

ACTN3 R577X 基因多态性与北方大学生运动能力的关联研究

Study on Association Between ACTN3 R577X Gene Polymorphism and Exercise Capacity

孙广丰¹,刘洪富²,王 杨¹,李思瑶³
SUN Guang - feng¹,LIU Hong - fu²,WANG Yang¹,LI Si - yao³

摘 要:目的: R577X 错义基因多态性可引起 ACTN3 基因中 577 位的精氨酸(R)转化为终止密码子(X)。结合 ACTN3 的生物学研究,我们推测 ACTN3 的 R577X 基因多态会影响人群的运动能力。方法:采用 PCR 产物限制性内切酶的方法,我们对 384 名中国北方汉族大学生的 ACTN3 的 R577X 基因多态进行分型研究。同时,结合研究对象的各项运动能力评分,分析 R577X 基因多态对人群运动能力的影响。结果:研究对象的 ACTN3 的 R577X 基因型分布均符合 Hardy - Weinberg 平衡定律,不存在选择偏倚。受试者基因型分布结果(RR - 22. 04%;RX - 53. 17%;XX - 24. 79%)。在运动能力关联分析中,我们发现只有 50m 短跑运动能力在 ACTN3 R577X 各组基因型中分布存在显著差异(P = 0. 004),其他各组运动能力与 ACTN3 R577X 基因型分布不存在相关性。结论:ACTN3 R577X 基因可影响人群的短跑运动能力,携带 RR 和 RX 基因型人群具有更好的短跑速度。

关键词:α - 肌动蛋白 3;R577X 单核苷酸多态性;基因分型

中图分类号:G804 **文献标识码:**A **文章编号:**1008 - 2808(2020)06 - 0086 - 05

Abstract: Purpose: R577X missense polymorphism can cause the conversion of 577 site arginine (R) in the ACTN3 gene to the stop codon (X). In combination with the biological studies of ACTN3, we hypothesized that the polymorphism of ACTN3 gene in R577X may affect the exercise ability of the population. Methods: The R577X polymorphism of ACTN3 gene in 384 Han Chinese university students in northern China was detected by PCR restriction enzyme assay. At the same time, the effects of R577X gene polymorphism on the exercise ability of the subjects were analyzed with various motor ability score of the subjects. Results: The distribution of R577X genotype of ACTN3 in the study was consistent with the Hardy - Weinberg equilibrium law, there was no selection bias. Results of genotype distribution of subjects showed that RR - 22. 04%, RX - 53. 17% and XX - 24. 79%. In the correlation analysis of exercise ability, we found only 50 meters sprint ability there were significant differences in the distribution of ACTN3 genotypes in R577X group (P = 0. 004),

收稿日期:2019 - 12 - 02;修回日期:2019 - 12 - 29
基金项目:“十三五”吉林省教育科学规划课题“公安院校学生运动基因多态性与运动能力的相关研究”(编号:GH16473)。
作者简介:孙广丰(1976 -),男,副教授,硕士,研究方向为体育教育学。
作者单位:1. 吉林警察学院 警察体育教研部,吉林 长春 130117; 2. 吉林省经济管理干部学院 机电工程学院,吉林 长春 130012; 3. 吉林大学 公共卫生学院,吉林 长春 130016

and which was no significant difference in other exercise ability items. Conclusion: The ACTN3 R577X gene can affect the population's ability of sprint exercise, and the RR and RX genotypes have better sprint speed.

