

# 中国 4 个少数民族中 SDF1 多态性研究

张春玉, 薛雅丽, 黄小义, 马琳琳, 于 ,  
刘 岸, 吕芙蕖, 李 璞, 傅松滨

(哈尔滨医科大学医学遗传学研究室, 哈尔滨 150086)

摘要: 研究与 HIV-1 感染相关的基质细胞衍生因子(SDF1) 等位基因突变频率和多态性在中国 4 个少数民族的分布特征。应用 PCR/RFLP 等方法检测回族(57 例)、鄂伦春族(71 例)、蒙古族(30 例)及锡伯族(26 例)共 184 个个体中 SDF1-3' A 基因突变频率。结果得出中国 4 个民族中 SDF1-3' A 基因的基因频率分别为: 蒙古族为 38.3%, 锡伯族为 23.1%, 回族为 20.2%, 鄂伦春族为 10.6%。中国 4 个少数民族中 SDF1-3' A 等位基因频率存在较大的差异( $\chi^2 = 37.826, P < 0.01$ ), 提示这 4 个民族的遗传结构存在着一定的差异。本研究为评估中国不同民族对 HIV-1 的易感性及艾滋病的流行病学研究提供了基本数据。

关键词: 人类免疫缺陷病毒 1; 基质细胞衍生因子; 基因突变; 多态性

中图法分类号: Q987 文献标识码: A 文章编号: 1000-3193 (2002) 04-0311-04

在艾滋病发生过程中, 一些趋化因子及其受体起着重要的作用<sup>[1-3]</sup>。近年来研究表明, CCR5  $\Delta 32$ 、CCR2-64I 和 SDF1-3' A 等位基因是抗 HIV-1 感染的 3 个主要遗传因子, 直接与 HIV-1 感染和艾滋病发病、病程进展相关<sup>[2-4]</sup>。其中, 基质细胞衍生因子(stromal derived factor-1, SDF1)是 CXCR4 天然的配基, 可与 X-4 株竞争性结合到 CXCR4 受体上, 从而阻断 HIV-1 侵入人体。当 SDF1 基因 3' 非翻译区(UTR)第 801 位(从 ATG 起始密码子计数)碱基发生 G  $\rightarrow$  A 转换, 称为 SDF1-3' A 突变<sup>[3]</sup>。已证实此突变可以推迟 HIV-1 感染者中艾滋病的发生, 但其作用是隐性的, 在受 HIV-1 感染较长时间的个体中, 它的隐性保护作用尤为明显<sup>[3-4]</sup>。Winkler 等人<sup>[3]</sup>报道 SDF1-3' A 突变的保护作用在艾滋病晚期更为显著, 其主要表现是强烈地阻止快速发展成为艾滋病。现在有人认为其作用机理是隐性突变可以上调 SDF1 基因的表达, 因而产生大量的 SDF1, 后者与 HIV 病毒 X-4 株竞争 CXCR4 受体, 抑制病毒感染, 因而延缓了病程<sup>[2-4]</sup>。国内外学者研究发现 SDF1-3' A 等位基因频率在世界上不同区域和人种中变化较大<sup>[3,5]</sup>, 本实验首次对中国 4 个少数民族 184 例个体进行了 SDF1-3' A 突变检测, 以研究这些人群中该基因突变的分布特征。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

本实验研究对象来自中国 4 个少数民族 184 例个体, 均为正常人, 无一患者, 且相互无

收稿日期: 2001-09-24; 定稿日期: 2002-02-04

基金项目: 国家自然科学基金重大项目(项目号 39993420); 黑龙江省科技攻关项目(G94C2434)

作者简介: 张春玉(1973-), 女, 哈尔滨医科大学大学生物学教研室暨医学遗传学研究室, 助教, 现为在读硕士研究生。

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

亲缘关系,三代是同一民族个体,血液样本采集时均经本人知情同意,包括回族( $n=57$ ),鄂伦春族( $n=71$ ),蒙古族( $n=30$ ),锡伯族( $n=26$ )。各民族样本采集情况见表1所示。

表1 样本采集情况表  
The location of samples involved in present research

民 族 Population	例 数 Sample size	采样地点 Sampling place	经纬度(Location)	
			东经(Longitude)	北纬(Latitude)
回 族	57	宁夏回族自治区同心县	36.8	106.0
鄂伦春族	71	阿里河	53.0	131.0
蒙古族	30	海拉尔市	51.0	126.0
锡伯族	26	察布查尔	43.3	80.5

