

# IFN $\gamma$ rs2430561 位点在云南傣族和哈尼族人群中的遗传多态性

高建梅 左荣霞 王金丽 董虹 严新民

**【摘要】** 目的 分析云南省西双版纳地区傣族和哈尼族人群 IFN $\gamma$  rs2430561 位点基因多态性的分布情况。方法 运用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术检测傣族和哈尼族人群 IFN $\gamma$  rs2430561 位点基因型及等位基因频率。结果 (1) 傣族与哈尼族人群 IFN $\gamma$  rs2430561 位点 AA/TA/TT 基因型频率分别为 0.060/0.380/0.560 和 0.000/0.310/0.690, A/T 等位基因频率分别为 0.250/0.750 和 0.155/0.845, 两民族基因型和等位基因分布频率显著不同, 差异有统计学意义( $\chi^2$  分别为 8.128 和 5.588,  $P$  值分别为 0.014 和 0.025)。结论 IFN $\gamma$  rs2430561 多态性位点基因型和等位基因分布频率具有民族、种族差异。

**【关键词】** 干扰素 II 型; 多态性, 单核苷酸; 少数民族

**The polymorphism of IFN $\gamma$  gene in rs2430561 between Dai and Hani minority population in Yunnan province** GAO Jian-mei, ZUO Rong-xia, WANG Jin-li, DONG Hong, YAN Xin-ming. Institute of Clinical and Basic Medicine Research, Center of Clinical Molecular Biology, the First People's Hospital of Yunnan Province, The Affiliated Hospital of Kunming University of Science and Technology, Kunming 650032, China  
Corresponding author: YAN Xin-ming, Email: yxmin08@163.com

**【Abstract】** **Objection** To investigate the distribution of IFN $\gamma$  gene in rs2430561 polymorphism between Dai and Hani minority population in Xishuangbanna district, Yunnan province. **Methods** Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight Mass Spectrometry was used to study the genotypes and allele frequencies distributions of IFN $\gamma$  gene in rs2430561 polymorphism in Dai and Hani minority population. **Results** The genotype and allele frequencies of rs2430561 polymorphisms had statistical difference between Dai and Hani minority population ( $\chi^2=8.128$  and 5.588,  $P=0.014$  and 0.025). **Conclusion** The genotypes and allele frequencies distribution of IFN $\gamma$  gene in rs2430561 polymorphism is different in different national and ethnic populations.

**【Key words】** Interferon type II; Polymorphism, single nucleotide; Minority groups

不同人群具有不同的遗传背景, 人类基因多态性造成了不同人群对疾病易感性的差异。 $\gamma$  干扰素(interferon- gamma, IFN $\gamma$ ) 是由活化的T细胞和NK细胞分泌的一类具有抗病毒、抗肿瘤、抑制细胞生长分化和调节免疫等多种生物学功能的糖蛋白, 在机体免疫反应中具有极其重要的地位。其内含子区域rs2430561位点的多态性可影响IFN $\gamma$ 的表达水平, 与多种疾病的发生、发展和预后密切相关。本文以运用基质辅助激光解析电离飞行时间质谱技术(matrix- assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry, MALDI-TOF-MS) 检测了西双版纳地区傣族和哈尼族人群rs2430561位点的基因型和等位基因分布频率, 为

寻找疾病易感基因提供了群体遗传学数据。

## 对象与方法

1. 研究对象: 经云南省第一人民医院伦理委员会批准, 在知情同意的原则下, 采集云南省西双版纳地区健康、纯系且无亲缘关系傣族、哈尼族人群血样 200 份, 其中傣族 100 例(男 24 例, 女 76 例), 年龄(29.0 $\pm$ 15.7)岁; 哈尼族 100 例(男 27 例, 女 73 例), 年龄(32.0 $\pm$ 16.0)岁。所有观察人员均静脉抽取 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝静脉血 3 ml, 充分混匀后-20℃保存备用。

2. MALDI-TOF-MS 技术检测 IFN $\gamma$  rs2430561 位点多态性: 全血标本用全血基因组提取试剂盒(百泰克 DP1801)提取基因组 DNA 作为模板。首先进行 PCR 扩增, 引物序列为: P1: 5'-ACGTTGGATGGATAGTT CCAAACATGTGCG-3'; P2: 5'-ACGTTGGATGCAGACATTACAATTGATT-3', 扩增体系为引物浓度

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.14.051

基金项目: 云南省卫生科技计划项目资助(2010NS004, 2012WS072); 云南省应用基础研究计划-昆医联合专项资助(2012FB097)

作者单位: 650032 昆明, 云南省第一人民医院 昆明理工大学附属医院 临床基础医学研究所 云南省临床分子生物学研究中心

通讯作者: 严新民, Email: yxmin08@163.com

表1 不同国家人群 IFN $\gamma$  rs2430561 位点基因型与等位基因频率比较

人群	例数	基因型[例, (%)]					等位基因[频数, (%)]			
		AA	TA	TT	$\chi^2$ 值	P 值	A	T	$\chi^2$ 值	P 值
傣族	100	6(6.0)	38(38.0)	56(56.0)	8.128	0.014	50(25.0)	150(75.0)	5.588	0.025
哈尼族	100	0(0.0)	31(31.0)	69(69.0)			31(15.5)	169(84.5)		

