

网络出版时间: 2020-8-21 15:26 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20200820.1450.019.html>

MALAT1 基因 rs619586、 rs7927113 位点多态性在广西人群的分布

王艳¹, 刘纯宏¹, 谭 昱¹, 雷 茗¹, 黄艳云¹, 蓝 艳², 韦叶生³

摘要 目的 研究转移相关的肺腺癌转录物 1 (MALAT1) 基因 rs619586、rs7927113 位点单核苷酸多态性 (SNPs) 在广西健康人群的分布特点, 比较多态性在不同人群的分布差异。方法 选用 SNPscan 技术检测 195 例广西人群 MALAT1 的多态性, 统计分析基因型和等位基因频率与人类基因组单体型图 (HapMap) 中的北京汉族人群 (CHB)、日本东京人群 (JPT)、欧洲人群 (CEU) 和非洲人群 (YRI) 数据间的差异。结果 广西人群 rs619586 位点存在 AA (78.5%)、AG (21.5%) 基因型, A、G 等位基因频率分别为 89.2%、10.8%。rs7927113 位点存在 GG (97.4%)、AG (2.6%) 基因型, G、A 基因频率为 98.7%、1.3%。两位点多态性在男女样本的分布差异无统计学意义 ($P > 0.05$); rs619586 位点多态性同 HapMap-JPT、HapMap-CEU、HapMap-YRI 的差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而 rs7927113 位点多态性同 HapMap-YRI 的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 广西人群 MALAT1 基因 rs619586、rs7927113 位点均存在少量突变, 同其它区域数据有不同程度的差异, 为当地 MALAT1 基因相关疾病的遗传分析奠定基础。

关键词 MALAT1; 基因多态性; 广西人群

中图分类号 R 394

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)09-1421-05
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.09.020

转移相关的肺腺癌转录物 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) 是位于染色体 11q13.1, 长度约为 8kb 的长链非编码 RNA。该基因在哺乳动物的组织和细胞中稳定表达, 参与基因剪切、转录前后调控, 与突触形成、骨骼肌发生、血管生长等生理功能相关^[1]。新近研

究^[2-3]显示 MALAT1 在多发性硬化、肝癌等疾病中存在异常表达, 且其多态性影响疾病风险, 预示 MALAT1 多态性有望成为相关疾病的新生物靶标。但遗传变异是地理位置、饮食习惯、种族民族等多重效应的结合, 在推广应用前, 需先了解当地正常人群的多态性特征。目前, 广西正常人群 MALAT1 基因 rs619586 和 rs7927113 遗传多态性未见报道。由此, 该实验通过 SNPscan 技术检测 rs619586、rs7927113 位点多态性, 并与人类单倍体型图 (haplotype map, HapMap) 计划公布的数据比较, 旨在探究 MALAT1 多态性在不同地区的分布, 为 MALAT1 相关疾病提供群体遗传学基础数据。

1 材料与方法

1.1 病例资料 2018 年 6~11 月, 从右江民族医学院体检中心随机纳入 195 例体检人员, 男 104 例、女 91 例, 年龄 20~79 (41.79 ± 12.13) 岁。纳入标准: 样本来源地为居住地与籍贯均为广西且无血缘关系; 各项实验室检查指标合格, 排除心、肝、肾、肿瘤以及遗传免疫等疾病。研究方案已在本院伦理委员会备案, 研究对象均同意采集血液样本参与实验。

1.2 主要仪器与试剂 JY02S 型紫外分析仪 (北京君意东方公司); 人类基因组 DNA 提取试剂盒 (北京天根生化科技有限公司); S100 型 Thermal Cycler 扩增仪 (美国 Bio-Rad 公司); 人 86SNP 位点 SNPscan 检测试剂盒 (上海天昊生物科技有限公司); ABI3500 型 Genetic Analyzer 分析仪 (美国 ABI 公司)。

1.3 方法

1.3.1 样本 DNA 制备 采集空腹静脉血 3 ml 于 EDTA-K2 紫帽采血管。按照北京天根公司离心柱法说明书规范提取 DNA 样本, 并分装储存, 放置 -20℃ 备用。所提 DNA 样本经紫外分光光度检测并筛选吸光度 (optical density, OD)_{260/280} 值 1.7~2.0, 浓度 20~50 ng/μl 的合格 DNA 用于基因分型。

1.3.2 引物设计与合成 通过美国国立生物技术信息中心 (national center for biotechnology informa-

2020-06-05 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81560552); 自治区本级财政科技计划项目 (编号: 2018AB58018); 广西自然科学基金 (编号: 2018GXNSFAA138120)

