



中国南北汉族人群HLA-A*02等位基因的分布差异

人类白细胞抗原(HLA)-A是经典I类移植抗原,HLA-A*02是其中最大的一个等位基因家族。研究发现,HLA-A至少包括86个A*02等位基因[1]。在HLA-A的8个外显子中,绝大多数A*02等位基因的序列差异集中在外显子2、3和4上,通过对这三个外显子的核酸序列分析,能比较准确地确定A*02等位基因。一般认为,中华民族在血缘关系上可分为南北两群[2]。我们曾以北纬30度为界,对4707个南方汉族人群和2258个北方汉族人群进行HLA-A、B、DRB1的基因多态性分析研究,发现中国南北汉族人群的HLA基因分布格局存在明显差异,而A*02等位基因频率在南北汉族人群中则不具有统计学差异($P>0.05$) [3]。

为进一步了解中国南北汉族人群的HLA-A*02等位基因家族的分布特点,我们采用结合聚合酶链式反应的测序分型技术(PCR-SBT)对上述人群中随机抽取的337例HLA-A*02阳性个体进行了序列分析,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

汉族骨髓志愿供者8 000份,按照籍贯的地理位置以北纬30度为界分为南北两组,所有供者均采用PCR-序列特异性引物(SSP)技术进行了HLA-A、B、DRB1基因分型(引物购自美国G&T Biotech公司)。将HLA-A*02阳性的供者进行编号,采用随机数字表[4]进行抽样,抽取南方个体208例、北方个体129例。

1.2 基因组DNA的制备

采用Puregene DNA Isolation Kit提取(美国Gentra公司)。

1.3 HLA-A*02的PCR-SBT

PCR引物和测序引物及方法见文献[5]。

1.4 统计学方法

采用直接计数法计算各人群的HLA-A*02各等位基因的相对频率(relative frequency, RF)。如果经PCR-SBT检测只观察到一个HLA-A*02等位基因,则认为是该等位基因的纯合子,该等位基因计数2次。等位基因频率(allele frequency, AF)计算则按照文献[3]的方法进行。

对南北两组汉族人群的HLA-A*02的总体分布采用行X列表 χ^2 检验;各等位基因的组间比较采用四格表 χ^2 检验,如果理论个体数小于5时,采用四格表 χ^2 检验的校正方法。

2 结果

2.1 南北汉族人群HLA-A*02等位基因分布与比较

南北两组样本中均检出A*020101、A*0203、A*0205、A*0206、A*0207和A*0210等6种等位基因,两个群体A*02等位基因的分布不一(表1)。

表 1 中国南北汉族人群 HLA-A*02 等位基因的分布

HLA-A*	Southerners (n=208)		Northerners (n=129)		P value
	n	CR(%)	n	CR(%)	
020101	74	31	72	48	<0.005
0203	38	16	8	5	<0.005
0205	3	1	3	2	>0.750
0206	34	14	31	21	>0.050
0207	89	37	34	23	<0.005
0210	2	1	2	1	>0.900
Total	240*	100	150*	100	<0.005

*:A total of 240 and 150 HLA-A*02 alleles were detected in 208 southerners and 129 northerners, respectively.

南方汉族人A*02的分布相对分散,上述6种等位基因的相对频率依次为31%、16%、1%、14%、37%和1%;A*0207为其优势基因,但优势并不明显,A*020101、A*0203和A*0206比较常见。

北方汉族人A*02分布则比较集中,上述6种等位基因的相对频率依次为48%、5%、2%、21%、23%和1%,优势基因为A*020101且其频率明显高于其它各A*02等位基因,A*0206和A*0207比较常见,但A*0203频率较南方汉族低。两个群体中A*0205和A*0210均比较少见。

