

· 论 著 · DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2022.02.011

HLA-DRB1 等位基因多态性与 Graves' 病的关系

杨婷婷, 张 强, 吴燕丹[△]

北京市顺义区医院检验科, 北京 101300

摘要:目的 探讨 Graves' 病(GD)与 HLA-DRB1 等位基因多态性之间的关系。方法 随机选取 2019 年 8 月至 2020 年 10 月就诊于该院的 GD 患者 120 例为 GD 组,另选取同期性别和年龄相匹配的健康体检者 100 例为对照组。使用高分辨率聚合酶链反应序列分型(PCR-SBT)法对 GD 组及对照组进行 HLA-DRB1 等位基因测序。结果 GD 组 HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03 的频率高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03 可能是 GD 发生的危险因素,OR 值分别为 3.735(95%CI:1.236~11.290)和 3.032(95%CI:1.403~6.551)。GD 组 HLA-DRB1 * 07:01 的频率低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HLA-DRB1 * 07:01 可能是 GD 发生的保护因素,OR 值为 0.328(95%CI:0.141~0.768)。携带 HLA-DRB1 * 07:01 的患者促甲状腺素受体抗体(TRA b)水平最低,与携带 HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03 及其他等位基因的患者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03 可能是 GD 发生的危险因素,HLA-DRB1 * 07:01 可能是 GD 发生的保护因素。携带 HLA-DRB1 * 07:01 的患者 TRA b 水平明显降低,这为 GD 的病理生理学及靶向治疗研究提供了重要线索。

关键词: Graves' 病; HLA-DRB1; 等位基因

中图分类号:R581.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)02-0182-04

Relationship between HLA-DRB1 allelic polymorphism and Graves' disease

YANG Tingting, ZHANG Qiang, WU Yandan[△]

Department of Clinical Laboratory, Shunyi District Hospital, Beijing 101300, China

Abstract: Objective To explore the relationship between Graves' disease (GD) and HLA-DRB1 allelic polymorphism. **Methods** Randomly selected 120 GD patients in the hospital from August 2019 to October 2020 as the GD group, in addition, 100 healthy persons with matching gender and age were selected as the control group. The high-resolution polymerase chain reaction-sequence based typing (PCR-SBT) method was used to sequence HLA-DRB1 alleles in the GD group and control group. **Results** The frequencies of HLA-DRB1 * 04:05 and * 08:03 in the GD group were higher than those in the control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). HLA-DRB1 * 04:05 and * 08:03 might be risk factors for the occurrence of GD, and the OR values were 3.735 (95%CI:1.236-11.290) and 3.032 (95%CI:1.403-6.551). The frequency of HLA-DRB1 * 07:01 in the GD group was lower than that in the control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). HLA-DRB1 * 07:01 might be a protective factor for the occurrence of GD, with an OR value of 0.328 (95%CI:0.141-0.768). Patients carried HLA-DRB1 * 07:01 had the lowest level of thyrotrophin receptor antibody (TRA b), compared with patients carried HLA-DRB1 * 04:05, * 08:03 and other alleles, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** HLA-DRB1 * 04:05 and * 08:03 might be risk factors for GD, and HLA-DRB1 * 07:01 might be protective factors for GD. The level of TRA b in patients carrying HLA-DRB1 * 07:01 reduced significantly, which provides important clues for the pathophysiology and targeted therapy research of GD.

Key words: Graves' disease; HLA-DRB1; allele

Graves' 病(GD)也称为弥漫性毒性甲状腺肿,是一种常见的器官特异性自身免疫性甲状腺疾病,常伴有促甲状腺素受体抗体(TRA b)水平升高,其发病机制尚未完全明确,但研究表明 GD 的发生主要受基因

作者简介:杨婷婷,女,医师,主要从事免疫学相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: bgswyd@163.com。

本文引用格式:杨婷婷,张强,吴燕丹. HLA-DRB1 等位基因多态性与 Graves' 病的关系[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(2): 182-185.

