

· 论 著 · DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2021. 19. 015

云南地区肾移植受者 HLA 基因分布频率分析

蒲 丹, 潘永圣, 汪佳婕, 许小靓, 徐宏忍, 赵云平, 尹利民[△]

昆明市第一人民医院检验科, 云南昆明 650011

摘要:目的 探讨云南地区肾移植受者人类白细胞抗原(HLA)-A、B、DRB1 和 DQB1 位点等位基因分布频率。方法 收集 2017 年 6 月至 2020 年 11 月该院 1 251 例肾移植受者 HLA 基因检测结果, 分析 HLA-A、B、DRB1 和 DQB1 位点等位基因分布频率。结果 HLA-A 位点检出等位基因 17 种, 其中 A * 11、A * 02 和 A * 24 分布频率较高, 分别为 0.314 5、0.280 2 和 0.193 0。HLA-B 位点检出等位基因 31 种, 其中 B * 15、B * 40 和 B * 46 分布频率较高, 分别为 0.192 6、0.119 9 和 0.119 9。HLA-DRB1 位点检出等位基因 14 种, 其中 DRB1 * 12、DRB1 * 04、DRB1 * 09 分布频率较高, 分别为 0.217 8、0.139 9 和 0.117 1。HLA-DQB1 位点检出等位基因 7 种, 其中 DQB1 0301、DQB1 * 05 和 DQB1 * 06 分布频率较高, 分别为 0.286 6、0.201 0 和 0.167 1。结论 云南地区肾移植受者 HLA-A、B、DRB1 和 DQB1 位点中, A * 11、B * 15、DRB1 * 12 和 DQB1 0301 分别为分布频率最高的等位基因, 符合南方汉族人群 HLA 基因多态性的分布特征。

关键词:肾移植; 受者; 人类白细胞抗原; 等位基因; 分布频率

中图法分类号: R699.2

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)19-2841-04

Analysis of HLA gene distribution frequency in kidney transplant recipients in Yunnan area

PU Dan, PAN Yongsheng, WANG Jiajie, XU Xiaoliang, XU Hongren, ZHAO Yunping, YIN Limin[△]

Department of Clinical Laboratory, the First People's Hospital of Kunming, Kunming, Yunnan 650011, China

Abstract: Objective To explore the allele distribution frequency of human leukocyte antigen (HLA)-A, B, DRB1 and DQB1 locus in kidney transplant recipients in Yunnan area. **Methods** Collected the HLA gene detection results of 1 251 kidney transplant recipients in the hospital from June 2017 to November 2020, and analyzed the allele distribution frequency of HLA-A, B, DRB1 and DQB1 locus. **Results** There were 17 alleles detected at HLA-A locus, among which A * 11, A * 02 and A * 24 had higher distribution frequencies, which were 0.314 5, 0.280 2 and 0.193 0 respectively. There were 31 alleles detected at HLA-B locus, among which B * 15, B * 40 and B * 46 had higher distribution frequencies, which were 0.192 6, 0.119 9 and 0.119 9 respectively. There were 14 alleles were detected at HLA-DRB1 locus, among which DRB1 * 12, DRB1 * 04, and DRB1 * 09 had higher distribution frequencies, which were 0.217 8, 0.139 9 and 0.117 1 respectively. There were 7 alleles detected at HLA-DQB1 locus, among which DQB1 0301, DQB1 * 05 and DQB1 * 06 had higher distribution frequencies, which were 0.286 6, 0.201 0 and 0.167 1 respectively. **Conclusion** Among the HLA-A, B, DRB1 and DQB1 locus of kidney transplant recipients in Yunnan area, A * 11, B * 15, DRB1 * 12 and DQB1 0301 are the alleles with the highest distribution frequency respectively, which is consistent with the distribution characteristics of HLA gene polymorphism in the southern Han population.

