

# 山东临朐人群 HLA 等位基因多态性与幽门螺杆菌感染关系的研究

李昭辉<sup>1</sup>, 王占民<sup>1</sup>, 张 联<sup>2</sup>, 潘凯枫<sup>2</sup>, 张春风<sup>3</sup>, 宁 涛<sup>3</sup>, 柯 杨<sup>3</sup>

(1. 山东大学齐鲁医院普外科, 济南 250012; 2. 北京市肿瘤研究所流行病室, 北京 100036; 3. 北京市肿瘤研究所遗传室, 北京 100036)

**摘要:**为了研究山东临朐地区健康人白细胞抗原(HLA) I 类等位基因多态性与幽门螺杆菌(Hp)感染的关系, 运用序列特异性引物聚合酶链反应(PCR-SSP)的方法, 检测 Hp 阳性人群(90 例)和 Hp 阴性人群(49 例)的 HLA- I 类和 II 类等位基因。结果在 HLA- I 类(A、B、CW)的共 68 个等位基因多态中, 发现在感染及非感染人群中存在 4 个显著性差异的位点; 在 HLA- II 类(DRB1、DQB1 和 DRB3、DRB4、DRB5)的共 22 个等位基因多态中, 没有发现显著性差异的位点。A \* 02 等位基因频率, Hp 阳性低于阴性人群(OR=0.56; 95% CI=0.33~0.94; P=0.029); B \* 48 等位基因频率, Hp 阳性低于阴性人群(OR=0.15; 95% CI=0.03~0.72; P=0.007); CW \* 08 等位基因频率, Hp 阳性低于 Hp 阴性人群(OR=0.32; 95% CI=0.15~0.69; P=0.003); CW \* 15 等位基因频率, Hp 阳性高于 Hp 阴性人群(OR=5.11; 95% CI=0.63~40.90; P=0.024)。结果表明 HLA- I 类等位基因的多态性可能与山东临朐地区 Hp 的易感性有关; HLA- II 类等位基因的多态性可能与其无关。HLA- I 类等位基因中, CW \* 15 可能是 Hp 感染的易感基因; A \* 02、B \* 48 和 CW \* 08 可能是保护性基因。

**关键词:**人类白细胞抗原(HLA); PCR-SSP; 幽门螺杆菌; 遗传易感性

中图分类号: R394

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2004)02-0143-04

## Studies of the Relationship of HLA Polymorphisms and the Infection of *H. pylori* in the Population of Linqu in Shandong Province

LI Zhao-Hui<sup>1</sup>, WANG Zhan-Min<sup>1</sup>, ZHANG Lian<sup>2</sup>, PAN Kai-Feng<sup>2</sup>,  
ZHANG Chun-Feng<sup>3</sup>, NING Tao<sup>3</sup>, KE Yang<sup>3</sup>

(1. Department of General Surgery, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China;

2. Department of Epidemiology, Beijing Institute for Cancer Research, Beijing 100036, China;

3. Department of Genetic, Beijing Institute for Cancer Research, Beijing 100036, China)

**Abstract:** In order to analyze the relationship of HLA polymorphisms and the infection of *H. pylori* in the population of Linqu County in Shandong Province, polymerase chain reaction with sequence-specific primers (PCR-SSP) was used to determine the alleles of HLA type I and II in 90 Hp-positive persons and 49 Hp-negative controls. The results showed that among the 68 alleles of HLA type I, 4 alleles were found significantly different between Hp-positive and Hp-negative population, while no significant difference was found among the 22 alleles of HLA type II. Hp-positive persons had a lower allele frequency of A \* 02 (OR=0.56, 95% CI=0.33~0.94; P=0.029), B \* 48 (OR=0.15, 95% CI=0.03~0.72; P=0.007), CW \* 08 (OR=0.32, 95% CI=0.15~0.69; P=0.003) and a higher allele frequency of CW \* 15 (OR=5.11, 95% CI=0.63~40.90; P=0.024) compared with Hp-negative controls. Our re-

收稿日期: 2003-01-24; 修回日期: 2003-06-30

基金项目: 国家人类肿瘤重大基础研究“973”项目(1998051203); 北京市科委肿瘤重大项目 [Supported by National “973” key project (1998051203); Key project of Ministry of Beijing Metropolitan Science and Technology]

