

- 社, 2006: 1251-1288.
- 2 庄心良, 曾因明, 主编. 现代麻醉学[M]. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1867-1902.
- 3 薛庆生, 陈蓓蕾, 武晓文, 等. 熵指数和 Narcotrend 用于靶控输注异丙酚麻醉深度的比较[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2006, 27(1): 25-28.
- 4 李群, 关雷, 王军. 艾司洛尔对气管插管期间脑电双频指数的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2005, 21(2): 103-106.
- 5 贾宝森, 张宏, 米卫东, 等. 静脉复合麻醉下丙泊酚脑区作用分布和记忆变化的脑电非线性分析研究[J]. 解放军医学杂志, 2005, 30(1): 33-36.
- 6 岳云. 吸入麻醉下内隐记忆与脑电双频谱指数的关系[J]. 中华麻醉学杂志, 2000, 20(3): 344-346.
- 7 Vernon JM, Lang E, Sebel PS, et al. Prediction of movement using bispectral electroencephalographic analysis during propofol/alfentanil or isoflurane/alfentanil anesthesia[J]. Anesth Analg, 1995, 80(4): 780-785.
- 8 Vakkuri A, Yli-Hankala A, Talja P, et al. Time-frequency balance spectral entropy as a measure of anesthetic drug effect in central nervous system during sevoflurane, propofol, and thiopental anesthesia [J]. Acta Anaesthesiol Scand. 2004, 48(2): 145-153.
- 9 余守章, 岳云, 主编. 临床监测学[M]. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 545-546.
- 10 陶国荣, 宋小星, 任瑜, 等. 维库溴铵对全麻患者脑电熵指数和脑电双频指数监测镇静深度的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2007, 27(3): 240-243.
- 11 Berridge CW, Foote SL. Enhancement of behavioral and electroencephalographic indices of waking following stimulation of noradrenergic β -receptors within the medial septal region of the basal forebrain[J]. J Neurosci, 1996, 16(21): 6999-7009.
- 12 Paloheimo M. Quantitative surface electromyography (qEMG): applications in anaesthesiology and critical care[J]. Acta Anaesthesiol Scand Suppl, 1990, 93: 1-5.
- 13 Schultz A, Grouven U, Zander I, et al. Age-related effects in the EEG during propofol anaesthesia[J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2004, 48(1): 27-34.
- 14 詹鸿, 陶红斌, 张秀燕, 等. 熵指数在麻醉深度监测中的应用[J]. 广东医学, 2005, 26(6): 744-745.
- [收稿日期 2008-12-25][本文编辑 韦挥德 黄晓红]

论 著

广西壮族不同程度慢乙肝与 HLA-DQA1 基因相关性研究

陈智平, 韦康来, 李若林, 李山

基金项目: 广西科技厅基金课题(桂科攻 0238022)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学公共卫生学院(陈智平); 广西医科大学第一附属医院, 广西医科大学病理教研室(韦康来); 广西医科大学第一附属医院临床医学实验部, 广西医科大学检验系(李若林, 李山)。

作者简介: 陈智平(1960-), 男, 硕士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 流行病学和卫生统计学研究, E-mail: qinxue919@163.com

通讯作者: 李山, 男, 博士, 教授, 检验科主任, 硕士研究生导师, 研究方向: 细胞免疫学研究, E-mail: lish8858@163.com.

[摘要] 目的 探讨广西壮族不同程度慢性乙型肝炎(慢乙肝)的 HLA-DQA1 等位基因的相关性。方法 采用序列特异性引物-聚合酶链式反应(ssp-PCR)法检测壮族轻、中、重度各 30 例慢乙肝患者 HLA-DQA1 等位点并进行基因分析研究。结果 轻度、中度组 HLA-DQA1*0103 等位基因的频率较重度组明显升高; 重度组 HLA-DQA1*0301 等位基因的频率较慢乙肝轻度组明显降低。结论 携带 DQA1*0103 等位基因个体感染 HBV 以后更易发展为轻、中度肝炎, 而 DQA1*0301 可能为重度慢乙肝抗性基因。

