

· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2020.05.034

网络首发 [http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200205.1027.002.html\(2020-02-05\)](http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20200205.1027.002.html(2020-02-05))

HLA 基因与复发性流产相关性的研究进展*

王惠莹¹综述,张若鹏^{2,3△}审校

(1. 大理大学临床医学院,云南大理 671000;2. 大理大学第一附属医院生殖医学科,云南大理 671000;
3. 大理大学生殖医学研究所,云南大理 671000)

[摘要] 复发性流产(RSA)是指连续2次或超过2次的自然流产,其病因尚不明确。大量研究指出,人类白细胞抗原(HLA)多个基因位点与RSA关系密切,如HLA-A、HLA-G、HLA-DQ、HLA-DP等,尤其是HLA-DQ及HLA-DP在RSA患者中常呈现出高表达,现就该研究领域的进展进行综述。

[关键词] 人类白细胞抗原基因;多态性;复发性流产;进展

[中图分类号] R714.21 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2020)05-0842-04

Study advance on correlation between human leukocyte antigen gene and recurrent spontaneous abortion*

WANG Huiying¹, ZHANG Ruopeng^{2,3△}

(1. Clinical Medical College of Dali University, Dali, Yunnan 671000, China;
2. Department of Reproductive Medicine, Affiliated Hospital of Dali University, Dali, Yunnan 671000, China;
3. Institute of Reproductive Medicine, Dali University, Dali, Yunnan 671000, China)

[Abstract] Recurrent spontaneous abortion (RSA) is a kind of spontaneous abortion, indicating more than two consecutive times. The etiology of RSA is not clear. A large number of studies have pointed out that many human leukocyte antigen (HLA) gene loci are closely related to RSA, such as HLA-A, HLA-G, HLA-DQ and HLA-DP. In particular, HLA-DQ and HLA-DP are highly expressed in RSA patients. This article reviews the study progress in this field.

[Key words] HLA gene; polymorphism; RSA; progress

复发性流产(recurrent spontaneous abortion, RSA)的病因至今不明确,多项研究指出RSA与遗传因素、解剖学因素、感染因素及免疫因素等有关。染色体异常因素在RSA病因中占较大比重,染色体异常又分为夫妻双方染色体异常和胎儿染色体异常。HASSOLD等^[1]通过分析1000例RSA夫妇及胎儿组织的染色体核型证实RSA夫妇染色体异常率及人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)共有数大于正常生育夫妇,胚胎丢失可能由于女方体内缺乏保护胎儿生长的封闭抗体。解剖学因素包括子宫内膜厚度及类型、子宫肌瘤、子宫中隔、子宫腺肌病、子宫内膜息肉等,都会影响胚胎着床引发流产,其中当子宫肌瘤位于黏膜下或肌壁间造成宫腔形态异常时,则会明显降低体外受精(IVF)的种植率、妊娠率、分娩率^[2],育龄期妇女感染风疹病毒及巨细胞病毒等

若不及处理,往往会发生RSA^[3]。免疫因素导致的RSA一直是近年的研究热点,其中包括多种自身免疫性抗体(磷脂抗体、甲状腺抗体等)、封闭抗体(如HLA-D/DR抗体)、细胞因子、HLA、血型抗原、细胞生长因子与细胞黏附分子等^[4]。其中HLA更是广受关注,人类最早认识HLA是在发热性输血反应的患者血清中检测出HLA抗体,后来这类抗体也在多次妊娠妇女的血清中检出。HLA位点具有高度多态性,在激活适应性免疫反应中扮演重要角色^[5],同时也是异体移植排斥反应中抗体和细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的靶标^[6]。有研究指出反复发生胎儿丢失的夫妇HLA共享增加,抗原共享仅仅是共享HLA-linked遗传缺陷的标志,HLA-linked遗传缺陷可以是隐性致死基因,也可以是正常生长发育所必需的基因缺失,这些基因结合在胚胎中

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81860271,81760269);云南省地方本科高校基础研究联合专项项目(2017FH001-078);大理大学生殖医学创新团队项目(ZKLX2019320)。 作者简介:王惠莹(1994-),硕士在读,主要从事临床检验诊断学专业辅助生殖实验室技术方面的研究。

