α-酮戊二酸脱氢酶基因多态性与优秀有氧运动能力的关联研究

吴 剑[1]，胡 扬[2]，龚丽景[2]

（1. 首都体育学院运动科学与健康学院，北京 100191；
2. 北京体育大学科学研究中心，北京 100084）

摘要：目的：选取α-酮戊二酸脱氢酶系（α-KGDHC/OGDH）两个同工酶OGDH和OGDHL中*OGDHL*基因的rs1268722位点，比较该位点在我国优秀长跑运动员和普通人中的分布频率，探讨*OGDHL*基因多态性与优秀有氧运动能力的关联性。方法：使用case-control实验设计，分析rs1268722单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism，SNP）位点在122名优秀长跑运动员和125名普通人对照组中的分布特征。采用基质辅助激光解析/电离-飞行时间（matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry，MALDI-TOFMS）质谱技术对SNP位点进行基因解析。结果：1）运动员组和健将组rs1268722位点A等位基因的分布频率显著高于对照组；2）女运动员组A等位基因频率显著高于女对照组；3）马拉松组AA基因型和A等位基因频率显著高于对照组。结论：*OGDHL*基因rs1268722位点AA基因型可以作为马拉松专项长跑运动员的有氧运动能力分子标记，但其具体影响机制还需进一步研究。

关键词：运动生物化学；优秀有氧运动能力；*OGDHL*基因；单核苷酸多态性；关联性研究

中图分类号：G804.7 **文献标识码：**A **文章编号：**1674-2850(2018)09-0941-06

Association study of α-oxoglutarate dehydrogenase complex gene polymorphisms and elite aerobic performance

WU Jian[1], HU Yang[2], GONG Lijing[2]

(1. *School of Kinesiology and Health*, *Capital University of Physical Education and Sports*, *Beijing* 100191, *China*;
2. *Sports Science Research Center*, *Beijing Sport University*, *Beijing* 100084, *China*)

Abstract: Objective: rs1268722 site in *OGDHL* gene of two isozymes (OGDH and OGDHL) of α-oxoglutarate dehydrogenase system (α-KGDHC/OGDH) was selected to compare the distribution frequency in excellent long-distance runners and ordinary people, in order to explore the association of polymorphisms in *OGDHL* gene with the elite aerobic performance. Methods: A total of 122 elite runners and 125 healthy non-athletes were used in this study and the experiment was designed by case-control. The single nucleotide polymorphism (SNP) site of rs1268722 in *OGDHL* gene was analyzed with matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOFMS). Results: 1) The A allele gene frequency of rs1268722 site in athlete group and elite athlete group is significantly higher than control group. 2) The A allele gene frequency in female athlete group is significantly higher than female control group. 3) The frequencies of AA genotype and A allele gene in marathon athletes are significantly higher than controls. Conclusion: The AA genotype of the gene polymorphism loci rs1268722 in the *OGDHL* gene is associated with the molecular marker in the aerobic performance of elite marathon athletes. The function of the SNP is needed to be further studied.

Key words: sports biochemisty; elite aerobic performance; *OGDHL* gene; single nucleotide polymorphism; association study

---

基金项目：高等学校博士学科点专项科研基金（20121112110004）

作者简介：吴剑（1979—），女，副研究员，主要研究方向：与优秀运动能力相关的分子标记

通信联系人：胡扬，教授，主要研究方向：运动员基因选材、低氧训练. E-mail: hyyr1@163.com

0　引言

自人类基因组计划开始后，与杰出运动能力相关的基因多态性成为体育科研领域的研究热点之一。《Nature》首次公开发表与优秀运动能力相关的基因是血管紧张素转换酶（angiotensin converting enzyme，ACE）基因[1]，并引起了广泛关注。此后学者们一直在寻找与运动能力相关的分子标记。

