

2 504 例汉族人群 *HLA-A*、*B*、*C*、*DRB1* 和 *DQB1* 高分辨等位基因多态性研究

苏湘晖

岳阳市中心血站, 湖南 岳阳 414000

摘要: **目的** 分析 2 504 例汉族人群 *HLA-A*、*B*、*C*、*DRB1* 和 *DQB1* 高分辨等位基因多态性及分布特征。 **方法** 采用基于 Illumina Miseq 二代测序技术,对岳阳地区 2 504 例汉族造血干细胞捐献志愿者的 *HLA-A*、*B*、*C*、*DRB1* 和 *DQB1* 基因进行高分辨分型,采用 PyPop 软件计算等位基因频率、单体型频率核连锁不平衡参数。 **结果** *HLA*-I 类基因中,*A*、*B* 和 *C* 基因座分别检出 55、117 和 67 个等位基因,其中频率>0.05 常见等位基因为 *A**11:01:01:01、*A**24:02:01:01、*A**02:07:01、*A**02:01:01:01、*A**33:03:01、*B**40:01:02、*B**58:01:01、*B**15:02:01、*B**13:01:01、*B**46:01:01、*C**03:03:01、*C**03:02:02:01、*C**08:01:01、*C**03:04:01:02、*C**07:02:01:01、*C**01:02:01; *HLA*-II 类基因中,共检出 50 个 *DRB1* 和 26 个 *DQB1* 等位基因,频率>0.05 常见等位基因见于 *DRB1**11:01:01、*DRB1**08:03:02、*DRB1**12:02:01、*DRB1**15:01、*DRB1**09:01:02、*DQB1**03:01:01、*DQB1**03:02:01、*DQB1**03:03:02、*DQB1**05:02:01、*DQB1**06:01:01。 *HLA-A*、*B*、*C*、*DRB1* 和 *DQB1* 位点基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($P>0.05$)。任意 2 个 *HLA* 基因间均具有强的连锁不平衡,其中频率 ≥ 0.01 有统计学意义的单体型有 196 条。 **结论** 获得了岳阳地区汉族人群 *HLA-A*、*B*、*C*、*DRB1* 和 *DQB1* 高分辨等位基因频率数据,为人类学、移植配型、疾病相关性等研究提供了参考数据。

关键词: *HLA* 抗原; *HLA* 高分辨等位基因; 基因频率; 多态性

中图分类号:R457.7 文献标识码:A 文章编号:1006-3110(2016)12-1455-07 DOI:10.3969/j.issn.1006-3110.2016.12.013

HLA-A, *-B*, *-C*, *-DRB1* and *-DQB1* high-resolution alleles polymorphism in 2,504 Han adults

SU Xiang-hui

Central Blood Station of Yueyang City, Yueyang, Hunan 414000, China

Abstract: **Objective** To analyze the *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1* and *-DQB1* high-resolution alleles polymorphism and their distribution characteristics in 2,504 Han adults. **Methods** Totally, 2,504 Chinese Han hematopoietic stem cell donors in Yueyang region were genotyped by the Illumina Miseq next-generation sequencing method for their *HLA-A*, *-C*, *-B*, *-DRB1* and *-DQB1* genes, and then the allele frequencies, haplotype frequencies and the linkage disequilibrium parameters were computed by a PyPop software. **Results** For *HLA* class I genes, there were 55, 117 and 67 alleles observed in *HLA-A*, *-B* and *-C* locus respectively, of which the common alleles with frequencies greater than 0.05 were *A**11:01:01:01, *A**24:02:01:01, *A**02:07:01, *A**02:01:01:01, *A**33:03:01, *B**40:01:02, *B**58:01:01, *B**15:02:01, *B**13:01:01, *B**46:01:01, *C**03:03:01, *C**03:02:02:01, *C**08:01:01, *C**03:04:01:02, *C**07:02:01:01 and *C**01:02:01. For *HLA* class II genes, 50 *DRB1* alleles and 26 *DQB1* alleles were observed and the frequent alleles with frequencies greater than 0.05 included *DRB1**11:01:01, *DRB1**08:03:02, *DRB1**12:02:01, *DRB1**15:01, *DRB1**09:01:02, *DQB1**03:01:01, *DQB1**03:02:01, *DQB1**03:03:02, *DQB1**05:02:01 and *DQB1**06:01:01. The distribution of *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1* and *-DQB1* alleles coincided with the Hardy-Weinberg test ($P>0.05$). Strong linkage disequilibrium was observed between in any two *HLA* genes, and there were 196 halotypes with frequency ≥ 0.01 and statistical significance. **Conclusions** The data of the *HLA-A*, *-B*, *-C*, *-DRB1* and *-DQB1* allelic frequencies at high-resolution level in Yueyang Han population are obtained, which provide reference data for the studies in anthropology, transplantation matching and disease association.

Key words: *HLA* antigen; *HLA* high-resolution allele; Gene frequency; Polymorphism

人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, *HLA*)基因系统根据编码分子的分布与功能不同,分为 I、II、III 3 大类,*HLA-A*、*B*、*C* 属于 I 类基因,*HLA-DRB1*、*DQB1* 属于 II 类基因。*HLA-A*、*B*、*C* 基因是早期研究的与造血干细胞移植密切相关的 3 个功能基因,随着非血缘造血干细胞移植的增加,*HLA-C*、*DQB1* 基因在造血干细胞移植中的重要性日益受到重视。目

作者简介:苏湘晖,女,本科学历,副教授,研究方向:HLA 分型。

前,国外造血干细胞移植均对供患者进行 *HLA-A、B、C、DRB1* 和 *DQB1* 高分辨基因配型^[1]。随着 HLA 分型技术发展,新一代测序技术不断应用于 HLA 分型,实现了高通量和快速检测^[2]。本研究采用基于 Illumina Miseq 二代测序技术(即边合成边测序,在生产新 DNA 链时,加入被荧光标记的 dNTP,在合成互补链时,释放出荧光信号,通过捕获荧光信号,转化为一个测序峰值,获得互补链序列信息,经过多个循环后,完整读取核酸序列)对岳阳地区 2 504 名汉族造血干细胞捐献志愿者进行 *HLA-A、B、C、DRB1* 和 *DQB1* 基因分型,从高分辨水平了解基因分布特征。

1 资料与方法

- 1.1 标本来源 2 504 例血样,全部来自中华骨髓库湖南分库岳阳招募站 2014 年 10 月-2015 年 8 月招募的造血干细胞捐献志愿者,全部为汉族,岳阳本地人,年龄在 18~45 岁,身体状况符合捐献者健康征询要求,留取 EDTA 抗凝静脉全血 5~8 ml。
- 1.2 主要设备 KAIAO K5500 超微量分光光度计(北京凯奥),TAILONG NP968 全自动核酸提取纯化系统(西安天隆),Miseq 高通量测序平台(美国 Illumina),GeneAmp PCR System 9700 型扩增仪(美国 ABI)、7500 Real Time PCR 仪(美国 ABI)。
- 1.3 主要试剂 DNA 提取试剂(批号:E0814120131,西安天隆),*HLA-A、B、C、DRB1* 和 *DQB1* 基因二代测序试剂(批号:A-15000192、B-15000192、C-15000192、DR-15000192、DQ-15000192,荷兰 GenDx 公司)。
- 1.4 实验方法 使用 DNA 提取试剂,在全自动核酸提取纯化系统上提取 DNA,DNA 浓度大于 50 ng/μl,

