

· 论 著 ·

[文章编号]1000-8861(2015)01-0047-06; [DOI]10.13431/j.cnki.immunol.j.20150010

汉族、壮族人群人类粒细胞抗原 HNA-1~5 的基因多态性分布

李丽兰, 李恒聪, 申卫东, 李 彬, 吴国光*

[摘 要] 目的 通过人群的 HNA 基因多态性的调查, 了解人群各 HNA 抗原的分布情况, 推测该人群中可能参与免疫性粒细胞减少症的主要 HNA 抗原。方法 本研究采用序列特异性引物聚合酶链反应(PCR-SSP)方法对无血缘关系的 647 名健康汉族人和 328 名健康壮族人进行 HNA-1~5 的基因分型和多态性研究, 调查了解汉族和壮族人群中 HNA-1~5 的基因频率多态性分布。结果 在 HNA-1 系统, *HNA-1a* 是汉族(0.6893)和壮族(0.7454)人群的高频率等位基因, 与欧洲、南美洲、非洲等以 *HNA-1b* 为高频率等位基因的地区人群有着明显的差异, 汉族和壮族人群中均未发现 *HNA-1c* 等位基因个体存在; 在 HNA-2 SNP 42C/G 中, 42C 是汉族(0.697 1)和壮族(0.724 1)人群中频率较高的等位基因; 在 HNA-3, *HNA-3a* 和 *3b* 基因频率在汉族和壮族人群中分别为 0.687 0/0.313 0 和 0.739 3/0.260 7, 汉、壮族人群的 HNA-3 等位基因频率分布与德国及土耳其等人群无差异; 在 HNA-4 中, *HNA-4b* 是汉族(0.007 0)和壮族(0.019 8)人群的罕见基因, 在这 2 个人群中均未发现 *HNA-4bb* 纯合子基因型个体; 在 HNA-5 中, *HNA-5a* 和 *5b* 等位基因频率在汉族和壮族人群分别为 0.819 9/0.180 1 和 0.783 5/0.216 5。汉族与壮族人群 HNA 各等位基因频率分布比较, 除 HNA-2、-5 的等位基因频率分布无差别外, *HNA-1*、-3、-4 的各等位基因频率分布均不同。结论 与其它地区人群比较, 汉族、壮族人群 HNA 基因频率分布均有着各自的独特特征, 本研究数据将有助于我们了解汉族和壮族人群中 HNA 的免疫学特征。

[关键词] 人类粒细胞抗原(HNA); HNA 等位基因; PCR-SSP; 汉族; 壮族

[中图分类号] R394.4

[文献标识码] A

Polymorphism distribution of HNA-1-5 genes in Chinese Han and Zhuang populations

LI Lilan^{1,2}, LI Hengcong^{1,2}, SHEN Weidong^{1,2}, LI Bin^{1,2}, WU Guoguang^{1,*}

1. Nanning Institute of Transfusion Medicine, Nanning 530007, China; 2. Nanning Blood Center, Nanning 530007, China

*Corresponding Author: WU Guoguang, E-mail: guangwu@szonline.net

[Abstract] Human neutrophil antigens (HNAs) are involved in a variety of immune diseases, including immune-mediated neutropenia, transfusion-related acute lung injury, and refractoriness to granulocyte transfusions. This study performed to investigate the distribution of HNA-1 to -5 genes polymorphism in Chinese Han and Zhuang populations. Total of 647 Chinese Han and 328 Chinese Zhuang unrelated and random healthy people were studied for HNA-1 to -5 genotype polymorphism. An easy PCR-SSP assay was used to detect SNP in HNA systems. In HNA-1 system, in contrast to European, South American and Africa Berber, *HNA-1a* was the most frequent allele in Chinese Han (*Ia*=0.689 3) and Zhuang (*Ia*=0.745 4) populations, and we did not find the *HNA-1c* allele individual in Han and Zhuang population; in HNA-2, SNP 42C/G, 42C had the higher frequency in Han (42C=0.697 1) and Zhuang (42C=0.724 1) populations; while HNA-3, *HNA-3a* and *HNA-3b* allele frequencies were 0.687 0/0.313 0 and 0.739 3/0.260 7 in Chinese Han and Zhuang populations; in HNA-4, *HNA-4b* was the rare allele in Han (*Ib*=0.007 0) and Zhuang (*Ib*=0.019 8) populations, and *HNA-4bb* homozygous individual was not found in this study; *HNA-5a* and *5b* allele frequencies were 0.819 9 and 0.180 1 in Han population, 0.783 5 and 0.216 5 in Zhuang population. Except HNA-2 and -5, there was significant difference between Han and Zhuang population at the distribution of *HNA-1*, -3, -4 gene frequencies. This study showed that, comparing with other population, the HNAs polymorphism in Chinese Han and Zhuang population had their own national characteristics, and the data helps us to know the characteristics of HNAs immunological features in these populations.

