

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.13.007

文章编号: 1005-8982 (2019) 13-0037-04

## 海南地区妊娠期高血压疾病患者母婴 *HLA-DRB1* 基因共享率研究\*

韩贞艳<sup>1</sup>, 陈建林<sup>2</sup>, 关红琼<sup>1</sup>, 张程圆<sup>1</sup>, 韦秋圆<sup>1</sup>

(1. 海南医学院第二附属医院 产科, 海南 海口 570311; 2. 中南大学湘雅二医院 妇产科, 湖南 长沙 410011)

**摘要:** **目的** 探讨海南地区妊娠期高血压疾病 (HDP) 母婴 *HLA-DRB1* 基因的共享率。**方法** 使用人类白细胞抗原 (HLA) 基因分型检测试剂盒 (PCR-SBT) 对 *HLA-DRB1* 进行基因分型。检测 50 对祖籍海南的 HDP 母亲及婴儿 (HDP 组) 和 50 对正常妊娠母亲及婴儿 (对照组) 的 *HLA-DRB1* 等位基因, 比较其基因共享率。**结果** 按抗原和等位基因母婴 *HLA-DRB1* 共享, HDP 组与对照组比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); HDP 组分别有 0、45 和 5 例共享 0、1 和 2 个 DR 抗原, 对照组分别有 1、44 和 5 例共享 0、1 和 2 个 DR 抗原。**结论** 海南地区 HDP 患者母婴 *HLA-DRB1* 基因共享率与健康母婴可能无差异。

**关键词:** 妊娠, 高血压; 人类白细胞抗原; 等位基因; *HLA-DRB1*

**中图分类号:** R714.2

**文献标识码:** A

## *HLA-DRB1* gene frequency in maternity and infant in hypertensive disorder of pregnancy\*

Zhen-yan Han<sup>1</sup>, Jian-lin Chen<sup>2</sup>, Hong-qiong Guan<sup>1</sup>, Cheng-yuan Zhang<sup>1</sup>, Qiu-yuan Wei<sup>1</sup>

(1. Department of Obstetrics, The Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University, Haikou, Hainan 570311, China; 2. Department of Gynecology and Obstetrics, The Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan 410011, China)

**Abstract: Objective** To investigate the rate of *HLA-DRB1* gene sharing in maternal fetuses with pregnancy-induced hypertension (HDP) in Hainan Province. **Methods** A total of 50 cases of HDP and 50 healthy individuals were involved in this study. *HLA-DRB1* was genotyped using the HLA Genotyping Assay Kit (PCR-SBT). **Results** There was no significant difference in *HLA-DRB1* antigen between healthy group and HDP group ( $P > 0.05$ ). In HDP group, 0, 45 and 5 cases shared 0, 1 and 2 DR antigens, respectively. In the control group, 1, 44 and 5 cases patients shared 0, 1 and 2 DR antigens. There was no significant difference in the number of maternal and fetal antigen sharing between the two groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusions** No obvious difference in rate of maternal-fetal *HLA-DRB1* gene among HDP pregnant women and healthy individuals.

**Keywords:** pregnancy, hypertension; human leukocyte antigen; allele; *HLA-DRB1*

妊娠期高血压疾病 (hypertensive disorders of pregnancy, HDP) 是一种临床常见的妊娠与血压升高

并存的一组疾病, 其发生率为 5% ~ 12%, 是孕产妇和围生儿病死率升高的主要原因, 严重影响母婴健康。

收稿日期: 2018-12-11

\* 基金项目: 海南省卫生计生行业科研项目 (No: 琼卫科教 [2017]3 号)