1.2 方法

由于 SDF1-3' A 的变异,使 SDF1 基因序列中原来存在的 MspI 酶切位点丢失,所以可用 MspI 酶切分析 PCR 扩增的 SDF1 基因产物,根据 PCR/RFLP 产物的片段大小区分 SDF1-3' A 突变的基因型<sup>[3]</sup>。

**基因组 DNA 提取** 将采集的外周静脉血样经 ACD 抗凝,按常规酚-氯仿法抽提 DNA。

**PCR 扩增反应** PCR 引物为: CAGTCAACCTGGGCAAAGCC (F) 和 AGCITTGGTCCTGAGAGTCC (R)。PCR 扩增反应总体积 12ul,含 20ng 样本 DNA,两个引物各 2pmol,2.5mmol/L dNTP,10× PCR Buffer 1ul,0.5U Taq DNA 聚合酶。反应条件:94℃预变性 3min,然后进行 35 个反应循环,每循环变性 94℃ 20s,退火 59℃ 30s,延伸 72℃ 30s,最后在 72℃延伸 5min。

**MspI 酶切电泳** 酶切反应总体积 10ul,含 3ul PCR 产物,0.15ul MspI。反应条件:37℃水浴过夜。取酶切产物 10ul,加 2ul 加样缓冲液,在 2% 琼脂糖凝胶(溴乙锭染色)上,以恒电压 150V 电泳 40 分钟。

**SDF1 等位基因频率计算及统计学处理** 电泳后的 RFLP 用凝胶成像系统分析,从凝胶上直接判读每个个体基因型,计算各等位基因的频率。在统计软件 SPSS 上进行检验, $\chi^2=37.826, P<0.01$ ,说明 4 个少数民族中 SDF1-3' A 等位基因频率差异显著。

2 结 果

2.1 SDF1-3' A 突变基因型检测

SDF1 等位基因 801G 经 PCR 扩增 MspI 酶切后,可产生 245bp 及 110bp 两种片段。由于 SDF1 在 3' UTR 801 位出现 G→A 的突变,消除了 1 个 MspI 酶切位点,故等位基因 801A 产生 355bp 1 种片段。而 SDF1-3' A 杂合子产生 355bp、245bp 及 110bp 三种片段。典型的 SDF1-3' A 基因电泳分析结果见图 1。

2.2 SDF1-3' A 在中国 4 个少数民族人群中的分布

本次实验对中国 4 个少数民族 184 例个体进行检测,发现 5 例为 SDF1-3' A 纯合突变型,63 例为杂合突变型,在各民族中的分布情况见表 2。统计学分析表明 4 个少数民族中 SDF1-3' A 等位基因频率存在显著差异。

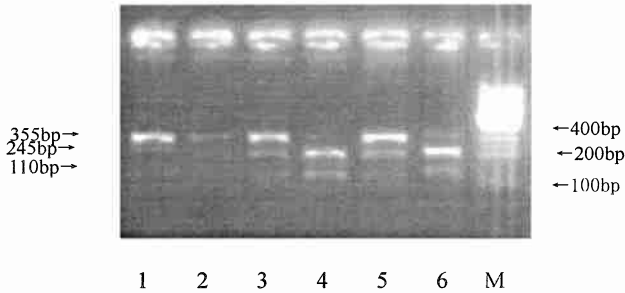


图 1 SDF1-3' A 突变基因型电泳结果 (2% 琼脂糖凝胶)

The results of SDF1-3' A mutant genotypes on 2% Agarose gel

- 1: SDF1-3' A 突变纯合子 (SDF1-3' A homozygote);  
 2, 3, 5: SDF1-3' A 突变杂合子 (SDF1-3' A heterozygotes);  
 4, 6: SDF1 野生型 (SDF1 wild-types); M: 50bp Maker

表 2 中国 4 个少数民族中 SDF1-3' A 等位基因多态性分布

The distribution of SDF1-3' A polymorphisms in 4 Chinese populations

民族 Population	例数 Sample size	基因型(Genotype)			SDF1-3' A 基因频率(%) mt
		wt/wt	wt/mt	mt/mt	
回族	57	38	15	4	20.2
鄂伦春族	71	56	15	0	10.6
蒙古族	30	7	23	0	38.3
锡伯族	26	15	10	1	23.1
总计	184	116	63	5	

