

## 论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.02.011

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201229.1559.013.html\(2020-12-30\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20201229.1559.013.html(2020-12-30))

## 汉族健康妊娠妇女 HLA-G 3'UTR 基因多态性及单倍型的分布特征\*

白微<sup>1</sup>,叶瑾<sup>1</sup>,奚经巧<sup>1,2</sup>,林枝<sup>1</sup>,蔡文品<sup>1,2△</sup>

(浙江中医药大学附属温州中医院:1. 检验科;2. 中医药科研实验中心,浙江温州 325000)

**[摘要]** **目的** 分析人类白细胞抗原 G 3'非翻译区(HLA-G 3'UTR)基因多态性及单倍型在本地区汉族正常妊娠妇女中的分布特点。**方法** 选取该院 2017 年 10 月至 2018 年 10 月产前检查的汉族健康妊娠妇女 168 例,采集外周血标本,提取全血 DNA,利用 PCR 法扩增 HLA-G 3'UTR 基因,Sanger 测序法检测基因序列,并进行多态性位点基因分型。**结果** 共检测到 HLA-G 3'UTR 基因 8 个多态性位点(14 bp ins/del,+3003C/T,+3010G/C,+3027C/A,+3035C/T,+3142C/G,+3187A/G,+3196C/G),均符合 Hardy-Weinberg 平衡检验( $P>0.05$ )。等位基因以 14 bp del,+3003T,+3010G,+3027C,+3035C,+3142C,+3187G,+3196C 为主,基因型以 14 bp del/del,+3003TT,+3010GC,+3027CC,+3035CC,+3142CG,+3187AG,+3196CC 为主。连锁不平衡分析显示 8 个位点紧密连锁,UTR-1(DTG CCC GC)、UTR-3(DTC CCG AC)、UTR-7(ITC ATG AC)频率大于 0.03,三者共占 94.3%,其中 UTR-1 占 55.0%。**结论** 温州地区健康妊娠妇女 HLA-G 3'UTR 检测到 8 个多态性位点,且 8 个位点紧密连锁,构建的单倍型 UTR-1(DTG CCC GC)是该地区妊娠妇女人群 HLA-G 3'UTR 主要的单倍型。

**[关键词]** 孕妇;HLA 抗原;3'非翻译区;多态性,单核苷酸;单倍型;温州;汉族**[中图法分类号]** R714**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)02-0229-05

## Distribution characteristics of HLA-G 3'UTR gene polymorphism and haplotype in Han healthy pregnant women\*

BAI Wei<sup>1</sup>,YE Jin<sup>1</sup>,XI Jingqiao<sup>1,2</sup>,LIN Zhi<sup>1</sup>,CAI Wenpin<sup>1,2△</sup>

(1. Department of Clinical Laboratory;2. Research and Experiment Center of

Traditional Chinese Medicine,Wenzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University,Wenzhou,Zhejiang 325000,China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the distribution of human leukocyte antigen-G 3' untranslated region (HLA-G 3'UTR) polymorphism and haplotype in Han healthy pregnant women in this area. **Methods** A total of 168 Han healthy pregnant women were selected from October 2017 to October 2018 in this hospital. The peripheral blood samples were collected and the whole blood DNA was extracted. The HLA-G 3'UTR gene was amplified by PCR. The gene sequence was detected by Sanger sequencing, and the polymorphic loci were genotyped. **Results** 8 polymorphic loci of HLA-G 3'UTR gene (14bp ins/del,+3003C/T,+3010G/C,+3027C/A,+3035C/T,+3142C/G,+3187A/G and +3196C/G) were detected. They were all in accord with Hardy-Weinberg equilibrium ( $P>0.05$ ). 14bp del,+3003T,+3010G,+3027C,+3035C,+3142C,+3187G,+3196C were the main alleles, and 14bp del/del,+3003TT,+3010GC,+3027CC,+3035CC,+3142CG,+3187AG,+3196CC were the main genotypes. Linkage disequilibrium analysis showed that 8 loci were closely linked. The frequencies of UTR-1 (DTG CCC GC),UTR-3 (DTC CCG AC),UTR-7 (ITC ATG AC) were greater than 0.03,accounting for 94.3% of the total,in which UTR-1 accounted for 55.0%. **Conclusion** Eight polymorphic loci of HLA-G 3'UTR gene were found in Han healthy pregnant women in this area,which were closely linked. The constructed haplotype UTR-1 (DTG CCC GC) was the main haplotype of HLA-G 3'UTR in pregnant