[通信作者] 陈建林, E-mail: q51c874c3db@163.com; Tel: 13807674880

HDP 包括妊娠期高血压、子痫前期、子痫、慢性高血压并发妊娠和慢性高血压并发子痫前期。人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 是由 *HLA* 基因复合物所编码的产物, 是调节人体异体移植作用和免疫反应的一组基因<sup>[1]</sup>。HLA-DR 为主要组织相容性复合体 II 类抗原标志物, 可介导 T 淋巴细胞活化和抗原呈递, 在自我和异己的识别中扮演重要角色<sup>[2-3]</sup>。本研究通过测定 50 对祖籍海南的 HDP 母亲及婴儿和 50 对正常妊娠母亲及婴儿的 *HLA-DRB1* 等位基因共享率, 旨在初步探讨 HDP 的发病原因和可能机制。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选取 2017 年 1 月—2017 年 12 月海南医学院第二附属医院收治的 50 对祖籍海南的 HDP 产妇及其婴儿为 HDP 组。纳入标准: HDP 组均符合第 8 版《妇产科学》<sup>[4]</sup>HDP 的诊断标准。排除标准: 家族糖尿病、甲状腺功能疾病、输血史、人工助孕史、免疫治疗史等。另外选取同期于本院进行健康体检的无 HDP 的产妇及其婴儿 50 对为对照组。HDP 组: 年龄 22 ~ 38 岁, 平均 (27.7 ± 3.2) 岁; 孕周 30 ~ 38<sup>+</sup> 周, 平均 (34.2 ± 3.3) 周; 初产妇 36 例, 经产妇 14 例。对照组: 年龄 23 ~ 36 岁, 平均 (27.9 ± 3.6) 岁; 孕周 32 ~ 40 周, 平均 (35.6 ± 3.4) 周; 初产妇 38 例, 经产妇 12 例。两组患者年龄、孕周等基础资料比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性。所有产妇均知情同意, 研究经本院医学伦理委员会批准通过。

### 1.2 研究方法

1.2.1 DNA 提取 均采集外周静脉血 4 ml, 离心获

得白细胞, 置入 -20℃ 冰箱冷冻保存, 严格按试剂盒说明书操作提取 DNA: Blood DNA Kit (瑞士 Omega 公司)。DNA 总量  $\geq 5 \mu\text{g}$ , 浓度 50 ~ 200 ng/ $\mu\text{l}$ , 光密度 (optical density, OD) 为 260 nm/280 nm: 18.0 ~ 2.0。

1.2.2 PCR 扩增 DRB1 位点扩增 2 号外显子 (目标基因 270 bp)。PCR 扩增程序: 96℃ 预变性 2 min, 95℃ 变性 30 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 40 s, 重复这 3 个步骤共 35 个循环, 通过电泳条带鉴定目的基因。

1.2.3 Sanger 测序 将 PCR 产物纯化进行 Sanger 测序 (SBT 法), 测序反应程序: 96℃ 预变性 2 min, 96℃ 变性 10 s, 55℃ 退火 5 s, 60℃ 延伸 1 min, 重复这 3 个步骤共 25 个循环。测序反应纯化后采用 3730xl 基因测序仪测序。

1.2.4 分型 采用 HLA-3.26 版本数据库, 通过 Utype 分型软件对测序峰图进行序列分析确定基本基因型。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 18.0 统计软件。基因频率 (GF) 按方根法计算, 按 Haldane-Woof 公式计算相对危险度 (RR), 比较采用 Fisher 确切概率法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 母婴 HLA-DRB1 共享 (按等位基因)

HDP 组共检出 17 种等位基因, 对照组共检出 16 种等位基因。HDP 组未检出 DRB1\*07:01, 对照组检出 4 例, 两组比较, 差异无统计学意义 ( $P = 0.087$ )。见表 1。

### 2.2 母婴 HLA-DRB1 共享按抗原情况

母婴 HLA-DRB1 共享按抗原, HDP 组与对照组

表 1 HDP 组与对照组基因共享比较 ( $n = 50$ , 例)

组别	DRB1*03 : 01	DRB1*04 : 03	DRB1*04 : 05	DRB1*04 : 06	DRB1*07 : 01	DRB1*08 : 03	DRB1*08 : 09
对照组	5	0	4	0	4	4	0
HDP 组	4	2	7	2	0	1	1
组别	DRB1*09 : 01	DRB1*11 : 01	DRB1*11 : 06	DRB1*12 : 01	DRB1*12 : 02	DRB1*13 : 02	DRB1*13 : 12
对照组	5	2	1	1	2	1	2
HDP 组	8	2	0	1	3	1	0
组别	DRB1*14 : 05	DRB1*14 : 54	DRB1*15 : 01	DRB1*15 : 02	DRB1*16 : 02		
对照组	0	3	9	2	9		
HDCP 组	3	2	8	3	6		

比较, 差异无统计学意义 ( $P=0.090$ )。见表 2。

### 2.3 母婴 HLA-DRB1 共享 (按个数)

HDP 组分别有 0、45 和 5 例共享 0、1 和 2 个 DR 抗原, 分别占 0.00%、90.00% 和 10.00%; 对

照组分别有 1、44 和 5 例共享 0、1 和 2 个 DR 抗原, 分别占 2.00%、88.00% 和 10.00%。HDP 组与对照组母婴抗原共享按个数比较, 差异无统计学意义 ( $P=0.064$ )。

表 2 HDP 组与对照组母婴抗原共享情况 ( $n=50$  对)

