

· 论 著 ·

# 重庆地区人群 HLA-A, B 基因和单倍型的多态性分析\*

陈 伟, 邓少丽<sup>△</sup>, 袁 琳

(第三军医大学大坪医院检验科, 重庆 400042)

**摘要:**目的 对重庆地区人群 HLA-A, B 基因座位的单倍型分布特征及基因相关性进行研究。方法 采集重庆地区 201 名无血缘关系健康个体静脉血, 应用聚合酶链反应-序列特异性引物(PCR-SSP)方法对其 HLA-A, B 基因座位进行等位基因分型, 计算 HLA-A, B 基因型频率及基因频率, 统计 HLA-A, B 单倍型出现情况并做连锁相关性分析。结果 在重庆地区的人群中, 最常见的 HLA-A-B 单倍型是 HLA-A \* 02-B \* 46, HLA-A \* 11-B \* 13 和 HLA-A \* 24-B \* 46, HLA-A \* 30-B \* 13。HLA-A \* 02-B \* 46, HLA-A \* 11-B \* 60 和 HLA-A \* 30-B \* 13 为重庆分库最常见、连锁不平衡最显著的单倍型。与我国北方、南方汉族比较, 更接近南方汉族人群。结论 重庆地区人群 HLA-A, B 基因具有较为丰富的多态性, 其分布符合南方汉族的特点, HLA 单倍型分布特征与南方汉族人群相近, 但也有其自身特点。

**关键词:** HLA 抗原; 单倍型频率; 遗传多态性

中图分类号: R457.7; R181.32

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)10-1182-02

## Research of HLA-A genes, B genes and analysis on haplotype's polymorphism of Chongqing\*

CHEN Wei, DENG Shao-li<sup>△</sup>, YUAN Lin

(Department of Laboratory Medicine, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

**Abstract: Objective** To investigate the gene locuses haplotype distributing character and to analyse the gene's relativity of HLA-A genes, B genes in Chongqing. **Methods** A PCR-based sequence specific primers method was used to determine the alleles of HLA-A, B in 201 unrelated, healthy people of Chongqing. Allelic frequencies were calculated by the direct count and stated HLA-A, B haplo-type and analyzed the concatenation relativity. **Results** The people of Chongqing, the most frequent HLA-A-B haplotypes were HLA-A \* 02-B \* 46, HLA-A \* 11-B \* 13, HLA-A \* 24-B \* 46, HLA-A \* 30-B \* 13, and HLA-A \* 02-B \* 46, HLA-A \* 11-B \* 60 and HLA-A \* 30-B \* 13 were the most frequent in Chongqing area and had significant linkage disequilibrium. **Conclusion** HLA-A, B in people of Chongqing have plenty of polymorphism and distribute in line with the southern Han's characteristics.

**Key words:** HLA; haplotype; genetic; polymorphism

由于人类主要组织相容性复合体(human leucocyte antigen, HLA)基因座具有高度的遗传多态性, 在不同种族、民族及不同地域的人群中, 其等位基因和单倍型的频率存在差异<sup>[1]</sup>。我国是一个地域辽阔的多民族国家, 分析不同地区、不同民族人群 HLA 基因多态性, 有着非常重要的遗传学和医学价值<sup>[2]</sup>。对于民族起源、进化、迁徙、融合等人类群体遗传学研究和疾病的治疗诊断方面具有重要意义, 并且在法医学个体识别中也发挥着重要的作用<sup>[3-6]</sup>。作者采用聚合酶链反应-序列特异性引物方法(PCR-SSP)对重庆地区部分人群 HLA-A, B 基因座进行分析研究。

### 1 材料与方 法

**1.1 研究对象及基因组 DNA 制备** 选择重庆地区 201 名健康、无血缘关系的汉族个体, 采集其外周血各 2 mL, EDTA 抗凝, 提取的 DNA 浓度为 50~120 ng/L, OD260/280 为 1.7~1.9。

**1.2 试剂及仪器** 血液基因组 DNA 提取试剂盒(北京 Tian-gen 公司)、PCR-SSP HLA-ABDR 分型试剂盒(美国 One Lambda 公司)、扩增仪(美国 Bio-Rad 公司)、凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)、美国 NP-100DNA 浓度测定仪等。

