

中国南北汉族人群 HLA-A*02 等位基因的分布差异

程良红, 金士正, 高素青, 李 楨, 邹红岩, 王大明, 吴国光(深圳市血液中心, 广东 深圳 518035)

摘要:目的 研究中国南北汉族人群中 HLA-A*02 等位基因的分布并比较其差异性。方法 采用 PCR-SBT 方法,对随机抽取的经 PCR-SSP 方法确认为 HLA-A*02 阳性的 208 例南方和 129 例北方汉族骨髓志愿供者进行序列分型。结果 南、北汉族人两个群体中均检出具有不同基因频率的 6 种 A*02 等位基因(A*020101、A*0203、A*0205、A*0206、A*0207 和 A*0210)。南方汉族人中 A*0207(37%)为优势等位基因,A*020101(31%)、A*0203(16%)和 A*0206(14%)比较常见;而北方汉族人则以 A*020101(48%)为优势等位基因,A*0206(21%)和 A*0207(23%)比较常见。两个群体中的 A*02 等位基因总体分布以及 A*020101、A*0203 和 A*0207 的相对频率均存在显著性差异。在高、低分辨率两个水平上,南方和北方汉族 A*02 杂合度分别高于 90%和 80%,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并呈现一定的分布规律。结论 HLA-A*02 等位基因在中国南、北汉族人群中的分布呈现高度杂合和遗传多样性并具有显著性差异,HLA-A*020101、A*0203 和 A*0207 可作为人类学研究中区分中国南北汉族人群的遗传标志。

关键词:中国汉族;人类白细胞抗原;HLA-A*02;等位基因

中图分类号:Q347 文献标识码:A 文章编号:1000-2588(2005)03-0321-04

Difference in HLA-A*02 allele distribution between Han populations in south and north China

CHENG Liang-hong, JIN Shi-zheng, GAO Su-qing, LI Zhen, ZOU Hong-yan, WANG Da-ming, WU Guo-guang
Shenzhen Blood Center, Shenzhen 518035, China

Abstract: **Objective** To investigate the distributions of HLA-A*02 alleles in Han populations and compare their difference between the south and north in China. **Methods** A total of 208 individuals from south China and 109 from north China were randomly selected from registered bone marrow donors in Chinese Han population, who were tested positive for HLA-A*02 alleles by PCR with sequence-specific primers (PCR-SSP). Genotyping of the alleles was performed using PCR-sequence-based typing (PCR-SBT). **Results** Six different HLA-A*02 alleles (A*020101, A*0203, A*0205, A*0206, A*0207 and A*0210) were identified in the two Chinese Han populations, of which A*0207 (37%) was the predominant allele in southerners and A*020101 (48%) in the northerners. A*020101 (31%), A*0203 (16%) and A*0206 (14%) were common alleles in the southerners in comparison with A*0206(21%) and A*0207(23%) alleles in the northerners. The overall distribution of A*02 alleles and the frequencies of A*020101, A*0203 and A*0207 in the two populations differed significantly. The heterozygosity of A*02 in the southerners and northerners was higher than 90% and 80% at the high- and low-resolution levels, respectively, and the distribution of A*02 homozygote at low-resolution level in both populations showed diversity and regularity at high-resolution level. **Conclusions** HLA-A*02 alleles possess high heterogeneity and genetic diversity in Chinese Han population with significantly different distributions in the two populations. HLA-A*020101, A*0203 and A*0207 may serve as the genetic markers for dividing Chinese Han individuals into southerners and northerners in anthropological studies.

Keywords: Han Nationality; HLA; HLA-A*02; alleles

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

收稿日期:2004-09-18

基金项目:深圳市科技计划项目(200404134)

Sponsored by Scientific Research Program of Shenzhen (200404134)

作者简介:程良红(1975-),男,1997年毕业于湖南医科大学,本科,主要从事免疫遗传学研究,电话:0755-81617569,E-mail: chenglh99@yahoo.com.cn

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

Tab.1 Distribution of HLA-A*02 alleles of the Han population in south and north China

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。

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^[6-15],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

表 2 中国南北汉族人群 HLA-A*02 纯合子的组合

Tab.2 Combination of HLA-A*02 homozygote in Chinese Han southerners and northerners

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	

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,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,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;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,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。

在高、低分辨率两个水平上,南北汉族 A*02 等

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 China population [#]				South China population [#]				
	Northerner (n=129a)	Northerner ^b (n=161) ^[6]	Beijing ^[7] (n=67)	Uyгур ^[8] (n=162)	Southerner (n=208 ^a)	Hunan ^[9] (n=40)	Guangzhou ^[7] (n=102)	Singapore ^[11] (n=149)	Hong Kong ^[10] (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 8 000 registered Chinese Han bone marrow donors; ^b: The studied population including Shanxi, Beijing and Shenyang Chinese Han population; N: Not tested.

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。Zareparsis 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, Hurley 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 Uyur 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] Zareparsis 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.