

cntf 基因 A/G 多态性作为部分冰雪体能主导类项群运动员早期选材的相关性研究

The Correlation of *cntf* Gene A/G Polymorphism as the Early Selection of Athletes in the Physical Leading Athletes of Ice – snow

李 丽¹,周桐希²

LI Li¹, ZHOU Tong - xi²

摘要:目的:探寻 *cntf* 基因 A/G 多态性与东北地区部分冰雪体能主导类项群运动员早期选材的相关性。方法:选取东北地区短距离速度滑冰等六个项目共 106 名优秀运动员为实验组(分为速度型组和耐力型组),普通高校大学生 155 名为对照组。采用分子生物学 PCR - RFLP 的方法对其进行测定,对所得的数据进行统计学分析。结果:对照组与速度型组相比 *cntf* 基因 A/G 多态性的基因型频率 $\chi^2 = 6.721$, $P = 0.035$ ($P < 0.05$) ; 等位基因频率 $\chi^2 = 4.118$, $P = 0.042$ ($P < 0.05$)。结论:*cntf* 基因 A/G 多态性可能成为部分冰雪体能主导类速度型项目运动员早期选材的指标,可为我国冰雪运动员的早期选材提供数据参考。

关键词:冰雪运动;体能主导类项群;运动员选材;分子标记;*cntf* 基因 A/G 多态性

中图分类号:G808 **文献标识码:**A **文章编号:**1008 - 2808(2021)02 - 0025 - 06

Abstract: Objective: to explore the *cntf* gene A/G polymorphism as the early selection of athletes in the physical leading athletes of ice – snow of northeast region. Methods: Event group include 106 athletes in northeast region were selected as the experimental group (divided into speed type group and endurance type group). 155 college students were selected as the control group. The molecular biology PCR – RFLP method was used to measure the data, and the data were statistically analyzed. Results: compared with the control group, the genotype frequency of *cntf* gene A/G polymorphism in velocity group was $\chi^2 = 6.721$, $P = 0.035$ ($P < 0.05$) ; allele frequency was $\chi^2 = 4.118$, $P = 0.042$ ($P < 0.05$) . Conclusion: the A/G polymorphism of *cntf* gene may be used as an index for early selection of speed type athletes in ice – snow sports, which can provide data reference for the early selection of ice – snow athletes in China.

Key words:Ice – snow sports; Physical dominant event – group; Athletes selection; Molecular markers; *cntf* gene A/G polymorphism

多年的研究和实践结果显示:先天优势和后天努力是获得优异运动成绩的关键,并且对于部分运

动员来说即使付进行了严格艰苦的训练也很难跻身到世界领先行列,这一部分是由于每个人所携带

收稿日期:2020 - 12 - 28;修回日期:2021 - 03 - 01

作者简介:李丽(1972 -),女,教授,博士,研究方向为运动人体科学。

通信作者:周桐希(1993 -),女,硕士,研究方向为运动生物学监控与应用。

作者单位:1. 哈尔滨体育学院 运动人体科学与健康学院,黑龙江 哈尔滨 150008; 2. 黑龙江省雪上训练中心,黑龙江 哈尔滨 150008

的遗传素质基因各不相同,也就是运动天赋的差异。另一部分是所处的运动项目不同,也就是项群类别不同。虽然我国运动员的选材已从早期的经验选材法^[1]逐步过渡到生理生化等科学化的选材法,但这些方法仍然存在较大的误差。近些年分子生物学技术的兴起使得国内外学者在运动相关基因领域得以开展大量研究,并且收获的诸多有意义的研究成果。

Ciliary Neurotrophic Factor 即睫状神经营养因子,对神经细胞的损伤修复有着关键作用。国外对 *cntf* 的研究领先于国内很多年,并且在该基因的研究中取得了很多成就。IpNY 等^[2] 在对 *cntf* 缺陷型鼠研究时发现该基因对运动神经元的生长发育可以起到关键作用;Marques MJ^[3] 研究发现 *cntf* 能促进正常肌肉中的运动神经元再生。把 *cntf* 作用于体内受损的肌原细胞时, *cntf* 会加速肌管分化,增加肌纤维总量,推动肌肉再生。Roth. S. M^[4] 的研究显示:AG 型人群的肌肉力量和质量伴随牵张反射速率的提高比 GG 型人群要多, *cntf* 基因 A/G 多态性与力量素质有关,可以作为运动员基因选材的指标之一。Gassen M^[5] 觉得 *cntf* 基因能对于神经元退行性丧失所引起的疾病可以起到医治效果。不难看出,国外诸多研究结果都显示 *cntf* 基因和力量素质关系密切,且能够成为运动员基因选材的指标。

