

· 论 著 ·

某地区维吾尔族强直性脊柱炎患者 HLA-B27 亚型频率分布

邹红云, 余伍忠, 何江, 杨柳, 焦敏

(兰州军区乌鲁木齐总医院临床医学研究所, 乌鲁木齐 830000)

摘要:目的 探讨新疆维吾尔族强直性脊柱炎(AS)患者 HLA-B27 亚型的分布特点。方法 采用 PCR-SBT 法对维吾尔族 AS 患者进行 HLA-B27 亚型检测, 并与当地汉族及国内其他地区已报道的 AS 患者 HLA-B27 亚型分布特点进行对比分析。结果 维吾尔族 AS 患者中 B* 2705 表现型频率(55.56%)最高, 显著高于本地区汉族 AS 患者 B* 2705 频率($P < 0.05$), 也高于国内其他地区报道的汉族 AS 患者 B* 2705 频率(山东地区 63.89% 除外)。维吾尔族 AS 患者中 B* 2704 表现型频率(25%)是迄今国内报道中的最低频率, 明显低于本地区汉族($P < 0.05$)和国内其他地区报道的 B* 2704 表现型频率。维吾尔族 AS 患者中还检测到 B* 2702、B* 2707、B* 2710 3 种亚型, 其中 B* 2710 亚型系国内首次报道; 本地区汉族 AS 患者以 B* 2704(65.22%)表现型为主, 其次为 B* 2705(26.09%)的特点与国内其他大部分地区汉族 AS 患者 B27 亚型频率分布特点一致。汉族 AS 患者中检测到 2 例 B* 2715 亚型, 系国内第 2 次报道; 另检测到 B* 2702/B* 2704 及 B* 2704/B* 2705 存在 2 个位点的纯合子各 1 例, 其中 B* 2702/B* 2704 在国内首次报道。结论 新疆地区的维吾尔族 AS 患者 HLA-B27 等位基因的表达和频率有着与本地区及国内其他地区汉族人群显著不同的特征。在新疆开展不同民族 HLA-B27 等位基因亚型分布规律的调查研究对于人类遗传学研究和分析各类人群遗传背景对 AS 疾病易感性的影响将具有重要意义。

关键词: 脊柱炎, 强直性; HLA 抗原; 维吾尔族

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.03.011

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)03-0310-03

Human leukocyte antigen-B27 alleles in Uyghur patients with ankylosing spondylitis in some district

Zou Hongyun, Yu Wuzhong, He Jiang, Yang Liu, Jiao Min

(Institute of Clinical Medicine, Urumqi General Hospital, Lanzhou Military Area Command, Urumqi 830000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the distribution of HLA-B27 subtypes in Uyghur ankylosing spondylitis patients in Xinjiang. **Methods** B27-positive patients with ankylosing spondylitis were subtyped by using PCR-SBT. The HLA-B27 subtype frequencies of Uyghur patients were compared with that of Han patients in Xinjiang and the other areas of China. **Results** B* 2705 was the predominant subtype in Uyghur patients with a frequency of 55.56%, which was much more higher than that in Han patients in Xinjiang and the other areas of China. To date, the frequency of B* 2704 in Uyghur patients was the lowest, significantly lower than that in Han patients. Additionally, three other alleles were identified in Uyghur patients: B* 2702, B* 2707 and B* 2710. B* 2710 had not been previously reported in Chinese ankylosing spondylitis patients; B* 2704 was the main(65.22%) subtype in Han patients in Xinjiang, and was similar to the characteristics of Han patients in the other areas of China. B* 2715 was detected in two Han patients and was reported in China for the second time. B* 2702/B* 2704 and B* 2704/B* 2705 homozygotes were identified in two Han patients respectively. B* 2702/B* 2704 homozygote was identified in Chinese for the first time. **Conclusion** The distribution of HLA-B27 subtypes in Uyghur ankylosing spondylitis patients in Xinjiang was significantly different from that in Han patients. To study the distribution of HLA-B27 subtypes in ethnic minority populations of Xinjiang was of great significance for anthropological genetic study and analyzing the impact of genetic background on ankylosing spondylitis susceptibility.