△ 通信作者, E-mail: zrp263000@163.com。

导致其死亡^[7-9]。

1 HLA 的定义与结构

HLA 首先在人外周血白细胞表面被发现,由此得名,是由 HLA 基因复合体所编码的产物,它分布于所有有核细胞表面,参与免疫识别与免疫应答。

HLA 基因复合体的 DNA 片段全长 3 600 kb,约占人类基因组的 1/3 000^[10-11],主要分为 I、II、III 类区域, I 类基因区位于染色体顶端, II 类基因区靠近着丝粒一侧, III 类基因区位于二者中间^[12], HLA 基因复合体编码产物即 HLA 抗原。本质上, HLA 抗原作为一种糖蛋白,其分子结构与免疫球蛋白有相同之处,因而 HLA 具备保卫功能并参与免疫防御机制,近几年 HLA-II 类基因区有更多的基因位点被检测出与免疫密切相关,因此成为研究疾病发病机制的热点。

2 HLA-I 类基因与 RSA 的相关性研究

HLA-I 类基因区包括经典和非经典 HLA-I 类基因,前者由 HLA-A、B、C 3 个基因位组成,后者包含 HLA-E、F、G、H 及 MHC-I 类相关基因, HLA-I 类基因的编码产物称为 HLA-I 类分子,在羊膜和滋养层细胞表面、卵巢癌、乳腺癌中高表达,在母胎耐受中扮演重要角色^[13]。

2.1 经典 HLA-I 类基因与 RSA 的相关研究

经典 HLA-I 类基因主要参与内源性抗原提呈和免疫调控。I 类抗原表达于侵入性滋养层并在母胎界面扮演重要角色,妊娠期胎儿绒毛间质中 HLA-C 的 mRNA 和蛋白表达水平显著升高,胎盘部位的自然杀伤细胞(natural killer cells, NK)表达免疫球蛋白样受体(KIR),能与滋养层细胞上的 HLA-C 分子结合, HIBY 等^[14]采用 PCR-SSP 方法对 3 次或 3 次以上自发性流产夫妇(男 567 例和女 595 例)进行了 HLA-C 组和 11 个 KIR 基因的基因分型,研究发现, KIR2DS1 是 HLA-C2 群的激活受体,单倍型 KIR2DS1 对 RSA 可能具有保护作用,因为这种基因在 RSA 女性中的缺失是非常显著的^[14]。此外,有研究指出再次自然流产的夫妇中的 HLA 共享大于健康夫妇,主要是共享 HLA-A、B、DR、DQ 抗原当中的 2 个或 3 个^[15]。

2.2 非经典 I 类基因与 RSA 的相关研究

有研究指出,妊娠期胎儿绒毛间质中 HLA-F mRNA 和蛋白表达水平均显著升高,积极迁移的绒毛外滋养层(extravillous trophoblast, EVT)细胞表面 HLA-F 和 HLA-G 的表达支持其在 EVT 早期侵袭和与子宫 NK 相互作用中的特异性作用^[16]。其中 HLA-G 介导母体免疫细胞和侵入子宫壁的胎儿滋养层之间适当的相互作用,从而确保胎盘发育和功能正常。已经证实几种 HLA-G 基因变异与子痫前期的发生有关,但是 HLA-G 14 碱基对插入/缺失(I/D)多态性与子痫前期的相关性不一致^[17]。妊娠期间在母体

血浆和/或血清中观察到循环可溶性人类白细胞抗原 G(sHLA-G)的水平相对较高,与妊娠成功组相比,早期妊娠丢失组妊娠早期的 sHLA-G 显著降低,并且 sHLA-G 降低的水平与体外受精植入率低有关。HLA-G 基因型能独立地影响伊拉克妇女妊娠早期 sHLA-G 的循环水平^[18]。ALIZADEH 等^[19]通过 PCR-RFLP 方法研究发现, RSA 患者胎盘组织中 HLA-G 相对于正常分娩者表达降低, HLA-G * 0105N 等位基因表达的频率较高,认为 RSA 患者与该等位基因突变频率之间存在显著相关性。1 项关于白种人的荟萃分析提示 HLA-G 14 bp 插入等位基因可能增加反复植入失败的风险^[20]。

3 HLA-II 类基因与 RSA 的相关性研究

HLA-II 类基因区长约 1 000 kb,由经典 HLA-II 类基因和抗原加工相关基因两部分组成,经典 HLA-II 类基因主要由 HLA-DQ、DR 和 DP 3 个亚区构成,具有高度多态性,主要免疫学功能是结合和提呈外源性抗原肽参与免疫调控。此外, HLA-II 类基因在免疫因素引起的 RSA 患者中常呈现高表达。