\* 基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2019RC278);温州市医药卫生科研项目(2017A04)。 作者简介:白微(1987-),主管技师,本科,主要从事病理妊娠及分子生物学检验研究。 △ 通信作者,E-mail:cwp1820@163.com。

women in this area.

**[Key words]** pregnant women; HLA antigens; 3' untranslated regions; polymorphism, single nucleotide; haplotypes; Wenzhou; Han nationality

人类白细胞抗原 G(human leukocyte antigen-G, HLA-G)位于人类第 6 号染色体短臂上,是一群紧密连锁基因群,属于人类非经典的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 类分子。HLA-G 包括编码区和非编码区(untranslated region, UTR), HLA-G 3'UTR 富含 AU 的基序,聚腺苷酸信号和微 RNA(microRNA, miRNA)结合位点,不同于编码区的低多态性,UTR 呈现出高度的多态性。HLA-G 3'UTR 的基因多态性与 HLA-G 表达的转录后调控有关,该区域约有 30 个多态性位点<sup>[1]</sup>,研究最多的是 14 bp 插入/缺失,与 HLA-G mRNA 的稳定性有关<sup>[2]</sup>。其他的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点还有 +3003C/T, +3010G/C, +3027C/A, +3035C/T, +3142C/G, +3187A/G, +3196C/G 等,被证实与 mRNA 降解和 miRNA 结合有关<sup>[2]</sup>。正常生理条件下,HLA-G 分子仅在母胎界面的绒毛外滋养层细胞、胸腺、胰岛及间充质干细胞等少数免疫豁免组织表达<sup>[3]</sup>。HLA-G 特异性高表达于绒毛外滋养层细胞,参与母胎界面免疫耐受的诱导和维持<sup>[4]</sup>,许多研究表明 HLA-G 基因多态性与复发性流产、先兆子痫等病理妊娠有较大相关性<sup>[3]</sup>。HLA-G 3'UTR 基因多态性与妊娠相关的研究多集中在 14 bp 插入/缺失,其他位点的研究甚少,且有研究表明不同地区不同种族人群 HLA-G 3'UTR 基因多态性存在异质性<sup>[5]</sup>。因此,本研究分析了本地区 HLA-G 3'UTR 多个位点在健康妊娠妇女中的分布特点,为本地区健康妊娠妇女 HLA-G 3'UTR 基因多态性的分布提供试验数据,为后续妊娠相关疾病的研究打下基础。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2017 年 10 月至 2018 年 10 月本院产前检查妇女 168 例,年龄 18~41 岁,平均(27.1±4.3)岁,均为汉族,无高血压、糖尿病、肾脏疾病等基础疾病,无糖尿病、高血压等妊娠期并发症。所有孕妇均签署知情同意书,本研究获得本院伦理委员会批准(批准号:WTCM-H-2017035)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 样品采集与处理

平静状态下选取合适的肘静脉,用美国 BD 公司生产的采血管采集乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K<sub>2</sub>)抗凝全血 2~3 mL, -80 °C 保存,用于血液全基因 DNA 提取。

#### 1.2.2 外周血液全基因 DNA 提取

采用天根生化科技(北京)有限公司生产的全基

因组 DNA 提取试剂盒提取血液全基因 DNA,所有操作步骤严格按照试剂盒说明书进行。用 NanoDrop One 核酸浓度分析仪测定提取的 DNA 浓度和纯度。