作者单位: 右江民族医学院附属医院¹ 检验科、² 皮肤科, 百色 533000

³ 桂林医科大学第一附属医院检验科 桂林 541000

作者简介: 王 艳, 女, 硕士, 检验师;

蓝 艳, 女, 硕士, 主任医师, 责任作者, E-mail: yylanyan@163.com

tion ,NCBI) 选取包含 rs619586、rs7927113 位点适宜长度的 DNA 片段,选择 DNA 序列,输入 Primer Premier 3.0 在线软件设计引物,由上海天昊公司合成引物序列。目标位点 rs619586A/G 的 SNPscan 法等位基因鉴别引物长度 28 bp,序列分别为 5'-CACTTCTTGTGTTCTCTTGAGGGACTGT-3', 5'-CACTTCTTGTGTTCTCTTGAGGGACTGC-3',通用引物长度 30 bp,序列为 5'-AGGTATAGTTTACCACCTTTTGAAGGAAGA-3'。rs7927113 位点等位基因引物鉴别长度为 20 bp,序列分别为 5'-TGTGGCCTTGGCACA CTG-3', 5'-TGTGGCCTTGGCACA CTG-3',通用引物长度 24 bp,序列为 5'-ATGCTGCTCTAGGATCCTCTACGC-3'。

1.3.3 SNPscan 分型检测 严格按照人 86SNP 位点 SNPscan 检测定制试剂盒使用说明书操作,目标位点基因型由 Gene Mapper 软件质量控制并读取。

1.4 统计学处理 采用 Hardy-Weinberg 分析样本群体的遗传代表性($P > 0.05$ 提示群体遗传平衡)。采用 SPSS 20.0 软件的行×列表和四格表资料的 χ^2 检验对计数资料(基因型和等位基因)统计分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MALAT1 基因 rs619586、rs7927113 位点多态性 测序表明,rs619586 位点存在 A 到 G 少量变异,AA(78.5%)、AG(21.5%)2 种基因分型,等位基因 A、G 频率为 89.2%、10.8%。rs7927113 位点存在极少量 G 到 A 突变,基因型为 GG(97.4%)、AG(2.6%)2 种,等位基因 G、A 频率为 98.7%、1.3%。基因测序图如图 1、2。

2.2 广西人群 MALAT1 基因 rs619586、rs7927113 位点多态性分布 样本人群两目标位点基因型数据满足哈迪-温伯格平衡法则(hardy-weinberg equilibrium, HWE), P 为 0.092、0.856,样本群体选择有效。rs619586 A/G 和 rs7927113 G/A 的基因型在男女样本的分布差异无统计学意义,见表 1。

2.3 广西人群 MALAT1 基因 rs619586、rs7927113 位点多态性与其他人群的比较 广西健康人群 MALAT1 rs619586 位点基因型、等位基因分布频率同 HapMap-JPT、HapMap-CEU、HapMap-YRI 的差异有统计学意义($P < 0.05$);rs7927113 位点基因型与等位基因分布同 HapMap-YRI 的差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2、3。

