

人类白细胞抗原-DRB 基因多态性与儿童哮喘易感性的相关性研究

谢庆玲, 甄宏, 秦岭

基金项目: 广西卫生厅自筹经费科研课题(编号:桂卫科 Z2009167)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院儿科

作者简介: 谢庆玲(1961-), 女, 大学本科, 医学学士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 儿童呼吸系统疾病。E-mail: qinglingxie@yahoo.com.cn

[摘要] 目的 通过对人类白细胞抗原(HLA)-DR 基因的检测, 探讨哮喘儿童 HLA-DRB 基因型基因多态性与儿童哮喘易感性的关系。方法 将无血缘关系的 84 名哮喘儿童(哮喘组)和 168 名无哮喘和特异性疾病的健康个体(对照组)纳入研究。采用 Pharmacia UniCAP 系统检测哮喘儿童的血清总 IgE 水平, 同时完成 10 种吸入性过敏原皮肤实验。应用基因芯片法检测 HLA-DR 的 21 个基因位点。结果 支气管哮喘组 HLA-DRB1 * 070X 基因和 HLA-DRB1 * 11XX 基因频率(分别为 2.98% 和 13.69%) 高于对照组(分别为 0.3% 和 5.95%, $\chi^2 = 6.915, P < 0.05$ 和 $\chi^2 = 9.478, P < 0.01$), 优势比($\hat{OR}$) 分别为 10.57(95% CI 1.215 ~ 91.986) 和 2.79(95% CI 1.429 ~ 5.449); HLA-DRB3(52) * 010X 基因频率在哮喘组为 7.14%, 低于对照组的 13.99% ($\chi^2 = 5.854, P < 0.05$), $\hat{OR}$ 为 0.429(95% CI 0.214 ~ 0.862)。结论 HLA-DRB1 * 070X 基因和 HLA-DRB1 * 11XX 基因与哮喘儿童易感性相关; HLA-DRB3(52) * 010X 基因则为抗性基因。

[关键词] 哮喘; 人类白细胞抗原; 免疫球蛋白 E; 基因多态性; 儿童

[中图分类号] R 725.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2011)09-0829-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2011.09.06

Association between human leukocyte antigen DRB gene polymorphisms and asthma in children XIE Qingling, ZHEN Hong, QIN Lin. Department of Pediatrics, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To investigate the association between human leukocyte antigen DRB (HLA-DRB) gene polymorphisms and asthma in children. **Methods** Eighty-four unrelated asthmatic individuals and one hundred and sixty-eight healthy controls without asthma and atopy were involved in the study. All asthmatics had their serum total IgE levels measured with UniCAP Pharmacia system, and skin-prick test with ten kinds of inhalant allergens were taken among the asthmatics. HLA oligonucleotide array was used to twenty-one gene frequencies of HLA-DR. **Results** The frequencies of HLA-DRB1 * 070X allele and HLA-DRB1 * 11XX allele among the asthmatics were 2.98% and 13.69%, significantly higher than those in healthy controls (0.3% and 5.95%, $\chi^2 = 6.915, P < 0.05$ and $\chi^2 = 9.478, P < 0.01$), Odds ratios (Ors) were 10.57(95% CI: 1.215 ~ 91.986) and 2.79(95% CI: 1.429 ~ 5.449) respectively. HLA-DRB3(52) * 010X allele were significantly decreased in asthmatics compared to healthy controls (13.99%, $\chi^2 = 5.854, P < 0.05$), Ors were 0.429(95% CI: 0.214 ~ 0.862). **Conclusion** HLA-DRB1 * 070X allele and HLA-DRB1 * 11XX allele were implicated in susceptibility to asthma, HLA-DRB3(52) * 010X allele might confer protection against asthma.

[Key words] Asthma; Human leukocyte antigen (HLA); IgE; Gene polymorphism; Children

哮喘是一种多基因遗传病。住院哮喘儿童中伴家族特性或哮喘者达 34.6%^[1]。哮喘发病除受

环境因素影响外, 免疫遗传因素与发病也密切相关。人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)是

机体特异性免疫识别和免疫应答的主要成分,参与抗原处理、免疫分化和免疫调节等作用。我们对 84 例哮喘儿童和 168 名无哮喘及特应性疾病的健康者进行了 HLA-DRB 基因检测分析,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 儿童哮喘组选择 2004-01 ~ 2005-08 间儿童哮喘专科门诊随访的长期居住广西南宁地区无血缘关系的哮喘儿童 84 例,诊断和分期符合全国儿童哮喘防治协作组制定的标准^[2]。所有研究对象均在 3 岁以前发病,年龄 6 ~ 14 岁,平均 9.4 岁;其中男 49 例,女 35 例;哮喘病程 3 ~ 12 年。所有哮喘儿童均有至少一种变应原阳性,和(或)血清总免疫球蛋白 E (IgE) 增高,排除慢性咳嗽,慢性消耗性疾病,合并心、肝、肾、内分泌、免疫系统疾病和肿瘤患者。正常对照组选择广西籍无血缘关系居住广西的正常儿童 48 人和成年人 120 人,既往和当前无哮喘和特异性病史,无免疫系统疾病和肿瘤者,2 周内无使用抗过敏药、激素等用药史。