χ^2 检验结果表明,南北汉族人A*02等位基因的总体分布呈现显著性差异($P<0.005$),其中A*020101、A*0203和A*0207三个等位基因的相对频率在两个群体间存在显著性差异($P<0.005$),而A*0205、A*0206和A*0210则不具有统计学差异($P>0.05$)。南方汉族人A*0203和A*0207的基因频率明显高于北方汉族,而A*020101的基因频率则明显低于北方汉族。

2.2 南北汉族人群HLA-A*02杂合度

南北两组均呈现高度杂合,在低分辨率水平(星号后两位数),208个南方和129个北方个体中分别有32个和21个纯合子,A*02杂合度分别为85%(176/208)和84%(108/129);而在高分辨率水平(星号后四位数)则分别达到96%(199/208)和92%(118/129)。

另外,低分辨率纯合子在高分辨率水平上表现出多样性(表2),分别可见12种和8种基因型,南北两组纯合子均表现为各自常见A*02等位基因,纯合子比率差异较大,分别为28%(9/32)和52%(11/21);而杂合子均主要表现为各自优势基因的相关组合,南方人为A*020101/0207和A*0206/0207组合,而北方人则为A*020101/0206。

表 2 中国南北汉族人群 HLA-A*02 纯合子的组合

HLA-A*	Southerners (n=32)						Northerners (n=21)					
	020101	0203	0205	0206	0207	0210	020101	0203	0205	0206	0207	0210
020101	4	3	1	2	6	0	8	1	0	4	2	1
0203		1	0	2	3	0		0	0	0	0	0
0205			0	0	0	0			0	0	0	0
0206				1	6	0			1	2	0	
0207					3	0				2	0	
0210						0						0

3 讨论

HLA-A*02是人群中分布最广的I类分子和最大的HLA-A座位等位基因家族,一直是HLA群体遗传学中的一个研究热点[6][7][8][9][10][11][12][13][14][15],可见于全世界各主要种族人群,其分布具有种族特异性、种族间分布不平衡和同一人种内部各等位基因分布存在地理差异等特点[16],因而被认为是人类学研究中的一个“人口特定”标志[15];同时HLA-A*02在HLA结构与功能[17]、等位基因差异与移植预后关系[18]以及与疾病的相关性[19]等研究中也具有重要应用价值。

我们在以北纬30度为界划分的南北汉族两个群体中均只检测到A*020101、A*0203、A*0205、A*0206、A*0207和A*0210这6种A*02等位基因,两个群体中A*02等位基因的分布各具特色并具有明显差异,证实了同一人种内部A*02各等位基因分布存在地理差异,也进一步支持

中国汉族人群可分为南北两类的假设[2][20]。

从表3可以看出，中国人群中的A*02基因频率多数大于0.3，主要的A*02等位基因为A*0201(01)、A*0203、A*0205、A*0206、A*0207、A*0210和A*0211等7种。其中A*0201(01)可见于所有中国人群，其分布频率随纬度下降呈下降趋势；A*0203、A*0206和A*0207见于除维族[8]外的所有人群，A*0206在南北两个群体中的频率比较接近，而A*0203和A*0207在南方人群(湖南地区[9]除外)中的频率要明显高于北方人群；A*0205和A*0210见于大多数中国人群，除维族[8]中A*0205频率较高外，其余地区频率均比较低；A*0211频率较低，仅见于小部分中国人群；而A*0202、A*0209、A*0212和A*0246仅在个别地区中个例出现。两个群体中具有明显差异的是A*020101、A*0203和A*0207，考虑可以作为人类学研究中区分南北汉族人群的遗传标志。北方汉族A*02等位基因的分布特征在大连[12]、北京[7][13][14]、上海[15]以及包括陕西、沈阳[6]等地的北方汉族人群中均能清楚体现，沈阳汉族人[14]除其A*0211相对频率(高达18%)明显高于其他汉族人群外也符合以上特征。中国香港人[10]和新加坡华人[11]与南方汉族结果比较一致，这与二者人群分别主要源于广东、广东和福建的历史相符合[10]；西双版纳地区傣族[15]的结果与南方汉族结果也比较接近，但其A*0207优势明显(高达67%)而A*020101较低(仅有2%)，显示了与南方汉族人群的遗传差异。而属于南方人群的湖南汉族，其分布趋势则比较符合北方汉族人群的分布特征，与袁义达等[20]以武夷山和南岭为分界线划分南北汉族的结果相一致，湖南汉族分类上的这种不一致也提示中国汉族人群合理的南北分界线尚有待更多的群体遗传学和人类学等研究来予以明确；但不能忽视的是湖南汉族研究样本过少，群体中A*02总频率以及A*02各等位基因频率均明显低于其他中国人群，其结果有待进一步证实。比较有趣的是，广州汉族兼有南北汉族的分布特征：以A*020101为优势基因同时具有高频率的A*0203(是已知中国人群中的最高频率)，提示广州汉族群体的形成过程中可能受南北汉族的双重影响，与肖露露等[21]观点比较接近。

