

构组成。他们的变化影响着氧化磷酸化的功能,从而整体影响 ATP 的合成^[10]。本研究发现职业性慢性苯中毒患者血小板线粒体基因 9bp 删除基因型频率明显高于对照组,其原因可能是 9bp 删除基因型导致线粒体功能下降,对于苯代谢物毒性作用更加敏感。有研究表明苯中毒患者出血倾向比较严重,苯中毒进程中血小板参数发生明显的变化,说明血小板对苯中毒是比较敏感的指标。

本研究表明血小板线粒体基因 9bp 删除基因型是苯中毒患者的易感基因,由于样本量的限制,未来的研究中有必要扩大样本量,并协同靶点蛋白表达功能进行进一步的群体遗传学验证。

参考文献

- [1] 宋学术,张华,梁艳,等. 2004—2013 年青岛市职业性慢性苯中毒发病特点分析[J]. 职业与健康, 2015, 31(20): 2862-2864.
- [2] Yis U, Ezgu FS, Karakaya P, et al. A novel mutation in the mitochondrial DNA cytochrome b gene (MTCYB) in a patient with Prader Willi syndrome[J]. J Child Neurol, 2015, 30(3): 378-381.
- [3] Puskarich MA, Kline JA, Watts JA, et al. Early alterations in platelet mitochondrial function are associated with survival and organ failure in patients with septic shock[J]. J Crit Care, 2016, 31(1): 63-67.
- [4] Singh MP, Ram KR, Mishra M, et al. Effects of co-exposure of benzene, toluene and xylene to *Drosophila melanogaster*; alteration in hsp70, hsp60, hsp83, hsp26, ROS gen-

eration and oxidative stress markers[J]. Chemosphere, 2010, 79(5): 577-587.

- [5] Sarma SN, Kim YJ, Song M, et al. Induction of apoptosis in human leukemia cells through the production of reactive oxygen species and activation of HMOX1 and Noxa by benzene, toluene, and o-xylene[J]. Toxicology, 2011, 280(3): 109-117.
- [6] Salehi MH, Kamalidehghan B, Houshmand M, et al. Gene expression profiling of mitochondrial oxidative phosphorylation (OXPHOS) complex I in Friedreich ataxia (FRDA) patients[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e94069.
- [7] 黄恬. 线粒体功能障碍与脓毒症诱导的 MODS 研究进展[J]. 检验医学与临床, 2010, 7(19): 2136-2138.
- [8] Yang Y, Jiang L, She Y, et al. Olaquinox induces DNA damage via the lysosomal and mitochondrial pathway involving ROS production and p53 activation in HEK293 cells[J]. Environ Toxicol Pharmacol, 2015, 40(3): 792-799.
- [9] Zharikov S, Shiva S. Platelet mitochondrial function; from regulation of thrombosis to biomarker of disease[J]. Biochem Soc Trans, 2013, 41(1): 118-123.
- [10] Komandur S, Venkatasubramanian S, Alluri RV, et al. Mitochondrial insertion-deletion polymorphism; role in disease pathology[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2011, 15(5): 361-364.

(收稿日期: 2017-01-07 修回日期: 2017-03-23)

• 临床探讨 •

沙眼衣原体 mRNA 和 DNA 检测的临床应用评价^{*}

罗茗月, 熊礼宽[△], 夏 勇, 肖克林, 邵聪文

(广东省深圳市宝安区妇幼保健院/暨南大学医学院附属宝安妇幼保健院中心实验室 518133)

摘要:目的 比较实时荧光核酸恒温扩增技术(SAT)检测沙眼衣原体 mRNA 和聚合酶链反应(PCR)检测质粒 DNA 的灵敏度和特异度,探讨其临床应用价值。方法 分别通过 SAT 和 PCR 检测尿液或生殖道分泌物标本 789 例,两种方法结果不一致的标本采用巢式 PCR 扩增沙眼衣原体外膜蛋白(omp1)基因验证。结果 759 例(96.2%)标本 SAT 和 PCR 结果一致(Kappa=0.64)。SAT 和 PCR 方法的检测结果差异有统计学意义($P<0.01$),SAT 方法检出的阳性率更高。30 例不一致标本通过巢式 PCR 扩增外膜蛋白验证,14 例与 SAT 检测 mRNA 相符,16 例与 PCR 检测质粒 DNA 相符。以两种检测结果一致为“扩大标准”,SAT 技术的灵敏度和特异度分别为 97.6% 和 98.0%,PCR 技术为 71.4% 和 99.7%;沙眼衣原体感染率为 5.3%,男性和女性感染率差异无统计学意义($P>0.05$),不同年龄组感染率差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 SAT 技术灵敏度高、特异度好、耗时短且无需昂贵设备,值得临床推广应用。