作者简介: 李昭辉(1967-), 男, 博士研究生, 专业: 普通外科。E-mail: zhaohli@yahoo.com.cn

通讯作者: 柯 杨(1955-), 教授, 博士研究生导师, 研究方向: 肿瘤遗传学。Tel: 010-62091204; E-mail: keyang@mx.cei.gov.cn

sults indicated that the polymorphisms of HLA type I is involved in the genetic susceptibility of Hp infection in Linqu County, while the polymorphisms of HLA type II may have no relationship with the genetic susceptibility of Hp infection. It was shown that among the alleles of HLA type I,  $CW * 15$  might be a susceptible gene of Hp infection while  $A * 02$ ,  $B * 48$  and  $CW * 08$  might be protective genes.

**Key words:** HLA; PCR-SSP; *Helicobacter pylori*; genetic susceptibility

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, Hp)感染与胃癌发生有密切的关系<sup>[1]</sup>。山东临朐是胃癌高发区,该地区人群 Hp 感染率很高<sup>[2]</sup>。Hp 作为自然界广泛存在的细菌,为什么在这个地区的人群感染率更高?遗传因素在此起什么作用是我们关注的课题。虽然 Hp 致病的机制仍然不甚清楚,但研究表明 Hp 感染可引起机体广泛的免疫反应<sup>[3]</sup>,而机体是否能有效地排除 Hp 感染,免疫系统的遗传多态性可能起重要作用。人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)基因是免疫系统的重要基因,存在广泛的多态性,与自身识别、抗原提呈、免疫应答及免疫调节等有关<sup>[4]</sup>。我们对山东临朐幽门螺杆菌感染人群 HLA-I (A、B、CW)类和 HLA-II 类(DRB1、DQB1 和 DRB3、DRB4、DRB5)等位基因多态性基因座进行了检测和对照研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究对象

依据 1999 年山东临朐 Hp 感染普查结果,从普查的健康人群中,随机选取 Hp 阳性 90 例为实验组, Hp 阴性 49 例为对照组。其中 Hp 阳性组男 46 例,女 44 例;年龄 50~73 岁,平均年龄 60.0 岁。Hp 阴性对照组男 31 例,女 18 例;年龄 44~72 岁,平均年龄 56.1 岁。经检验两组的年龄和性别没有统计学上的差异。

### 1.2 研究方法

HLA-A、B、CW 等位基因的检测采用美国 One Lambda 公司的 Micro SSP™ HLA-I DNA 分型试剂盒; HLA- DRB1、DQB1 和 DRB3、DRB4、DRB5 等位基因的检测采用美国 One Lambda 公司的 Micro SSP™ HLA-II DNA 分型试剂盒。Taq 酶采用美国 Promega 公司产品。血液基因组 DNA 是常规酚-氯仿方法提取的, -20 °C 保存,依据试剂盒操作说明将部分 DNA 稀释为最佳浓度(A260/A280 为 1.65~1.80,浓度为 100 ng/μL),存放在 -20 °C 备用。运用序列特异性引物聚合酶链反应(sequence

specific primer based polymerase chain reaction, PCR-SSP)的方法,按所附操作指导进行。等位基因结果判断应用与 One Lambda 公司试剂盒配套的分析软件。

### 1.3 统计分析方法

统计学分析采用 SPSS(10.0 version for Windows)软件包,HLA 等位基因频率用百分数表示,组间的 HLA 等位基因频率比较采用双侧卡方( $\chi^2$ )检验。