国内对 *cntf* 的研究更多的集中在体能训练对动物 *cntf* 表达的作用、受损神经修复、人体的身体素质以及运动员选材等方向。韩伟、李丽^[6] 的研究表明:越野滑雪运动员 *cntf* 基因的多态性和其受试者的力量素质之间无显著关联。李立青等^[7] 研究则证实了 *cntf* 基因与运动员的运动能力有关联,且不同类型的基因型与个别生化指标之存在显著性差异。杨晓林等^[8] 发现 *cntf* 基因的 GG 基因型能够成为我国举重项目的指标。但是由于我国冬季项目开展较晚,目前 *cntf* 基因与我国冬季项目运动员身体素质之间的研究相对较少,其研究在夏季项目中开展较多。

随着科技的发展基因选材是当前相对科学的一种选材方式,但是其准确性与大量的实验数据密不可分。在现阶段,我国基因选材工作在冰雪项目中尚未全面开展,尤其是在 2015 年之前,我国很多冰雪项目尚未建立专业的运动队,且相关专业人士较少,使得很难展开全面的研究。2015 年冬奥组委正式宣布我国将承办第二十四届冬奥会,使得我国对冰雪项目选材和训练工作更加重视,虽然我国

现在已具备一批拥有世界水平的顶尖运动员,但后备人材的短缺始终阻碍着我国冰雪项目的长期发展^[9]。因此借助现有优秀运动员来进行相关选材指标特别是基因选材指标的制定,对于我国创建优秀冰雪项目运动员选材模型有着重要的实践意义。本研究意在探讨 *cntf* 基因与冰雪项目体能主导类运动员基因选材之间的联系,并为我国冰雪项目科学化选材体系的构建做前期积累工作。

1 实验对象与方法

1.1 实验对象

东北地区汉族短距离速度滑冰等六个项目优秀运动员为实验组(分为速度型组和耐力型组),普通高校大学生为对照组。

实验组:东北地区汉族短道速滑运动员 22 名(男子 12 名、女子 10 名)、短距离速度滑冰运动员 38 名(男子 14 名、女子 24 名)、单板障碍追逐运动员 12 名(男子 5 名、女子 7 名)、单板平行大回转运动员 12 名(男子 5 名、女子 7 名),四个项目共 84 名(男子 36 名、女子 48 名)优秀运动员为速度型组;越野滑雪运动员名(男子 5 名、女子 5 名)和北欧两项运动员名(男子 9 名、女子 3 名),两个项目共 22 名(男子 14 名、女子 8 名)优秀运动员为耐力型组。所有运动员年龄均在 20 ± 4 岁,平均运动年限 8 ± 2 年,且均达到国家二级运动员及以上标准。

对照组:选取参加全国普通高等考试的非体育专业新生,且在参与本试验前未参加过系统的体育训练。运动人体科学专业与体育人文社会学专业本科生共 155 名(男子 73 名、女子 82 名)。所有测试人员年龄均在 20 ± 4 岁。

本实验受者均为中国北方汉族,且进行本实验时所有人员均身体健康,无任何重大疾病。

1.2 实验内容

采集实验组和对照组受者的血液样本,利用 PCR - RFLP 的方法进行 *cntf* 基因 A/G 多态性的测定。

1.3 主要实验仪器

PCR 扩增仪(德国艾本德股份公司 GSX1)、电泳仪(北京市六一仪器厂 DYY - 6D)、凝胶成像系统(美国 Protein Simple 公司 AlphaImager Mini)。

1.4 主要实验试剂

全血 DNA 摄取试剂盒(普洛麦格公司)、Green Master Mix(普洛麦格公司)、Nuclease - Free Water(普洛麦格公司)、*cntf* - F/R(哈尔滨新海基

因检测有限公司)、Buffer C 10X Buffer(普洛麦格公司)、HeaⅢ(普洛麦格公司)、TBE Buffer 10X(北京普利莱基因技术有限公司)、Agarose LE(青岛生工生物科技有限公司)GelRed Nucleic Acid Gel Stain(美国Biotium公司)、500 bp DNA Ladder(天津润泰科技发展有限公司)。