OD260/OD280 比值在 1.7~1.9。按照二代测序试剂盒说明书进行 *HLA-A、B、C、DRB1* 和 *DQB1* 等位基因高分辨检测,对无法确定的基因分型结果采用 Zhou M 报道的方法^[3]进行精确分型。

1.5 统计学分析 直接计算等位基因频率,单体型频率采用最大似然性方法,应用 Arlerquin3.5 软件进行 Hardy-Weinberg 平衡检验,采用 PyPop 软件计算基因座间的连锁不平衡参数(包括 D' 和 Wn)和等位基因间连锁不平衡参数(包括 ALD、MLD 和 RLD);显著性检验采用 χ^2 方法, $P>0.05$ 为观察值与期望值差异无统计学意义。

2 结 果

2.1 *HLA-I* 类基因的频率和分布特征 2 504 份造血干细胞捐献者标本中,检出 *HLA-A、B、C* 的等位基因分别为 55、117 和 67 个,频率>0.05 常见等位基因为 A*11:01:01:01、A*24:02:01:01、A*02:07:01、A*02:01:01:01、A*33:03:01、B*40:01:02、B*58:01:01、B*15:02:01、B*13:01:01、B*46:01:01、C*03:03:01、C*03:02:02:01、C*08:01:01、C*03:04:01:02、C*07:02:01:01、C*01:02:01,累计频率分别为 0.7484、0.5337 和 0.7234。有 2 个以上亚型的等位基因包括 10 个 *HLA-A*(A*02、A*03、A*11、A*24、A*26、A*29、A*30、A*33、A*68、A*74),17 个 *HLA-B*(B*07、B*13、B*14、B*15、B*18、B*27、B*35、B*38、B*39、B*40、B*44、B*48、B*51、B*52、B*55、B*56、B*58),*HLA-C*11 个(C*01、C*03、C*04、C*05、C*06、C*07、C*08、C*12、C*14、C*15、C*16),频率分布结果见表 1。

表 1 岳阳汉族人群 *HLA-A、B、C* 高分辨等位基因频率分布

等位基因	<i>n</i>	频率	等位基因	<i>n</i>	频率	等位基因	<i>n</i>	频率
A*02:230	1	0.0002	B*14:01:01	2	0.0004	B*35:05:01	20	0.0040
A*02:369	1	0.0002	B*15:21	2	0.0004	B*15:01:01	23	0.0046
A*11:02:02	1	0.0002	B*15:35	2	0.0004	B*15:25:01	23	0.0046
A*11:03	1	0.0002	B*18:01:01	1	0.0002	B*57:01:01	23	0.0046
A*11:194	1	0.0002	B*18:02	2	0.0004	B*44:02:01:01	24	0.0048
A*11:27	1	0.0002	B*40:01:02	854	0.1705	B*52:01:01:02	25	0.0050
A*11:60	1	0.0002	B*46:01:01	818	0.1633	B*67:01:01	25	0.0050
A*11:77	1	0.0002	B*13:01:01	348	0.0695	B*08:01:01	26	0.0052
A*24:02:31	1	0.0002	B*15:02:01	334	0.0667	B*52:01:01	26	0.0052
A*24:258	1	0.0002	B*58:01:01	319	0.0637	B*35:03:01	28	0.0056
A*24:30	1	0.0002	B*51:01:01	200	0.0399	B*51:01:01:01	29	0.0058
A*26:20	1	0.0002	B*55:02:01	199	0.0397	合计	5 008	1.0000
A*26:50	1	0.0002	B*15:01:01:01	164	0.0327	C*01:17	1	0.0020
A*29:02:01:02	1	0.0002	B*54:01:01	137	0.0274	C*01:85	1	0.0020
A*36:02	1	0.0002	B*38:02:01	137	0.0274	C*03:04:02	1	0.0020
A*66:01:01	1	0.0002	B*13:02:01	128	0.0256	C*03:04:32	1	0.0020
A*68:02:01:02	1	0.0002	B*40:02:01	89	0.0178	C*03:16	1	0.0020
A*69:01	1	0.0002	B*35:01:01:02	72	0.0144	C*03:198	1	0.0020
A*74:01	1	0.0002	B*48:01:01	63	0.0126	C*03:212	1	0.0020
A*24:02:01:02	2	0.0004	B*27:07:01	2	0.0004	C*03:227	1	0.0020