表3 不同汉族人群的 HLA-A*02 等位基因频率

Tab.3 Allele frequencies of HLA-A*02 in different Han populations

HLA-A*	North Chinapopulation*				South Chinapopulation*				
	Northerner (n=129a)	Northerner ^b (n=161)	Beijing ^[7] (n=67)	Uygur ^[8] (n=162)	Southerner (n=208 ^a)	Hunan ^[9] (n=40)	Guangzhou ^[7] (n=102)	Singapore ^[11] (n=149)	HongKong ^[11] (n=572)
0201(01)	0.148	0.155	0.187	0.114	0.095	0.120	0.128	0.062	0.104
0202	0	0.003	0	0	0	0	0	0	0
0203	0.016	0.028	0.008	0	0.049	0.004	0.098	0.078	0.067
0205	0.006	0.012	0	0.059	0.003	0	0.005	0	0
0206	0.064	0.028	0.048	0	0.043	0.004	0.040	0.047	0.040
0207	0.070	0.031	0.067	0	0.114	0.005	0.033	0.131	0.131
0209	0	0.003	0	0	0	0	0	0	0
0210	0.004	0	0	0.003	0.003	0.001	0.025	0	0.003
0211	0	0.003	0	0.003	0	0	0	0	0
0212	0	0.003	0	0	0	0	0	0	0
0246	0	0.003	N	0	0	N	N	0	N
Total	0.308	0.269	0.310	0.179	0.307	0.134	0.329	0.318	0.345

*:The boundary was located around latitude 30 degrees north.^[2]; ^a:HLA-A*02 positive samples of a total of 129 northerners and 208 southerners were randomly selected from those of 8000 registered Chinese Han bone marrow donors; ^b:The studied population including Shanxi, Beijing and Shenyang Chinese Han population; N:Not tested.

在高、低分辨率两个水平上，南北汉族A*02等位基因的分布均呈现高度杂合，并且低分辨率A*02纯合子在高分辨率水平上表现高度多样性。这一方面增加了找到配合的骨髓(造血干细胞)移植供者的难度，但同时也提示对低分辨率配合无关供受者对进行高分辨率配型的重要性。虽然这些A*02等位基因之间的序列仅相差1到数个碱基，但已有研究证实不同的A*02等位基因能诱导不同的T细胞反应[17]；同时也有研究表明A*02等位基因不配合的无关供受者对，其受者接受骨髓(造血干细胞)移植后的存活率要明显低于A*02等位基因配合的受者[18]。而另一方面，也提示在HLA-A*02的相关研究如与疾病相关性的研究中，由于分型方法的分辨率水平的差异，可能会导致一些研究结果的不一致性。Zarepari S等认为与阿耳茨海默氏病(AD)具有关联关系的是A2纯合子而不是多数作者所认为的A2杂合子就是一个典型实例[19]。因此，HLA高分辨率分型技术(如PCR-SBT技术)在移植配型以及其他HLA的相关研究中均具有重要应用价值。