关键词:沙眼衣原体; 实时荧光核酸恒温扩增技术; 聚合酶链反应

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2017.12.038 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2017)12-1784-04

沙眼衣原体是主要的性传播感染病原体之一,其引起的泌尿生殖系统感染在全世界范围内呈上升趋势,长期感染和反复感染会引起严重并发症,无症状或轻微症状的感染患者是重要的传染源^[1]。因此,简单、廉价且准确的检测方法可快速早期诊断其感染及隐性感染,能有效遏制沙眼衣原体的传播。沙眼

衣原体的传统检测方法如细胞培养检测周期长,不能在感染早期及时指导临床治疗。核酸扩增技术如普通聚合酶链反应(PCR)、巢式 PCR、荧光定量 PCR 检测技术灵敏度高、操作简单,但 PCR 对标本中抑制物敏感、DNA 扩增产物易污染并且需要昂贵设备和专业技术人员,限制了其在偏远地区等条件落

^{*} 基金项目:广东省深圳市宝安区科技计划项目(2016CX235);广东省深圳市知识创新计划基础研究项目(JC20140302120929060)。

[△] 通信作者, E-mail: xionglk@sina.cn。

后实验室的应用^[2]。近年来,恒温扩增技术由于耗时短、无需昂贵设备,在病原体检测领域日益发展,有可能取代 PCR 技术。实时荧光核酸恒温扩增技术(SAT)是一种扩增 RNA 的方法,由于 RNA 拷贝数远远高于 DNA 且易于降解,所以 SAT 灵敏度更高并能有效避免污染^[3]。本研究运用 SAT 和 PCR 两种方法检测本院就诊患者的沙眼衣原体感染情况,比较两种方法的检测结果,评价两者对沙眼衣原体的检测性能。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采集 2013 年 9 月至 2014 年 9 月来本院就诊的育龄期人群的尿液或生殖道拭子标本共 789 例。其中男 552 例,女 237 例;年龄 18~48 岁,其中 18~30 岁 518 例,31~48 岁 271 例。

1.2 仪器与试剂 ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 ABI 公司,PCR 扩增仪购自 Eppendorf 公司,凝胶成像系统购自 UVP 公司。RNA 恒温扩增试剂盒购自上海仁度科技公司。DNA Taq 酶购自 Takara 公司。

1.3 方法

1.3.1 DNA 模板的制备 按照中山大学达安基因公司试剂说明书进行:待测标本离心弃上清液,生理盐水洗涤后,加入 50 μL DNA 提取液充分混匀,100 ℃ 恒温处理 10 min,离心得到含有待测 DNA 的上清液。

1.3.2 RNA 模板的制备 按照上海仁度科技公司试剂说明书进行:待测标本中加入核酸提取液后震荡 30 s,60 ℃ 保温 5 min,室温放置 10 min,细菌裂解释放的 RNA 与提取液中的磁性颗粒特异性结合,将 EP 管置于磁珠分离装置上静置 5 min,待磁珠吸附于管壁后,吸干管盖和管中的气泡和液体,重复洗涤 2 次后将 EP 管移离磁珠分离装置后加入扩增检测液,得到含有待测 RNA 的磁珠悬液。

1.3.3 普通 PCR 和巢式 PCR 普通 PCR 检测沙眼衣原体质粒基因,巢式 PCR 检测沙眼衣原体外膜蛋白(omp1)基因。PCR 扩增质粒引物序列为 GGG ATT CCT GTA ACA ACA AGT CAG G 和 CCT CTT CCC CAG AAC AAT AAG AAC AC。巢式 PCR 扩增 omp1 基因所用外引物序列为 AAT ATY TGG GAT CGY TTT GAT GT 和 CCR CAY TCC CAS ARA GCT GC,内引物序列为 TTG ATG TAT TYT GTA CAY TRG GAG C 和 GCT GCD CGA GCD CCN ACR CT,引物均由 Invitrogen 公司合成,详细步骤见文献[4]。

1.3.4 SAT 取 30 μL 磁珠悬液至 SAT 微量反应管中,置于 60 ℃ 保持 10 min 后立即置于 42 ℃ 保持 5 min,然后每管加入 10 μL 已预热的 SAT 酶液,震荡 15 s 混匀;将微量反应管迅速转至 ABI 7500 荧光检测仪,42 ℃ 恒温扩增 40 个循环。