#### 1.2.3 HLA-G 3'UTR 基因 PCR 扩增

利用 Primer Premier 5.0 软件进行 PCR 引物设计,引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,引物序列 HLA-G-3'UTR 正向:5'-GTG GGT TGT TGA GGG-3'; HLA-G-3'UTR 反向:5'-GTC TTC CAT TTT TGT CTC T-3',扩增产物 500 bp。根据 PCR 试剂说明书调整扩增条件,采用 25 μL 体系 Taq MasterMix 13 μL,正向引物(10 μmol/L)1 μL,反向引物(10 μmol/L)1 μL, DNA 模板 2 μL,双蒸水(ddH<sub>2</sub>O)8 μL。PCR 反应程序:94 °C 预变性 4 min, 94 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 60 s, 72 °C 长延伸 10 min,步骤变性-步骤延伸进行 35 个循环。

#### 1.2.4 PCR 扩增产物电泳

配制 1.5% 琼脂糖(上海 Sigma-Aldrich 西格玛奥德里奇贸易有限公司)凝胶, Goldview 染色(北京索莱宝科技有限公司),将 PCR 扩增产物上样,120 V 恒压电泳 15 min,凝胶成像仪拍照记录。检测扩增产物,500 bp 处出现亮带表明扩增成功,进行下一步测序。

#### 1.2.5 Sanger 测序

将 PCR 扩增产物送至杭州擎科生物技术有限公司进行 Sanger 测序,测得的序列利用 CodonCode Aligner 软件比对分析,确定基因型。

## 1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行 Hardy-Weinberg (H-W) 平衡检验,  $P > 0.05$  表示处于 H-W 平衡; SHEsis 在线软件直接统计基因型和等位基因频率,进行连锁不平衡分析和单倍型分析。

## 2 结果

### 2.1 H-W 平衡检验

HLA-G 3'UTR 8 个多态性位点 H-W 平衡检验结果见表 1,结果显示,14 bp ins/del, +3003C/T, +3010G/C, +3027C/A, +3035C/T, +3142C/G, +3187A/G, +3196C/G 8 个位点的分布均符合 H-W 平衡( $P > 0.05$ ),该人群处于 H-W 平衡状态,样本具有本区域群体代表性。

### 2.2 HLA-G 3'UTR 基因型与等位基因频率分布

8 个多态性位点基因型和等位基因频率分布见表 2,结果显示,14 bp ins/del 位点以 del 等位基因和 del/del 基因型为主,占比分别为 81.0% 和 65.5%; +3003C/T 位点 T 等位基因和 TT 基因型占大多数,占比分别为 99.4% 和 98.8%,未发现 CC 基因型; +3010G/C 位点以 G 等位基因和 GC 基因型为主,占

比分别为 56.8% 和 47.0%；+3027C/A 位点以 C 等位基因和 CC 基因型为主，占比分别为 82.7% 和 68.4%；相似地，+3035C/T 位点以 C 等位基因和 CC 基因型为主，占比分别为 82.1% 和 67.3%；+3142C/G 位点以 C 等位基因和 CG 基因型为主，占比分别为 59.2% 和 51.8%；+3187A/G 位点以 G 等位基因和 AG 基因型为主，占比分别为 56.0% 和 47.6%；+3196C/G 位点以 C 等位基因和 CC 基因型为主，占比分别为 99.7% 和 99.4%，未发现 GG 基因型。

表 1 HLA-G 3'UTR 基因多态性位点 H-W 平衡检验

基因型名称	$\chi^2$	P
14 bp ins/del	0.002 3	0.962 0
+3003C/T	0.006 0	0.938 1
+3010G/C	0.290 2	0.590 1
+3027C/A	0.001 0	0.997 4
+3035C/T	0.035 3	0.851 0
+3142C/G	0.876 3	0.349 2
+3187A/G	0.193 4	0.660 1
+3196C/G	0.001 5	0.969 1