Key words: kidney transplant; recipients; human leukocyte antigen; allele; distribution frequency

肾移植是目前治疗终末期肾病的最有效手段, 随着外科技术的成熟、围术期管理方法的完善、组织配型的开展、免疫抑制剂的应用, 我国肾移植术后 1 年移植肾存活率已达 94.6%, 5 年存活率为 87.5%^[1]。影响移植肾长期存活的主要独立危险因素是排斥反应^[2], 而人类白细胞抗原(HLA)的匹配程度与急、慢性排斥反应均有关^[3]。HLA 基因具有高度的遗传多

态性, 不同地区和种族基因分布频率存在明显差异^[4], 因此, 找到与肾移植受者 HLA 完全匹配的无关供者概率非常小。近年来关于肾移植受者 HLA 等位基因研究的相关报道较少, 本研究对云南地区 1 251 例肾移植受者的 HLA 基因检测数据进行了分析, 以了解该地区 HLA-A、B、DRB1 和 DQB1 位点等位基因种类和分布频率。

作者简介: 蒲丹, 女, 技师, 主要从事临床分子生物学研究。 [△] 通信作者, E-mail: ylmjbj@163.com。

本文引用格式: 蒲丹, 潘永圣, 汪佳婕, 等. 云南地区肾移植受者 HLA 基因分布频率分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(19): 2841-2844.

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 6 月至 2020 年 11 月在本院运用 PCR 联合序列特异性寡核苷酸(SSO)探针技术进行 HLA 基因检测的肾移植受者 1 251 例为研究对象,其中男 857 例,女 394 例,平均年龄(41±12)岁。所有受者进行 HLA 基因检测前均未接受过任何移植手术。

1.2 仪器与试剂 主要仪器:BIOER 基因扩增仪(杭州博日仪器有限公司),Luminex 200 多功能流式点阵仪(美国 Luminex 公司),Qbit4 核酸浓度测定仪(美国赛默飞世尔公司)。主要试剂:血液基因组 DNA 提取试剂盒(型号:DP348-02,北京天根生化科技有限公司),HLA-SSO LABType 分型试剂盒(美国 One Lambda 公司),Taq DNA 聚合酶(上海普洛麦格生物产品有限公司)。

1.3 方法 采集肾移植受者静脉血 2~3 mL 至乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝真空采血管中,充分混匀,用血液基因组 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA,采用 Qbit4 核酸浓度测定仪检测 DNA 浓度并调整至 15~25 ng/μL。配制 PCR 反应体系:D-mix 13.8 μL,Primer 4.0 μL,DNA 聚合酶 0.2 μL,DNA 2.0 μL,终体积为 20.0 μL。分别利用 HLA-A、HLA-B、HLA-DRB1 和 HLA-DQB1 位点的不同引物进行扩增。PCR 结束后,将产物变性、中和,分别加入 4 种寡核苷酸探针标记的微珠混匀,60 ℃ 杂交 15 min。杂交结束后加入链霉亲和素-PE 染料进行染色,然后将杂交板转移至 Luminex 200 多功能流式点阵仪进行数据获取,使用 Fusion 软件进行结果分析,具体操作步骤参照试剂说明书。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2010 进行数据分析。

2 结 果

2.1 肾移植受者 HLA-A 位点等位基因分布频率 HLA-A 位点检出等位基因 17 种,其中常见的等位基因是 A*11、A*02、A*24,分布频率较低的等位基因是 A*66、A*69 和 A*74,见表 1。

2.2 肾移植受者 HLA-B 位点等位基因分布频率 HLA-B 位点检出等位基因 31 种,其中常见的等位基因是 B*15、B*40、B*46,分布频率较低的等位基因是 B*45、B*59 和 B*65,见表 2。

2.3 肾移植受者 HLA-DRB1 位点等位基因分布频率 HLA-DRB1 位点检出等位基因 14 种,其中常见的等位基因是 DRB1*12、DRB1*04、DRB1*09、DRB1*15 和 DRB1*08,分布频率最低的等位基因为 DRB1*06,见表 3。

2.4 肾移植受者 HLA-DQB1 位点等位基因分布频率 HLA-DQ 位点检出等位基因 7 种,分别为 DQB1*02、DQB1 0301、DQB1 0302、DQB1 0303、DQB1*04、DQB1*05 和 DQB1*06,7 种等位基因均较为常见,其中 DQB1 0301 分布频率最高,为 0.286 6,