Key words: ACTN3; R577X Gene Polymorphism; Genotype

已有研究表明肌肉功能表型具有高度遗传性^[1-3],并且在多个候选基因的研究中,也观察到在这些表型中个体之间具有较高的变异性,例如肌肉生长抑制素基因(MSTN)、血管紧张素转换酶基因(ACE)、过氧化物酶增殖物激活受体- γ 激活因子1 α (PGC-1 α)和缺氧诱导因子-1(HIF-1)等^[4]。然而在上述基因中,只有少数基因的单核苷酸多态性(SNPs)被鉴定可用于解释这种遗传变异性^[5],其中 α -肌动蛋白-3基因(ACTN3)已受到人们的广泛关注。

α -肌动蛋白是一种的肌动蛋白结合蛋白家族^[6-7],在细胞骨架组织中起着结构和调节作用。在骨骼肌中有两种 α -辅肌动蛋白(α -辅肌动蛋白-2和 α -辅肌动蛋白-3),它们可锚定肌动蛋白细肌丝,有助于维持肌原纤维的排列^[8-9]。除了它们的机械作用,肌节 α -肌动蛋白还参与了许多细胞信号传导,同时还可以与多种蛋白质相互作用参与细胞代谢途径^[10-11]。 α -辅肌动蛋白-2在所有类型的肌纤维中均有表达,而 α -辅肌动蛋白-3的表达只局限于快速及糖酵解II型肌纤维^[12]。早在1999年,有研究者发现ACTN3基因中一个常见的多态性位点(dbSNP rs1815739),其多态性变异导致全球超过10亿人缺乏 α -辅肌动蛋白-3的表达。对比研究发现ACTN3基因在人类进化过程中高度保守,没有发现这种遗传变异与任何已知的疾病表型之间存在显著关联,但 α -辅肌动蛋白-3的缺失可导致运动力量和短跑速度的不足。 α -辅肌动蛋白-3缺失人群被认为不具备竞技级运动的能力。Yang等^[13]人指出ACTN3基因的R577X多态性和人群动力能力显著相关。国内研究中,虽然鲁政等人^[14]研究分析了431名中国北方汉族人的ACTN3基因的多态性与运动能力间的关系。ACTN3基因的R577X三种基因型的比例在对照组(普通人群)、优秀长跑运动员组和健将组之间差异没有统计意义,但不能排除其他混杂因素尤其是人群随机性对结果的影响。

ACTN3编码序列核苷酸1747位的变异R577X(C>T,rs1815739)将残基577处的精氨酸(R)转化为终止密码子(X)^[6]。这种变异产生了两种不同的 α -辅肌动蛋白3编码蛋白,其中577R

等位基因是常见的,编码产生功能性 α -辅肌动蛋白-3蛋白;而577X等位基因含有阻止编码产生功能性 α -辅肌动蛋白-3蛋白的序列变化^[15]。到目前为止,许多报道表明ACTN3的存在可能对骨骼肌功能产生有益的影响,特别是在高速产生强大的收缩的情况下^[16]。如上所述, α -辅肌动蛋白-3是肌细胞 α -肌动蛋白的一部分、Z线的主要成分,其功能具有双重性:与肌动蛋白丝连接、维持肌丝的顺序和协调肌丝的收缩^[13]。Z线是肌节内的重要结构,功能表现为肌纤维激活时为力量传递提供结构支撑^[17]。有研究者提出 α -肌动蛋白-3可以被进一步优化,以减少由偏心肌肉收缩引起的运动损伤^[12]。此外,还有研究指出577R等位基因与高功率肌肉收缩能力存在正相关。Vincent等^[18]认为年轻健康男性的577R纯合组中高强度运动能力,如100m冲刺等的表面百分数和数量显著高于577X纯合组。基于ACTN3 R557X多态性在骨骼肌功能中的作用,我们假设ACTN3的遗传多态性也可以影响中国人群个人运动能力,分析ACTN3 R577X基因型与各项运动能力的相关性。

1 研究对象

研究对象共包含363例吉林警察学院公安专业学员,全部来自吉林省各地,均为中国汉族,且无血缘关系,以确保不存在种族偏倚以及各种潜在的人群分层问题。体能检测依据国家学生体质健康标准评分,其中包括女性106名,男性257名,平均年龄21岁。

