

吉林汉族人群HLA-A高分辨基因的多态性分析*

焦立新, 杨帆, 韩瑜, 林乾飞, 陈琳

Human leukocyte antigen-A gene polymorphism detected by high resolution sequence based typing in Jilin Han populations

Jiao Li-xin, Yang Fan, Han Yu, Lin Qian-fei, Chen Lin

Abstract

BACKGROUND: Human leukocyte antigen (HLA) is closely related with immunogenetics and immunobiology, its types influence the outcome of clinical transplantation and confer susceptibility to a wide range of non-infectious diseases.

OBJECTIVE: To investigate the genetic polymorphism of HLA-A locus gene in Jilin Han populations and to compare the distribution characteristic of the allele frequency with that in other populations.

METHODS: A total of 2 196 blood samples from Jilin Han populations were analyzed by sequence based typing. Then the sequences encompassing exons 2, 3 and 4 for HLA-A gene were analyzed by direct sequencing of polymerase chain reaction products. The allele frequency distribution of HLA-A in this populations was compared with that in other populations.

RESULTS AND CONCLUSION: A total of 42 different HLA-A alleles were detected, and among them, 3 HLA-A alleles with frequencies were higher than 5%, they were HLA-A*02:01(8.5%), HLA-A*11:01(8.2%) and HLA-A*24:02(7.3%). The total frequency of the 3 alleles was 24.0%. At the same time, there were 39 kinds of HLA-A allele with frequencies lower than 0.5%; the total frequency of these alleles was 76.0%. There were some differences of frequency distribution of HLA-A allele in Jilin Han population when compared with American Asian, the Chinese populations from Hong Kong and Japanese, respectively. The results show the geographical characteristic of HLA-A distribution in Jilin Han populations.

Jiao LX, Yang F, Han Y, Lin QF, Chen L. Human leukocyte antigen-A gene polymorphism detected by high resolution sequence based typing in Jilin Han populations. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(18): 3345-3348. [http://www.crter.cn http://en.zgckf.com]

Changchun Blood Center, Changchun 130031, Jilin Province, China

Jiao Li-xin, Chief physician, Changchun Blood Center, Changchun 130031, Changchun Province, China
lixinjiao25@163.com

Corresponding author: Chen Lin, Changchun Blood Center, Changchun 130031, Jilin Province, China
chenlin640713@163.com

Supported by: Fund of Technology Bureau of Changchun No.2003015*

Received: 2011-09-23
Accepted: 2012-03-07

摘要

背景: HLA与免疫遗传学、免疫生物学密切相关,其分型对于器官移植和非感染性疾病的易感性有重要意义。

目的: 调查吉林汉族人群HLA-A位点基因多态性,分析不同人群HLA-A等位基因频率分布特征。

方法: 采用基因测序技术检测2 196名吉林汉族人HLA-A位点第2、3、4外显子序列,软件分析得到分型结果,计算各等位基因频率并与不同人群进行比较。

结果与结论: 共检测到42种HLA-A等位基因,其中3种等位基因频率 $\geq 5\%$,分别是HLA-A*02:01(8.5%),HLA-A*11:01(8.2%)和HLA-A*24:02(7.3%),这3种等位基因频率合计为24.0%。同时,检测到39种等位基因频率 $< 0.5\%$ 的HLA-A等位基因,这39种等位基因频率合计为76.0%。吉林汉族人群HLA-A等位基因频率分布与美国亚裔人群、中国香港华人、日本人相比存在一定差异。提示吉林汉族人群HLA-A基因的分布有地域特征。

关键词: 人类白细胞抗原A基因;吉林;汉族人群;等位基因频率;表现频率

缩略语注释: HLA: human leukocyte antigen, 人类白细胞抗原; PCR-SBT: polymerase chain reaction sequence based typing, 基于测序的HLA分型技术

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2012.18.026

焦立新, 杨帆, 韩瑜, 林乾飞, 陈琳. 吉林汉族人群HLA-A高分辨基因的多态性分析[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(18): 3345-3348. [http://www.crter.org http://cn.zgckf.com]