1.2 研究方法 采用 Pharmacia UniCAP 检测系统测定血清总 IgE 水平,试剂盒为该公司的产品。所有研究对象完成 10 种吸入性变应原皮肤点刺实验。收集哮喘患儿与正常人外周血 20ml,采用基因芯片方法检测 HLA-DR 位点基因共 21 个位点。

1.3 统计学方法 HLA-DR 位点等位基因以相应的基因型表示,采用直接记数法计算各组的等位基

因频率。基因频率 = 阳性基因数 / (每组个体总数 × 2)。两组间基因频率的比较采用 SPSS12.0 软件包进行统计学处理,作 χ^2 检验。基因频率在哮喘组和正常组间有差异的基因认为是哮喘关联基因。进一步计算各个基因与哮喘的关联强度—优势比 (OR),来表示具有某一关联基因人群的哮喘患病的危险度相对于不具有该关联基因人群哮喘患病的倍数。 $OR = (\text{哮喘组中具有关联基因的人数} \times \text{正常组中不具有关联基因的人数}) / (\text{哮喘组中不具有关联基因的人数} \times \text{正常组中具有关联基因的人数})$ 。

2 结果

2.1 哮喘儿童组与正常对照组 HLA-DR 基因频率的差异比较 哮喘儿童组与正常对照组 HLA-DR 基因型及基因频率的比较见表 1。结果表明,有 3 种 HLA-DR 基因型的基因频率在两组间有明显差异,其中 HLA-DRB1 * 070X 在支气管哮喘儿童组中的基因频率为 2.98%,而在正常对照组中为 0.3% ($\chi^2 = 6.915, P < 0.05$); HLA-DRB1 * 11XX 在支气管哮喘儿童组中的基因频率为 13.69%,而在正常对照组中为 5.95% ($\chi^2 = 9.478, P < 0.01$); HLA-DRB3 (52) * 010X 在支气管哮喘儿童组中的基因频率为 7.14%,而在正常对照组中为 13.99% ($\chi^2 = 5.854, P < 0.05$)。

表 1 HLA-DR 各基因型在哮喘儿童和正常对照中出现的频次

组别	例数	B1 * 0103	B1 * 04XX	B1 * 070X	B1 * 08XX	B1 * 09012	B1 * 1001	B1 * 11XX
哮喘组	84	1	14	5 [#]	8	12	5	23 [*]
对照组	168	0	25	1	12	34	3	20
组别	例数	B1 * 120XX	B1 * 13	B1 * 13-2	B1 * 14XX	B1 * 15XX	B1 * 160XX	B1 * 3(17)
哮喘组	84	4	10	15	33	10	9	43
对照组	168	6	15	28	85	24	17	110
组别	例数	B5(51) * 010xx/020XX	B3(52) * 010X	B3(52) * 02XX/03XX	B4(53) * 010X	B6 * 01/02	B7 * 0101	B9 * 0101
哮喘组	84	19	12 [#]	59	28	50	35	2
对照组	168	36	47	102	53	101	80	4

注:与对照组比较,[#] $P < 0.05$; ^{*} $P < 0.01$

2.2 危险性分析 计算上述在哮喘组与正常对照组间基因频率分布有差异的基因型的 OR 值分别是: HLA-DRB1 * 070X 者为 10.57 (95% CI 1.215 ~ 91.986), HLA-DRB1 * 11XX 者为 2.79 (95% CI 1.429 ~ 5.449), HLA-DRB3 (52) * 010X 者为 0.429 (95% CI 0.214 ~ 0.862)。

万方数据

3 讨论

3.1 HLA 基因复合体是人类基因组中已经认知的体内最复杂的遗传多态系统。HLA 基因具有高度多态性,成为导致个体间免疫应答能力和对疾病易感性出现差异的遗传学因素。特别是在调节免疫反应中有中枢性作用及广泛多态性的 II 类抗原参与呈

递外来抗原给 T 细胞的过程是 T 细胞受体特异性和选择性发育过程的关键所在。研究发现哮喘的某些特异性抗原呈递需要特异性 HLA-DR 基因产物,而 HLA II 类基因的 DR 亚区又是整个基因群中最复杂的。本组资料采用基因芯片技术对 84 名哮喘儿童和 168 个正常个体进行 HLA-DR 型检测,共检测了 21 位点,发现有 3 种 HLA-DR 基因型在哮喘儿童中的基因频率与正常相比有差异。支气管哮喘组 HLA-DRB1 * 070X 基因和 HLA-DRB1 * 11XX 基因频率明显高于正常对照组,危险性分析带有 HLA-DRB1 * 11XX 基因亚型的人群患哮喘的危险度是未带有相关基因型的 2 倍多,带有 HLA-DRB1 * 070X 基因亚型的患病的危险则高达 10.57 倍。统计校正结果提示 HLA-DRB1 * 11XX 和 HLA-DRB1 * 070X 基因可能是小儿哮喘的易感基因型,而带有 HLA-DRB3(52) * 010X 基因亚型的人群哮喘发病的危险度比未带有相关基因型降低了约 50%,则可能是保护性基因型。

