

上海地区汉族人 5-HT_{2a} 受体基因 T102C 多态性的基因频率分布

罗星光¹⁾ 江三多²⁾ 江开达¹⁾ 顾牛范¹⁾ 林嗣萃²⁾ 钱伊萍²⁾

(1. 上海医科大学精神医学教研室, 上海 200032)

(2. 上海市精神卫生研究所遗传室, 上海 200030)

摘要 为了揭示中国汉族人 5-HT_{2a} 受体基因 T102C 多态性基因频率的分布, 我们随机抽取了 226 例汉族健康人作研究, 用限制性片段长度多态性(RFLPs)技术测定研究对象的基因型和等位基因。结果发现汉族正常人 5-HT_{2a} 受体基因 T102C 多态性基因型频率依次为: A1/A2=0.5044, A1/A1=0.2965, A2/A2=0.1991, 两种等位基因频率依次为: A1=0.5487, A2=0.4513, 杂合度 H=0.5044, 期望杂合度 h=0.4953, 多态信息量 PIC=0.3726, 表明 T102C 多态性具有合适信息, 对疾病的关联研究、法医学鉴定有一定的价值。

关键词 中国汉族人, 5-HT_{2a} 受体基因, T102C 多态性

中图分类号 Q39

A Study of the Distribution about Genotype and Allele Frequencies of T102C Polymorphism in the 5-HT_{2a} Receptor Gene in Chinese Han Population in Shanghai

LUO Xingguang¹⁾ JIANG Sanduo²⁾ JIANG Kaida¹⁾
GU Niufan¹⁾ LIN Sicui²⁾ QIAN Yiping²⁾

(1. Department of Psychiatry, Shanghai Medical University, Shanghai 200032)

(2. Institute of Genetics, Shanghai Mental Health Center, Shanghai 200030)

Abstract To investigate the distribution about genotype and allele frequencies of T102C polymorphism in the 5-HT_{2a} receptor gene in Chinese Han population, the genotypes and alleles of 226 healthy person were examined with Restriction Fragment Length Polymorphisms(RFLPs) technique. The genotype frequencies are as follows: A1/A2=0.5044, A1/A1=0.2965, A2/A2=0.1991, respectively, and the allele frequencies are as follows: A1=0.5487, A2=0.4513, respectively. The heterozygosity(H) is 0.5044, the expected heterozygosity(h) is 0.4953, and the Polymorphism Information Content(PIC) is 0.3726. Our findings suggest that the T102C polymorphism in 5-HT_{2a} receptor gene may have suitable information to be used for association study or forensic identification.

Key words 5-HT_{2a} receptor gene, T102C polymorphism, Chinese Han population

5-HT_{2a} 受体基因定位于第 13 号染色体长臂 14-21 区(13q14-21), 大小约 20kb, 包含 3 个外显子和两个内含子⁽¹⁾。用双脱氧链终止法研究, 学者已经确定出人类的 5-HT_{2a} 受体基因的全序列。迄今为止, 在 5-HT_{2a} 受体基因上共发现 5 种 DNA 多态性⁽²⁻⁴⁾, 即 2 种静息多态性(silent polymorphism)T102C(即第 102 位碱基出现 T、C 置换)和 C516T(即第 516 位碱基出现 T、C 置换), 3 种结构多态性(structure polymorphism)Thr25Asn(即第 25 位氨基酸出现 Thr、Asn 置换)、His452Tyr(即第 452 位氨基酸出现 His、Tyr 置换)和 Ala447Val(即第 447

位氨基酸出现 Ala、Val 置换)。它们的突变率分别为 $T102C \approx 60\%$ 、 $C516T < 2\%$ 、 $Thr25Asn < 2\%$ 、 $His452Tyr \approx 9\%$ 、 $Ala447Val < 3\%$ 。多态性 $T102C$ 、 $Thr25Asn$ 均是位于第一外显子的第一部分, 多态性 $C516T$ 位于第二外显子, 多态性 $Ala447Val$ 、 $His452Tyr$ 均是位于第三外显子。其中 $T102C$ 多态性的突变率最高, 它最具有病理生理意义及研究应用价值。