**1.3 方法** 使用 PCR-SSP HLA-ABDR 分型试剂盒, 按照试剂盒操作说明书进行 PCR 反应体系的配制和 PCR 扩增反应,

将 PCR 扩增产物加样、电泳, 最后使用分析判读软件进行 HLA 分型结果的读取。遵循 WHO 下属 HLA 系统命名委员会规定, 按标准 HLA 命名法则低分辨判读等位基因, 分析分别得出 HLA-A, B 和 DRB1 基因座基因型, 并按 HLA 命名委员会公布的 HLA 等位基因与其表型对应关系将等位基因型转化为相应的表现型。

**1.4 统计学方法** 应用直接计数法统计 HLA-A, B 基因座基因频率, 采用最大数学预期值算法(expectation maximization, EM), 通过 Arlequin 3.11 软件计算 HLA 单体型频率, 以频率大于 1/1, 5N(N 为样本量)为观察到有意义单倍型<sup>[5]</sup>, 按参考文献[6]计算两基因座连锁不平衡参数, 按参考文献[7]报道有意义两基因座单倍型正连锁不平衡参数。

### 2 结 果

记录每一次所测得标本的 HLA 分型结果, 最后将所测得的 201 个个体的 HLA-A, B 基因的分型结果用表格统计, 分析 HLA-A, B 单倍型的频率, 统计结果见表 1。观察到 139 种 HLA A-B 单倍型, 占单倍型理论总数的 41.37%(139/336), 出现频率较高的 HLA-A, B 单倍型有 HLA-A \* 02-B \* 46、HLA-A \* 11-B \* 15、HLA-A \* 11-B \* 13、HLA-A \* 02-B \* 15、HLA-A \* 11-B \* 15、HLA-A \* 02-B \* 15 等, 其中 HLA-A \* 02-B \* 46、HLA-A \* 11-B \* 15、HLA-A \* 24-B \* 46、HLA-A \* 30-B \* 13 具有极强的连锁不平衡。

\* 基金项目: 第三军医大学科研基金资助项目(2008-1087)。 <sup>△</sup> 通讯作者, E-mail: dengsl072@yahoo.com.cn。

表 1 重庆汉族人群 HLA 常见单倍型及其频率(HF≥1.5%)

单倍型(A-B)	单倍型频率(%)
2 46	6.69
11 60	4.76
11 13	4.76
2 62	4.17
11 62	4.17
2 60	3.86
11 46	3.86
30 13	3.12
11 35	2.67
24 60	2.67
2 38	2.67
24 46	2.51
24 13	2.23
24 15	2.08
2 51	2.08
2 13	1.93
30 44	1.78
33 58	1.78

3 讨 论

HLA 区域内的基因位点根据其多态性程度、编码分子的分布和功能可分为 3 类,分别称为 HLA-I 类基因、HLA-II 类基因和 HLA-III 类基因。经典的 HLA-I 类基因指 3 个最早发现的功能位点<sup>[8]</sup>,即 HLA-A、HLA-B 和 HLA-C。HLA-I 类基因的多态性非常高,到现在为止已经发现 HLA-A 等位基因有 349 个,HLA-B 有 627 个,HLA-C 有 182 个<sup>[9]</sup>,HLA-I 类基因产物主要分布于全身有核细胞的表面,参与提呈内源性抗原给 CD8<sup>+</sup> T 细胞,在抗原识别、免疫应答与调控中起重要的生物学作用。可靠的 HLA 基因频率数据是个体识别以及群体遗传学研究所必需的基本数据。

作者运用 PCR-SSP 技术对重庆地区 201 名个体的 HLA-A、B 基因多态性进行分析,统计其 HLA-A、B 单倍型出现频率的情况,分析其连锁的相关性。HLA 多态性不仅表现在不同地区、不同种族的 HLA 基因频率分布有较大差异,还表现在单倍型方面具有显著连锁不平衡的特点<sup>[10]</sup>。重庆地区人群 HLA-A、B 双位点的单倍型频率和连锁不平衡有其自身的特点:出现频率最高的 HLA-A-B 单倍型是 HLA-A \* 02-B \* 46、HLA-A \* 11-B \* 40、HLA-A \* 30-B \* 13、HLA-A \* 24-B \* 46 和 HLA-A \* 11-B \* 13,提示如果需要造血干细胞移植的患者携有这些单体型,将很容易从非血缘关系供者库中检索到 HLA 相合的供者。HLA 基因间的这种连锁不平衡关系对于 HLA 与疾病关联研究中的结果分析非常重要,是 HLA 相关研究和应用的重要背景知识。

