

# 中国傣族、景颇族人群中与艾滋病相关的 $CCR5\Delta 32$ 、 $CCR2b-64I$ 、 $SDF1-3'A$ 等位基因多态性分布

叶峻杰<sup>1</sup>,王福生<sup>2</sup>,彭林<sup>1</sup>,金磊<sup>2</sup>,丁明<sup>1</sup>,刘明旭<sup>2</sup>

(1. 云南省计划生育技术科学研究所,昆明 650021;2. 解放军 302 医院传染病研究所,北京 100039)

**摘要:**为了调查 HIV-1 感染相关的等位基因  $CCR5\Delta 32$ 、 $CCR2b-64I$ 、 $SDF1-3'A$  在我国云南省德宏州傣族景颇族人群中的频率和多态性分布,此课题以 101 例傣族和 113 例景颇族人群为研究对象,应用 PCR、PCR-RFLP(聚合酶链反应-限制性片段长度多态性)分析方法进行检测,计算突变基因频率;并对其群体分布、性别分布进行统计学分析。结果表明,中国傣族景颇族人群中未发现  $CCR5\Delta 32$  等位基因突变;傣族  $CCR2b-64I$ 、 $SDF1-3'A$  基因突变频率分别为 0.2130 和 0.2030,景颇族  $CCR2b-64I$  和  $SDF1-3'A$  基因突变频率分别为 0.1637 和 0.1770;与中国汉族人群相比较,傣族和景颇族中  $SDF1-3'A$  突变频率较低( $P$  值分别为 0.0322 和 0.0021);两个民族的  $CCR2b-64I$  和  $SDF1-3'A$  等位基因群体分布符合 Hardy-Weinberg 平衡,在性别之间分布无显著差异。中国傣族景颇族人群的  $CCR2b-64I$  等位基因的突变频率与汉族人相似, $SDF1-3'A$  等位基因的突变频率比汉族人低,此两种突变基因在艾滋病发病过程中的影响值得进一步研究。由于未发现  $CCR5\Delta 32$  基因突变,中国傣族景颇族人群对 HIV-1 感染可能有较大的遗传易感性。

**关键词:**傣族;景颇族;基因多态性;趋化因子受体-5;趋化因子受体-2;人类免疫缺陷病毒 1

中图分类号:Q987

文献标识码:A

文章编号:0253-9772(2003)06-0655-05

## Distribution of the HIV/AIDS Associated $CCR5\Delta 32$ , $CCR2b-64I$ , $SDF1-3'A$ Alleles in Chinese Dai and Chingpaw Populations from Dehong Autonomous Prefecture of Yunnan Province

YE Jun-Jie<sup>1</sup>, WANG Fu-Sheng<sup>2</sup>, PENG Lin<sup>1</sup>, JIN Lei<sup>2</sup>, DING Ming<sup>1</sup>, LIU Ming-Xu<sup>2</sup>

(1. Institute of Family Planning of Yunnan Province, Kunming, 650021, China;

2. Institute of Infectious Diseases of 302 Hospital PLA, Beijing, 100039, China)

**Abstract:** The purpose of the work is to investigate the frequencies and polymorphisms of HIV-1 resistant  $CCR5\Delta 32$ , $CCR2b-64I$ , $SDF1-3'A$  alleles in Chinese Dai and Chingpaw populations. Whole blood samples from 101 Dai subjects and 113 Chingpaw were collected randomly and their genomic DNA were extracted with QIAgen Blood Kits. Allelic frequencies were identified by PCR-RFLP analysis. Allelic polymorphisms in Dai population or Chingpaw population and both sexes in the samples were analyzed by  $\chi^2$  test. The frequencies of  $CCR5\Delta 32$ , $CCR2b-64I$ , $SDF1-3'A$  alleles in Dai population were 0.0000, 0.2130, 0.2030, respectively; The frequencies of  $CCR5\Delta 32$ , $CCR2b-64I$ , $SDF1-3'A$  alleles in Chingpaw population were 0.000, 0.1637, 0.1770, respectively. Distributions of the  $CCR2b-64I$ , $SDF1-3'A$  alleles among the both populations were in accordance with Hardy-Weinberg equilibrium. No statistical difference was found in the allelic frequencies of both  $CCR2b-64I$  and  $SDF1-3'A$  between male and female individuals. The frequencies of  $CCR5\Delta 32$ , $CCR2b-64I$  alleles in Chinese Dai and Chingpaw popu-

lations are similar to that in Chinese Han population, while the frequency of *SDF1-3'A* allele in Chinese Dai and Chingpaw populations are lower in contrast to that in Chinese Han population. The genotyping and polymorphism of *CCR5delta32*, *CCR2b-64I*, *SDF1-3'A* alleles in Chinese Dai and Chingpaw populations of Yunnan Province are the first time studied in China. The significance of the three mutant alleles conferring genetic resistance to HIV-1 and AIDS progression remains to be clarified.

