

黑素皮质激素受体 1 基因单核苷酸多态性与发色的相关性*

苏 洁, 张 博, 邓亚军[△](华大方瑞司法鉴定中心, 北京 101318)

【摘要】 目的 通过检测人类黑素皮质激素受体 1(MC1R)基因的单核苷酸多态性(SNP)在黑发和非黑发色群体中的分布,探讨 MC1R 基因与发色表型的相关性。方法 采用 DNA 测序技术,选择黑发色和非黑发色人群的 DNA 为样本,对 MC1R 基因进行 SNP 位点检测和分析。结果 MC1R 基因包括 4 个 SNP 位点(T176G、G274A、G488A 和 A942G),各位点等位基因频率分布分别为:176T 和 G 在黑发色人群 0.758 和 0.242,在非黑发色人群 0.817 和 0.183;274A 和 G 在黑发色人群 0.25 和 0.75,在非黑发色人群 0.183 和 0.817;488A 和 G 在黑发色人群 0.675 和 0.325,在非黑发色人群 0.758 和 0.242;942A 和 G 在黑发色人群 0.9 和 0.1,在非黑发色人群 0.933 和 0.067。MC1R 基因基因型和等位基因频率的分布在黑发色和非黑发色之间的差别不具有统计学意义。结论 MC1R 基因多态性与发色间不存在相关性。

【关键词】 黑素皮质激素受体 1 基因; 单核苷酸多态性; 发色

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.13.001 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)13-1537-02

The association of melanocortin receptor 1 gene polymorphism with hair color* SU Jie, ZHANG Bo, DENG Ya-jun[△](Center of Forensic Sciences, Beijing Genomics Institute, Beijing 101318, China)

【Abstract】 Objective To evaluate the relationship between the melanocortin receptor 1 gene (MC1R) and hair color by comparing the single nucleotide polymorphism (SNP) of human with black hair and those with no-black hair. Methods DNA extracted from specimens of human with black and no-black hair were analyzed and sequenced. Results MC1R gene contains 4 SNP points, and the distribution of T176G was T=0.758, G=0.242 in black group and T=0.817, G=0.183 in no-black group. And the distribution of G274A was A=0.25, G=0.75 in black group and A=0.183, G=0.817 in no-black group. And the distribution of G488A was A=0.675, G=0.325 in black group and A=0.758, G=0.242 in no-black group. And the distribution of A942G was A=0.9, G=0.1 in black group and A=0.933, G=0.067 in no-black group. There were no statistically significant differences in the 4 SNP of MC1R gene between the black and no-black hair people. Conclusion There is no relationship between SNP of MC1R gene and hair color.

【Key words】 melanocortin receptor 1 gene; single nucleotide polymorphism; hair color

发色是人类可遗传的表观特征之一,不同群体具有不同的发色,欧洲人群发色以红色和金色为主,亚洲人群发色为黑色,研究不同地区群体的发色基因特异性对个体识别具有重要意义。文献[1]报道黑素皮质激素受体 1(MC1R)基因是影响人类头发颜色 SLC24A5、TYR、OCA2 等众多基因中研究较为清晰的一个。而且 Sulem 等^[2]和 Kane 等^[3]对红色和非红色、棕色和金色发色的欧美人群进行 MC1R 基因扫描,发现 MC1R 基因的 SNP 与红色和金色发色有相关性。较国外研究人员对 MC1R 基因研究,国内对 MC1R 基因的研究仅限于突变情况的探讨,如 Peng 等^[4]报道了中国 4 个少数民族的 MC1R 基因核苷酸多态性,但是没有深入研究基因型与个体表型的相关性。本文对中国人群进行了 MC1R 基因测序和 SNP 调查,比较中国人群中黑色和非黑发色基因型和等位基因频率,以探讨 MC1R 基因与中国人群发色的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 按照国内染发标准比色卡(2 号作为标准黑色,其余颜色为非黑色)随机选择黑色和非黑发色未染发个体各 60 例,年龄 14~61 岁,所有受试者身体健康,无家族少年白发症,均签署书面知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 采集受试者血样、口腔拭子或毛发按照文献[5]chelex-100 方法提取。

1.2.2 PCR 扩增和测序 根据 GenBank 已发布的序列设计扩增 MC1R 基因的特异性引物,P1:5'-gga aga act gtg ggg acc tgg ag -3';P2:5'-taa gga act gcc cag ggt cac ac-3',跨幅约 1 100 bp,其中目的 MC1R 大小 954 bp。反应程序:95 °C,变性 11 min;94 °C,1 min;68.5 °C,1 min;72 °C,1 min,40 个循环;72 °C,延伸 10 min。1.5%琼脂糖凝胶电泳。由北京华大基因组研究院测序。