1.4 统计学处理 使用 SPSS17.0 软件进行统计分析,PCR 方法和 SAT 方法的阳性率比较通过 McNemar's 检验分析,两者的一致性检验通过 Kappa 检验分析。不同性别及不同年龄组阳性率比较通过 χ^2 检验分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PCR 方法和 SAT 方法检测沙眼衣原体结果比较 通过 PCR 方法和 SAT 方法分别检测沙眼衣原体质粒 DNA 和 mR-NA,共检测 789 例标本,检测结果见表 1。PCR 检测的阳性率为 4.0%(32/789),SAT 阳性率为 7.0%(56/789)。其中 29 例标本两者均为阳性,730 例标本两者均为阴性,两种检测方法一致的标本占 96.2%(759/789),一致性一般(Kappa=0.64, 95%CI:0.52~0.76)。两种方法的检测结果的差异有统计学

意义($\chi^2=17.63, P<0.01$),SAT 检出的阳性率更高。

表 1 PCR 和 SAT 检测 CT 结果比较(n)

SAT	PCR		合计
	+	-	
+	29	27	56
-	3	730	733
合计	32	757	789

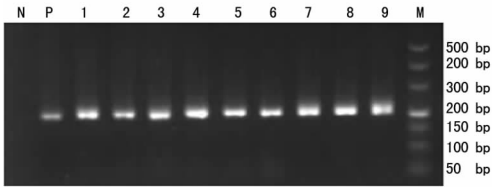
注: + 表示阳性, - 表示阴性。

2.2 巢式 PCR 检测两者检测结果不一致的标本 通过巢式 PCR 方法扩增 omp1 基因验证上述两种方法检测结果不一致的 30 例标本,结果见表 2,电泳结果图谱见图 1。SAT 阳性而 PCR 阴性的 27 例标本中,12 例巢式 PCR 为阳性,PCR 阳性而 SAT 阴性的 3 例标本中,1 例巢式 PCR 为阳性。即巢式 PCR 方法扩增的 30 例标本中,14 例与 SAT 检测 mRNA 相符,16 例与 PCR 检测质粒 DNA 相符。

表 2 PCR 和 SAT 方法不一致标本扩增 omp1 基因的结果(n)

SAT	PCR	巢式 PCR	合计
+	-	+	12
+	-	-	15
-	+	+	1
-	+	-	2

注: + 表示阳性, - 表示阴性。



注: N 为阴性对照, P 为阳性对照, 1~9 为标本, M 为 DNA 相对分子质量标准品。

图 1 标本巢式 PCR 检测结果

2.3 SAT 检测的灵敏度及特异度 以 PCR、SAT、巢式 PCR 3 种检测方法中两种一致为真阳性作为“扩大标准”,得出 SAT 检测的灵敏度为 97.6%(41/42),特异度为 98.0%(732/747), PCR 检测的灵敏度为 71.4%(30/42),特异度为 99.7%(745/747),结果见表 3。

表 3 SAT 和“扩大标准”的比较结果(n)

“扩大标准”	SAT		PCR	
	+	-	+	-
+	41	1	30	12
-	15	732	2	745
合计	56	733	32	757

注: + 表示阳性, - 表示阴性。

2.4 沙眼衣原体感染情况 本研究中沙眼衣原体感染率为 5.3%(42/789),男性感染率为 4.7%(26/552),女性为 6.8%(16/237),不同性别的感染率差异无统计学意义($\chi^2=1.37, P>0.05$)。将研究对象分为 18~30 岁、31~48 岁两个年龄组,18~30 岁年龄组的感染率为 5.6%(29/518),31~48 岁年

龄组的感染率为 4.8%(13/271),不同年龄组的感染率差异无统计学意义($\chi^2=0.227, P>0.05$)。

3 讨 论

沙眼衣原体是主要的性传播感染病原体之一,女性感染后临床症状不明显,由于多性伴的增加,其引起的泌尿生殖系统感染逐年上升。而育龄人群感染易导致流产甚至不孕不育^[5]。尽管目前有许多泌尿生殖道沙眼衣原体感染的报道,但由于人群特征、地域、检测方法的差异,不同地区的感染率以及其与年龄、性别等的关系差异较大。WHO 统计,2008 年非洲沙眼衣原体的感染率为 8.3%,美洲为 26.4%,东南亚为 7.2%,欧洲为 20.6%,东地中海为 3.2%,西太平洋为 40.0%^[6]。检测美国 15~21 岁约 100 万女性人群,无症状感染者沙眼衣原体的感染率为 6.1%~9.6%,而有感染症状者的感染率为 6.9%~10.7%^[7]。王峰等^[8]检测深圳地区 2 048 例性病门诊就诊者沙眼衣原体感染率为 15.9%。本研究中对育龄人群泌尿生殖道沙眼衣原体感染率为 5.3%,不同性别、不同年龄组的感染率差异无统计学意义($P>0.05$)。

