

· 临床研究 ·

## 云南傣族 FUT2、FUT3 基因多态性研究

程瑜静<sup>1</sup>, 代润<sup>1</sup>, 陈婉璐<sup>1</sup>, 李琦<sup>1</sup>, 江晓春<sup>2\*</sup><sup>1</sup>云南省第一人民医院(昆明理工大学附属医院)输血科, 云南 昆明 650032; <sup>2</sup>云南省第三人民医院输血科, 云南 昆明 650032

**[摘要]** **目的:**了解云南少数民族人群 FUT2、FUT3 基因多态性,同时探讨与汉族人群的差异。**方法:**随机选取 149 例云南地区傣族人群,利用血型血清学方法分析其 Lewis 表型;利用直接测序法,对其 FUT2、FUT3 进行基因检测,采用卡方检验比较各等位基因频率在傣族人群与汉族人群间的差异。**结果:**149 例云南傣族人群的各表型频率分别为 Le(a-b+)46.3%、Le(a+b-)34.9%、Le(a-b-)18.7%,FUT2 基因发现 1 例白种人中常见的 G428A 突变,但与其 A171G、C357T、A385T、G739A 突变同时发生;FUT3 基因发现 7 个突变位点,其中 C762A 为首次发现的突变位点。单倍体分析显示,除功能性的 Le 等位基因外,还发现可疑为功能性等位基因 Le732(732C>T)1 种,非功能性的等位基因 8 种;云南傣族人群与汉族人群比较,Se357、se357、385、se385、se357、571、se171、428、739、960、le59、le1067、le508、le59、508 阳性率的差异均存在统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论:**中国云南傣族人群 FUT2、FUT3 等位基因具有广泛的遗传多态性。

**[关键词]** FUT2/FUT3;基因测序;傣族;遗传多态性**[中图分类号]** R457.1**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2020)10-1520-05**doi:** 10.7655/NYDXBNS20201021

## Genetic polymorphisms of FUT2 and FUT3 in the LiSu minorities of Yunnan

CHENG Yujing<sup>1</sup>, DAI Run<sup>1</sup>, CHEN Wanlu<sup>1</sup>, LI Qi<sup>1</sup>, JIANG Xiaochun<sup>2\*</sup><sup>1</sup>Department of Blood Transfusion, the First People's Hospital of Yunnan Province, the Affiliated Hospital of Kunming University of Science and Technology, Kunming 650032; <sup>2</sup>Department of Blood Transfusion, the Third People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China

**[Abstract]** **Objective:** To study and compare the genetic polymorphism difference of Lewis related fucosyltransferase-2(FUT2) and fucosyltransferase-3(FUT3) between LiSu minority and Han population in Yunnan. **Methods:** A total of 149 random samples were collected from LiSu minority in Yunnan. Samples were analyzed using blood typing serological method for Lewis phenotyping. All samples also undergone direct sequencing method for FUT2 and FUT3, and Chi square test was used for statistical analysis. **Results:** The frequency of Lewis phenotype in the 149 samples were as followed, Le(a-b+)46.3%, Le(a+b-)34.9%, Le(a-b-)18.7%. One FUT2 sequence sample demonstrated a rare allele G428A mutation that was common in Caucasian, however it was accompanied with A171G, C357T, A385T, and G739A mutation. Seven alleles mutation points were found in FUT3 sequencing, and C762A mutation was a new discovery. Besides functional Le allele, halotyping indicated 1 possible functional Le allele Le732(732C>T) and 8 non-functional Le alleles. Statistical analysis showed a significant difference in Se357, se357, 385, se385, se357, 571, se171, 428, 739, 960, le59, le1067, le508, le59, 508, between LiSu minority and Han population( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Alleles FUT2 and FUT3 of LiSu minority in Yunnan province had a wider range of genetic polymorphism.