另外，低分辨率的A*02纯合子在高分辨率水平上的分布还具有一定规律性，纯合子主要为相应群体的常见型，杂合子则表现为相应优势基因的相关组合。根据南北汉族人群A*02等位基因的分布特征，并结合这种高分辨率水平上的规律性分布，对于A*02等位基因配合的骨髓(造血干细胞)移植供者的寻找和选择具有非常重要的指导价值。

致谢：感谢本所邵超鹏博士和美国国立卫生研究院赵桐茂研究员对本研究所提供的帮助！

参考文献：

- [1] <http://www.ebi.ac.uk/imgt/HLA>.
- [2] 赵桐茂. 人类血型遗传学[M]. 北京：科学出版社，1987. 363- 5.
- [3] 吴国光，邓志辉，高素青，等. 中国汉族骨髓供者HLA多态性的研究[J]. 中华血液学杂志，2004，25(8)：474-8.

- Wu GG, Deng ZH, Gao SQ, et al. Study of HLA polymorphism in the Chinese Han bone marrow registry donors[J]. Chin J Hematol, 2004, 25(8): 474-8.
- [4] 孙振球, 徐勇勇. 医学统计学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 540.
- [5] Pera C, Parodi AM, Ferrara GB. Sequence-based typing for HLA-A long & medium size PCR protocol[A]. In: Tilanus MGJ, Hansen JH, Hurlley CK, eds. IHWG technical manual, genomic analysis of the human MHC: DNA-based typing for HLA alleles and linked polymorphisms 2000: Publication of the 13th International Histocompatibility Working Group[M]. Seattle: Fred Hutchinson Cancer Research Center, 2000.
- [6] Yan CX, Wang RL, Li JX, et al. HLA-A gene polymorphism defined by high-resolution sequence-based typing in 161 northern Chinese Han people[J]. Geno Prot Bioinfo, 2003, 1(4): 304-9.
- [7] 孙筱放, 孙逸平, 麦卫阳, 等. 中国南北地区两个人群HLA-A座位DNA分型的比较研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 1999, 16(2): 70-3.
- Sun XF, Sun YP, Mei WY, et al. A comparative study of HLA-A locus in Northern and Southern Chinese by means of PCR/SSOP typing[J]. Chin J Med Genet, 1999, 16(2): 70-3.
- [8] 闫春霞, 宋艳萍, 赖淑萍, 等. 应用PCR-SSOP技术研究中国汉族、维吾尔族HLA-A基因座基因多态性[J]. 遗传学报, 2002, 29(5): 384-9.
- Yan CX, Song YP, Lai SP, et al. Analysis of DNA polymorphism at HLA-A locus by PCR amplification with sequence specific oligonucleotide probe in Chinese Han and Uygur populations[J]. Acta Genet Sin, 2002, 29(5): 384-9.
- [9] 田伟, 李立新, 郭实士, 等. 中国南方汉族群体HLA-A2基因亚型分析[J]. 中国免疫学杂志, 2000, 16(4): 198-9.
- [10] Middleton D, Hawkins BR, Williams F, et al. HLA class I allele distribution of a Hong Kong Chinese population based on high-resolution PCR-SSOP typing[J]. Tissue Antigens, 2004, 63: 555-61.
- [11] Middleton D, Williams F, Meenagh A, et al. Analysis of the distribution of HLA-A alleles in populations from five continents[J]. Hum Immunol, 2000, 61: 1048-52.
- [12] 梁晓华, 陈玫, 胡荣花, 等. 大连地区HLA-A2人群基因多态性分析[J]. 中国输血杂志(Chin J Blood Transfus), 2000, 13(1): 18.
- [13] 侯亚非, 孙宗棠, Appella E, 等. 北方汉族人群HLA-A2亚型分布及p53的合成肽体外诱导CTL反应[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1999, 19(1): 47-50.
- Hou YF, Sun ZT, Appella E, et al. HLA-A2 subtype distribution among Beijing Chinese and its effect on CTL response in vitro to p53 protein based synthetic peptides loaded on dendritic cells[J]. Chin J Microbiol Immunol, 1999, 19(1): 47-50.
- [14] Fan L, Chen D, Gou S, et al. 12th International Histocompatibility Workgroup anthropology regional report: Asia-China, HLA and disease [A]. Oxford University Press, 1997, 292-4.
- [15] 翟宁, 冯喆, 张雁征, 等. 沈阳地区汉族HLA-A*02亚型等位基因分布[J]. 中华医学遗传学杂志(Chin J Med Genet), 1999, 16(5): 344-5.
- [16] 任素萍. HLA-A2分子生物学研究进展[J]. 国外医学·分子生物学分册(Foreign Med Sci·Mol Biol Section), 1999, 21(3): 170-4.
- [17] Michael B, Peter K. Genetic diversity of HLA-A2: evolutionary and functional significance[J]. Immunol Today, 1996, 17(4): 165-70.
- [18] Morishima Y, Tannka Y, Mari M, et al. HLA-A2 allele disparity and its effect to clinical outcome in hematopoietic cell transplantation (HCT) from unrelated donors[A]. In: Hansen JA, Dupont B, eds. HLA 2004: Immunobiology of the Human MHC. Proceedings of 13th International Histocompatibility Workgroup and Congress. Volume I & II[M]. Seattle: IHWG Press, 2004.
- [19] Zarepari S, James BS, Kaye JA, et al. HLA-A2 homozygosity but not heterozygosity is associated with Alzheimer disease [J]. Neurology, 2002, 58: 973-5.
- [20] 袁义达, 张诚. 中国姓氏: 群体遗传和人口分布[M]. 上海: 华东师范大学出版社, 2002. 71-2.
- [21] 肖露露, 陈洪涛, 叶欣, 等. HLA多态性在广东汉族人群分布的特殊性[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1999, 19(4): 302-5.
- Xiao LL, Chen HT, Ye X, et al. Characterization and distribution of HLA polymorphism in the Guangdong Han population[J]. Chin J Microbiol Immunol, 1999, 19(4): 302-5.