0 引言

人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)是人类最复杂的遗传多态性系统,准确的HLA分型结果和可靠的HLA基因频率数据为造血干细胞移植、HLA与疾病相关性、个体识别和免疫遗传学等研究提供了必要数据。以往由于分型技术的限制,中国汉族人群的HLA多态性研究缺乏高分辨率的HLA等位基因分型数据。实验采用基于测序的HLA分型技术(polymerase chain reaction sequence

based typing, PCR-SBT)对2 196名正常吉林汉族人的HLA-A位点进行高分辨分型,现将结果报道如下。

1 对象和方法

设计: 调查分析。

时间及地点: 实验于2007-07/2010-11在长春市中心血站完成。

对象: 选择2007/2010在中华骨髓库吉林分库入库的志愿者,其籍贯为吉林省的2 196名汉族健康人,其中男性占52.84%,女性占47.16%。

长春市中心血站,
吉林省长春市
130031

焦立新, 女, 1969
年生, 吉林省长春
市人, 汉族, 1992
年吉林医学院毕
业, 主任医师, 主
要从事免疫血液
学的研究。
lixinjiao25@
163.com

通讯作者: 陈琳,
长春市中心血站,
吉林省长春市
130031
chenlin640713@
163.com

中图分类号:R318
文献标识码:B
文章编号:1673-8225
(2012)18-03345-04

收稿日期: 2011-09-23
修回日期: 2012-03-07
(20110923005/WL-C)

纳入标准: 所有入库数据均符合中华骨髓库
高分辨入库标准, 分型至*号后四位, 第2、3外
显子测序不能确定的结果, 加做4外显子。

排除标准: 对于加做4外显子仍不能确定的
结果, 排除在外。

实验方法:

基因组DNA制备: 所有样本取500 μL EDTA抗
凝全血提取DNA, 检测DNA浓度为40~100 μg/L,
A₂₆₀/A₂₈₀比值为1.6~1.8, -20 °C保存。

PCR-SBT: 分型采用北京诺诗康瀛生物技术
有限公司分型试剂盒进行测序反应, 测序产物
使用ABI 3130基因分析仪行毛细管电泳。测定
HLA-A等位基因的第2、3、4外显子序列后, 使用
AFP软件与核酸序列数据库(IMG/HLA
Sequence Database)比对, 定出HLA等位基因
型别。

数据处理: 针对特异性的序列, 采用该公司
设计的特异性引物加做3SSP进一步确认。

主要观察指标: 计算表现频率(phenotype
frequencies, PF)和基因频率(gene
frequencies, GF)。

$$PF = \text{表现数} / \text{总数}$$

$$GF = 1 - \sqrt{1 - PF}$$

按照文献方法进行Hardy-Weinberg吻合
度测验^[1-2]。计算采用Excel 2003软件进行, 证
实数据是否符合遗传平衡规律。

统计学分析: 不同人群间HLA-A频率分布
比较采用 χ^2 检验法。

2 结果

2.1 遗传平衡 该人群中各等位基因的观察
值与期望值差异无显著性意义($\sum \chi^2 = 609.72$,
 $df = 1611$, $P > 0.05$), 基因型分布符合Hardy
Weinberg定律。

2.2 基因型分布 对2 196个吉林汉族人群样
本进行分型, 共检出HLA-A等位基因42种, 占
至今已命名的1 177种HLA-A等位基因的
3.6%。等位基因检测数和等位基因频率分布见
表1。

表1 吉林汉族人群 HLA-A 等位基因频率分布及不同人群比较^[9]
Table 1 Distribution of HLA-A allele frequency detected by sequence based typing in Jilin Han populations and
comparison of the genotype frequencies with other populations