1.2.3 基因分型 通过 Sequencing Analysis 5.2 软件分析得到 MC1R 基因 SNP 分型。

1.3 统计学方法 采用 SPSS17.0 软件进行统计学比较分析,组间发色基因型分布概率比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MC1R 基因扩增结果 对受试者样本进行 PCR,经 1.5%琼脂糖电泳后,PCR 产物出现明显条带,位于 1 100~1 200 bp,大小与预期相符合(图 1)。

2.2 MC1R 基因序列分析 MC1R 基因 954 bp,编码 317 个氨基酸。MC1R 基因包含 4 个 SNP 位点 T176G、G274A、G488A 和 A942G,176、274 和 488 产生氨基酸非同义突变 V59G、N92V、R163Q;942 发生氨基酸同义突变,群体中共检测到 9 个单倍型,见表 1。

2.3 SNP 基因分布及等位基因频率分析 本文对 MC1R 基

因检测的 4 个 SNP 位点均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($P > 0.05$), 说明样本基因型分布是均匀的, 具有群体代表性。其中 488 和 274 均检测到 3 种基因型 AA、GA、GG, 942 和 176 检测到两种基因型, 分别为 AA、AG 和 TT、TG。黑色组和非黑色组间各 SNP 位点等位基因分布存在差异, 黑色组在 4 个 SNP 位点出现 488G、274A、942G、176G 的概率高于非黑色组, 非黑色组出现 488A、274G、942A、176T 高于黑色组, 见表 2。

2.4 SNP 位点与发色相关性分析 对两组间 4 个 SNP 位点的基因型和等位基因型进行比较, 结果显示在黑色和非黑色发色组间不同位点各基因型和等位基因的差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 4 个 SNP 位点与发色间不存在相关性, 见表 3。

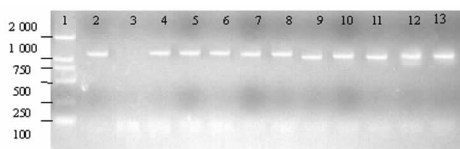
表 1 MC1R 基因序列

项目	176	274	488	942
H01	T	G	G	A
H02	T	G	A	A
H03	T	A	G	A
H04	G	G	G	A
H05	G	G	A	A
H06	T	G	A	G
H07	T	A	G	G
H08	G	G	A	G
H09	G	A	A	A

表 2 SNP 基因分布及等位基因频率

SNP		基因型分布				等位基因频率					
		AA	GA	GG	AG	A	TT	TG	T	A	G
488	黑色	24(0.400)	33(0.550)	3(0.050)	—	—	—	—	—	81(0.675)	39(0.325)
	非黑色	33(0.550)	25(0.417)	2(0.033)	—	—	—	—	—	91(0.758)	29(0.242)
274	黑色	3(0.050)	24(0.400)	33(0.550)	—	—	—	—	—	30(0.250)	90(0.750)
	非黑色	4(0.067)	14(0.233)	42(0.700)	—	—	—	—	—	22(0.183)	98(0.817)
942	黑色	48(0.800)	—	—	12(0.200)	108(0.900)	—	—	—	—	12(0.100)
	非黑色	52(0.867)	—	—	8(0.133)	112(0.933)	—	—	—	—	8(0.067)
176	黑色	—	—	—	—	—	31(0.517)	29(0.483)	91(0.758)	—	29(0.242)
	非黑色	—	—	—	—	—	38(0.633)	22(0.367)	98(0.817)	—	22(0.183)

注: — 表示无数据。



注: 1 为 DNA Maker DL2000; 2 为阳性对照; 3 为阴性对照; 4~13 为 PCR 产物

图 1 DNA 提取物鉴定

表 3 SNP 位点与发色相关性

SNP	基因型			等位基因		
	χ^2	df	P	χ^2	df	P
488	2.725	2	0.256	2.052	1	0.152
274	3.854	2	0.146	1.571	1	0.210
942	0.960	1	0.327	0.873	1	0.350
176	1.671	1	0.196	1.220	1	0.269

3 讨论

MC1R 基因是哺乳动物体内一种控制黑色素合成的主要受体基因^[2-3,6-7], 其基因产物对个体毛发颜色产生重要影响。自 MC1R 基因被发现与人类表现性征有密切关系以来, 研究人员已经对 MC1R 与发色、肤色、眼色等相关性进行了广泛研究, 但是研究对象多是欧美人群, 如 Sulem 等^[2]报道 MC1R 基因两个 T 突变: 451(rs1805007) 和 478(rs1805008) 与红色-非红色、金色-棕色发色, 肤色和雀斑之间具有显著相关性, 然而这两个位点在亚洲人群中都没有发生变异, 说明 MC1R 基因在不同地域存在不同差异。Peng 等^[4]报道了在中国 4 个少数民族中检测到 7 个突变, 但是未深入研究 MC1R 基因型与表型之间的关系。MC1R 基因含有多个碱基突变, 当 MC1R 基因某个碱基突变导致黑色素的合成调控发生变化, 将可能引起

