉族组 来自本院生殖遗传中心体检的汉族人群, 根据知情同意原则, 共收集了 100 名汉族健康人的口腔黏膜细胞, 年龄分布为 1~68 岁。

1.2 仪器与试剂 通用基因组 DNA 提取试剂盒 (日本 TaKaRa 公司, 货号: 9765); 聚合酶链反应 (PCR)

预混试剂 (日本 TaKaRa 公司, 货号: R004A); ABI veriti 基因扩增仪 (美国 Thermo 公司); 台式高速离心机 (德国 Eppendorf 公司); 水平电泳仪 (北京六一生物科技有限公司)。

1.3 方法 采用柱提法提取口腔黏膜细胞样本的基因组 DNA。采用 PCR 技术对其进行扩增后, 将产物送北京擎科生物科技有限公司昆明分公司, 采用 Sange 测序技术, 检测 VDR Apa I、Taq I、Fok I 位点的基因多态性。

1.4 统计学处理 经拟合优度 χ^2 检验, 佤族和汉族组 VDR Apa I、Taq I、Fok I 位点的基因多态性分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律, $P > 0.05$ 提示数据来自同一孟德尔群体, 样本具有群体代表性。经 SPSS22.0 软件分析基因型和等位基因频率, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。应用 Arlequin3.5 软件, 对 2 组数据各基因型进行连锁不平衡分析。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 平衡分析与连锁不平衡分析 入组对象的 VDR Apa I、Taq I、Fok I 位点的基因多态性分布符合遗传平衡定律 ($P > 0.05$), 见表 1、2, 提示汉族组、佤族组均来自同一孟德尔群体, 样本具有群体代表性。应用 Arlequin3.5 软件分别对 2 组数据各基因型进行连锁不平衡分析, 发现佤族和汉族组 VDR Apa I、Taq I、Fok I 位点各基因型之间不存在较强的连锁不平衡关系。

表 1 佤族组 VDR 各位点基因型 Hardy-Weinberg 平衡分析

频数	Apa I			χ^2	P	频数	Fok I			χ^2	P	频数	Taq I			χ^2	P
	CC	CA	AA				TT	TC	CC				TT	TC	CC		
实际频数	53	39	7	0.002	0.962	实际频数	28	49	22	0.004	0.949	实际频数	95	4	0	0.042	0.837
理论频数	53.09	38.81	7.09			理论频数	27.84	49.32	21.84			理论频数	95.04	3.92	0.04		

2.2 基因型和等位基因频率分布情况

2.2.1 佤族组研究对象的基因型频率 VDR Apa I CC 基因型 53 例 (53.5%), CA 基因型 39 例

(39.4%), AA 基因型 7 例 (7.1%); VDR Fok I TT 基因型 28 例 (28.3%), TC 基因型 49 例 (49.5%), CC 基因型 22 例 (22.2%); VDR Taq I TT 基因型 94 例

(96.0%),TC 基因型 5 例(4.0%),CC 基因型 0 例。

佤族组研究对象的等位基因频率:VDR Apa I C 等位基因 145 例(73.2%),A 等位基因 53 例(26.8%);VDR Fok I T 等位基因 105 例(53.0%),C 等位基因 93 例(47.0%);VDR Taq I T 等位基因 194 例(98.0%),C 等位基因 4 例(2.0%)。

2.2.2 汉族组研究对象的基因型频率 VDR Apa I CC 基因型 55 例(55.0%),CA 基因型 38 例(38.0%),AA 基因型 7 例(7.0%);VDR Fok I TT 基因型 28 例(28.0%),TC 基因型 47 例(47.0%),CC 基因型 25 例(25.0%);VDR Taq I TT 基因型 91 例(91.0%),TC 基因型 8 例(8.0%),CC 基因型 1 例(1.0%)。

汉族组研究对象的等位基因频率:VDR Apa I C 等位基因 148 例(74.0%),A 等位基因 52 例(26.0%);VDR Fok I T 等位基因 103 例(51.5%),C

等位基因 97 例(48.5%);VDR Taq I T 等位基因 190 例(95.0%),C 等位基因 10 例(5.0%)。

2.2.3 汉族组与佤族组基因型频率、等位基因频率比较 普洱地区的汉族人群与佤族人群 VDR 基因多态性位点 Apa I、Fok I、Taq I 的基因型频率、等位基因频率比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