**Key words:** Chinese Dai population; Chinese Chingpaw population; genetic polymorphism; CC chemokine receptor-5; CC chemokine receptor-2; human immunodeficiency virus-1

人类免疫缺陷病毒 1(human immunodeficiency virus-1, HIV-1)感染和艾滋病的发病过程除了由病毒本身的侵袭力决定外,人体(宿主)因素同样是不可忽视的重要方面。在 HIV-1 感染靶细胞的过程中,病毒不仅与 CD4 分子结合,还必须和协同受体结合,才能进入靶细胞。这意味着协同受体等位基因发生缺失突变,将使机体在基因水平上对 HIV-1 感染及其病程的发展产生天然的阻抗力<sup>[1,2]</sup>。HIV-1 相关的协同受体有趋化因子受体 CCR5、CXCR4、CCR2、CCR3 等。 $\beta$  类趋化因子受体 5(CCR5)和  $\alpha$  类趋化因子受体 4(CXCR4)是 HIV-1 病毒株进入靶细胞的主要协同受体,CCR2 和 CCR3 是次要协同受体<sup>[3]</sup>。CCR5 基因发生了 32 碱基缺失,称之为 *CCR5△32* 突变。*CCR2b-64I* 突变基因是在 190 位点一个 G-A 的突变<sup>[4]</sup>。基质细胞衍生因子(stromal cell-derived factor 1, SDF-1)是 CXCR4 天然的配基。*SDF1-3'A* 突变基因是编码基因第 801 位的 G 突变为 A,位于 3' 端非翻译区<sup>[5]</sup>。迄今发现在不同种族中 *CCR5△32*、*CCR2b-64I*、*SDF1-3'A* 基因多态性的分布存在一定的差异,说明不同人种对 HIV-1 感染的遗传易感性和 HIV-1 感染后艾滋病的发生发展存在着差异。云南省是南亚地区艾滋病入侵我国的门户,某些地区的感染率已进入快速增长期。德宏州与缅甸紧密接壤,自 20 世纪 80 年代以来即为我国 HIV-1 感染的重灾区<sup>[6]</sup>。为此我们首次对德宏州傣族景颇族人群中 HIV-1 相关的 *CCR5△32*、*CCR2b-64I*、*SDF1-3'A* 3 种易感基因突变和多态性进行了分析,现报道如下。

## 1 对象与方法

### 1.1 样品来源

101 名傣族人和 113 名景颇族人血样采自云南省德宏州。研究对象均为 3 代本民族血统,其中傣族男性 44 人,女性 57 人。年龄范围为 5~77 岁;景

颇族男性 46 人,女性 67 人,年龄范围为 6~63 岁。上述血样经枸橼酸钠抗凝,−20℃保存。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 DNA 提取

用 QIAgen 公司的基因组 DNA 提取试剂盒。自 200 μL 全血中分离 DNA 作为 PCR 模板<sup>[7]</sup>。

#### 1.2.2 PCR 扩增和聚合酶链反应—限制性片段长度多态性 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) 检测

*CCR5△32* 及 *SDF1-3'A* 检测方法参见文献<sup>[8]</sup>。*CCR2b-64I* 的 PCR 引物为:上游引物 5'-CTCGGATCTTGTGGCAACATGATGG-3',下游引物为 5'-CTGTGAAAATTGCACATTGC-3';PCR 条件为 95℃ 5min, 95℃ 15s, 60℃ 15s, 72℃ 30s, 30 个循环, 72℃ 10min;然后用 *Bsa*BI 酶切 PCR 产物,将酶切产物进行 2.0% 琼脂糖电泳。所有引物由解放军 302 医院生物工程研究室提供。