2 材料与方法

2.1 DNA提取和基因分型

经研究对象知情同意后,拭子刮取口腔粘膜后,放置在含有DEPC水的采集管中,在管壁外侧标明研究对象的姓名及信息。采用纳川科技发展有限公司的血液基因组提取试剂盒(离心柱型)来提取全部研究对象的基因组DNA。通过PCR扩增ACTN3基因的外显子15的290bp片段:上游引物:5'-CTGTTGCCTGTGCTAAGTGGG-3';下游引物:5'-TGGTCACAGTATGCAGGAGGG-3'。PCR反应MIX(共10ul)含有1.5 mM MgCl₂, 0.75mM脱氧核苷三磷酸,各种引物各4pM,0.5U

Taq DNA 聚合酶和 1 μ l (30 – 50ng) 的 DNA。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5min,95 $^{\circ}$ C 变性 30s,60 $^{\circ}$ C 退火 30s,72 $^{\circ}$ C 延长进行 35 个循环的扩增 30s,最后一个循环 72 $^{\circ}$ C 10min。随后用 DdeI 内切核酸酶消化扩增的 PCR 产物。等位基因 577R 和 577X 由 Dde I 限制位点的存在 (577X) 或不存在 (577R) 来区分。消化 577X 等位基因的 PCR 产物产生 108, 97 和 86bp 的条带,而消化 577R 等位基因的 PCR 产物产生 205 和 86bp 的条带。消化产物用 3% 琼脂糖凝胶电泳分离,用溴化乙锭染色,并在紫外光下观察。

2.2 统计学分析

本研究采用 Excel 2007 对数据进行录入与整理,采用 SPSS 17.0 软件和 SNPStats 在线数据处理程序进行统计分析,对 R557X 在受试人群中进行哈迪温伯格检验;使用单因素方差分析或非参数检验来评价 SNP 与各运动指标的关联性,P 值小于 0.05 的被认为具有统计学意义。

3 研究结果

受试者的 ACTN3 基因型分布均符合 Hardy – Weinberg 平衡定律,不存在选择偏倚。受试者基因型分布结果 (RR – 22.04% ; RX – 53.17% ; XX – 24.79%) 与以前期中国汉族人群的研究报道相似 (见表 1)。

对所有受试者进行了体重评分 (BMI)、肺活

量、50m 短跑、立定跳远、坐位体前屈和 1 000m、800m 长跑测定。根据国家学生体质健康标准进行评分汇总 (见表 2)。

表 1 Hardy – Weinberg 平衡分析结果				
Taq SNPs	H ₀	H _e	X ²	P
R557X	0.531 7	0.499 6	1.494 7	0.221 5

表 2 受试者各项运动能力评分		
运动能力评分	男 (n = 257)	女 (n = 106)
体重评分	90.66 \pm 13.345	93.40 \pm 11.287
肺活量评分	87.60 \pm 17.511	71.19 \pm 27.439
50 米跑评分	84.84 \pm 12.753	78.46 \pm 13.439
立定跳远评分	35.41 \pm 27.636	35.04 \pm 28.102
坐位体前屈评分	76.62 \pm 23.190	66.07 \pm 27.749
中长距离跑评分*	54.77 \pm 18.710	60.55 \pm 13.888
引体 – 仰卧评分**	21.09 \pm 28.578	29.29 \pm 33.653
总分	67.79 \pm 10.781	63.02 \pm 10.781

