

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2008.00321

CCR2-64 在中国南方 14 个少数民族群体中的分布

钱源, 孙浩, 林克勤, 史磊, 史荔, 褚嘉祐

中国医学科学院 协和医科大学医学生物学研究所, 昆明 650118

摘要: 为调查 HIV-1 感染相关等位基因 *CCR2-64* 在我国南方 14 个少数民族群体的频率和多态性分布, 从上述人群外周血中抽提基因组 DNA, 采用 PCR 和 PCR-RFLP 等方法进行基因分型。在 791 例调查对象中, 636 例是野生纯合子基因型, 104 例为杂合子基因型, 51 例为突变纯合子基因型。上述各群体等位基因型的分布符合 Hardy-Weinberg 平衡。14 个民族群体的平均突变基因频率为 13.6%, 等位基因频率范围分布在 1.6%~30.3% 之间, 14 个民族群体之间突变基因频率具有显著差异 ($P<0.05$)。广西壮族群体 *CCR2-64* 突变基因频率最低, 为 1.6%, 云南的六库傈僳族频率最高, 为 30.3%。12 个群体的突变基因频率均低于中国汉族健康群体, 南方 3 个少数民族群体基因突变频率显著低于西南 11 个少数民族群体, 该突变基因在艾滋病发病过程中的影响值得进一步深入研究。

关键词: 人类免疫缺陷病毒 1; 基因多态性; 趋化因子受体-2

Distribution of HIV/AIDS associated *CCR2-64* allele of 14 Chinese ethnic populations in South China

QIAN Yuan, LIN Ke-Qin, SHI Lie, SHI Li, CHU Jia-You

Chinese Academic of Medical Science & Peking Union Medical College, Institute of Medical Biology, Kunming 650118, China

Abstract: The purpose of the work is to investigate the frequencies and polymorphisms of HIV-1 resistant *CCR2-64* alleles in 14 Chinese populations in South China. The blood samples include 791 unrelated healthy individuals. Whole blood samples were collected randomly and their genomic DNA were extracted with OMEGA Blood Kits. Allelic frequencies were identified by PCR-RFLP analysis. 636 individuals were wild-type homozygous, 104 individuals were *CCR2-64* heterozygote and 51 individuals were *CCR2-64* homozygous. Distributions of the *CCR2-64* alleles among the populations were in accordance with Hardy-Weinberg equilibrium. The average allele frequencies was 13.6%, and the frequency span of the alleles was 1.6%–30.3%. By statistical analysis, the frequency varied significantly in 14 populations ($P<0.05$). Among them, Zhuang ethnic population had the lowest *CCR2-64* allele, whereas the Lisu ethnic population in Yunnan province had the highest *CCR2-64* allele Conclusion: The frequency of *CCR2-64* allele of 12 ethnic populations were lower than that of Han. The frequency of *CCR2-64* allele between Southern and South-east group showed significant variations. The mutant alleles conferring genetic resistance to HIV-1 and AIDS progression needs to be further studied.

Keywords: HIV-1; polymorphism; CC chemokine receptor-2

收稿日期: 2007-09-11; 修回日期: 2007-12-20

基金项目: 国家高技术发展计划资助项目(973 计划) (编号: 2006CB504200) [Supported by National High Technology Research and Development Program of China (No. 2006CB504200)]

作者简介: 钱源(1981-), 女, 江苏人, 助理研究员, 博士研究生, 研究方向: 医学遗传学。Tel: 0871-8334872; E-mail: yuanqian2x@hotmail.com

通讯作者: 褚嘉祐(1949-), 男, 云南人, 博士, 研究员, 博士生导师, 研究方向: 医学遗传学。Tel: 0871-8334872; E-mail: chujy@imbcams.com.cn

