中国广东汉族人 C_4、Bf 多态性及其补体单倍型研究

杨利平[1],温秀清[2],关艳冰[3],徐 娟[4],姜晓丹[5],赵修竹[5]([1]广州银屑病研究所,广东 广州 510095;[2]清远市中医院,广东 清远 511500;[3]广州市皮肤病防治研究所,广东 广州 510060;[4]深圳市福田区人民医院,广东 深圳 518033;[5]华中科技大学同济医学院中澳友谊补体实验室,湖北 武汉 430030)

摘要:目的 探讨广东汉族人 C_4、Bf 遗传多态性及其构成的补体单倍型频率。**方法** 用琼脂糖高压电泳及免疫固定的方法对广东正常汉族家系 144 条染色体作了属于 HLA-Ⅲ的 Bf、C_4A、C_4B 的遗传多态性及其构成的补体单倍型检测与分析。**结果** 共发现 13 个补体单倍型,居前 4 位者为 S_{32}、S_{31}、S_{42}、F_{42},其中有 4 个单体型呈高度连锁不平衡。表型以 BFS(0、8542)、C4A3(0、7291)、C_4A_4(0、2188)、C_4B_2(0、5937)、C_4B_1(0、3542)最常见。**结论** 广东汉族 C_4、Bf 多态性及其构成的补体单倍型有自己的遗传背景。

关键词:C_4;Bf;补体单倍型;主要组织相容性复合体

中图分类号:R392 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-2588(2004)09-1026-03

Human complement components C_4 and Bf polymorphisms and their complotypes in Guangdong Chinese Han population

YANG Li-ping[1], WEN Xiu-qing[2], GUAN Yan-bing[3], XU Juan[4], JIANG Xiao-dan[5], ZHAO Xiu-zhu[5]

[1]Guangzhou Institute of Psoriasis, Guangzhou 510095, China; [2]Qingyuan City Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qingyuan 511500, China; [3]Guangzhou Institute of Skin Disease Prevention and Therapy, Guangzhou 510095, China; [4]People's Hospital of Futian District, Shenzhen 518033, China; [5]Department of Immunology, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China

Abstract: Objective To investigate the genetic polymorphism of human complement components C_4 and Bf and their complotype frequencies in Chinese Han population in Guangdong Province of China. **Methods** The genetic polymorphisms and complotypes of Bf, C_4A and C_4B, which were 3 components of HLA-Ⅲ, were analyzed in 144 chromosomes of subjects from healthy Han families in Guangdong Province. **Results** Thirteen variable complotypes were identified, led by the complotypes of S_{32}, S_{31}, S_{42} and F_{42} among which strong linkage disequilibria were observed. The most common phenotypes were BFS, C_4A_3, C_4A_4, C_4B_2 and C_4B_1. **Conclusion** The genetic polymorphism of C_4 and Bf and their complotypes have their own genetic predisposition in Chinese Han population in Guangdong Province.

Key words: C_4; BF; complotype; major histocompatibility complex

主要组织相容性复合体(MHC,人为 HLA)是位于第 6 号染色体短臂上的一组连锁基因群[1]。其中有 4 个补体成分 C_4A、C_4B、Bf、C_2 称为 HLA-Ⅲ。这些基因紧密连锁,至今未发现过位点间的交换或重组[2]。Alper 等[3]建议命名为补体单倍型(complotype)。HLA-Ⅲ中的 4 个补体成分均表现为复杂的遗传多态现象,其中以 C_4 型别最多(至今报道有 35 例之多),Bf 次之(20 型),C_2 较少(比较肯定的是 3 型)[2]。这些补体多态现象的检测在人类源流的考察、法医鉴定、免疫调控机制的揭示与疾病遗传易感性的探讨等方面具有重要意义[4,5]。近年来的研究表明,补体型频率的检测比补体成分单座位频率的检测更能探求 HLA-Ⅲ与疾病易感性的关系,在揭示人类源流与法医鉴定上更为精确,因此受到医学界的广泛关注。本研究对广东 24 个无血缘关系家系的 144 条染色体 C_4、Bf 多态性及补体单倍型进行了分析研究比较。