注: * 男生:1 000m;女生:800m; ** 男生:引体向上;女生:仰卧起坐

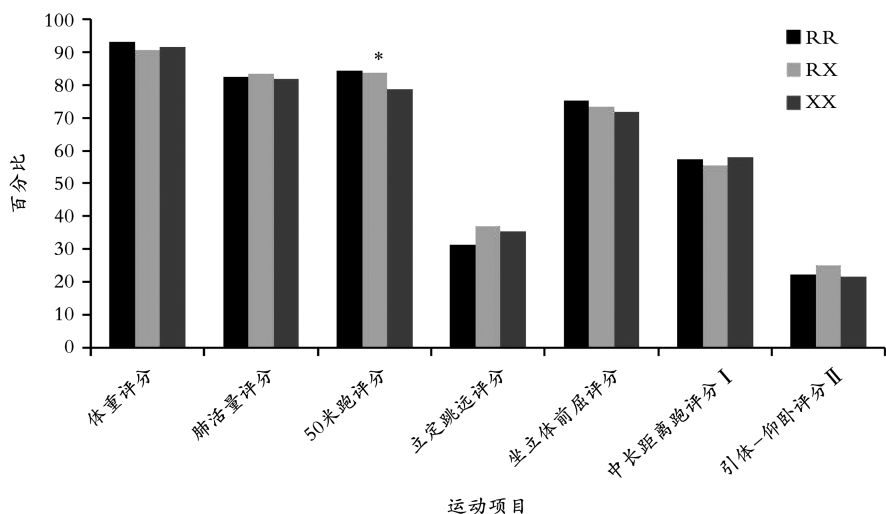
在受试者运动能力与 ACTN3 的 R577X 基因多态关联研究中,我们发现只有 50m 短跑运动能力评分在 ACTN3 的 R577X 三组基因型中存在显著差异 (P = 0.004),其他各组运动能力与 ACTN3 R577X 基因型分布不存在相关性 (见表 3)。

表 3 ACTN3 R577X 基因多态不同基因型受试者运动能力差异分析					
ACTN3 R577X	均值 \pm 标准差			F	P
	RR (22.04%)	RX (53.17%)	XX (24.79%)		
体重评分	93.25 \pm 11.88	90.67 \pm 13.54	91.56 \pm 11.98	1.146	0.319
肺活量评分	82.36 \pm 19.87	83.38 \pm 22.26	81.72 \pm 24.00	0.175	0.839
50m 跑评分	84.38 \pm 12.19	83.84 \pm 11.59	78.71 \pm 16.42	5.540	0.004
立定跳远评分	31.33 \pm 27.04	36.90 \pm 27.52	35.40 \pm 28.74	1.145	0.319
坐立体前屈评分	75.36 \pm 22.06	73.54 \pm 24.95	71.92 \pm 27.73	0.399	0.672
中长距离跑评分*	57.43 \pm 17.43	55.40 \pm 18.76	57.86 \pm 15.11	0.748	0.474
引体 – 仰卧评分**	22.23 \pm 30.30	24.92 \pm 31.00	21.51 \pm 29.04	0.475	0.622
总分	65.92 \pm 10.45	66.62 \pm 11.83	66.35 \pm 11.30	0.109	0.896

注: * 男生:1000m;女生:800m; ** 男生:引体向上;女生:仰卧起坐

如图 1 所示,50m 短跑运动评分在基因型 R577R 组中最高,X577X 组中最低。同时,我们发现坐位体前屈评分与 50m 短跑运动评分具有相同的趋势,而立定跳远评分与上述趋势相反,在基因

型 R577R 组中立定跳远评分最低。虽然坐位体前屈评分和立定跳远评分没有出现统计学差异,我们推测是较大的个体差异造成了这种结果,但亦显示了 R577X 基因多态对运动能力影响。