个体间的发色差异。

本文对 120 例中国受试者进行 MC1R 基因调查, 共检测到 4 个 SNP 位点, 其中 274、488、942 与 Peng 等^[4]报道相同, V176G、V274M、R488Q 引起氨基酸非同义突变 V59G、N92V、R163Q、A942G 发生氨基酸同义突变。统计 4 个位点的基因型和等位基因频率结果表明: 黑色组在 4 个 SNP 位点出现 488G、274A、942G、176G 的概率高于非黑色组, 非黑色组出现 488A、274G、942A、176T 高于黑色组。将两个群体的数据进行 χ^2 检验, 以上数值均为 $P > 0.05$, 表示在黑发色人群和非黑发色人群中 4 个 SNP 位点的基因型和等位基因分布差异不具有统计学意义。

本文的研究结果与国内外学者认为 MC1R 基因突变对发色有影响的结论不一致, 分析原因可能包括如下几个方面: 首先, 头发颜色不仅受基因控制, 环境、气候等因素都增加了相关分析的复杂性, 成年个体随着年龄的增长受到外界影响, 体内黑色素的合成水平发生变化, 可能造成个体不同阶段发色差别。其次, MC1R 基因在哺乳动物不同物种间具有高度的同源性, 个别碱基的突变虽然引起氨基酸序列发生变化, 但是蛋白质一级结构发生变化在其折叠时二级构象没有受到突变氨基酸的影响, 导致 MC1R 不影响黑色素的合成, 对个体发色表型也可能不干扰。再次, 黑色素分为真黑色素和伪黑色素, 真黑色素对黑色头发有明显作用, 而伪黑色素对红色和金色头发起重要作用。外国学者报道 MC1R 基因碱基改变使红色-非红色, 棕色-金色发色有区别, 可能是碱基突变只改变了伪黑色素的合成, 对真黑色素无影响, 所以造成本文的结论与外国学者结论不同。最后, 以往的研究表明个体的某一性状表型与某一个基因之间不一定是一一对应关系, 除了 MC1R 基因, Agouti 等其他蛋白对个体发色表型也有影响, 在本文中未对其他蛋白进行调查, 发色是否受到其他蛋白的影响还不清楚。虽然 MC1R 基因不能对于黑发色系间的细微差别(下转第 1540 页)

有 60 例, 占了总数的 13.45%, 见表 2。

2.3 在 443 例血清 TP 阳性的人员构成中, 除了 172 例职业不详者外, 其余以农民为主, 共计 162 例, 占总数的 36.57%, 见表 3。

表 3 443 例抗-TP 阳性患者职业分布情况

项目	工矿企业	农民	商业服务业	机关事业	学生	离退休人员	无业	不详
n	31	162	14	18	2	30	14	172
比例(%)	7.00	36.57	3.16	4.06	0.45	6.77	3.16	38.83

3 讨 论

梅毒是一种常见的性病, 感染早期并无明显症状, 也很难被察觉, 结果梅毒就会悄悄地扩散到全身, 如果不及早治疗有可能导致其他器官病变。而且梅毒还可以通过母亲传播给胎儿, 影响下一代健康。不仅如此, 梅毒患者感染艾滋病的概率也更高, 从而大大增加艾滋病传播的风险^[1]。近年来, 曾经在中国销声匿迹的梅毒如今卷土重来, 而且发病率迅速增加, 成为严重的公共卫生问题。中国疾病预防控制中心性病控制中心与美国北卡大学联合在最新一期《柳叶刀》上发表文章, 指出梅毒在中国的发病率迅速攀升, 早在 1993 年每 10 万人中梅毒的发病数不足 0.2 例, 而到了 2005 年每 10 万人中梅毒感染者达到了 5.7 例, 短短 12 年间梅毒的发病率增长了 28 倍。尽管如此, 研究人员指出, 这个数字还是偏低, 由于存在漏报的情况, 实际发病率可能还会高很多^[2]。