表 2 HLA-G 3'UTR 基因多态性位点等位基因和基因型分布 (n=168)

SNP 名称	等位基因/基因型	n	频率(%)
14 bp ins/del rs371194629	等位基因	del	272 81.0
		ins	64 19.0
	基因型	del/del	110 65.5
		ins/del	52 31.0
		ins/ins	6 3.6
+3003C/T rs1707	等位基因	C	2 0.6
		T	334 99.4
	基因型	CC	0 0
		CT	2 1.2
		TT	166 98.8
+3010G/C rs1710	等位基因	G	191 56.8
		C	145 43.2
	基因型	GG	56 33.3
		GC	79 47.0
		CC	33 19.6
+3027C/A rs17179101	等位基因	C	278 82.7
		A	58 17.3
	基因型	CC	115 68.4
		CA	48 28.6
		AA	5 3.0
+3035C/T rs17179108	等位基因	C	276 82.1
		T	60 17.8
	基因型	CC	113 67.3
		CT	50 29.8
		TT	5 3.0

续表 2 HLA-G 3'UTR 基因多态性位点等位基因和基因型分布 (n=168)

SNP 名称	等位基因/基因型	n	频率(%)
+3142C/G rs1063320	等位基因	C	199 59.2
		G	137 40.8
	基因型	CC	56 33.3
		CG	87 51.8
		GG	25 14.9
+3187A/G rs9380142	等位基因	A	148 44.0
		G	188 56.0
	基因型	AA	34 20.2
		AG	80 47.6
		GG	54 32.1
+3196C/G rs1610696	等位基因	C	335 99.7
		G	1 0.3
	基因型	CC	167 99.4
		CG	1 0.6
		GG	0 0

2.3 HLA-G 3'UTR 基因多态性位点连锁不平衡及单倍型分析

8 个多态性位点的连锁不平衡分析应用 SHEsis 软件,用连锁不平衡系数  $D'$  进行检验分析, $D' > 0.7$  认为是强连锁,结果见图 1(数值表示百分数,越接近 1.0 表示两个位点连锁越紧密,颜色越深表示两个位点连锁越紧密)。结果显示,除 +3003C/T 与 14 bp ins/del、+3027C/A、+3035C/T 外,其他  $D'$  值均大于 0.7,认为这 8 个位点紧密连锁,可以构建单倍型。

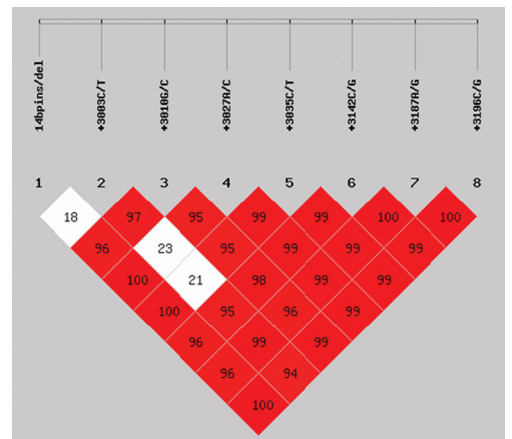


图 1 HLA-G 3'UTR 8 个基因多态性位点间的连锁不平衡分析情况

SHEsis 结果显示,8 个基因多态性位点可以构建 14 个单倍型,对常见的频率较高的 7 个单倍型进行统计,分别是 UTR-1 (DTG CCC GC)、UTR-2 (ITC CCG AG)、UTR-3 (DTC CCG AC)、UTR-4 (DCG CCC AC)、UTR-5 (ITC CTG AC)、UTR-6 (DTG CCC AC)、UTR-7 (ITC ATG AC),单倍型组成从左到右为 14 bp ins/del, + 3003C/T, + 3010G/C,