续表 1

等位基因	<i>n</i>	频率	等位基因	<i>n</i>	频率	等位基因	<i>n</i>	频率
A * 24;03:01	2	0.0004	B * 35;01:01G	2	0.0004	C * 03;41:01	1	0.0020
A * 24;04	2	0.0004	B * 35;01:23	2	0.0004	C * 03;46	1	0.0020
A * 24;08	2	0.0004	B * 35;02:01	2	0.0004	C * 04;01:01:05	1	0.0020
A * 33;01:01	2	0.0004	B * 35;08:01	2	0.0004	C * 05;01:01:01	1	0.0020
A * 68;01:01:02	2	0.0004	B * 39;09:01	2	0.0004	C * 07;02:06	1	0.0020
A * 11;01:04	3	0.0006	B * 39;15	2	0.0004	C * 07;02:13	1	0.0020
A * 30;04:01	3	0.0006	B * 40;03	2	0.0004	C * 07;199;02	1	0.0020
A * 02;53N	4	0.0008	B * 40;06:01:02	2	0.0004	C * 07;63	1	0.0020
A * 24;10:01	4	0.0008	B * 45;01:01	2	0.0004	C * 08;01:11	1	0.0020
A * 34;01:01	4	0.0008	B * 55;04	2	0.0004	C * 08;99	1	0.0020
A * 74;02:01:02	4	0.0008	B * 55;12	2	0.0004	C * 14;56	1	0.0020
A * 68;01:02:01	5	0.0010	B * 56;03	2	0.0004	C * 15;04	1	0.0020
A * 02;05:01	7	0.0014	B * 56;04	2	0.0004	C * 15;26	1	0.0020
A * 23;01:01	7	0.0014	B * 81;02	2	0.0004	C * 03;02:02:03	2	0.0040
A * 02;10	8	0.0016	B * 14;02:01	3	0.0006	C * 03;04:04	2	0.0040
A * 68;01:02:02	9	0.0018	B * 15;17:01	3	0.0006	C * 06;02:01:03	2	0.0040
A * 03;02:01	12	0.0024	B * 15;32:01	3	0.0006	C * 07;01:01G	2	0.0040
A * 24;02:40	12	0.0024	B * 15;58	3	0.0006	C * 08;02:01:02	2	0.0040
A * 24;20	15	0.0030	B * 27;24	3	0.0006	C * 17;01:01:01	2	0.0040
A * 29;01:01:01	17	0.0034	B * 39;01:03	3	0.0006	C * 07;01:02	3	0.0060
A * 24;07:01	19	0.0038	B * 58;01:01:01	3	0.0006	C * 07;43	3	0.0060
A * 32;01:01	27	0.0054	B * 07;06	4	0.0008	C * 01;08	4	0.0080
A * 03;01:01:01	57	0.0114	B * 15;05:01	4	0.0008	C * 08;02:01:01	4	0.0080
A * 01;01:01:01	85	0.0170	B * 18;01:01:02	4	0.0008	C * 07;02:01:05	5	0.0010
A * 30;01:01	116	0.0232	B * 35;01:01:01	4	0.0008	C * 07;66	5	0.0010
A * 31;01:02:01	116	0.0232	B * 44;02:01	4	0.0008	C * 16;02:01	5	0.0010
A * 26;01:01	131	0.0262	B * 49;01:01	4	0.0008	C * 16;04:01	5	0.0010
A * 11;02:01	144	0.0288	B * 15;13:01	5	0.0010	C * 07;01:01:01	6	0.0012
A * 02;06:01	176	0.0351	B * 39;01:01:01	5	0.0010	C * 01;02:03	8	0.0016
A * 02;03:01	244	0.0487	B * 55;01:01	5	0.0010	C * 01;06	8	0.0016
A * 33;03:01	348	0.0695	B * 67;01:02	5	0.0010	C * 04;01:01G	8	0.0016
A * 02;01:01:01	420	0.0839	B * 27;06	7	0.0014	C * 06;02:01:02	10	0.0020
A * 02;07:01	679	0.1356	B * 40;06:01	8	0.0016	C * 02;02:02:01	11	0.0022
A * 24;02:01:01	791	0.1579	B * 48;03:01	8	0.0016	C * 03;02:01	12	0.0024
A * 11;01:01:01	1 510	0.3015	B * 51;02:02	8	0.0016	C * 15;05:02	12	0.0024
合计	5 008	1.000	B * 15;07:01	9	0.0018	C * 07;06	13	0.0026
B * 07;02:18	1	0.0002	B * 38;01:01	10	0.0020	C * 14;03	16	0.0032
B * 07;02:20	1	0.0002	B * 07;05:01	12	0.0024	C * 08;01:01G	17	0.0034
B * 07;05:01G	1	0.0002	B * 27;05:02	12	0.0024	C * 08;03:01	19	0.0038
B * 15;01:17	1	0.0002	B * 50;01:01	12	0.0024	C * 05;01:01:02	20	0.0040
B * 15;03:01	1	0.0002	B * 55;02:01:01	12	0.0024	C * 07;04:01	20	0.0040
B * 15;10:01	1	0.0002	B * 39;05:01	13	0.0026	C * 08;22	26	0.0052
B * 15;192	1	0.0002	B * 15;12	14	0.0028	C * 04;82	29	0.0058
B * 15;220	1	0.0002	B * 44;03:02	15	0.0030	C * 07;02:01:03	36	0.0072
B * 15;46	1	0.0002	B * 51;01:02	18	0.0036	C * 01;03	41	0.0082
B * 38;02:02	1	0.0002	B * 52;01:01:01	18	0.0036	C * 03;04:01:01	41	0.0082
B * 40;229	1	0.0002	B * 18;01:01:01	1	0.0002	C * 04;03:01	49	0.0098
B * 40;78	1	0.0002	B * 35;01:01	58	0.0116	C * 12;03:01:01	67	0.0134
B * 41;01:01	1	0.0002	B * 40;06:01:01	55	0.0110	C * 12;02:02	88	0.0176
B * 42;02	1	0.0002	B * 39;01:01	55	0.0110	C * 15;02:01	127	0.0254
B * 44;02:01:03	1	0.0002	B * 51;02:01	48	0.0096	C * 06;02:01:01	195	0.0389
B * 46;18	1	0.0002	B * 39;01:01:03	44	0.0088	C * 04;01:01:01	217	0.0433
B * 48;04	1	0.0002	B * 37;01:01	41	0.0082	C * 14;02:01	222	0.0443
B * 52;01:02	1	0.0002	B * 15;11:01	39	0.0078	C * 03;03:01	267	0.0533
B * 53;01:01	1	0.0002	B * 07;02:01	37	0.0074	C * 03;02:02:01	304	0.0607
B * 53;14	1	0.0002	B * 15;18:01	34	0.0068	C * 08;01:01	442	0.0882
B * 55;02:01:02	1	0.0002	B * 44;03:01	33	0.0066	C * 03;04:01:02	611	0.1220
B * 56;01:01:01	1	0.0002	B * 15;27:01	33	0.0066	C * 07;02:01:01	934	0.1865
B * 56;27	1	0.0002	B * 40;01	31	0.0062	C * 01;02:01	1 065	0.2126
B * 58;58	1	0.0002	B * 27;04:01	31	0.0062	合计	5 008	1.000
B * 59;01:01:01	1	0.0002	B * 56;01:01	29	0.0058			

2.2 HLA-Ⅱ类基因的频率和分布特征 在 2 504 份标本中,HLA-DRB1、DQB1 的等位基因分别为 50、26 个,其中频率>0.05 的常见等位基因为 DRB1 * 11:01:01、DRB1 * 08:03:02、DRB1 * 12:02:01、DRB1 * 15:01、DRB1 * 09:01:02、DQB1 * 03:01:01、DQB1 * 03:02:01、DQB1 * 03:03:02、DQB1 * 05:02:01、DQB1 * 06:01:01,频率总和分别为 0.5521 和 0.7113。有 2 个以上亚型的等位基因包括 9 个 HLA-DRB1(DRB1 * 01、DRB1 * 04、DRB1 * 08、DRB1 * 11、DRB1 * 12、DRB1 * 13、DRB1 * 14、DRB1 * 15、DRB1 * 16) 和 5 个 HLA-

