

心血管疾病相关基因 MEF2单核苷酸多态性 在不同人种间的遗传分化度分析

刘本荣, 田朝伟, 钟 赟, 李爱群, 熊龙根, 刘世明

(广州医学院附属第二医院 广州心血管疾病研究所, 广东省广州市 510260)

[关键词] 肌细胞增强因子 2 心血管疾病; 遗传分化度

[摘要] 目的 分析肌细胞增强因子 2(MEF2)在不同人种间的进化过程,从而揭示其在人类进化及疾病发生过程中的角色和地位,并为 MEF2在心血管疾病发生机制方面的研究提供新的视角和切入点。方法 利用人类单倍型计划项目发布的单核苷酸多态性频率数据进行生物信息学分析,计算中国汉族人群、欧洲高加索人群、尼日利亚人群和日本东京人群两两之间的遗传分化度,并进行进化发育分析。结果 尼日利亚人群 MEF2A 基因区域与其它 3 个人群的 MEF2A 基因区域存在许多高遗传分化度的单核苷酸多态性,部分单核苷酸多态性的遗传分化度值 > 0.5 而在中国汉族人群、欧洲高加索人群和日本东京人群之间不存在高遗传分化度值的单核苷酸多态性(遗传分化度 < 0.2)。对于 MEF2 基因家族的另外三个成员 MEF2B、MEF2C 和 MEF2D 的分析结果显示,在以上 4 个不同人群中,只有 MEF2D 基因区域存在少数高遗传分化度值的单核苷酸多态性。以上结果提示 MEF2A 基因在人类走出非洲,向世界各地的迁徙过程中受到很强的自然选择压力,MEF2A 基因在人类对环境的适应过程中必然扮演着极其重要的角色。结论 MEF2A 基因在人类分化过程中受到很强的歧化选择,MEF2A 基因中的单核苷酸多态性在不同人群中的频率差异可能是在对环境的适应过程中逐渐累积的。

[中图分类号] R18

[文献标识码] A

Genetic Distance Analysis of Different Populations by Using the Single Nucleotide Polymorphisms in the Cardiovascular Diseases Associated Gene MEF2

LU Ben-Rong TIAN Chao-Wei ZHONG Yun LIAI Qun XIONG Long-Gen and LIU Shi-Ming

(Department of Cardiovascular Disease, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College & Guangzhou Institute of Cardiovascular Disease, Guangzhou, Guangdong 510260, China)

[KEY WORDS] Myocyte Enhancer Factor 2 Cardiovascular Disease Fst

[ABSTRACT] **Aim** To investigate whether the myocyte enhancer factor 2 (MEF2) gene family was subjected to strong natural selection in different human populations and reveal its roles in pathogenesis and simultaneously provide a new vision and a novel entry point for research on the pathogenesis mechanism of cardiovascular diseases. **Methods** A measure of population differentiation (Fst) was calculated between the Han Chinese (CHB), Europe Caucasian (CEU), Yoruba Nigerian (YRI) and Japanese (JPT) through using the SNP frequency data published by the Human HapMap projects and phylogenetic analysis was performed. **Results** Many SNPs in MEF2A gene region were observed with a high Fst (Fst > 0.3) between YRI and CHB, YRI and CEU, and YRI and JPT. However, no SNPs with a high Fst were observed between CHB and CEU, CHB and JPT, and CEU and JPT. In MEF2B, MEF2C and MEF2D gene regions, all SNPs except that in MEF2D showed a low Fst between any two populations of CHB, CEU, YRI and JPT.

These results suggested that MEF2A gene was subjected strong natural selection during that human migrated worldwide from Africa and it must have played key roles in the process that human adapted to new environment.

Conclusion MEF2A gene must have been subjected to diversifying selection during the divergence of human populations and the diversity in SNP frequency between different human populations might have been cumulated in the course of adaptation to environment.