[Key words] Human neutrophil antigens; HNA allele; PCR-SSP; Chinese Han population; Chinese Zhuang population

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目(主席基金 08160-06)

作者单位: 530007, 南宁输血医学研究所(李丽兰, 李恒聪, 申卫东, 李 彬, 吴国光); 530007, 南宁中心血站(李丽兰, 李恒聪, 申卫东, 李 彬)

* 通信作者: 吴国光, E-mail: guangwu@szonline.net

从 1960 年 Lalezari 等^[1]首先发现了第 1 个人类粒细胞抗原(HNA),至今已发现的 HNA 抗原共 8 个^[2-3],按 1999 年国际输血协会(ISBT)粒细胞抗原工作部制定的粒细胞抗原命名原则^[4],将这些 HNA 抗原按其在细胞膜上的定位(糖蛋白)列入 HNA-1~5 五大系统中,其中被正式命名的 HNA 抗原有 HNA-1a、-1b、-1c、-1d、-2a、-3a、-4a、-5a 共 8 个,其中 HNA-1d 是 Reil 等在 2013 年 10 月报道的新抗原^[3]。

HNA-1~5 分别位于 FcγRIIIb (CD16)、CD177、CTL-2、CD11b、CD11a 等糖蛋白上,其中 FcγRIIIb 属于免疫球蛋白超家族,HNA-1 和 HNA-2 均通过糖基磷脂酰肌醇锚(GPI 锚)连接于细胞膜上。HNA-1 定位于 1 号染色体,由 *FCGR3B* 基因编码,HNA-1a 与 HNA-1b 等位基因的区别在于其 cDNA 序列上 141、147、227、277、349 等 5 个位点的单核苷酸多态性(SNP)的替换,而 HNA-1b 与 HNA-1c 的不同在于 266 位点的单核苷酸替换。HNA-2 基因定位于染色体 19q13.2,在 HNA-2a 基因的附近有 1 个与 HNA-2a 外显子 4~9 同源的假基因,但该假基因方向与 HNA-2a 基因相反。HNA-2 阴性表型是由于基因转录过程中的错误剪接导致其 mRNA 链中包含了含有终止密码的内含子序列^[5]。HNA-3~5 的基因多态性均是由单核苷酸的替转换而产生。

HNA 抗原可通过妊娠、输血、移植、药物诱导等因素产生相应的抗体(抗-HNA),导致一系列临床症状如:新生儿同种免疫粒细胞减少(NAIN)、输血相关急性肺损伤 (TRALI)、输血相关同种免疫粒细胞减少、粒细胞输注无效、骨髓移植后同种免疫粒细胞减少、自身免疫性粒细胞减少(AIN)、药物诱导的免疫性粒细胞减少等^[2,6]。由于 HNA 抗原的分布具有地域和种族的特异性,通过人群的 HNA 基因多态性的调查可有助于了解人群各 HNA 抗原的分布情况和推测该人群中可能参与免疫性粒细胞减少症的主要 HNA 抗原。本文使用引物特异性聚合酶链反应(PCR-SSP)方法对无血缘关系的 647 名健康汉族人和 328 名健康壮族人展开 HNA 的基因多态性的调查研究,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 随机采集广西地区健康、无血缘关系的 647 名汉族和 328 名壮族人群静脉血 5 ml/份,于采血前均取得志愿者的知情同意,血样采用 EDTA 抗凝,于-80℃冻存待检。

1.2 试剂与仪器 Puregene DNA Purification Kit (Gentra, Minneapolis, USA, 批号:158389),HNA-1~

5 PCR-SSP 基因分型试剂由美国 G&T Biotech, Inc. Rockville 合作制备,批号:N03,rTaq DNA 聚合酶 [TaKaRa Biotechnology(Dalian),批号:CK7601AA],西班牙琼脂糖(西班牙 Biowest,批号 111860),DNA green 绿如蓝核酸染料(北京天恩泽基因科技有限公司,批号 108111),Biophotometer 核酸蛋白测定仪(德国 Eppendorf,Biophotometer 6131 型),PCR 扩增仪(美国 ABI, GeneAmp9700 型),常温高速台式离心机(德国 Eppendorf,5415D 型),Runone 全套水平电泳仪(美国 Embitec, Runone),凝胶成像分析系统(美国西蒙, BIO-BEST)。