许多研究已证实 $5-HT2a$ 受体参与多种疾病的病理机制^(5,6), 还与多种药物的作用机制有关⁽²⁾。因此有文献认为, 这些疾病的易感性及药物疗效的个体差异与病人脑内的 $5-HT2a$ 受体变异体的不同有关, 而 $5-HT2a$ 受体变异体的不同正是由 $5-HT2a$ 受体基因的各种多态性所决定的。本研究的目的是要对我国汉族人的 $5-HT2a$ 受体基因 $T102C$ 多态性的基因频率分布特征作一初步了解。

1 材料与方法

1.1 样本资料

从上海市人群中随机抽取 226 名互不相关的正常健康人, 所有研究对象均为中国汉族人, 均无神经系统、精神系统及其它重大躯体疾病, 均无神经、精神病家族史, 年龄 20~72 岁, 平均年龄 38.3 ± 12.0 岁, 其中男性 20~72 岁, 平均年龄 40.7 ± 12.1 岁, 女性 20~69 岁, 平均年龄 36.4 ± 11.7 岁。

1.2 基因型检测

主要采用限制性片段长度多态性(RFLPs)技术: 先对研究对象采静脉血 2ml, 提取 DNA, PCR 扩增, 扩增后的产物(342bp)用内切酶 $MspI$ 酶切, 酶切产物在 1.5% 琼脂糖凝胶 (EB 染色) 上电泳以观察片段分布及大小。若 DNA 第 102 位上碱基是 T, 则 PCR 产物不能被切开, 所研究对象等位基因为 $A1$; 若 DNA 第 102 位上碱基是 C, 则 PCR 产物被切成两个片段(216bp+126bp), 所研究对象等位基因为 $A2$; 当两条染色体上等位基因均为 $A1$ 时, 判定该个体基因型为 $A1/A1$, 当两条染色体上等位基因均为 $A2$ 时, 判定该个体基因型为 $A2/A2$, 当两条染色体上等位基因分别为 $A1$ 、 $A2$ 时, 判定该个体基因型为 $A1/A2$ 。

本研究所用的引物为: $5'-TCTGCTACAAGTTCTGGCTT-3'$, $5'-CTGCAGCTTTTCTCTAGG G-3'$ 。PCR 反应液组份包含: $1\mu g$ DNA, 10 倍的 PCR 缓冲液 $1.5\mu l$, $200\mu M$ dNTPs, 引物各 $12pm$, Taq DNA 聚合酶 2U, $8\mu l$ H_2O , 总反应液 $15\mu l$ 。PCR 反应条件: 混合液先 $94^\circ C$ 预处理 3 分钟, 再($94^\circ C$ 30 秒, $62^\circ C$ 30 秒, $72^\circ C$ 1 分钟) $\times 35$ 个循环后 $72^\circ C$ 延伸 5 分钟。每 $10\mu l$ PCR 产物在 $37^\circ C$ 恒温箱中用 10 U 的内切酶 $MspI$ 酶切过夜。基因型由至少两个人共同观测来确定。

1.3 数据处理

所得资料用 χ^2 检验统计分析。

2 结果

2.1 中国汉族正常人 $5-HT2a$ 受体基因 $T102C$ 多态性的基因型及等位基因频率分布

中国汉族正常人 $5-HT2a$ 受体基因 $T102C$ 多态性共有 3 种基因型, 它们频率大小依次为: $A1/A2 = 0.5044$, $A1/A1 = 0.2965$, $A2/A2 = 0.1991$; 两种等位基因频率大小依次为: $A1 = 0.5487$, $A2 = 0.4513$ (表 1)。

2.2 Hardy-Weinberg 平衡的吻合度检验⁽⁷⁾

经 χ^2 检验表明, 中国汉族正常人基因型计数的观察值和期望值吻合良好, 符合 Hardy-Weinberg 平衡法则 (见表 1)。

2.3 杂合度(H)、期望杂合度(h)和多态信息量(PIC)的计算

根据 Nei⁽⁸⁾ 公式计算得: 杂合度 $H = 0.5044$, 期望杂合度 $h = 0.4953$ 。H 和 h 之间无显著差异 ($\chi^2 = 0.00$, $P > 0.05$)。

根据 Botstein⁽⁹⁾ 公式计算得: 多态信息量 $PIC = 0.3726$ 。

表 1 中国汉族正常人 5-HT_{2a} 受体基因 T102C 多态性的基因型及等位基因频率分布

群 体	基因型计数及频率			等位基因频率		H-W 平衡检验	
	A1/A1	A1/A2	A2/A2	A1	A2	χ^2 值	P 值
中国汉族人	67(0.2965)	114(0.5044)	45(0.1991)	0.5487	0.4513	0.04	>0.8