注: wt(wild-type): 野生型, mt(mutant-type): 突变型

### 3 讨论

近年来与 HIV-1 感染相关的等位基因的研究,特别是其协同受体(CCR5、CXCR4)基因及其突变体的重大发现,已成为 AIDS 领域中研究的热点。SDF1-3' A 的隐性保护作用在 HIV-1 感染个体中可长期不断增加,在推迟 AIDS 发生的过程中与其它基因突变共同起作用。SDF1-3' A 等位基因在不同地区,不同人种的基因频率存在差异,在美国白人中约为 21.1%,美国黑人中约为 5.7%,亚洲人约为 25.7%,而中国汉族人群中约为 28.7%<sup>[3,5-6]</sup>。本实验对中国 4 个少数民族 184 例个体进行了检测,证明了 SDF1-3' A 多态性的存在,而且这四个人群中该基因的频率存在较大的差异。其中,蒙古族 SDF1-3' A 等位基因频率明显高于其它民族,为 38.3%,其次是锡伯族(23.1%)与回族(20.2%)基本上与亚洲人的基因频率相似,而鄂伦春族(10.6%)相对偏低。这可能与各民族的起源不同及遗传结构存在着一定的差异有关。目前,根据对中国各民族起源及遗传性的研究得知,蒙古族人在 12 世纪末至 13 世纪初,被铁木真统一各部落,形成统一的蒙古族,在此之后,又不断融入周围一些民族(如汉族、满族、达斡尔族等)血统,形成今天的蒙古族,在 ABO 血型系统中,蒙古族人以 O 型居多(33%—35%),锡伯族祖先在 1636 年后曾被编入蒙古八旗,在 1764 年有 1020 名锡伯族官兵

及4000余家属从沈阳西迁到新疆伊犁戍边,直至今日,锡伯族人血型以B型居多(40.1%);回族是元朝时大批迁徙到中国及到中国来经商的回回(中亚西亚人、波斯人、阿拉伯人),他们绝大多数未带着属,主要是与汉族女子通婚而繁衍生息,回族人血型以B型居多(31.1%);而鄂伦春族是几千年来一直生活在黑龙江流域山林中的土著民族,在ABO血型系统中,高达50.4%的鄂伦春族人均为O型血<sup>[7]</sup>。由于缺乏临床资料,本次研究无法证明这些民族SDF1基因突变率与艾滋病发病率的直接关系,但是本研究结果为进一步研究中国人群的遗传结构、遗传多态性和评估中国不同民族对HIV-1的易感性及艾滋病的流行病学研究提供了重要的参考资料。关于中国不同人群对艾滋病的易感性还有待于进一步研究。

参考文献:

[ 1 ] Deng HK, Liu R, Elmeier *et al.* Identification of a major coreceptor for primary isolates of HIV-1[J]. *Nature*, 1996, 381: 661—666.

[ 2 ] Berger EA, Murphy PM, Farber JM. Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors : roles in viral entry, tropism and disease[J]. *Annu Rev Immunol*, 1999, 17: 657—700.

[ 3 ] Winkler C, Modi W, Smith MW *et al.* Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant[J]. *Science*, 1998, 279(5349): 389—393.

[ 4 ] Michael NL. Host genetic influences on HIV-1 pathogenesis[J]. *Curr Opin Immunol*, 1999, 11: 466—474.

[ 5 ] Lacey SF, McDanal CB, Horuk R *et al.* The CXC chemokine stromal cell-derived factor 1 is not responsible for CD8+ T cell suspension of syncytia-inducing strains of HIV-1[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 94: 9842—47.

[ 6 ] 王福生, 金 磊, 雷周云等. 人类免疫缺陷病毒 1 感染相关的基因多态性在中国汉族人群中的分布[J]. *中华流行病学杂志*, 2000, 21(4): 256—259.

[ 7 ] DU Rue-fu, YE Fe-sheng. *Ethnic Groups in China*[M]. Beijing: Beijing Science Press, 1994.

**STUDY ON POLYMORPHISM OF THE SDF1 ALLELE  
IN 4 ETHNIC GROUPS OF CHINA**

ZHANG Chun-yu, XUE Ya-li, HUANG Xiao-ji, MA Lin-lin,  
YU Yang, LIU An, LÜ Fu-qū, LI Pu, FU Song-bin

(*Department of Genetics, Harbin Medical University, Harbin 150086*)

**Abstract:** To study the mutant frequency and polymorphism of stromal derived factor-1 (SDF-1) conferring resistance to determined HIV-1/AIDS in 4 ethnic groups in China. The studied population included 184 subjects, of which consisted the Hui (n= 57), the Oroqen (n= 71), the Mongolian (n= 30), the Xibe (n= 26). The genotype of the SDF1-3' A was detected by PCR/RFLP with the digestion of restriction endonuclease Msp I. The frequency of SDF1-3' A mutant allele was: 38.3% of the Mongolian, 23.1% of the Xibe, 20.2% of the Hui and 10.6% of the Oroqen. The difference of SDF1-3' A polymorphisms were found in 4 ethnic groups in China.

**Key words:** HIV-1; SDF1; Gene mutation; Polymorphism