

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.12.027

清远市连南地区瑶族人群 HLA-B*1502 基因表达分析

孔韦东¹, 黄振勇^{2△}, 成丽英¹, 潘秀静¹, 罗永钊², 唐亚吊¹, 刘 倩², 陈梅芳¹, 钟文君¹

(1. 连南瑶族自治县人民医院检验科, 广东清远 513300; 2. 清远市人民医院分子诊断中心, 广东清远 511518)

摘要:目的 探讨连南地区瑶族遗传背景下 HLA-B*1502 基因的分布频率。方法 选取 2016 年 1 月至 2018 年 10 月在连南瑶族自治县人民医院住院的 805 例患者为研究对象。采用实时定量聚合酶链反应检测患者 HLA-B*1502 的表达, 比较瑶族人群和非瑶族人群 HLA-B*1502 基因阳性率、基因频率, 分析影响瑶族人群 HLA-B*1502 基因阳性率的因素。结果 广东省清远市连南地区瑶族人群 HLA-B*1502 基因阳性率为 13.39%, 基因频率为 0.103; 而非瑶族人群的 HLA-B*1502 基因阳性率为 16.35%, 基因频率为 0.123。两组患者的 HLA-B*1502 基因阳性率比较, 差异无统计学意义($\chi^2=1.079, P=0.299$)。HLA-B*1502 阳性的瑶族患者的平均年龄为 (51.63 ± 17.87) 岁, 明显高于 HLA-B*1502 阴性的瑶族患者的平均年龄 $[(47.07 \pm 20.92)$ 岁, $t=2.187, P=0.029$]。结论 广东省清远市连南地区瑶族人群 HLA-B*1502 基因频率为 0.103, 且 HLA-B*1502 携带情况与年龄存在一定关系。

关键词:瑶族; HLA-B*1502; 基因频率

中图分类号: R446.9

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2019)12-1721-03

Analysis of the gene expression of HLA-B*1502 in the population of Yao nationality in Liannan area of Qingyuan city

KONG Weidong¹, HUANG Zhenyong^{2△}, CHENG Liying¹, PAN Xiuqing¹, LUO Yongzhao², TANG Yadio¹, LIU Qian², CHEN Meifang¹, ZHONG Wenjun¹

(1. Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Liannan Yao Autonomous County, Qingyuan, Guangdong 513300, China; 2. Molecular Diagnostic Center, Qingyuan People's Hospital, Qingyuan, Guangdong 511518, China)

Abstract: Objective To study the frequency of HLA-B*1502 in the population of Yao nationality in Liannan area of Qingyuan city in Guangdong province. **Methods** A total of 805 patients in People's Hospital of Liannan Yao Autonomous County from January 2016 to October 2018 were involved in this study. Real-time PCR was employed to assess the expression of HLA-B*1502 in patients. The gene positive ratio and frequency of HLA-B*1502 were calculated and compared between Yao nationality population and non-Yao nationality population. And impact factors of the positive ratio of HLA-B*1502 in the population of Yao nationality were analyzed. **Results** The positive ratio of HLA-B*1502 in the population of Yao nationality in Liannan area of Qingyuan city was 13.39%, and its frequency was 0.103. However, the positive ratio in non-Yao nationality group was 16.35% and its frequency was 0.123. There was no different on positive ratio of HLA-B*1502 between the two groups ($P>0.05$). The average age of patients with positive HLA-B*1502 was (51.63 ± 17.87) years old, which was obviously higher than (47.07 ± 20.92) years old in patients with negative HLA-B*1502 ($t=2.187, P=0.029$). **Conclusion** The gene frequency of HLA-B*1502 in the population of Yao nationality in Liannan area of Qingyuan city is 0.103. The positive ratio of HLA-B*1502 associated with patients' age.