MEF2转录因子家族是参与心血管系统发育及

心血管疾病病理过程的关键调节因子^[1],它不但调控肌肉组织特异基因的表达,还参与 Galphal3 调节的血管生成和一些炎症因子的表达调控^[2,3]。MEF2 包括 MEF2A、MEF2B、MEF2C 和 MEF2D 4 个家族成员,分别位于不同的染色体上。MEF2A 是第一个被克隆的 MEF2 基因,在骨骼肌、心脏和脑中高表达^[4,5],参与肌肉和内皮形成的相关通路^[6],它自

[收稿日期] 2010-10-20 [修回日期] 2010-11-07

[基金项目] 高等学校博士学科点专项科研基金(20104423120002);广州市科技支撑计划项目(2010JE161);广州医学院博士启动项目(303005002-0361)

[作者简介] 刘本荣,博士,讲师,主要从事基因遗传多态性与心血管疾病相关性的研究,E-mail为 75titan@163.com。通讯作者刘世明,教授,主要从事心血管疾病的防治及发病机制研究,E-mail为 gzliushiming@126.com。

身的表达受到心肌细胞限制的 microRNA miR-1 的调控^[7]。Xu等^[8]发现 MEF2A 和 MEF2C 在转基因小鼠中可诱发扩张性心肌病。MEF2A 基因不仅在肌细胞中发挥着重要作用,在心脏的发育中也扮演着重要角色,MEF2A 缺陷型小鼠在出生一周后死亡,且出现明显的心脏发育异常^[9]。因此,许多研究者推测发生在 MEF2A 的突变也许是心脏病发生的原因之一。2003 年, Wang 等^[10]第一次揭示 MEF2A 基因突变与冠心病的发生显著相关,MEF2A 基因中存在一个 21 bp 缺失。功能研究发现 21 bp 缺失阻止了 MEF2A 的核定位,从而大大降低了其转录激活活性,突变的 MEF2A 甚至可以抑制野生型 MEF2A 的活性。随后,有关 MEF2A 基因与心血管疾病易感性的关系成为研究热点,然而不同研究小组的研究结果并不一致,致使 MEF2A 的基因突变是否与冠心病有关存在很大争议^[11]。Bhagavathula等^[12]在美国冠心病患者中发现 MEF2A 的第 7 外显子中存在 3 个新的突变,包括 N263S、P279L 和 G283D; Gonzalez等^[13]对西班牙人群的研究结果支持稀有突变 P279L 与冠心病/心肌梗死的易感性有关;然而,对中国人 MEF2A 基因的研究没有发现第 7 外显子中的稀有突变与冠心病易感有关,但发现第 11 外显子中的重复序列多态性 (CAG) n 与冠心病的易感有关^[14-15]; Weng 等^[16]研究显示在白人中 MEF2A 基因中的 21 bp 缺失并不与早发性冠心病共分离,也没有发现其它与冠心病易感有关的突变;同样, Hsu 等^[17]在台湾人群的研究中也没有观察到 MEF2A 基因第 11 外显子中 (CAG) n 多态性与冠心病的易感有关。以上不同研究组得出的不一致的结果可能是由于他们使用的样本来自不同的民族,具有不一样的遗传背景所致。因此,研究 MEF2 基因家族成员在不同群体中的进化关系有利于从新的角度探索 MEF2 在心血管疾病发生发展过程中的角色,为心血管疾病的病理机制探索及防治提供新的切入点。

1 材料和方法

1.1 单核苷酸多态性频率数据

位于 MEF2A、MEF2B、MEF2C 及 MEF2D 基因区域内的所有单核苷酸多态性 (SNP) 在四个不同人种中的频率数据均从人类单倍型计划项目发布的数据中获取,数据下载地址 http://snp.cshl.org/cgi-perl/gbrowse/hapmap27_B36/。进入网址后,在“标志或区域”一栏输入基因名 (如 MEF2A),在“转存、

查询及其它选择”一栏的下拉菜单选项中选择“显示 Allele Frequency data”,点击配置打开新窗口,在 Population 后面的下拉框中选择群体 (如中国汉族人群),再点配置完成群体选择,然后先点击“标志或区域”一栏后的查询按钮,待页面更新后,再点击执行即可得到目标基因区域 SNP 在该群体中的详细信息。我们从数据库中成功获取频率数据的 SNP 在 4 个 MEF2 基因家族成员及 4 个不同群体中国汉族人群 (CHB)、欧洲高加索人群 (CEU)、尼日利亚人群 (YRI) 和日本东京人群 (JPT) 中的对应关系见表 1。同时我们下载了美国丹佛的华人 (CHD)、美国西南部非洲裔 (ASW)、休斯顿古吉拉特印第安人 (GH)、肯尼亚 Luhya 族 (LWK)、洛杉矶的墨西哥裔 (MEX)、肯尼亚的马塞族 (MKK)、意大利 Toscan 族 (TSI) 等群体 MEF2A 基因区域的 SNP 频率数据。