1 材料与方法

1.1 血浆样本

72 例份 EDTA 抗凝血浆采自广州市某学校 24 个无血缘关系的学生家系。经询问,检查无常见的自身免疫性疾病及家族史,籍贯为广东汉族(绝对广东血缘),每家 3 人,含亲子两代。样本贮-18 ℃冰箱保存。

1.2 C_4 多态性的检测

参照 Zhang 等[6]推荐的两酿法,即采用神经氨酸酶羧肽酶 β 处理血清后进行琼脂糖高压电泳免疫固定加激光薄层扫描。

1.3 Bf 多态性的检测

收稿日期:2004-07-19

基金项目:广州市卫生局青年科研基金(00199105)

Supported by Youth Science Research Fund from Guangzhou Health Bureau (00199105)

作者简介:杨利平(1956-),男,副主任医师,电话:020-83488724

采用琼脂糖高压电泳用抗 β 因子血清免疫固定技术后加激光薄层扫描[6]。

1.4 补体型的分析

将检得的各个体的 Bf、C_4A、C_4B 的表型经家系分析推出其补体型。

1.5 C_4、Bf、补体单倍型命名

C_4 的命名参照第 4 届国际补体遗传专题讨论会 C_4 别型的共同命名法进行[7]。Bf 的命名参照Mauff 1986 年提出的命名法进行[8]。补体型的排列顺序为Bf- C_4A-C4B,用缩写形式表达如 BFS-C_4A-C4B,缩写成 S_{31}。静息基因 QO 缩写为“0”。

1.6 统计学处理

等位基因频率和补体型频率用直接计数法计出,使用 χ^2 检验验证各座位等位基因是否符合 Hardy-weiberg 平衡[9]。补体型各等位基因之间的连锁不平衡分析根据 Dausset 1978 年建立的 DSM 法进行。当 D>0 或 D<0,Ds>0.25,并所检测的补体型数不少于 3 个时,分别表示有正向或负向连锁不平衡。

2 结果

2.1 表型分布

通过 χ^2 检验 Bf、C_4 表型的分布均符合 Hardy-weiberg 遗传平衡律。

2.2 Bf、C_4 表型及其基因频率

所测本组家系 48 例 Bf、C_4A、C_4B 位点的等位基因频率为:BFS 型 (0.8542)、C_4A3 (0.7291)、C_4A_4 (0.2188)、C_4B_2(0.537)、C_4B_1(0.3542)最常见(表 1)。

表 1 补体成分同种异型和等位基因频率分布

Tab.1 Distribution of the complement component allotypes and allele frequencies

Locus	Allotype	Gene number (n=96)	Allele gene frequency
Bf	S	82	0.8542
	F	14	0.1458
C_4A	4	21	0.2188
	3	70	0.7291
	2	4	0.0417
	Qo	1	0.0104
C4B	5	3	0.0313
	2	57	0.5937
	1	34	0.3542
	96	2	0.0208

2.3 获得的补体单倍型

本组 24 个正常家系 96 条无血缘关系染色体共获得 13 个补体单倍型 (表 2)。频率依次为:S_{32} (0.3229)、S_{31}(0.3229)、S_{42}(0.1458)、F_{42}(0.0416)。4 个单体型呈高度连锁不平衡,其中 3 个正向连锁,1 个负向连锁。