CCR5-32, CCR2-64I 和 SDF1-3 A 基因多态性与 HIV-1 的感染和发病程度密切相关。

CCR2-64 突变明显有利于 HIV-1 感染者个体的存活, 表现为延缓 2~3 年发展到 AIDS 阶段或死亡^[4]。CCR2-64 突变基因位于 CCR2 的第一穿膜功能区。这一突变本身对 HIV 的感染不产生直接保护作用, 其突变对 HIV 感染产生抗性的作用机制是间接的。本实验的目的是观察 CCR2-64 基因多态性在中国不同地区少数民族群体中的分布情况以及差异比较, 这对于了解该基因位点在人群中的扩散和指导艾滋病疫苗的设计具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 DNA 样品

791 份血样来自于 14 个少数民族群体, 3 代之内均来自同一民族群体。其中, 研究的人群包括云南 11 个少数民族群体 593 例(来自 8 种民族), 和广西 52 个仫佬族个体, 93 个壮族个体以及海南省的 53 个黎族个体。每个群体样本量均 49, 平均为 57 个。

1.2 实验方法及数据处理

参见文献[2], 采用 OMEGA 公司的基因组 DNA 提取试剂盒抽提全基因组 DNA。自 200 μ L 全血中

分离 DNA, 浓度定量稀释后作为 PCR 模版。PCR 扩增和聚合酶链反应-限制性片段长度多态性检测酶切产物的多态性, 电泳后的 RFLP 用凝胶成像仪分析, 从凝胶上直接判读每个个体基因型, 直接计算各等位基因的频率。数据处理: 差异的显著性分析采用 SPSS 13.0 R \times C 表进行 Chi-squared 统计分析。应用精确法计算等位基因突变频率的 95% 可信限区间(95% CI)。

2 结果

设计扩增包含 CCR2 突变位点的局部片段基因(从 28~50 到 675~696)的引物, PCR 扩增后用 *Bse*G (MBI Fermentas)酶切。PCR 扩增所得的片段长度为 669 bp, 纯合野生等位基因型产生 3 种片段 102, 203 和 364 bp 片段, 纯合突变基因型产生 102, 160, 203/204 bp 3 种片段; 在 791 个个体中该突变基因的平均频率为 13.6%, 等位基因型的分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡。14 个少数民族群体该基因突变位点的频率见表 1。

采用 SPSS 软件对 14 个群体基因频率进行统计学分析, 结果显示该突变基因频率在群体间具有明显差异。另外, 所研究的 14 个少数民族群体中, 除了云南六库傈僳族群体和福贡的傈僳族群体频率分

表 1 CCR2-64 等位基因在 14 个少数民族群体中的频率分布

Table 1 The frequencies of CCR2-64 in Chinese 14 ethnic group

民族 Population	省份 Province	样本数目 Sample size	CCR2-64 频率 CCR2-64 frequency
南方 South			
黎族 Li	海南 Hainan	53	0.01887
仫佬族 Mulao	广西 Guangxi	52	0.02885
壮族 Zhuang	广西 Guangxi	93	0.01613
西南 South-west			
独龙族 Drung	云南 Yunnan	55	0.15455
佤族(沧源)Wa(Cangyuan)	云南 Yunnan	50	0.15000
佤族(西盟)Wa(Ximeng)	云南 Yunnan	48	0.16667
傈僳族(六库)Lisu(Liuku)	云南 Yunnan	56	0.30357
傈僳族(福贡)Lisu(Fugong)	云南 Yunnan	50	0.25000
怒族(福贡)Nu(Fugong)	云南 Yunnan	50	0.18000
怒族(贡山)Nu(Gongshan)	云南 Yunnan	52	0.08654
白族 Bai	云南 Yunnan	51	0.11765
傣族 Dai	云南 Yunnan	70	0.13571
哈尼族(爱妮人)Hani(Aini)	云南 Yunnan	55	0.19091
普米族 Pumi	云南 Yunnan	56	0.10526

别为 30.3% 和 25%，其余的 12 个民族群体突变基因频率均低于所报道的中国汉族群体的突变基因频率 (20%)。南方 3 个少数民族群体基因突变频率显著低于西南 11 个少数民族群体。