表 1 各基因区域的 SNP 位点数

	中国汉族 人群	欧洲高加 索人群	尼日利亚 人群	日本东京 人群
MEF2A	111	112	111	113
MEF2B	46	48	44	46
MEF2C	180	178	176	179
MEF2D	39	40	40	39

1.2 遗传分化度的定义及计算

遗传分化度 (F_{st}) 是用来描述群体内或群体间遗传差异的参数,被广泛应用于群体遗传学和进化遗传学^[18]。按以下公式^[19]计算各群体两两之间每个 SNP 的 F_{st} 值: $F_{st} = (H_t - H_s) / H_t$ H_t 表示总群体的杂合性期望值, H_s 表示亚群的杂合性期望值。

1.3 进化发育分析

利用群体间的 F_{st} 值,采用 Phylip3.69 软件包中的 Genedist 程序计算群体间的遗传距离,然后利用生成的遗传距离矩阵,用 Neighbor 程序构建进化树,最后利用 Consense 程序选择最优树。

2 结果

2.1 MEF2A 基因区域单核苷酸多态性在不同群体间的遗传分化度

计算任意两个群体间 MEF2A 基因区域中每个 SNP 的 F_{st} 值,结果显示在尼日利亚人群与中国汉族人群之间只有 6 个 SNP 的 $F_{st} > 0.3$ 而在尼日利亚人群与欧洲高加索人群以及尼日利亚人群与日本东京人群之间各有 19 个 SNP 的 $F_{st} > 0.3$ 。在尼日利亚人群与中国汉族人群之间 $F_{st} > 0.3$ 的 SNP,其

在尼日利亚人群与欧洲高加索人群及日本东京人群之间的 F_{st} 也大于 0.3; 在尼日利亚人群与欧洲高加索人群及日本东京人群之间 $F_{st} > 0.3$ 的 19 个 SNP 中, 有 18 个是相同的 (表 2)。然而, 在中国汉族人群与欧洲高加索人群、中国汉族人群与日本东京人群及欧洲高加索人群与日本东京人群之间不存在 $F_{st} > 0.3$ 的 SNP (图 1A)。

2.2 MEF2B、MEF2C 及 MEF2D 基因区域单核苷酸多态性在不同群体间的遗传分化度

通过对 MEF2B、MEF2C 及 MEF2D 基因区域的

每个 SNP 在不同群体之间的 F_{st} 值的计算, 我们发现所有群体的两两比较中, MEF2B 基因区域不存在 $F_{st} > 0.3$ 的 SNP, MEF2C 基因区域仅有一个 SNP (rs11744850) 在尼日利亚人群与欧洲高加索人群间的 $F_{st} > 0.3$ ($F_{st} = 0.3337$), 而在 MEF2D 基因区域, 尼日利亚人群与中国汉族人群、欧洲高加索人群及日本东京人群有一个 SNP (rs10908505) 的 F_{st} 值很高 (> 0.47), 另外在尼日利亚人群与日本东京人群之间还存在 6 个 $F_{st} > 0.3$ 的 SNP (图 1B、1C 和 1D)。