## 2 结 果

在 HLA-I 类(A、B、CW)的共 68 个等位基因多态基因座中,共检出 HLA-A 等位基因 14 种、HLA-B 等位基因 25 种、HLA-CW 等位基因 10 种,发现 4 个有显著性差异的基因座,分别是  $A * 02$ 、 $B * 48$ 、 $CW * 08$  和  $CW * 15$ ,其频率分布见表 1;在 HLA-II 类(DRB1、DQB1 和 DRB3、DRB4、DRB5)的共 22 个等位基因多态中,共检出 HLA-DRB1 等位基因 14 种、HLA-DQB 15 种和等位基因 DRB3、DRB4、DRB5,没有发现有显著性差异的基因座。 $A * 02$ 等位基因频率, Hp 阳性低于阴性人群(OR, 0.56; 95% CI, 0.33~0.94;  $P$ , 0.029);  $B * 48$  等位基因频率, Hp 阳性低于阴性人群(OR, 0.15; 95% CI, 0.03~0.72;  $P$ , 0.007);  $CW * 08$  等位基因频率, Hp 阳性低于 Hp 阴性人群(OR, 0.32; 95% CI, 0.15~0.69;  $P$ , 0.003);  $CW * 15$  基因携带者频率, Hp 阳性高于 Hp 阴性人群(OR, 5.11; 95% CI, 0.63~40.90;  $P$ , 0.024),见表 2。

## 3 讨 论

尽管 Hp 诱发胃癌的机理还没有完全明确,但诸多的研究证实 Hp 感染的确大大增加了胃癌的发生率<sup>[5]</sup>,而且干预治疗可以有效阻断或延缓胃癌的发生过程,从而有可能降低胃癌的发病率<sup>[6]</sup>。世界卫生组织已将 Hp 列为 I 类致癌原。在由 Carrea 提出的正常胃黏膜→浅表性胃炎→萎缩性胃炎→肠化

生→异型增生→肠型胃癌这一模式中, Hp 可能起先导作用<sup>[7]</sup>。在我国胃癌高发的山东省临胸县, 人群中 Hp 感染率达 72%<sup>[8]</sup>。Hp 感染的表现及感染诱发胃部疾病的严重性, 与 Hp 感染引起的胃黏膜炎症和机体的免疫反应能力有关<sup>[9]</sup>。HLA 基因复合体包含着众多参与免疫调节的基因, 其多态性决定了 HLA 系统对某种致病因子的反应能力<sup>[10]</sup>。已有的研究表明, HLA 的多态性与 40 多种疾病的易感性有关<sup>[4]</sup>。以往传统的研究 HLA 的方法是抗原分型, 主要采用血清学和细胞学方法, 其操作十分复杂、费时, 而且还有不同程度的错配现象。近年来, 随着分子生物学技术的发展, 以 DNA 为基础的 HLA 分型技术<sup>[11,12]</sup>, 成为研究 HLA 多态性的主流。

表 1 Hp 阳性与 Hp 阴性人群有差异位点等位基因频率  
Table 1 The allele frequency of significant alleles between the population of Hp positive and Hp negative

基因座 Alleles	幽门螺杆菌- Hp negative		幽门螺杆菌+ Hp positive		总计 Total	
	频数 Frequency	%	频数 Frequency	%	频数 Frequency	%
<i>A*02</i>						
-	60	61.2	133	73.9	193	69.4
+	38	38.8	47	26.1	85	30.6
<i>B*48</i>						
-	91	92.9	178	98.9	269	96.8
+	7	7.1	2	1.1	9	3.2
<i>CW*08</i>						
-	80	81.6	168	93.3	248	89.2
+	18	18.4	12	6.7	30	10.8
<i>CW*15</i>						
-	98	100.0	171	95.0	269	96.8
+	0	0.0	9	5.0	9	3.2

表 2 Hp 阳性与 Hp 阴性人群比较有差异位点

Table 2 The significant alleles between Hp positive and Hp negative

基因座 Alleles	幽门螺杆菌- Hp negative	幽门螺杆菌+ Hp positive	%	危险度 OR	95%可信区间 95% CI	P 值 P-value
<i>A*02</i>						
-	60	133	69.8	1		
+	38	47	55.3	0.56	0.33~0.94	0.029
<i>B*48</i>						
-	91	178	62.2	1		
+	7	2	22.2	0.15	0.03~0.72	0.007
<i>CW*08</i>						
-	80	168	67.7	1		
+	18	12	40.0	0.32	0.15~0.69	0.003
<i>CW*15</i>						
-	98	171	63.6	1		
+	0	9	100.0	5.11	0.63~40.90	0.024