Key words: Yao nationality; HLA-B*1502; gene frequency

人类清蛋白细胞抗原 B(HLA-B) 是编码参与免疫系统抗原提呈的细胞表面蛋白, 是人类最具多态性的基因, HLA-B*1502 是其中一个等位基因^[1]。目前发现, HLA-B*1502 等位基因的表达与 Stevens-Johnson 综合征、中毒性表皮坏死松解症和严重疱疹皮肤不良反应显著相关^[2]。HLA-B*1502 等位基因

的表达具有很强的区域性, 不同地区不同民族人群的基因频率差异很大^[3]。但目前为止, 有关广东地区瑶族人群的 HLA-B*1502 基因分布频率相关报道较少。了解 HLA-B*1502 在本地区人群中的基因频率, 能够帮助医师在用药时保持应有的警惕, 以减少药物不良反应的发生。本研究以广东省清远市连南

瑶族自治县的瑶族人群为研究对象,旨在探讨该地区瑶族遗传背景下 HLA-B* 1502 基因的分布频率,为瑶族人群 HLA-B* 1502 基因研究提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2016 年 1 月至 2018 年 10 月连南瑶族自治县人民医院收治的 805 例患者作为研究对象,其中男 443 例,女 362 例;年龄 0~92 岁,平均(47.68±20.56)岁。纳入研究对象均出生在广东省清远市连南地区,且长期居住,排除个人信息不完整或存疑者。根据患者的民族,将患者分为瑶族组(*n* = 224)及非瑶族组(*n* = 581)。两组患者的一般资料比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05),具有可比性,见表 1。所有研究对象均自愿参与本研究,且签署知情同意书,本研究经本院伦理委员会审核通过后进行。

表 1 两组患者一般资料比较				
组别	<i>n</i>	男性[<i>n</i> (%)]	女性[<i>n</i> (%)]	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)
瑶族组	224	96(42.86)	128(57.14)	49.68±20.56
非瑶族组	581	234(40.28)	347(59.72)	52.12±16.83
χ^2/t		0.446		1.729
<i>P</i>		0.505		0.084

1.2 仪器与试剂 仪器包括离心机(赛默飞世尔公司,美国)、Nanodrop 2000C 超微量分光光度计(赛默飞世尔公司,美国)、ABI 7900HT 荧光定量 PCR 仪(ABI 公司,美国)。试剂盒包括全血 DNA 小量提取试剂盒(E. Z. N. A Blood DNA Kit,北京鸿跃创新科技有限公司)、HLA-B* 1502 基因检测试剂盒(PG1502 Detection Kit,台湾世基生物医学股份有限公司,国械注许 20153400127)。

1.3 方法

1.3.1 全血 DNA 提取 取患者清晨外周静脉血 3 mL 置入 EDTA 抗凝管内,上下颠倒混匀后,保存于一 80 ℃。分组提取 DNA 时,将冷冻样品置于室温中解冻,后采用全血 DNA 小量提取试剂盒,严格遵照试剂盒说明,提取全血 DNA。所提取的 DNA 采用 Nanodrop 2000C 超微量分光光度计检测其质量及数量,确保 DNA 样品无蛋白和 RNA 污染。

1.3.2 HLA-B* 1502 检测 采用 HLA-B* 1502 基因检测试剂盒及聚合酶链反应免疫荧光法(PCR-荧光法)检测 HLA-B* 1502 基因。采用试剂盒内 HLA-B* 1502 基因型专一引物及内参基因引物,在 ABI 7900HT 荧光定量 PCR 仪上,扩增 DNA 样品,每个样品进行 3 次独立的 PCR 反应,取 3 次独立反应所得 CT 值的平均值。比较样品所得的 HLA-B* 1502 基因 CT 值与内参基因所得的 CT 值,判定该样品 HLA-B* 1502 基因是否为阳性。