3.2 将我们的研究结果与国内外关于 HLA 基因型与哮喘发病的相关研究结果比较,有一些相同之处:HLA-DRB1 * 070X 在本研究中发现与哮喘高度相关, OR 值高达 10.57,而该基因在国内学者研究中也被发现认为是螨性哮喘的易感基因^[3],在韩国哮喘人群中也发现 HLA-DRB1 * 07 和 * 15 出现的频率较正常人增高^[4,5]。HLA-DRB1 * 11XX 在本组的哮喘儿童中出现的频率明显增高,国外一项对象为委内瑞拉人群的研究也有相同的报道^[6]。但在中国北方汉族儿童哮喘人群中发现的 HLA-DR * 9、DR * 10 基因亚型和 DRB1 * 13-DRB3 单倍型基因频率升高、HLA-DR1 基因亚型和 HLA-DRB1 * 15-DRB5 单倍型基因频率降低的现象^[7,8],在我们的研究中并没有观察到。除此之外,本研究中发现的 HLA-DRB3(52) * 010X 等基因型基因频率的变化在国内外类似研究中未见报道。在中国不同省区进行的一些相关研究还发现了其他一些哮喘相关的 HLA 基因型,比如:HLA-DRB1 * 1301-1302 和 HLA-DRB1 * 1501-1502 基因频率在哮喘人群中升高^[9,10],HLA-DRB1 * 04 和 * 14 为螨性哮喘的保护基因^[2],HLA-DRB1 * 08 和 * 02 的基因频率在哮喘人群中下降^[11],等等。我们的研究未能观察到以上

这些基因亚型的基因频率在广西区域性哮喘人群中的变化。美国学者利用同胞配对法研究未能确定与花生过敏的 HLA II 类基因位点^[12]。不同地区研究的哮喘易感基因和抗性基因不尽相同,是否除遗传因素外,环境因素在哮喘的发病中也起到重要的作用。因为各研究对象的环境暴露因素存在异质性,期待多环境多样本交叉研究的资料,为哮喘基因治疗提供有意义的遗传基础。

参考文献

- 1 谢庆玲,焦伟,洪梅,等.哮喘患儿血清 IgE 水平与特应性关系[J].广西医学,2000,22(2):307-309.
- 2 中华医学会儿科学分会呼吸学组,中华医学会《中华儿科杂志》编辑委员会.儿童支气管哮喘防治常规(试行)[J].中华儿科杂志,2004,42(2):100-106.
- 3 李朝品,杨庆贵,陶莉.HLA-DRB1 基因与螨性哮喘的相关性研究[J].安徽医科大学学报,2005,40(3):244-246.
- 4 Cho SH, Kim YK, Oh HB, et al. Association of HLA-DRB1 (*)07 and DRB1 (*)04 to citrus red mite (*Panonychus citri*) and house dust mite sensitive asthma[J]. Clin Exp Allergy, 2000, 30(11):1568-1575.
- 5 Kim SH, Oh HB, Lee KW, et al. HLA DRB1 * 15-DPB1 * 05 haplotype: a susceptible gene marker for isocyanate-induced occupational asthma? [J]. Allergy, 2006, 61(7):891-894.
- 6 Lara-Marquez ML, Yunis JJ, Layrisse Z, et al. Immunogenetics of atopic asthma: association of DRB1 * 1101 DQA1 * 0501 DQB1 * 0301 haplotype with *Dermatophagoides* spp. -sensitive asthma in a sample of the Venezuelan population[J]. Clin Exp Allergy, 1999, 29(1):60-71.
- 7 鲁继荣,焦立新,王承训.小儿支气管哮喘与 HLA 的相关性研究[J].临床儿科杂志,2006,24(1):16-18.
- 8 Gao J, Lin Y, Qiu C, et al. HLA-DRB alleles polymorphism in susceptibility to asthma in Beijing Chinese[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi, 1998, 8(78):591-594.
- 9 冯涛.支气管哮喘发病与 HLA-DRB1 等位基因关系的研究[J].山东医药,2005,45(4):6-7.
- 10 王崇刚,彭则,李建强,等. HLA-DRB1 等位基因与慢性支气管炎和支气管哮喘的可比性研究[J].中华医学遗传学杂志,1999,16(6):371-373.
- 11 李琳,曹兰芳,顾梯成,等.肺炎支原体肺炎及支气管哮喘 HLA-DRB1 基因位点频率的研究[J].临床儿科杂志,2003,21(1):29-31.
- 12 Shreffler WG, Charlop-Powers Z, Sicherer SH. Lack of association of HLA class alleles with peanut allergy[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2006, 96(6):865-869.

[收稿日期 2011-06-07][本文编辑 谭毅 吕文娟]