1.3 DNA 抽提 应用 Puregene DNA Purification Kit 提取血液样本 DNA,操作按试剂盒使用说明书。将 DNA 样本于-20℃保存待用。

1.4 HNA-1~5 基因分型 建立 HNA-1~5 序列特异性引物聚合酶链反应(PCR-SSP)基因分型方法,对样本进行 HNA 基因分型检测,该方法是对 HNA-1、3~5 及 HNA-2 基因中 42 号位置的单核苷酸多态性(SNP)位点进行分型检测,按照标注内控对照产物及 HNA 目的产物条带位置对 HNA 的基因型进行判读(图 1)。分型试剂与美国 G&T 公司合作研制(G&T 公司,美国,批号:N03),引物序列将另文发表。PCR 反应的总体积为 9 μl/管,由 7 μl PCR-Mix(含引物对、dNTPs、MgCl₂等),1 μl DNA 样品(含 50~100 ng DNA),1 μl 稀释的 Taq DNA 聚合酶(0.5 U)组成。PCR 扩增程序为 95℃ 5 min 后,依次进行 30 个循环:95℃ 30 s; 60℃ 30 s; 72℃ 90 s。30 个循环后于 72℃再延长 5 min,降温至 12℃,完成 PCR 扩增。使用琼脂糖凝胶电泳进行 PCR 扩增产物的分析:配制 2%琼脂糖凝胶(每 100 ml 凝胶中含 5 μl DNA green 绿如蓝核酸染料),取 5 μl PCR 产物直接点样到凝胶孔中,DNA 长度标记(Marker)点样 5 μl,使用 0.5×TBE 缓冲液在 100 V 电压下电泳 20 min,然后在凝胶成像分析系统下拍照记录实验结果。

1.5 统计学分析 数据采用 SPSS13.0 统计学软件进行统计分析。基因频率按群体遗传基因计数法计算 χ^2 值,比较基因分布的期望值和观察值,验证其是否符合 Hardy-Weinberg (HW) 平衡法则。与不同人群基因频率分布做 χ^2 检验,以比较多态性分布的差异性。

2 结果

2.1 HNA-1~5 PCR-SSP 基因分型 结果见图 1,按目的条带的大小和有无判读标本的分型结果。

2.2 汉族和壮族人群 HNA-1~5 基因频率分布情况 汉族和壮族人群 HNA 基因型频率分布见表 1,

各等位基因频率分布见表 2。汉族人群中 *HNA-1a*, *1b*, *1c* 的等位基因频率分别为 0.689 3, 0.310 7 和 0.000 0; *HNA-2* 的 42C 和 42G 等位基因频率分别为

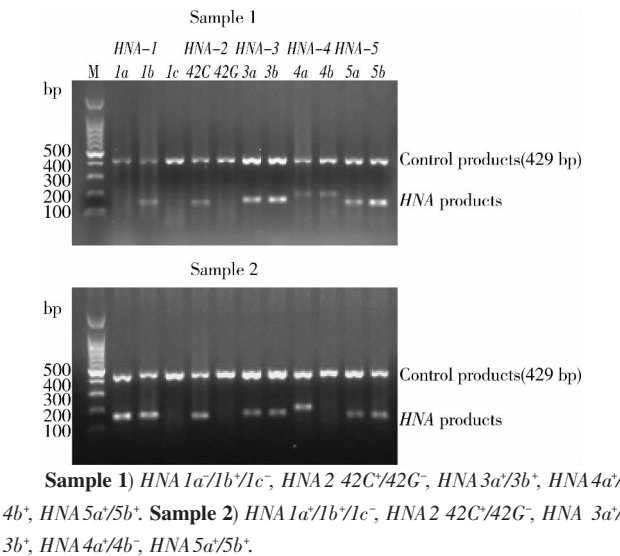


图 1 样本 1 和样本 2 的 HNA-1~5 基因分型结果(PCR-SSP)
Fig 1 Genotyping results of HNA-1~5 for sample 1 and sample 2 (PCR-SSP)