2.2.4 佤族组 VDR Fok I 基因型频率与其他民族比较 选取各少数民族研究结果较多的 VDR Fok I 位点,将本研究的佤族统计结果与其他研究组的统计结果进行比较分析,发现普洱地区佤族与大理地区汉族、阿昌族、傈僳族、蒙古族的基因型频率之间差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 4。本研究还发现,普洱地区汉族与大理地区汉族之间,VDR Fok I 基因型频率比较,差异也有统计学意义($P<0.05$),见表 5。

表 2 汉族组 VDR 各位点基因型 Hardy-Weinberg 平衡分析

频数	Apa I			χ^2	P	频数	Fok I			χ^2	P	频数	Taq I			χ^2	P
	CC	CA	AA				TT	TC	CC				TT	TC	CC		
实际频数	55	38	7	0.016	0.901	实际频数	28	47	25	0.350	0.554	实际频数	91	8	1	2.493	0.114
理论频数	54.76	38.48	6.76			理论频数	26.52	49.96	23.50			理论频数	90.25	9.50	0.25		

表 3 佤族组与汉族组基因型与等位基因分布[n(%)]

基因位点	基因型	汉族组 (n=100)	佤族组 (n=99)	χ^2	P	等位基因	汉族组 (n=100)	佤族组 (n=99)	χ^2	P
Apa I	CC	55(55.0)	53(53.5)	0.045	0.978	C	148(74.0)	145(73.2)	0.03	0.862
	CA	38(38.0)	39(39.4)			A	52(26.0)	53(26.8)		
	AA	7(7.0)	7(7.1)							
Fok I	TT	28(28.0)	28(28.3)	0.228	0.892	T	103(51.5)	105(53.0)	0.093	0.760
	TC	47(47.0)	49(49.5)			C	97(48.5)	93(47.0)		
	CC	25(25.0)	22(22.2)							
Taq I	TT	91(91.0)	95(96.0)	2.414	0.299	T	190(95.0)	194(98.0)	2.603	0.107
	TC	8(8.0)	4(4.0)			C	10(5.0)	4(2.0)		
	CC	1(1.0)	0							

表 4 佤族与其他民族 VDR Fok I 基因型分布比较[n(%)]

研究对象	n	基因型频率			χ^2	P
		TT	TC	CC		
普洱地区佤族	99	28(28.3)	49(49.5)	22(22.2)	—	—
普洱地区汉族	100	28(28.0)	47(47.0)	25(25.0)	0.228	0.892
昆明地区汉族 ^[10]	100	26(26.0)	52(52.0)	22(22.0)	0.158	0.924
大理地区汉族 ^[11]	81	9(10.3)	45(55.6)	27(33.3)	8.724	0.013
大理地区阿昌族 ^[10]	100	47(47.0)	35(35.0)	18(18.0)	7.542	0.023
大理地区白族 ^[11]	81	21(25.9)	42(51.9)	18(22.2)	0.140	0.932
大理地区基诺族 ^[12]	104	26(25.0)	52(50.0)	26(25.0)	0.374	0.830

续表 4 佤族与其他民族 VDR Fok I 基因型分布比较[n(%)]

研究对象	n	基因型频率			χ^2	P
		TT	TC	CC		
大理地区傣族 ^[12]	167	36(21.6)	75(44.9)	56(33.5)	4.161	0.125
大理地区佤尼族 ^[12]	251	37(14.7)	100(39.8)	114(45.4)	18.396	<0.001
大理地区蒙古族 ^[16]	506	86(17.0)	263(52.0)	157(31.0)	7.867	0.020

注：—表示无此项。

表 5 普洱地区汉族与云南其他地区汉族 VDR Fok I 基因型频率比较[n(%)]

研究对象	n	基因型频率			χ^2	P
		TT	TC	CC		
普洱地区汉族 100	28(28.0)	47(47.0)	25(25.0)	—	—	—
昆明地区汉族 100	26(26.0)	52(52.0)	22(22.0)	0.518	0.772	
大理地区汉族 81	9(11.1)	45(55.6)	27(33.3)	7.971	0.019	

注：—表示无此项。

3 讨 论

由于维生素 D 在人体中发挥多种生物学功能,其与各种疾病的发病机制也存在重要的关系,所以 VDR 基因多态性一直是学者研究的热点。近期谭璐等^[13]研究发现,VDR 基因多态性位点与难治性肾病的发生密切相关。韦琴等^[14]发现,VDR 基因多态性与代谢综合征的遗传易感性也关系密切。另外有研究发现,海口地区儿童 VDR 基因多态性与骨密度异常的发生密切相关^[15],而宁夏地区老年女性原发性骨质疏松症患者与 VDR 基因多态性也具有相关性^[16]。还有研究发现,新疆地区汉族、维吾尔族及哈萨克族孕妇发生子痫前期可能与 VDR Fok I 位点基因型相关^[17],而李健等^[18]也研究发现 Fok I 位点多态性与溃疡性结肠炎发生风险相关。