#### 1.2.3 统计学分析

行  $\chi^2$  检验用于统计学分析。

## 2 结 果

### 2.1 各基因型的 PCR-RFLP 分析结果

此次研究结果未发现 *CCR5△32* 突变杂合子和突变纯合子。*CCR2b-64I* 等位基因由于点突变形成了新的酶切位点,*Bsa*BI 将 191bp 的 PCR 产物切为 165bp 和 26bp 两个片段,所以电泳结果仅见 191bp 1 条带为野生纯合型,仅见 165bp 1 条带为突变纯合型(26bp 的 DNA 片段太小,电泳不可见),见 191bp 和 165bp 两条带为杂合型。*SDF1-3'A* 突变基因使原来的 *Msp*I 酶切位点消失,因而 302bp 的 PCR 产物不能被切开,电泳结果见 202bp 和 100bp 两条带为野生纯合型,见 320bp、202bp 和 100bp 3 条带为杂合型,仅见 302bp 1 条带为突变纯合型(图 1)。*CCR5△32*、*CCR2b-64I*、*SDF1-3'A* 3 种等位基

因在被调查人群中的突变情况见表 1, 表 2。 $CCR2b-64I$ 、 $SDF1-3'A$  突变基因在被调查傣族人群中的频率分别为 0.2130、0.2030; 景颇族人群中的频率分别为 0.1637、0.1770。 $\chi^2$  检验结果表明。 $CCR2b-64I$ 、 $SDF1-3'A$  等位基因突变频率  $P$  值大于 0.05, 符合 Hardy-Weinberg 平衡。

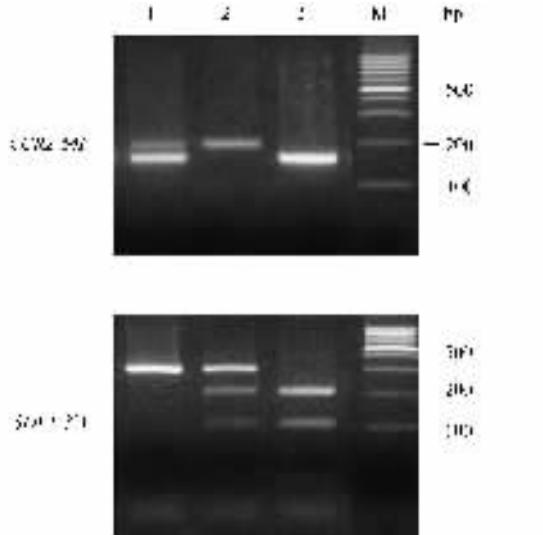


图 1  $CCR2b-64I$ 、 $SDF1-3'A$  等位基因的 PCR-RFLP 电泳结果

$CCR2b-64I$  泳道:1. 杂合型;2. 野生纯合型;3. 突变纯合型。  
 $SDF1-3'A$  泳道:1. 突变纯合型;2. 杂合型;3. 野生纯合型。

Fig. 1 The electrophoretic patterns of  $CCR2b-64I$ 、 $SDF1-3'A$  alleles detected by PCR-RFLP

M: 100 bp DNA ladder;  $CCR2b-64I$  lanes 1: wt/mt; lanes 2: wt/wt; lanes 3: mt/mt.  $SDF1-3'A$  lanes 1: mt/mt; lanes 2: wt/mt; lanes 3: wt/wt.

表 1 傣族三种等位基因的基因型组成和基因频率

Table 1  $CCR5\triangle 32$ 、 $CCR2b-64I$ 、 $SDF1-3'A$  genotype constitution and allele frequencies in Chinese Dai population

等位基因 Allele	例数 (n)	基因型 Genotype			基因频率 % Allele frequency	$\chi^2$ (P value)
		wt/wt	wt/mt	mt/mt		
$CCR5\triangle 32$	101	101	0	0	0.0	—
$CCR2b-64I$	101	59	41	1	21.3	2.713( $P>0.05$ )
$SDF1-3'A$	101	61	39	1	20.3	2.500( $P>0.10$ )

野生型 Wt: wild-type; 突变型 mt: mutant-type。

表 2 景颇族三种等位基因的基因型组成和基因频率

Table 2  $CCR5\triangle 32$ 、 $CCR2b-64I$ 、 $SDF1-3'A$  genotype constitution and allele frequencies in Chinese Chingpaw population