**[Key words]** FUT2/FUT3;gene sequencing;LiSu minorities;genetic polymorphism

[J Nanjing Med Univ, 2020,40(10):1520-1524]

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81860040);云南省科技计划项目-昆明医科大学联合专项基金(2017FE468-125)

\*通信作者(Corresponding author),E-mail:1030119837@qq.com

岩藻糖基转移酶(fucosyltransferase, FUT)是一类己糖基转移酶,在红细胞表面糖链的合成、糖与蛋白质和脂质结合形成糖类复合物中起重要作用,

同时许多疾病的发生,例如肿瘤、肠道感染<sup>[1]</sup>的发病机制中,均存在异常糖基化,其根本原因就在于糖基转移酶的结构和功能的变化,因此,越来越多的研究开始探讨FUT基因的结构和生物学功能<sup>[2]</sup>。中国幅员辽阔,人口种族繁多,其中以汉族为主,因此国内很多研究均集中于汉族人群的FUT基因多态性,以期得到中国地区各FUT基因的基因频率,同时探讨中国人与西方人群相比是否存在新的基因突变点<sup>[3]</sup>,但由于人口迁徙、历史发展等多方面因素,中国汉族人群FUT基因的多态性是否可以代表中国人的整体特征,一直是学术研究的关注点之一。本文首次对傈僳族人群FUT2、FUT3基因进行了较大样本的遗传多态性研究,以期得到傈僳族人群FUT基因的分布情况,同时与中国汉族人群相比,探讨其差异性。现将结果报道如下。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

本研究采取对照研究设计,对照组随机选取1 513例汉族人群,对其进行FUT2、FUT3基因多态性检测,以得到的各基因型频率为对照(论文发表中)。傈僳族组随机选取云南地区149例当地原住傈僳族居民,此原住居民三代以内均生活在当地,不存在人口迁徙。所有参与者对本研究的实验方案已知悉并签署知情同意书,且该研究得到了云南省第一人民医院伦理委员会的同意。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 DNA提取

血样EDTA抗凝,在血样采集后12 h内完成核酸提取,运用磁性微珠分离技术使用磁珠试剂(Prepito DNA Blood 250 Kit, Chemagen公司,德国)在全自动核酸提取仪完成,核酸样本保存于-40℃直至分子生物学分析。

#### 1.2.2 PCR扩增及测序分析

使用Lewis测序试剂盒对样本DNA进行直接PCR扩增,试剂盒由江苏中济万泰生物医药有限公司提供。扩增后产物由上海生工进行Sanger测序分析,测序软件使用Geneious 10。FUT2(GenBank ID: U17894)与FUT3(GenBank ID: X53578)作为参照模板序列。

### 1.3 统计学方法

应用SPSS22.0对FUT2、FUT3各基因位点进行基因频率分析,利用哈迪-温伯格平衡定律(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)进行吻合度检验,对照

汉族人群对应基因位点的基因频率,利用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 突变位点

149例云南傈僳族人群经直接测序后,共发现7个FUT2突变位点,其中357C>T突变频率最高,其次为385A>T;FUT3基因以59T>G突变形式为多见,其次为508G>A、202T>C。见表1。

### 2.2 等位基因频率

通过直接测序方法,对所有傈僳族组人员均进行了FUT2基因序列分析,其中3例由于血样问题,不能正确进行FUT2序列分析,其余146例云南傈僳族人群FUT2进行测序后,可以看出,云南地区傈僳族,se357,385/se357,385为最常见的FUT2基因突变形式,其次为Se357/se357,385;149例云南傈僳族人群FUT3基因测序后,对其可能的等位基因组成进行分析,与野生型相比,Le/le59比例最高,其余为Le/le508。结果见表2。

### 2.3 云南傈僳族人群与汉族人群单倍型差异性比较

云南傈僳族人群进行测序分析后,对于可能的FUT2单倍型与汉族人群比较,在形式上,以se357,385/se357,385比例最高,其次为Se357/se357,385;与汉族人群比较,除Se357/se385、Se357/se357,571、se357,385/se171,428,739外,其他可能的单倍型均有显著差异性。见表3。

另外,选取FUT3单倍型Le/le59、Le/le1067、Le/le508、Le/Le、Le/le59,508进行差异性比较,所有选取的单倍型,云南傈僳族人群与汉族人群均存在显著差异性。结果见表3。

### 2.4 云南傈僳族人群等位基因频率与汉族人群差异性比较

云南傈僳族人群FUT2等位基因与汉族人群比较,在等位基因Se357、se357,385、se385、se357,571上,较汉族人群差异性显著;傈僳族人群与汉族人群FUT3等位基因比较,有突变位点的人群均有显著性差异。结果见表4。