沙眼衣原体寄生于细胞内,培养难度大,耗时且灵敏度低。本研究选用了 3 种核酸扩增技术检测沙眼衣原体:PCR 扩增质粒 DNA, SAT 扩增 mRNA,巢式 PCR 扩增 omp1 基因。已有研究证实沙眼衣原体的质粒拷贝数从几个到十几个不等, Pickett 等^[9]检测性病淋巴肉芽肿、颗粒性结膜炎拭子和生殖道分泌物标本,沙眼衣原体质粒拷贝数约为 4~7 个。Last 等^[10]检测颗粒性结膜炎患者的沙眼衣原体质粒拷贝数 1~18.3 个,平均为 5.34 个。所以,本研究采用普通 PCR 方法扩增质粒,优于仅有一个拷贝的基因组 DNA。PCR 方法虽然敏感性和特异性都得到了很大的提高,但也存在一些缺点:需要昂贵的热循环设备,限制了其在偏远地区的使用;DNA 扩增产物性状稳定,不像 RNA 容易降解,对于已治愈的复诊患者,机体可能还残留 DNA,目前尚不能用于疗效考核。

沙眼衣原体有时会发生质粒拷贝数低甚至完全缺失,导致出现假阴性^[11]。通过多重 PCR 同时扩增质粒和 omp1 基因,可避免沙眼衣原体漏检^[4,12]。所以,本研究通过巢式 PCR 验证 PCR 和 SAT 不一致的标本。结果显示,12 例 SAT 和巢式 PCR 均为阳性的标本扩增质粒为阴性,可能为沙眼衣原体质粒丢失造成。用巢式 PCR 进行 2 次虽然扩增多 1 次污染的机会,但严格控制操作程序和实验室环境可以避免。且巢式 PCR 扩增 omp1 基因是目前用于沙眼衣原体基因分型采用的方法之一。

常见的恒温扩增技术包括核酸序列依赖的恒温扩增(NASBA)、环介导的恒稳扩增、滚环扩增和依赖解旋酶的恒温扩增等,用于多种病原体的检测日益增多^[13]。不同于 PCR 技术,恒温扩增技术可以在恒定温度条件下完成对靶序列的扩增,使用水浴锅或金属恒温器即可提供反应环境,成本低廉,且无需经过温度变化的时间间隔,反应迅速。SAT 方法采用 NASBA 技术的反应原理,并联合实时检测技术。不同于其他扩增 DNA 的恒温扩增方法, SAT 可以直接扩增 RNA。检测 RNA 比检测 DNA 具有独特的优势^[14]:沙眼衣原体 mRNA 的拷贝数远大于质粒 DNA 和基因组 DNA,所以灵敏度更高;DNA 性状稳定扩增容易出现污染,而 RNA 在环境中极易降解所以不易污染,检测假阳性率低;RNA 仅能存留于活菌,所以 RNA 检测更适合于复诊患者的疗效考核,从而避免过度治疗。

恒温扩增方法反应快速,本研究中扩增 mRNA 只需要 30

min,而扩增质粒的 PCR 方法需要 2 h,扩增 omp1 基因的巢式 PCR 则需要 3 h。以两种检测结果一致为“扩大标准”, SAT 技术的灵敏度和特异度分别为 97.6%和 98.0%, PCR 技术为 71.4%和 99.7%, SAT 比 PCR 灵敏度更高。核酸扩增方法的灵敏度很大程度上取决于目的片段的拷贝数^[4],沙眼衣原体 mRNA 拷贝数多于质粒 DNA,因此, SAT 检出率高于 PCR。此外, SAT 方法使用的 T7 聚合酶可以从一个 DNA 拷贝扩增出 $10\sim 10^3$ 个 RNA 拷贝也是其检出率更高的原因。