[关键词] 乙型肝炎; 人类白细胞抗原; 等位基因; 壮族**[中图分类号]** R 512.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2009)03-0218-04

doi: 10.3969/j.issn.1674-3806.2009.03.002

Study on the association of the HLA-DQA1 alleles with the different chronic hepatitis B of the Zhuang nationality in Guangxi Zhuang Autonomous Region CHEN Zhi-ping, WEI Kang-lai, LI Ruo-lin, et al. School of

Public Health, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

[Abstract] Objective To explore the association of the HLA-DQA1 alleles with the different chronic hepatitis B of the Zhuang nationality in Guangxi. Methods In thirty patients with mild, moderate and severe chronic hepatitis B in Zhuang nationality in Guangxi the HLA-DQA1 alleles were identified by using the polymerase chain reaction-sequence specific primers (PCR-ssp) technique. Results The alleles gene frequencies of HLA-DQA1*0103 in the Zhuang patients with mild and moderate chronic hepatitis B was significantly higher than that in the patients with severe chronic hepatitis B; HLA-DQA1*0301 in the patients with severe chronic hepatitis B was lower than that in the patients with mild and moderate's chronic hepatitis B. Conclusion So DQA1*0301 may be protective alleles of severe chronic hepatitis B in Zhuang nationality.

[Key words] HBV; HLA; Allele; Zhuang nationality

人类白细胞抗原与乙型肝炎病毒感染免疫反应有着密切的关系。HLA-II 类分子基因在抗原提呈和免疫应答中发挥重要的作用,研究发现某些 HLA 基因型可能影响着 HBV 感染的慢性化和免疫的强弱有关。

1 材料和方法

1.1 研究对象 依照 2001 年修订的《病毒性肝炎防治方案》^[1]的标准诊断并分为轻度、中度及重度慢乙肝三组。每组 30 例共 90 例,其中男性 69 例,女性 21 例,年龄 15~53 岁,平均年龄 31 岁。所有实验标本均来自于广西医科大学第一附属医院传染科门诊及病房住院壮族病人。

1.2 实验材料和方法

1.2.1 DNA 提取试剂 试剂盒为 Genomic DNA Purification Kit (G&T Biotech, USA); DNA 模板制备参照试剂盒说明书的详细步骤进行。提取的 DNA 放入 -20℃ 保存,待用。

1.2.2 PCR 试剂 (1) 耐热 DNA 聚合酶,即 Taq DNA Polymerase dNTP, Mg²⁺; (2) 参考 Olerup 等^[2]合成 HLA-DQA1 序列特异性引物,内参照引物 C、D。

1.2.3 PCR 扩增 反应体系(μl) Taq 酶 0.25, dNTP0.2, Buffer 1.0, 引物各 1.5, C、D 内参各 1.0, DNA 样品 2.0 及 0.3Mg²⁺; 扩增反应条件为 95℃

预变性 → 5 min; 然后 94℃ → 30 s, 62℃ → 50 s, 72℃ → 30 s; 最后 37℃ → 延伸 → 5 min, 共 35 个循环。

1.2.4 结果观察 取 PCR 反应产物 5μl 进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 110 V 电压, 15 min, 溴化乙锭染色, 紫外线检测仪下观察结果。

1.2.5 统计学方法 等位基因频率 = a/(a + b), 显著性检验用 χ² 检验或四格表确切概率法(当 1 < T < 5 或 N ≤ 40 时), 率的两两比较用 Scheffe 法。

2 结果

轻度、中度和重度慢乙肝三组中 HLA-DQA1 等位基因的频率比较 见表 1。比较三组病例组之间 HLA-DQA1 的关系, 在轻度、重度慢乙肝组中 HLA-DQA1*0101 等位基因的频率较慢乙肝中度明显降低(P < 0.05); 在慢乙肝重度组中 HLA-DQA1*0102 等位基因的频率较慢乙肝轻度组明显升高(P < 0.05); 在慢乙肝轻度、重度组 HLA-DQA1*0201 等位基因的频率较慢乙肝中度组明显升高(P < 0.05); 在慢乙肝轻度、中度组中 HLA-DQA1*0103 等位基因的频率较慢乙肝重度组明显升高(P < 0.05); 在慢乙肝重度组中 HLA-DQA1*0301 等位基因的频率较慢乙肝轻度组明显降低(P < 0.05)。