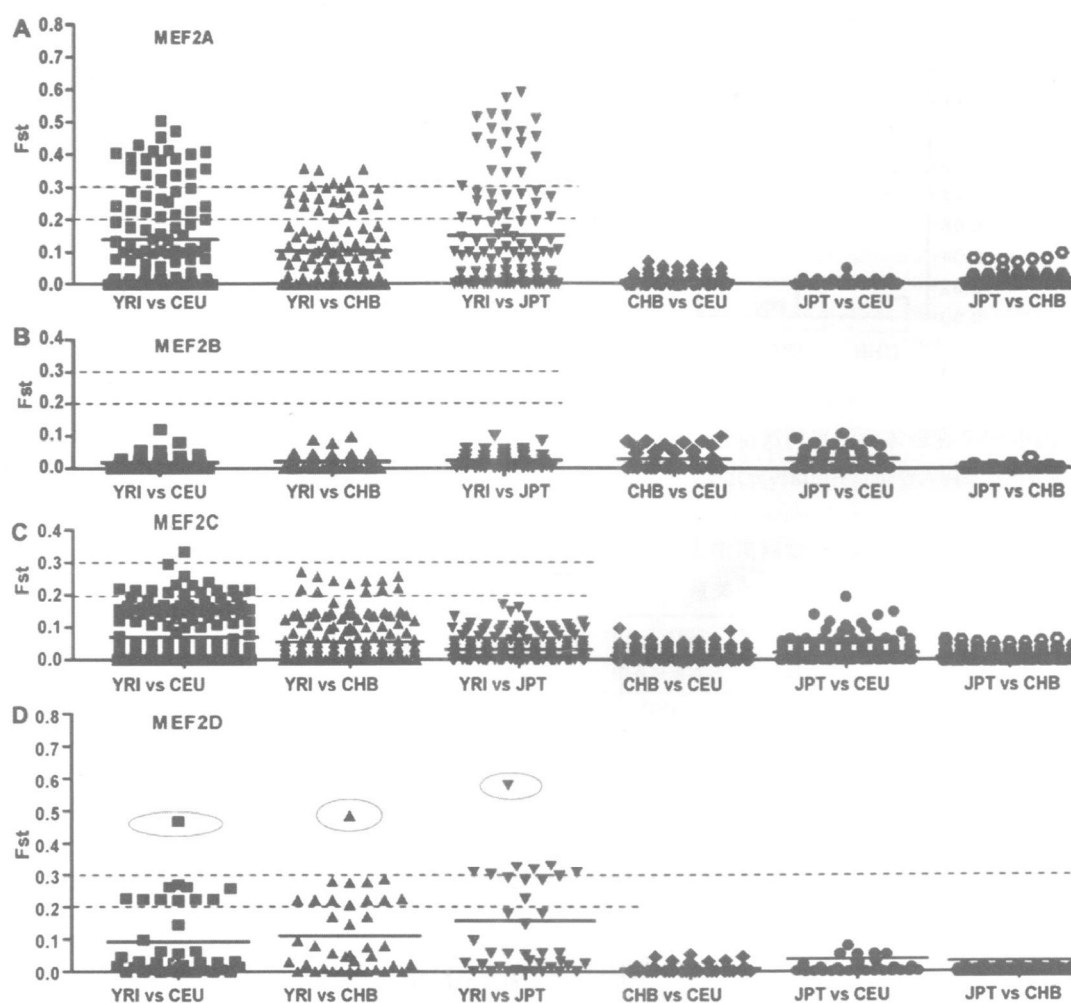


图 1 MEF2 基因区域每个 SNP 在各群体间的遗传分化度 纵坐标代表 F_{st} 值, 横坐标指示群体之间的两两比较; 图中每一个符号代表 1 个 SNP, D 中椭圆标识的点表示该 SNP (rs10908505) 在群体间的遗传分化度很高。

2.3 MEF2 基因家族成员在群体间的遗传分化度

利用 MEF2 基因区域的 SNP 频率数据计算每个基因在不同群体间的平均遗传分化度, 结果显示 MEF2A 基因在尼日利亚人群与欧洲高加索人群及日本东京人群之间的 F_{st} 值均大于不同人种间的平均 F_{st} (0.11), 而在其它群体之间都远小于不同人种间的平均 F_{st} (图 2A); MEF2B 和 MEF2C 基因在

所有群体间的遗传分化度均小于不同人种间的平均 F_{st} (图 2B 和 2C); MEF2D 基因在尼日利亚人群与日本东京人群之间的遗传分化度大于不同人种间的平均 F_{st} 其在尼日利亚人群与欧洲高加索人群及中国汉族人群间的遗传分化度与不同人种间的平均 F_{st} 值相近, 而在其余群体间的遗传分化度远小于不同人种间的平均 F_{st} (图 2D)。