综上所述, SAT 技术灵敏度高、特异度好且耗时短,仅需简单设备即可提供反应条件,比传统 PCR 更具优势,临床应用有可能日益普及。

参考文献

- [1] 罗茗月,熊礼宽.沙眼衣原体分型技术及其应用研究进展[J].中华传染病杂志,2013,31(5):317-320.
- [2] Fakruddin M, Mannan KS, Chowdhury A, et al. Nucleic acid amplification: Alternative methods of polymerase chain reaction[J]. J Pharm Bioallied Sci, 2013, 5(4): 245-252.
- [3] Xu J, Cao L, Su L, et al. A new accurate assay for Coxsackievirus A 16 by fluorescence detection of isothermal RNA amplification[J]. J Virol Methods, 2013, 193(2): 459-462.
- [4] Xiong L, Kong F, Zhou H, et al. Use of PCR and reverse line blot hybridization assay for rapid simultaneous detection and serovar identification of Chlamydia trachomatis[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(4): 1413-1418.
- [5] Malhotra M, Sood S, Mukherjee A, et al. Genital chlamydia trachomatis; an update[J]. Indian J Med Res, 2013, 138(3): 303-316.
- [6] Xia Y, Xiong L. Progress in genotyping of Chlamydia trachomatis[J]. Chin Med J, 2014, 127(22): 3980-3986.
- [7] Hoover KW, Tao G, Nye MB, et al. Suboptimal adherence to repeat testing recommendations for men and women with positive Chlamydia tests in the United States, 2008-2010[J]. Clin Infect Dis, 2013, 56(1): 51-57.
- [8] 王峰,洪福昌,周华,等.性病门诊人群泌尿生殖道沙眼衣原体混合感染及分型研究[J].中国艾滋病性病,2007,13(3):250-252.
- [9] Pickett MA, Everson JS, Peard PJ, et al. The plasmids of Chlamydia trachomatis and Chlamydophila pneumoniae (N16): accurate determination of copy number and the paradoxical effect of plasmid-curing agents[J]. Microbiology, 2005, 151(Pt 3): 893-903.
- [10] Last AR, Roberts CH, Cassama E, et al. Plasmid copy number and disease severity in naturally occurring ocular Chlamydia trachomatis infection[J]. J Clin Microbiol, 2014, 52(1): 324-327.
- [11] Frazer LC, Darville T, Chandra-Kuntal K, et al. Plasmid-cured Chlamydia caviae activates TLR2-dependent signaling and retains virulence in the Guinea pig model of genital tract infection[J]. PLoS One, 2012, 7(1): e30747.
- [12] Doseeva V, Forbes T, Wolff J, et al. Multiplex isothermal helicase-dependent amplification assay for detection of

Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2011, 71(4): 354-365.

[13] Yan L, Zhou J, Zheng Y, et al. Isothermal amplified detection of DNA and RNA[J]. Mol Biosyst, 2014, 10(5): 970-1003.

[14] 罗茗月, 熊礼宽. 恒温扩增技术在病原体检测中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(7): 972-976.

(收稿日期: 2017-01-06 修回日期: 2017-03-21)

• 临床探讨 •

70 例白血病与 HLA-A、B、DRB1 基因遗传关联性初步分析*

裴永峰, 李恒聪, 黄惠妮

(南宁中心血站/南宁输血医学研究所组织相容性与免疫遗传实验室, 南宁 530007)

摘要:目的 初步探讨广西地区 70 例白血病与人类白细胞抗原(HLA)基因的遗传关联性。方法 运用 PCR-SSP 法对广西地区 70 例白血病(病例组)进行 HLA-A、B、DR 基因分型并计算其基因频率, 并与 2 583 例广西骨髓库健康人(对照组)比较。结果 病例组中检出 HLA-B* 46 和 B* 51 基因频率的频率分别为 0.228 6 和 0.100 0, 显著高于对照组的 0.143 1 和 0.052 3 ($P < 0.05$); 检出 B* 40 基因频率为 0.071 4, 显著低于对照组的频率(0.146 2) ($P < 0.05$), 其余各基因在病例组和对照组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 HLA-A、B、DR 高频基因与广西地区健康人群基因频率基本一致, 其中 B* 46 和 B* 51 等位基因可能是广西地区白血病的易感基因; B* 40 等位基因可能是广西地区白血病的保护基因。

关键词: 白血病; 人类白细胞抗原; 基因频率; 广西

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.12.039 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2017)12-1787-03