+3027C/A, +3035C/T, +3142C/G, +3187A/G, +3196C/G, 见表 3。UTR-1, UTR-3, UTR-7 频率大于 0.03, 三者共占 94.3% (317/336), 分别占 55.0%、23.8%、15.5%, 其中 UTR-1 超过半数以上。

表 3 HLA-G 3'UTR 多态性位点单倍型分析

单倍型	单倍型组成	n	频率(%)
UTR-1	DTGCCCGC	185	55.0 <sup>a</sup>
UTR-2	ITCCCGAG	2	0.6
UTR-3	DTC CCGAC	80	23.8 <sup>a</sup>
UTR-4	DCGCCAC	2	0.6
UTR-5	ITCCTGAC	1	0.3
UTR-6	DTGCCAC	3	0.9
UTR-7	ITCATGAC	52	15.5 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>: 频率大于 0.03 的单倍型。

### 3 讨论

HLA-G 基因位于人染色体 6p23.1, 全长 6.0 kb, 由 8 个外显子和 7 个内含子组成, 从部分 6 号外显子开始延伸至多聚 A 尾巴前端, 包括 7 号外显子、8 号外显子的区域被称为 3'UTR<sup>[6]</sup>。HLA-G 3'UTR 基因多态性调控了 HLA-G 的表达水平, 与多种临床疾病有关, 从对妊娠期 HLA-G 的研究开始, 该领域就关注了 HLA-G 在恶性和炎症性疾病中的表达及其可能的重要性, 以及在心脏和肝/肾器官移植中的应用。HLA-G 选择性高表达于绒毛外滋养细胞, 促进母胎界面免疫耐受状态的维持<sup>[7]</sup>。HLA-G 3'UTR 参与稳定转录本, 影响 mRNA 的翻译水平和分子表达, 改变疾病的遗传易感性<sup>[8-10]</sup>。有报道显示, HLA-G 与复发性流产、先兆子痫等病理妊娠有较大相关性<sup>[11-12]</sup>, 但多项研究结果具有一定争议性, 这可能是由于基因多态性与种族、地区、环境有关。因此, 调查本地区的 HLA-G 3'UTR 位点基因多态性分布特点, 分析基因多态性位点之间的连锁不平衡和单倍型具有一定必要性。

本研究通过检测分析温州地区汉族健康妊娠妇女 HLA-G 3'UTR 8 个基因多态性位点: 14 bp ins/del, +3003C/T, +3010G/C, +3027C/A, +3035C/T, +3142C/G, +3187A/G, +3196C/G, 发现 8 个基因多态性位点具有各自的分布特征, 以纯合子基因型为主的位点如 14 bp ins/del, +3027C/A, +3035C/T, 以杂合子基因型为主的位点如 +3010G/C, +3142C/G, +3187A/G; 而 +3003C/T, +3196C/G 未检测到 CC 和 GG 基因型。SNPs 在人类基因组中广泛存在, 占有已知基因多态性的 90% 以上, 具有稳定遗传的特点。某些 SNPs 虽然与疾病无关, 但是因为与致病基因相邻或者多个 SNPs 的联合效应对疾病产生重要影响。近年来, 越来越多的研究关注了联合检测 SNPs 构建单倍型对疾病的影响。本研究连锁

不平衡分析发现, 8 个基因多态性位点紧密连锁, 在对常见的 8 个单倍型统计分析发现温州地区妊娠妇女单倍型的分布特征, UTR-1、UTR-3、UTR-7 单倍型频率大于 0.03, 三者共占 94.3%, 其中 UTR-1 超过半数以上, 是温州地区妊娠妇女主要的单倍型。