三羧酸（tricarboxylic acid，TCA）循环是在有氧条件下代谢物被充分氧化并最终汇聚的代谢途径，是三大营养素最终代谢的共同通路。柠檬酸合成酶（CS）、异柠檬酸脱氢酶（IDH）和 α-酮戊二酸脱氢酶系（α-KGDHC/OGDH）是糖有氧代谢的关键酶，在 TCA 循环代谢通路中起着重要的调节作用[2]。α-酮戊二酸脱氢酶系是 TCA 中的第三个调节酶：受 NADH、琥珀酰 CoA、Ca^{2+}、ATP、GTP 抑制，α-酮戊二酸脱氢酶系为多酶复合体[3]。与丙酮酸脱氢酶复合体（PDC）相似，α-酮戊二酸脱氢酶系由 3 个组件形成 1 个复合体，分别是 E1（酮戊二酸脱氢酶）、E2（二氢硫辛酰琥珀酰转移酶）和 E3（二氢硫辛酰脱氢酶），分别由 *OGDH*、*DLST*、*DLD* 基因编码。OGDH 有两种同工酶，OGDH 和 OGDHL，二者功能和所在组织不同。OGDH 位于绝大部分组织的线粒体基质中，而 OGDHL 主要存在于脑组织中，通过控制 α-酮戊二酸二甲酯的分布来调节能量的产生和神经递质谷氨酸的合成。OGDH 和 OGDHL 分别由不同的基因编码，二者基因分别位于 7p14-p13 和 10q11.23. 有研究认为，OGDHL 基因位于 10 号染色体 q11.23 区域，该区域是心源性猝死（cardioembolic stroke）的敏感区域，其多态性可能与血管粥样病变引起的心源性卒死有关[4]。鉴于 OGDHL 与脂代谢的密切关系、以往的研究结果及其在中国人群中的分布情况，本研究选取 rs1268722 位点进行研究，分析该位点基因多态性在优秀耐力运动员与普通人对照组中的分布频率差异，筛选预测优秀耐力运动员的分子标记。

1　研究对象与方法

1.1　研究对象

运动员组：我国优秀长跑运动员 122 名；

对照组：我国普通高校在校大学生 125 名。

1.1.1　运动员组条件

运动员均为汉族，籍贯为东北三省、华北地区的河北、河南、山东及内蒙古东部河套地区，专项为 5 km、10 km 或马拉松。运动等级均在国家健将级以上，国际健将比例占 35.0%. 运动员组基本情况如表 1 所示。

表 1　运动员组基本情况

Tab. 1　Basic situation of athletes group

组别	人数/人	年龄/岁	身高/cm	体重/kg	运动等级/人		运动专项/人		
					健将	国际健将	5 km	10 km	马拉松
运动员	122	23.10±5.10	169.29±7.50	55.53±7.45	80	42	62	31	29
男运动员	62	24.27±11.87	174.95±5.13	61.48±4.77	51	11	31	17	14
女运动员	60	20.84±5.30	163.53±4.56	49.48±3.97	29	31	31	14	15

1.1.2　对照组条件

对照组均为汉族，籍贯为东北三省及华北区域的北京、天津、河北、山东，基本条件与运动员组一致。未经任何专业训练，且父母无运动经历，体育活动正常，体检合格。对照组基本情况如表 2 所示。

表 2 对照组基本情况

Tab. 2 Basic situation of control group

组别	人数/人	年龄/岁	身高/cm	体重/kg
对照组	125	21.50±1.30	169.90±8.00	64.00±11.60
男对照组	69	19.81±1.21	174.70±5.89	68.44±12.31
女对照组	56	20.94±1.26	162.49±5.04	56.82±8.20

1.1.3 主要仪器与试剂

基质辅助激光解析/电离-飞行时间质谱仪（Microflex 公司）、PCR 仪（GeneAmp PCR System 9700，Applied Biosystems 公司）、D-37520 台式离心机（Thermo 公司）、MassArray TM Nanodispenser（Samsung 公司）、G384+10 Spectrochip TM（Sequenom 公司）、MassARRAY Compact System（Sequenom 公司）、离心机（Eppendorf 公司）。

iPLEX TM Reagent Kit（包括 1 U/uL SAP enzyme、10×SAP Buffer、iPlex Termination mix、10×iPlex Buffer、iPlex enzyme，Sequenom 公司）、dNTP Mixture（TaKaRa 公司）、HotStar Taq DNA Polymerase（1 000 U）（包括 10×PCR Buffer、4×250 units HotStar Taq DNA Polymerase、25 mmol/L $MgCl_2$，Qiagen 公司）、Clean Resin（Sequenom 公司）。