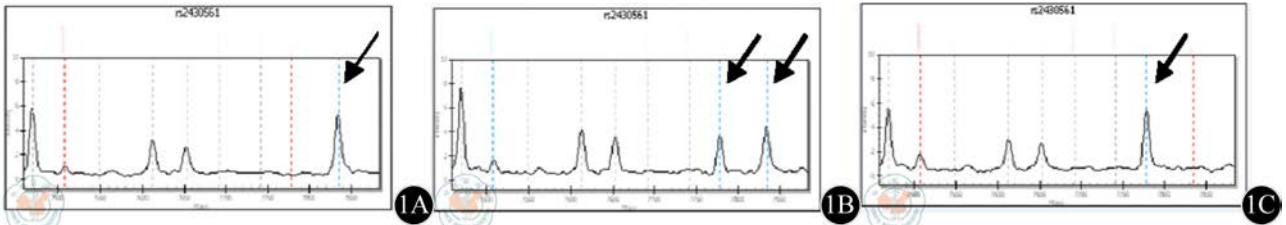


图1 IFN $\gamma$  rs2430561位点飞行时间质谱图注。1A~1C分别为: rs2430561AA、rs2430561AT和rs2430561TT

0.1  $\mu\text{mol/L}$ , HotStar Taq 1 U, dNTP 浓度为 0.5  $\mu\text{mol/L}$ ,  $\text{MgCl}_2$  浓度为 1.625  $\text{mmol/L}$ , DNA 模板 10 ng。PCR 反应的条件为 94  $^\circ\text{C}$  15 min; 94  $^\circ\text{C}$  20 s, 56  $^\circ\text{C}$  30 s, 72  $^\circ\text{C}$  1 min, 45 个循环; 72  $^\circ\text{C}$  延伸 3 min。随后将扩增后的产物进行 SAP 纯化后进行延伸反应, 延伸引物为 P3: 5'-CCCTCTTACAACACAAAATCAAATC-3', 其中延伸反应引物 0.84  $\text{mol/L}$ , iPlex 酶 1 U, 反应条件为 94  $^\circ\text{C}$  30 s; 94  $^\circ\text{C}$  5 s, 52  $^\circ\text{C}$  5 s, 40 个循环; 80  $^\circ\text{C}$  5 s, 5 个循环; 72  $^\circ\text{C}$  延伸 3 min。反应结束后每个延伸反应产物经树脂纯化后于芯片上点样, MassARRAY Analyzer 质谱检测相应位点的基因型。

3. 统计学分析: 采用 SPSS 11.7 统计软件处理, 组间比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  视为有统计学意义。

### 结 果

1. IFN $\gamma$  rs2430561 位点飞行时间质谱检测: 傣族人群 AA、AT 和 TT 基因型均有检出, 而哈尼族人群只检出 TA 和 TT 基因型。经  $\chi^2$  检验所调查的人群基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P > 0.05$ ), 样本具有代表性, 结果见图 1。

2. 不同民族人群 IFN $\gamma$  rs2430561 位点基因型和等位基因分布频率比较: 傣族与哈尼族人群 IFN $\gamma$  rs2430561 位点基因型与等位基因分布频率显著不同, 哈尼族人群未检出 AA 基因型, 其 TT 基因型和 T 等位基因显著高于傣族人群, 差异有统计学意义, 结果见表 1。

### 讨 论

人类 IFN $\gamma$  基因定位于 12q24.1, 含有 4 个外显子和 3 个内含子, 其中第一内含子 rs2430561 正好位于转录因子 NF-KappaB 的结合位点, 其多态性可影响与转录因子的结合进而影响 IFN $\gamma$  的转录和表达, 并与多种疾病如病毒感染性疾病、肺结核、寄生虫感染和肿瘤

