



## 广东汉族人群HLA-Cw多态性及单体型分析

人类白细胞抗原 (HLA) 位于第6号染色体短臂6p21.3区域, 是人类基因组中最复杂的免疫遗传系统。不同地域和种族HLA多态性差异较大, 并且不同HLA基因座位之间存在显著的连锁不平衡现象, 是人类遗传学的重要标志。对于HLA-A、B、DRB1基因多态性及其单体型的研究较为深入, 然而尚缺乏大样本、华人HLA-Cw基因多态性及其单型的分析资料, 这是由于HLA-Cw抗原在细胞表面表达水平较低, 难于获得可靠性强、特异性高的标准血清, 采用传统血清学分型技术检测HLA-Cw空白抗原频率高达40%~50%[1]。随着分子生物学技术的不断发展, 基因分型技术的应用使HLA-Cw基因型检测的准确性及成功率大为提高。本研究旨在分析广东汉族人群HLA-Cw基因多态性及其与HLA-A、B、DRB1位点间连锁不平衡规律, 为群体遗传学、法医学、人类学研究提供参数, 同时也为HLA与疾病相关性研究、骨髓/造血干细胞移植供者选择提供信息。

### 1 材料和方法

#### 1.1 标本收集

1996~2000年广东地区骨髓移植供者185例, ACD-B抗凝血。

#### 1.2 模板DNA提取

使用QIAamp DNA mini kit (QIAGEN, Germany), Pharmacia Gene Quant RNA/DNA Calculator 测定DNA纯度和浓度。

#### 1.3 半量全自动PCR-RSSO分型

按有关文献操作步骤进行[2]。用DYNAL AUTO RELI48全自动杂交仪将检测变性PCR产物。HLA-A、B、Cw、DRB1基因型采用DYNAL公司PMP503版本和美国骨髓库编码软件(NMDP)分析后经人工技术判断结果。

#### 1.4 统计学处理

HLA-A、B、Cw、DRB1基因频率采用直接计数法计算, HLA-Cw与HLA-A、B、DRB1双座位连锁不平衡参数(LD)、相对连锁不平衡参数(RLD)及 $\chi^2$ 检验LD显著性参见文献[3]。

### 2 结果

#### 2.1 HLA-A、B、Cw、DRB1基因频率

采用直接计数法统计的广东汉族人群HLA-A、B、Cw、DRB1基因频率分布见表1。在中分辨水平检出HLA-A等位基因12个, HLA-B等位基因23个, HLA-Cw等位基因11个, HLA-DRB1等位基因13个。广东汉族人群HLA-A\*A\*11(0.3344)、A\*02(0.2974)、A\*24(0.1358)、A\*33(0.1285), HLA-B\*B\*60(0.1285)、B\*75(0.1213)、B\*58(0.1177)、B\*46(0.1141), HLA-Cw\*Cw\*03(0.2580)、Cw\*07(0.1887)、Cw\*01(0.1732)Cw\*08(0.1071), HLA-DRB1\*12(0.1771)、DRB1\*14(0.1213)、DRB1\*09(0.1141)具有较高的基因频率分布

(>0.10)。

表 1 广东汉族人群 HLA-A、B、Cw、DRB1 基因频率  
( $n=185$ )

**Tab.1 Allele frequencies of HLA-A, B, Cw and DRB1  
in Guangdong Han population ( $n=185$ )**

HLA Locus	Allele	Allele frequency
HLA-A	01	0.012 7
	02	0.297 4
	11	0.334 4
	23	0.006 3
	24	0.135 8
	26	0.019 2
	30	0.019 2
	31	0.012 7
	32	0.012 7
	33	0.128 6
	66	0.006 3
	68	0.006 3
	blank	0.007 5
	HLA-B	07
13		0.072 2
15		0.012 7
17		0.006 3
27		0.006 3
35		0.025 6
37		0.012 7
38		0.038 7
39		0.025 6
40		0.006 3
44		0.032 2
46		0.114 1
51		0.072 2
52		0.012 7
54		0.052 0
55	0.019 2	

57	0.019 2
58	0.117 4
60	0.128 5
61	0.035 4
62	0.032 2
75	0.012 7
76	0.012 7
blank	0.024 3