1.4 观察指标 计算并比较两组患者 HLA-B* 1502 基因阳性率及基因频率;对中国部分地区和民族的基

因频率进行总结,数据由 <http://www.allelefrequen-cies.net> 中搜索得到^[4]。

1.5 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行数据处理及统计分析。人群 HLA-B* 1502 基因阳性率 = HLA-B* 1502 基因阳性例数/总例数 × 100%;人群 HLA-B* 1502 基因频率 = HLA-B* 1502 等位基因数/(2 × 总例数) × 100%。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 瑶族组与非瑶族组 HLA-B* 1502 基因阳性率及基因频率比较 瑶族组 HLA-B* 1502 基因阳性率为 13.39%(30 例),基因频率为 0.103;而非瑶族组的 HLA-B* 1502 基因阳性率为 16.35%(95 例),基因频率为 0.123。两组患者的 HLA-B* 1502 基因阳性率比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 1.079, P = 0.299$)。

2.2 中国部分地区和民族的基因频率 HLA-B* 1502 基因频率在中国部分地区和民族的基因频率总结见表 2。

表 2 中国部分地区和民族人群 HLA-B* 1502 基因频率		
人群	HLA-B* 1502 基因频率	样本量(<i>n</i>)
广东省梅州地区汉族	0.035	100
广州市	0.110	102
云南省汉族	0.124	101
云南省基诺族	0.238	109
云南省傈僳族	0.123	111
云南省怒族	0.090	107
云南省佤族	0.210	119

2.3 不同性别瑶族人群 HLA-B* 1502 基因阳性情况比较 瑶族人群中,男性和女性 HLA-B* 1502 基因阳性例数分别为 14、16 例,阴性例数分别为 82、112 例,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.205, P = 0.651$)。

2.4 HLA-B* 1502 基因阳性与阴性人群的平均年龄比较 HLA-B* 1502 基因阳性及阴性患者的平均年龄分别为(51.63±17.87)、(47.07±20.92)岁,HLA-B* 1502 基因阳性及阴性患者的年龄比较,差异有统计学意义(*t* = 2.187, *P* = 0.029)。

3 讨 论

近年来的研究表明,抗癫痫药物如卡马西平、奥卡西平、苯巴比妥等,均可引起包括轻度斑丘疹、Stevens-Johnson 综合征、中毒性表皮坏死松解症及药物超敏综合征等在内的一系列皮肤不良反应^[5]。而 Stevens-Johnson 综合征和中毒性表皮坏死松解症等致死性不良反应的发生与患者的 HLA-B* 1502 基因存在一定相关性^[6]。高阳等^[7]的研究指出,在中国南方汉族癫痫患者中 HLA-B* 1502 等位基因与拉莫三

喉所致的 Stevens-Johnson 综合征、中毒性表皮坏死松解症存在显著相关性,但与斑丘疹无相关性。另一项研究也指出奥卡西平诱发的轻微皮肤不良反应与 HLA-B* 1502 等位基因相关^[8]。也有研究发现癫痫药物芳香族的致敏性与 HLA-B* 1502 基因的表达具有一定的相关性^[9]。

目前的研究发现,几乎仅有亚洲血统的人群携带有 HLA-B* 1502 等位基因,其中包括南亚的印度人。但人群 HLA-B* 1502 基因携带情况具有极强的地域性^[10]。泰国、马来西亚、印度尼西亚、菲律宾和中国部分地区有超过 10% 的患者携带有 HLA-B* 1502 基因,而南亚人携带的平均概率为 5%,日本人和韩国人的 HLA-B* 1502 等位基因的携带率低于 1%^[11-12]。而在我国,不同地区及民族之间的 HLA-B* 1502 基因携带率也有明显差异。本研究结果显示,在云南省内,不同民族人群的 HLA-B* 1502 基因携带率有明显差别,其基因频率为 0.090~0.238。广东省内目前仅有两个地区的报道,广州市的携带率为 0.110,而广东省梅州市汉族的携带率低至 0.035。本研究结果显示,广东省清远市连南地区瑶族人群 HLA-B* 1502 基因频率为 0.103,低于当地非瑶族人群。但由于该等位基因与卡巴西平及其同类药物所致皮肤不良反应的相关性极高,笔者仍然建议本地患者在使用卡发西平前需对 HLA-B* 1502 等位基因进行检测,以降低发生致死性不良反应的风险。