0.697 1 和 0.302 9; *HNA-3a* 和 *3b* 的等位基因频率分别为 0.687 0 和 0.313 0; *HNA-4a* 和 *4b* 的等位基因频率分别为 0.993 0 和 0.007 0; *HNA-5a* 和 *5b* 的等位基因频率分别为 0.819 9 和 0.180 1。壮族人群中 *HNA-1a*, *1b*, *1c* 的等位基因频率分别为 0.745 4, 0.254 6 和 0.000 0; *HNA-2* 的 42C 和 42G 等位基因频率分别为 0.724 1 和 0.275 9; *HNA-3a* 和 *3b* 的等位基因频率分别为 0.739 3 和 0.260 7; *HNA-4a* 和 *4b* 的等位基因频率分别为 0.980 2 和 0.019 8; *HNA-5a* 和 *5b* 的等位基因频率分别为 0.783 5 和 0.216 5。在本研究的汉族和壮族人群中均未发现 *HNA-4bb* 纯合子基因型个体和 *HNA-1c* 基因的个体, 经 Hardy-Weinberg 吻合度校验分析, 证明本研究中汉族和壮族人群 HNA-1、-3~5 系统和 HNA-2 中 42 SNP 位点的基因多态性分布均符合 Hardy-Weinberg 群体遗传平衡法则。
2.3 汉族、壮族和其他人群的 HNA-1, 3~5 基因频率多态性的比较 各人群 HNA-1, 3~5 基因频率见表 3 和图 2, 汉族人群、壮族人群及表 3 中所列的其他人群 HNA-1, 3~5 基因频率相比较的统计学分析见表 4

表 1 汉族和壮族 HNA-1~5 基因型频率分布表

Tab 1 The distribution of HNA-1~5 genotype frequencies in Chinese Han and Zhuang populations

HNA Systems	HNA genotype	Han population (n=647)			Zhuang population (n=328)		
		Observed frequency(n)	Expected frequency(n)	Hardy-Weinberg analysis	Observed frequency(n)	Expected frequency(n)	Hardy-Weinberg analysis
HNA-1	<i>HNA-1a+/1b-/1c-</i>	0.459 0(297)	0.475 2(307.443 6)	$\chi^2=3.675 8$	0.570 1(187)	0.555 7(182.256 9)	$\chi^2=1.904 7$
	<i>HNA-1a+/1b+/1c-</i>	0.460 6(298)	0.428 3(277.112 8)	$P>0.05$	0.350 6(115)	0.379 5(124.486 3)	$P>0.05$
	<i>HNA-1a-/1b+/1c-</i>	0.080 4(52)	0.096 5(62.443 4)		0.079 2(26)	0.064 8(21.256 9)	
	<i>HNA-1a+/1b+/1c+</i>	0.000 0(0)			0.000 0(0)		
	<i>HNA-1a-/1b-/1c+</i>	0.000 0(0)			0.000 0(0)		
	<i>HNA-1a-/1b+/1c+</i>	0.000 0(0)			0.000 0(0)		
	<i>HNA-1a+/1b-/1c+</i>	0.000 0(0)			0.000 0(0)		
HNA-2	42C/C	0.485 3(314)	0.485 9(314.375 6)	$\chi^2=0.004 9$	0.542 9(178)	0.524 3(171.970 3)	$\chi^2=2.777 1$
	42C/G	0.423 5(274)	0.422 3(273.248 8)	$P>0.05$	0.362 8(119)	0.399 6(131.059 5)	$P>0.05$
	42G/G	0.091 2(59)	0.091 8(59.375 6)		0.094 5(31)	0.076 1(24.970 3)	
HNA-3	<i>HNA-3a/3a</i>	0.479 1(310)	0.472 0(305.379 1)	$\chi^2=0.713 8$	0.545 7(179)	0.546 6(179.287 3)	$\chi^2=0.006 8$
	<i>HNA-3a/3b</i>	0.415 8(269)	0.430 0(278.241 9)	$P>0.05$	0.387 2(127)	0.385 4(126.425 3)	$P>0.05$
	<i>HNA-3b/3b</i>	0.105 1(68)	0.098 0(63.379 1)		0.067 1(22)	0.067 9(22.287 4)	
HNA-4	<i>HNA-4a/4a</i>	0.986 1(638)	0.986 1(638.031 3)	$\chi^2=0.031 7$	0.960 4(315)	0.960 8(315.128 8)	$\chi^2=0.134 1$
	<i>HNA-4a/4b</i>	0.013 9(9)	0.013 8(8.937 4)	$P>0.05$	0.039 6(13)	0.038 8(12.742 4)	$P>0.05$
	<i>HNA-4b/4b</i>	0.000 0(0)	0.000 0(0.031 3)		0.000 0(0)	0.000 4(0.128 8)	
HNA-5	<i>HNA-5a/5a</i>	0.666 2(431)	0.672 3(434.977 2)	$\chi^2=1.121 6$	0.618 9(203)	0.613 9(201.368 9)	$\chi^2=0.282 0$
	<i>HNA-5a/5b</i>	0.307 6(199)	0.295 3(191.045 6)	$P>0.05$	0.329 3(108)	0.339 2(111.262 2)	$P>0.05$
	<i>HNA-5b/5b</i>	0.026 3(17)	0.032 4(20.977 2)		0.051 8(17)	0.046 9(15.368 9)	