1.2 研究方法

1.2.1 基因分型

取 5 mL 受试者静脉血，收集于抗凝管中；利用 Promega 公司基因组 DNA 提取试剂盒提取血液中的基因组 DNA；于−70℃条件下保存。

采用 MALDI-TOFMS 对 SNP 位点进行基因解析。PCR 引物和单碱基延伸引物由 Assay Designer（Sequenom 公司）软件包设计。所有需要分析的 DNA 样本均稀释至 5 ng/μL. 取 1 μL DNA 样本，与 0.950 μL 水、0.625 μL PCR 缓冲液（含 15 mmol/L $MgCl_2$）、1 μL 的 2.5 mmol/L dNTP、0.325 μL 的 25 mmol/L $MgCl_2$、1 μL PCR 引物以及 0.1 μL HotStar Taq 酶（Qiagen 公司）混合在一起。PCR 反应条件为：94℃ 15 min；94℃ 20 s，56℃ 30 s，72℃ 1 min，共 45 个循环；最终 72℃ 3 min. PCR 扩增后，剩余的 dNTP 将被去磷酸消化掉，反应体系包括 1.530 μL 水、0.170 μL SAP 缓冲液、0.3 U 碱性磷酸酶（Sequenom 公司）。该反应在 37℃条件下进行 40 min，然后 85℃ 5 min 使酶失活。碱性磷酸酶处理后，针对 SNP 的单碱基延伸引物在下列反应体系中进行：0.755 μL 水、0.200 μL 10× iPlex 缓冲液、0.200 μL 终止混合物、0.041 μL iPlex 酶（Sequenom 公司），0.804 μL 10 μmol/L 的延伸引物。单碱基延伸反应在下列条件下进行：94℃ 30 s；94℃ 5 s，52℃ 5 s，80℃ 5 s（5 个循环），共 40 个循环；最后 72℃ 3 min. 在终止反应物中加入 6 mg 阳离子交换树脂（Sequenom 公司）脱盐，混合后加入 25 μL 水悬浮。使用 MassARRAY Nanodispenser（Sequenom 公司）将最终的分型产物点样到一块 384 孔的 spectroCHIP（Sequenom 公司）上，并用 MALDI-TOFMS 进行分析。最终结果由 MassARRAY RT 软件系统实时读取，并由 MassARRAY Typer 软件系统完成基因分型分析。

1.2.2 统计学分析

使用在线软件 SHEsis（http://analysis.bio-x.cn/myanalysis.php）对各 SNP 位点进行哈温平衡检验。单个 SNP 位点运动员组和对照组间等位基因频率和基因型频率的比较用 χ^2 检验。

2　结果

2.1　SNP 位点检测情况

对 122 名运动员组和 125 名普通人对照组基因组 DNA 的 *OGDHL* 基因 rs1268722 位点进行分型检测，全部成功检测出来，并随机抽取样本进行测序，证明飞行质谱测试结果准确。

2.2　哈温平衡检验

OGDHL 基因 rs1268722 位点的普通人组、男对照组、女对照组、运动员组、男运动员组、女运动员组、国际健将组、健将组、5 km 组、10 km 组、马拉松组均符合哈温平衡。

2.3　基因型与等位基因分布特征

经 χ^2 检验，rs1268722 位点运动员组 A 等位基因的分布频率显著高于对照组；女运动员组的 A 等位基因频率显著高于女对照组；健将组 A 等位基因的分布频率显著高于对照组；马拉松组 AA 基因型和 A 等位基因频率显著高于对照组；基因型和等位基因分布频率在其余各组间均没有显著性差异（如表 3 和图 1 所示）。