1.5 实验操作主要过程

(1) 对照组和实验组的基因型频率分布运用

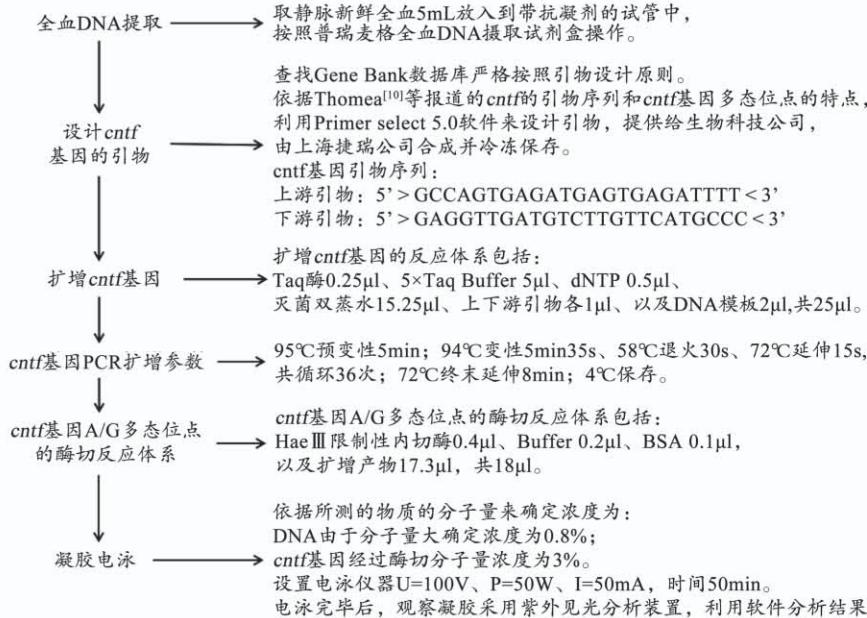


图1 本实验主要操作过程图

2 cntf基因A/G多态性的实验结果

2.1 判断cntf基因的A/G多态性

睫状神经因子cntf基因能够促进感觉、运动和交感神经元存活，在神经系统发育、分化和损伤修复过程中发挥重要作用。它属于白介素6家族的一种细胞因子。人的cntf基因定位第11号染色体长臂近端，由两个外显子和一个1kb左右内含子组成。图2可见，本实验使用HaeⅢ酶切后所得到产物经琼脂糖凝胶电泳后，在紫外灯下即可呈现出三种带型：AA纯合型：单一134bp条带；

GG纯合型：94bp和40bp两条条带；

AG杂合型：134bp、94bp和40bp三条条带。

因此，cntf基因在此多态位点可分为AA、AG和GG三种不同的基因型。

Marker电泳条带：Lane 1(由上至下分别为2000 bp、1000 bp、750 bp、500 bp、250 bp、100 bp)

纯合子AA电泳条带：Lane 3、5、6

纯合子GG电泳条带：Lane 2、4

基因平衡定律(Hardy-Weinberg, H-W)进行检验，确定所测人群的群体代表性，利用遗传学统计方法对cntf基因不同多态性的频率和等位基因进行整理(见图1)。

(2)用SPSS 24 for Windows统计学软件对受试者的基因型和等位基因频率进行卡方检验， $P < 0.05$ 代表具有显著差异， $P < 0.01$ 代表具有极其显著差异。

杂合子AG电泳条带：Lane 7、8、9

PCR产物电泳条带：Lane 10



图2 cntf基因A/G多态性的凝胶电泳图

2.2 实验组和对照组cntf基因A/G多态性基因型频率的平衡检验

经过Hardy-Weinberg平衡检验，对照组 $P = 0.191$ ($P > 0.05$)、速度型组 $P = 0.001$ ($P < 0.05$)、耐力型组 $P = 0.245$ ($P > 0.05$)。实验组和耐力型组cntf基因A/G多态性频率分布符合遗传定律；速度型组cntf基因A/G多态性频率分布不符合遗传定律，没有代表性，由于优秀运动员人数较少，属特殊人群，不能完全套用定律，进行统计分析时不影响结果的判断。具体见表1。

表 1 实验组和对照组 *cntf* 基因 A/G 多态性
基因频率的 Hardy – Weinberg 平衡定律检验

分组	N	基因分型			HEW	P
		AA	AG	GG		
对照组	155	31	65	59	1.709	0.191
速度型组	84	15	23	46	11.255	0.001
耐力型组	22	5	8	9	1.352	0.245