等位基因 Allele	例数 (n)	基因型 Genotype			基因频率 % Allele frequency	$\chi^2$ (P value)
		wt/wt	wt/mt	mt/mt		
$CCR5\triangle 32$	113	113	0	0	0.0	—
$CCR2b-64I$	113	77	35	1	16.37	1.315( $P>0.10$ )
$SDF1-3'A$	113	75	36	2	17.70	0.832( $P>0.25$ )

## 2.2 HIV-1 感染相关的等位基因突变频率在不同性别的分布

研究结果表明, $CCR2b-64I$ 、 $SDF1-3'A$  等位基因的分布在性别上无显著性差异(表 3)。

## 2.3 HIV-1 感染相关的等位基因突变频率在傣族、景颇族和汉族人群中的分布情况

因未检测到傣族、景颇族人群  $CCR5\triangle 32$  等位基因的突变, 我们比较了  $CCR2b-64I$ 、 $SDF1-3'A$  突变基因频率在傣族、景颇族和汉族人群中的分布。研究表明, $CCR2b-64I$  在各民族群体中无显著性差异; 而  $SDF1-3'A$  在傣族、景颇族人群中的突变频率较低(表 4)。

表 3  $CCR2b-64I$  和  $SDF1-3'A$  等位基因的性别构成比较

Tabal 3 Sexual distribution of  $CCR2b-64I$ ,  $SDF1-3'A$  alleles

民族 Ethnic group	等位基因 Allele	性别 Sex	基因型 Genotype			基因频率 % Allele frequency	$\chi^2$ (P value)
			wt/wt	wt/mt	mt/mt		
傣族 Dai	$CCR2b-64I$	男	28	15	1	19.3	2.849( $>0.1$ )
		女	31	26	0	22.8	
景颇族 Chingpaw	$SDF1-3'A$	男	27	16	1	20.5	1.777( $>0.1$ )
		女	34	23	0	20.2	
景颇族 Chingpaw	$CCR2b-64I$	男	34	12	0	13.0	2.032( $>0.1$ )
		女	43	23	1	18.7	
景颇族 Chingpaw	$SDF1-3'A$	男	30	15	1	18.5	0.101( $>0.1$ )
		女	45	21	1	17.2	

表 4 云南德宏州傣族、景颇族与汉族 SDFI-3'A 等位基因频率的比较

Table 4 Comparation of SDFI-3'A allele frequency between Chinese Dai, Chingpaw and Han population

民族 Ethnic group	例数 (n)	SDFI-3'G	SDFI-3'A	基因频率% Allele frequency	$\chi^2$	P value
傣族 Dai	101	161	41	20.3	4.59*	0.0322***
景颇族 Chingpaw	113	186	40	17.7	9.50**	0.0021***
汉族 Han	643	933	353	27.4	—	—

\* 傣族与汉族基因频率相比较的  $\chi^2$  值(Dai vs Han); \*\* 景颇族与汉族基因频率相比较的  $\chi^2$  值(Chingpaw vs Han); \*\*\*  $P < 0.05$ 。

### 3 讨 论

CCR5 协同受体是嗜巨噬细胞 HIV-1 感染靶细胞的重要协同受体。研究表明, CCR5 $\triangle 32$  纯合体对 HIV-1 感染有很高的抵抗力, 杂合子虽不明显显示对 HIV-1 感染的抗性, 但可以延缓艾滋病的发病进程<sup>[2]</sup>。CCR2b-64I 基因突变造成受体的第 1 跨膜区的缬氨酸变为异亮氨酸其突变并不位于 HIV-1 的结合区, 这种变异很可能通过改变 HIV-1 感染机理, 或者间接影响 HIV-1 对 CCR5 的利用, 从而可以延缓艾滋病的发生约 2~4 年<sup>[1]</sup>。SDF-1 是 CXCR4 天然的配基, 能阻断嗜 T 淋巴细胞的 HIV-1 感染靶细胞。SDFI-3'A 基因突变可能增加 SDF-1 的产生和利用, 导致 SDF-1 与 CXCR4 的过度结合, 从而竞争性抑制 HIV-1 的感染。据报道突变纯合子可显著延缓艾滋病的发病进程, 其作用比 CCR5 $\triangle 32$  和 CCR2b-64I 均高两倍<sup>[12]</sup>。在本研究结果中, 未检测到傣族景颇族人群 CCR5 $\triangle 32$  等位基因的突变, 原因可能与样本量太少, 未能检测到杂合子和纯合子突变基因型有关, 但同时说明傣族景颇族人群可能对嗜巨噬细胞 HIV-1 的易感性大。CCR2b-64I、SDFI-3'A 突变基因型分布与中国其他民族相似。