DQB1 (*DQB1* * 02、*DQB1* * 03、*DQB1* * 04、*DQB1* * 05、*DQB1* * 06)。频率分布结果见表 2。

表 2 岳阳汉族人群 *HLA-DRB1*、*DQB1* 高分辨等位基因频率分布

等位基因	<i>n</i>	频率	等位基因	<i>n</i>	频率	等位基因	<i>n</i>	频率
<i>DRB1</i> * 04:08:01	1	0.0002	<i>DRB1</i> * 01:01:01	51	0.0102	<i>DQB1</i> * 03:17:01	1	0.0002
<i>DRB1</i> * 08:04:01	1	0.0002	<i>DRB1</i> * 10:01:01	51	0.0102	<i>DQB1</i> * 04:01:01	213	0.0425
<i>DRB1</i> * 11:11	1	0.0002	<i>DRB1</i> * 13:12:01	71	0.0142	<i>DQB1</i> * 04:01:02	1	0.0002
<i>DRB1</i> * 11:129	1	0.0002	<i>DRB1</i> * 14:54:01	75	0.0150	<i>DQB1</i> * 04:02:01	64	0.0128
<i>DRB1</i> * 11:19:01	1	0.0002	<i>DRB1</i> * 04:03:01	95	0.0190	<i>DQB1</i> * 05:01:01	85	0.0170
<i>DRB1</i> * 14:10	1	0.0002	<i>DRB1</i> * 15:02:01	104	0.0208	<i>DQB1</i> * 05:01:01:01	6	0.0012
<i>DRB1</i> * 14:11	1	0.0002	<i>DRB1</i> * 13:02:01	119	0.0238	<i>DQB1</i> * 05:01:01:02	43	0.0086
<i>DRB1</i> * 15:02:02	1	0.0002	<i>DRB1</i> * 14:05:01	122	0.0244	<i>DQB1</i> * 05:02:01	468	0.0934
<i>DRB1</i> * 16:01:01	1	0.0002	<i>DRB1</i> * 14:01:01G	126	0.0252	<i>DQB1</i> * 05:02:02	2	0.0004
<i>DRB1</i> * 01:02:01	2	0.0004	<i>DRB1</i> * 04:06:01	132	0.0264	<i>DQB1</i> * 05:03:01	215	0.0429
<i>DRB1</i> * 11:03	2	0.0004	<i>DRB1</i> * 12:01:01G	140	0.0280	<i>DQB1</i> * 05:10	1	0.0002
<i>DRB1</i> * 13:07:01	2	0.0004	<i>DRB1</i> * 16:02:01	212	0.0423	<i>DQB1</i> * 06:01:01	715	0.1428
<i>DRB1</i> * 13:13	2	0.0004	<i>DRB1</i> * 07:01:01	216	0.0431	<i>DQB1</i> * 06:02:01	249	0.0497
<i>DRB1</i> * 14:02:01	2	0.0004	<i>DRB1</i> * 03:01	220	0.0439	<i>DQB1</i> * 06:03:01	41	0.0082
<i>DRB1</i> * 14:25	2	0.0004	<i>DRB1</i> * 04:05:01	239	0.0477	<i>DQB1</i> * 06:04:01	27	0.0054
<i>DRB1</i> * 11:06:01	3	0.0006	<i>DRB1</i> * 11:01:01	308	0.0615	<i>DQB1</i> * 06:09:01	92	0.0184
<i>DRB1</i> * 14:18	3	0.0006	<i>DRB1</i> * 08:03:02	414	0.0827	<i>DQB1</i> * 06:10	1	0.0002
<i>DRB1</i> * 15:04	3	0.0006	<i>DRB1</i> * 12:02:01	523	0.1044	<i>DQB1</i> * 03:13	2	0.0004
<i>DRB1</i> * 04:02:01	5	0.0010	<i>DRB1</i> * 15:01	581	0.1160	<i>DQB1</i> * 03:05:01	3	0.0006
<i>DRB1</i> * 04:10:01	8	0.0016	<i>DRB1</i> * 09:01:02	939	0.1875	<i>DQB1</i> * 03:04:01	1	0.0002
<i>DRB1</i> * 14:07:01	8	0.0016	<i>DRB1</i> * 04:04:01	41	0.0082	<i>DQB1</i> * 03:03:02	980	0.1957
<i>DRB1</i> * 11:04:01	9	0.0018	<i>DRB1</i> * 13:01:01	40	0.0080	<i>DQB1</i> * 03:02:01	324	0.0647
<i>DRB1</i> * 04:07:01	13	0.0026	<i>DRB1</i> * 08:02:01	28	0.0056	<i>DQB1</i> * 03:01:04	1	0.0002
<i>DRB1</i> * 14:03:01	20	0.0040	<i>DRB1</i> * 14:04:01	24	0.0048	<i>DQB1</i> * 03:01:01	1 075	0.2146
<i>DRB1</i> * 04:01:01	22	0.0044	合计	5 008	1.0000	<i>DQB1</i> * 02:02:01	179	0.0357
<i>DRB1</i> * 08:09	22	0.0044	<i>DQB1</i> * 02:01:01	219	0.0437	合计	5 008	1.0000

2.3 Hardy-Weinberg 平衡检验 *HLA-A*、*B*、*C*、*DRB1*、*DQB1* 5 个位点观察值与期望值差异无统计学意义 ($P>0.05$),符合 Hardy-Weinberg 平衡,结果见表 3。

表 3 岳阳汉族人群 *HLA-A*、*B*、*C*、*DRB1*、*DQB1* 基因位点 Hardy-Weinberg 平衡检验

基因位点	观察值	期望值	<i>P</i>
A	0.8375	0.8460	0.2010
B	0.9169	0.9182	0.4770
C	0.8802	0.8766	0.2145
<i>DRB1</i>	0.9129	0.9172	0.6341
<i>DQB1</i>	0.8710	0.8717	0.2758

2.4 HLA 扩展单倍型 2 504 份标本共检测出 255 条 HLA 扩展单倍型,其中频率>0.01 的 HLA 扩展单倍型为 A * 02:07-C * 01:02-B * 46:01-*DRB1* * 09:01-*DQB1* * 03:03(0.0525)、A * 33:03-C * 03:02-B * 58:01-*DRB1* * 03:01-*DQB1* * 02:01(0.0281)、A * 11:01-C * 08:01-B * 15:02-*DRB1* * 12:02-*DQB1* * 03:01(0.0234)、A * 30:01-C * 06:02-B * 13:02-*DRB1* * 07:01-*DQB1* * 02:02(0.0185)、A * 11:01-C * 03:04-B * 13:01-*DRB1* * 15:01-*DQB1* * 06:01(0.0174)、A * 11:01-C * 01:02-B * 46:01-*DRB1* * 09:01-*DQB1* * 03:03(0.0153)、A * 33:03-C * 03:02-B * 58:01-*DRB1* * 13:02-*DQB1* * 06:09(0.0152)、A * 11:01-C * 08:01-B * 15:02-*DRB1* * 15:01-*DQB1* * 06:01(0.0146)、A * 11:01-C * 07:02-B * 40:01-*DRB1* *

08:03-*DQB1* * 06:01(0.0144)、A * 02:07-C * 01:02-B * 46:01-*DRB1* * 08:03-*DQB1* * 06:01(0.0123)。

2.5 HLA 等位基因间的连锁不平衡关系 2 504 份标本中,对任意 2 个基因座间的所有观察到的单体型做连锁不平衡分析发现:*HLA-A*、*B*、*C*、*DRB1*、*DQB1* 基因间具有高度连锁不平衡关系,尤其是 *HLA-B* 与 *C* 基因、*HLA-DRB1* 与 *DQB1* 基因间的连锁不平衡强度最高;6.43%~24.49%的“有价值单体型”^[4],其连锁不平衡差异有统计学意义($\chi^2>3.84,P<0.05$),见表 4(连锁不平衡单体型比例为连锁不平衡单体型/单体型观察数)。其中频率 ≥ 0.01 、有统计学意义的连锁不平衡单体型有 196 对,其中 42 对单体型具有负连锁不平衡关系,尤其是 A * 02:07-C * 07:02、C * 01:02-*DRB1* * 15:01、C * 03:04-*DQB1* * 03:03、B * 45:01-*DQB1* * 03:01 具有强的负连锁不平衡($RLD<-0.50$),见表 5。

