

# 山东地区新生儿脐血 HLA-A、HLA-B 等位基因多态性研究

戴云鹏<sup>1,2</sup>, 沈柏均<sup>3</sup>, 阎文英<sup>2</sup>, 王红美<sup>1,2</sup>

(1 山东省立医院, 山东济南 250021; 2 山东大学临床医学院;

3 山东脐血造血干细胞库)

**[摘要]** 目的 研究山东地区新生儿脐血人类白细胞抗原(HLA-A、HLA-B)等位基因的分布特征,探讨国人用山东脐血供者进行造血干细胞移植的可能性。方法 应用 PCR-SSO 方法对山东地区 5 844 例无血缘关系的汉族健康新生儿脐血进行 HLA-A、HLA-B 等位基因分布调查。结果 检出 20 种 HLA-A 等位基因,频率较高的为 A \* 02(0.3041)、A \* 11(0.1443)、A \* 24(0.1434)、A \* 30(0.0975)和 A \* 33(0.0859),较低的为 A \* 34(0.0006)、A \* 25(0.0005)、A \* 66(0.0005)、A \* 74(0.0004)和 A \* 36(0.0001)。检出 46 种 HLA-B 等位基因,频率较高的为 B \* 13(0.1348)、B \* 51(0.0713)、B \* 62(0.0712)、B \* 61(0.0676)和 B \* 60(0.0642),较低的为 B \* 77(0.0001)、B \* 76(0.0002)、B \* 47(0.0003)、B \* 42(0.0003)和 B \* 72(0.0004)。结论 山东新生儿脐血 HLA I 类基因具有多态性,能代表山东汉族人群 HLA 的分布特征,反映北方汉族 HLA 的分布规律;国人(尤其是北方汉族人)在山东脐血库中最容易找到 HLA I 类等位基因相合的异基因脐血供者。

**[关键词]** 脐血;人白细胞抗原;基因多态性

**[中图分类号]** R457;R714.56 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1002-266X(2006)25-0019-03

Study of HLA-A and HLA-B allele polymorphism in Shandong neonates umbilical cord blood

DAI Yun-peng<sup>1</sup>, SHEN Bai-jun, YAN Wen-ying, WANG Hong-mei

(1 Shandong Provincial Hospital, Shandong University Clinical College, Jinan 250021, P. R. China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the HLA-A,-B allele polymorphism in Shandong neonates umbilical cord blood and explore the possibility of finding the cord blood donor of HLA-A,-B matched to perform the stem cell transplantation for Chinese. [Methods] The subjects of the study were drawn from 5844 Shandong unrelated umbilical cord blood samples in Shandong Umbilical Cord Bank and investigated by polymerase chain reaction-sequence specific oligo-nucleotide (PCR-SSO). [Results] 20 alleles at HLA-A locus, and 46 alleles at HLA-B locus in Shandong umbilical cord samples were detected. Among 20 HLA-A alleles detected, the most frequent five alleles were A \* 02(0.3041), A \* 11(0.1443), A \* 24(0.1434), A \* 30(0.0975) and A \* 33(0.0859). A \* 34(0.0006), A \* 25(0.0005), A \* 66(0.0005), A \* 74(0.0004) and A \* 36(0.0001) had lower gene frequency. Among 46 HLA-B alleles detected, the most frequent five alleles were B \* 13(0.1348), B \* 51(0.0713), B \* 62(0.0712), B \* 61(0.0676) and B \* 60(0.0642); HLA-B \* 77(0.0001), B \* 76(0.0002), B \* 47(0.0003), B \* 42(0.0003) and B \* 72(0.0004) showed lower gene frequency. [Conclusion] HLA-A,-B allele in Shandong umbilical cord blood have rich polymorphism, the distributing character of HLA-A,-B allele in Shandong Hans were showed, and the HLA distributing character in Northern Chinese was further reflected. Chinese patients are easier to search HLA-A,-B matched cord blood donors in Shandong Umbilical Cord Blood Bank, especially Northern Han Chinese.

**Key words:** umbilical cord blood; human leukocyte antigen; gene polymorphism

目前,脐血造血干细胞在白血病、免疫缺陷病、某些遗传性疾病中的临床应用越来越广泛。人类白细胞抗原(HLA)在同种组织器官移植中是导致移植排斥的主要抗原,也是移植成功与否的关键环节,其主要特征是具有高度多态性,并存在明显的地区和

民族差异<sup>[1]</sup>。2000~2005年,我们应用聚合酶链反应—序列特异性寡核苷酸探针技术(PCR-SSO)对山东地区 5 844 例无血缘关系汉族健康新生儿脐血进行 HLA-A、HLA-B 等位基因分布调查,旨在探讨国人利用山东脐血供者进行造血干细胞移植的可能性。