LUCENA-SILVA 等<sup>[13]</sup>研究了巴西南部 and 北部健康人群 HLA-G 3'UTR 分布, 发现在 +3003CT、TT 基因型的分布有明显差异, 说明同种族不同区域基因多态性位点的分布存在差异; 与本研究相比, 在多个位点具有差异, 巴西人群 14 bp 位点以杂合子 del/ins 为主, 本研究结果以纯合子 del/del 为主; 巴西人群以 +3142G 等位基因为主, 而本研究以 +3142C 等位基因为主; 巴西人群以 +3187A 等位基因、AA 纯合子基因型为主, 而本研究以 +3187G 等位基因、AG 杂合子基因型为主。新西兰健康育龄妇女 HLA-G 3'UTR 基因多态性位点的分布<sup>[14]</sup>与本研究相似, 但在新西兰健康育龄妇女中未发现 +3027AA 基因型。研究报道, 14 bp ins/del 位点基因多态性影响 HLA-G mRNA 的稳定性, 可能与 miRNA 结合位点的破坏有关<sup>[2]</sup>。+3027C/A、+3142C/G、+3187A/G 等 SNP 位点也都是 miRNA 的结合位点, 或与 AU 富集区有关, 位点的多态性影响 miRNA 的稳定性和降解速度, 以此在转录后调节 HLA-G 的表达<sup>[9]</sup>。单倍型分布特点上, 巴西人群 UTR-1、UTR-2、UTR-3 占多数<sup>[13]</sup>, 分别为 29.5%、22.8%、15.8%, 与本研究结果不同; 新西兰健康育龄妇女的单倍型以 UTR-1、UTR-2、UTR-4 为主<sup>[14]</sup>, 分别为 33.3%、26.0%、19.8%, 虽然等位基因和基因型与本研究结果相似, 但是单倍型却不同。已有报道显示, HLA-G 3'UTR 单倍型与先兆子痫<sup>[15]</sup>、复发性流产<sup>[16]</sup>、败血症<sup>[17]</sup>等有一定关联性。HLA-G 3'UTR 单倍型与 HLA-G 的表达有关, UTR-1 与高水平表达相关, UTR-5、UTR-7 与低水平表达相关<sup>[18]</sup>, UTR-2/3/4/6 与中等水平表达相关。各种族各地区不同人群在基因多态性及单倍型的分布差异可能是疾病分布不同的原因, 育龄妇女与其他人群具有不同的 HLA-G 3'UTR 基因多态性和单倍型分布, 不同地区育龄妇女的分布也不尽相同。以健康妊娠妇女为代表调查本地区健康育龄妇女的 HLA-G 3'UTR 基因多态性分布, 可以更好地为妊娠期并发症的研究打下基础, 深入了解 HLA-G 3'UTR 在妊娠中的作用。

综上所述, 本研究中温州地区汉族健康妊娠妇女 HLA-G 3'UTR 基因多态性位点的基因型和等位基因、单倍型的分布特征明显, 等位基因以 14 bp del, +3003T, +3010G, +3027C, +3035C, +3142C, +3187G, +3196C 为主, 基因型以 14 bp del/del, +3003TT, +3010GC, +3027CC, +3035CC, +3142CG, +3187AG, +3196CC 为主, 单倍型以 UTR-1(DTG CCC GC)、UTR-3(DTC CCG AC)、UTR-7(ITC ATG AC) 为

主,UTR-1 是最主要的单倍型。后续将进一步深入研究 HLA-G 3'UTR 基因多态性及单倍型在妊娠并发症如先兆子痫、复发性流产等的意义,以及与 mRNA 和 miRNA 相关的分子机制。