表 4 *HLA-A*、*B*、*C*、*DRB1*、*DQB1* 基因间连锁不平衡

基因对	D'	Wn	<i>P</i>	连锁不平衡单体型比例(%)
A-C	0.4268	0.2911	<0.05	8.62(194/2 250)
A-B	0.4825	0.4547	<0.05	6.43(268/4 165)
A- <i>DRB1</i>	0.3310	0.2129	<0.05	8.08(190/2 352)
A- <i>DQB1</i>	0.2885	0.2669	<0.05	12.00(121/1 008)
C-B	0.8575	0.5523	<0.05	8.03(314/3 910)
C- <i>DRB1</i>	0.4424	0.3090	<0.05	9.72(219/2 254)
C- <i>DQB1</i>	0.3722	0.3431	<0.05	15.32(148/966)
B- <i>DRB1</i>	0.5217	0.3877	<0.05	7.76(323/4 165)
B- <i>DQB1</i>	0.4449	0.4035	<0.05	12.88(230/1 785)
<i>DRB1</i> - <i>DQB1</i>	0.9308	0.7940	<0.05	24.49(252/1 029)

表 5 196 对有统计学意义的连锁不平衡两座位 HLA 单体型

单体型	R1D	频率	单体型	R1D	频率	单体型	R1D	频率
A * 11:01-C * 07:02	0.1663	0.0816	A * 02:07-DQB1 * 05:02	0.0152	0.0140	C * 01:02-DQB1 * 05:02	-0.1024	0.0180
A * 11:01-C * 03:04	0.2451	0.0620	A * 02:07-DQB1 * 03:01	-0.3695	0.0184			
A * 11:01-C * 03:03	-0.3796	0.0100	A * 02:07-DQB1 * 03:03	0.3279	0.0623	C * 01:02-DQB1 * 03:01	-0.3011	0.0322
A * 11:01-C * 08:01	0.3912	0.0528	A * 02:07-DQB1 * 06:01	-0.0164	0.0190	C * 01:02-DQB1 * 03:03	0.3151	0.0904
A * 11:01-C * 01:02	-0.2989	0.0454	A * 02:03-DQB1 * 05:02	0.2555	0.0158	C * 01:02-DQB1 * 06:01	-0.1605	0.257
A * 33:03-C * 03:02	0.8577	0.0551	A * 02:01-DQB1 * 03:01	0.0016	0.0181	C * 01:02-DQB1 * 04:01	0.2421	0.0173
A * 24:02-C * 07:02	0.0313	0.0354	A * 02:01-DQB1 * 03:03	0.0853	0.0222	C * 14:02-DQB1 * 03:01	0.0873	0.0126
A * 24:02-C * 03:04	0.0557	0.0272	A * 30:01-DQB1 * 02:02	0.7928	0.0185	C * 14:02-DQB1 * 03:03	0.0734	0.0113
A * 24:02-C * 03:03	0.1307	0.0144	C * 07:02-B * 40:01	0.4759	0.1022	B * 40:01-DRB1 * 04:05	0.0594	0.0108
A * 24:02-C * 01:02	-0.1722	0.0284	C * 07:02-B * 38:02	0.9844	0.0272	B * 40:01-DRB1 * 12:02	-0.3032	0.0128
A * 24:02-C * 14:02	0.1314	0.0120	C * 07:02-B * 39:01	0.7843	0.0177	B * 40:01-DRB1 * 08:03	0.1918	0.0277
A * 02:07-C * 07:02	-0.5903	0.0108	C * 03:04-B * 40:01	0.2666	0.0519	B * 40:01-DRB1 * 15:01	-0.0053	0.0204
A * 02:07-C * 01:02	0.6458	0.0978	C * 03:04-B * 13:01	0.8586	0.0600	B * 40:01-DRB1 * 09:01	-0.0535	0.0314
A * 02:03-C * 07:02	0.3469	0.0231	C * 06:02-B * 13:02	0.9837	0.0252	B * 40:01-DRB1 * 11:01	0.1953	0.0208
A * 02:01-C * 03:03	0.1338	0.0110	C * 03:03-B * 35:01	0.6018	0.0172	B * 58:01-DRB1 * 03:01	0.7422	0.0333
A * 30:01-C * 06:02	0.8827	0.0114	C * 08:01-B * 15:02	0.9703	0.0649	B * 58:01-DRB1 * 13:02	0.7396	0.0180
A * 11:01-B * 40:01	0.2050	0.0787	C * 04:01-B * 15:01	0.3956	0.0159	B * 13:01-DRB1 * 15:01	0.2981	0.0264
A * 11:01-B * 55:02	0.0431	0.0141	C * 01:02-B * 55:02	0.4124	0.0228	B * 15:02-DRB1 * 12:02	0.4407	0.0333
A * 11:01-B * 13:01	0.4245	0.0416	C * 01:02-B * 46:01	0.8847	0.1485	B * 15:02-DRB1 * 15:01	0.1897	0.0189
A * 11:01-B * 15:02	0.5838	0.0473	C * 01:02-B * 54:01	0.8792	0.0248	B * 15:01-DRB1 * 04:06	0.4235	0.0117
A * 11:01-B * 15:01	0.1076	0.0142	C * 14:02-B * 51:01	0.9052	0.0403	B * 46:01-DRB1 * 08:03	0.1072	0.0209
A * 11:01-B * 46:01	-0.4396	0.0277	C * 03:02-DRB1 * 03:01	0.7376	0.0331	B * 46:01-DRB1 * 09:01	0.4545	0.0909
A * 11:01-B * 51:01	-0.1356	0.0129	C * 03:02-DRB1 * 13:02	0.7218	0.0176	B * 13:02-DRB1 * 07:01	0.8846	0.0227
A * 33:03-B * 58:01	0.8395	0.0547	C * 07:02-DRB1 * 16:02	0.2000	0.0151	B * 51:01-DRB1 * 09:01	0.0669	0.0119
A * 24:02-B * 40:01	0.1125	0.0434	C * 07:02-DRB1 * 04:05	0.0966	0.0130	B * 40:01-DQB1 * 05:02	0.0541	0.0208
A * 24:02-B * 51:01	0.1220	0.0130	C * 07:02-DRB1 * 12:02	-0.1089	0.0182	B * 40:01-DQB1 * 03:01	0.0396	0.0435
A * 02:07-B * 46:01	0.6835	0.0997	C * 07:02-DRB1 * 08:03	0.3322	0.0382	B * 40:01-DQB1 * 03:02	-0.0072	0.0114
A * 02:03-B * 38:02	0.5966	0.0170	C * 07:02-DRB1 * 15:01	-0.3508	0.0147	B * 40:01-DQB1 * 03:03	-0.0902	0.0315
A * 02:01-B * 40:01	0.0228	0.0164	C * 07:02-DRB1 * 09:01	-0.2508	0.0127	B * 40:01-DQB1 * 06:01	0.0460	0.0306
A * 30:01-B * 13:02	0.8846	0.0206	C * 07:02-DRB1 * 11:01	0.0133	0.0130	B * 40:01-DQB1 * 06:02	0.1076	0.0132
A * 11:01-DRB1 * 04:05	0.0304	0.0154	C * 03:04-DRB1 * 16:02	0.2033	0.0187	B * 58:01-DQB1 * 02:01	0.7459	0.0333