参考文献:

- [1] <http://www.ebi.ac.uk/imgt/HLA>.
- [2] 赵桐茂. 人类血型遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 1987. 363-5.
- [3] 吴国光, 邓志辉, 高素青, 等. 中国汉族骨髓供者HLA多态性的研究[J]. 中华血液学杂志, 2004, 25(8): 474-8.
- Wu GG, Deng ZH, Gao SQ, et al. Study of HLA polymorphism in the Chinese Han bone marrow registry donors[J]. Chin J Hematol, 2004, 25(8): 474-8.
- [4] 孙振球, 徐勇勇. 医学统计学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 540.
- [5] Pera C, Parodi AM, Ferrara GB. Sequence-based typing for HLA-A long & medium size PCR protocol[A]. In:

Tilanus MGJ, Hansen JH, Hurlley CK, eds. IHWG technical manual, genomic analysis of the human MHC: DNA-based typing for HLA alleles and linked polymorphisms 2000: Publication of the 13th International Histocompatibility Working Group[M]. Seattle: Fred Hutchinson Cancer Research Center, 2000.

[6] Yan CX, Wang RL, Li JX, et al. HLA-A gene polymorphism defined by high-resolution sequence-based typing in 161 northern Chinese Han people[J]. *Geno Prot Bioinfo*, 2003, 1(4): 304-9.

[7] 孙筱放, 孙逸平, 麦卫阳, 等. 中国南北地区两个人群HLA-A座位DNA分型的比较研究[J]. *中华医学遗传学杂志*, 1999, 16(2): 70-3.

Sun XF, Sun YP, Mei WY, et al. A comparative study of HLA-A locus in Northern and Southern Chinese by means of PCR/SSOP typing[J]. *Chin J Med Genet*, 1999, 16(2): 70-3.