影响^[1]。人类白细胞抗原(HLA),特别是编码 DR 抗原的 II 类区域是 GD 遗传因素研究最为广泛的区域之一。PARK 等^[2]对韩国人群的调查发现,HLA-DRB1 * 0301 在男性中与 GD 易感性存在相关性,HLA-DRB1 * 0701 对 GD 存在保护作用。MARTIN 等^[3]对罗马尼亚人群的研究发现,HLA-DRB1 * 03 和 HLA-DRB1 * 11 可能是 GD 相关的易感基因。目前 HLA-DRB1 等位基因与 GD 的关系在中国人群中的研究较少,本研究对此进行了分析,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取 2019 年 8 月至 2020 年 10 月就诊于本院的 GD 患者 120 例为 GD 组,其中男 42 例,女 78 例,平均年龄(38.72±5.33)岁。纳入标准:患者 GD 的诊断均符合《内科学》第 8 版相关标准^[4];患者为初发的 GD 或为 GD 治愈后复发且近 3 个月未予抗甲状腺药物治疗。排除标准:患有其他自身免疫性疾病。另选取同期性别和年龄相匹配的健康体检者 100 例为对照组,其中男 38 例,女 62 例,平均年龄(40.53±6.63)岁。受试者及其家属均签署知情同意书,本研究经本院医学伦理委员会批准。

1.2 方法 受试者空腹 12 h 后用乙二胺四乙酸抗凝管及促凝管分别采集外周静脉血各 5 mL。促凝管室温静置 30 min 后以 4 °C、4 000 r/min 离心 10 min。全血及血清均保存于-70 °C 冰箱。HLA-DRB1 等位基因检测采用高分辨率聚合酶链反应序列分型(PCR-SBT)法。DNA 提取采用德国 QIAGEN 公司生产的核酸提取试剂盒,测序采用美国赛默飞世尔公司生产的 ABI 3730XL 基因测序仪,通过 UTYPE 软件进行分析,数据来自 3.26 版人类主要组织相容性复合体(MHC)数据库,具体操作按标准操作规程进行。TRAb 检测采用瑞士罗氏公司生产的 e801 电化学发光仪及配套试剂盒。游离三碘甲状腺原氨酸(FT3)、游离甲状腺素(FT4)、总三碘甲状腺原氨酸(TT3)、总甲状腺素(TT4)、促甲状腺激素(TSH)检测采用美国贝克曼库尔特公司生产的 DXI800 化学发光仪及配套试剂盒。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析;不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,多组间比较采用 Kruskal-Wallis *H* 检验。计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。使用 Haldane's modification of Woolf's 方法计算 OR 和 95%CI。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HLA-DRB1 等位基因多态性与 GD 之间的关系 GD 组 HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03 的频率高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03 可能是 GD 发生的危险因素,OR 值分别为 3.735(95%CI:1.236~11.290)和 3.032(95%CI:1.403~6.551)。GD 组 HLA-DRB1 * 07:01 的频率低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。HLA-DRB1 * 07:01 可能是 GD 发生的保护因素,OR 值为 0.328(95%CI:0.141~0.768)。见表 1。

表 1 HLA-DRB1 等位基因在两组中的分布情况

HLA-DRB1 等位基因	GD 组 [n(%)]	对照组 [n(%)]	OR(95%CI)	P
* 01:01	6(2.5)	8(4.0)	0.615(0.210~1.805)	0.422
* 03:01	10(4.2)	8(4.0)	1.043(0.404~2.697)	0.930
* 04:01	4(1.7)	3(1.5)	1.113(0.246~5.034)	0.889
* 04:05	17(7.1)	4(2.0)	3.735(1.236~11.290)	0.013
* 04:06	4(1.7)	2(1.0)	1.678(0.304~9.261)	0.693
* 07:01	8(3.3)	19(9.5)	0.328(0.141~0.768)	0.009
* 08:02	6(2.5)	1(0.5)	5.103(0.609~42.760)	0.133
* 08:03	30(12.5)	9(4.5)	3.032(1.403~6.551)	0.004
* 09:01	40(16.7)	20(10.0)	1.800(1.014~3.194)	0.051
* 11:01	12(5.0)	16(8.0)	0.605(0.279~1.312)	0.240
* 11:04	0(0.0)	4(2.0)	0.091(0.005~1.698)	0.042
* 12:01	8(3.3)	12(6.0)	0.540(0.216~1.349)	0.250
* 12:02	11(4.6)	12(6.0)	0.752(0.325~1.745)	0.526
* 13:01	4(1.7)	3(1.5)	1.113(0.246~5.034)	0.889
* 13:02	6(2.5)	12(6.0)	0.402(0.148~1.091)	0.089
* 14:03	12(5.0)	0(0.0)	21.940(1.290~373.100)	0.001
* 14:05	2(0.8)	3(1.5)	0.552(0.091~3.337)	0.663
* 14:07	2(0.8)	0(0.0)	4.203(0.201~88.130)	0.503
* 15:01	42(17.5)	44(22.0)	0.752(0.469~1.206)	0.277
* 15:02	4(1.7)	8(4.0)	0.407(0.121~1.372)	0.152
* 15:04	2(0.8)	4(2.0)	0.412(0.075~2.273)	0.418
* 16:02	10(4.2)	8(4.0)	1.043(0.404~2.697)	0.930