A * 11:01-DRB1 * 12:02	0.2816	0.0521	C * 03:04-DRB1 * 12:02	0.0553	0.0352	B * 58:01-DQB1 * 06:09	0.9768	0.0180
A * 11:01-DRB1 * 08:03	0.0909	0.0302	C * 03:04-DRB1 * 15:01	0.1987	0.0125	B * 55:02-DQB1 * 03:01	0.0888	0.0120
A * 11:01-DRB1 * 15:01	0.1943	0.0508	C * 03:04-DRB1 * 09:01	-0.4916	0.0125	B * 13:01-DQB1 * 05:02	0.0582	0.0102
A * 11:01-DRB1 * 04:06	0.1103	0.0100	C * 03:04-DRB1 * 11:01	0.1686	0.0171	B * 13:01-DQB1 * 03:01	0.1192	0.0214
A * 11:01-DRB1 * 09:01	-0.1389	0.0488	C * 06:02-DRB1 * 07:01	0.6510	0.0275	B * 13:01-DQB1 * 06:01	0.2877	0.0270
A * 11:01-DRB1 * 11:01	-0.0415	0.0178	C * 03:03-DRB1 * 09:01	0.0586	0.0125	B * 15:02-DQB1 * 03:01	0.4606	0.0384
A * 33:03-DRB1 * 03:01	0.6233	0.0285	C * 08:01-DRB1 * 12:02	0.3051	0.0347	B * 15:02-DQB1 * 06:01	0.1701	0.0192
A * 33:03-DRB1 * 13:02	0.7106	0.0174	C * 08:01-DRB1 * 15:01	0.1608	0.0237	B * 15:01-DQB1 * 03:02	0.2848	0.0124
A * 24:02-DRB1 * 16:02	0.1125	0.0108	C * 08:01-DRB1 * 09:01	-0.3625	0.0110	B * 46:01-DQB1 * 05:02	-0.0937	0.0139
A * 24:02-DRB1 * 12:02	-0.1651	0.0140	C * 04:01-DRB1 * 04:06	0.5870	0.0160	B * 46:01-DQB1 * 03:01	-0.5517	0.0157
A * 24:02-DRB1 * 08:03	0.0053	0.0137	C * 01:02-DRB1 * 04:05	0.1989	0.0177	B * 46:01-DQB1 * 03:03	0.4505	0.0911
A * 24:02-DRB1 * 15:01	0.0391	0.0231	C * 01:02-DRB1 * 12:02	-0.469	0.0119	B * 46:01-DQB1 * 06:01	-0.0007	0.0233
A * 24:02-DRB1 * 09:01	-0.1126	0.0268	C * 01:02-DRB1 * 08:03	0.0695	0.0222	B * 13:02-DQB1 * 02:02	0.8855	0.0227
A * 24:02-DRB1 * 11:01	0.1459	0.0174	C * 01:02-DRB1 * 15:01	-0.5426	0.0114	B * 51:01-DQB1 * 03:01	0.1013	0.0145
A * 02:07-DRB1 * 08:03	0.0741	0.0165	C * 01:02-DRB1 * 09:01	0.3387	0.0901	B * 51:01-DQB1 * 03:03	0.0675	0.0123
A * 02:07-DRB1 * 09:01	0.3310	0.0619	C * 01:02-DRB1 * 11:01	-0.1853	0.0107	DRB1 * 03:01-DQB1 * 02:01	1.0000	0.0437
A * 02:03-DRB1 * 16:02	0.2370	0.0116	C * 14:02-DRB1 * 09:01	0.0717	0.0109	DRB1 * 16:02-DQB1 * 05:02	0.9896	0.0419
A * 02:01-DRB1 * 09:01	0.0784	0.0211	C * 03:02-DQB1 * 02:01	0.7413	0.0331	DRB1 * 14:05-DQB1 * 05:03	0.9315	0.0228
A * 30:01-DRB1 * 07:01	0.7912	0.0185	C * 03:02-DQB1 * 06:09	0.9536	0.0176	DRB1 * 04:05-DQB1 * 04:01	0.9755	0.0417
A * 11:01-DQB1 * 05:02	-0.1720	0.0235	C * 07:02-DQB1 * 05:02	0.0918	0.0252	DRB1 * 12:02-DQB1 * 03:01	0.9391	0.0994
A * 11:01-DQB1 * 05:03	-0.0248	0.0127	C * 07:02-DQB1 * 05:03	0.1096	0.0122	DRB1 * 07:01-DQB1 * 02:02	0.9942	0.0355
A * 11:01-DQB1 * 03:01	0.1365	0.0854	C * 07:02-DQB1 * 03:01	-0.0073	0.0416	DRB1 * 08:03-DQB1 * 06:01	0.9831	0.0815
A * 11:01-DQB1 * 03:02	-0.0344	0.0189	C * 07:02-DQB1 * 03:03	-0.2822	0.0274	DRB1 * 15:01-DQB1 * 06:01	0.3675	0.0531
A * 11:01-DQB1 * 03:03	-0.1665	0.0493	C * 07:02-DQB1 * 06:01	0.1252	0.0422	DRB1 * 15:01-DQB1 * 06:02	0.9727	0.0485
A * 11:01-DQB1 * 06:01	0.2354	0.0666	C * 07:02-DQB1 * 04:01	0.0548	0.0102	DRB1 * 12:01-DQB1 * 03:01	0.8726	0.0252
A * 11:01-DQB1 * 06:02	-0.0946	0.0136	C * 03:04-DQB1 * 05:02	0.0980	0.0203	DRB1 * 04:06-DQB1 * 03:02	0.9919	0.0262
A * 11:01-DQB1 * 04:01	0.0577	0.0146	C * 03:04-DQB1 * 03:01	0.0938	0.0378	DRB1 * 09:01-DQB1 * 03:03	0.9854	0.1853
A * 33:03-DQB1 * 02:01	0.6265	0.0285	C * 03:04-DQB1 * 03:03	-0.5050	0.0127	DRB1 * 13:02-DQB1 * 06:09	1.0000	0.0184
A * 33:03-DQB1 * 06:09	0.8126	0.0152	C * 03:04-DQB1 * 06:01	0.1090	0.0309	DRB1 * 14:54-DQB1 * 05:02	0.7204	0.0112
A * 24:02-DQB1 * 05:02	0.0831	0.0216	C * 06:02-DQB1 * 02:02	0.6350	0.0232	DRB1 * 11:01-DQB1 * 03:01	0.9400	0.0585
A * 24:02-DQB1 * 03:01	0.0288	0.0382	C * 03:03-DQB1 * 03:03	0.0537	0.0127	DRB1 * 14:01-DQB1 * 05:02	0.6759	0.0178
A * 24:02-DQB1 * 03:02	0.0558	0.0134	C * 08:01-DQB1 * 03:01	0.3453	0.0446	DRB1 * 01:01-DQB1 * 05:01	1.0000	0.0102
A * 24:02-DQB1 * 03:03	-0.1498	0.0268	C * 08:01-DQB1 * 03:03	-0.3781	0.0112	DRB1 * 13:12-DQB1 * 03:01	0.9641	0.0138
A * 24:02-DQB1 * 06:01	-0.0643	0.0215	C * 08:01-DQB1 * 06:01	0.1057	0.0214	DRB1 * 04:03-DQB1 * 03:02	0.9662	0.0184
A * 24:02-DQB1 * 06:02	0.0646	0.0107	C * 04:01-DQB1 * 03:02	0.3349	0.0170			