[8] 闫春霞, 宋艳萍, 赖淑萍, 等. 应用PCR-SSOP技术研究中国汉族、维吾尔族HLA-A基因座基因多态性[J]. *遗传学报*, 2002, 29(5): 384-9.

Yan CX, Song YP, Lai SP, et al. Analysis of DNA polymorphism at HLA-A locus by PCR amplification with sequence specific oligonucleotide probe in Chinese Han and Uygur populations[J]. *Acta Genet Sin*, 2002, 29(5): 384-9.

[9] 田伟, 李立新, 郭实士, 等. 中国南方汉族群体HLA-A2基因亚型分析[J]. *中国免疫学杂志*, 2000, 16(4): 198-9.

[10] Middleton D, Hawkins BR, Williams F, et al. HLA class I allele distribution of a Hong Kong Chinese population based on high-resolution PCR-SSOP typing[J]. *Tissue Antigens*, 2004, 63: 555-61.

[11] Middleton D, Williams F, Meenagh A, et al. Analysis of the distribution of HLA-A alleles in populations from five continents[J]. *Hum Immunol*, 2000, 61: 1048-52.

[12] 梁晓华, 陈玫, 胡荣花, 等. 大连地区HLA-A2人群基因多态性分析[J]. *中国输血杂志(Chin J Blood Transfus)*, 2000, 13(1): 18.

[13] 侯亚非, 孙宗棠, Appella E, 等. 北方汉族人群HLA-A2亚型分布及p53的合成肽体外诱导CTL反应[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 1999, 19(1): 47-50.

Hou YF, Sun ZT, Appella E, et al. HLA-A2 subtype distribution among Beijing Chinese and its effect on CTL response in vitro to p53 protein based synthetic peptides loaded on dendritic cells[J]. *Chin J Microbiol Immunol*, 1999, 19(1): 47-50.

[14] Fan L, Chen D, Gou S, et al. 12th International Histocompatibility Workgroup anthropology regional report: Asia-China, HLA and disease [A]. Oxford University Press, 1997, 292-4.

[15] 翟宁, 冯喆, 张雁征, 等. 沈阳地区汉族HLA-A*02亚型等位基因分布[J]. *中华医学遗传学杂志(Chin J Med Genet)*, 1999, 16(5): 344-5.

[16] 任素萍. HLA-A2分子生物学研究进展[J]. *国外医学·分子生物学分册(Foreign Med Sci·Mol Biol Section)*, 1999, 21(3): 170-4.

[17] Michael B, Peter K. Genetic diversity of HLA-A2: evolutionary and functional significance[J]. *Immunol Today*, 1996, 17(4): 165-70.

[18] Morishima Y, Tannka Y, Mari M, et al. HLA-A2 allele disparity and its effect to clinical outcome in hematopoietic cell transplantation (HCT) from unrelated donors[A]. In: Hansen JA, Dupont B, eds. *HLA 2004: Immunobiology of the Human MHC. Proceedings of 13th International Histocompatibility Workgroup and Congress. Volume I & II*[M]. Seattle: IHWG Press, 2004.

[19] Zarepari S, James BS, Kaye JA, et al. HLA-A2 homozygosity but not heterozygosity is associated with Alzheimer disease [J]. *Neurology*, 2002, 58: 973-5.

[20] 袁义达, 张诚. *中国姓氏: 群体遗传和人口分布*[M]. 上海: 华东师范大学出版社, 2002. 71-2.

[21] 肖露露, 陈洪涛, 叶欣, 等. HLA多态性在广东汉族人群分布的特殊性[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 1999, 19(4): 302-5.

Xiao LL, Chen HT, Ye X, et al. Characterization and distribution of HLA polymorphism in the Guangdong Han population[J]. *Chin J Microbiol Immunol*, 1999, 19(4): 302-5.