表 3　*OGDHL* 基因 rs1268722 多态位点基因型和等位基因分布特征

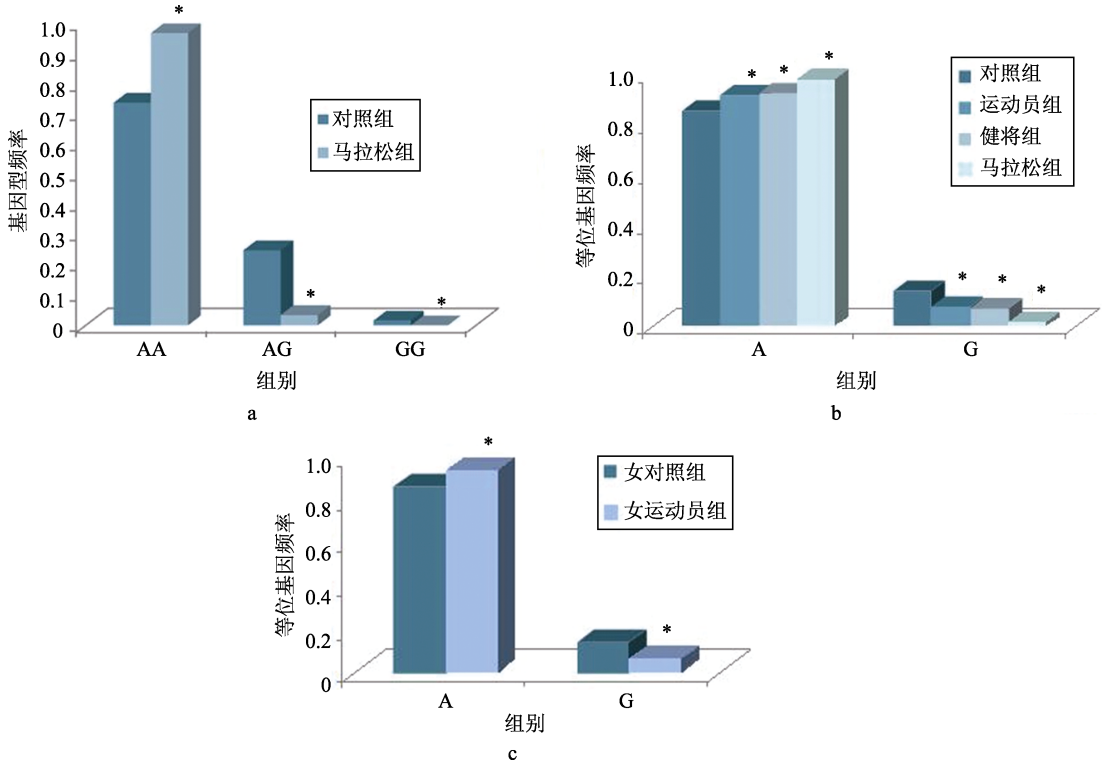
Tab. 3　Distribution characteristics of rs1268722 polymorphism loci genotype and allele gene in *OGDHL* gene

组别	人数/人	基因型（分布频率）			等位基因（分布频率）	
		AA	AG	GG	A	G
对照组	125	92（0.736）	31（0.248）	2（0.016）	215（0.860）	35（0.140）
男对照组	69	52（0.754）	15（0.217）	2（0.029）	119（0.862）	19（0.138）
女对照组	56	40（0.714）	16（0.286）	0（0.000）	96（0.857）	16（0.143）
运动员组	122	104（0.852）	17（0.139）	1（0.008）	225（0.922）	19（0.078）*
男运动员组	62	52（0.839）	9（0.145）	1（0.016）	113（0.911）	11（0.089）
女运动员组	60	52（0.867）	8（0.133）	0（0.000）	112（0.933）	8（0.067）*
国际健将组	42	36（0.857）	5（0.119）	1（0.024）	77（0.917）	7（0.083）
健将组	80	68（0.850）	12（0.150）	0（0.000）	148（0.925）	12（0.075）*
5 km 组	62	50（0.806）	12（0.194）	0（0.000）	112（0.903）	12（0.097）
10 km 组	31	26（0.839）	4（0.129）	1（0.032）	56（0.903）	6（0.097）
马拉松组	29	28（0.966）	1（0.034）	0（0.000）*	57（0.983）	1（0.017）*

注：*为运动员组与对照组之间等位基因分布频率有显著性差异（χ^2=4.896，df=1，*P*=0.027）；女运动员和女对照组之间等位基因有显著性差异（χ^2=4.099，df=1，*P*=0.043）；健将组与对照组之间等位基因有显著性差异（χ^2=4.061，df=1，*P*=0.044）；马拉松组与对照组之间基因型分布频率有显著性差异（χ^2=7.220，df=2，*P*=0.027），马拉松组与对照组之间等位基因分布频率有显著性差异（χ^2=6.873，df=1，*P*=0.009）