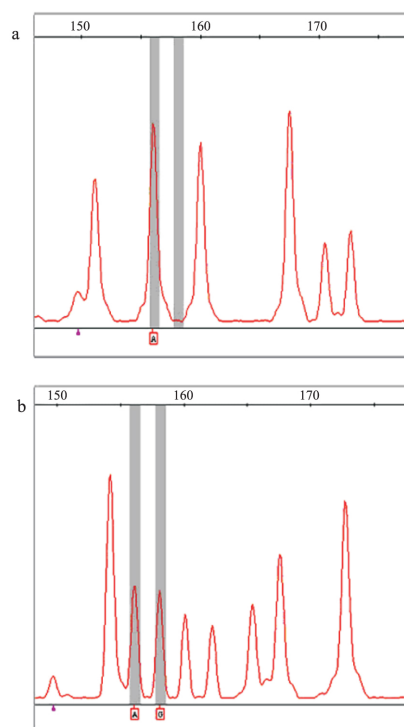


图1 MALAT1 基因 rs619586 位点测序图
a: AA 基因型; b: AG 基因型; 灰色柱状为目标峰处

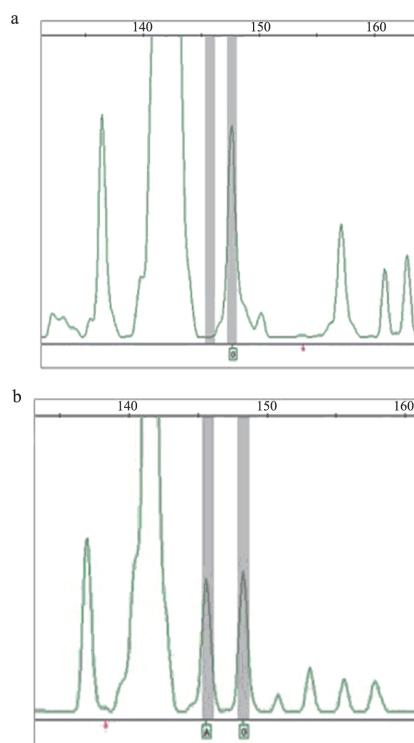


图2 MALAT1 基因 rs7927113 位点测序图
a: GG 基因型; b: AG 基因型; 灰色柱状为目标峰处

表1 广西人群 MALAT1 基因 rs619586、rs7927113 位点基因型分布

项目	n	基因型频率[n(%)]			等位基因频率[n(%)]	
		AA	AG	GG	A	G
rs619586						
男性	104	82 (78.8)	22 (21.2)	—	186 (89.4)	22 (10.6)
女性	91	71 (78.0)	20 (22.0)	—	162 (89.0)	20 (11.0)
总数	195	153 (78.5)	42 (21.5)	—	348 (89.2)	42 (10.8)
统计		$\chi^2 = 0.020 / P = 0.889$			$\chi^2 = 0.017 / P = 0.896$	
rs7927113						
男性	104	—	4 (3.8)	100 (96.2)	4 (1.9)	204 (98.1)
女性	91	—	1 (1.1)	90 (98.9)	1 (0.5)	181 (99.5)
总数	195	—	5 (2.6)	190 (97.4)	5 (1.3)	385 (98.7)
统计		$P = 0.374^*$			$P = 0.377^*$	

* 为 Fisher 精确概率法

表2 广西人群 rs619586、rs7927113 位点基因型分布与其他人群的比较

项目	n	基因型频率[n(%)]			HWE(P)	χ^2	P
		AA	AG	GG			
rs619586							
广西人群	195	153(78.5)	42(21.5)	—	0.092		
HapMap-CHB	103	80(77.7)	23(22.3)	—	0.202	0.025	0.875
HapMap-JPT	104	94(90.4)	10(9.6)	—	0.607	6.711	0.010
HapMap-CEU	99	90(90.9)	9(9.1)	—	0.636	7.096	0.008
HapMap-YRI	108	106(98.1)	2(1.9)	—	0.923	21.702	<0.001
rs7927113							
广西人群	195	—	5(2.6)	190(97.4)	0.856		
HapMap-CHB	103	—	2(1.9)	101(98.1)	0.921	—	1.000*
HapMap-JPT	104	—	4(3.8)	100(96.2)	0.842	—	0.724*
HapMap-CEU	99	—	—	99(100)	—	—	0.172*
HapMap-YRI	108	2(1.9)	34(31.5)	72(66.7)	0.049	—	<0.001*

* 为 Fisher 精确概率法; HapMap: 人类单倍体图; CHB: 北京汉族人群; JPT: 日本东京人群; CEU: 欧洲人群; YRI: 非洲人群

表3 广西人群 rs619586、rs7927113 位点等位基因频率与其他人群的比较

项目	n	等位基因频率[n(%)]		χ^2	P
		A	G		
rs619586					
广西人群	390	348 (89.2)	42(10.8)		
HapMap-CHB	206	183(88.8)	23 (11.2)	0.022	0.883
HapMap-JPT	208	198(95.2)	10(4.8)	6.072	0.014
HapMap-CEU	198	189(95.5)	9(4.5)	6.422	0.011
HapMap-YRI	216	214(99.1)	2(0.9)	20.002	<0.001
rs7927113					
广西人群	390	5(1.3)	385(98.7)		
HapMap-CHB	206	2(1.0)	204(99.0)	—	1.000*
HapMap-JPT	208	4(1.9)	204(98.1)	—	0.507*
HapMap-CEU	198	—	198(100.0)	—	0.174*
HapMap-YRI	216	38(17.6)	178(82.4)	56.098	<0.001

* 为 Fisher 精确概率法; HapMap: 人类单倍体图; CHB: 北京汉族人群; JPT: 日本东京人群; CEU: 欧洲人群; YRI: 非洲人群

3 讨论

MALAT1 又被称为复核集常染色体转录产物 2 (nuclear-enriched autosomal transcript 2 , NEAT2) , 由

核糖核酸酶 P(ribonuclease P , RNaseP) 和核糖核酸酶 Z(ribonuclease Z , RNaseZ) 识别并切割成 2 个 RNA: 定位于核内的 RNA 和胞质的 tRNA 样小 RNA , 成熟的 MALAT1 转录本定位在核斑区 , 且 3'