## 参考文献

- [1] SABBAGH A, LUISI P, CASTELLI E C, et al. Worldwide genetic variation at the 3' untranslated region of the HLA-G gene: balancing selection influencing genetic diversity[J]. *Genes Immun*, 2014, 15(2): 95-106.
- [2] TAN Z, RANDALL G, FAN J, et al. Allele-specific targeting of microRNAs to HLA-G and risk of asthma[J]. *Am J Hum Genet*, 2007, 81(4): 829-834.
- [3] FERREIRA L M R, MEISSNER T B, TILBURGS T, et al. HLA-G: at the interface of maternal-fetal tolerance[J]. *Trends Immunol*, 2017, 38(4): 272-286.
- [4] HUNT J S, ORR H T. HLA and maternal-fetal recognition[J]. *FASEB J*, 1992, 6(6): 2344-2348.
- [5] CASTELLI E C, MENDES-JUNIOR C T, DE-GHAIDE N H S, et al. The genetic structure of 3'untranslated region of the HLA-G gene: polymorphisms and haplotypes[J]. *Genes Immun*, 2009, 11(2): 134-141.
- [6] SCHMIDT C M, ORR H T. A physical linkage map of HLA-A, -G, -7.5p, and -F[J]. *Hum Immunol*, 1991, 31(3): 180-185.
- [7] APPS R, MURPHY S P, FERNANDO R, et al. Human leucocyte antigen (HLA) expression of primary trophoblast cells and placental cell lines, determined using single antigen beads to characterize allotype specificities of anti-HLA antibodies[J]. *Immunology*, 2009, 127(1): 26-39.
- [8] KUERSTEN S, GOODWIN E B. The power of the 3' UTR: translational control and development[J]. *Nat Rev Genet*, 2003, 4(8): 626-637.
- [9] 陈淑华. 真核生物 mRNA 3'非翻译区的调控功能[J]. *国外医学(生理、病理科学与临床分册)*, 2003, 23(6): 611-614.
- [10] DONADI E A, CASTELLI E C, ARNAIZ-VILLEN A, et al. Implications of the polymorphism of HLA-G on its function, regulation, evolution and disease association[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68(3): 369-395.
- [11] AFKHAMI F, SHEKARI KHANIANI M, FARZADI L, et al. The HLA-G 14bp insertion/deletion polymorphism in women with recurrent spontaneous abortion[J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2014, 13(5): 364-369.
- [12] GOLDMAN-WOHL D S, ARIEL I, GREENFIELD C, et al. Lack of human leukocyte antigen-G expression in extravillous trophoblasts is associated with pre-eclampsia[J]. *Mol Hum Reprod*, 2000, 6(1): 88-95.
- [13] LUCENA-SILVA N, MONTEIRO A R, DE ALBUQUERQUE R S, et al. Haplotype frequencies based on eight polymorphic sites at the 3'untranslated region of the HLA-G gene in individuals from two different geographical regions of Brazil[J]. *Tissue Antigens*, 2012, 79(4): 272-278.
- [14] MEULEMAN T, DRABBELS J, VAN LITH J M M, et al. Lower frequency of the HLA-G UTR-4 haplotype in women with unexplained recurrent miscarriage[J]. *J Reprod Immunol*, 2018, 126: 46-52.
- [15] QUACH K, GROVER S A, KENIGSBURG S, et al. A combination of single nucleotide polymorphisms in the 3'untranslated region of HLA-G is associated with preeclampsia[J]. *Hum Immunol*, 2014, 75(12): 1163-1170.
- [16] MICHITA R T, ZAMBRA F M B, FRAGA L R, et al. A tug-of-war between tolerance and rejection: new evidence for 3'UTR HLA-G haplotypes influence in recurrent pregnancy loss[J]. *Hum Immunol*, 2016, 77(10): 892-897.
- [17] HAHN E C, ZAMBRA F M B, KAMADA A J, et al. Association of HLA-G 3'UTR polymorphisms and haplotypes with severe sepsis in a Brazilian population[J]. *Hum Immunol*, 2017, 78(11/12): 718-723.
- [18] MARTELLI-PALOMINO G, PANCOTTO J A, MUNIZ Y C, et al. Polymorphic sites at the 3'untranslated region of the HLA-G gene are associated with differential hla-g soluble levels in the Brazilian and French population[J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e71742.