人类白细胞抗原 (HLA) 是人类免疫系统的主要组织相容性抗原复合物, 是目前所知人类最复杂、最具多态性的遗传系统, 其定位于第 6 号染色体短臂, 在自我识别、免疫细胞的发育和特异性免疫应答中发挥重要作用, 截止到 2016 年 7 月, HLA 数据库已正式纳入的 HLA 等位基因共有 15 020 个, 已命名的 HLA-B 位点的等位基因达到 4 358 个^[1], HLA 等位基因频率及其连锁不平衡特点在分布上具有人种、种族及地域上的差异^[2]。至今报道有关 HLA 与疾病相关的文章近万篇, 涉及的疾病多达 500 多种^[3]。多数学者认为, 白血病是由物理、化学、生物、遗传等方面因素共同作用的结果。除了与外界环境因素有关外, 患者自身免疫能力也具有同样重要的能力。近年来研究发现, 许多 HLA 分子是白血病的保护因素或危险因素, 不同地区白血病与 HLA 相关性的研究也有报道^[4]。广西聚居着汉、壮、瑶等民族, 而各型白血病在多个民族都有发生。本文采用 PCR-SSP 技术, 对来本实验室的 70 例白血病患者进行 HLA 低分辨基因分型, 探讨广西地区白血病与广西地区健康人群的 HLA 相关基因频率及抗原表达的差异, 为临床移植配型提供可靠依据, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例组: 采用 2011—2014 年在本实验室做造血干细胞移植配型的广西地区白血病患者 70 例, 其中男 43 例、女 27 例, 年龄 3~54 岁, 中位年龄 33 岁, 所有患者都是诊断明确的初诊患者, 包括急性淋巴细胞白血病 30 例、急性髓细胞白血病 18 例、慢性粒细胞白血病 15 例、慢性淋巴细胞白血病 7 例。对照组: 采用 2011—2014 年 2 583 例骨髓库捐献志愿者。所有研究者均为广西本地人, 所有检测事先都征得研究对象的知情同意。

1.2 仪器及试剂 9800 型 PCR 扩增仪 (美国 ABI), Thermo SCIENTIFIC NANODROP 1000 核酸蛋白测定仪 (美国 Gene), 全自动凝胶成像分析系统 (英国 Bio-best), 多功能水平

电泳系统 (美国 Embi Tec), HLA-ABDR SSP Unitray 分型试剂 (美国 Invitrogen), DNA 提取试剂 (QIAamp DNA blood mini kit, 51104, 荷兰), 单通道和八通道移液器 (德国 eppendorf)。

1.3 方法 病例组和对照组均采用 5 mL 乙二胺四乙酸抗凝外周血, 严格按试剂说明书提取 DNA, 用核酸蛋白测定仪确定 DNA 质量, DNA 浓度为 40~100 ng/ μ L, 260~280 nm 处的吸光度值 (A 值) 为 1.7~1.9, 并用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测无 DNA 降解现象。用 HLA-ABDR SSP Unitray 分型试剂进行分型试验。

1.4 统计学处理 等位基因频率是指某基因个数占该座位上全部基因中的百分比, 采用平方根法计算每个等位基因的频率。数据用 SPSS 19.0 统计软件分析, 两组间的等位基因频率比较采用四格表 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。当差异有统计学意义时, 并计算比值比 (OR) 和 95% 可信区间 (CI)。

2 结果

2.1 HLA-A 位点的基因频率比较 病例组中共检出 HLA-A 等位基因 9 个, 具体见表 1。其中基因频率在前 5 位的基因分别是 A* 02(0.371 4)、A* 11(0.357 1)、A* 24(0.114 3)、A* 33(0.092 9) 和 A* 26(0.028 6)。对照组基因频率在前 5 位的基因与病例组一样, 只是顺序有所不同, 其分别是 A* 11(0.345 4)、A* 02(0.316 4)、A* 24(0.133 9)、A* 33(0.095 8) 和 A* 26(0.024 2)。病例组 9 个等位基因的基因频率与对照组相比, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 HLA-B 位点的基因频率比较 病例组中共检出 HLA-B 等位基因 17 个, 具体见表 2。其中基因频率在前 5 位的基因分别是 B* 46(0.228 6)、B* 15(0.150 0)、B* 13(0.114 3)、B* 58(0.100 0) 和 B* 51(0.100 0)。对照组基因频率在前 5 位的基因与病例组有 4 个相同, 其前 5 位分别是 B* 15

* 基金项目: 广西壮族自治区卫生厅科技研究计划项目 (Z2010198); 广西壮族自治区南宁市科学研究与技术开发计划项目 (201003048C-3)。