HLA-Cw

0.1	0.173 2
03 (9, 10)	0.258 0
04	0.058 0
05	0.012 7
06	0.032 2
07	0.188 7

HLA Locus	Allele	Allele frequency
	08	0.107 0
	12	0.038 7
	14	0.065 4
	15	0.045 3
	16	0.003 2
	blank	0.016 9

HLA-DRB1

01	0.019 2
04	0.092 9
07	0.032 2
08	0.079 1
09	0.114 1
10	0.019 2
11	0.052 0
12	0.177 1
13	0.045 3
14	0.121 3
15	0.092 9
16	0.038 7
17	0.079 1

## 2.2 HLA-A-Cw、HLA-Cw-B、HLA-Cw-DRB1双座位单体型频率

按照文献估算双座位单体型频率(HF)、连锁不平衡参数(LD)、相对连锁不平衡参数(RLD)及 $\chi^2$ 值见表2。表2显示为存在显著连锁不平衡( $\chi^2 > 3.84$ ,  $P < 0.05$ )的单体型, HLA-A-Cw单体型7个, HLA-Cw-B单体型20个, HLA-Cw-DRB1单体型10个。其中A\*02-Cw\*01、A\*33-Cw\*03、Cw\*01-B\*46、Cw\*03-B\*13、Cw\*03-B\*58、Cw\*08-B\*75、Cw\*14-B\*51、Cw\*03-DRB1\*17、Cw\*08-DRB1\*12呈现非常显著的连锁不平衡( $\chi^2 > 10.83$ ,  $P < 0.001$ )。

表 2 广东汉族人群 HLA 双座位单体型分布  
Tab.2 Distribution of HLA two-locus haplotypes in  
Guangdong Han population

Two-locus	Haplotype	HF	LD	RLD	$\chi^2$
Cw-A					
	Cw*01-A*02	0.116 9	0.065 4	0.537 4	21.230 0
	Cw*03-A*33	0.093 6	0.060 4	0.633 6	22.764 8
	Cw*05-A*11	0.012 7	0.008 5	1.000 0	4.1246 3
	Cw*06-A*30	0.012 6	0.012 0	0.646 4	3.973 0
	Cw*07-A*11	0.096 8	0.033 7	0.268 1	4.387 6
	Cw*08-A*11	0.062 7	0.027 0	0.378 5	4.725 6
	Cw*12-A*11	0.029 2	0.016 2	0.628 1	4.667 0
Cw-B					
	Cw*01-B*46	0.106 4	0.080 6	0.854 9	43.544 1
	Cw*01-B*54	0.036 5	0.027 5	0.640 4	9.367 0
	Cw*03-B*13	0.055 0	0.036 3	0.678 0	12.839 0
	Cw*03-B*15	0.012 7	0.009 5	1.000 0	4.136 5
	Cw*03-B*58	0.113 4	0.083 1	0.951 0	45.647 3
	Cw*04-B*76	0.012 7	0.012 0	1.000 0	4.155 3
	Cw*05-B*44	0.012 7	0.010 3	1.000 0	4.144 6
	Cw*05-B*62	0.012 7	0.012 3	1.000 0	4.156 9
	Cw*06-B*57	0.012 6	0.012 0	0.646 4	3.973 0
	Cw*07-B*27	0.017 8	0.013 0	0.623 2	4.050 6
	Cw*07-B*35	0.017 8	0.012 7	0.623 2	4.050 6
	Cw*07-B*38	0.030 9	0.023 6	0.750 5	8.534 0
	Cw*07-B*39	0.025 6	0.020 8	1.000 0	8.606 7
	Cw*07-B*60	0.055 0	0.030 7	0.294 6	6.606 9
	Cw*08-B*75	0.074 0	0.061 0	0.648 6	25.264 8

Cw*12-B*52	0.012 7	0.012 2	1.000 0	4.154 8
Cw*14-B*44	0.018 5	0.016 4	0.546 1	5.377 5
Cw*14-B*51	0.037 7	0.033 0	0.543 7	11.789 3
Cw*14-B*52	0.012 7	0.019 9	1.000 0	4.154 8
Cw*15-B*51	0.017 6	0.014 3	0.341 3	4.149 7