3　讨论

α-酮戊二酸脱氢酶系是 TCA 循环中第三个调节酶，是一个多酶复合体。与丙酮酸脱氢酶复合体相似，α-酮戊二酸脱氢酶系由 3 个组件形成 1 个复合体，分别是 E1、E2 和 E3，分别由 *OGDH*、*DLST*、*DLD* 基因编码。其中，E1 是其主要限速酶。本文选取其中一个同工酶——*OGDHL* 基因的 rs1268722 位点进行研究。该位点位于 *OGDHL* 基因 Intron14 区域，该区域是心源性猝死的敏感区域。有研究报道，rs1268722 位点可能与血脂代谢异常引起的血管粥样病变有关[4]，在中国人群中的最小等位基因频率（minor allele frequency，MAF）为 0.487.



注：*为与对照组相比，有显著性差异，$P<0.05$

图 1 *OGDCL* 基因 rs268722 位点基因型和等位基因频率的分布

Fig. 1 Frequency distribution of rs1268722 polymorphism loci genotype and allele gene in *OGDHL* gene

a—马拉松组与对照组的比较；b—运动员组、健将组、马拉松组与对照组的比较；c—女运动员组与女对照组的比较

a-Comparison between marathon group and control group; b-Comparison of athlete group, elite athlete group, marathon group and control group; c-Comparison of female athlete group and female control group

本研究结果表明，运动员组和健将组 A 等位基因分布频率显著性高于对照组。女运动员组 A 等位基因频率显著性高于女对照组；马拉松组 AA 基因型和 A 等位基因频率显著高于对照组。故认为 *OGDHL* 基因 rs1268722 位点 AA 基因型可以作为马拉松专项长跑运动员的有氧运动能力分子标记。

OGDH 是 TCA 循环的关键酶和限速酶，其活性降低可以使 NADH 的生成减少。如果 OGDH 的酶活性受到抑制，会导致线粒体功能障碍和能量减少[5]，必然影响运动能力。此外，OGDHL 主要存在于脑组织中，可以通过控制 α-酮戊二酸二甲酯的分布来调节能量产生和神经递质谷氨酸的合成。研究表明，OGDHL 的活性受到抑制后，可导致脑部能量代谢障碍[5]，由此推测 OGDHL 的活性可能与中枢神经疲劳的发生有一定关系，从而影响运动能力。本研究认为 rs1268722 位点对 OGDHL 的酶活性可能存在一定的影响，因此影响了运动能力，但由于未见该位点对蛋白功能影响的直接研究报道，因此这只是一种推测，还需进一步研究。

4 结论

OGDHL 基因 rs1268722 位点 AA 基因型可以作为马拉松专项长跑运动员的有氧运动能力分子标记，但其具体影响机制还需进一步研究。

[参考文献] (References)

[1] MONTGOMERY H E, MARSHALL R, HEMINGWAY H, et al. Human gene for physical performance[J]. Nature, 1998,

393(6682): 221-222.

[2] 王丽艳，张敏，赵晓丽，等. 不同运动方式对大鼠异柠檬酸脱氢酶和磷酸果糖激酶-1的影响[J]. 天津医科大学学报，2011，17（2）：170-172.
WANG L Y, ZHANG M, ZHAO X L, et al. Effect of different training methods on the activity of isocitrate dehydrogenase and phosphofructokinase-1 in rats skeletal muscle[J]. Journal of Tianjin Medical University, 2011, 17(2): 170-172. (in Chinese)

[3] 史红超，苏铁柱. 三羧酸循环及其影响因素对运动能力的影响[J]. 辽宁体育科技，2011，33（3）：45-48.
SHI H C, SU T Z. The TCA cycle and influencing factors on sports ability[J]. Liaoning Sport Science and Technology, 2011, 33(3): 45-48. (in Chinese)

[4] RAMONI R B, HIMES B E, SALE M M, et al. Predictive genomics of cardioembolic stroke[J]. Stroke, 2009, 40(Suppl. 3): S67-S70.

[5] 张炙萍，王蓉. 能量代谢障碍与阿尔茨海默病[J]. 中国老年学杂志，2007，9（27）：1729-1732.
ZHANG Z P, WANG R. Energy metabolism disorders and alzheimer’s disease[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2007, 9(27): 1729-1732. (in Chinese)