本研究利用目前较为精确、快速的 PCR-SSP 方法<sup>[13]</sup>, 对胃癌高发区健康人群中的 Hp 阳性和阴性者进行了 HLA-I 类等位基因的所有基因座和 HLA-II 类等位基因中最具有多态性的基因座进行了扫描。HLA-I 类中, 共检出 HLA-A 等位基因 14 种、HLA-B 等位基因 25 种、HLA-CW 等位基因 10 种。HLA-II 类中, 共检出 HLA-DRB1 等位基因 14 种、HLA-DQB1 15 种和等位基因 DRB3、DRB4、DRB5。其中, HLA-I 类 *A\*02*、*B\*48*、*CW\*08* 和 *CW\*15* 等位基因基因座, Hp 阳性和 Hp 阴性人群存在显著性差异; HLA-II 类等位基因中, 没有发现有显著性差异的基因座。*CW\*15* 等位基因频率, Hp 阳性高于 Hp 阴性人群, OR 值为 5.11, 提示 *CW\*15* 可能是山东临胸 Hp 感染的易感基因, 其携带者感染 Hp 的风险高。*A\*02*、*B\*48* 和

*CW\*08* 基因频率, Hp 阳性低于 Hp 阴性人群, OR 值分别为 0.56、0.15 和 0.32, 提示 *A\*02*、*B\*48* 和 *CW\*08* 基因对山东临胸人群具有保护作用, 其携带者感染 Hp 的风险低。关于 HLA-I 等位基因与 Hp 的关系, 国外有少量报道。俄罗斯的 Kurilovich SA 等研究发现高加索人群中, Hp 阳性的 HLA-A\*09 等位基因频率低于阴性人群, 是保护人群不受 Hp 感染的基因; 阳性人群 HLA-A\*01/B\*12 连锁频率高于阴性人群, 表明其携带者受 Hp 感染的风险高<sup>[14]</sup>。斯洛伐克人 Kulcsarova E 等研究表明 HLA-CW\*06 是 Hp 的易感基因<sup>[15]</sup>。关于 HLA-II 等位基因与 Hp 的关系, 国内外的报道与本研究结论一致<sup>[16-18]</sup>。Hp 感染与环境因素、生活习惯、遗传背景等因素有关, 不同地区的人群感染的 Hp 菌株也不尽相同, 人群的遗传背景也不相同, 这些都

会带来遗传易感性的差异。

本项研究表明 HLA-I 类等位基因与 H<sub>p</sub> 的遗传易感性有关,HLA-II 类等位基因与 H<sub>p</sub> 的遗传易感性有无关系。HLA-I 类分子与外来抗原的提呈有关,HLA-II 分子与内源性抗原的提呈有关<sup>[4]</sup>。H<sub>p</sub> 为机体外面的细菌,侵入机体时引发机体对其产生免疫反应,必然会有 HLA-I 类分子的参与。HLA-I 类等位基因广泛的多态性,会影响机体对 H<sub>p</sub> 的识别、抗原提呈、免疫应答。某些多态性基因座,有可能使机体更有效地抵抗 H<sub>p</sub> 的侵袭或者降低机体对 H<sub>p</sub> 的清除能力。其结果是使具有保护性等位基因基因座的个体不容易感染 H<sub>p</sub>;具有易感性等位基因基因座的个体特别容易感染 H<sub>p</sub>。本项研究提示:在山东临朐人群中,具有 HLA-CW\*15 等位基因基因座的个体可能特别容易感染 H<sub>p</sub>;具有 HLA-A\*02、B\*48、CW\*08 等位基因基因座的个体可能不容易感染 H<sub>p</sub>。本研究值得进一步增大样本量验证,而最终结论的确定将对高危人群判断,实施有目的的预防和干预有重要的价值。

