

哈尔滨市儿童 I 型糖尿病与 HLA-DRB1 等位基因的关联研究

张慧颖 王滨有 赵雪妮 孙俭宏 梁子君 张冬梅 杨泽 孙逸平 沈晶晶

【摘要】 目的 哈尔滨市儿童 I 型糖尿病与人类白细胞抗原 DR 位点(HLA-DRB1)等位基因的关联关系。方法 选取 47 例 0~14 岁发病的患者和 94 名非 I 型糖尿病健康儿童对照,运用 PCR-SSP 技术测定 HLA-DRB1 等位基因型别。结果 在 DR 位点上,病例组的 DRB1 * 0301 频率和 DR3/4 杂合子频率显著高于非 I 型糖尿病对照组,而 DR2 的频率显著低于对照组;DR4 亚型中的 DRB1 * 0405 频率为病例组高于对照组,DRB1 * 0406 频率低于对照组,DRB1 * 0901 频率在两组之间差异无显著性。结论 DR 位点的 DRB1 * 0301 等位基因为哈尔滨市儿童 I 型糖尿病的强易感基因,而 DR2 为保护性基因。DR3/4 杂合子为易感性杂合子。证实了 DR4 亚型具有双重作用。未证实 DRB1 * 0901 有强易感性,因此,其在中国人 I 型糖尿病患者的易感性作用还有待于进一步探索。

【关键词】 糖尿病,儿童 I 型(IDDM);人类白细胞抗原-DR 等位基因;IDDM 易感/保护基因

The susceptible alleles on HLA-DRB1 of type I diabetes in children in Harbin ZHANG Huiying*, WANG Binyou, ZHAO Xueni, et al. *Department of Epidemiology, Harbin Medical University, Harbin 150001, China

【Abstract】 Objective To evaluate association between type I diabetes in children and HLA-DRB1 alleles in Harbin. **Methods** Case-control method was employed, and the PCR-SSP technique was used to identify HLA-DRB1 alleles. **Results** The frequencies of DRB1 * 0301 and DR3/4 heterozygosity were significantly higher but the frequency of DR2 was significantly lower in cases than that in controls. In DR4 subtypes, the frequency of DRB1 * 0405 was higher and the frequency of DRB1 * 0406 was lower in cases than that in the controls. The difference between cases and controls in DRB1 * 0901 was not significant. **Conclusion** DRB1 * 0301 allele and DR3/4 heterozygosity were the important susceptibility and heterozygosity genes while DR2 was the most important protective gene in Harbin. The DR4 possessed double-tendency. DRB1 * 0405 conferred susceptibility and DRB1 * 0406 conferred little protection. The susceptibility conferred by DRB1 * 0901 was not certain in type I diabetes in childhood in China. This study provided useful genetic data on the study of etiology of type I diabetes mellitus.

【Key words】 Type I diabetes mellitus (IDDM); HLA-DR; IDDM susceptibility / protection genes

儿童 I 型糖尿病是一种十分复杂的遗传易感性多基因遗传病。全基因组筛选研究^[1]表明,许多基因对该病的遗传易感性都有作用,但是人类白细胞抗原(HLA)II 类等位基因是最为重要的遗传因子。本研究采用 WHO DiaMond 计划的标准^[2]判定儿童 I 型糖尿病,运用流行病学的研究方法和分子生物学的序列特异性引物聚合酶链反应(PCR-SSP),分析了病例和非 I 型糖尿病对照的 HLA II 类

分子-DRB1 等位基因的分布,对儿童 I 型糖尿病与它的易感性或保护性相关程度进行评价,同时对国内研究中所提出的 DRB1 * 0901 作用的疑问有所回答,希望能提示我国儿童 I 型糖尿病病因的遗传学特色。

对象与方法

1. 研究对象 随机选取确诊年龄在 15 岁以下的哈尔滨市 I 型糖尿病病例 47 例(男 23 例,女 24 例)。按 1:2 方法同时选取 94 例非 I 型糖尿病儿童为对照[要求与病例居住在同一地区、年龄(± 2 岁)同性别、同民族的非糖尿病的健康居民],征得本人及家长的同意后,列为本研究对象。

作者单位:150001 哈尔滨医科大学流行病学教研室(张慧颖、王滨有);黑龙江省医院儿科(赵雪妮);哈尔滨医科大学第二附属医院(孙俭宏);哈尔滨医科大学第一附属医院(梁子君);哈尔滨市儿童医院儿科(张冬梅);卫生部北京老年医学研究所遗传室(杨泽、孙逸平、沈晶晶)