和图 2。经统计学比较分析发现,汉族人群与壮族人群 HNA-2 的 42C 和 42G 等位基因频率分布 ($\chi^2=1.5319, P>0.05$) 和 HNA-5 的各等位基因频率分布均无差异 ($P>0.05$), 而 HNA-1, 3, 4 中各等位基因频率的分布均不同 ($P<0.05$)。汉族和壮族人群与台湾闽南人、台湾客家人、日本人、泰国人、韩国等亚洲人群, 及德国、土耳其和丹麦等欧洲人群, 南美洲阿根廷人, 非洲柏柏尔人, 大洋洲澳大利亚人等在 HNA-1, 3~5 各等位基因频率的分布上均有所不同。

表 2 汉族和壮族人群 HNA-1~5 等位基因频率分布表

Tab 2 HNA-1~5 alleles frequencies in Chinese Han and Zhuang populations

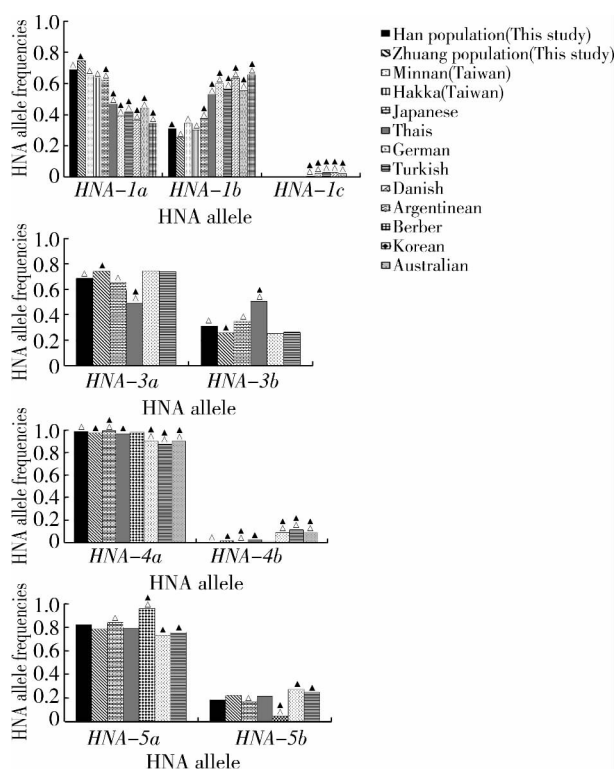
HNA Systems	HNA allele	Han population (n=647)	Zhuang population (n=328)
HNA-1	HNA-1a	0.689 3	0.745 4
	HNA-1b	0.310 7	0.254 6
	HNA-1c	0.000 0	0.000 0
HNA-2	42C	0.697 1	0.724 1
	42G	0.302 9	0.275 9
HNA-3	HNA-3a	0.687 0	0.739 3
	HNA-3b	0.313 0	0.260 7
HNA-4	HNA-4a	0.993 0	0.980 2
	HNA-4b	0.007 0	0.019 8
HNA-5	HNA-5a	0.819 9	0.783 5
	HNA-5b	0.180 1	0.216 5