## 3 讨论

Lewis血型抗原在临床输血中具有重要意义,其两个重要的抗原Le<sup>a</sup>和Le<sup>b</sup>的表达和合成是在前体糖链基础上通过多个糖基转移酶连续作用所形成,而FUT2、FUT3决定了Lewis的4种不同表型,FUT2基因又称SE基因,其等位基因分别为Se和se,其遗传

表1 云南傈僳族人群FUT2、FUT3基因突变位点

Table 1 Mutation sites of FUT2 and FUT3 genes in LiSu minority in Yunnan

基因	突变位点	突变形式	例数(构成比) [n(%)]	突变频率 (%)
FUT2	171A	AA	145(97.32)	0.67
		AG	1(0.67)	
	172A	AA	145(97.32)	0.67
		AG	1(0.67)	
	357C	CC	23(15.44)	84.56
		CT	19(12.75)	
		TT	104(69.80)	
	385A	AA	34(22.82)	77.18
		AT	56(37.58)	
		TT	56(37.58)	
	428G	GG	145(97.32)	0.67
		GA	1(0.67)	
	571C	CC	145(97.32)	0.67
		CT	1(0.67)	
739G	GG	145(97.32)	0.67	
	GA	1(0.67)		
FUT3	59T	TT	90(60.40)	39.60
		GT	50(33.56)	
		GG	9(6.04)	
	202T	TT	134(89.93)	10.07
		CT	15(10.07)	
		CC	0(0)	
314C	CC	147(98.66)	1.34	
	CT	2(1.34)		
	TT	0(0)		
508G	GG	97(65.10)	34.90	
	GA	50(33.56)		
	AA	2(1.34)		
503G	GG	147(98.66)	1.34	
	GA	2(1.34)		
	AA	0(0)		
732C	CC	140(93.96)	6.04	
	CT	9(6.04)		
	TT	0(0)		
762C	CC	148(99.33)	0.67	
	AC	1(0.67)		
	AA	0(0)		
1067T	TT	135(90.60)	9.40	
	AT	14(9.40)		
	AA	0(0)		

遵循孟德尔遗传规律,当其基因型为 SeSe 和 Sese 时,可表现为分泌型,当其基因型为 sese 时,可表现为非分泌型,即 FUT2 基因决定了 Le 抗原的多态性;

表2 云南傈僳族人群FUT2、FUT3基因频率

Table 2 FUT2 and FUT3 gene frequencies in LiSu minority in Yunnan

基因	单倍型	例数	百分比(%)
FUT2	Se357/se357,385	39	26.71
	Se357/se385	14	9.59
	Se/Se357	3	2.05
	Se/Se	24	16.44
	Se357/Se357	6	4.11
	Se357/se357,571	1	0.68
	se357,385/se171,428,739	1	0.68
	se357,385/se357,385	56	38.36
	Se357/se172,357	1	0.68
	se357,385/se172,357	1	0.68
FUT3	Le/le59	25	16.78
	Le/le1067	10	6.71
	Le/le508	21	14.09
	Le/Le	40	26.85
	Le/le202	8	5.37
	Le/le314	2	1.34
	Le/le59,508	7	4.70
	Le732/le508	9	6.04
	le202/le59,508,1067	3	2.01
	le508/le59,508	2	1.34
le59/le202	2	1.34	
le59/le508	8	5.37	
le59/le59	9	6.04	
le59,508/le202,530	2	1.34	
Le59,1067/Le762	1	0.67	

FUT3 基因又称 LE 基因,它决定了 Le 抗原表达与否,在其生物合成途径中,Le 抗原均是在统一的前体物质 I 型前体糖链基础上,通过 FUT2 酶即 $\alpha$ -1、2 岩藻糖基转移酶作用形成 H 糖链,进而通过 FUT3 酶即 $\alpha$ -1、3/4 岩藻糖基转移酶作用形成 Le<sup>b</sup> 抗原,进而形成 Le(a-b+) 表型,如果 FUT2 酶失活,即无法形成 H 糖链,进而形成 Le(a+b-) 表型,如果 FUT2 酶部分失活,则形成 Le(a+b+) 表型,如果 FUT3 酶失活,无论 FUT2 酶是否具有活性,则均无法形成 Le<sup>a</sup> 和 Le<sup>b</sup> 抗原,表型即为 Le(a-b-),此种表型目前国内多数报道为 20%,本次在云南地区傈僳族 Le(a-b-) 表型频率为 18.7%(28/149),说明云南地区傈僳族人群分泌型状态与其他地区人群基本一致。