#### Cw-DRB1

Cw*01-DRB1*09	0.042 1	0.022 3	0.236 4	4.073 0
Cw*03-DRB1*11	0.034 7	0.021 3	0.552 6	5.970 3
Cw*03-DRB1*15	0.034 7	0.021 3	0.552 6	5.970 3
Cw*03-DRB1*17	0.066 2	0.045 8	0.780 1	18.740 3
Cw*04-DRB1*15	0.023 1	0.017 6	0.331 5	4.886 5
Cw*06-DRB1*07	0.025 6	0.024 6	0.789 2	8.588 1
Cw*08-DRB1*08	0.028 0	0.019 5	0.276 8	4.889 4
Cw*08-DRB1*12	0.059 5	0.040 5	0.460 3	12.496 9
Cw*12-DRB1*12	0.023 2	0.016 3	0.512 5	4.660 3
Cw*14-DRB1*13	0.017 8	0.014 9	0.351 0	4.430 6

HF: Haplotype frequency; LD: Linkage disequilibrium; RLD:  
Relative linkage disequilibrium

### 3 讨论

近年来HLA-Cw的研究取得了长足进步,以往认为Cw不具广泛多态性,在细胞表面表达水平较低,生物学功能有限,近年来认识到HLA-Cw与HLA-A、B分子一样具有高度多态性,广泛分布于有核细胞表面,不仅提呈内源性多肽给CD8+T细胞,诱发特异性细胞杀伤效应,还可作为NK细胞免疫球蛋白样受体(KIR)的配体参与免疫反应[4]。同时其与疾病相关性研究、在移植免疫、抗病毒、抗肿瘤免疫中的作用日益受到重视。

采用半量全自动PCR-RSS0分型技术检测广东汉族人群HLA-Cw,空白基因频率仅为0.0169。在中分辨水平共检出11个Cw等位基因,表明广东汉族人群HLA-Cw具有较为丰富的多态性与特点。广东汉族人群中Cw\*03、07、01、08具有相对较高的频率分布(>0.10),上海汉族Cw\*03、01、06、07出现频率较高[5],台湾闽南及客家人群中Cw\*03、07、01分布频率较高,但Cw\*08频率较低[6],日本人高频Cw等位基因依次为Cw\*03,07,01,14[7]。HLA-Cw在上述东亚人群中分布具有相似性,Cw\*03,01,07在这些群体中分布频率均较高,而Cw\*02、13、16、17、18频率均较低或未检出。广东汉族与欧洲高加索人、西非人群[8][9]Cw分布频率差异较大。Cw\*07,03,04,06,05在高加索人中分布频率较高,Cw\*04,16,03,07在非洲人中具有高频分布。在广东、上海、台湾、日本人中属于高频基因的Cw\*01,在高加索及西非人中表现为低频分布。在上述东亚人群中较少见的Cw\*16、17、18,在西非人中出现频率相对较高。表明不同地域、不同人种HLA-Cw频率分布存在较明显的差异。

广东汉族人群存在连锁不平衡的A-Cw单体型主要有A\*02-Cw\*01、A\*33-Cw\*03、A\*11-Cw\*05、A\*11-Cw\*07等7个,Cw-B单体型主要有Cw\*01-B\*46、Cw\*03-B\*13、Cw\*03-B\*58、Cw\*08-B\*75、Cw\*14-B\*51等