Antigen	Allele	Jilin Han (n=2 196)			GF		
		Count	PF	GF	American Asian (n=2 160)	Hong Kong Chinese (n=569)	Japanese (n=1 018)
A1	01:01	255	0.116	0.060	0.015 ^b	0.011 ^b	0.002 ^b
A2	02:01	713	0.325	0.178	0.095 ^b	0.062 ^b	0.116 ^b
A203	02:03	76	0.035	0.017	0.032 ^b	0.078 ^b	0.001 ^b
A2	02:05	27	0.012	0.006	0.003 ^a	0.000 ^b	0 ^b
A2	02:06	337	0.153	0.080	0.048 ^b	0.047 ^b	0.087
A2	02:07	224	0.102	0.052	0.044	0.131 ^b	0.034 ^b
A2	02:09	3	0.001	0.001	0	0	0
A2	02:10	24	0.011	0.005	0.001 ^b	0.000 ^a	0.004
A2	02:11	2	0.001	0.000	0.012 ^b	0	0
A2	02:20	1	0.000	0.000	0.001	0	0
-	02:53N	4	0.002	0.001	0.000 ^a	0	0
A3	03:01	181	0.082	0.042	0.026 ^b	0.008 ^b	0.002 ^b
A3	03:02	15	0.007	0.003	0.005	0.000	0.001
A11	11:01	693	0.316	0.173	0.179 ^b	0.287 ^b	0.102 ^b
A11	11:53	41	0.019	0.009	0.015 ^a	0.040 ^b	0.002
A11	11:03	5	0.002	0.001	0.000 ^a	0.000	0
A23	23:01	14	0.006	0.003	0.002	0.000	0
A24	24:02	615	0.280	0.152	0.182 ^b	0.154	0.362 ^b
A24	24:07	3	0.001	0.001	0.018 ^b	0.005 ^a	0
A24	24:08	6	0.003	0.001	0.001	0.000	0
A24	24:10	1	0.000	0.000	0.003 ^b	0.000	0
A24	24:20	12	0.005	0.003	0.002	0	0.008 ^b
A24	24:89	1	0.000	0.000	0	0	0
A26	26:01	132	0.060	0.031	0.039 ^a	0.017 ^a	0.077 ^b
A26	26:02	4	0.002	0.001	0.007 ^b	0.000	0.023 ^b
A26	26:20	2	0.001	0.000	0	0	0
A29	29:01	28	0.013	0.006	0.014 ^b	0.012 ^a	0 ^b
A29	29:02	2	0.001	0.000	0	0	0
A30	30:01	347	0.158	0.082	0.021 ^b	0.018 ^b	0.001 ^b
A30	30:02	1	0.000	0.000	0	0.003 ^b	0
A30	30:04	2	0.001	0.000	0.003 ^b	0.000	0
A30	30:18	1	0.000	0.000	0	0	0
A31	31:01	123	0.056	0.028	0.032	0.018	0.091 ^b

续表 1

Antigen	Allele	Jilin Han (n=2 196)			GF		
		Count	PF	GF	American Asian (n=2 160)	Hong Kong Chinese (n=569)	Japanese (n=1 018)
A32	32:01	90	0.041	0.021	0.013 ^b	0.004 ^b	0 ^b
A33	33:01	7	0.003	0.002	0 ^b	0	0
A33	33:03	344	0.157	0.082	0.094	0.100 ^b	0.067
A34	34:01	1	0.000	0.000	0	0.003 ^b	0
A66	66:01	9	0.004	0.002	0 ^b	0.001	0
A68	68:01	40	0.018	0.009	0.019 ^b	0.000 ^b	0 ^a
A68	68:02	1	0.000	0.000	0	0	0
A69	69:01	4	0.002	0.001	0.001	0.000	0
A74	74:03	1	0.000	0.000	0.000	0	0

HLA: human leukocyte antigen; GF: gene frequencies; PF: phenotype frequencies; ^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$, vs. Jilin Han

检测到3种等位基因频率 $\geq 5\%$ 的HLA-A等位基因, 分别是HLA-A*02:01(8.5%), HLA-A*11:01(8.2%)和HLA-A*24:02(7.3%), 这3种等位基因的等位基因频率合计为24.0%; 同时, 检测到39种等位基因频率 $< 0.5\%$ 的HLA-A等位基因, 这39种等位基因的等位基因频率合计为76.0%。