对照组的 *cntf* 基因 A/G 多态性的基因型频率分别为: AA 型 20.00%、AG 型 41.94%、GG 型 38.06%; 速度型组的 *cntf* 基因 A/G 多态性的基因型频率分别为: AA 型 17.86%、AG 型 27.38%、GG 型 54.76%; 耐力型组的 *cntf* 基因 A/G 多态性的基因型频率分别为: AA 型 22.73%、AG 型 36.36%、

GG 型 40.91%。由此可见,对照组的 *cntf* 基因 A/G 多态性分布频率顺序为: AG 型 > GG 型 > AA 型; 实验组的 *cntf* 基因 A/G 多态性分布频率顺序为: GG 型 > AG 型 > AA 型。

经卡方检验得出,与对照组相比:速度型组 *cntf* 基因 A/G 多态性的基因型频率 $\chi^2 = 6.721$, $P = 0.035$ ($P < 0.05$); 耐力型组 *cntf* 基因 A/G 多态性的基因型频率 $\chi^2 = 0.256$, $P = 0.880$ ($P > 0.05$)。速度型组与耐力型组相比 *cntf* 基因 A/G 多态性的基因型频率 $\chi^2 = 1.345$, $P = 0.510$ ($P > 0.05$)。由此可见,速度型组的 *cntf* 基因 A/G 多态性的基因型频率与对照组相比有显著性统计学差异。耐力型组的 *cntf* 基因 A/G 多态性的基因型频率无论是与对照组还是速度型组相比均无统计学差异。具体见表 2。

表 2 实验组和对照组之间 *cntf* 基因 A/G 多态性的基因型频率分布及卡方检验

分组	N	基因型频率(%)						卡方检验结果			
		对照组			速度型组			耐力型组			
		χ ²	P	χ ²	P						
对照组	155	31	20.00	65	41.94	59	38.06	6.721	0.035▲	0.256	0.880
速度型组	84	15	17.86	23	27.38	46	54.76	6.721	0.035▲	1.345	0.510
耐力型组	22	5	22.73	8	36.36	9	40.91	0.256	0.880	1.345	0.510

2.3 实验组运动员 *cntf* 基因 A/G 等位基因频率分布及卡方检验

对照组的 *cntf* 基因 A/G 多态性等位基因频率分别为: A 等位基因 40.97%、G 等位基因 59.03%; 速度型组的 *cntf* 基因 A/G 多态性等位基因频率分别为: A 等位基因 31.55%、G 等位基因 68.45%; 耐力型组的 *cntf* 基因 A/G 多态性等位基因频率分别为: A 等位基因 40.91%、G 等位基因 59.09%。由此可见,无论是对照组还是实验组的等位基因频率均是 G > A。

经卡方检验得出,与对照组相比:速度型组 *cntf* 基因 A/G 多态性等位基因频率 $\chi^2 = 4.118$, $P = 0.042$ ($P < 0.05$); 耐力型组 *cntf* 基因 A/G 多态性等位基因频率 $\chi^2 = 0.000$, $P = 0.994$ ($P > 0.05$)。速度型组与耐力型组相比 *cntf* 基因 A/G 多态性等位基因频率 $\chi^2 = 1.372$, $P = 0.241$ ($P > 0.05$)。可见,速度型组的 *cntf* 基因 A/G 多态性等位基因频率与对照组相比有显著性统计学差异。耐力型组的 *cntf* 基因 A/G 多态性等位基因频率无论是与对照组还是速度型组相比均无统计学差异(见表 3)。

表 3 实验组和对照组 *cntf* 基因 A/G 多态性的等位基因频率分布及卡方检验

分组	N	等位基因频率(%)				卡方检验结果			
		对照组		速度型组		耐力型组			
		A	G	χ ²	P	χ ²	P	χ ²	P
对照组	155	127	40.97	183	59.03	4.118	0.042▲	0.000	0.994
速度型组	84	53	31.55	115	68.45	4.118	0.042▲	1.372	0.241
耐力型组	22	18	40.91	26	59.09	0.000	0.994	1.372	0.241

3 分析与讨论

3.1 实验对象的选择

在进行遗传学的研究时,实验对象的选择会在很大程度上影响到实验结果的可信度和代表性。本研究在实验对象的选材上尽量避免可预见性的因素干扰,以求研究结果具有一定的代表性。