2. 研究方法 :用颊刷采集病例和对照的颊粘膜细胞,使用美国 Gentra 公司生产的系列 DNA 提取液进行颊粘膜细胞 DNA 的提取。然后采用 PCR-SSP 方法对研究对象常见的几个 HLA-DRB1 等位基因进行检测。引物序列由中国科学院微生物所合成。

3. 统计分析 :利用 SPSS 统计软件包,对所得数据进行统计分析。用相对危险度(RR)表示疾病与遗传标志之间的统计学上的关联强度。计算 χ^2 值,判定相对危险度的显著性。当相对危险度确定后,再计算病因分值($EF\%$) (当 $RR > 1$ 时)和预防分值(也称保护分值, $PF\%$) (当 $RR < 1$ 时)。

结 果

本研究采用 PCR-SSP 技术对中国人中可能存在的易感性或保护性 HLA-DRB1 等位基因进行了分型测定,并列出一一些有关 DRB1 等位基因的结果。

一、HLA-DRB1 等位基因在病例组和非 I 型糖尿病对照组中的分布

从表 1 可以看出,DRB1 * 0301、DRB1 * 04、DRB1 * 0405、DRB1 * 0901 在病例组中的频率显著高于非 I 型糖尿病儿童对照组($RR = 3.87, P < 0.005$),但校正后只有 DRB1 * 0301 具有显著性。DRB1 * 02 在病例组中的出现率极低,显著低于对照组($RR = 0.13, P < 0.001$),说明该等位基因对儿童 I 型糖尿病具有保护性。

在 DR4 阳性的样本中,又测定了 DR4 的两种常见的亚型 DRB1 * 0405 和 DRB1 * 0406。发现 DRB1 * 0405 占了病例组 DR4 的绝大部分(72.2%),其相对危险度也超过了 DRB1 * 04(3.61 vs 2.57)。在病例组未发现 DRB1 * 0406,但它在对照组中的频率为 5.3%。

在 47 个病例中有 I 型糖尿病家族史的儿童有 2

例,且均携带有 DRB1 * 0901 等位基因,值得注意。

二、与儿童 I 型糖尿病相关的 DRB1 杂合子

从表 2 中可以看出病例组中的 DR3/4 杂合子显著高于非 I 型糖尿病儿童对照组,而 DR3/9 和 DR4/9 虽也有一定程度的升高,但差异无显著性。

三、等位基因的病因分值或预防分值分析

为进一步明确表示相关的等位基因对疾病的作用,即每一个遗传标志所贡献的危险性百分比,计算了等位基因的病因分值(EF)或预防分值(PF)。由表 3 可见,等位基因的相对危险度大小并不与病因分值或保护分值完全一致。相对危险度说明了携带此种等位基因的得病的可能性是未携带者的多少倍,而病因分值或保护分值是指该等位基因对致病的贡献性大小,它所引起的发病占全部发病的比重,也就是说消除该暴露后产生预防该病的效果占多大比重。其中 DRB1 * 0301 的病因分值最高,为 28.9%,说明在暴露病例中,有 28.9% 的病例是由于携带有等位基因 DRB1 * 0301 而造成的;而相对危险度较低的 DRB1 * 0901 的病因分值也达到了 28.4%。可见要想阐明真正的病因则必须将等位基因的相对危险度和病因分值两者结合起来分析。

讨 论

儿童 I 型糖尿病与 HLA 关联的易感性在不同种族中是有一定差别的。研究表明,其中的 DR 位点的等位基因与该疾病的关联存在着人种上的差异,在白人中是 DR3、DR4^[3],而在日本人中是 DR4、DR9^[4]。

本研究发现了哈尔滨地区的儿童 I 型糖尿病 DRB1 * 0301 是 DR 位点的最强的易感基因($RR = 3.87$,校正 $P < 0.05$)。这一结果与大多数有关中国人的报道^[5,6]相一致。而且证实杂合子 DR3/4 为易感性杂合子。

表1 DRB1 位点等位基因在病例组和非 I 型糖尿病对照组中的频率分布

等位基因	病例组		对照组		RR 值	P 值	校正 P 值
	等位基因数	频率(%)	等位基因数	频率(%)			
DRB1 * 0301	17	36.2	12	12.8	3.87	<0.005	<0.05
DRB1 * 04xx	17	36.2	17	18.1	2.57	<0.05	NS
DRB1 * 0405	13	27.7	9	9.6	3.61	<0.05	NS
DRB1 * 0406	0	-	5	5.3	0.32	NS	NS
DRB1 * 02	3	6.4	32	34.0	0.13	<0.001	<0.05
DRB1 * 0901	23	48.9	27	28.7	2.38	<0.05	NS
DRB1 * 0701	7	14.9	20	21.3	0.65	NS	NS