既往国内针对 FUT2 基因的研究主要认为 FUT2 基因蛋白编码区域内单个碱基的突变(如 G428A、A385T、C571T、C658T 或 G849A)产生的无功能等位基因将导致 Se 酶活性丧失<sup>[4]</sup>。这些无功能等位基

表3 云南傈僳族人群与汉族人群单倍型比较

Table 3 Comparison of haplotypes between LiSu population and Han population in Yunnan

单倍型	云南傈僳族人群		汉族人群		卡方值	P值
	阳性率(%)	阴性率(%)	阳性率(%)	阴性率(%)		
FUT2						
Se357/se357,385	26.17	73.83	0	100.00	772.04	<0.001
Se357/se385	9.40	90.60	14.08	85.92	2.521	0.112
Se/Se357	2.01	97.99	12.29	87.71	14.223	<0.001
Se/Se	16.11	83.89	1.65	98.35	94.065	<0.001
Se357/Se357	4.03	95.97	47.59	52.41	104.625	<0.001
Se357/se357,571	0.67	99.33	2.78	97.22	1.622	0.203
se357,385/se171,428,739	0.67	99.33	0.99	99.01	0	1.000
se357,385/se357,385	37.58	62.42	12.82	87.18	—	<0.001
Se357/se172,357	0.67	99.33	0	100.00	—	0.090
se357,385/se172,357	0.67	99.33	0	100.00	—	0.090
FUT3						
Le/le59	16.78	83.22	1.97	98.03	89.127	<0.001
Le/le1067	6.71	93.29	0.51	99.49	41.252	<0.001
Le/le508	14.09	85.91	3.58	96.42	33.815	<0.001
Le/Le	26.85	73.15	36.35	63.65	5.308	0.021
Le/le59,508	10.07	89.93	20.58	79.42	9.449	0.002

表4 云南傈僳族人群与汉族人群等位基因比较

Table 4 Comparison of alleles between LiSu population and Han population in Yunnan

等位基因	云南傈僳族人群		汉族人群		卡方值	P值
	阳性率(%)	阴性率(%)	阳性率(%)	阴性率(%)		
FUT2						
Se	17.11	82.89	16.89	83.11	0.010	0.921
Se357	23.49	76.51	56.15	43.85	116.208	<0.001
se357,385	51.34	48.66	20.89	79.11	139.501	<0.001
se385	4.70	95.30	0	100.00	131.781	<0.001
se357,571	0.34	99.66	2.15	97.85	4.579	0.032
se171,428,739,960	0.34	99.66	1.09	98.91	0.873	0.350
FUT3						
Le	50.67	49.33	49.67	50.33	0.107	0.743
le59	8.39	91.61	0.99	99.01	87.575	<0.001
le1067	3.36	96.64	0.26	99.74	41.020	<0.001
le508	7.05	92.95	1.79	98.21	33.017	<0.001
le59,508	5.03	94.97	10.29	89.71	8.426	0.004

因的分布具有地域和种族差异性,多数研究证实中国人分泌型基因存在 A385T、C357T 的点突变,同时具有这两种突变的 Se 等位基因称为 Sew,这种弱的分泌型等位基因 Sew 是形成 Le(a+b+) 的基础<sup>[5]</sup>。本次研究同样发现,在云南傈僳族人群中 A385T、C357T 仍是主要的点突变形式,另外本研究发现 1 例 C357T、C571T 合并点突变的傈僳族,既往研究认为

C571T 的点突变会产生一个新的 Dde I 酶切位点,这对于遗传学中人种起源、迁移具有重要意义,但既往国内研究中均未发现这一点突变形式,本次研究发现的 C571T 点突变是和 C357T 同时出现的,是否提示云南傈僳族人群在人种起源上与汉族人群存在差异性,还有待后续进一步研究。