等密切相关。研究表明 TT 为高表达基因型, AA 为低表达基因型, AT 为中等表达基因型。

很多疾病的发生、发展和转归存在明显的人群和地域的差异, 这与人群遗传背景密切相关。SNP 作为第三代遗传标志, 对其在不同人群中的分布及其与疾病的相关性研究有助于我们认识疾病易感性差异的原因。云南西双版纳是一个多民族杂居的地区, 由于地理环境的特殊、交通的不便以及民族习惯和文化的差异, 民族间极少通婚, 因此形成了遗传学上的原生态隔离种群, 是非常好的人群基因结构与疾病认识的地区。我们的研究以傣族和哈尼族这两个原生态隔离种群为研究对象, 从分子遗传学角度认识了 IFN $\gamma$  rs2430561 位点多态性的分布: 发现 rs2430561 位点多态性在傣族和哈尼族人群中的分布有显著性差异。结合国内外相关文献与不同国家人群相关报道进行比较, 哈尼族人群未检出 AA 基因型, A 等位基因频率最低, 仅为 15.5%, 而 TT 基因型和 T 等位基因频率最高, 分别为 69.9% 和 84.5%。同时, 傣族和哈尼族人群 rs2430561 位点基因型与等位基因分布频率无论是与亚洲人群(中国江苏汉族<sup>[1]</sup>、韩国人<sup>[2]</sup>、印度人<sup>[3]</sup>、伊朗人<sup>[4]</sup>、土耳其人<sup>[5]</sup>和巴基斯坦人<sup>[6]</sup>)、还是欧洲人群(意大利人<sup>[7]</sup>、西班牙人<sup>[8]</sup>和捷克人<sup>[9]</sup>)、非洲人群(南非人<sup>[10]</sup>和马拉维人<sup>[11]</sup>)及美洲人群(美国人<sup>[12]</sup>、巴西人<sup>[13]</sup>)均显著不同 ( $P$  均  $< 0.01$ )。这些遗传学上的差异可能是造成不同人群对某些疾病易感性异同的重要原因。

总而言之, 我们的研究丰富了中国少数民族人群 IFN $\gamma$  rs2430561 位点的群体遗传学数据, 提示 IFN $\gamma$  rs2430561 位点多态性存在种族、民族差异, 有助于我们从基因水平更深刻地理解不同疾病在不同人群中易感性差异的内在机制, 为寻找疾病易感基因提供了群体遗传背景资料。

## 参 考 文 献

- [1] Wang J, Tang S, Shen H. Association of genetic polymorphisms in the IL12-IFNG pathway with susceptibility to and prognosis of pulmonary tuberculosis in a Chinese population. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2010, 29: 1291-1295.
- [2] Hwang JH, Kim EJ, Kim SY, et al. Polymorphisms of interferon-gamma and interferon-gamma receptor 1 genes and pulmonary tuberculosis in Koreans. *Respirology*, 2007, 12: 906-910.
- [3] Selvaraj P, Alagarasu K, Harishankar M, et al. Cytokine gene polymorphisms and cytokine levels in pulmonary tuberculosis. *Cytokine*, 2008, 43: 26-33.
- [4] Rasouli M, Kiany S. Association of interferon-gamma and interleukin-4 gene polymorphisms with susceptibility to brucellosis in Iranian patients. *Cytokine*, 2007, 38: 49-53.
- [5] Yilmaz V, Tütüncü Y, Barış Hasbal N, et al. Polymorphisms of interferon-gamma, interleukin-10, and interleukin-12 genes in myasthenia gravis. *Hum Immunol*, 2007, 68: 544-549.
- [6] Ansari A, Talat N, Jamil B, et al. Cytokine gene polymorphisms across tuberculosis clinical spectrum in Pakistani patients. *PLoS One*, 2009, 4: e4778.
- [7] Lio D, Marino V, Serauto A, et al. Genotype frequencies of the +874T--> A single nucleotide polymorphism in the first intron of the interferon-gamma gene in a sample of Sicilian patients affected by tuberculosis. *Eur J Immunogenet*, 2002, 29: 371-374.
- [8] López-Maderuelo D, Arnalich F, Serantes R, et al. Interferon-gamma and interleukin-10 gene polymorphisms in pulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167: 970-975.
- [9] Holla LI, Hrdlickova B, Linhartova P, et al. Interferon- $\gamma$  +874A/T polymorphism in relation to generalized chronic periodontitis and the presence of periodontopathic bacteria. *Arch Oral Biol*, 2011, 56: 153-158.
- [10] de Wit E, van der Merwe L, van Helden PD, et al. Gene-gene interaction between tuberculosis candidate genes in a South African population. *Mamm Genome*, 2011, 22: 100-110.
- [11] Fitness J, Floyd S, Warndorff DK, et al. Large-scale candidate gene study of tuberculosis susceptibility in the Karonga district of northern Malawi. *Am J Trop Med Hyg*, 2004, 71: 341-349.
- [12] Moran A, Ma X, Reich RA, et al. No association between the +874T/A single nucleotide polymorphism in the IFN-gamma gene and susceptibility to TB. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2007, 11: 113-115.
- [13] Vallinoto AC, Graça ES, Araújo MS, et al. IFNG +874T/A polymorphism and cytokine plasma levels are associated with susceptibility to Mycobacterium tuberculosis infection and clinical manifestation of tuberculosis. *Hum Immunol*, 2010, 71: 692-696.

(收稿日期: 2013-05-23)

(本文编辑: 戚红丹)

高建梅, 左荣霞, 王金丽, 等. IFN  $\gamma$  rs2430561 位点在云南傣族和哈尼族人群中的遗传多态性 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2013, 7 (14): 6434-6436.



中 华 医 学 会