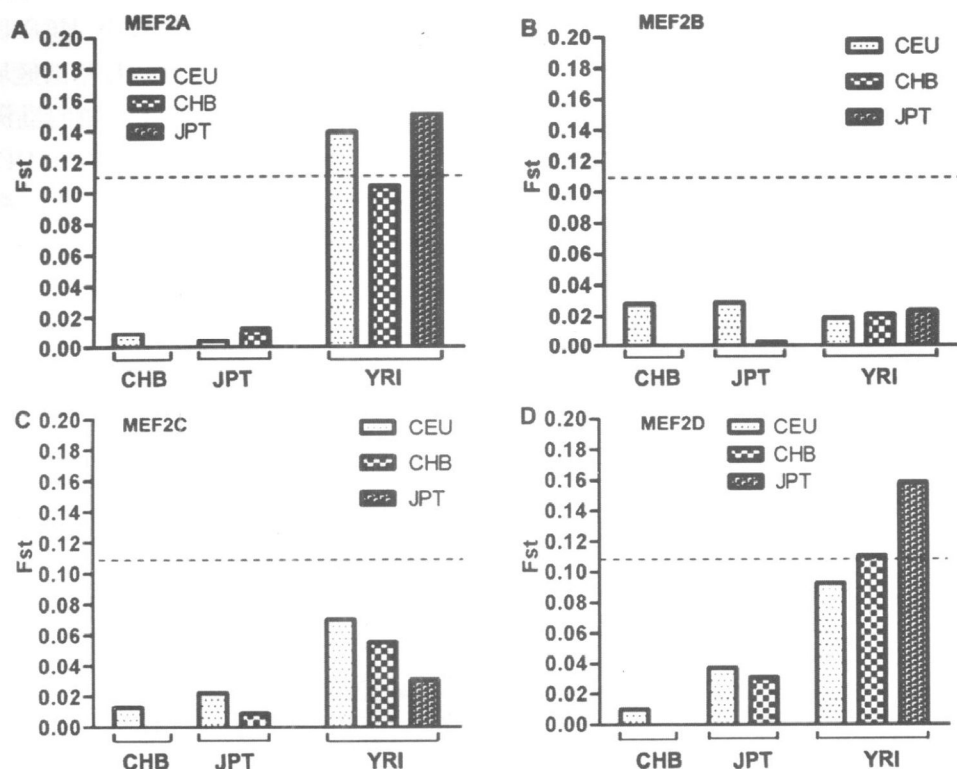


图 2 MEF2基因中 SNP在群体间的平均遗传分化度

纵坐标表示该基因区域所有 SNP的平均 F_{st} 值, 横坐标表示该群体与其它群体之间的比较, 虚线指示不同人种间的平均遗传分化度。

表 2 尼日利亚人群与中国汉族人群、欧洲高加索人群及日本东京人群间 $F_{st} > 0.3$ 的 SNP在三组之间的关系

序列号	尼日利亚人群与 欧洲高加索人群	尼日利亚人群与 中国汉族人群	尼日利亚人群与 日本东京人群
rs2570816	0.4304	0.2197	0.4667
rs2570808	0.4535	0.3164	0.4776
rs11247119	0.3868	0.2979	0.3417
rs2117309	0.3832	0.1726	0.2766
rs7496677	0.3375	0.253	0.3028
rs2033546	0.3888	0.3041	0.3481
rs2581470	0.3238	0.2518	0.4043
rs325392	0.4023	0.3539	0.522
rs12901291	0.4117	0.2285	0.5069
rs188977	0.473	0.2849	0.5726
rs170522	0.5051	0.2719	0.5884
rs325414	0.3571	0.2317	0.3888
rs325413	0.3427	0.2965	0.449
rs325411	0.3905	0.2661	0.4285
rs325410	0.4136	0.3575	0.5175
rs325409	0.4057	0.3522	0.5117
rs325406	0.4086	0.2715	0.4346
rs2902349	0.2573	0.2053	0.3424
rs191256	0.3394	0.3129	0.4637
rs167805	0.3573	0.298	0.4519