作者查阅文献,综合近年来的 VDR 基因多态性研究结论发现,其不仅与各种疾病的发生关系密切,而且在不同地区、不同民族间也存在着各种差异。另外,少数民族与汉族的 VDR 基因多态性也经常具有显著的差异,如根据阿丽娅等^[19]的研究结果,中国维吾尔族(乌鲁木齐地区)人群 VDR 基因多态性的分布频率,与北京地区汉族人群比较有显著差异($P<0.05$)。陈瑞英等^[20]研究发现,哈萨克族与汉族人群之间 VDR 基因型频率分布比较,差异有显著性意义。全京花等^[21]报道,延边地区朝鲜族儿童 VDR 基因 Fok I 多态性分布频率与云南地区阿昌族、甘肃地区东乡族差异有统计学意义($P<0.05$)。邢少姬等^[22]分析 506 名内蒙古地区蒙古族人群的 VDR Fok I 的基因型和等位基因的分布频率,发现内蒙古地区蒙古族人群与云南地区汉族、阿昌族人群的 VDR 多态性分布频率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。

云南普洱地区处于我国的西南边疆,少数民族众

多,遗传资源丰富。研究本地区不同少数民族 VDR 基因多态性,将有助于更好地掌握本地区遗传资源,为临床研究提供更精准的基因数据。

目前已经发现的 VDR 基因多态性有 20 多种,其中 Apa I、Taq I、Fok I 是研究报道相对较多的位点。本研究首先聚焦于云南地区的佤族群体,为了便于将研究结果与其他地区或民族进行比对,本研究选取了已有较多研究报道的 Apa I、Fok I、Taq I 位点,通过测序后比对分析,发现普洱地区的汉族与佤族人群在 Apa I、Fok I、Taq I 之间没有明显的差异性。但是,云南不同地区的汉族人群 VDR 基因多态性可能存在差异。根据研究结果显示,普洱地区汉族与昆明地区汉族人群 Fok I 位点的基因频率差异不显著,但普洱地区汉族与大理地区汉族人群 Fok I 位点的基因频率差异有统计学意义($P<0.05$)。这可能与各地汉族生活环境、生活方式、遗传等多种因素有关。由于云南各民族人群长期聚居生活,同一个地区的民族可能通过长期的杂居通婚、进化等逐渐发生了地区间基因型的重新整合,从而发生了基因频率的差异化。这可能就导致了同一个民族在不同地区的基因型之间存在差异。

本研究首次获得了普洱地区佤族 VDR 基因多态性位点 Apa I、Fok I、Taq I 的分布频率,丰富了不同民族在基因水平上的遗传信息。另外,根据本研究结果,普洱地区佤族与大理地区阿昌族、佤尼族、蒙古族人群 Fok I 位点的基因频率具有明显差异,但与大理地区白族、基诺族、傣族人群差异不明显。

众多研究表明,VDR 基因多态性存在种族和地域差异,表现出遗传特异性。这提示各少数民族之间的基因多态性具有多样性,在疾病防治、药物代谢、生长发育等医学研究领域,要充分考虑并重视基因多态性所造成的遗传差异,以达到精准防治的目的。

参考文献

[1] 孙良文,黄肖群,黄杰. 维生素 D 及其受体在青少年骨代谢中的作用及对青少年特发性脊柱侧凸患者影响的研究进展[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2017,27(11):1041-1044.