表 3 各人群的 HNA-1, 3~5 等位基因频率

Tab 3 HNA-1, 3~5 alleles frequencies in various populations

Populations	HNA-1				HNA-3			HNA-4			HNA-5		
	n	1a	1b	1c	n	3a	3b	n	4a	4b	n	5a	5b
Han population (This study)	647	0.689 3	0.310 7	0.000 0	647	0.687 0	0.313 0	647	0.993 0	0.007 0	647	0.819 9	0.180 1
Zhuang population (This study)	328	0.745 4	0.254 6	0.000 0	328	0.739 3	0.260 7	328	0.980 2	0.019 8	328	0.783 5	0.216 5
Minnan (Taiwan) ^[7]	208	0.654	0.346	0.000	-	NT	NT	-	NT	NT	-	NT	NT
Hakka (Taiwan) ^[7]	118	0.639	0.304	0.000	-	NT	NT	-	NT	NT	-	NT	NT
Japanese ^[8]	523	0.623	0.377	0.000	570	0.654	0.346	570	1.000	0.000	508	0.840	0.160
Thais ^[9]	300	0.47	0.53	0.005	300	0.493	0.507	300	0.973	0.027	300	0.790	0.210
Korean ^[10]	-	NT	NT	NT	-	NT	NT	110	0.986	0.014	110	0.959	0.041
German ^[11]	119	0.391	0.601	0.025	119	0.744	0.256	119	0.908	0.092	119	0.731	0.269
Turkish ^[11]	118	0.420	0.564	0.030	118	0.737	0.263	118	0.881	0.119	118	0.754	0.246
Danish ^[12]	200	0.365	0.635	0.030	-	NT	NT	-	NT	NT	-	NT	NT
Argentinean ^[13]	192	0.443	0.557	0.023	-	NT	NT	-	NT	NT	-	NT	NT
Berber ^[14]	101	0.342	0.658	NT	-	NT	NT	-	NT	NT	-	NT	NT
Australian ^[15]	-	NT	NT	NT	-	NT	NT	579	0.906	0.094	-	NT	NT

NT; not tested.



▲ $P < 0.05$, compared with Han population; △ $P < 0.05$, compared with Zhuang population.

图 2 不同人群中 HNA-1, 3~5 的等位基因频率

Fig 2 HNA-1, 3~5 alleles frequencies in various populations

表 4 汉族人群、壮族人群及其他人群 HNA-1, 3~5 基因频率相比较的 χ^2 值列表Tab 4 The statistical analysis by χ^2 -test for comparison of HNA-1, 3~5 genes frequencies in Han/Zhuang populations and other populations

Populations	Han population (This study) vs Zhuang population (This study) and other populations				Zhuang population (This study) vs other populations			
	HNA-1	HNA-3	HNA-4	HNA-5	HNA-1	HNA-3	HNA-4	HNA-5
	χ^2	χ^2	χ^2	χ	χ^2	χ^2	χ^2	χ^2
Zhuang population (This study)	6.627 7 ^b	5.723 6 ^b	6.455 8 ^b	3.713 7 ^a				
Minnan (Taiwan)	1.804 8 ^a	—	—	—	10.327 1 ^b	—	—	—
Hakka (Taiwan)	3.386 6 ^a	—	—	—	11.668 8 ^b	—	—	—
Japanese	11.325 2 ^b	2.992 2 ^a	8.009 8 ^b	1.620 1 ^a	27.325 5 ^b	14.0448 ^b	22.736 4 ^b	8.541 3 ^b
Thais	83.662 6 ^b	65.864 3 ^b	12.461 7 ^b	2.385 4 ^a	100.269 9 ^b	80.8259 ^b	0.715 7 ^a	0.078 9 ^a
Korean	—	—	1.158 5 ^a	27.085 3 ^b	—	—	0.307 8 ^b	35.560 7 ^b
German	75.842 5 ^b	3.086 0 ^a	73.366 4 ^b	10.164 1 ^b	94.457 4 ^b	0.0201 ^a	24.277 6 ^b	2.714 0 ^a
Turkish	59.571 7 ^b	2.352 8 ^a	105.703 6 ^b	5.626 3 ^b	77.802 8 ^b	0.0048 ^a	38.882 8 ^b	0.868 1 ^a
Danish	135.422 0 ^b	—	—	—	149.984 7 ^b	—	—	—
Argentinean	77.321 6 ^b	—	—	—	95.426 1 ^b	—	—	—
Berber	91.741 0 ^b	—	—	—	110.535 9 ^b	—	—	—
Australian	—	—	101.049 4 ^b	—	—	—	36.797 9 ^b	—

a) $P > 0.05$, there was no statistically significant difference in the distribution of that HNA gene frequency between two comparative populations; b) $P < 0.05$, there was statistically significant difference in the distribution of that HNA gene frequency between two comparative populations.

3 讨论

HNA 的基因多态性分布具有种族和地区特异性, 本研究中采用 PCR-SSP 方法对汉族和壮族人群 HNA-1~5 展开基因多态性分布的研究, 发现汉族和壮族人群中, HNA-1a、-3a、-4a、-5a 及 HNA-2 的 42C 是最常见的等位基因, 在这 2 个人群中均未发现 HNA-1c 基因的个体, 亦未发现 HNA-4b/4b 纯合子基因型个体(表 1, 表 2)。