3 讨 论

HLA 是人类最复杂的遗传多态性系统,是由一系

列紧密连锁的基因组成的具有高度多态性的复合体。

自 1956 年开始 HLA 分型工作,随着科技的发展和研究

的深入,HLA 分型技术从最初的血清学技术发展 to 高分辨 DNA 测序技术,越来越多的 HLA 等位基因被发现,截止 2016 年 3 月底,已确定 *HLA-I* 类基因 10 574 个,其中 *HLA-A* 位点 3 356 个、*HLA-B* 位点 4 179 个、*HLA-C* 位点 2 902 个、*HLA-II* 类基因 3 658 个,其中 *HLA-DRB1* 1 860 个、*HLA-DQB1* 900 个(数据来源于 www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/stats.html)。

2 504 例标本分别检出 55 个 *HLA-A* 等位基因、117 个 *HLA-B* 等位基因、67 个 *HLA-C* 等位基因、50 个 *HLA-DRB1* 等位基因和 26 个 *HLA-DQB1* 等位基因,频率 > 0.05 常见等位基因为 A * 11:01:01:01 (0.3015)、A * 24:02:01:01 (0.1579)、A * 02:07:01 (0.1356)、A * 02:01:01:01 (0.0839)、A * 33:03:01 (0.0695)、B * 40:01:02 (0.1705)、B * 58:01:01 (0.0637)、B * 15:02:01 (0.0667)、B * 13:01:01 (0.0695)、B * 46:01:01 (0.1633)、C * 03:03:01 (0.0533)、C * 03:02:02:01 (0.0607)、C * 08:01:01 (0.0882)、C * 03:04:01:02 (0.1220)、C * 07:02:01:01 (0.1865)、C * 01:02:01 (0.2126)、DRB1 * 11:01:01 (0.0615)、DRB1 * 08:03:02 (0.0827)、DRB1 * 12:02:01 (0.1044)、DRB1 * 15:01 (0.1160)、DRB1 * 09:01:02 (0.1875)、DQB1 * 03:01:01 (0.2146)、DQB1 * 03:02:01 (0.0647)、DQB1 * 03:03:02 (0.1957)、DQB1 * 05:02:01 (0.0934)、DQB1 * 06:01:01 (0.1428)。*HLA-A* 02、03、11、24、26、29、30、33、68、74、*HLA-B* * 07、13、14、15、18、27、35、38、39、40、44、48、51、52、55、56、58、*HLA-C* * 01、03、04、05、06、07、08、12、14、15、16、*HLA-DRB1* * 01、04、08、11、12、13、14、15、16 和 *HLA-DQB1* * 02、03、04、05、06 基因座分别检出两个以上亚型的等位基因,表现出较高的多态性。*HLA-A*、*B*、*DRB1* 高分辨等位基因的分布特征与本文之前的研究相符^[5-6],与丁浩强等研究的广州地区人群^[7]和王芳等研究的重庆汉族人群^[8]的特征相似,但与黑龙江地区人群^[9]存在差异;*HLA-C* 高分辨等位基因的分布特征与夏玲等研究的四川汉族人群^[10]和李桢等研究的深圳汉族人群^[11]相近,与梁晓岚等研究的北方汉族人群^[12]存在差异;*HLA-DQB1* 高分辨等位基因的分布特征与李桢等的研究相近^[11],与黑爱莲等研究的中华骨髓库造血干细胞捐献志愿者^[13]存在差异。这说明岳阳汉族人群具有南方汉族人群特点,也解释了岳阳市自 2003 年开始、走出了 129 位造血干细胞捐献者的岳阳现象(占全国总捐献量的 2.36%)。

连锁不平衡是 HLA 基因系统的一个显著遗传特征。本研究显示岳阳汉族人群 *HLA-A*、*B*、*C*、*DRB1* 和 *DQB1* 基因之间均存在较强的连锁不平衡,在所有两座

位单体型中,6.43%~24.49%的“有价值单体型”存在着有统计学意义的连锁不平衡。连锁不平衡对 HLA 单体型分布影响表现为两方面:一方面是降低 HLA 单体型多样性,这有利于 HLA 基因相合供着的寻找;另一方面是单体型频率与相应的等位基因的分布频率及连锁不平衡强度等因素有关,如 A * 11:01、B * 40:01、C * 01:02、DRB1 * 09:01、DQB1 * 03:03 检出频率最高,但单体型频率最高的却是 A * 02:07-B * 46:01、A * 02:07-C * 01:02、A * 11:01-DQB1 * 03:01、C * 01:02-B * 46:01、C * 01:02-DRB1 * 09:01、C * 01:02-DQB1 * 09:01、B * 46:01-DRB1 * 09:01、B * 46:01-DQB1 * 03:03、DRB1 * 09:01-DQB1 * 03:03,频率最高(0.0525)的扩展单倍型 A * 02:07-C * 01:02-B * 46:01-DRB1 * 09:01-DQB1 * 03:03 也不全由单个基因频率最高的位点组成,说明连锁不平衡强度对单型型的分布有较大的影响。

近年来,HLA 基因多态性与疾病相关性研究日益深入透彻,目前已经明确,HLA 多态性与运动系统、循环系统、内分泌系统、泌尿系统、消化系统、呼吸系统、神经系统、生殖系统、炎症、感染和肿瘤等疾病均有关联^[14],如,*HLA-A* * 03 可能对 HIV-1 的感染具有保护作用^[15],*HLA-B* * 27:04 为闽南地区强直性脊柱炎的易感基因^[16],*HLA-C1* 基因组表达水平降低可引起早期复发性流产^[17],*HLA-DRB1* * 12:02/*DQB1* * 03:01 与新生儿溶血病呈正相关^[17-18],等等这些研究都揭示 HLA 与很多疾病的发生高度相关。随着研究的深入,HLA 与疾病的相关性将绘制出基因图谱,为疾病的预防、早诊断、早治疗和优生优育提供重要依据。在造血干细胞移植方面,已对拟移植的供受者进行了 *HLA-A*、*B*、*C*、*DRB1* 和 *DQB1* 基因高分辨分型,为临床移植供受者的选择提供了可靠保障。我国针对 HLA 的系统研究始于中华骨髓库,中华骨髓库为我国汉族人群的 HLA 基因分型作出了重大贡献,发现了大量新等位基因。HLA 基因图谱需要大量样本,才能为造血干细胞移植、HLA 与疾病相关性研究和人类遗传学提供准确数据。