3 讨论

CCR2 基因第 190 位碱基 G 突变为 A，导致其多肽产物第 64 个缬氨酸被亮氨酸替代，欧美白人 CCR2-64 的突变频率为 9.8%，亚洲为 25%，中国汉为 20%^[3,4]。CCR2-64 可能延缓 AIDS 病程，并且认为该种保护作用可能发生在 HIV 感染的早期。在本研究中，我们将所收集到的样本分为两大组，包括西南云南省 11 个少数民族群体和南方广西的仫佬族和壮族，以及海南的黎族群体。南方 3 个群体的突变基因频率显著低于西南群体，我们认为该突变基因不是这些群体的保护基因，推测可能对于该区域的群体存在其它抵抗 HIV 感染延缓 AIDS 病程的保护基因。结合以往对于相同群体的 SDF1-3 A 的研究结果 (数据待发表)，在南方群体中 SDF1-3 A 的基因频率显著较高，我们认为考虑突变基因共同作用的结果，各民族群体的基因突变在整体上保持一致，与宿兵等的结论一致^[5]。西南的 11 个民族群体均为云南省的少数民族群体。各群体间的基因频率具有显著性差异 ($P=0.002$)，提示了各个民族群体的等位基因频率差异可能是因为不同的遗传背景差异。在云南的 11 个民族群体中，分别将沧源佤族和西盟佤族、六库傈僳族和福贡傈僳族、福贡怒族和贡山怒族进行比较。统计结果显示各组内群体基因频率均无显著性差异。六库傈僳族群体和福贡的傈僳族群体频率较高，我们认为对于这 2 个群体在抵抗 HIV 感染和发病中的意义值得进一步深入研究。本研究显示了我国 14 个群

体 CCR2-64 受体的突变情况以及对 HIV 感染的影响与所报道的其他国家的不同人种的突变不尽相同，辅助受体的多态性对我国不同民族群体对艾滋病的易感性值得进一步研究。

参考文献 (References):

- [1] Murakami T, Yamamoto N. Roles of chemokines and chemokine receptors in HIV-1 infection. *Int J Hemato*, 2000, 72(4): 412–417.
- [2] Frank S, Inge T, Nathalie C, Els K, Ingrid VD, Joanne W, Marc VR. Prevalence of CCR5 and CCR2 HIV-coreceptor gene polymorphisms in Belgium. *Hum Hered*, 2000, 50: 304–307. [\[DOI\]](#)
- [3] Kostrikis LG, Huang Y, Moore JP, Wolinsky SM, Zhang L, Guo Y, Deutsch L, Phair J, Neumann AU, Ho DD. A chemokine receptor CCR2 allele delays HIV-1 disease progression and is associated with a CCR5 promoter mutation. *Nature Medicine*, 1998, 4: 350–353. [\[DOI\]](#)
- [4] WANG Fu-Sheng, JIN Lei, LIU Ming-Xu, HONG Wei-Guo, SHI-Hong, LEI Zhou-Yun, Wang Jiming, DU Qing-You, Hou-Jing, ZHANG Bing, JIANG Jian-Dong, WANG Rui, LI Yue-Qi, XU An-Long, XU Dong-Ping, LIU Fa-Jun. Polymorphisms of HIV-1 infection coreceptor and ligand gene in population of China. *Chinese Science Bulletin*, 2001, 46: 569–573.
王福生, 金磊, 刘明旭, 洪卫国, 施红, 雷周云, Wang Jiming, 杜清友, 侯静, 张冰, 蒋建东, 汪悦, 李跃旗, 徐安龙, 徐东平, 刘发军. 中国普通人群中 HIV-1 感染辅助受体和配体基因多态性的分析. *科学通报*, 2001, 46: 569–573.
- [5] Su B, Jin L, Hu F, Xiao J, Luo J, Lu D, Zhang W, Chu J, Du R, Geng Z, Qiu X, Xue J, Tan J, O'Brien SJ, Chakraborty R. Distribution of two HIV-1-resistant polymorphisms (SDF1-3 A and CCR2-64) in East Asian and world populations and its implication in AIDS epidemiology. *Am J Hum Genet*, 1999, 65: 1047–1053. [\[DOI\]](#)