组别	DRB1*03	DRB1*04	DRB1*07	DRB1*08	DRB1*09	DRB1*11
HDP 组	4 (8.00)	11 (22.00)	0 (0.00)	2 (4.00)	8 (16.00)	2 (4.00)
对照组	5 (10.00)	4 (8.00)	4 (8.00)	4 (8.00)	5 (10.00)	3 (6.00)
组别	DRB1*12	DRB1*13	DRB1*14	DRB1*15	DRB1*16	
HDP 组	4 (8.00)	1 (2.00)	5 (10.00)	11 (22.00)	6 (12.00)	
对照组	3 (6.00)	3 (6.00)	3 (6.00)	11 (22.00)	9 (18.00)	

## 3 讨论

研究显示 HDP 的发病呈逐年上升趋势<sup>[5]</sup>。多数患者及家属对 HDP 的认识程度不高, HDP 的病情轻时往往不受重视, 一旦病情较重患者则担心影响胎儿健康成长。目前, HDP 的确切发病机制尚不十分清楚, 多认为其具有较高的遗传倾向和免疫失衡性, 特别是与人类基因组中具多态性的 HLA 系统有关联<sup>[6]</sup>。

HLA 是目前发现与疾病关系最为紧密的基因复合系统之一, 根据其编码 HLA 分子的分布、多态性与功能, HLA 可分为 I、II、III 3 个基因区<sup>[7]</sup>。HLA-I 类基因区位于染色体顶端, 包括 HLA-A、HLA-B、HLA-C、HLA-E、HLA-F、HLA-G、HLA-H、HLA-J、HLA-K、HLA-L 10 个位点, 其中 HLA-A、HLA-B、HLA-C 被称为经典 HLA-I 类基因, 是 3 个最早发现的功能位点。HLA-II 类基因区靠近染色体着丝点, 包括 DR、DQ、DP、DN、DO、DM 6 个亚区, 其中 DR 亚区有 1 个  $\alpha$  基因和 4 个  $\beta$  基因, 分别编码  $\alpha$  和  $\beta$  链, 两者具有相近的分子量, 可形成异二聚体, 表现出不同的 DR 抗原特异性<sup>[8]</sup>。HLA-DR 抗原具有多态性, HLA-DRB1 的等位基因超过 460 种<sup>[9]</sup>。某个特定个体肯定具有 HLA-DRB1 基因的表达, 但不一定有 DRB2-DRB9 基因的表达, 因此对 DR 位点的分型是集中在编码 DR 抗原的主导 DRB1 位点的分型<sup>[10]</sup>。HLA-DR 可能直接作为免疫基因, 降低孕妇对胎儿组织抗原的递呈及识别能力, 造成封闭抗体产生不足<sup>[11]</sup>。

HLA-DR 等位基因产物的表达有共显性特点, 即同源染色体对应座位上的 2 个等位基因皆能得到表达<sup>[12-13]</sup>。HLA-I 类分子分布于所有有核细胞表面,

HLA-II 类基因编码的抗原仅分布于淋巴样组织中的各种细胞表面, 如 B 淋巴细胞、巨噬细胞和活化的 T 细胞, 其功能是将外源性抗原肽递呈给 CD4 阳性 T 细胞。HLA 是诱发同种异体排斥反应的主要抗原, 也是参与抗原提呈的关键分子。目前 HLA 分型技术广泛应用于器官移植和骨髓移植时供者和受者组织相容性的配型<sup>[14-15]</sup>。移植排斥反应发生与否及其反应的强弱, 关键取决于供、受者间组织相容性抗原的差异程度, 即供受者间 HLA 匹配的程度。经典的器官移植国际通用配型标准源于美国器官分享联合网络 (united network for organ sharing, UNOS), 即 HLA-A、B、DR 6 抗原配型标准。若供者和受者的 HLA-A、B、DR 位点相容性高, 则移植成功的可能性越大, 其中 HLA-DR 的作用最为重要<sup>[16-17]</sup>。结合器官移植国际通用 HLA-A、B、DR 6 抗原配型标准和 HDP 患者胎盘的超微病理学分析结果, 可认为妊娠这一半自体移植是否产生免疫排斥反应, 导致 HDP 发生和 HLA-DR 位点是否相容密切相关。张展等<sup>[18]</sup>研究显示, 子痫前期组母婴同时携带 HLADRB1\*14 基因的频率低于正常晚孕组。本研究 HDP 组和对照组的 HLA-DRB1 等位基因, 母婴 HLA-DRB1 共享按抗原、等位基因及个数比较均无差异, 该结果由于样本量有限, 其结论有一定局限性。无法提示 HLA-DRB1 的母婴相容性与 HDP 是否存在确切相关性。