3.1 经典 HLA-II 类基因与 RSA 的相关研究

KRUSE 等^[21]采用聚合酶链反应-序列特异性引物(PCR-SSP)法对 354 例不明原因流产患者进行基因分型, HLA-DQA1 * 05、HLA-DQB1 * 0302 在患者中的表达频率增加, HLA-DRB1 * 03 在患者中的表达频率显著高于对照组,在至少有 4 次流产或继发性 RSA 患者中这种频率变得更高。HLA-DRB1 * 03 等位基因表达上调极有可能增加 RSA 的易感性, HLADRB1 * 10 或相关 HLA-DQ 等位基因是 RSA 的危险因素,但是在 1 个基因型中同时出现 HLA-DQB1 * 0501 与 HLA-DRB1 * 03 患 RSA 的风险是否比出现单一 HLADRB1 * 03 高,目前还没有明确的研究证实这一点。SIPAK-SZMIGIEL 等^[22]用 PCR-SSP 在早期妊娠丢失的妇女中发现显著增加的妊娠失败风险与等位基因 HLA-DQA、HLA-DQB5 的频率有关,其中患者的最高风险系数与等位基因 HLA-DQA 01101/0105 和 HLA-DQB5 相关,最低风险系数与等位基因 HLA-DQB6、HLA-DQ 0302/0303 等位基因相关。

3.2 非经典 HLA-II 类基因与 RSA 的相关研究

抗原加工相关转运体(transporter associated with antigen processing, TAP)包括 TAP1 和 TAP2 2 个基因位,均是由 1 条 α 链和 1 条 β 链组成的异二聚体,定位于细胞特定区域,负责筛选由蛋白酶体水解生成的内源性抗原肽片段,抗原肽与 HLA 结合后被免疫细胞识别,继而引发免疫反应。TAP1 和 TAP2 参与 MHC-I 类抗原介导的处理和细胞毒性 CD8⁺ T 淋巴细胞的表达,因此 TAP 也参与很多自身免疫疾病,如急性细胞排斥反应^[23],而细胞排斥和母胎耐受

密切相关。TAP 基因突变以及调节机制的紊乱均能影响其活性和表达, TAP 活性降低或表达下调可能会导致病毒性感染的发生, 如研究发现单纯疱疹病毒(HSV), 人类巨细胞病毒(HCAV)等可通过抑制 TAP 介导的肽段从胞质溶胶进入内质网腔, 从而干扰抗原的处理与递呈^[24]。HSV、HCAV 等均与 RSA 密切相关, TAP 基因多态性可能增加个体对 RSA 的易感性。外源性抗原与 HLA-Ⅱ类分子结合供 CD4⁺ T 细胞识别, 调节性 T 细胞(Treg)和辅助性 T17 细胞(Th17)是 CD4⁺ T 细胞的两个不同亚群。最近有研究指出上述 2 个亚群的失调参与 RSA 的发病机制, Treg 数量对于维持胎儿-母胎耐受性起到至关重要的作用。ZHU 等^[25]通过对乌萨克 RSA 患者的研究发现通过阻断 IL-6 来调节 Treg/Th17 细胞的平衡可作为治疗 RSA 的 1 个新靶点。

4 HLA-Ⅲ类基因与 RSA 的相关性研究

姚婷等^[26]运用蛋白质组学高效液相色谱/串联质谱联用技术(LC-MS/MS)对 10 例胎儿染色体正常早期胚胎停育患者绒毛组织蛋白质谱进行检测, 得出 C3、C4A、C4B 表达上调, 这些因子参与补体系统的激活。一定程度的补体激活有助于促进炎症细胞的趋化, 是维持宿主防御和胎儿生存的必要条件。持续性巨细胞病毒感染可以导致促炎细胞因子水平明显升高, 过度或不当的补体激活使大量炎症细胞聚集至胚胎组织, 可能会诱发不良妊娠结局, 如早期自然流产、RSA、胎儿生长受限等, 尤其是在遗传性或获得性补体系统紊乱或补体基因突变的女性中更为常见^[27]。