20个, Cw-DRB1单体型有Cw\*03-DRB1\*17、Cw\*08-DRB1\*12、Cw\*06-DRB1\*07、Cw\*03-DRB1\*11等10个。HLA-B、Cw位点在染色体上相距仅100 kb, 而A、Cw位点间相距约1 500 kb, Cw、DRB1间距约1 300 kb, 因此HLA-Cw与HLA-B位点间具有更强的连锁不平衡倾向, 本次研究结果显示HLA-B-Cw单体型明显多于Cw-A及Cw-DRB1, 也证实了这一点。广东汉族人群中仅具有7个Cw-A单体型, 其中呈现强连锁不平衡的Cw\*01-A\*02, 在朝鲜及日本人中亦常见, 广东人群常见的Cw\*03-A\*33、Cw\*06-A\*30单体型在朝鲜人可见但日本人群未见。在日本、朝鲜人及欧洲人群均检出的Cw\*04-A\*11, 在广东汉族中两者不存在显著关联。7个Cw-A均与欧洲人群常见的Cw-A单体型不同, 后者主要为: Cw\*07-A\*01、Cw\*05-A\*02、Cw\*04-A\*03等。广东汉族Cw-B单体型丰富, 其中Cw\*03-B\*13、Cw\*03-B\*15、Cw\*07-B\*39、Cw\*14-B\*51、Cw\*14-B\*52、Cw\*15-B\*51在日本及欧洲人群中均常见, 而Cw\*01-B\*46和Cw\*14-B\*44在广东及日本人群常见, 于欧洲人群中未检测到。广东及欧洲人群都具有的Cw\*05-B\*44、Cw\*06-B\*57、Cw\*07-B\*27在日本人群未见。广东人群具有的其它单体型如: Cw\*04-B\*76、Cw\*05-B\*62、Cw\*07-B\*35、Cw\*07-B\*38、Cw\*07-B\*60、Cw\*08-B\*75、Cw\*12-B\*52在日本和欧洲人群均未检出[7][10][11][12]。广东汉族Cw-DRB1连锁不平衡强度介于Cw-B与Cw-A之间, 存在10个单体型, Cw\*03-DRB1\*17、Cw\*08-DRB1\*12呈现非常显著的连锁不平衡。说明不同地域、不同人种Cw与其它HLA基因构成的单体型各具特点, 并且存在较大差异。

综上所述, 广东汉族人群HLA-Cw基因具有较为丰富的多态性, 其与HLA-A、B、DRB1间连锁不平衡单体型具有地区性遗传特征。分析HLA-Cw基因多态性及其单体型分布特点, 为群体遗传学、法医学、人类学研究提供详尽的资料参数, 同时也为HLA与疾病相关性研究、骨髓/造血干细胞移植供者选择提供信息。

#### 参考文献:

- [1] Torio MA, Moya-Quiles MR, Muro M, et al. Discrepancies in HLA-C typing in transplantation: comparison of PCR-SSP and serology results[J]. Trans Proc, 2002, 34: 419-20.
- [2] 肖露露, 郝桂琴, 叶欣, 等. PCR-RSSO基础上HLA-I、II基因分型的研究[J]. 第一军医大学学报, 2003, 23(1): 58-61.
- Xiao LL, Hao GQ, Ye X, et al. HLA genotyping by automatic semi-quantitative polymerase chain reaction-reverse sequence specific oligonucleotide[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2003, 23(1): 58-61.
- [3] 谭建明, 周永昌, 唐孝达. 组织配型技术与临床应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 91-3.
- [4] Davies SM, Ruggieri L, et al. Evaluation of KIR ligand incompatibility in mismatch unrelated donor hematopoietic transplants killer immunoglobulin-like receptor[J]. Blood, 2002, 100(10): 3825-7.
- [5] 冯明亮, 张雁征, 杨颖, 等. PCR-SSP分型检测上海汉族人群HLA-Cw位点血清学和非血清学鉴定的等位基因[J]. 遗传学报, 1998, 25(2): 95-102.
- Feng ML, Zhang YZ, Yang Y, et al. HLA-Cw genotyping of serologically and non-serologically defined alleles using sequence-specific primers(PCR-SSP) in Shanghai Han population[J]. Acta Genet Sin, 1998, 25: 95-102.
- [6] Lin M, Chu CC, Chang SL, et al. The origin of Minnan and Hakka, the so called "Taiwanese" inferred by HLA study[J]. Tissue Antigens, 2001, 57: 192-9.
- [7] Saito S, Ota S, Yamada E, et al. Allele frequencies and haplotypic associations defined by allelic DNA typing at HLA class I and class II loci in the Japanese population [J]. Tissue Antigens, 2000, 56: 522-9.
- [8] Bunce M, Barnardo MC, Procter J, et al. High resolution HLA-C typing by PCR-SSP: identification of allelic frequencies and linkage disequilibria in 604 unrelated random UK Caucasoids and a comparison with serology[J]. Tissue Antigens, 1997, 50: 100-11.
- [9] Sanchez-Mazas A, Steiner QG, Grundschober C, et al. The molecular determination of HLA-Cw alleles in the Mandenka (West Africa) reveals a close genetic relationship

between Africans and Europeans[J]. *Tissue Antigens*. 2000, 56: 303-12.