表 2 补体单倍型频率及其连锁不平衡分布

Tab.2 Distribution of the complotype frequencies and linkage disequilibria

Complotype	Number(n=96)	Frequency	D value*	D_{max}	D_s
S_{32}	31	0.3229	−0.0468	−0.3679	−0.1265
S_{31}	31	0.3229	0.1023	0.1336	0.7657
S_{42}	14	0.1458	0.0348	0.1078	0.3228
F_{42}	4	0.0416	0.0227	0.1268	0.1790
S_{35}	3	0.0312	0.0117	−0.0118	0.9915
F_{32}	3	0.0312	−0.0319	−0.0631	−0.5055
S_{22}	3	0.0312	0.0101	0.0205	0.0492
F_{41}	2	0.0028	0.0095	0.1345	0.0706
F_{31}	1	0.0104	−0.0272	−0.0376	−0.7234
S_2, 96	1	0.0104	0.0097	0.0201	0.4825
S_4, 96	1	0.0104	0.0065	0.0169	0.3846
$S0_2$	1	0.0104	0.0051	0.0051	1.0000
F_{22}	1	0.0104	0.0068	0.0399	0.1704

*The D value is statistically significant for determining existing linkage disequilibrium between the complotypes

2.4 本组资料与陈氏报告的比较

本研究报告的广东汉族 C_4、Bf 及补体单倍型的频率与陈仁馨等[10]报告的比较结果分别如下:BFS (0.8542/0.9048)、BFF (0.1458/0.0952)、C_4A_4 (0.2188/0.3810)、C_4A_3、(0.7291/0.5357)、C_4B_2(0.5937/0.4762)、C_4B_1 (0.3542/0.4643)、S_{31} (0.3229/0.2262)、S_{32} (0.3229/0.2143)、S_{42}(0.1458/0.2143)。二组中 BFS、C_4A_4、C_4A_3、C_4B_2、C_4B_1、S_{31}、S_{32}、S_{42} 均依次排列居前位。

3 讨论

广东汉族的 BFS、C_4A_3 基因频率与国内报告的汉(不包括广东)、维、壮、苗、瑶 5 个民族比较均在首位,C_4A_4 频率明显高于其他民族和地区,C_4B_2、C_4B_1 平居前位;而上述 5 个民族的频率则以 C_4B_1 为绝对优势,C_4B_2 频率与广东汉族差异显著[9]。说明广东汉族有自己的遗传背景。相关研究亦表明,不同种族 HLA 频率分布不同,而同一种族的不同民族则基本相似,但有若干基因频率的差异,这些差异对探索人类的起源和人群的迁移与进化有重要的意义,可用于人类学或疾病相关的研究[10]。

大陆中国人的补体单倍型家系调查湖北、广东和河南洛阳有报道[2,11~13]。本研究居前 3 位的均为 S_{31}、S_{32}、S_{42},与文献[11]报道基本一致。湖北首位亦为 S_{31} (0.3781),S_{32}(0.058)居第 5 位,S_{42}(0.012)居第 9 位[2]。此结果可能说明两地汉族人的差异。陈仁馨等[10]认为是实验室的方法有异似乎不妥。因研究与湖北汉

族的 C_4、Bf 检测均为同一实验室。

资料分析表明,我国汉人的补体型与美、德、日人比较接近,均以 S_{31} 居首位,而与南非黑人则差异较大。这说明 S_{31} 在黄、白人种中是一个保守性很强的优势单倍型[14]。

根据 D 值计算的广东地区 13 个补体单倍型,连锁不平衡的共 4 个。其中 3 个正向连锁,1 个负向连锁,与陈仁馨等[10]报告的 7 个相比差异较大,可能是后者报告中含有 <3 个单体型数的连锁不平衡[11]。本研究与陈仁馨等[10]报告均可供为广东地区补体单倍型的参考资料。

本研究 C_4AQO 检出率仅为 0.0104,C_4B 则未检出。与陈仁馨等[10]资料接近,与另一报告则差异极显著(C_4AQO 0.1020;C_4BQO 0.0558)[15]。这说明结论性数据尚需在统一方法下大面积调查。

致谢:本项目承蒙广州市皮肤病防治研究所孙心郁老师、第一军医大学中医系刘玉生老师大力支持,谨以致谢!