表 1 不同程度慢乙肝组的 HLA-DQA1 等位基因频率(%)比较

组别		AI*0101	AI*0102	AI*0103	AI*0104	AI*0201	AI*0301	AI*0302	AI*0401	AI*0501	AI*0601
轻度组 (n=30)	频数	7	2	19	18	2	18	5	5	9	0
	频率	0.23	0.07	0.63	0.60	0.07	0.60	0.16	0.16	0.30	0.00
中度组 (n=30)	频数	20	7	22	17	0	12	2	2	6	2
	频率	0.67	0.23	0.73	0.57	0.00	0.40	0.07	0.07	0.20	0.07
重度组 (n=30)	频数	5	9	7	13	3	7	2	0	4	3
	频率	0.16	0.30	0.23	0.43	0.10	0.23	0.07	0.00	0.13	0.10
P	轻与中比	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
	轻与重比	>0.05	<0.05	<0.05	>0.05	>0.05	0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05
	中与重比	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

3 讨论

3.1 近年来的研究发现 HLA-DQA1 基因与较多的基因遗传性疾病有关。国内外学者研究证明: HLA-DQA1 的多态性随着人种、地域以及群体的不同而不同, 比如日本群体中 HLA-DQA1*0301 基因频率最高(51%), 其次是 DQA1*0103(21.4%); 高加索人最高是 DQA1*0301(23.7%), 其次是 DQA1*0501; 黑人是 DQA1*0102 基因频率最高。我国汉族人群中大多检出数 8 个等位基因位点, 高频率为 DQA1*0301, 低频率为 DQA1*0401, 这是汉族人群 HLA-DQA1 基因分布特点, 不同地区频率分布有所差异。国内外报道的不同民族、不同地区, 同一民族不同地区, 不同肤色的人种之间的分布可有较大的区别。本次实验结果显示: DQA1*0101 基因频率明显高于轻度和重度, 他们的比较差异有统计学意义, 提示携带有该等位基因慢乙肝者可能更容易发展为中度慢性肝炎; DQA1*0102 在轻度组中明显低于重度组, 可能说明携带有该等位基因慢乙肝者容易发展为重度慢乙肝; DQA1*0103 则是重度组明显低于轻度和中度组, 提示携带有该等位基因者不易发展为重度, 而可能比较容易发展为轻、中度, 且患轻、中度慢乙肝几率相等; DQA1*0301 基因频率轻度组明显高于重度组, 携带该基因慢乙肝患者可能不容易发展为重度。蒋业贵等^[3]发现 DQA1*0501 明显高于对照组, 而 DQA1*0301 等位基因频率明显低于对照组, 可能 DQA1*0501 为慢乙肝的易感基因, 而 DQA1*0301 可能为慢乙肝的抗性基因。这与本实验的结果既有相同之处, 也有不相同的地方。Thio^[4]等对 31 例 HBV 持续感染者与 60 例已清除 HBV 的对照者作分析发现: HBV 持续感染者与 DQA1*0501 和 DQB1*0301 有重要关联, 由上述两个等位基因组成的单体型以及 DQA1*0501、DQB1*0301 和 DQB1*1102 组成的单体型及 HBV 持续感染有关。同时, 有些 DQA1 等位基因可能受到不同 HLA-DQA1 启动子(DQP)等位基因的调控, 而启动子多态性可能影响细胞表面 DQA1 分子的表达量, 最近一些研究证实了 HLA-II 类基因的启动子多态性与多种疾病的易感性有关^[5,6]。由于 HLA 是一个非常复杂的基因系统, 其所编码的白细胞表面抗原在免疫识别、抗原递呈中起着极为重要的作用, 不但存在着较广泛的多态性, 其多态性影响着免疫应答和肽的递呈, 而且还存在连锁的不平衡性。DQA 链在 MHC 区并非是孤立存在, 而是与 DR、DQB 座位基因有着紧密的连锁,