通常认为, 人类许多等位基因的突变频率在群体分布和性别分布上是平衡的, 符合 Hardy-Weinberg 平衡。实验结果证实傣族景颇族人群中 CCR2b-64I、SDFI-3'A 等位基因在群体分布上是平衡的。CCR2b-64I、SDFI-3'A 等位基因在性别之间分布无统计学差异。

通过比较中国傣族景颇族与世界其他民族 CCR5 $\triangle 32$ 、CCR2b-64I、SDFI-3'A 3 种等位基因的

突变情况(表 5), 可以看出中国人 CCR5 $\triangle 32$  突变频率显著低于西方白人, 等位基因 CCR2b-64I 和 SDFI-3'A 突变频率均比西方白人高的共性, 说明中国人对 HIV-1 遗传易感性比西方白人大, 这和 CCR5 $\triangle 32$  在全球种群中从北向南逐渐降低的连续性分布相一致<sup>[9]</sup>。值得注意的是, 傣族、景颇族的 SDFI-3'A 突变频率与汉族人存在显著差异, 其突变频率较汉族人低。提示者从协同受体基因水平上傣族、景颇族与汉族在 HIV-1 感染后, 艾滋病的发生、发展存在着差异。通过对傣族景颇族人群中艾滋病易感基因的突变及多态性的调查研究, 有助于评估人群对 HIV-1 遗传易感性和艾滋病的流行病学特点, 也有利于在艾滋病的早期阶段对患者的预后作出有益的判断, 对艾滋病防治具有重要意义。

表 5 CCR5 $\triangle 32$ 、CCR2b-64I、SDFI-3'A 等位基因频率在不同种族的分布Table 5 Ethnic group distribution of CCR5 $\triangle 32$ 、CCR2b-64I、SDFI-3'A allele frequency

民族 Ethnic group	等位基因频率% Allele frequencies		
	CCR5 $\triangle 32$	CCR2b-64I	SDFI-3'A
美国白人 American <sup>[8,9]</sup>	10.00	9.8	21.1
高加索人 Caucasian <sup>[8,9]</sup>	10.00	9.8	21.1
中国蒙古族 Chinese Mongolian <sup>[11]</sup>	1.10	24.8	22.0
中国汉族 Chinese Han <sup>[10,11]</sup>	0.12	18.0	27.9
中国傣族 Chinese Dai	0.00	21.3	20.3
中国景颇族 Chinese Chingpaw	0.00	16.4	17.7

