

[文章编号] 1000-4718(2007)02-0396-02

# HLA - E 基因与 allo - HSCT 移植 效果关系的研究\*

方建培<sup>1</sup>, 甄子俊<sup>1</sup>, 庞应轩<sup>2</sup>, 李志光<sup>2</sup>, 徐宏贵<sup>1</sup>, 邓庆丽<sup>3</sup>, 黄绍良<sup>1</sup>

(中山大学附属第二医院<sup>1</sup> 儿科, <sup>3</sup> 医学中心, 广东 广州 510120; <sup>2</sup> 香港中文大学威尔斯亲王医院儿科)

**[摘要]** 目的: 探讨 HLA - E 基因与异基因造血干细胞移植 (allo - HSCT) 效果的关系。方法: 用 PCR - SSP 方法分别检测 22 对 allo - HSCT 供者及受者的 HLA - E 基因型, 并分 2 组: 供受者 HLA - E 相合组和供受者 HLA - E 不合组。比较 2 组在移植后植入率、移植抗宿主病 (GVHD)、免疫重建、自体恢复或恶性病复发等方面的差异。结果: 22 对移植病例的供受者中, 共检出 3 个 HLA - E 等位基因, 分别为 E \* 0101、E \* 01031 和 E \* 01032, 未检出 E \* 0102 和 \* 0104。供受者 HLA - E 相合组 9 对, 供受者 HLA - E 不合组 13 对。两组在移植后植入率、GVHD、免疫重建、自体恢复或恶性病复发等无统计学差异。结论: HLA - E 基因多态性与 allo - HSCT 移植效果未见相关性。

**[关键词]** 基因, HLA - E; 造血干细胞; 移植

**[KEY WORDS]** Genes, HLA - E; Hematopoietic stem cells; Transplantation

**[中图分类号]** R363 **[文献标识码]** A

人类白细胞抗原 E (human leukocyte antigen - E, HLA - E) 是第一个被发现的不典型 HLA I 类 (Ib) 分子, 其基因座位在染色体 6p21.3 区的 HLA - A 与 - C 基因之间。HLA - E 能通过 CD94/NKG2 受体影响 NK 细胞及 CTL 的细胞毒活性, 在许多免疫应答过程如母胎免疫、肿瘤免疫、病毒逃避免疫监视等起重要作用, 但在移植免疫中的作用未明<sup>[1]</sup>。本研究通过检测异基因造血干细胞移植 (allo - HSCT) 病例中供、受者 HLA - E 基因型及分析其对移植效果的影响, 对 HLA - E 基因与 allo - HSCT 移植效果的关系作初步探讨。

## 材 料 和 方 法

### 1 对象

2000 年 1 月至 2002 年 12 月在本院或香港中文大学附属威尔斯亲王医院儿科进行的异基因骨髓移植 (allo - BMT)、异基因外周血干细胞移植 (allo - PBSCT) 或异基因脐血干细胞移植 (allo - UCBT) 病例 22 例; 供者也是 22 例, 为受者的同胞; 供、受者间 HLA - A、- B、DR 相合。供、受者间血型相合 14 例, 不合者 8 例。

22 例受者中, 男 14 例, 女 8 例, 年龄为 2 - 14 岁, 中位年龄为 7 岁; 从病种分类: 急性淋巴细胞白血病 4 例, 急性非淋巴细胞白血病 3 例, 慢性粒细胞白血病 1 例, 重型  $\beta$  地中海贫血 12 例, 特发性溶血性贫血 1 例, 重型再生障碍性贫血 1 例。从移植类型分类: allo - BMT 6 例, allo - UCBT 12 例, allo - PBSCT 4 例。

所有病例移植前供、受者均抽外周血 3 mL, ACD 抗凝,

-20 °C 保存。

### 2 方法

**2.1 HLA - E 基因型检测** 按本室建立的方法进行, 详见文献<sup>[2]</sup>。

**2.2 移植效果分析** 用 PCR - SSP 方法分别检测 22 对 allo - HSCT 供者及受者的 HLA - E 基因型, 并分 2 组: 供受者 HLA - E 相合组和供受者 HLA - E 不合组。比较 2 组在移植后植入率、GVHD、免疫重建、自体恢复或恶性病复发等方面的差异。免疫重建指标检测外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD23<sup>+</sup>、CD56<sup>+</sup>、CD45RA<sup>+</sup>、CD45RO<sup>+</sup> 细胞的比例及 IgG 的水平。以移植后 6 个月的免疫指标是否恢复作为免疫重建效果的评价。本研究共 12 例移植病人在移植后 6 个月做免疫检查。

### 3 统计学处理

用卡方检验确切概率法比较供受者 HLA - E 基因相合组和不合组两组移植后植入率、GVHD 发生率、移植后 6 个月免疫重建完全的病例例数、自体恢复或白血病复发等发生率。

## 结 果

22 对移植病例的供受者中, 共检出 3 个 HLA - E 等位基因, 分别为 E \* 0101、E \* 01031 和 E \* 01032, 未检出 E \* 0102 和 E \* 0104。供受者 HLA - E 相合组 9 对和供受者 HLA - E 不合组 13 对, 两组在移植后植入率、GVHD 发生率、免疫重建完全的病例例数、自体恢复或恶性病复发等发生率无统计学差异, 见表 1。

[收稿日期] 2005 - 06 - 20 [修回日期] 2005 - 09 - 05

\* [基金项目] 广东省自然科学基金资助项目 (No. 31708)

Tel: 020 - 81332003; E - mail: jpfang2005@163.com

表 1 HLA - E 基因与移植效果的关系

Tab 1 The relationship between the HLA - E gene and allo - HSCT effect

Group	n	Engraftment rate	aGVHD ( II - IV grade)	cGVHD	Immuno - reconstitution at sixth month post allo - HSCT	Autologous recovery or relapse of malignant diseases
HLA - E matched	9	8/9	2/9	4/9	2/4	1/9
HLA - E mismatched	13	12/13*	3/13*	6/13*	3/8*	2/13*

\*  $P > 0.05$  vs HLA - E matched group.