注:I:男生:1000 米;女生:800 米;II:男生:引体向上;女生:仰卧起坐

图 1 ACTN3 R577X 基因多态不同基因型受试者各项运动能力评分图

4 讨 论

黄吕林等人^[19]在 113 名西北地区中国汉族军人中研究了 ACTN3 基因 R577X 的分布情况,发现 RR、RX、XX 三种基因型的比例分别为 40%、43%、17%。经过 18 周训练后在对他们的速度素质进行检测时发现,XX 型的军人速度素质好于其他两型的军人,与国外文献报道的不一致;Yang 等^[13]研究结果显示澳大利亚优秀的短跑运动员中只有 6% 的 577X 基因型是纯合的。这个结论得到了 Druzhevskaya 等^[8]人的支持,Druzhevskaya 等对俄罗斯 486 名精英体育运动员进行了调查,结果表明 ACTN3 基因的变异与俄罗斯精英运动员的状态密切相关。同时,Eynon^[20]等人发现与耐力运动员(19%)和对照组(20%)相比,短跑运动员的 557R 等位基因纯合子的比例显著增高(50%)。除此之外,在以色列运动员中进行的研究也证实这一观点。表明该等位基因在发展冲刺能力中的关键作用。在芬兰短跑运动员中也体现了 ACTN3 的 RR 基因型与精英运动表现之间的联系。耐力和短跑运动员的比较结果显示 ACTN3 的 XX 基因型频率较低,短跑运动员的 RR 频率高于耐力跑步者($P = 0.03$)^[21]。另一项研究表明, α -辅肌动蛋白-3 蛋白的存在对力量性能有积极的影响。Papadimitriou 等^[22]研究显示精英力量型运动员与对照组之间的等位基因频率($P = 0.017$)和基因型($P = 0.016$)存在显著性的统计学差异。值得一提的是,所有被调查的奥运/欧洲级短跑运动员有至少存在一个 ACTN3 的 577R 等位基因。

然而,ACTN3 R577X 多态性在运动表现中的作用尚未得到充分的阐明。Norman 等^[23]人指出,ACTN3 中的 R577X 多态性与个体的功率输出或疲

劳或力-速度特征的差异无关。此外,Norman 等人还提出 α -肌动蛋白在确定肌纤维类型组成中没有起到重要作用。此外,McCauley^[10]等人指出,ACTN3 R577X 多态性不影响高速度下的绝对或相对扭矩或抽搐反应。Delmonico 等^[4]人在老年女性(64 岁)中发现,与携带 RR 基因型个体相比,携带 577X 等位基因纯合子的膝关节伸肌功率更高。Clarkson 等^[12]对等长肘屈肌力进行研究时,发现男性 ACTN3 R577X 基因型与肌肉表型之间无相关性。最后,Lucia 等^[24]对一名西班牙精英跳远运动员(参加过两次奥林匹克运动会)进行检测与研究发现,其 ACTN3 基因的基因型为 XX。Druzhevskaya 等人也发现了类似的现象,他们观察到俄罗斯一名高素质拳击运动员(世界纪录保持者)具有 XX 基因型的。

5 结 论

本次研究结果具有一定的限制性,研究对象主要由公安院校的学员组成。研究结果证明了 ACTN3 R577X 等位基因可能是影响人群运动能力的因素之一。同时,研究结果支持 α -肌动蛋白-3 的存在对骨骼肌在高速产生强力收缩功能存在增益作用的假设。

值得注意的是,在所有的亚组中(各项运动能力评分),仅在 50m 短跑运动员中发现了基因型分布具有统计学差异。这就是为什么在短跑训练中至少有一个 ACTN3 R577 等位基因作为关键因素的原因。

而另一方面,在其他运动能力评分亚组之间的基因型分布没有显著的统计学差异。但是本次研究研究对象数量相对较少,可能结果具有一定的局限性。因此,应该在更多的运动员中对于 ACTN3

多态性进行进一步的研究与补充。

参考文献:

- [1] Arden NK, Spector TD. Genetic influences on muscle strength, lean body mass, and bone mineral density: a twin study[J]. *J Bone Miner Res*, 1997(12):2076 – 2081.
- [2] Spurway N, Wackerhage H. Genetics and molecular biology of muscle adaptation. *Advances in sport and exercise science series*[M]. Edinburgh: Elsevier, 2006.
- [3] 杨贤罡, 李春燕, 胡杨. ACTN3 基因 R577X 多态性与运动能力的关联性研究: Meta 分析[J]. *体育科学*, 2011, 31(3):44 – 52.
- [4] Buchner DM, Cress ME, de Lateur BJ, et al. Variability in the effect of strength training on skeletal muscle strength in older adults[J]. *Facts Res Gerontol*, 1993(7):143 – 153.
- [5] Delmonico MJ, Zmuda JM, Taylor BC, et al. Association of the ACTN3 Genotype and Physical Functioning. With Age in Older Adults[J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2008(63):1227 – 1234.
- [6] Mills M, Yang N, Weinberger R, et al. Differential expression of the actinbinding proteins, α -actinin-2 and -3, in different species: implications for the evolution of functional redundancy[J]. *Hum Mol Gen*, 2001(10):1335 – 1346.
- [7] 高鹏华, 张志明. ACTN3 基因多态性与运动能力和基因选材的研究[J]. *西北大学学报*, 2015, 45(4):602 – 605.
- [8] Beggs AH, Byers TJ, Knoll JH, et al. Cloning and characterization of two human skeletal muscle α -actinin genes located on chromosomes 1 and 11[J]. *J Biol Chem*, 1992(267):9281 – 9288.
- [9] Blanchard A, Ohanian V, Critchley D. The structure and function of α -actinin[J]. *J Muscle Res Cell Motil*, 1989(10):280 – 289.
- [10] MacArthur DG, North KN. A gene for speed? The evolution and function of α -actinin 3[J]. *BioEssays*, 2004(26):786 – 795.
- [11] 任文君. 骨骼肌肌动蛋白及其基因表达与运动的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(36):7236 – 7239.
- [12] Clarkson PM, Hoffman EP, Zambraski E, et al. ACTN3 and MLCK genotype associations with exertional muscle damage[J]. *J Appl Physiol*, 2005(99):564 – 569.
- [13] Yang N, MacArthur DG, Gulbin JP, et al. ACTN3 genotype is associated with human elite athletic performance[J]. *Am J Hum Genet*, 2003(73):627 – 631.
- [14] 鲁政, 胡杨. 中国北方汉族人群的 ACTN3 的多态性与有氧耐力[J]. *中国运动医学杂志*, 2009, 28(2):147 – 149.
- [15] Ahmetov II, Druzhevskaya AM, Astratenkova IV, et al. The ACTN3 R577X polymorphism in Russian endurance athletes[J]. *Br J Sports Med*, 2010(44):649 – 652.
- [16] McCauley T, Mastana S, Hossack J, et al. Human angiotensin-converting enzyme I/D and α -actinin 3 R577X genotypes and muscle functional and contractile properties[J]. *Exp Physiol*, 2009(94):81 – 89.
- [17] Wilmore JH, DL Costill. *Physiology of Sport and Exercise*[M]. Champaign: Human Kinetics, 2004.
- [18] Vincent B, De Bock K, Ramaekers M, et al. ACTN3 (R577X) genotype is associated with fiber type distribution[J]. *Physiol Genomics*, 2007(32):58 – 63.
- [19] 尚旭亚, 黄昌林. 中国汉族军人辅肌动蛋白 3 (ACTN3) 基因多态性研究[J]. *解放军医学杂志*, 2007, 32(12):1236 – 1237.
- [20] Eynon N, Duarte JA, Oliveira J, et al. ACTN3 R577X polymorphism and Israeli top-level athletes[J]. *Int J Sports Med*, 2009(30):695 – 698.
- [21] Niemi AK, Majamaa K. Mitochondrial DNA and ACTN3 genotypes in Finnish elite endurance and sprint athletes[J]. *Eur J Hum Genet*, 2005(13):965 – 969.
- [22] Papadimitriou ID, Papadopoulos C, Kouvatsi A, et al. The ACTN3 Gene in Elite Greek Track and Field Athletes[J]. *Int J Sports Med*, 2007(29):352 – 355.
- [23] Norman B, Esbjörnsson M, Rundqvist H, et al. Strength, power, fiber types and mRNA expression in trained men and women with different ACTN3 R577X genotypes[J]. *J Appl Physiol*, 2009(106):959 – 965.
- [24] Lucia A, Gómez-Gallego F, Santiago C, et al. ACTN3 genotype in professional endurance cyclists[J]. *Int J Sports Med*, 2006(27):880 – 884.