在 HNA-1 中, 本研究壮族人群是目前文献报道^[7-9, 11-14]中 HNA-1a 等位基因频率最高的人群(HNA-1a=0.745 4), 其次是汉族人群(HNA-1a=0.689 3), 与欧洲^[11-12]、南美洲^[13]、非洲^[14]等以 HNA-1b 为高频等位基因的地区人群有着明显的差异($P < 0.05$)。HNA-1c 基因在各人群中均较罕见, 其在欧洲地区^[11-12]及南美洲地区人群^[13]中分布频率较高为 0.023~0.030, 抗-HNA-1c 抗体引发的免疫粒细胞减少症的案例报道^[16]多见于欧洲地区人群, 而在亚洲人群^[7-9]中 HNA-1c 基因频率仅为 0.000~0.005, 在本研究的汉族和壮族人群中均未发现有 HNA-1c 等位基因个体。从本研究结果可推测, 抗-HNA-1c 抗体引起的免疫性粒细胞减少症的发生率在壮族和汉族人群中极为微小(表 3、表 4)。

HNA-2 的表型分为表达阳性和阴性 2 种^[5], 在 HNA-2 阳性表型的个体中, 并不是所有的粒细胞上均有 HNA-2 表达, 而是仅表达于某一粒细胞亚类上, 这是 HNA-2 具有的独特特征。抗-HNA-2 抗体与其他 HNA 抗体不同, 其属于同种型抗体(isoantibody), 而抗-HNA-1、-3~5 等抗体属于同种异型抗体(alloantibody)^[2]。抗-HNA-2 抗体除可引起 NAIN、AIN 及 TRALI 等疾病外, 还与药物诱导的免疫性粒细胞减少症、骨髓移植后移植物排斥等相关^[6]。Lorraine 等^[17]的研究发现, 位于 1 号外显子的 42C>G 是 HNA-2 最常见的单核苷酸多态性(SNP), 其可导致位于蛋白前导序列的氨基酸改变, 而影响细胞膜表面 HNA-2 的表达量, 42C 个体其蛋白表达量可能高于 42G 的个体。本研究通过检测 42 位置的 SNP 位点, 发现 42C 在汉族和壮族人群中的主要等位基因, 其频率为 0.697 1~0.724 1, 汉族和壮族中该基因频率的多态性分布无统计学差异($\chi^2=1.531 9, P > 0.05$)(表 2)。

HNA-3a 可表达于粒细胞、单核细胞、血管内皮细胞、血小板等, 抗-HNA-3a 常可引发严重甚至致死的 TRALI, 在西方国家是主要的输血相关并发症^[18-19]。HNA-3 各等位基因在汉族和壮族人群的基因频率为: 汉族 3a 0.687 0 和 3b 0.313 0, 壮族 3a 0.739 3 和

3b 0.260 7。汉族 *HNA-3b* 基因频率高于壮族人群,但本研究的 2 个人群与德国人群^[11]、土耳其人群^[11]在 *HNA-3* 各等位基因频率 ($P>0.05$, 表 3,4) 及各基因型频率 ($\chi^2=0.031\ 2\sim 2.966\ 9$, $P>0.05$) 的分布上均无差别。由此,抗-*HNA-3* 抗体可能也是壮族和汉族人群中引起 TRALI 的主要抗体,我们应引起重视和关注。

HNA-4b 是汉族和壮族人群的罕见基因,其在汉族和壮族人群的基因频率分别为 0.007 0 和 0.019 8,均未发现 *HNA-4b/4b* 纯合子个体。汉族和壮族人群 *HNA-4b* 等位基因频率明显低于德国人群^[11]、土耳其人群^[11]及澳大利亚人群^[15] ($P<0.05$) (表 3,4)。*HNA-5b* 等位基因频率在汉族和壮族人群分别为 0.180 1 和 0.216 5,在这 2 个人群中均有 *HNA-5bb* 纯合子基因型个体 (*5bb* 基因型频率为 0.026 3~0.051 8)。汉族和壮族人群 *HNA-5b* 等位基因频率均明显高于韩国人群^[10] ($5b=0.041$) ($P<0.05$); 汉族人群 *HNA-5b* 基因频率低于欧洲地区人群^[11] ($5b=0.246\sim 0.269$) ($P<0.05$),壮族人群与欧洲地区人群^[11]无差异 ($P>0.05$) (表 3,4)。

综上所述,在本研究的汉族和壮族人群中,与其它地区人群相比较,*HNA* 基因频率分布均有着各自的独特特征。本研究数据将有助于预测 *HNA* 相关同种免疫在汉族和壮族人群发生的风险,尤其是由于输注 *HNA* 不相合的血液或胎-母 *HNA* 不相合而免疫产生抗-*HNA* 抗体而介导免疫粒细胞减少症的风险,以及预防和诊断 TRALI 等的输血相关并发症问题。