重庆分库的单倍型频率和连锁不平衡具有介于南北汉族群体之间独有的遗传特征。重庆曾作为陪都,抗战时期有大量的江浙沪人群进入,这也在一定程度上说明了重庆地区人群的

遗传特征也有关调查<sup>[11-12]</sup>有相似之处的原因,单倍型的这些特点也佐证了 HLA 在重庆分库人群的复杂性和多样性。通过对单体型的研究,可以从一个侧面分析不同人群 HLA 单体型分布情况,为群体遗传、人类学民族演变、疾病关联和法医学亲子鉴定研究提供一些基础资料,同时也可以为患者寻找健康的、相配的造血干细胞提供信息。为建立造血干细胞移植配型标准提供有力的支持。

参考文献:

- [1] 曹孟德,秦东春,孙含笑. HLA 分子生物学及临床应用 [M]. 郑州:河南医科大学出版社,1998,36.
- [2] 罗军敏,孙万邦,黄学贵,等. 遵义地区汉族 HLA-A、B 多态性研究[J]. 遵义医学院学报,2008,31(2):109.
- [3] Shankarkumar U, Sridharan B, Pitchappan RM. HLA diversity among Nadars, a primitive Dravidian caste of south India[J]. Tissue Antigens,2003,62(6):542.
- [4] Ivanova M, Rozemuller E, Tyufekchiev N, et al. HLA polymorphism in Bulgarians defined by high resolution typing methods in comparison with other populations [J]. Tissue Antigens,2002,60(6):496.
- [5] Schipper RF, Oudshoorn M, D' Amaro J, et al. Validation of larger data sets, an essential prerequisite for data analysis: An analytical survey of the bone marrow donors worldwide[J]. Tissue Antigens,1996,47(3):169.
- [6] Lee J. The HLA system: A new approach [M]. New York:Springer Verlag,1990:141.
- [7] Müller CR, Ehninger G, Goldmann SF. Gene and haplotype frequencies for the loci HLA2 A, HLA2 B, and HLA2 DR based on over 13 000 German blood donors [J]. Hum Immunol,2003,64(1):137.
- [8] Mungall AJ, Palmer SA, Sims SK, et al. The DNA sequence and analysis of human chromosome [J]. Nature, 2003,425(6960):805.
- [9] Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, et al. Nomenclature for factors of the HLA system [J]. Tissue Antigens, 2005,65(3):301.
- [10] 张工梁,杨颖. 中华(上海)骨髓库的 HLA 分布报告[J]. 中华器官移植杂志,2001,5(3):179.
- [11] 冯明亮,季芸,陆琼,等. 江浙沪地区汉族人群 HLA 单体型研究[J]. 遗传学报,2003,30(6):584.
- [12] 冯明亮,陆琼,马俊,等. 中华(上海)骨髓库北方人群 HLA 多态性调查[J]. 上海免疫学杂志,2002,22(4):263.

(收稿日期:2010-01-28)

(上接第 1178 页)

最新研究表明,牙周组织中存在牙周韧带干细胞(PDLSC)。该细胞除了表达间充质干细胞的标记 STRO-1 和 MUC18 外,还表达特异性的肌腱标记,具有分化为成牙骨质细胞、脂肪细胞和成纤维细胞的能力,植入免疫缺陷鼠中可形成牙周韧带样结缔组织,且沿着该组织可见牙髓样结构。目前,牙周组织工

程研究尚处于初级阶段,在种子细胞来源、异体种子细胞免疫原性等方面尚需进一步研究。牙周组织工程为牙周组织的修复和重建带来新的生机。随着现代科学技术水平的不断提高,可望实现牙周组织再生,攻克牙周病治疗的难题。

(收稿日期:2009-12-25)