Key words: spondylitis, ankylosing; HLA antigens; Uyghur nationality

人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA) B27 亚型与强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)的发病密切相关。目前 AS 的发病机制尚不清楚, 可能与遗传和免疫因素有关。HLA-B27 等位基因具有高度多态性, 随着 HLA-B27 分型技术的提高, 不断有新的亚型被发现。2007 年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)正式命名的 HLA-B27 亚型达到 35 个(HLA-B* 2701~2721, 2723~2736)^[1]。不同 B27 亚型之间仅是 1 个或多个碱基序列的差异, 且主要集中于外显子 2 和外显子 3(编码 B27 抗原肽结合槽 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 结构区域)^[2]。B27 亚型在不同国家和地区、不同民族和人种之间的分布频率不同^[3]。探讨 HLA-B27 各种亚型与 AS 的相关性对于阐明 HLA-B27 在 AS 中的致病机制尤为重要。

近年来, 国内不同地区有关汉族人群 HLA-B27 亚型的研究已相继报道, 但至今尚未见有关少数民族 AS 患者 B27 亚型分布的报道^[1, 4-6]。本研究采用 PCR-SBT 技术对新疆维吾尔族 AS 患者进行 HLA-B27 亚型分析, 并与当地汉族 AS 患者及国内其他地区已报道的 AS 患者 B27 亚型分布特点进行对比分析, 探讨本地区维吾尔族 AS 患者 B27 亚型的分布特点。

1 资料与方法

1.1 一般资料 AS 患者共 82 例, 临床均符合 1984 年纽约修订 AS 诊断标准, 所有病例均经序列特异引物引导的 PCR 反应(PCR with sequence-specific primers, PCR-SSP)方法确定为 HLA-B27 阳性。维吾尔族 AS 患者 36 例, 男 27 例, 女 9 例, 年龄 16~52 岁; 汉族患者 46 例, 男 35 例, 女 11 例, 年龄 17~

48 岁。

1.2 血样采集 采集静脉血 5 mL(10% EDTA-Na₂ 抗凝), -20 °C 保存。

1.3 HLA-B27 分型检测 (1)DNA 模板制备:采用 Axy Prep™ 全血基因组 DNA 提取试剂盒提取外周血 DNA,操作严格按照说明书进行。制备的 DNA 纯度为 1.7~2.0, DNA 浓度 20~80 ng/μL,分别用于 PCR-SSP 和 PCR-SBT 检测分析。(2)HLA-B27 高分辨率等位基因分型采用 PCR-SBT 技术:在 1 个单管中进行 HLA-B PCR 反应,扩增 B 位点基因组第 2、3 和 4 外显子片段。将扩增出的阳性片段作为 SBT 测序反应的模板进行高分辨分型检测,通过 3730xl 基因分析仪得到的序列峰图进行 SBT 软件分析得出 B 位点高分型结果。涵盖 WHO 公布的 35 个 HLA-B27 高分辨等位基因(HLA-B* 2701~2721、2723~2736)。(3)HLA-B27 低分辨率基因分型:采用经典的 PCR-SSP 技术,涵盖 WHO 2007 年公布 35 个 HLA-B27 等位基因中 60.53%和 63.16%。

1.4 统计学处理 应用 PEMS3.1 统计软件进行统计学处理。基因频率采用直接计数法,基因频率=检出基因的患者人数/患者总数。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 AS 患者中 HLA-B27 等位基因亚型的比例 36 例维吾尔族 AS 患者中检测到 5 种 HLA-B27 等位基因亚型,分别为 B* 2705(占 55.56%,20/36)、B* 2704(占 25%,9/36)、B* 2702(占 8.33%,3/36)、B* 2707(占 8.33%,3/36)、B* 2710(占 2.78,1/36);46 例汉族 AS 患者中检测出 3 种 B27 等位基因亚型,分别为 B* 2704(占 65.22%,30/46)、B* 2705(占 26.09%,12/46)、B* 2715(占 4.35%,2/46),另外还检测出 B* 2702/B* 2704 及 B* 2704/B* 2705 存在 2 个位点的纯合子各 1 例。

2.2 维吾尔族、汉族及国内其他地区汉族 AS 患者 HLA-B27 等位基因频率的比较 见表 1,本研究中维吾尔族 AS 患者中 B* 2705 表现型频率(55.56%)最高,显著高于本地区汉族 AS 患者 B* 2705 频率(26.09%, $P<0.05$),也高于国内其他 7 个地区汉族人群的 B* 2705 频率(山东地区 63.89%除外)。维吾尔族 AS 患者中 B* 2704 表现型频率(25%)是迄今国内报道中的最低频率,明显低于本地区汉族(65.22%, $P<0.05$)和国内其他 8 个地区报道的 B* 2704 表现型频率。本地区汉族 AS 患者以 B* 2704(65.22%)表现型为主,其次为 B* 2705(26.09%)的特点与国内其他大部分地区汉族 AS 患者 B27 亚型频率分布特点一致(山东地区除外,湖北地区未检测到 B* 2705 表型)。

表 1 HLA-B27 等位基因在国内不同地区 AS 患者中表达频率的比较 (%)