目前,FUT3 基因具有广泛的遗传多态性这一观

点已被大多数研究所证实,许先国等<sup>[6]</sup>研究显示,浙江人群存在5种非功能性等位基因,le59,508为主要等位基因形式,le59,le1067等位基因其次,le202,314等位基因频率较低。本研究发现了7种非功能性等位基因,其中le59(8.39%)为主要等位基因形式,其次为le508(7.05%)、le59,508(5.03%)、le1067(3.36%),其中le59、le1067是亚洲人和白种人中均比较罕见的等位基因形式,但此次我们在云南地区傣族人群中发现其频率分别为8.39%和3.36%,提示云南傣族人群在FUT3基因上具有更为广泛的遗传多态性。过去的文献已经报道,Lewis血型抗原与诺如病毒感染、轮状病毒感染、肿瘤形态具有相关性<sup>[7-8]</sup>。对于Lewis多态性是否提示Le抗原存在地域、种族差别、与中国人<sup>[9]</sup>或疾病多态性,需要后续进一步研究。

同时本研究发现2例患者其等位基因型为Le732、le762,其中有8例云南傣族人群其FUT3基因均存在732C>T和508G>A的合并突变,1例云南傣族人群762C>A合并59T>G和1067T>A的突变。Le732的突变是一种罕见的FUT3基因突变,目前国内外仅有3个研究对其有所报道,其中Soejima等<sup>[10]</sup>报道59T>G、508G>A和732C>T突变将引起FUT3基因非功能性变化,但本研究发现的8例患者均不存在59T>G突变,另外762C>A突变位点目前国内外均未报道过,这些突变位点引起FUT3基因的功能性还是非功能性改变,目前还在研究中。综上所述,云南地区傣族人群在FUT2、FUT3基因上均具有广泛的遗传多态性。

#### [参考文献]

- [1] BAI J, WU Z, SUGIARTO G, et al. Biochemical characterization of *Helicobacter pylori*  $\alpha$ 1-3-fucosyltransferase and its application in the synthesis of fucosylated human milk oligosaccharides[J]. Carbohydrate Res, 2019, 480: 1-6
- [2] TAN Y, ZHANG Y, HAN Y, et al. Directed evolution of an 1, 3-fucosyltransferase using a single-cell ultrahigh-throughput screening method[J]. Sci Adv, 2019, 5(10): eaaw8451
- [3] SATO T, SATO M, KIYOHARA K, et al. Molecular cloning and characterization of a novel human  $\beta$ 1, 3-glucosyltransferase, which is localized at the endoplasmic reticulum and glucosylates O-linked fucosylglycan on thrombospondin type 1 repeat domain[J]. Glycobiology, 2006, 16(12): 1194-1206
- [4] NAKASHIMA F, BRANDÃO DE MATTOS C C, FERREIRA A I C, et al. FUT3 and FUT2 genotyping and glycoconjugate profile Lewis b as a protective factor to *Toxoplasma gondii* infection[J]. Acta Trop, 2019, 193: 92-98
- [5] 金沙, 郑皆炜, 沈伟, 等. 中国人唾液血型物质与FUT2、FUT3基因多态性初步研究[J]. 中国输血杂志, 2018, 9(7): 947-949
- [6] 许先国, 朱发明. 中国浙江人群中Lewis血型相关的FUT3基因多态性初步研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2006, 14(3): 601-604
- [7] LOUISA P, AISLEEN B, JERE K C, et al. Nonsecretor histo-blood group antigen phenotype is associated with reduced risk of clinical rotavirus vaccine failure in Malawian infants[J]. Clin Infect Dis, 2019, 69(8): 1313-1319
- [8] MOROZOV V, HANISCH F G, WEGNER K M, et al. Pandemic GII.4 Sydney and Epidemic GII.17 Kawasaki308 noroviruses display distinct specificities for histo-blood group antigens leading to different transmission vector dynamics in Pacific oysters[J]. Front Microbiol, 2018, 9: 2826
- [9] 张婵, 陈婉璐, 程瑜静, 等. 云南佤族人群红细胞抗原多态性调查及生物学意义[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2016, 36(3): 121-124
- [10] KODA Y, SOEJIMA M, LIU Y H, et al. Molecular basis for secretor type alpha(1, 2)-fucosyltransferase gene deficiency in a Japanese population: a fusion gene generated by unequal crossover responsible for the enzyme deficiency[J]. Am J Human Genet, 1996, 59(2): 343-350

[收稿日期] 2019-09-22