2.3 与其他人群比较 本组人群与美国亚裔人口比较, 有25种HLA-A等位基因频率差异有显著性意义($P < 0.05$); 与中国香港华人比较, 则有19种HLA-A等位基因频率差异有显著性意义($P < 0.05$); 与日本人比较, 有16种HLA-A等位基因频率差异有显著性意义($P < 0.05$), 见表1。

2.4 罕见基因 发现3个罕见等位基因: HLA-A*24:89是以往亚太地区没有报道的, HLA-A*30:18和HLA-A*26:20主要为亚太地区报道^[4]。

2.5 数据的鉴定 HLA-A*02:09与HLA-A*02:01是第2、3外显子序列完全相同的一对等位基因, 实验通过序列分析检测到HLA-A*02:09基因型3个, HLA-A*02:01基因型713个。

3 讨论

对于中国人群HLA座位的基因多态性研究以往常常仅采用中低分辨率的序列特异性引物、序列特异性寡核苷酸探针杂交等分析技术, 缺乏精确的HLA等位基因分型数据。实验采用PCR-SBT分型方法, 得到高分辨率的吉林汉族人群HLA-A位点等位基因多态性分布数据, 结果更为可靠。

吉林汉族人群中, 共检测到42种HLA-A等位基因, 其中3种等位基因频率 $\geq 5\%$, 分别是HLA-A*02:01(8.5%), HLA-A*11:01(8.2%)和HLA-A*24:02(7.3%)。以上3种等位基因频率合计为24.0%, 另外检测到39种等位基因频率 $< 0.5\%$ 的HLA-A等位基因, 这39种等位基因的频率合计为76.0%, 在人群中呈低频率分布。以往统计结果显示

吉林地区频率高的抗原依次是: A2、A24、A11、A30、A33, A1^[4], 本组高分辨统计结果与以往低分辨数据基本吻合, 同时获得了每种抗原的高分辨等位基因频率信息。

吉林地区人群与美国亚裔人口比较, 有25种HLA-A等位基因频率差异有显著性意义; 与中国香港华人比较, 则有19种HLA-A等位基因频率差异有显著性意义; 与日本人比较, 有16种HLA-A等位基因频率差异有显著性意义。这一结果表明, 在地域相隔较远的不同族群间HLA-A等位基因分布存在一定差异, 不同地区的骨髓库可以起到互补作用^[5-10]。

本次所统计的等位基因如01:01、02:01、02:03、24:02等多数大于或等于频率0.001且在中华骨髓库国家管理中心组织和制定的“中国人群CWD等位基因表”中。研究还发现一个罕见等位基因HLA-A*24:89, 以往也是中国人报道的^[11], 这一罕见基因的再次发现提示当遇到有这个等位基因的组合结果时, 不可以简单排除。HLA-A*02:09与HLA-A*02:01的第2、3外显子序列完全相同^[12], 第4外显子仅1个碱基不同, 以往不了解这两个基因型在吉林地区人群中的分布情况, 此次通过序列分析检测到HLA-A*02:09基因型3个, HLA-A*02:01基因型713个, 提示HLA-A*02:09在本地区汉族人群中频率极低。

总之, 本次实验有助于为临床造血干细胞移植寻找合适匹配的供受对, 并为吉林地区健康人群HLA-A基因多态性以及免疫遗传学研究提供有意义的参考数据。

4 参考文献

- [1] Zhao TM. Shanghai: Kexue Jishu Chuabanshe. 1984:141-168. 赵桐茂.HLA分型原理和应用[M].上海:科学技术出版社,1984:141-168.
- [2] Yang Y, Zhang GL. Beijing: Renmin Weisheng Chubanshe. 2002:82-109. 杨颖,张工梁.HLA遗传学中的统计分析.谭建明主编.组织配型技术与临床应用[M].北京:人民卫生出版社,2002:82-109.
- [3] Middleton D, Menchaca L, Rood H, et al. New allele frequency database: <http://www.allelefrequencies.net>. Tissue Antigens. 2003;61(5):403-407.