本研究结果还发现,广东省清远市连南地区瑶族人群 HLA-B* 1502 基因阳性人群的年龄明显高于 HLA-B* 1502 基因阴性人群,这与既往的研究结果不一致。这可能与研究人群不同、既往研究样本量过少等有关^[13]。此外由于本次研究仅纳入住院患者,因此在研究样本的选择上存在一定偏差。在以后的研究中,将会把健康人群纳入研究中,以期能够取得更加全面准确的数据。

综上所述,广东省清远市连南地区瑶族人群 HLA-B* 1502 基因频率为 0.103,且 HLA-B* 1502 携带情况与年龄存在一定关系,为临床预防药物所致皮肤不良反应的发生提供了研究依据,使临床应用药物的安全性得以提高。

参考文献

[1] ZHOU P, ZHANG S, WANG Y, et al. Structural modeling of HLA-B* 1502/peptide/carbamazepine/T-cell receptor complex architecture: implication for the molecular mechanism of carbamazepine-induced Steven-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis [J]. J Biomol Struct Dyn, 2016, 34(8): 1806-1817.

[2] CHEN M, YANG B, WANG C, et al. Oxcarbazepine-induced Stevens-Johnson syndrome in a patient with HLA-B* 1502 genotype[J]. Australas J Dermatol, 2016, 57(4): e137-e138.

[3] TONEKABONI S H, JAFARI N, MANOSOURI M, et al. HLA-B* 1502 in Iranian children with anticonvulsant drugs-induced skin reactions [J]. Iran J Child Neurol, 2017, 11(2): 26-30.

[4] GONZALEZ-GALARZA F F, TAKESHITA L Y, Santos E J, et al. Allele frequency net 2015 update: new features for HLA epitopes, KIR and disease and HLA adverse drug reaction associations [J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(D1): D784-D788.

[5] MANUYAKORN W, SIRIPOOL K, KAMCHASITIAN W, et al. Phenobarbital-induced severe cutaneous adverse drug reactions are associated with CYP2C19 * 2 in Thai children [J]. Pediatr Allergy Immunol, 2013, 24(3): 299-303.

[6] NGUYEN D V, CHU H C, NGUYEN D V, et al. HLA-B* 1502 and carbamazepine-induced severe cutaneous adverse drug reactions in Vietnamese [J]. Asia Pac Allergy, 2015, 5(2): 68-77.

[7] 高阳, 于爱平, 蒋玉凤, 等. HLA-B* 1502 等位基因与中国南方汉族癫痫患者拉莫三嗪皮肤不良反应关联性的 Meta 分析 [J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(2): 110-114.

[8] 韩翔宇, 王菊莉, 曹洪涛, 等. 奥卡西平诱发轻微皮肤不良反应与 HLA 等位基因相关性的研究 [J]. 黑龙江医药科学, 2016, 39(1): 39-40.

[9] 侯蕴祈, 石海琴, 杨红姬. HLA-B* 1502 表达与 AEDs 致敏相关性的临床研究 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2017, 34(12): 1090-1092.

[10] KIM E, MCCROSSIN I, FREW J W. HLA-B* 1502 haplotype screening prior to carbamazepine administration in individuals of south-east Asia ancestry nears cost-effectiveness in preventing severe cutaneous adverse drug reactions [J]. Australas J Dermatol, 2018, 59(3): 245-247.

[11] ZENG T, LONG Y S, MIN F L, et al. Association of HLA-B* 1502 allele with lamotrigine-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Han Chinese subjects: a meta-analysis [J]. Int J Dermatol, 2015, 54(4): 488-493.

[12] SONG J S, KANG E S, JOO E Y, et al. Absence of HLA-B* 1502 and HLA-A* 3101 alleles in 9 Korean patients with antiepileptic drug-induced skin rash: a preliminary study [J]. Ann Lab Med, 2014, 34(5): 372-375.

[13] 李珣, 何颖豪, 逯晓晖, 等. 闽南地区人群中 HLA-B* 1502 基因频率的分析 [J]. 医学分子生物学杂志, 2016, 13(1): 7-11.