有研究指出, 磷脂抗体阳性孕妇血清中补体 C3、C4 的水平均显著低于磷脂抗体阴性组, 磷脂抗体可通过调节补体系统的级联反应, 激活机体的炎症反应, 使得机体释放大量的炎症细胞因子(比如 IL-6、IL-8 等)损伤组织, 引发自身免疫疾病^[28]。孕早期心磷脂抗体阳性者还可干扰羊膜的生长发育, 容易引起胚胎停育及 RSA^[29]。IL-1 β 是最重要的炎症细胞因子之一, 参与并介导炎症的重要过程, 其表达与维持妊娠正常进行密切相关, 有助于母体胎盘之间的免疫耐受, 并且已有研究证实 IL-1 β 表达降低和妇女的习惯性流产相关^[30]。免疫炎症反应在孕妇妊娠期间发挥重要的免疫杀伤或免疫保护功能, 其中 TNF-d、IL-18 对母体接受受精卵着床发挥抑制作用; IL-6、IL-8 可以保护受精卵免遭排斥正常着床发育。

5 小 结

目前人们从易感基因、免疫炎症因子、分子生物学水平对 RSA 进行了大量的研究, 其中免疫学因素在 RSA 中所起到的重要作用及其对 RSA 诊断和治疗的指导意义不容忽视。探究 HLA 基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点多态性与 RSA 的关联性, 揭示 RSA 可能的发病机制, 为研

究 IVF 患者妊娠结局的影响因素开辟了新思路, 为预测 IVF 成功率提供了新方向。目前关于 HLA 与 RSA 相关性的研究主要偏向于经典Ⅱ类基因——HLA-DQ、HLA-DR, 国内对于 SNP 位点相关的研究相对较少, 对于 RSA 尤其是不明原因的 RSA 仍需进一步深入探讨。

参考文献

- [1] HASSOLD T, CHEN N, FUNKHOUSER J, et al. A cytogenetic study of 1 000 spontaneous abortions[J]. *Ann Hum Gene*, 1980, 44(2):151-164.
- [2] MONTE G L, PIVA I, GRAZIANO A, et al. Ulipristal acetate prior to in vitro fertilization in a female patient affected by uterine fibroids: a case report[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(2):202-207.
- [3] 张世勇, 王洋, 陶永梅, 等. 育龄妇女弓形虫、风疹病毒和巨细胞病毒感染现状及其与不良妊娠结局的相关性研究[J]. *检验医学与临床*, 2015, 12(5):594-596.
- [4] 刘佩玲, 赵金霞, 刘湘源. 细胞因子与复发性流产的相关性研究进展[J]. *中国计划生育和妇产科*, 2017, 9(10):16-20.
- [5] BRONSON P G, MACK S J, ERLICH H A, et al. A sequence-based approach demonstrates that balancing selection in classical human leukocyte antigen (HLA) loci is asymmetric[J]. *Hum Mol Genet*, 2013, 22(2):252-261.
- [6] ALTHAF M M, KOSSI M E, JIN J K, et al. Human leukocyte antigen typing and crossmatch: a comprehensive review [J]. *World J Transplant*, 2017, 7(6):339-348.
- [7] THOMAS J G. The borderland of embryogenesis and carcinogenesis. Major histocompatibility complex-linked genes affecting development and their possible relationship to the development of cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1984, 738(3):93-102.
- [8] REZNIKOFF-ETIEVANT M F, BONNEAU J C, ALCALAY D, et al. HLA antigen-sharing in couples with repeated spontaneous abortions and the birthweight of babies in successful pregnancies[J]. *Am J Rep Immunol*, 1991, 25(1):25-27.
- [9] GILL T J G, SIEW S, KUNZ H W. Major histocompatibility complex (MHC)-linked genes affecting development[J]. *J Exp Zool*, 1983, 228