## 1 材料与方法

1.1 材料 选择山东籍汉族无血缘关系的健康新

[基金项目] 山东省卫生厅青年科学基金项目(2005026)。

生儿脐血共 5 844 份。对每例新生儿进行家族遗传代谢病史调查,以及艾滋病、乙肝、梅毒等病原检测,符合要求后进行 HLA-A、HLA-B 基因分型。

1.2 基因组 DNA 提取 采用美国 Bio-Fast™DNA 提取试剂盒,从全血中提取基因组 DNA,按说明书进行操作。

1.3 HLA-A、HLA-B 等位基因分型 采用英国 Dynal RELI™SSO-HLA 分型试剂盒,分别对样本 HLA-A、HLA-B 等位基因进行分型。操作方法参考文献<sup>[2]</sup>。

1.4 统计学方法 基因频率参照赵桐茂<sup>[3]</sup>方法进行计算,应用 Excell 软件和 SPSS10.0 统计软件进行统计学分析。

2 结果

2.1 山东地区新生儿脐血 HLA-A 等位基因分布 本组检出 20 种 HLA-A 等位基因,频率较高的为 A \* 02、A \* 11、A \* 24、A \* 30 和 A \* 33,较低的为 A \* 34、A \* 25、A \* 66、A \* 74 和 A \* 36。见表 1。

表 1 山东脐血的 HLA-A 位点等位基因频率分布

HLA-A 基因	等位基因 频数	等位基因 频率	HLA-A 基因	等位基因 频数	等位基因 频率
A * 01	592	0.0520	A * 30	1084	0.0975
A * 02	3014	0.3041	A * 31	461	0.0403
A * 03	546	0.0479	A * 32	232	0.0201
A * 23	38	0.0033	A * 33	961	0.0859
A * 24	1556	0.1434	A * 74	5	0.0043
A * 25	6	0.0005	A * 68	103	0.0089
A * 26	358	0.0311	A * 69	16	0.0014
A * 34	7	0.0006	A * 28	19	0.0016
A * 66	6	0.0005	A * 36	1	0.0009
A * 11	1565	0.1443	Blank	833	0.0740
A * 29	142	0.0122			

2.2 山东地区新生儿脐血 HLA-B 等位基因分布 本组检出 46 种 HLA-B 等位基因,其频率分布相对分散,频率较高的是 B \* 13、B \* 51、B \* 62、B \* 61 和 B \* 60,较低的是 B \* 77、B \* 76、B \* 47、B \* 42 和 B \* 72。见表 2。

表 2 山东脐血的 HLA-B 位点等位基因频率分布

HLA-B 基因	等位基因 频数	等位基因 频率	HLA-B 基因	等位基因 频数	等位基因 频率
B * 51	803	0.0713	B * 50	96	0.0083
B * 52	427	0.0373	B * 54	325	0.0282
B * 07	545	0.0478	B * 55	192	0.0166
B * 08	131	0.0113	B * 56	30	0.0026
B * 44	624	0.0549	B * 27	246	0.0213
B * 45	24	0.0021	B * 35	591	0.0519
B * 13	1469	0.1348	B * 37	168	0.0145
B * 14	29	0.0025	B * 60	727	0.1240
B * 64	8	0.0007	B * 61	763	0.1310
B * 65	15	0.0013	B * 41	11	0.0009
B * 15	97	0.0083	B * 42	4	0.0003
B * 63	20	0.0026	B * 46	618	0.0544

万方数据

续表

HLA-B 基因	等位基因 频数	等位基因 频率	HLA-B 基因	等位基因 频数	等位基因 频率
B * 77	1	0.0001	B * 47	3	0.0005
B * 62	802	0.0712	B * 48	370	0.0322
B * 75	365	0.0317	B * 53	29	0.0025
B * 76	2	0.0002	B * 59	12	0.0010
B * 38	288	0.0250	B * 67	125	0.0108
B * 39	199	0.0172	B * 71	201	0.0174
B * 57	215	0.0186	B * 70	41	0.0035
B * 58	475	0.0413	B * 22	13	0.0011
B * 40	48	0.0041	B * 81	19	0.0016
B * 18	67	0.0056	B * 5	15	0.0013
B * 49	27	0.0023	B * 72	5	0.0004
Blank	334	0.02901			

2.3 山东地区脐血与其他地区 HLA-A、HLA-B 基因频率比较 山东地区汉族脐血 HLA-A 等位基因分布与华北地区汉族人群相近,前 5 位高频率等位基因顺序基本一致;前 5 位低频率等位基因相同,顺序稍有变化。HLA-B 等位基因频率分布与华北地区差异较小,与华南地区差异较大。见表 3。