[10] Park MH, Hwang YS, Park KS, et al. HLA haplotypes in Koreans based on 107 families[J]. *Tissue Antigens*, 1998, 51: 347-55.

[11] Wang H, Tokunaga K, Ishikawa H, et al. A high-resolution genotyping method for HLA-C alleles and possible shared HLA-C-B haplotypes between Japanese and Caucasians[J]. *Tissue Antigens*, 1997, 50: 620-6.

[12] Bugawan TL, Klitz W, Blair A, et al. High-resolution HLA class I typing in the CEPH families: analysis of linkage disequilibrium among HLA loci[J]. *Tissue Antigens*, 2000, 56: 392-404.

#### 参考文献:

[1] Torio MA, Moya-Quiles MR, Muro M, et al. Discrepancies in HLA-C typing in transplantation: comparison of PCR-SSP and serology results[J]. *Trans Proc*, 2002, 34: 419-20.

[2] 肖露露, 郝桂琴, 叶欣, 等. PCR-RSSO基础上HLA-I、II基因分型的研究[J]. *第一军医大学学报*, 2003, 23(1): 58-61.

Xiao LL, Hao GQ, Ye X, et al. HLA genotyping by automatic semi-quantitative polymerase chain reaction-reverse sequence specific oligonucleotide[J]. *J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2003, 23(1): 58-61.

[3] 谭建明, 周永昌, 唐孝达. *组织配型技术与临床应用*[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 91-3.

[4] Davies SM, Ruggieri L, et al. Evaluation of KIR ligand incompatibility in mismatch unrelated donor hematopoietic transplants killer immunoglobulin-like receptor[J]. *Blood*, 2002, 100(10): 3825-7.

[5] 冯明亮, 张雁征, 杨颖, 等. PCR-SSP分型检测上海汉族人群HLA-Cw位点血清学和非血清学鉴定的等位基因[J]. *遗传学报*, 1998, 25(2): 95-102.

Feng ML, Zhang YZ, Yang Y, et al. HLA-Cw genotyping of serologically and non-serologically defined alleles using sequence-specific primers(PCR-SSP) in Shanghai Han population[J]. *Acta Genet Sin*, 1998, 25: 95-102.

[6] Lin M, Chu CC, Chang SL, et al. The origin of Minnan and Hakka, the so called "Taiwanese" inferred by HLA study[J]. *Tissue Antigens*, 2001, 57: 192-9.

[7] Saito S, Ota S, Yamada E, et al. Allele frequencies and haplotypic associations defined by allelic DNA typing at HLA class I and class II loci in the Japanese population [J]. *Tissue Antigens*, 2000, 56: 522-9.

[8] Bunce M, Barnardo MC, Procter J, et al. High resolution HLA-C typing by PCR-SSP: identification of allelic frequencies and linkage disequilibria in 604 unrelated random UK Caucasoids and a comparison with serology[J]. *Tissue Antigens*, 1997, 50: 100-11.

[9] Sanchez-Mazas A, Steiner QG, Grundschober C, et al. The molecular determination of HLA-Cw alleles in the Mandenka (West Africa) reveals a close genetic relationship between Africans and Europeans[J]. *Tissue Antigens*. 2000, 56: 303-12.

[10] Park MH, Hwang YS, Park KS, et al. HLA haplotypes in Koreans based on 107 families[J]. *Tissue Antigens*, 1998, 51: 347-55.

[11] Wang H, Tokunaga K, Ishikawa H, et al. A high-resolution genotyping method for HLA-C alleles and possible shared HLA-C-B haplotypes between Japanese and Caucasians[J]. *Tissue Antigens*, 1997, 50: 620-6.

[12] Bugawan TL, Klitz W, Blair A, et al. High-resolution HLA class I typing in the CEPH families: analysis of linkage disequilibrium among HLA loci[J]. Tissue Antigens, 2000, 56: 392-404.

---

[回结果列表](#)