综上所述, 海南地区 HDP 病患者母婴 HLA-DRB1 基因共享率相对健康孕妇无明显异常。

### 参 考 文 献:

[1] SISIRA M, GEORGE S, JAMES P. Prevalence of components of

- metabolic syndrome in pregnant women with obstructive sleep apnoea hypopnoea syndrome[J]. *International Journal of Advances in Medicine*, 2017, 4(3): 755-761.
- [2] ALEXANDER E K, PEARCE E N, BRENT G A, et al. 2017 Guidelines of the American thyroid association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and the postpartum[J]. *Thyroid*, 2017, 27(3): 315-389.
- [3] SHAH D A, KHALIL R A. Bioactive factors in uteroplacental and systemic circulation link placental ischemia to generalized vascular dysfunction in hypertensive pregnancy and preeclampsia[J]. *Biochemical Pharmacology*, 2015, 95(4): 211-226.
- [4] 王德明, 王黎英. 妇产科学 [M]. 北京: 科学出版社, 2004: 127-128.
- [5] ECHE S, MACKRAJ I, MOODLEY J. Circulating fetal and total cell-free DNA, and sHLA-G in black South African women with gestational hypertension and pre-eclampsia[J]. *Hypertension in Pregnancy*, 2017, 36(4): 295-301.
- [6] LASHLEY L E, HAASNOOT G W, SPRUYT-GERRITSE M, et al. Selective advantage of HLA matching in successful uncomplicated oocyte donation pregnancies[J]. *Journal of Reproductive Immunology*, 2015, 112: 29-33.
- [7] HIRASHIMA C, OHKUCHI A, NAGAYAMA S, et al. Galectin-1 as a novel risk factor for both gestational hypertension and preeclampsia, specifically its expression at a low level in the second trimester and a high level after onset[J]. *Hypertension Research*, 2018, 41(1): 45.
- [8] HU Y, WU J Z, ZHU H, et al. Association of HLA-DRB1, HLA-DQB1 polymorphisms with HPV 16 E6 variants among young cervical cancer patients in China[J]. *Journal of Cancer*, 2017, 8(12): 2401.
- [9] WILSON A, JANSEN L, ROSE R, et al. HLA-DQA 1-HLA-DRB1 polymorphism is a major predictor of azathioprine-induced pancreatitis in patients with inflammatory bowel disease[J]. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 2018, 47(5): 615-620.
- [10] MURALI V, RATHIKA C, RAMGOPAL S, et al. Susceptible and protective associations of HLA DRB 1\*/DQB 1\* alleles and haplotypes with ischaemic stroke[J]. *International Journal of Immunogenetics*, 2016, 43(3): 159-165.
- [11] SMALL H Y, AKEHURST C, SHARAFETDINOVA L, et al. HLA gene expression is altered in whole blood and placenta from women who later developed preeclampsia[J]. *Physiological Genomics*, 2017, 49(3): 193-200.
- [12] 胡兴, 张振钧, 杨珏琴, 等. 人类组织相容抗原免疫遗传与妊高征发病关系的探讨 [J]. *中华妇产科杂志*, 1994, 29(11): 654-656.
- [13] 吴乾渝, 张振钧, 毛羽. 妊娠高血压综合征与 HLA-DRB1 关联研究 [J]. *中国免疫学杂志*, 1997, 13(6): 349-352.
- [14] 毛羽, 张振钧, 吴乾渝, 等. 上海地区妊高征患者人类白细胞抗原 DQA1 及 DQB1 基因多态性研究 [J]. *中华妇产科杂志*, 1997, 32(10): 609-612.
- [15] 傅正英, 朱淑平. HLA-DRB1 等位基因与妊高征发病的相关研究 [J]. *武警医学*, 2004, 15(12): 903-906.
- [16] 袁晓兰, 黄艳仪. HLA-DR4 和封闭抗体与妊高征关系的研究 [J]. *广州医学院学报*, 2004, 32(3): 34-36.
- [17] 朱洁萍, 高桑好, 横尾朋, 等. 重度子痫前期患者母儿间 HLA- II 类抗原相容性研究 [J]. *现代妇产科进展*, 2007, 16(6): 410-412.
- [18] 张展, 贾莉婷, 吴雄, 等. HLA-DRB1 基因与子痫前期相关性研究 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2005, 25(12): 979-983.

(王荣兵 编辑)