注:HLA-DRB1 * 11:04 的频率在两组间比较时 $P < 0.05$,但 GD 组患者人数为 0,且 95%CI 包含 1,其统计学意义存疑,故不纳入分析;HLA-DRB1 * 14:03 的频率在两组间比较时 $P < 0.05$,但对照组人数为 0,95%CI 较大,其统计学意义存疑,故不纳入分析。

2.2 GD 患者 HLA-DRB1 等位基因多态性与其临床特征的关系 携带 HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03、* 07:01 及其他等位基因患者间 TRAb 水平及发病年龄比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 HLA-DRB1 * 07:01 的患者 TRAb 水平最低,与携带 HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03 及其他等位基因的患者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 GD 患者 HLA-DRB1 等位基因多态性与其临床特征的关系

HLA-DRB1 等位基因	发病年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	男/女(n/n)	TRAb [$M(P_{25}, P_{75})$, U/L]	FT4 [$M(P_{25}, P_{75})$, ng/dL]
* 04:05	41.0 \pm 16.6	5/12	26.58(15.12, 37.27)	0.76(0.46, 1.23)
* 08:03	45.5 \pm 17.6	10/10	26.32(13.17, 37.87)	1.52(0.22, 2.85)
* 07:01	44.3 \pm 11.7	2/6	3.56(1.02, 5.52)	1.67(0.57, 2.67)
其他	34.0 \pm 9.9	25/50	16.12(4.25, 26.35)	1.20(0.56, 1.92)
F/H	5.800	2.655	11.350	2.018
P	0.001	0.448	<0.001	0.115

HLA-DRB1 等位基因	FT3 [$M(P_{25}, P_{75})$, pg/mL]	TT3 [$M(P_{25}, P_{75})$, ng/mL]	TT4 [$M(P_{25}, P_{75})$, μ g/dL]	TSH [$M(P_{25}, P_{75})$, μ IU/mL]
* 04:05	4.31(3.11, 5.57)	1.65(1.12, 1.93)	10.52(6.62, 14.16)	1.03(0.13, 2.81)
* 08:03	7.53(3.17, 10.37)	2.02(0.83, 3.65)	8.04(2.35, 12.03)	1.24(0.53, 2.59)
* 07:01	5.67(3.18, 8.55)	2.43(1.19, 3.83)	9.38(4.36, 14.53)	1.45(0.25, 2.79)
其他	4.38(3.25, 6.65)	2.13(0.57, 3.42)	10.85(5.11, 15.48)	1.12(0.16, 2.75)
F/H	1.373	0.372	0.776	0.051
P	0.254	0.773	0.509	0.985

注:其他是指本研究检出的除 HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03、* 07:01 以外的等位基因。

3 讨 论

GD 是临床上常见的自身免疫性甲状腺疾病,其临床表现可包括神经系统、消化系统及血液系统等多系统异常,对患者的健康造成很大影响,因此,对其病因及发病机制的研究具有重要意义。GD 具有家族聚集倾向,通过对家系和双胞胎的研究发现,同卵双胞胎比异卵双胞胎同时患 GD 的概率更高,提示遗传因素在该疾病的发生中具有重要作用^[5-6],甚至有研究认为遗传因素是 GD 发病的主要影响因素^[7]。

MHC 区域位于 6 号染色体短臂,编码人类白细胞抗原糖蛋白,是人类基因组中最密集的基因区域,编码 252 个表达基因座,包含很多关键的免疫应答基因,具有高度多态性^[8]。GD 是一种由 T 淋巴细胞介导的器官特异性自身免疫性疾病。T 淋巴细胞主要通过 HLA 分子呈递的抗原肽组成的复合物相互作用来识别抗原,并发生免疫反应。已有研究报道,HLA 基因,特别是 HLA-II 类基因与 GD 有关^[9-10]。