3.1.1 样本量的选择 本研究选取我国部分冰雪项目中体能主导类项群优秀运动员共计106名作为实验组。我国冰雪运动与夏季项目相比受地域影响大主要集中于东北三省,经济落后严重制约冰上运动的发展因此呈现起步晚,发展慢的特点。我国现役冰雪项目运动员人数与夏季项目运动员人数相比简直是天壤之别,且其中很大部分都只是二、三线年轻运动员,这些运动员无运动级别,很少参加国内外大型比赛,不能称之为优秀运动员。本研究所选取的优秀运动员均达到国家二级及以上水平,但由于部分项目开展较晚,目前达到优秀水平的运动员数量有限,尤其是耐力型组仅收集到22名优秀运动员的样本,约为速度型组样本量的26%,可能会对研究结果产生影响。但介于我国此项目的实际情况,为了避免由于运动员退役造成人才资源的浪费,先将所能研究优秀运动员的数据作为资料储备。随着我国冰雪项目的发展,参与的人数增多,相信终有一天会全面客观地在此领域进行深入系统地研究。

3.1.2 地域和种族的选择 Bautista. L. E^[12]对黑种人、白种人及日本人进行基因多态性的研究,结果显示:三种人的基因型和等位基因的频率均具有显著性差异。Montgomery. H^[11]通过对高加索人群的研究发现该种族人群的基因型频率有较高的重合度。尚旭亚^[13]在对中国汉族男性军人的研究中发现 *cntf* 基因从种族单一性的选择因素考虑,可以作为中国汉族男性军人 *cntf* 基因 A/G 多态频率分布的代表,这说明种族对基因多态性影响至关重要。刘建^[14]和高炳宏^[15]分别对我国不同地区的普通汉族人群进行研究,发现不同地域的普通人群即使是同一国家的同一种族其基因型频率也存在差异性,说明种族和地域是影响 *cntf* 基因多态性的因素。因此,进行基因多态性研究时要控制地域和种族等因素的变量,避免其对结果的影响。鉴于以上分析,本研究选择的对照组与实验组都是中国北方汉族,这样的选择可减少由于地域和种族对基因多态性的影响。

3.1.3 年龄层的选择 多项遗传学的研究都证明

年龄可能会对研究结果产生影响^[16]。张进^[17]的研究显示各年龄段之间的基因多态性存在显著差异,且不同年龄段的基因多态性表达也有所不同。Rankinen^[18]研究结果表明:受试者年龄的选择也能影响其研究的结果。因此,在进行基因多态性的研究时需要考虑到年龄因素,避免对实验结果产生影响。鉴于上述分析,本研究选择的实验组和对照组年龄都是16~24岁,这样的选择可减少年龄因素对基因多态性的影响。

3.2 *cntf* 基因多态性与运动能力

cntf 基因对运动神经元的保护修复和作用^[2],可能是它与力量素质相关的原因之一。Roth Stephen. M^[4]的研究结果表明 AG 型运动员的肌纤维在进行快速运动时要比 GG 型运动员产生更大的肌力。黄昌林等^[19]通过对我国汉族男性军人的握力进行测试,并未发现其 AG 基因型和 CG 基因型的力量与体指数之间的关联性。韩伟等^[6]对我国越野滑雪运动员的 *cntf* 基因进行实验研究发现与普通人相比基因型频率无显著性差异。上述研究表明,关于 *cntf* 基因多态性的研究更多集中在身体素质方面,在优秀运动员选材方面的研究较少,缺少运动项目和实验人数等方面的数据支持,还需要继续系统和深入地进行研究^[20]。

本研究中实验组和耐力型组的 *cntf* 基因均具有群体代表性;而速度型组 *cntf* 基因不具有群体代表性,其原因可能是由于所选择的实验组属于特殊的人群,他们的基因型可能受运动项目遗传特性和能量代谢特点影响^[21],这一特征和现有的研究结果一致。

本研究将各实验组与对照组做对比,发现速度型组运动员与对照组普通人相比无论是 *cntf* 基因 A/G 多态性还是其等位基因型频率分布都存在显著性差异($P < 0.05$),且实验组的 *cntf* 基因 A/G 多态性分布频率顺序均为:GG 型 > AG 型 > AA 型。可以认为:*cntf* 基因 A/G 多态性可能成为部分冰雪体能主导类速度型项目运动员早期选材的指标。