2.4 MEF2A的遗传进化分析

利用 MEF2A 基因区域内 SNP的频率数据计算

各群体间的 F_{st} 根据 F_{st} 计算群体间遗传距离并采用 Neighbor-joining 法构建进化发育树。对尼日利亚人群、欧洲高加索人群、中国汉族人群、日本东京人群、CHD、ASW、GH、LWK、MEX、MKK、TSI等 11 个群体的进化分析结果显示拥有非洲血缘的群体, 如 ASW、尼日利亚人群、LWK 和 MKK 聚在一起; 欧洲高加索人群、MEX、GH、TSI 等欧美人群和日本人群聚在进化树的另一端; 而中国汉族人群和 CHD 聚在非洲群体和欧美人之间 (图 3)。

3 讨论

MEF2 是一类重要的转录调节因子, 几个重要心肌基因, 如 α -MHC、ANP、Troponins、Serca2、Mlc2v 和 Desmin 等都受到 MEF2 的调控^[20]。另外, MEF2 在肌肉生成、神经存活、淋巴细胞发育及肿瘤形成等方面也扮演重要角色^[20]。MEF2 的 4 个成员 MEF2A、MEF2B、MEF2C 及 MEF2D 的表达具有时空特异性, 其功能角色存在一定的差异, 因此也决定了它们在进化过程中所受到的选择压力有所不同。MEF2A 基因区域存在许多 SNP 在非洲人群与其它人群之间有很高的遗传分化度, 即较大的遗传距离, 提示 MEF2A 在群体分化过程中受到较强的歧化选

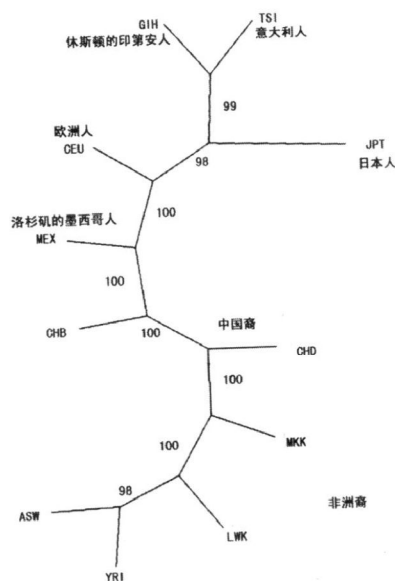


图 3 MEF2A 基因在各群体间的进化发育分析 图中的数字表示每个分枝(节点)的可靠性。

择,许多高 F_{st} 值的 SNP 很可能受到正选择作用,或者是受到周围功能区域搭载效应的影响。然而在任群体间,MEF2B、MEF2C 基因区域则不存在高 F_{st} 值的 SNP,群体间的平均分化度 F_{st} 也远小于不同人种间的平均分化度,提示 MEF2B 和 MEF2C 在进化过程中很可能受到稳定性选择作用。尽管在 MEF2D 基因区域尼日利亚人群与其它群体间 $F_{st} > 0.3$ 的 SNP 较少,但平均 F_{st} 值都大于或接近于不同人种间的平均 F_{st} ,这个结果与 MEF2A 基因区域的情况非常相似。由于 MEF2A 通常都是与 MEF2D 形成异源二聚体的形式而发挥功能,而且二者在群体间的 F_{st} 相似,更进一步说明 MEF2A 基因和 MEF2D 基因在人类分化过程中受到了歧化选择,环境因素也许是导致其突变在不同群体中歧化的主要原因。利用 MEF2A 在不同群体间的 F_{st} 值进行进化发育分析,可以较准确地将来自不同地域和不同民族的群体进行聚类,比较意外的是日本人群和欧美人种聚在一起,这种结果可能是由于日本人群的有效群体大小较小,受到基因漂移的影响所致。MEF 基因在不同群体中受到选择压力的差异也许是导致该基因区域中的突变对冠心病等心血管疾病贡献率差异的重要因素之一。

总之,MEF2A 在非洲民族与其它民族之间的遗传差异,是人类在适应环境过程中不断进化的结果,它可能是导致非洲黑人与其它人种间心血管疾病发病率差异的原因之一,因此 MEF2A 基因必将成为

研究冠心病、心肌肥大等心血管疾病发病机制的重要候选基因。

[参考文献]