本研究对 GD 患者及健康对照者 HLA-DRB1 等位基因进行了高分辨率基因分型检测,结果发现 GD 患者 HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03 的频率高于健康对照者,携带 HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03 可能是 GD 发生的危险因素;GD 患者 HLA-DRB1 * 07:01 的频率明显低于健康对照者,其可能是 GD 发生的保护因素。本研究结果与国内外研究既有共同之处,也有不同之处^[11-14],这可能与不同人种、不同地域的差异引起等位基因频率的分布不同有关。在样本选取上,人群的社会地位、生活习惯不同,使抽样时难以合理分层,对研究结果也会产生重要影响。此外,可能分析方法尚存在缺陷与不足,缺乏一定规模的系统性研究。

有研究表明,携带易感基因型的受试者 GD 发病年龄更早,基因型对男性 GD 发病的影响可能比女性更大^[15]。本研究结果发现,在 GD 患者中,携带 HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03、* 07:01 及其他等位基因的患者发病年龄比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),携带易感等位基因 HLA-DRB1 * 08:03 的患者发病年龄最晚。此外,携带 HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03、* 07:01 及其他等位基因的患者性别比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),与上述研究结果存在一定差异。甲状腺自身抗体 TRAb 是引起 GD 的主要原因,GD 患者 TRAb 水平升高,刺激甲状腺滤泡上皮细胞增生,从而引起甲状腺肿大^[16]。本研究发现,携带 HLA-DRB1 * 07:01 的患者 TRAb 水平明显降低,考虑这是其能防止 GD 发生的可能机制,其可作为进一步研究 GD 患者甲状腺肿大发病机制及治疗的重要靶点。

综上所述,HLA-DRB1 * 04:05、* 08:03 可能是 GD 发生的危险因素,HLA-DRB1 * 07:01 可能是 GD 发生的保护因素。携带 HLA-DRB1 * 07:01 的患者 TRAb 水平明显降低,这为 GD 的病理生理学及靶向治疗研究提供了重要线索。但本研究为单中心的临床研究,并且样本量偏小,其结果还需大规模、多中心的临床研究进一步证实。

参考文献

- [1] SMITH T J, HEGEDUS L. Graves' disease[J]. N Engl J Med, 2016, 375(16):1552-1565.
- [2] PARK M H, PARK Y J, SONG E Y, et al. Association of HLA-DR and -DQ genes with Graves disease in Koreans [J]. Hum Immunol, 2005, 66(6):741-747.
- [3] MARTIN S, DUTESCU M I, SIRBU A, et al. The clinical

- value of human leukocyte antigen HLA-DRB1 subtypes associated to Graves' disease in Romanian population[J]. *Immunol Invest*, 2014, 43(5):479-490.
- [4] 葛均波, 徐永健. 内科学[M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013:685-692.
- [5] KAHALY G J. Management of Graves thyroidal and extra-thyroidal disease: an update[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2020, 105(12):3704-3720.
- [6] BLIDDAL S, NIELSEN C H, FELDT-RASMUSSEN U. Recent advances in understanding autoimmune thyroid disease: the tallest tree in the forest of polyautoimmunity[J]. *F1000Res*, 2017, 6:1776.
- [7] ANTONELLI A, FALLAHI P, ELIA G, et al. Graves' disease: clinical manifestations, immune pathogenesis (cytokines and chemokines) and therapy[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2020, 34(1):101388.
- [8] SHIINA T, BLANCHER A, INOKO H, et al. Comparative genomics of the human, macaque and mouse major histocompatibility complex[J]. *Immunology*, 2017, 150(2):127-138.
- [9] SHIN D H, BAEK I C, KIM H J, et al. HLA alleles, especially amino-acid signatures of HLA-DPBI, might contribute to the molecular pathogenesis of early-onset autoimmune thyroid disease[J]. *PLoS One*, 2019, 14(5):e0216941.
- [10] SASAZUKI T, INOKO H, MORISHIMA S, et al. Gene map of the HLA region, Graves' disease and Hashimoto thyroiditis, and hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Adv Immunol*, 2016, 129:175-249.
- [11] CHO W K, SHIN H R, LEE N Y, et al. GPR174 and ITM2A gene polymorphisms rs3827440 and rs5912838 on the X chromosome in Korean children with autoimmune thyroid disease[J]. *Genes (Basel)*, 2020, 11(8):858.
- [12] LOMBARDI A, MENCONI F, GREENBERG D, et al. Dissecting the genetic susceptibility to Graves' disease in a cohort of patients of Italian origin[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2016, 7:21.
- [13] VEJRAZKOVA D, VCELAK J, VACLAVIKOVA E, et al. Genetic predictors of the development and recurrence of Graves' disease[J]. *Physiol Res*, 2018, 67(Suppl 3):S431-S439.
- [14] ANTONELLI A, FERRARI S M, RAGUSA F, et al. Graves' disease: epidemiology, genetic and environmental risk factors and viruses[J]. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2020, 34(1):101387.
- [15] THOMSEN H, LI X, SUNDQUIST K, et al. Familial risks between Graves disease and Hashimoto thyroiditis and other autoimmune diseases in the population of Sweden[J]. *J Transl Autoimmun*, 2020, 3:100058.
- [16] TABRIZ N, GRUBEN A, USLAR V, et al. Risk factors for Graves' orbitopathy in surgical patients—results of a 10-year retrospective study with review of the literature[J]. *Endocrinol Diabetes Metab*, 2020, 4(1):e00210.