国外学者研究表明在 Gambia 人群中 HLA II 类基因 DRB1*1302 可能是个保护基因, 对 HBV 感染具有抗性; 而在 Qatar 的人群中发现 HBV 的慢性持续性感染者中, HLA-DR2 基因频率比正常人显著减少, 而 HLA-DR7 基因频率却非常高^[7]。

3.2 HLA-DQA1 的多态性能够影响 HLA 分子、抗原、T 细胞受体之间相互作用, 从而控制外来抗原的免疫应答。不同个体对 HBV 易感性的差异与个体的免疫系统有关, 而个人的免疫系统主要取决于人类主要组织相容性复合体。宿主在感染 HBV 后不同的临床发展过程中, 除了与病毒本身的因素有关之外, 更重要是由于不同个体对 HBV 所发生的免疫反应不同。其发病机制可能有以下几种^[8~12]:

(1) 分子模拟假说: HLA 抗原本身与某些病原物质相似(共同抗原), 机体保护了病原体或发生了交叉反应损害了机体自身的组织, 这可能是自身免疫性疾病的发病机制; (2) 受体学说: 细胞表面某种型别的 HLA 分子可能是某种微生物的受体, 因此导致易感性增高; (3) 连锁不平衡性: HLA 基因与某些疾病基因处于连锁不平衡状态而使得某些疾病易感性增强; (4) 补体基因缺陷或扩展单倍型连锁不平衡可导致某种疾病易感; (5) 非免疫竞争机制: HLA 与某些激素的细胞膜受体有相同的结合部位, 可与激素结合, 产生较强的竞争性抑制; (6) HLA-I 类、II 类抗原失衡学说: HLA-I 类和 HLA-II 类抗原群体之间存在一个互相抑制的平衡, 某些疾病病原体可能成为攻击这种平衡的慢性刺激, 导致 I 类抗原模拟物质增多, 而 II 类水平降低, 或 I 类抗原模拟物质减少, 而 II 类水平增多而引起自身免疫性疾病。HLA 疾病相关性可能是多种机制共同作用的结果, HLA 是 MHC 的基因产物, 是首次发现的与疾病有明确关系的遗传系统。HLA 复合体作为调节机体免疫应答的重要基因群, 与抗 HBV 免疫反应有着密切的关系, 某些特殊的 HLA 基因型可能影响着 HBV 感染的慢性化和免疫反应的强弱。一般认为, HLA 可能与抗原递呈细胞的功能有关, 也有报道认为可能与 T 淋巴细胞的组成和组合有关系。当然, 机体的抗病毒机制极其复杂, 除了 HLA II 类分子之外, 还有许多影响因素影响着乙肝发展与转归。总之, HLA II 类分子影响 HBV 感染转归的机制尚未明了, 宿主在 HBV 感染后对于 HLA 对慢乙肝的遗传机制是怎样形成的还有待于进一步深入研究。因此, 本研究提示的 HLA-II 类基因与广西地区壮族慢乙肝患者有密切关系, 只是对研究广西籍壮族慢

乙肝患者与 HLA - II 类基因提供一些初步线索。近年来,有关 HLA 与疾病相关性的研究得到了突飞猛进的发展。虽然针对慢乙肝遗传易感性的研究报道有一致的,也有相互矛盾的,但结论性的实验结果尚有待进一步证实。有关慢乙肝遗传易感性的研究无疑会为乙型肝炎的发病机制的研究提供线索,对患者的预后提供依据,为开辟新的基因治疗途径,解决乙肝慢性化及进展的一些基本问题提供理论基础。随着科学技术的发展和人类对 HLA 系统的不断的研究,人们对 HLA 的认识会不断深入和透彻,将会更清楚的揭示 HLA 与 HBV 感染之间的关系。