表 3 山东与不同地区部分 HLA-A、HLA-B 基因频率比较

HLA 基因	不同地区基因频率			
	山东	天津	江浙沪	广州
A * 1	5.20	5.16	2.22 <sup>Δ</sup>	0.49 <sup>Δ</sup>
A * 3	4.78	4.68	1.61 <sup>Δ</sup>	1.11 <sup>Δ</sup>
A * 24	14.34	14.84	16.93	22.16 <sup>Δ</sup>
A * 66	0.51	0.11	0.66	33.42 <sup>Δ</sup>
A * 30	9.75	7.39	5.89	2.12 <sup>Δ</sup>
B * 7	4.78	3.28	1.46 <sup>Δ</sup>	1.49 <sup>Δ</sup>
B * 8	1.12	1.19	0.61 <sup>Δ</sup>	0.12 <sup>Δ</sup>
B * 44	5.49	5.16	2.23 <sup>Δ</sup>	1.49 <sup>Δ</sup>
B * 14	0.24	0.51	0.04 <sup>Δ</sup>	0.12 <sup>Δ</sup>
B * 50	0.82	1.13	0.26 <sup>Δ</sup>	
B * 81	0.16	0.16	0.06 <sup>Δ</sup>	
B * 75	3.17	5.55	9.84 <sup>Δ</sup>	
B * 38	2.49	2.37	2.59	6.23 <sup>Δ</sup>
B * 58	4.15	5.79	6.96	7.42
B * 60	6.42	1.75 <sup>Δ</sup>	11.65	16.81 <sup>Δ</sup>
B * 46	5.43	0.02 <sup>Δ</sup>	11.73 <sup>Δ</sup>	16.81 <sup>Δ</sup>

注:与山东比较,<sup>Δ</sup>P<0.05

3 讨论

建立脐血 HLA 资料,不仅可为临床提供更多 HLA 相匹配的异基因造血干细胞,而且通过大量脐血资源可获得更翔实的 HLA 数据。截至目前,共检出 24 种 HLA-A 等位基因,51 种 HLA-B 等位基因。我们采用 PCR-SSO 方法首次对山东地区汉族大量脐血样本进行 HLA-A、HLA-B 位点基因分型。在 A 位点上共检出 20 种等位基因,其中检出稀有基因 A \* 28、A \* 36 基因;在 B 位点上共检出 46 种等位基因,其中包括曾认为中国人群不具有的 B \* 18、B \* 77、B \* 42、B \* 47、B \* 48、B \* 53、B \* 59、B \* 67 基因,并明确了这些基因的分布频率;未检出 A \* 9、A \* 43、A \* 10 等位基因,以及 B \* 16、B \* 21、B \* 12、B \* 17、B \* 73、B \* 78 等位基因,说明这些基因在该人

群中存在较少或不存在。为了研究山东脐血 HLA-A、HLA-B 等位基因分布与我国其他地区人群的差异,借此了解其利用山东脐血干细胞的可能性,我们还与天津地区<sup>[4]</sup>、江浙沪地区<sup>[5]</sup>、广州地区<sup>[6]</sup>HLA 相应位点分布进行比较,结果显示,山东脐血 HLA-A、HLA-B 基因频率分布与天津地区接近,但与江浙沪及广州地区南方汉族 HLA 基因频率分布有显著差异。在 HLA-A 位点上,由北到南频率降低的基因有 A\*1、A\*3、A\*23、A\*26、A\*11、A\*30、A\*68,其中 A\*1、A\*3、A\*26、A\*30 与江浙沪、广州差异显著( $P<0.05$ );升高的基因有 A\*24、A\*66,与广州地区差异显著( $P<0.05$ )。在 HLA-B 位点上,由北到南频率降低的基因有 B\*51、B\*52、B\*7、B\*8、B\*44、B\*14、B\*50 和 B\*81,其中 B\*7、B\*8、B\*44、B\*14、B\*50 和 B\*81 与广州地区差异显著( $P<0.05$ );升高的基因有 B\*75、B\*38、B\*58、B\*60、B\*4,与广州地区差异显著( $P<0.05$ )。山东人群 A\*1、A\*3、A\*30、A\*32、B\*44、B\*7 和 B\*51 基因频率相对高于江浙沪( $P<0.05$ ),B\*46、B\*60 基因频率相对低于江浙沪( $P<0.05$ )。由此可见,山东人群基因频率总体分布属于北方人群。由此

推论,北方汉族人在山东脐血库中最容易找到 HLA 基因相合的异基因脐血造血干细胞;南方汉族人在山东脐血库中完全可以找到 HLA-A、HLA-B 位点低分辨等位基因相合的脐血干细胞供者。

综上所述,山东汉族脐血样本 HLA-A、HLA-B 基因具有中国北方汉族共有的遗传特征,也有其自身的分布特点,具有较丰富的多态性及地区性遗传特征,能代表山东地区汉族人群 HLA 的分布特征。

[参考文献]