4 结 论

cntf 基因 A/G 多态性在与速度型组的对比中存在显著性差异,提示该基因多态性可能与项目类型有所关联,可能成为部分冰雪体能主导类速度型项目运动员早期选材的指标。建议在之后的研究中扩大样本量,细化至各个小项进行研究,以寻求 *cntf* 基因 A/G 多态性与不同专项之间的关联,为我国冰雪项目运动员早期选材体系的建立提供更为

全面细致的数据基础。

参考文献:

- [1] 曾凡辉,王路德,邢文华.运动员科学选材 [M].北京:人民体育出版社,1992:5.
- [2] Ip NY, McClain J, Barrezueta NX, et al. The alpha component of the *cntf* receptor is required for signaling and defines potential *cntf* targets in the adult and during development [J]. *Neuron*, 1993(10):89–102.
- [3] Marques MJ, Neto HS. Ciliary neurotrophic factor stimulates *in vivo* myotube formation in mice [J]. *Neurosci Letters*, 1997(234):43–46.
- [4] Roath S. M., Schrager M. A., Ferell E R, et al. *cntf* genotype is associated with muscular strength and quality in humans across the adult age span [J]. *J Appl Physiol*, 2001, 90:1205–1210.
- [5] Gassen M, Youdin M B. The potential role of iron chelators in the treatment of Parkinson's disease and related neurological disorders [J]. *Pharmacol Toxicol*, 1997, 80:159–166.
- [6] 韩伟,李丽.*cntf*基因的多态性与中国越野滑雪运动员运动能力的相关性分析[J].哈尔滨体育学院学报,2012(4):118–121.
- [7] 李立青,田亚平,董矜,等.*cntf*基因单核苷酸多态性与运动能力的关联性及与一些生化指标的关系[J].西部医学,2009(6):898–900.
- [8] 杨晓琳,胡扬,李燕春.睫状神经营养因子基因G1357A多态位点作为举重运动员选材用分子标记可行性研究[J].中国运动医学杂志,2014(4):308–311.
- [9] 李丽,周桐希.*cntf*基因A/G多态性作为东北地区雪上技能主导类运动员早期选材的相关性研究[J].通化师范学院学报,2018,39(4):113–117.
- [10] Johannes Thomea , Johannes Kornhuber et al. Association between a null mutation in the human ciliary neurotrophic factor (*cntf*) gene and increased incidence of psychiatric diseases? [J]. *Neuroscience Letters*, 1996: 109 – 110.
- [11] Montgomery H, R. Marshall, and H. Hemingway. Human gene for physical performance [J]. *Nature*, 1998(393): 221–222.
- [12] Bautista. L. E, Ardila M E, Gamarra G, et al. Angiotensin – converting Enzyme Gene Polymorphism and Risk of Myocardial Infarction in Colombia [J]. *Med Sci Monit*, 2004, 10 (8): 473–479.
- [13] 尚旭亚.中国汉族男性军人ACTN3、ADRA2A、*cntf*基因多态性研究[D].西安:第四军医大学,2009.
- [14] 刘建,王明勇,刘琦,等.四川南部汉族人群血管紧张素转换酶基因多态性对血管紧张素转换酶抑制剂抗蛋白尿作用的影响[J].中华医学遗传学杂志,2005(2):204–205.
- [15] 高炳宏,陈佩杰,董强刚,等.上海汉族优秀耐力运动员ACE基因I/D多态性与最大有氧能力的关联研究[J].体育科学,2006(2):42–47,54.
- [16] 钟添发.运动员竞技能力模型与选材标准[M].北京:人民体育出版社,1994.
- [17] 张进,孙晓江,吕善庆,等.290例脑血栓形成者ACE基因多态性分析[J].中国老年学杂志,2002,22(5): 177–178
- [18] Rankinen T, Perusse I, et al. Apasea2 gene and trainability of cardiorespiratory endurance: the Heritage family study [J]. *J Appl physiol*, 2000, 88(1): 346–351.
- [19] 黄昌林,尚旭亚.ACTN3、ADRA2A、睫状神经营养因子基因多态性与士兵速度、耐力、力量素质的相关性[J].中国组织工程研究与临床康复,2008(37):7341–7346.
- [20] 周桐希. ACE 等基因多态性在我国部分冰上项目基因选材中的研究[D].哈尔滨:哈尔滨体育学院,2018.
- [21] 贾松竹. ace、*cntf*、actn3 多态位点作为黑龙江省雪上项目运动员分子选材标记可行性研究[D].哈尔滨:哈尔滨体育学院,2019.