血清 TP-Ab 阳性不一定代表是梅毒患者, 但可能是感染或既往感染。本文通过对本地区来本院部分就诊人员血清中的 TP-Ab 阳性情况进行分析, 发现在现阶段梅毒感染(或既往感染)人员的构成上呈现出新的特点: 一是在年龄段除了仍以 18~60 岁年龄段成人为主外(占总数的 77.88%), 60 岁以上人员的感染率较高(达到总数的 13.54%), 这在以前的文献报道中是较少见的。另一个是在职业分布中以农民为主(占总感染人数的 36.57%)。总共 443 例血清梅毒抗体阳性的检测结果结合临床发现, 女性感染率为 3.89%, 男性感染率为 3.66%, 统计学分析结果显示男女之间感染率差异没有统计学意义。作为一种可治愈的性病, 梅毒可通过价廉、敏感、特异的血清学检测方法做到早期发现、早期诊断、早期治疗。再加上有

针对性的、有效的健康教育, 在一定范围内基本控制梅毒是可行的。因此, 及时对高危人群进行梅毒血清学筛查是有必要的。从感染者年龄构成比发现, 以青壮年为主, 年龄在 18~60 岁, 患者构成复杂, 但是农民性质的人员感染率极高。这可能是随着改革的大潮从田间地头走进城市打工的农民工单身较多, 加之其对健康性生活知识较缺乏, 容易有不洁性生活史, 相对较容易受感染, 而其有关知识的缺乏和相对较差的经济状况以及落后的观念, 又导致了他们未能及时检查和治疗, 结果又容易将性病带回家乡传染给配偶。另一个较突出的问题是老年人梅毒感染率增高, 这在以前的文献报道中较少提及, 由于当前的社会现实和老年人自身健康知识缺乏或是基于面子等观念的原因, 在不洁性生活后, 未能及时检查和治疗, 一旦感染后极易导致其配偶感染, 在本文中有不少老年人血清梅毒阳性结果是来源于其术前检查。从而产生的社会问题也非常严重^[3-4]。

总之, 本地区的梅毒感染处于稳定增长长期, 应针对其流行特征, 采取综合预防措施, 充分发挥和加强全市性病防治网络的作用, 提高工作效率和防治水平, 全面控制梅毒的进一步流行, 特别是卫生防预和疾控部门应加强对各年龄段人群, 以及郊区农民和进城务工者, 尤其是性活跃期年轻人的性病预防宣传教育工作。加强梅毒的检查和治疗指导, 以尽量减少梅毒的发生, 促进社会的和谐发展。

参考文献

[1] Jiang J, Cao N, Zhang J, et al. High prevalence of sexually transmitted diseases among men who have sex with men in Jiangsu Province, China[J]. Sex Transm Dis, 2006, 33(2):118-123.
 [2] 邵长庚, 梁国钧, 龚向东, 等. 中国性病监测的回顾和展望[J]. 中国性病艾滋病防治, 2002, 3(4):247-250.
 [3] 郑优荣, 马琳雅. 广州地区献血者梅毒感染情况分析[J]. 广州中医药大学学报, 2002, 19(4):282-283.
 [4] 冯福, 苏爱芳, 林志文. 海口市吸毒人群行为特征和 HIV 与梅毒感染分析[J]. 中国热带医学, 2007, 7(2):299-300.

(收稿日期:2011-02-21)

(上接第 1538 页)

起到分辨作用, 但是如果能够对影响哺乳动物毛发颜色的其他基因进行调查, 可能发现 MC1R 基因与其他基因对于发色表型有协同作用关系, 将有望为进一步探讨基因与个体表型特征间的相关性提供依据。

参考文献

[1] Han J, Kraft P, Nan H, et al. A genome-wide association study identifies novel alleles associated with hair color and skin pigmentation[J]. PLoS Genet, 2008, 4(5):e1000074-e1000079.
 [2] Sulem P, Gudbjartsson DF, Stacey SN, et al. Genetic determinants of hair, eye and skin pigmentation in Europeans[J]. Nat genet, 2007, 39(12):1443-1452.
 [3] Kane EV, Painter D, Roman E, et al. Melanocortin 1 receptor (MC1R), pigmentary characteristics and sun expo-

sure; findings from a case-control study of diffuse large B-cell and follicular lymphoma[J]. Cancer Epidemiol, 2010, 34:136-144.

[4] Peng S, Lu XM, Luo HR, et al. Melanocortin-1 receptor gene variants in four Chinese ethnic populations. [J]. Cell Res, 2001, 11(1):81-84.
 [5] 郑秀芬. 法医 DNA 分析[M]. 北京: 中国人民公安大学出版社, 2002:38-39.
 [6] 徐敏. 牛黑素皮质激素受体 1(MC1R) 基因单核苷酸多态位点(SNP)与毛色表型的分析[D]. 成都: 四川农业大学, 2008.
 [7] 邓素华, 高军, 任军, 等. 猪黑素皮质激素受体 1(MC1R) 基因与毛色表型的研究[J]. 遗传学报, 2003, 30(10):949-954.

(收稿日期:2011-02-27)