端的三螺旋结构高度稳定。最初, MALAT1 在肺癌中被鉴定, 但新的证据^[4-6]表明 MALAT1 可通过海绵 miRNAs 调控 mRNA 表达, 参与染色质修饰、调节多种信号通路, 与多种癌症、动脉粥样硬化等疾病相关联, 意味着 MALAT1 有望成为重要的潜在治疗靶点。

单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNPs) 包括转换和颠换 2 种方式, 已成为探究疾病进展预后的重要途径, 如在女性和 HBV 阴性亚组中, MALAT1 基因 rs591291 TC 突变型的肝癌患者预后更好^[3]。此外, 药物代谢相关酶的 SNPs 不同, 药物在人群的代谢也存在差异^[7]。在遗传学中近距离的基因易形成连锁, 标签单核苷酸多态性 (tag single nucleotide polymorphism, Tag SNP) 即代表着同一片段内所有 SNP 的类型, rs619586 A/G、rs7927113 G/A 作为 MALAT1 基因的 Tag SNP, 可提高研究效率, 对 MALAT1 相关疾病研究有重要意义。

关于 rs7927113 位点, 目前的研究报道较少, Peng et al^[8]在乳腺癌中探究了该位点, 尚未发现其与乳腺癌风险的关联。而 rs619586 位点的相关报道逐渐增多。例如, rs619586 G 等位基因可能通过结合 miR-214, 下调 MALAT1 基因表达、影响其结构以及功能进而调节乳腺癌、甲状腺癌风险^[8-9]。在 rs619586 相关的肝癌研究中, Yuan et al^[10]在台湾人群 (<55 岁) 中发现 rs619586 A > G 突变可降低肝癌风险, Ji et al^[11]在广东人群中证实 rs619586 在任何模型下与肝癌风险均不相关。此外, 有学者^[12-13]报道 rs619586 变异不是缺血性脑卒中和冠心病风险的影响因子。而 Wang et al^[14]针对云南人群的研究得出 rs619586 G 等位基因可降低冠心病风险。这些争议性结论可能与样本遗传背景不同有关, 提示有必要进行细化至地区的多态性研究。

本研究显示, MALAT1 基因 rs619586、rs7927113 位点 SNPs 在广西人群性别间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。进一步将实验数据与 HapMap 数据库对比得出: rs619586 位点在中国 (广西与北京) 的 A > G 突变频率高于日本、欧洲、非洲地区, 该位点 AA、AG 基因型以及等位基因 A、G 频率与北京人群差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 与日本、欧洲以及非洲的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。这可能与地域背景相关, 众所周知, 广西是中国西南的多民族聚居之地, 气温高雨量足, 饮食结构特殊。同北京汉族人群种族一致, 与日本虽同属亚洲人群, 但在饮食结

构、气候海拔以及生活习性等存在差异。而与欧洲、非洲的族群差异明显, 亲缘较远, 多态性的分布差异也更为明显。关于 rs7927113 位点, 广西地区存在极少量 G > A 突变, 野生基因型 GG 居主导地位。而 HapMap-YRI 人群的 G > A 突变普遍, 存在 GG、AG、AA 3 种基因型, 与广西人群多态性的差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。除上述遗传背景差异外, 非洲人群高生育的生殖因素影响突变的累积效应, 也可能是其原因之一。实验结果证实了 MALAT1 在不同地区的突变效应不尽相同, 这可能是同种疾病在不同区域间疾病风险不同的原因之一, 突出了探索当地多态性对精准医疗的价值。

综上, 本次针对广西本土健康人群的 MALAT1 rs619586 A/G、rs7927113 G/A 位点的遗传学研究, 是探究 MALAT1 基因 SNPs 在疾病中发挥作用的基础。实验数据丰富广西区域基因数据库, 对当地相关疾病的防治工作有一定指导意义。当然, 本研究仍存在局限, 如样本来源较单一, 可能影响抽样误差。此外, 广西的各民族间通婚普遍, 父母双方常存在民族不一现象, 所以尚未进行多态性与民族类别的细分。将来应进行多中心、前瞻性的研究, 进一步探讨民族、饮食结构等环境人口因素对多态性的影响。