- [4] Cheng L, Jiao LX, Ren HB, et al. Zhongguo Shuxue Zazhi. 2010; 3(1):35-39.
陈琳,焦立新,任海波,等.吉林骨髓库汉族造血干细胞捐献者HLA-A、B、DRB1基因分布和单倍型分析[J].中国输血杂志,2010,23(1):35-39.
- [5] Robinson J, Marsh SG. The IMGT/HLA sequence database. Rev Immunogenet. 2000;2(4):518-531.
- [6] Robinson J, Waller MJ, Parham P, et al. IMGT/HLA and IMGT/MHC: sequence databases for the study of the major histocompatibility complex. Nucleic Acids Res. 2003;31(1):311-314.
- [7] Giudicelli V, Chaume D, Mennessier G, et al. IMGT, the international Immunogenetics database: a new design for immunogenetics data access. Stud Health Technol Inform. 1998;52 Pt 1:351-355.
- [8] Shen CM, Zhu BF, Ye SH, et al. Allelic diversity and haplotype structure of HLA loci in the Chinese Han population living in the Guanzhong region of the Shaanxi province. Hum Immunol. 2010;71(6):627-633.
- [9] Bortolotto AS, Petry MG, da Silveira JG, et al. HLA-A, -B, and -DRB1 allelic and haplotypic diversity in a sample of bone marrow volunteer donors from Rio Grande do Sul State, Brazil. Hum Immunol. 2012;73(2):180-185.
- [10] Paximadis M, Mathebula TY, Gentle NL, et al. Human leukocyte antigen class I (A, B, C) and II (DRB1) diversity in the black and Caucasian South African population. Hum Immunol. 2012;73(1):80-92.
- [11] Xiao Y, Zhou XY, Liu N, et al. Identification of a novel allele HLA-A*2489 by sequence-based typing in a Chinese individual. Tissue Antigens. 2009;74(3):249-250.
- [12] Gatz SA, Pohla H, Schendel DJ. A PCR-SSP method to specifically select HLA-A*0201 individuals for immunotherapeutic studies. Tissue Antigens. 2000;55(6):532-547.

来自本文课题的更多信息--

基金声明: 长春市科技局资助项目(2003015)。

作者贡献: 第一作者进行实验设计, 实验实施为全部作者, 实验评估为第二作者, 资料收集为第一、三、四作者, 第一作者成文, 通讯作者审校, 第一作者对文章负责。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

研究的创新之处: 实验采用目前最为先进的直接测序分型技术, 对 2 196 名正常吉林汉族人的 HLA-A 位点进行高分辨分型, 并通过科学的统计学计算, 得到吉林汉族人群的 HLA-A 位点高分辨分布特征, 为吉林省造血干细胞移植工作提供了必要条件。

SCI 收录的《中国神经再生研究(英文版)》(NRR) 杂志 2012 年 10 大组稿重点

《中国神经再生研究(英文版)》(NRR) 杂志:	NRR杂志出版重点:	NRR杂志特色:
2008年1月起已被SCI, CA, SCOPUS, EM, IC等国际重要数据库收录, 同时被中国统计源期刊(英文版), 中国科学引文数据库核心期刊收录, 并被美国OVID期刊全文数据库收录, 可同时被全球2000余家机构检索和阅读。	<ul style="list-style-type: none"> ○ 神经发生、神经可塑性与神经再生 ○ 神经干细胞与神经细胞的再生 ○ 组织工程与神经再生 ○ 神经退行性变与神经再生 ○ 中枢神经系统的再生 ○ 周围神经系统的再生 ○ 中医药与神经再生 ○ 基因治疗与神经再生 ○ 神经再生的新兴技术 ○ 神经再生的转化医学 	<p>高质量: 坚持篇篇国际专家精审, 保证文章学术质量。坚持篇篇母语专家语言润色, 保证文章语言质量。</p> <p>短时效: 经同行评议后可采用稿件, 可于6月出版, 特殊优秀稿件可于3个月出版。</p> <p>多元化: 为作者提供其所需的服务, 如向SCI期刊投稿相关服务。</p> <p>NRR杂志文章体例: 研究原著、综述、学术探讨、循证医学、调查报告、典型病例等。</p>
2011年杂志以旬刊出版, 注重出版时效, 严格保证发行时间。		
2011年6月SCI首次公布NRR杂志影响力因子为0.18。		