参考文献:

[1] 涂正坤, 吴雄文, 刘 敏, 等. 中国湖北汉族人群对同种异型抗原免疫应答与 HLA 遗传多态性的相关性[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1999, 19(4): 298-301.
Tu ZK, Wu XW, Liu M, *et al*. Association between the immune response to alloantigens and the genetic polymorphism of HLA in a Hubei population of the Han nationality [J]. Chin J Microbiol Immunol, 1999, 19(4): 298-301.

[2] 赵修竹, 张文杰, 田延武, 等. 中国人 HLA-Ⅲ的遗传多态性[J]. 自然杂志(Ziran Zazhi), 1990, 13(9): 555-62.

[3] Alper CA, Raum D, Karp S, *et al*. Serum complement 'supergenes' of the major histocompatibility complex in man (complotypes)[J]. Vox Sang, 1983, 45(1): 62-7.

[4] 赵修竹. HLA-Ⅲ 的基因与补体型[J]. 国外医学·分子生物学分册(Foreign Med · Mol Biol Sect), 1989, 11(6): 251-3.

[5] 张咸宁, 庚镇城. 自身免疫性疾病与人类白细胞抗原的关联性[J]. 自然杂志, 1996, 18(3): 156-60.
Zhang XN, Geng ZC. Autoimmune diseases and HLA association [J]. Ziran Zazhi, 1996, 18(3): 156-60.

[6] Zhang WJ, Kay PH, Cobain TJ, *et al*. C_4 allotyping on plasma or serum: application to routine laboratories[J]. Hum Immunol, 1988, 21(3): 165-71.

[7] Mauff G, Alper CA, Awdch Z, *et al*. Statement on the nomenclature of human C_4 allotypes[J]. Immunobiology, 1983, 164(2): 184-91.

[8] Mauff G. Human population genetics[A]. Colloque INSERM, 1986: 143-55.

[9] 赵桐茂. HLA 的分型原理及应用[M]. 上海科技出版社, 1984: 142-9.

[10] 陈仁馨, 黄为民, 聂晓波, 等. 中国广东地区汉族人 MHC 补体单型的分析[J]. 中国免疫学杂志, 1993, 9(4): 205-7.
Chen RX, Huang WM, Nie XB, *et al*. Analysis of MHC complotype of Han nationality Chinese in Guangdong area[J]. Chin J Immunol, 1993, 9(4): 205-7.

[11] 彭学标, 费虹明, 陈仁彪. 江苏汉族人 HLA-DQ 位点基因多态性分析[J]. 第一军医大学学报(J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao), 1998, 18(2): 126-7.

[12] 陈仁馨, 陈立茵, 赖燕来, 等. 中国洛阳地区汉族人 MHC 补体单倍型的分析[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 1998, 14(1): 37-9.
Chen RX, Chen LY, Lai YL, *et al*. Analysis of MHC complotype of Han nationality Chinese in Luoyang area[J]. J Cell Mol Immunol, 1998, 14(1): 37-9.

[13] 张明军, 陈仁馨, 彭良平, 等. 中国洛阳地区汉族人 MHC-Bf、C_2、C_4A、C_4B、DRB1 扩展单倍型分析[J]. 中华医学遗传学杂志(Chin J Med Genet), 2001, 18(2): 162-3.

[14] Yao Z, Wang C, Tian YW, *et al*. Investigation of MHC-class III (complotype) of Han nationality of Chinese in the Hubei area[J]. Chin Sci Bull, 1990, 35(2): 149-52.

[15] 王增慧, 陈盛强, 汪 策, 等. 广东汉族人群补体 C_2、Bf、C_4 的遗传多态现象[J]. 广州医学院学报, 1990, 18(1): 70-4.
Wang ZH, Chen SQ, Wang C, *et al*. Genetic polymorphism of complement(C_2, Bf, C_4) in the Hans of Guangdong[J]. Acta Acad Med Guangzhou, 1990, 18(1): 70-4.