【参考文献】

- [1] Lalezari P, Nussbaum M, Gelman S, et al. Neonatal neutropenia due to maternal isoimmunization [J]. Blood, 1960, 15: 236-243.
- [2] Bux J. Human neutrophil alloantigens [J]. Vox Sang, 2008, 94(4): 277-285.
- [3] Reil A, Sachs UJ, Siahianidou T, et al. *HNA-1d*: a new human neutrophil antigen located on Fc γ receptor IIIb associated with neonatal immune neutropenia [J]. Transfusion, 2013, 53(10): 2145-2151.
- [4] Bux J. Nomenclature of granulocyte alloantigens. ISBT Working Party on Platelet and Granulocyte Serology, Granulocyte Antigen Working Party. International Society of Blood Transfusion [J]. Transfusion, 1999, 39(6): 662-663.
- [5] Kissel K, Scheffler S, Kerowgan M, et al. Molecular basis of NB1 (*HNA-2a*, CD177) deficiency [J]. Blood, 2002, 99(11): 4231-4233.
- [6] Moritz E, Norcia AM, Cardone JD, et al. Human neutrophil alloantigen systems [J]. An Acad Bras Scienc, 2009, 81(3): 559-569.
- [7] Chu CC, Lee HL, Chu TW, et al. The use of genotyping to predict the phenotypes of human platelet antigens 1 through 5 and of neutrophil antigens in Taiwan [J]. Transfusion, 2001, 41(12): 1553-1558.
- [8] Matsuhashi M, Tsuno NH, Kawabata M, et al. The frequencies of human neutrophil alloantigens among the Japanese population [J]. Tissue Antigens, 2012, 80(4): 336-340.
- [9] Changsri K, Tobunluepop P, Songthammawat D, et al. Human neutrophil alloantigen genotype frequencies in Thai blood donors [J]. Blood Transfus, 2014, Suppl 1: s286-291.
- [10] Han TH, Han KS. Gene frequencies of human neutrophil antigens 4a and 5a in the Korean population [J]. Korean J Lab Med, 2006, 26(2): 114-118.
- [11] Hauck B, Philipp A, Eckstein R, et al. Human neutrophil alloantigen genotype frequencies among blood donors with Turkish and German descent [J]. Tissue Antigens, 2011, 78(6): 416-420.
- [12] Steffensen R, Gülen T, Varming K, et al. Fc γ RIIIB polymorphism: evidence that NA1/NA2 and SH are located in two closely linked loci and that the SH allele is linked to the NA1 allele in the Danish population [J]. Transfusion, 1999, 39(6): 593-598.
- [13] de La Vega Elena CD, Nogués N, Fernández Montoya A, et al. *HNA-1a*, *HNA-1b* and *HNA-1c* gene frequencies in Argentineans [J]. Tissue Antigens, 2008, 71(5): 475-477.
- [14] Abid S, Zili M, Bouzid L, et al. Gene frequencies of human neutrophil antigens in the Tunisian blood donors and Berbers [J]. Tissue Antigens, 2001, 58(2): 90-92.
- [15] Clague HD, Fung YL, Minchinton RM. Human neutrophil antigen-4a gene frequencies in an Australian population determined by a new polymerase chain reaction method using sequence-specific primers [J]. Transfus Med, 2003, 13(3): 149-152.
- [16] Curtis BR, Reno C, Aster RH. Neonatal alloimmune neutropenia attributed to maternal immunoglobulin G antibodies against the neutrophil alloantigen *HNA-1c* (SH): a report of five cases [J]. Transfusion, 2005, 45(8): 1308-1313.
- [17] Caruccio L, Walkovich K, Bettinotti M, et al. CD177 polymorphisms: correlation between high-frequency single nucleotide polymorphisms and neutrophil surface protein expression [J]. Transfusion, 2004, 44(1): 77-82.
- [18] Davoren A, Curtis BR, Shulman IA, et al. TRALI due to granulocyte-agglutinating human neutrophil antigen-3a (5b) alloantibodies in donor plasma: a report of 2 fatalities [J]. Transfusion, 2003, 43(5): 641-645.
- [19] Reil A, Keller Stanislawski B, Günay S, et al. Specificities of leucocyte alloantibodies in transfusion-related acute lung injury and results of leucocyte antibody screening of blood donors [J]. Vox Sang, 2008, 95(4): 313-317.

(收稿日期:2014-07-24;修回日期:2014-09-17)

(编辑 侯 瑞)