## 讨 论

已知供、受者间 HLA 相合程度越高,造血干细胞植入率越高,宿主抗移植反应(HVG)或移植抗宿主病(GVHD)等移植并发症越少。根据临床观察及混合淋巴细胞反应等实验结果,目前普遍认为,HLA - A、-B、-DR 是影响 HSCT 效果最重要的 HLA 抗原。但实际上供、受者间 HLA - A、-B、-DR 全相合的 allo - HSCT 病例中,II 度或 II 度以上的急性 GVHD 的发生率仍有 23%,慢性 GVHD 达 50%,提示可能有 HLA 系统的其它抗原分子参与移植免疫应答。

HLA - E 具有许多与 HLA Ia 分子不同的生物学功能,普遍表现出免疫抑制的特性,是一种免疫抑制分子。可能对 BMT 后早期的 GVHD 起抑制作用<sup>[3]</sup>。

我们检测 22 对接受 allo - HSCT 的小儿供者及受者 HLA - E 基因的型别,并将所有病例分为供受者 HLA - E 相合和供受者 HLA - E 不合两组。对比分析两组受者在移植后的植入率、GVHD 发生率、术后 6 个月免疫重建、自体恢复或白血病复发等,均无统计学差异,即在“HLA 全相合”(A、B、DR 位点相合)条件下,HLA - E 基因位点相合或不合的受者与移植效果无关。原因推测是:①HLA - E 多态性有限。目前被正式命名的 HLA - E 等位基因有 5 个<sup>[2]</sup>,虽有研究发现 HLA - E 基因变异中有 3 处为非同义变异,能引起编码氨基酸的改变,但只有 107 位氨基酸的置换(精氨酸或甘氨酸)得到公认,另两处非同义置换(由 E\*0102 和 E\*0104 编码)尚未被证实,不排除为实验误差所致。本实验未检出 E\*0102 和 E\*0104 等位基因,也表明 22 对 allo - HSCT 病例的供、受者 HLA - E 位点上仅有两个氨基酸分子的差别,其抗原性能否足以触发强烈的同种异基因反应尚待进一步探讨。②X 线晶体衍射分析 107 位氨基酸置换产生的两种 HLA - E 分子的三维结构发现<sup>[4]</sup>,HLA - E 第 107 位氨基酸不在先导序列肽的结合区内,第 107 位氨基酸的改变不影响 HLA - E 与先导序列肽的结合,即不影响 HLA - E 分子的表达和功能的发挥。③HLA - Ia 先导序列肽的影响。研究发现<sup>[5]</sup>,不同 HLA - Ia 先导肽结合到 HLA - E 转染的鼠 RMA - S 细胞,作异基因混合淋巴细胞培养时,刺激 NK - CTL 产生的细胞毒活性不同,大部分 HLA 分子先导肽如 HLA - A、-B、-D、-F、-G、-H 能诱导 NK - CTL 的细胞毒活性,溶解 HLA - E - RMA - S 细胞,少部分 HLA 分子先导肽如 HLA - C、-E 等不能诱导 HLA - E - RMA - S 细胞成为 NK - CTL 靶细胞,这种

作用与 HLA - E 多态性无关。④未考虑 HLA - C 对移植效果的影响。供、受者 HLA - A、-B、-DR 相合的 allo - HSCT、HLA - C 位点不一定相合,而 HLA - C 不合时也可导致强烈的急、慢性 GVHD<sup>[6]</sup>,可能影响本实验结果的分析。

因此,将 HLA - E 基因是否相合作为独立影响因素,分析其对 allo - HSCT 的影响存在着一定的局限性。初步结果表明:(1)HLA - E 的多态性是有限的;(2)独立的 HLA - E 基因变化并不影响 allo - HSCT 的移植效果。进一步深入研究 HLA - E 对 allo - HSCT 的影响尚需包括 HLA - A、B、C、DR、DQ 等分子的多因素、多变量的研究。

## [参 考 文 献]

- [1] O'Callaghan CA, Bell JI. Structure and function of the human MHC class Ib molecules HLA - E, HLA - F and HLA - G[J]. Immunol Rev, 1998, 163: 129 - 138.
- [2] 甄子俊,方建培,邓庆丽,等. 广东地区汉族正常人群 HLA - E 基因多态性研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2004, 12(6): 783 - 787.
- [3] Vitale C, Pitto A, Benvenuto F, et al. Phenotypic and functional analysis of the HLA - class I - specific inhibitory receptors of natural killer cells isolated from peripheral blood of patients undergoing bone marrow transplantation from matched unrelated donors[J]. The Hematology Journal, 2000, 2: 136 - 144.
- [4] Strong RK, Holmes MA, Li P, et al. HLA - E allelic variants. Correlating differential expression, peptide affinities, crystal structures, and thermal stabilities[J]. J Biol Chem, 2003, 278(7): 5082 - 5090.
- [5] Romagnani C, Pietra G, Falco M, et al. Identification of HLA - E - specific alloreactive T lymphocytes: a cell subset that undergoes preferential expansion in mixed lymphocyte culture and displays a broad cytolytic activity against allogeneic cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(17): 11328 - 11333.
- [6] 陈 纯,方建培,段连宁,等. CD158 分子表达在他克莫司、霉酚酸酯联合甲基强的松龙治疗顽固性慢性移植抗宿主病的追踪观察[J]. 中国病理生理杂志, 2005, 21(2): 285 - 288.