#### 参考文献(References):

- [1] Eidt S, Stolte M. The significance of helicobacter pylori in relation to gastric cancer and lymphoma. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 1995, 7(4): 318.
- [2] You W C, Zhang L, Gail M H, Chang Y S, Liu W D, Ma J L, Li J Y, Jin M L, Hu Y R, Yang C S, Blaser M J, Correa P, Blot W J, Fraumeni J F Jr, Xu G W. Gastric dysplasia and gastric cancer; Helicobacter pylori, serum vitamin C, and other risk factors. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(19): 1607~1612.
- [3] Miwa H, Go M F, Sato N H. pylori and gastric cancer; the Asian enigma. *Am J Gastroenterol*, 2002, 97(5): 1106~1112.
- [4] Basil R. HLA and Disease Association; The Case of Gastric Cancer. *Gastroenterology*, 1996, 111(2): 523~526.
- [5] McNamara D, O' Morain C. Helicobacter pylori and gastric cancer. *Ital J Gastroenterol Hepatol*, 1998, (Suppl 3): S294~298.
- [6] Correa P, Fontham E T, Bravo J C, Bravo L E, Ruiz B, Zarama G, Realpe J L, Malcom G T, Li D, Johnson W D, Mera R. Chemoprevention of gastric dysplasia; randomized trial of antioxidant supplements and anti-helicobacter pylori therapy. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(23): 1881~1888.
- [7] Huang J Q, Hunt R H. Review article; Helicobacter pylori and gastric cancer—the clinicians' point of view. *Aliment Pharmacol Ther*, 2000, (suppl, 3): 48~54.
- [8] Zhang L, Blot W J, You W C, Chang Y S, Kneller R W, Jin M

- L, Li J Y, Zhao L, Liu W D, Zhang J S, Ma J L, Samloff I M, Correa P, Blaser M J, Xu G W, Fraumeni J F Jr. Helicobacter pylori antibodies in relation to precancerous gastric lesions in a high-risk Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1996, 5: 627~630.
- [9] Weatherall D, Clegg J, Kwiatkowski D. The role of genomics in studying genetic susceptibility to infectious disease. *Genome Res*, 1997, 7(10): 967~973.
- [10] Bateman A C, Howell W M. Human leukocyte antigens and cancer; is it in our genes? *J Pathol*, 1999, 188(3): 231~236.
- [11] Newton C R, Graham A, Heptinstall E, Powell S J, Summers C, Kalsheker N, Smith J C, Markham A F. Analysis of any point mutation in DNA. The amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Research*, 1989, 17: 2503~2516.
- [12] Slater R D, Parham P. Mutually exclusive public epitopes of HLA-A, B, C Molecules. *Human Immunology*, 1989, 26: 85~89.
- [13] LIU Li-Min, LIANG Jian, SONG Fang-Ji, JIA Jing-Tao. Polymorphic analysis of HLA-DRB1 gene in Chinese Liaoning han population by sequence specific primers-PCR and sequence specific oligonucleotide probes. *Hereditas(Beijing)*, 1999, 21(3): 20~24.  
刘利民, 梁 健, 宋芳吉, 贾静涛. 应用 SSP-PCR/SSO 方法进行中国辽宁汉族人 HLA-DRB1 基因的遗传多态性研究. *遗传*, 1999, 21(3): 20~24.
- [14] Kurilovich S A, Shlykova L G, Kononov V I. Immunogenetic factors of predisposition to duodenal ulcer in Caucasian population of western Siberia. *Int J Circumpolar Health*, 2001, 60(2): 258~263.
- [15] Kulcsarova E, Fazekasova H, Kralovicova J, Buc M, Kolibasova K, Hegyi E. HLA alleles and susceptibility to dermatological disorders associated with Helicobacter pylori infection; a significant association to HLA-Cw\*06. *Folia Biol (Praha)*, 2001, 47(2): 62~65.
- [16] Wu M S, Hsieh R P, Huang S P, Chang Y T, Lin M T, Chang M C, Shun C T, Sheu J C, Lin J T. Association of HLA-DQB1 (\* )0301 and HLA-DQB1 (\* )0602 with Different Subtypes of Gastric Cancer in Taiwan. *Jpn J Cancer Res*, 2002, 93(4): 404~410.
- [17] Perri F, Piepoli A, Quitadamo M, Quarticelli M, Merla A, Bisceglia M. HLA-DQA1 and -DQB1 genes and Helicobacter pylori infection in Italian patients with gastric adenocarcinoma. *Tissue Antigens*, 2002, 59(1): 55~57.
- [18] Magnusson P K E, Enroth H, Eriksson I, Held M, Nyren O, Engstrand L, Hansson L E, Gyllensten U B. Gastric cancer and human leukocyte antigen; distinct DQ and DR alleles are associated with development of gastric cancer and infection by Helicobacter pylori. *Cancer Res*, 2001, 61(6): 2684~2689.