注:NS 无统计学意义

表2 DRB1 杂合子在病例组和非 I 型糖尿病儿童对照组中的分布

DRB1 杂合子	病例组		对照组		RR 值	P 值
	例数	构成(%)	例数	构成(%)		
DR3/4	5	10.6	1	1.1	11.07	<0.05
DR3/9	4	8.5	3	3.2	2.82	NS
DR4/9	8	17.0	5	5.3	3.65	≈0.05

表3 等位基因的相对危险度及其病因分值或预防分值

等位基因	RR 值	对照组频率 P 值	病因分值 EF(%) 或 预防分值 PF(%)
DRB1 * 0301	3.87	0.128	28.9
DRB1 * 0405	3.61	0.096	20.0
DRB1 * 04xx	2.57	0.181	22.1
DRB1 * 0901	2.38	0.287	28.4
DRB1 * 02	0.13	0.340	29.6

根据最近的文献报道, DR4 亚型的作用具有双重性。本研究选择性地做了 DRB1 * 0405 和 DRB1 * 0406, 结果发现 DRB1 * 0405 有易感性倾向 ($RR = 3.61, P < 0.05$, 校正 P 无统计学意义), DRB1 * 0406 虽然差异未见显著性, 但病例组中的频率低于对照组。此结果基本符合台湾学者提出的有关中国人的规律^[6], 即 DRB1 * 0405 是重要的易感性基因, 而 DRB1 * 0406 是 DR4 亚型中重要的保护性基因。在中国大陆样本中, 我们证实 DR4 亚型存在双重性。由于中国人携带的 DR4 等位基因中以亚型 DRB1 * 0405 居多(本研究中占 DR4 亚型的 72.2%), 因此, 可以肯定在本研究人群中, DR4 所具有的易感性倾向主要是来源于 DRB1 * 0405。这一结果和国外报道一致^[7]。

DRB1 * 0901 等位基因, 在白种人中很少见到, 而在中国人中的携带频率却较高。但关于它在中国儿童 I 型糖尿病中的易感性作用, 却存在着众多疑问^[8,9]。本次研究显示 DRB1 * 0901 在病例组中的频率较非 I 型糖尿病儿童对照组有一定的上升, 但

无显著性(48.9 vs 28.7, $RR = 2.38, P < 0.05$), 由此可以说 DRB1 * 0901 在本研究人群中不是主要的易感性基因。这一结果与有关华南地区汉族人的研究结果^[9]一致。但是有关它在单倍型中的作用还有待进一步的分析。

参 考 文 献

- Davies JL, Kawaguchi Y, Bennett ST, et al. A genome-wide search for human type I diabetes susceptibility genes. *Nature*, 1994, 371: 130-136.
- Dorman JS, Kocova M, O'Leary LA, et al. Case-control molecular epidemiology studies: Standards for the WHO DiaMond Project. In: Standardization of Epidemiologic Studies of Host Susceptibility, J. Dorman, ed. Plenum Press, New York, 1994. 89-99.
- Bertrams J, Baur M. Insulin-dependent diabetes mellitus. In: Albert AD, Baur MP, Mayr WR, eds. Histocompatibility testing. Heidelberg, Germany: Springer-Verlag, 1984. 348-368.
- Awata T, Kuzuya T, Matsuda A, et al. Genetic analysis of HLA class II alleles and susceptibility to type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus in Japanese subjects. *Diabetologia*, 1992, 35: 419-424.
- Penny MA, Jenkins D, Mijovic CH, et al. Susceptibility to IDDM in a Chinese population. Role of HLA class II alleles. *Diabetes*, 1992, 41: 914-919.
- Huang HS, Penny JT, She JY, et al. HLA-encoded susceptibility to insulin-dependent diabetes mellitus is determined by DR and DQ genes as well as their linkage disequilibria in a Chinese population. *Hum Immunol*, 1995, 44: 210-219.
- Undlien DE, Bennett ST, Todd JA, et al. HLA-encoded genetic predisposition in IDDM DR4 subtypes may be associated with different degrees of protection. *Diabetes*, 1997, 46: 143-149.
- 宋长兴, 邱长春, 朱席琳, 等. I 型糖尿病 HLA-DRB1 等位基因分析. *中国医学科学院学报*, 1995, 17: 321-325.
- 徐春生, 程桦, 陈浩星, 等. 华南地区汉族胰岛素依赖型糖尿病易感性与 HLA-DR9 相关性的初步探讨. *中国糖尿病杂志*, 1998, 6: 134-137.

(收稿日期: 1999-10-21)