[2] 王丹,张亚男,马尚寅,等. 维生素 D 受体基因多态性与神经系统疾病的关系[J]. 北方药学,

- 2020,17(7):145-148.
- [3] 高卫安,黄烈平,吴金华. 维生素 D 受体基因多态性及儿童免疫力的相关性研究[J]. 中国现代医生,2020,58(32):15-19.
- [4] 马晓莉,杨云振,汪静,等. 维生素 D 受体及基因多态性与肿瘤的研究进展[J]. 宁夏医学杂志,2019,41(3):283-285.
- [5] 郑峰,王福荣,许喆. 维生素 D 受体基因多态性与青海地区藏族绝经后女性骨质疏松性骨折易感性的关系[J]. 中国现代医学杂志,2021,31(20):35-41.
- [6] 李洪,杜小芳,程勇. 老年胸腰段骨质疏松性椎体压缩骨折患者维生素 D 受体基因多态性与其骨密度及半定量分型的相关性分析[J]. 中国骨质疏松杂志,2021,27(8):1174-1178.
- [7] 薛士麟,李姿萱,王冰霜,等. 中国人群维生素 D 受体 rs7975232 和 rs1544410 位点基因多态性与骨质疏松症相关性的 meta 分析[J/CD]. 中华老年骨科与康复电子杂志,2020,6(4):236-242.
- [8] 陈慧敏,萧敏华,孙静,等. 维生素 D 受体基因多态性与妊娠期糖尿病的关系[J]. 实用医学杂志,2021,37(22):2866-2870.
- [9] 严凯,刘意,田慧丽. 维生素 D 受体基因多态性与 2 型糖尿病患者视网膜病变的相关性分析[J]. 国际眼科杂志,2020,20(8):1405-1408.
- [10] 李继梅,卢华君,李海林,等. 阿昌族与汉族维生素 D 受体基因 Fok 多态性[J]. 中华医学遗传学杂志,2003,20(4):47-49.
- [11] 刘正理,张朋,孟祥科,等. 云南大理地区汉族和白族 VDR 基因 Fok I、Dde I 位点多态性分布[J]. 广东医学,2019,40(10):1424-1427.
- [12] 高建梅,姚瑶,张桂前,等. 云南三民族人群 VDR 基因多态性与 HBV 感染的相关性[J]. 实用医学杂志,2012,28(9):1535-1537.
- [13] 谭璐,史瑞明,吴红艳,等. 维生素 D 受体基因多态性与儿童难治性肾病的相关性研究[J]. 中国妇幼保健研究,2022,33(8):12-17.
- [14] 韦琴,史卫卫,杨语嫣,等. 维生素 D 受体基因多态性与代谢综合征相关性的 meta 分析[J]. 河北医科大学学报,2022,43(3):280-285.
- [15] 莫少伟,黄晓燕,林师静. 海口地区 0~6 岁儿童 25 羟维生素 D 水平及维生素 D 受体基因多态性与骨密度关联性分析[J]. 华南预防医学,2022,48(4):403-406.
- [16] 马宗军,吴鹏,丁小力,等. 宁夏地区老年女性原发性骨质疏松症维生素 D 受体基因多态性研究[J]. 宁夏医学杂志,2022,44(4):296-298.
- [17] 李祥雯,李晶,朱启英. 新疆地区汉族、维吾尔族及哈萨克族孕妇维生素 D 受体基因多态性与子痫前期风险的相关性[J]. 中国性科学,2021,30(8):51-55.
- [18] 李健,张瀚祥,高鸿亮. 维生素 D 受体基因多态性与溃疡性结肠炎相关性的 meta 分析[J]. 胃肠病学,2021,26(10):604-610.
- [19] 阿丽娅,陈瑞英,冷兴文,等. 我国维吾尔族维生素 D 受体基因多态性分布的研究[J]. 解放军保健医学杂志,2000,2(3):21-22.
- [20] 陈瑞英,冷兴文,阿丽娅,等. 我国哈萨克族与汉族维生素 D 受体基因多态性的分布[J]. 第四军医大学学报,2001,22(8):757-758.
- [21] 全京花,鲁衍强,李瑛,等. 延边地区朝鲜族儿童维生素 D 受体基因 Fok I 位点多态性研究[J]. 中国儿童保健杂志,2015,23(4):351-353.
- [22] 邢少姬,周立社,许秀举. 蒙古族人群维生素 D 受体基因 Fok I 多态性[J]. 中华医学遗传学杂志,2006,23(2):236-237.

(收稿日期:2023-01-08 修回日期:2023-05-21)

(上接第 2908 页)

- [15] LIANG H T, WANG O, CHENG A F, et al. Jintiane combined with alfacalcidol improves muscle strength and balance in primary osteoporosis: A randomized, double-blind, double-dummy, positive-controlled, multicenter clinical trial[J]. J Orthop Translat, 2022, 35: 53-61.
- [16] ZHANG F, WANG Z, SU H, et al. Effect of a home-based resistance exercise program in elderly participants with osteoporosis: A randomized controlled trial[J]. Osteoporos Int, 2022, 33(9):1937-1947.
- [17] LINHARES D G, BORBA-PINHEIRO C J, DE CASTRO J B P, et al. Effects of multicomponent exercise training on the health of older women with osteoporosis: A systematic review and meta-analysis[J]. Int J Environ Res Public Health, 2022, 19(21):14195.

(收稿日期:2023-06-11 修回日期:2023-06-25)