DQB1 0302 分布频率最低,为 0.061 2,见表 4。

表 1 肾移植受者 HLA-A 位点等位基因及分布频率		
HLA-A	<i>n</i>	频率
A*01	55	0.022 0
A*02	701	0.280 2
A*03	74	0.029 6
A*11	787	0.314 5
A*23	2	0.000 8
A*24	483	0.193 0
A*26	64	0.025 6
A*29	20	0.008 0
A*30	51	0.020 4
A*31	67	0.026 8
A*32	15	0.006 0
A*33	166	0.066 3
A*34	3	0.001 2
A*66	1	0.000 4
A*68	11	0.004 4
A*69	1	0.000 4
A*74	1	0.000 4
合计	2 502	1.000 0

表 2 肾移植受者 HLA-B 位点等位基因及分布频率		
HLA-B	<i>n</i>	频率
B*07	70	0.028 0
B*08	18	0.007 2
B*13	155	0.062 0
B*15	482	0.192 6
B*18	13	0.005 2
B*27	50	0.020 0
B*35	95	0.038 0
B*37	25	0.010 0
B*38	113	0.045 2
B*39	69	0.027 6
B*40	300	0.119 9
B*41	6	0.002 4
B*44	82	0.032 8
B*45	2	0.000 8
B*46	300	0.119 9
B*48	49	0.019 6
B*49	4	0.001 6
B*50	11	0.004 4
B*51	149	0.059 6
B*52	98	0.039 2
B*53	4	0.001 6

续表 2	肾移植受者 HLA-B 位点等位基因及分布频率	
HLA-B	<i>n</i>	频率
B * 54	85	0.034 0
B * 55	118	0.047 2
B * 56	46	0.018 4
B * 57	13	0.005 2
B * 58	110	0.044 0
B * 59	1	0.000 4
B * 65	2	0.000 8
B * 67	11	0.004 4
B * 71	17	0.006 8
B * 72	4	0.001 6
合计	2 502	1.000 0

表 3	肾移植受者 HLA-DRB1 位点等位基因及分布频率	
HLA-DRB1	<i>n</i>	频率
DRB1 * 01	61	0.024 4
DRB1 * 04	350	0.139 9
DRB1 * 06	7	0.002 8
DRB1 * 07	106	0.042 4
DRB1 * 08	217	0.086 7
DRB1 * 09	293	0.117 1
DRB1 * 10	40	0.016 0
DRB1 * 11	123	0.049 2
DRB1 * 12	545	0.217 8
DRB1 * 13	122	0.048 8
DRB1 * 14	219	0.087 5
DRB1 * 15	269	0.107 5
DRB1 * 16	53	0.021 2
DRB1 * 17	97	0.038 8
合计	2 502	1.000 0

表 4	肾移植受者 HLA-DQB1 位点等位基因及分布频率	
HLA-DQB1	<i>n</i>	频率
DQB1 * 02	189	0.075 5
DQB1 0301	717	0.286 6
DQB1 0302	153	0.061 2
DQB1 0303	289	0.115 5
DQB1 * 04	233	0.093 1
DQB1 * 05	503	0.201 0
DQB1 * 06	418	0.167 1
合计	2 502	1.000 0

3 讨 论

排斥反应是肾移植受者和移植肾存活的重要因素,HLA 错配数可影响肾移植受者术后排斥反

应的发生^[5],但 HLA 系统具有高度多态性,找到 HLA 完全匹配的无关供者概率很低。1987 年美国器官分配联合网制定了强制性 HLA 6 抗原匹配肾脏分享政策,要求 ABO 血型相容和 HLA 6 抗原相配的肾脏在全国范围内共享。按零抗原错配标准选择供受者的肾移植能够获得较为理想的近期和远期肾存活率,但能够达到 6 抗原无错配的肾移植仅占 2% ~ 5%。我国各移植中心供受者的样本量小,能够达到零抗原错配标准的肾移植比例更低。因此,了解肾移植受者 HLA 不同位点的等位基因分布频率具有重要意义,可为肾移植配型提供可靠的科学数据。