B27 等位基因	乌鲁木齐维吾尔族	乌鲁木齐汉族	广东	唐山	江西	山东	北京	上海	湖北	重庆
B* 2702	8.33	—	1.73	—	—	—	—	—	—	0.75
B* 2704	25	65.22	88.44	58.5	54.8	36.11	54.8	76.8	90.4	73.88
B* 2705	55.56	26.09	9.83	27.7	41.4	63.89	41.4	20.3	—	22.39
B* 2706	—	—	—	—	—	—	—	1.4	—	—
B* 2707	8.33	—	—	0.9	—	—	—	1.4	—	0.75
B* 2708	—	—	—	3.6	—	—	—	—	—	—
B* 2709	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.75
B* 2710	2.78	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B* 2711	—	—	—	—	—	—	—	—	4	—
B* 2713	—	—	—	5.4	—	—	—	—	—	—
B* 2715	—	4.35	—	—	—	—	—	—	4.8	—
B* 2718	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.75
B* 2720	—	—	—	—	—	—	—	—	—	0.75
B* 2722	—	—	—	—	—	—	—	—	0.8	—
B* 2702/2704	—	2.17	—	—	—	—	—	—	—	—
B* 2704/2705	—	2.17	—	—	4.1	—	—	—	—	—

注:“—”代表无值。

3 讨 论

HLA-B27 亚型在不同地区、不同民族和人种之间的分布差异性,可能与历史上人群的迁徙路线不同有关。在所有 HLA-B27 亚型中,B* 2705 分布最广,遍及世界各地的各族人群,被认为是“祖基因”。由 B* 2705 基因发生点突变、基因异位和其他机制形成各亚型不同的分布频率^[7]。国外文献报道,B* 2705 亚型在白种人 AS 患者中占大约 96%,在高加索人群中 B* 2705 是最主要的等位基因(占 90%左右);亚洲人 B* 2704 约占 45%。在中国汉族人群中,B* 2704 和 B* 2705 构成了 HLA-B27 的优势亚型,尤以 B* 2704 分布最为广泛,频率最高,但各地区报道的 B* 2704 分布频率差异较大,范围在

54.8%~94.4%不等(山东仅 36.11%),B* 2705 分布频率差异亦较大,范围在 9.83%~41.4%(山东 63.89%,湖北地区未检测到 B* 2705)。而紧邻我国南方的泰国人群 B* 2704 在 HLA-B27 阳性的 AS 个体中检出率高达 91%^[8]。

大量研究表明,不同 HLA-B27 亚型与 AS 的关联程度存在差异。一般认为,B* 2701、B* 2702、B* 2704、B* 2705、B* 2707、B* 2708、B* 2710、B* 2714、B* 2715 和 B* 2719 亚型均为 AS 易感基因型,而 B* 2703 在非洲人群中与 AS 呈弱相关性,B* 2706 和 B* 2709 则分别与泰国和意大利撒丁岛人群 AS 呈负相关性^[9]。其他 HLA-B27 亚型由于检出太少尚未确定其与疾病相关性。

本研究表明,不同 HLA-B27 亚型与 AS 的关联程度存在差异。一般认为, B* 2701、B* 2702、B* 2704、B* 2705、B* 2707、B* 2708、B* 2710、B* 2714、B* 2715 和 B* 2719 亚型均为 AS 易感基因型,而 B* 2703 在非洲人群中与 AS 呈弱相关性, B* 2706 和 B* 2709 则分别与泰国和意大利撒丁岛人群 AS 呈负相关性^[9]。其他 HLA-B27 亚型由于检出太少尚未确定其与疾病相关性。

本研究表明, B* 2705 是本地区维吾尔族 AS 患者的主要优势亚型(占 55.56%),显著高于本地区汉族($P < 0.05$)及国内其他地区(山东地区除外)汉族 AS 患者 B* 2705 的频率(9.83%~41.4%),介于高加索人(90%)和亚洲人(45%)之间;维吾尔族 AS 患者 B* 2704 亚型占 25%,是迄今国内已报道的 B* 2704 频率(54.8%~94.4%)中最低值;本地区汉族以 B* 2704 为主要优势亚型(65.22%)^[6],其次为 B* 2705(26.09%),类似于国内其他地区汉族人群的分布特点。本研究表明, B* 2705 是新疆维吾尔族 AS 患者的最主要易感基因,而 B* 2704 则是本地区汉族人群的最主要易感基因。