## 参 考 文 献(References):

- [1] Smith M W, Dean M, Carrington M. Contrastking genetic influence of CCR2 and CCR5 variants on HIV-1 infection and disease progression[J]. Science, 1997, 277: 959~965.
- [2] Samson M, Libert F, Doranz B. Resistance to HIV-1 infection of caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR5 chemokine receptor gene[J]. Nature, 1996, 382: 722~725.
- [3] Doranz B J, Rucker J, Yi Y. A dual-tropic primary HIV-1 isolate that uses fusion and the  $\beta$ -chemokine receptor CKR-5, CKR-3, and CKR-2b as fusion cofactor[J]. Cell, 1996, 85: 1149~1158.
- [4] Kostrikis L, Huang Y, Moore J P. A chemokine receptor CCR2 alleles delays HIV-1 disease progression and is associated with a CCR5 promoter mutation[J]. Nat Med, 1998, 4: 350~353.
- [5] Winkler C, William M, Smith M W. Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF1 chemokine gene variant[J]. Science, 1998, 279: 389~391.
- [6] Cheng He-He, Zhang Jia-Peng, Pan Song-Feng, Jia Man-Hong. Analysis and prediction on the trends of HIV infection epidemic in Yunnan province[J]. J Chin AIDS/STD Prev Cont, 2000, 6: 257~260.  
程何荷, 张家鹏, 潘颂峰, 贾曼红. 云南省 HIV 感染流行趋势分析和预测[J]. 中国性病艾滋病防治, 2000, 6: 257~260.
- [7] Wang Fu-Sheng, Jiang Jian-Dong, Jin Lei, Wang Yue. Comparison of efficient identification of the HIV-1 associated CCR5 gene polymorphism in genomic DNA purified by different extraction means from Chinese individuals[J]. J Chin AIDS/STD
- Prev Cont, 2000, 6: 5~8.
- 王福生, 蒋建东, 金磊, 汪悦. 中国人 HIV-1 感染相关的基因 CCR5 多态性检测和不同方法提取的基因组 DNA 的比较[J]. 中国性病艾滋病防治, 2000, 6: 5~8.
- [8] Voevodin A, Samilchuk E, Dashti S. Frequencies of SDF1 chemokine, CCR5 and CCR2 chemokine receptor gene alleles conferring resistance to human immunodeficiency virus types 1 and AIDS in Kuwaits[J]. J Med Virol, 1999, 58: 54~58.
- [9] Martinson J J, Hong L, Karanicolas R. Global distribution of the  $CCR2-64I/CCR5-59653T$  HIV-1 disease-protective haplotype[J]. AIDS, 2000, 14: 483~489.
- [10] Wang Fu-Sheng, Liu De-Pei. Polymorphism of human alleles associated with genetic resistance against HIV-1 infection and its implications[J]. Chin J Med Genet, 2000, 17: 285~287.  
王福生, 刘德培. 人类基因组中与 HIV-1 感染相关的基因多态性及其意义[J]. 中华医学遗传学杂志, 2000, 17: 285~287.
- [11] Du Qing-You, Wang Fu-Sheng, Hong Wei-Guo. Polymorphism of chemokine receptor alleles influencing genetic susceptibility to HIV-1 infection in Mongolian population[J]. Chin J Epidemiol, 2000, 21: 413~416.  
杜清友, 王福生, 洪卫国. 中国蒙古族人群中人类免疫缺陷病毒 1 感染相关的基因多态性的初步研究[J]. 中华流行病学杂志, 2000, 21: 413~416.
- [12] Winkler C, Modi W, Smith M W. Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant[J]. Science, 1998, 279: 389~393.

## 中国遗传学会第七届全国代表大会在海口隆重召开

中国遗传学会第七届全国代表大会暨学术研讨会于 2003 年 10 月 10 日~13 日在海口市燕泰和平国际大酒店隆重召开, 来自全国的 400 多位遗传学专家学者出席了大会, 海南省科协副主席黄俊忠出席开幕式并讲话, 海南省人大常委会副主任陈孙文在黄金海景大酒店接见并宴请了前来参加会议的院士和资深专家。

本次大会的召开, 正值著名的“DNA 双螺旋分子结构”论文发表 50 周年及中国遗传学会成立 25 周年, 使大会具有双重纪念意义。本次大会既是中国遗传界的一次盛会, 也是学术交流的平台。大会分主场报告及植物(含微生物)、动物、医学、伦理与教学四大分会场进行交流, 交流气氛活跃, 并出版论文集一册。

大会邀请赵寿元、贺林、韩斌、张思仲、胡以平、李宁、高光侠教授分别作了题为“遗传学的过去、现在与未来”、“对单基因遗传病和多基因遗传病的粗浅认识”、“水稻 4 号染色体测序”、“遗传咨询与服务中的遗传学问题”、“肝干细胞的研究进展”、“利用体细胞克隆技术进行大家畜转基因的研究”以及“宿主细胞限制逆转录病毒复制的分子机理”的大会报告。他们的报告反映了我国遗传学研究近几年来的进展, 引起代表极大的兴趣。在伦理与遗传学教学分组会上, 张春美、戴灼华、张传善教授分别就“关注人的尊严, 迎接基因时代的伦理挑战”、“遗传学教学的现状及今后改革的设想”和“遗传学教学改革之我见”的报告。伦理和遗传学教学分组会指出, 教育是根本, 希望新一届委员会切实地开展工作, 组织活动和研讨, 并提出了具体意见。在各分组会议上, 也安排了主报告人。

会议选举产生了中国遗传学会第七届理事会, 本届理事会大幅年轻化, 平均年龄 49 岁, 显示了朝气蓬勃、欣欣向荣的大好局面。理事会为贵州、青海、西藏三省区保留了理事名额。随后召开的七届一次理事会和七届一次常务理事会选举李家洋院士为第七届理事会理事长。