本研究对肾移植受者 1 251 例的 HLA 基因检测数据进行分析,结果显示,HLA-A 位点等位基因分布频率排在前 3 位的依次是 A * 11、A * 02 和 A * 24,频率分别为 0.314 5、0.280 2 和 0.193 0,如此高的等位基因频率使找到相匹配的供者更加容易。PEI 等^[6]的研究结果显示,A * 11:01(0.321 2)、A * 2:07(0.125 4)、A * 24:02(0.120 1)等位基因分布频率较高,与本研究结果较一致。马锡慧等^[7]的研究结果显示,A2、A11 和 A24(9)抗原分布频率较高,分别为 0.305 9、0.178 3 和 0.156 8,与本研究有一定差异。各研究结果不一致的原因可能与样本量不同、研究对象不同、地域不同等有关。ARNAIZ-VILLENA 等^[8]的研究报道,在白色人种、黑色人种和黄色人种中 A * 02、A * 11 和 A * 24 分布频率均较高,A * 25、A * 34、A * 66 和 A * 74 等多种等位基因在黄色人种中未被发现。然而,本研究结果显示,黄色人种也存在 A * 34、A * 66 和 A * 74 等位基因,说明这几种等位基因并非白色人种或黑色人种所特有,考虑可能与 ARNAIZ-VILLENA 等^[8]的研究中纳入的黄色人种例数较少或覆盖的地域不同有关。

本研究发现,昆明地区肾移植受者 HLA-B 位点是 4 个 HLA 位点中基因多态性最高的位点,因此在肾移植供、受者间匹配概率低于其他 HLA 位点。但有研究表明,HLA-B 等位基因匹配不仅在移植肾长期存活中发挥重要作用,并且能降低晚期排斥反应的发生率^[9-10]。本研究 B * 15、B * 40 和 B * 46 分布频率较高,与 PEI 等^[6]针对南宁汉族人群的研究结果一致,与吴强驹等^[11]针对中国北方汉族人群的研究有一定差异,考虑中国南方不同省份的人群基因多态性可能无明显差异,但南、北方之间可能存在一定差异,也提示肾移植受者在寻找 HLA 相匹配的无关供者时应考虑地域差异。

研究表明,HLA-DRB1 配型与早期排斥反应发生率呈高度相关性,HLA-DRB1 位点错配会降低移植肾的存活率^[12]。RODRIGUES 等^[13]的研究结果显示,HLA-DRB1 等位基因错配对移植肾长期存活的影响更大。本研究中,HLA-DRB1 位点常见的等位基因是 DRB1 * 12、DRB1 * 04、DRB1 * 09,与云南地

区造血干细胞捐献者 HLA-DRB1 位点最常见的等位基因一致^[14],这提示肾移植受者找到相匹配的 HLA-DRB1 供者相对容易。

由于 HLA-DR/DQ 基因存在连锁不平衡,早期的组织配型一般只包括 HLA-A、B、DRB1 位点,然而越来越多的研究发现 HLA II 类抗体显著影响移植肾的存活及功能^[15]。LEE 等^[16]研究发现,HLA-DQB1 抗体在慢性排斥反应的发生及移植物功能丧失中发挥重要作用。郑瑾等^[17]研究发现,HLA II 类抗体出现频率以 HLA-DRB1、DQB1 抗体较高,尤其是 HLA-DQB1 抗体的频率在 0.30~0.60,且大部分在 0.50 以上。HLA-DRB1 抗体的频率在 0.10~0.30。分析发生抗体介导的排斥反应(AMR)患者的供体特异性抗体(DSA)发现,HLA II 类抗体出现的频率高于 HLA I 类抗体,尤其是 HLA-DQB1 抗体,因此,移植前 HLA-DQB1 位点的匹配非常重要。本研究发现,HLA-DQB1 位点等位基因均较常见,其中分布频率最高的是 DQB1 0301,其次是 DQB1 * 05、DQB1 * 06,提示这几种等位基因在肾移植供、受者间匹配概率较大。

综上所述,肾移植受者 HLA-A、B、DRB1 和 DQB1 位点中,A * 11、B * 15、DRB1 * 12 和 DQB1 0301 分别为分布频率最高的等位基因,符合南方汉族人群 HLA 基因多态性分布特征。了解肾移植受者 HLA 基因分布情况将有助于更好地寻找 HLA 相匹配的无关供者。肾移植供、受者良好的 HLA 配型可以减少术后急性和慢性排斥反应的发生,降低肾移植受者对供者 HLA 的致敏性,减少术后新生 DSA 的产生,改善肾移植受者术后的生存质量,提高肾移植受者与移植肾的长期存活率。