本研究提示,维吾尔族 AS 患者的 HLA-B27 亚型较当地汉族具有更为多态性的特点。在维吾尔族 AS 患者中还检测到 B* 2702、B* 2707、B* 2710 3 种亚型,其中 B* 2710 亚型系国内首次报道;汉族 AS 患者检测到 2 例 B* 2715 亚型,系国内第 2 次报道。上述亚型均为文献已报道的 AS 易感基因型,但由于样本例数较少,还缺乏本地区健康对照人群 B27 亚型分布资料,因此目前尚不能确定 B* 2702、B* 2707、B* 2710、B* 2715 亚型与本地区维吾尔族 AS 易感性的相关性,有待于今后进一步研究。汉族 AS 患者中检测到 B* 2702/B* 2704 及 B* 2704/B* 2705 存在 2 个位点的纯合子各 1 例,其中 B* 2702/B* 2704 在国内首次报道。有关 HLA-B27 纯合子基因型与 AS 及临床表现相关性的研究目前尚未见报道。

新疆地处亚欧大陆交往联系的要冲地带,是古代“丝绸之路”的重要路段,历史上经历了复杂的人群迁徙。遗传学研究已证实古“丝绸之路”对亚欧人群之间的基因交流和融合起到了重要作用^[10]。这种特殊的历史和遗传背景可能是世居新疆的维吾尔族 AS 患者 HLA-B27 亚型分布不同于当地汉族和国内其他地区汉族的主要原因。

新疆地区遗传背景复杂,突变基因具有高度异质性,存在显著的遗传流行病学特点^[11]。已有调查资料表明,新疆地区维吾尔和汉族 AS 患者之间 HLA-B27 阳性表达差异有统计学

意义,汉族高于维吾尔族^[12]。本研究表明,新疆地区的维吾尔族 AS 患者 HLA-B27 等位基因的表达和频率有着与本地区及国内其他地区汉族人群显著不同的特征。因此,在新疆地区开展不同民族 HLA-B27 等位基因亚型分布规律的调查研究对于人类学研究和分析各类人群遗传背景对 AS 疾病易感性的影响将具有重要意义。

参考文献

- [1] 肖露露,罗敏,郭伟,等. HLA-B* 27 高分辨等位基因在 1 606 例疑似强直性脊柱炎患者中的表达[J]. 广州医学院学报, 2008, 36(4): 5-8.
- [2] Khan MA. The 21 HLA-B27 subtypes[J]. J Rheumatol, 2000, 27(suppl 59): 29-33.
- [3] 李维,吴强,余梅贵. HLA-B27 亚型及其与强直性脊柱炎关系的研究进展[J]. 免疫学杂志, 2002, 18(3): 191-194.
- [4] 李维,黄霞. HLA-B27 亚型与强直性脊柱炎的相关性研究[J]. 临床血液学杂志:输血与检验版, 2007, 10(5): 218-220.
- [5] 崔刘福,宋海澄,李宏芬. HLA-B27 等位基因与强直性脊柱炎的相关性研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2003, 7(1): 55-56.
- [6] 钦伟,毛永鑫,李文超,等. 山东地区 AS 患者 HLA-B27 基因多态性分析[J]. 医学检验与临床, 2006, 17(1): 36-37.
- [7] Khan MA. HLA-B27 polymorphism and association with disease[J]. J Rheumatol, 2000, 27: 1110-1114.
- [8] García-Pepdró M, Martí M, López de Castro JA. High T cell epitope sharing between two HLA-B27 subtypes(B* 2705 and B* 2709) differentially associated to ankylosing spondylitis[J]. J Immunol, 1999, 163(4): 2299-2305.
- [9] Ma HJ, Hu FP. Diversity of human leukocyte antigen-B27 alleles in Han population of Hunan province, southern China[J]. Tissue Antigens, 2006, 68(2): 163-166.
- [10] 杨留启,谭思杰,俞海菁,等. 线粒体 DNA 多态性揭示丝绸之路上游地区上述民族的基因融合[J]. 生命科学, 2008, 38(4): 368-376.
- [11] 余伍忠,李厚钧,李力,等. 中国“丝绸之路”地区血红蛋白病的遗传流行病学特点[J]. 人类学学报, 2001, 20(1): 69-75.
- [12] 莫红梅,田永芳,阿孜古力,等. 对 2 个民族强直性脊柱炎白细胞抗原-B27 阳性表达与性别年龄分布特点的研究[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(6): 491-492.

(收稿日期:2010-06-17)

总体与样本

根据研究目的确定的同质研究对象的全体(集合)称为总体,包括有限总体和无限总体。从总体中随机抽取的部分观察单位称为样本,样本包含的观察单位数量称为样本含量或样本大小。如为了解某地区 10~15 岁儿童血钙水平,随机选取该地区 3 000 名 10~15 岁儿童并进行血钙检测,则总体为该地区所有 10~15 岁儿童的血钙检测值,样本为所选取 3 000 名儿童的血钙检测值,样本含量为 3 000 例。类似的研究需满足随机抽样原则,即需要采用随机的抽样方法,保证总体中每个个体被选取的机会相同。