参考文献

- [1] Shaw BE, Arguella R, Garcia-Sepulveda CA, et al. The impact of HLA genotyping on survival following unrelated donor haematopoietic stem cell transplantation[J]. Br J Haematol, 2010, 150(3): 251-258.
- [2] De Santis D, Dinuer D, Duke J, et al. 16(th) IHIW: review of HLA typing by NGS[J]. Int J Immunogenet, 2013, 40(1): 72-76.
- [3] Zhou M, Gao D, Chai X, et al. Application of high-throughput, high-resolution and cost-effective next generation sequencing-based large-

莱菔硫烷对汞致大鼠肾急性损伤的保护作用

郭美欣, 徐兆发, 李鸿鹏, 奉姝, 刘巍, 杨天瑶

中国医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室, 辽宁 沈阳 110122

摘要: **目的** 探讨莱菔硫烷(sulforaphane, SFN)对莱菔硫烷(sulforaphane, SFN)所致大鼠急性肾损伤的保护作用。 **方法** 清洁级 Wistar 大鼠 30 只按体重随机分 5 组, 每组 6 只, 分别为对照组、低、中、高剂量染汞组, SFN 干预组。对照组及各染汞组皮下注射生理盐水, SFN 干预组皮下注射 2 mg/kg SFN; 2 h 后, 对照组腹腔注射生理盐水, 其他四组腹腔注射 2. 2、4. 4、8. 8、8. 8 $\mu\text{mol/kg}$ HgCl_2 , 连续 3 d, 染毒容量均为 5 ml/kg。于最后一次染毒结束后, 测定尿液中 Hg 及尿蛋白含量, 碱性磷酸酶(ALP)、乳酸脱氢酶(LDH)和 β -N-乙酰氨基葡萄糖苷酶(NAG)活力; 腹主动脉采血测定血清尿素氮(BUN)含量; 测定肾皮质中 Hg 含量和谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)水平及超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活力。分析各组各项指标差异。 **结果** 与对照组比较, 各剂量染汞组大鼠尿 Hg、肾皮质 Hg 含量, 尿蛋白和血清 BUN 含量, 尿 NAG、LDH 和 ALP 活力, 肾皮质中 GSH 和 MDA 含量显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 肾皮质 SOD 和 GSH-Px 活力显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。与 8. 8 $\mu\text{mol/kg}$ HgCl_2 组比较, SFN 干预组尿蛋白和血清 BUN 含量、尿 NAG、LDH 和 ALP 活力、肾皮质 GSH、MDA 含量均显著下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 肾皮质 SOD 和 GSH-Px 活力显著升高($P<0.01$), 而尿汞、肾皮质汞含量间差异无统计学意义($P>0.05$)。 **结论** 莱菔硫烷对汞所致大鼠急性肾毒性有一定的保护作用。

关键词: 汞; 莱菔硫烷; 肾损伤; 氧化应激

中图分类号: R-332 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-3110(2016)12-1461-04 **DOI:** 10.3969/j.issn.1006-3110.2016.12.014

Protective effect of sulforaphane on mercury-induced acute renal injury in rats

GUO Mei-xin, XU Zhao-fa, LI Hong-peng, FENG Shu, LIU Wei, YANG Tian-yao

Department of Environmental Health, School of Public Health, China Medical University, Shenyang, Liaoning 110122, China

Corresponding author: XU Zhao-fa, E-mail: zfxu@mail.cmu.edu.cn

作者简介: 郭美欣(1990-), 女, 辽宁沈阳人, 硕士在读, 研究方向: 重金属中毒机理与防治。

通讯作者: 徐兆发, E-mail: zfxu@mail.cmu.edu.cn。

scale HLA typing in donor registry[J]. Tissue Antigens, 2015, 85(1): 20-28.

[4] Cheng LH, Li Z, Jin SZ, et al. Sequence-based typing characterization of the novel *HLA-Cw*0340* allele in a Chinese individual[J]. Tissue Antigens, 2008, 72(5): 495-497.

[5] 苏湘晖, 孙昂, 栗玉萍, 等. 岳阳地区汉族人群 *HLA-A、-B、-DRB1* 高分辨等位基因多态性分析[J]. 实用预防医学, 2012, 19(9): 1307-1310.

[6] 孙昂. 岳阳市汉族汉族造血干细胞捐献志愿者 *HLA-DRB1* 高分辨基因多态性研究[J]. 实用预防医学, 2011, 18(6): 1002-1005.

[7] 丁浩强, 叶欣, 梁华钦, 等. 广州地区献血人群 *HLA-A、B、DRB1* 高分辨等位基因及单体型的多态性研究[J]. 中国免疫学杂志, 2010, 26(9): 810-813.

[8] 王芳, 廖群, 黄霞, 等. 重庆汉族人群 *HLA-A、B、DRB1* 高分辨等位基因多态性研究[J]. 重庆医学, 2014, 43(26): 3455-3460.

[9] 李鑫, 丁携, 王鑫, 等. 黑龙江地区人群 *HLA-A、B、DRB1* 高分辨等位基因及单体型多态性研究[J]. 中国免疫学杂志, 2016, 32(1): 83-89.

[10] 夏玲, 王钰, 罗玫, 等. 直接测序法用于四川骨髓库汉族人群 *HLA-C* 等位基因分布的研究[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(8): 596-601.

[11] 李楨, 程良红, 邹红岩, 等. 深圳汉族人群 *HLA-Cw、-DQB1* 基因座等位基因的多态性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008, 12(53): 10517-10521.

[12] 梁晓岚, 韩俊领, 李茜, 等. 中国北方汉族人群 *HLA-Cw* 高分辨等位基因频率分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2010, 18(2): 486-489.

[13] 黑爱莲, 李伟, 刘娜, 等. 中华骨髓库造血干细胞捐献志愿者 *HLA-A、-B、-C、-DRB1、-DQB1* 高分辨等位基因频率分析[J]. 中国输血杂志, 2009, 22(4): 285-287.

[14] 潘斌. HLA 多态性与疾病机制关联的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(10): 1157-1160.

[15] 张伟伦, 王丽, 洪坤学, 等. 中国前献血人群中 *HLA-A*03* 与 HIV-1 感染关系的研究[J]. 中国科学: 生命科学, 2012, 42(9): 709-715.

[16] 范春梅, 黄荣富, 陈根旺. 闽南地区 *HLA-B27* 基因亚型与强直性脊柱炎相关性研究[J]. 中国微生态学杂志, 2016, 28(3): 256-258.

[17] 尹璐, 郭媛. 绒毛滋养细胞 *HLA-C* 基因多态性与早期复发性流产关系研究[J]. 白求恩医学院学报, 2012, 10(3): 192-193.

[18] 孙昂, 方奎明, 栗玉萍, 等. 新生儿溶血病与 *HLA-DQB1* 相关性研究[J]. 中国现代医药, 2014, 16(1): 5-8. 收稿日期: 2016-04-12