(收稿日期:2021-03-10 修回日期:2021-09-11)

(上接第 181 页)

- [3] 新生儿细菌性脑膜炎多中心研究协作组. 华南部分地区新生儿细菌性脑膜炎多中心流行病学研究[J]. *中华儿科杂志*, 2018, 56(6):421-428.
- [4] 吴丽娜, 黄丽芳, 黄翠梅, 等. 本地区孕晚期妇女 B 族链球菌带菌率及相关因素分析[J]. *中国医学创新*, 2019, 16(24):149-152.
- [5] KAREN M E, KORTSALIOUDAKI C, SCOTT S, et al. Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and Meta-analysis[J]. *Elsevier Ltd*, 2012, 379(9815):547-556.
- [6] CARIS A P, GREEN-THOMPSON L, VIJAY G M, et al. Knowledge gaps among South African healthcare providers regarding the prevention of neonatal group B streptococcal disease[J]. *PLoS One*, 2018, 13(10):e0205157.
- [7] 廖宗琳, 陈丽霞, 沈宏志, 等. 围产期孕妇生殖道 B 族链球菌感染的影响因素分析及对妊娠结局的影响[J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(2):247-249.
- [8] 王晓娜, 丛桂敏, 冯小静, 等. 围产期孕妇生殖道 B 族链球菌感染高危因素分析及母婴结局探讨[J]. *微生物学免疫学进展*, 2019, 47(1):44-48.
- [9] 吴军, 杨艳华. 产妇围产期 B 族链球菌感染危险因素的 Logistic 分析[J]. *中国妇幼保健*, 2018, 33(21):4875-4877.
- [10] PIDWILL G R, REGO S, JENKINSON H F, et al. Coassociation between group B Streptococcus and candida albicans promotes interactions with vaginal epithelium[J]. *Infect Immun*, 2018, 86(4):e00669-17.
- [11] 杨训俊, 丁红香, 倪莉. 围产期孕妇生殖道 B 群链球菌感染临床特征[J]. *温州医科大学学报*, 2019, 49(12):914-917.
- [12] 冯莹, 许成芳, 饶燕珍, 等. 孕晚期孕妇 B 族链球菌感染筛查与妊娠结局的临床研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2019, 29(3):440-442.
- [13] 颜巍, 赵巧燕, 王凌云, 等. 孕晚期孕妇 B 族链球菌感染状况及其对妊娠结局的影响[J]. *国际检验医学杂志*, 2020, 41(15):1894-1897.
- [14] SPENCER B L, DENG L W, PATRAS K A, et al. Cas9 contributes to group B Streptococcal colonization and disease[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10:1930.
- [15] DENG L W, MU R, WESTON T A, et al. Characterization of a two-component system transcriptional regulator, LtdR, that impacts group B Streptococcal colonization and disease[J]. *Infect Immun*, 2018, 86(7):e00822-17.

(收稿日期:2021-04-16 修回日期:2021-10-19)