- [1] 杨勇. MEF2 转录因子家族与心脏发育及心血管系统相关疾病的关系 [J]. 国际病理科学与临床杂志, 2007, 27 (2): 161-164
- [2] Liu G, Han J, Profirovic J, et al. Galpha13 regulates MEF2-dependent gene transcription in endothelial cells: role in angiogenesis [J]. *Angiogenesis* 2009, 12 (1): 1-15
- [3] Lipeta K, Boubali S, Virgilio L, et al. cAMP regulates IL-10 production by normal human T lymphocytes at multiple levels: a potential role for MEF2 [J]. *Mol Immunol* 2009, 46 (3): 345-354
- [4] Pollock R, Treisman R. Human SRF-related proteins: DNA-binding properties and potential regulatory targets [J]. *Genes Dev* 1991, 5 (12A): 2327-341
- [5] Yu YT, Breitbart RE, Snoot LR, et al. Human myocyte-specific enhancer factor 2 comprises a group of tissue-restricted MADS box transcription factors [J]. *Genes Dev* 1992, 6 (9): 1783-798
- [6] Edmondson DG, Lyons GE, Martin JF, et al. MEF2 gene expression marks the cardiac and skeletal muscle lineages during mouse embryogenesis [J]. *Development* 1994, 120 (5): 1251-263
- [7] Ikeda S, He A, Kong SW, et al. MicroRNA-1 negatively regulates expression of the hypertrophy-associated calmodulin and MEF2a genes [J]. *Mol Cell Biol* 2009, 29 (8): 2193-204
- [8] Xu J, Gong NL, Bodi I, et al. Myocyte enhancer factors 2A and 2C induce dilated cardiomyopathy in transgenic mice [J]. *J Biol Chem* 2006, 281 (14): 9152-162
- [9] Naya FJ, Black BL, Wu H, et al. Mitochondrial deficiency and cardiac sudden death in mice lacking the MEF2A transcription factor [J]. *Nat Med* 2002, 8 (11): 1303-309
- [10] Wang L, Fan C, Topol SE, et al. Mutation of MEF2A in an inherited disorder with features of coronary artery disease [J]. *Science* 2003, 302 (5650): 1578-581
- [11] 赵旺, 彭道泉. 肌细胞增强因子 2A 基因与冠心病相关性的研究进展 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2008, 16 (4): 326-328
- [12] Bhagavatula MR, Fan C, Shen GQ, et al. Transcription factor MEF2A mutations in patients with coronary artery disease [J]. *Hum Mol Genet* 2004, 13 (24): 3181-188
- [13] Gonzalez P, Garcia-Castro M, Reguero JR, et al. The Pro279Leu variant in the transcription factor MEF2A is associated with myocardial infarction [J]. *J Mol Genet* 2006, 43 (2): 167-169
- [14] Han Y, Yang Y, Zhang X, et al. Relationship of the CAG repeat polymorphism of the MEF2A gene and coronary artery disease in a Chinese population [J]. *Clin Chem Lab Med* 2007, 45 (8): 987-992
- [15] 戴大鹏, 何青, 周晓阳, 等. MEF2A 基因 CAG 三联核苷酸重复序列与冠状动脉粥样硬化性心脏病的相关研究 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2006, 8 (10): 671-674
- [16] Weng L, Kavaslar N, Ustaszewska A, et al. Lack of MEF2A mutations in coronary artery disease [J]. *J Clin Invest* 2005, 115 (4): 1016-020
- [17] Hsu LA, Chang CJ, Teng MS, et al. CAG repeat polymorphism of the MEF2A gene is not associated with the risk of coronary artery disease among Taiwanese [J]. *Clin Appl Thromb Hemost* 2010, 16 (3): 301-305
- [18] Holsinger KE, Weir BS. Genetics in geographically structured populations: defining, estimating and interpreting F_{ST} [J]. *Nat Rev Genet* 2009, 10 (9): 639-650
- [19] Hartl DL, Clark AG. Principles of population genetics. Sinauer Associates, Inc. Publishers 1997
- [20] Townsend SR, BPA. What causes a broken heart—Molecular insights into heart failure [J]. *Int Rev Cell Mol Biol* 2010, 284: 113-179

(此文编辑 文玉珊)