3 讨 论

精神分裂症和情感性障碍是精神疾病中最常见的两大疾病,近年有研究发现这两种疾病的病因与 5-HT_{2a} 受体基因 T102C 多态性相关联^[5,6]。虽然 5-HT_{2a} 受体基因上第 102 位碱基 T、C 的置换实际上并不改变所编码的蛋白的氨基酸结构,它本身不可能是这两种疾病的直接病因,不过它可以通过影响 5-HT_{2a} 受体基因的激活、或是通过影响 5-HT_{2a} 受体二级结构的翻译、mRNA 的稳定性,从而改变 5-HT_{2a} 受体的功能或表达水平;它也可以与疾病真正的致病基因连锁,而这个致病基因是在 5-HT_{2a} 受体基因的其它可能影响受体功能或表达水平的调节区上(如在它的起动机、增强子、或抑制子上),或在一个与 T102C 多态位点邻近的基因上。所以, T102C 多态性在疾病的病因研究中具有重要的价值,了解 T102C 多态性的基因频率在人群中的分布具有重要的意义。

本研究结果表明:汉族正常人 5-HT_{2a} 受体基因 T102C 多态性基因型频率依次为: A1/A2=0.5044, A1/A1=0.2965, A2/A2=0.1991; 两种等位基因频率依次为: A1=0.5487, A2=0.4513。基因型的观察值和期望值符合 Hardy-Weinberg 平衡法则,吻合良好。杂合度 $H=0.5044$ 、期望杂合度 $h=0.4953$ 、多态信息量 $PIC=0.3726$, 表明 T102C 多态性具有合适信息,对疾病的关联研究有一定的价值。

我们把本研究中汉族正常人 5-HT_{2a} 受体基因的基因型及等位基因频率分布与日本正常人^[5]、欧洲正常白人^[6]的基因型及等位基因频率分布作比较,发现汉族人与日本人的基因型及等位基因频率分布特性相似($P>0.05$),而与欧洲白人则存在着极显著的差异($P<0.01$),即汉族正常人 A1 等位基因、A1/A1 基因型频率明显占优势,而正常欧洲白人 A2 等位基因、A2/A2 基因型频率明显占优势。这种差异进一步揭示了汉族人群中 T102C 多态性的特点。在疾病的关联研究、法医的个人识别、亲子鉴定中应充分考虑到这种种族差异性。

参 考 文 献

- 1 Ishigaki T, Xie D W, Liu J C *et al.* Intact 5-HT_{2a} receptor exons and the adjoining intron regions in schizophrenia. *Neuropsychopharmacology*, 1996, 14(5): 339~347
- 2 Arranz M, Collier D, Sodhi M *et al.* Association between clozapine response and allelic variation in 5-HT_{2a} receptor gene. *Lancet*, 1995, 346: 281~282
- 3 Nothen M M, Rietschel M, Erdmann J *et al.* Genetic variation of the 5-HT_{2a} receptor and response to clozapine. *Lancet*, 1995, 346: 908~909
- 4 Malhotra A K, Goldman D, Ozaki N *et al.* Lack of association between polymorphisms in the 5-HT_{2a} receptor gene and the antipsychotic response to clozapine. *Am. J. Psychiatry*, 1996, 153: 1092~1094
- 5 Zhang H Y, Ishigaki T, Tani K *et al.* Serotonin_{2A} Receptor Gene Polymorphism in Mood Disorders. *Biological Psychiatry*, 1997, 41:768~773
- 6 Williams J, Spurlock G, McGuffin P *et al.* Association between schizophrenia and T102C polymorphism of the 5-hydroxytryptamine type 2a-receptor gene. *Lancet*, 1996, 347: 1294~1296
- 7 杜传书,刘祖洞主编.医学遗传学.北京:人民卫生出版社,1983,262~265
- 8 Nei M, Roychoudhury A K. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics*, 1974, 6: 379~390
- 9 Botstein D *et al.* Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am. J. Hum. Genet.*, 1980, 32: 314~331

1997-12-26 收稿,1998-03-04 修回.