参考文献

- 1 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会(联合修订). 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病杂志, 2001, 19(1): 56-62.
- 2 Olerup O, Aldener A, Fogdell A, et al. HLA - DQA1 and HLA DQB 1 typing by PCR amplification with sequence - specific primers(PCR - ssp) in 2 hours[J]. Tissue Antigens, 1993, 41(3): 119-134.
- 3 Ye-Gui Jiang, Yu-Ming Wang, Tong-Hua liu, et al. Association between HLA class II gene and susceptibility or resistance to chronic hepatitis B[J]. World Gastroenterol, 2003, 9(10): 2221-2225.
- 4 Thio CL, Carrington M, Marti D, et al. Class II HLA alleles and hepatitis B virus persistence in African Americans [J]. Infect Dis, 1999, 179(4): 1004-1006.
- 5 高金明, 林耀广, 邱长春, 等. 中国汉族人群人类白细胞抗原 - DQA1、DQB1 基因多态性与支气管哮喘遗传易感性的关系[J]. 中华医学杂志, 2002, 82: 379-383.
- 6 王红鸾, 况九龙, 邹叶清, 等. HLA - DQA1 基因多态性与支气管哮喘及慢性支气管炎易感性的比较研究[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2004, 3(2): 83-85.
- 7 Thursz MR, Kwiatkowski D, Allsopp CEM, et al. Association between an MHC class allele and clearance of hepatitis B virus[J]. N Engl J Med, 1995, 332(16): 1065-1195.
- 8 Baum H, Davies H, Peakman M. Molecular mimicry in the MHC: hidden clues to autoimmunity [J]. Immunol Today, 1996, 17(2): 64-70.
- 9 Mcadam S, Klenerman P, Tussey L, et al. Immunogenic HIV variant peptide that bind to HLA - B8 can fail to stimulate cytotoxic T lymphocyte responses[J]. J Immunol, 1995, 155(5): 2729-2736.
- 10 Westby M, Manca F, Dalyleish AG. The role of host immune response in determining the outcome of HIV infection [J]. Immunol Today, 1996, 17(3): 120-126.
- 11 Susal C, Daniel V, Opelz G. Dose AIDS emerge from a disequilibrium between two complementary groups of molecules that mimic MHC [J]. Immunol Today, 1996, 17(3): 114-119.
- 12 蒋业贵, 王宇明. HLA 复合体与乙型肝炎的关系[J]. 世界华人消化杂志, 2000, 10(8): 1150-1153.

[收稿日期 2009-02-19][本文编辑 谭毅 刘京虹]

论 著

Exosomes 致敏的树突状细胞在中晚期大肠癌的临床应用研究

黄世锋, 刘斌, 戴盛明, 韦晓谋

基金项目: 广西壮族自治区卫生厅计划项目(课题编号: Z2007271)

作者单位: 545005 柳州, 广西医科大学第四附属医院普外科

作者简介: 黄世锋(1963-), 男, 硕士研究生, 副主任医师, 科副主任, 研究方向: 胃肠道肿瘤。E-mail: hsfwork2007@163.com。

[摘要] 目的 评估 Exosomes 致敏的树突状细胞对中晚期大肠癌的临床疗效。方法 105 例中晚期大肠癌患者随机分为免疫联合化疗组($n=65$)和单纯化疗组($n=50$), 观察两组患者的外周血 T 淋巴细胞亚群含量、有效率、1 年生存率、中位生存时间及毒副反应。结果 治疗前两组 T 淋巴细胞亚群含量比较无显著性差异, 免疫联合化疗组治疗后与治疗前比较, $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 及 $CD8^+$ 明显增高($P<0.05$), 且优于单纯化疗组($P<0.05$); 联合治疗组与单纯化疗组有效率分别为 56.9% 和 38.0% ($P<0.05$), 1 年生存率分别为 66.7% 和 52.1% ($P<0.05$), 中位生存时间分别为 15.6 个月和 12.3 个月 ($P<0.05$), 两组毒副反应无统计学意义($P>0.05$)。结论 Exosomes 致敏的树突状细胞回输联合化疗对中晚期大肠癌有较好的疗效, 可提高免疫功能, 延长生存期。

[关键词] 树突状细胞; 大肠癌; 化疗