参考文献

- [1] ZHAO L, YAN J, YANG G L, et al. A study on adherence to follow-up, quality of life, and associated factors among renal transplant recipients in China[J]. Transplant Proc, 2017, 49(6): 1285-1290.
- [2] CLAYTON P A, MCDONALD S P, RUSS G R, et al. Long-term outcomes after acute rejection in kidney transplant recipients: an ANZDATA analysis[J]. J Am Soc Nephrol, 2019, 30(9): 1697-1707.
- [3] 中华医学会器官移植学分会. 肾移植排斥反应临床诊疗技术规范(2019 版)[J]. 器官移植, 2019, 10(5): 505-512.
- [4] 全湛柔, 邓志辉, 周丹, 等. 中国南方汉族造血干细胞捐献者 HLA-A、B、C、DRB1 及 DQB1 高分辨等位基因多态性分析[J]. 国际输血及血液学杂志, 2018, 41(6): 497-505.
- [5] 匡培丹, 张璇, 张颖, 等. Eplet 匹配对肾移植术后供者特异性抗体产生及急性排斥反应发生的影响[J]. 山东医药, 2020, 60(34): 1-5.
- [6] PEI Y, HUANG H, LI H, et al. Allelic and haplotype diversity of HLA-A, HLA-B and HLA-DRB1 gene at high resolution in the Nanning Han population[J]. INT J IMMUNOGENET, 2018, 45(4): 201-209.
- [7] 马锡慧, 肖漓, 韩永, 等. 单中心肾移植受者 HLA 抗原分布频率分析[J/CD]. 中华移植杂志(电子版), 2019, 13(1): 50-53.
- [8] ARNAIZ-VILLENA A, PALACIO-GRUBER J, JUAREZ I, et al. Study of Colombia North Wiwa El Encanto Amerindians HLA-genes: pacific islanders relatedness[J]. Hum Immunol, 2018, 79(7): 530-531.
- [9] ZHAO H, LAI X, LU J, et al. Effect of HLA matching on pediatric renal transplant graft survival in China[J]. Transplant Proc, 2017, 49(6): 1291-1293.
- [10] REISAETER A V, LEIVESTAD T, VARTDAL F, et al. A strong impact of matching for a limited number of HLA-DR antigens on graft survival and rejection episodes: a single-center study of first cadaveric kidneys to nonsensitized recipients[J]. Transplantation, 1998, 66(4): 523-528.
- [11] 吴强驹, 刘孟黎, 齐珺, 等. 11 755 名中国北方汉族造血干细胞供者 HLA-A、B、DRB1 基因和单倍型研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2007, 15(2): 357-363.
- [12] SURESHKUMAR K K, CHOPRA B. Induction type and outcomes in HLA-DR mismatch kidney transplantation[J]. Transplant Proc, 2019, 51(6): 1796-1800.
- [13] RODRIGUES S, ESCOLI R, EUSEBIO C, et al. A survival analysis of living donor kidney transplant[J]. Transplant Proc, 2019, 51(5): 1575-1578.
- [14] 朱祥明, 杨通汉, 姚富柱, 等. 云南地区人群 HLA-A、B、DRB1 等位基因遗传多态性的分析[J]. 临床输血与检验, 2011, 13(1): 5-10.
- [15] WIEBE C, RUSH D N, NEVINS T E, et al. Class II eplet mismatch modulates tacrolimus trough levels required to prevent donor-specific antibody development[J]. J Am Soc Nephrol, 2017, 28(11): 3353-3362.
- [16] LEE H, MIN J W, KIM J I, et al. Clinical significance of HLA-DQ antibodies in the development of chronic antibody-mediated rejection and allograft failure in kidney transplant recipients[J]. Medicine (Baltimore), 2016, 95(11): e3094.
- [17] 郑瑾, 匡培丹, 张颖, 等. 人类白细胞抗原抗体频率及 PIRCHE 评分与 DSA 产生及 AMR 发生的关系[J]. 中华医学杂志, 2019, 99(12): 901-906.

(收稿日期: 2021-01-28 修回日期: 2021-05-11)