- (2):325-345.
- [10] DULBERGER C L, MCMURTREY C P, HOLZEMER A, et al. Human leukocyte antigen f presents peptides and regulates immunity through interactions with nk cell receptors[J]. *Immunity*, 2017, 46(6):1018-1029.
- [11] NIKBIN B, NICKNAM M H, HADINEDOUSHAN H, et al. Human leukocyte antigen (hla) class I and II polymorphism in iranian healthy population from yazd province[J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2017, 16(1):1-13.
- [12] 刘越, 米佳, 黄耀江. 人类白细胞抗原基因研究进展[J]. *生物学教学*, 2007, 32(11):2-4.
- [13] THELLIN O, COUMANS B, ZORZI W, et al. Tolerance to the foeto-placental graft: ten ways to support a child for nine months[J]. *Curr Opin Immuno*, 2000, 12(6):731-737.
- [14] HIBY S E, REGAN L, LO W, et al. Association of maternal killer-cell immunoglobulin-like receptors and parental HLA-C genotypes with recurrent miscarriage[J]. *Hum Reprod*, 2008, 23(4):972-976.
- [15] HO H N, GILL T J, NSIEH R P, et al. Sharing of human leukocyte antigens in primary and secondary recurrent spontaneous abortions[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1990, 163(1):178-188.
- [16] HACKMON R, PINNADUWAGE L, ZHANG J, et al. Definitive class I human leukocyte antigen expression in gestational placentation: HLA-F, HLA-E, HLA-C, and HLA-G in extravillous trophoblast invasion on placentation, pregnancy, and parturition[J]. *Am J Reprod Immunol*, 2017, 77(6):e12643.
- [17] PABALAN N, JARJANAZI H, SUN C, et al. Meta-analysis of the human leukocyte antigen-G (HLA-G) 14 bp insertion/deletion polymorphism as a risk factor for preeclampsia[J]. *Tissue Antigens*, 2015, 86(3):186-194.
- [18] PFEIFFER K A, FIMMERS R, ENGELS G, et al. The HLA-G genotype is potentially associated with idiopathic recurrent spontaneous abortion[J]. *Mol Hum Reprod*, 2001, 7(4):373-378.
- [19] ALIZADEH N, MOSAFERI E, FARZADI L, et al. Frequency of null allele of human leukocyte antigen-G (HLA-G) locus in subjects to recurrent miscarriage [J]. *Int J Reprod Biomed*, 2016, 14(7):459-464.
- [20] FAN W, HUANG Z, LI S, et al. The HLA-G 14-bp polymorphism and recurrent implantation failure: a meta-analysis[J]. *J Assis Reprod Gene*, 2017, 34(11):1559-1565.
- [21] KRUSE C. A study of HLA-DR and-DQ alleles in 588 patients and 562 controls confirms that HLA-DRB1 * 03 is associated with recurrent miscarriage[J]. *Hum Reprod*, 2004, 19(5):1215-1221.
- [22] SIPAK-SZMIGIEL O, RONIN-WALKNOWSKA E, ANDRZEJ MIKŁASZEWIC Z, et al. Association between HLA-DQA1, HLA-DQB1 alleles and risk of early pregnancy loss [J]. *Ginekologia Polska*, 2007, 78(10):792-795.
- [23] KAMEI H, MASUDA S, NAKAMURA T, et al. Association of transporter associated with antigen processing (TAP) gene polymorphisms in donors with acute cellular rejection in living donor liver transplantation[J]. *J Gastrointestinal Liver Dis*, 2013, 22(2):167-171.
- [24] 王兰, 刘玉. 抗原处理相关转运体结构与功能的研究进展[J]. *国外医学免疫学分册*, 2003, 26(4):172-175.
- [25] ZHU L, CHEN H, LIU M, et al. Treg/Th17 cell imbalance and il-6 profile in patients with unexplained recurrent spontaneous abortion[J]. *Reprod Sci*, 2016, 24(6):882-890.
- [26] 姚婷, 刘国忠. 早期胚胎停育绒毛组织的蛋白质组学分析[J]. *国际生殖健康/计划生育杂志*, 2017, 36(3):251-255.
- [27] GRUMACH A S, KIRSCHFINK M. Are complement deficiencies really rare? Overview on prevalence, clinical importance and modern diagnostic approach[J]. *Molecul Immunol*, 2014, 61(2):110-117.
- [28] HOTH J J, WELLS J D, JONES S E, et al. Complement mediates a primed inflammatory response after traumatic lung injury[J]. *J Trau Acute Care Surg*, 2014, 76(3):601-609.
- [29] GHARAVI A E, PIERANGELI S S, LEVY R A, et al. Mechanisms of pregnancy loss in antiphospholipid syndrome[J]. *Clin Obst Gynecol*, 2001, 44(1):11-19.
- [30] WOLFF V M. Regulated expression of cytokines in human endometrium throughout the menstrual cycle: dysregulation in habitual abortion[J]. *Molecul Hum Reprod*, 2000, 6(7):627-634.