[1] 张工梁,赵桐茂. HLA 人群分布[M]. 北京:人民卫生社,2002:112-131.  
 [2] 戴云鹏, 阎文英, 沈柏均, 等. 急性淋巴细胞白血病患者 HLA-DRB1 基因多态性研究[J]. 中国免疫学杂志,2003,19(5):352-354.  
 [3] 赵桐茂. 人类血型遗传学[M]. 北京:科技出版社,1987:218-219.  
 [4] 杨丛林, 梁晓岚, 燕丽, 等. 天津地区 2854 份脐血 HLA-I 类基因多态性分析[J]. 中华血液学杂志,2003,24(12):660-661.  
 [5] 陈权新, 郭晓俊. 中华(上海)骨髓库江浙沪汉族人群 HLA 基因多态性调查[J]. 全科医学临床与教育,2005,3(2):76-79.  
 [6] 马红京, 肖露露, 郭坤元, 等. 广东汉族人群 HLA-A、B、DR 基因频率分析[J]. 广东医学,2005,26(3):324-326.

(收稿日期:2006-05-28)

• 临床札记 •

假假性甲状旁腺功能减退症 1 例

张毅

(诸城市人民医院,山东诸城 262200)

患者男,15 岁,学生。因生长发育迟缓入院。患者系第一胎足月顺产,出生体质量 2 800 g,阿氏 1 min 评分 10 分,无畸形。6 个月出牙,12 个月能坐,16 个月能站立行走,8 岁换牙;身高低于同龄儿。14 岁时阴囊增大,阴茎睾丸发育,阴毛生发青春期发育,同年身高增长 5 cm。智力低,视物模糊,无肢体抽搐及骨骼疼痛。家族中无类似疾病患者,其母体健,孕期无服药史,无接触放射毒物史。查体:BP120/80 mmHg,神志清,营养良好。身高 136 cm,体重 48 kg,上部量 74 cm,下部量 64.5 cm,指间距 125 cm。脸圆,颈短,体胖。发际不低,眼距不宽,无塌鼻,腭弓不高。无盾胸,心肺正常,肝脾未及。双侧睾丸容积 12 ml,阴茎牵长 7 cm,阴毛特纳 3 期。双手第四掌骨短,双足第三、四跖骨短而畸形。实验室检查:血钙 2.5 mmol/L,血磷 1.6 mmol/L,血总胆固醇 2.66 mmol/L;尿钙 3.85 mmol/24 h,尿磷 7.1 mmol/24 h,肝功能、肾功能及血气分析均正常。甲状腺功能五项正常。性激素检查示:黄体生成素 2.9 IU/L,卵泡刺激素 5.1 IU/L,雌激素 270.2 pmol/L,睾酮 16.

9 nmol/L,泌乳素 52.5 μg/L。尿游离皮质醇 297.5 nmol/24 h,血清皮质醇 8 am 405.0 nmol/L,4 am 136.0 nmol/L,促肾上腺皮质激素 52.8 pmol/L。胰岛素兴奋生长激素试验示生长激素基础值 5.3 μg/L,60 min 达峰,峰值 7.9 μg/L,同期血糖最低 1.81 mmol/L。血甲状旁腺激素 8.96 ng/L。心电图及肝胆胰脾超声正常。颅脑 CT 未见异常钙化灶。X 线片示双手诸组成骨皮质变薄,骨小梁稀疏,骨密度减低;双侧第三、四掌骨短,双侧对称;尺骨骨密度减低,骨小梁稀疏;胫骨无异常,双足第三、四跖骨短。临床诊断假假性甲状旁腺功能减退症(PPHP)。

讨论:PPHP 最早由 Albright 于 1952 年报道,本病是甲状旁腺功能减退症的一种特殊类型,临床较少见。其致病机理可能与假性甲状旁腺功能减退症相似,反映了单基因病变的不同表达,与 Gs 基因功能缺陷有关。本病主要表现为具有 AHO(Albright's hereditary osteodystrophy)躯体表型:身材粗矮体胖,脸圆,颈短,盾状胸,短指(趾)畸形,多见于第四、五掌跖骨。皮下钙化及颅内基底节钙化,常伴有智力低下及嗅觉减退。血钙、磷水平正常。甲状旁腺功能检查正常。不伴有激素抵抗,对外源性甲状旁腺激素(PTH)注射的反应与正常人相同。本例患者具有典型的 AHO 体型,血钙、磷正常,PTH 正常。虽未行 PTH 输注试验,但其临床诊断 PPHP 基本成立。有人认为,PPHP 属于轻型肾不反应,呈骨反应型甲状旁腺功能减退,家族中可有相同患者。有些患者在随诊中或身体需要钙量增加时,血尿生化改变,成为真正的假性甲状旁腺功能减退。因此,对本例患者应注意随访观察。