参考文献

- [1] Zhang X, Hamblin M H, Yin K J. The long noncoding RNA malat1: its physiological and pathophysiological functions [J]. *RNA Biol* 2017, 14(12): 1705-14.
- [2] Eftekharian M M, Noroozi R, Komaki A, et al. MALAT1 genomic variants and risk of multiple sclerosis [J]. *Immunol Invest* 2019, 48(5): 549-54.
- [3] Wang B G, Xu Q, Lv Z, et al. Association of twelve polymorphisms in three onco-lncRNA genes with hepatocellular cancer risk and prognosis: A case-control study [J]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(23): 2482-90.
- [4] Cremer S, Michalik K M, Fischer A, et al. Hematopoietic deficiency of the long noncoding RNA MALAT1 promotes atherosclerosis and plaque inflammation [J]. *Circulation* 2019, 139(10): 1320-34.
- [5] Ye Y, Zhang F, Chen Q, et al. LncRNA MALAT1 modified progression of clear cell kidney carcinoma (KIRC) by regulation of miR-494-5p/ACVR2B signaling [J]. *Mol Carcinog* 2019, 58(2): 279-92.
- [6] Kim J, Piao H L, Kim B J, et al. Long noncoding RNA MALAT1 suppresses breast cancer metastasis [J]. *Nat Genet* 2018, 50(12): 1705-15.
- [7] 余光辉, 周洁, 叶舒慧, 等. 江西地区心脑血管患者

- CYP2C19 基因多态性检测[J]. 安徽医科大学学报, 2019, 54(3): 462–5.
- [8] Peng R, Luo C, Guo Q, et al. Association analyses of genetic variants in long non-coding RNA MALAT1 with breast cancer susceptibility and mRNA expression of MALAT1 in Chinese Han population[J]. *Gene* 2018, 642: 241–8.
- [9] Wang M L, Liu J X. MALAT1 rs619586 polymorphism functions as a prognostic biomarker in the management of differentiated thyroid carcinoma[J]. *J Cell Physiol* 2019, 235(2): 1700–10.
- [10] Yuan L T, Chang J H, Lee H L, et al. Genetic variants of lncRNA MALAT1 exert diverse impacts on the risk and clinicopathologic characteristics of patients with hepatocellular carcinoma[J]. *J Clin Med* 2019, 8(9): 1406.
- [11] Ji X, Zhang J, Liu L, et al. Association of tagSNPs at lncRNA MALAT1 with HCC susceptibility in a southern Chinese population[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 10895.
- [12] Zhu R, Liu X, He Z. Long non-coding RNA H19 and MALAT1 gene variants in patients with ischemic stroke in a northern Chinese Han population[J]. *Mol Brain* 2018, 11(1): 58.
- [13] Hu W, Ding H, Ouyang A, et al. lncRNA MALAT1 gene polymorphisms in coronary artery disease: a case-control study in a Chinese population[J]. *Biosci Rep* 2019, 39(3): BSR20182213.
- [14] Wang G, Li Y, Peng Y, et al. Association of polymorphisms in MALAT1 with risk of coronary atherosclerotic heart disease in a Chinese population[J]. *Lipids Health Dis* 2018, 17(1): 75.

Distribution characteristics of polymorphisms of rs619586 and rs7927113 at MALAT1 in Guangxi population

Wang Yan, Liu Chunhong, Tan Tan, et al

(Dept of Laboratory Medicine, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities Baise 533000)

Abstract Objective To explore the distribution characteristics of single nucleotide polymorphisms (SNPs) of rs619586 and rs7927113 at metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 (MALAT1) in Guangxi healthy population, and to further compare the distribution differences of polymorphisms among different populations.

Methods The polymorphisms of MALAT1 were genotyped by the SNPscan technology in 195 samples from Guangxi, and statistical methods were used to compare the differences in genotype and allele frequency between Guangxi population and other populations from haplotypemap (HapMap-CHB, HapMap-JPT, HapMap-CEU and HapMap-YRI). **Results** The genotypes of rs619586 included AA (78.5%) and AG (21.5%) in Guangxi population, and the frequencies of A and G allele were 89.2% and 10.8% respectively. Rs7927113 had GG (97.4%) and AG (2.6%) genotypes, and the frequencies of allele were 98.7% and 1.3% for G and A respectively. There was no statistically significant difference in polymorphism of two loci between male and female samples ($P > 0.05$). The genetic polymorphisms of rs619586 in Guangxi population were significantly different from HapMap-JPT, HapMap-CEU and HapMap-YRI ($P < 0.05$). The differences in polymorphism of rs7927113 between Guangxi population and HapMap-YRI were significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The few mutations in MALAT1 rs619586 and rs7927113 in the Guangxi population differ from those of other regions in varying degrees, which lay the groundwork for the genetic analysis of local diseases related to MALAT1 gene.

Key words MALAT1; genetic polymorphism; Guangxi population