

# 广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者 HLA 基因多态性研究

高卓维<sup>1,2</sup>, 罗敏<sup>3</sup>, 曾少容<sup>2</sup>, 乔冠英<sup>2</sup>, 赵淑芬<sup>2</sup> 指导: 周迎春<sup>3</sup>

1. 南方医科大学 2011 级博士研究生, 广东 广州 510515
2. 广州中医药大学附属顺德中医院, 广东 佛山 528333
3. 南方医科大学南方医院, 广东 广州 510515

**[摘要]** 目的: 调查广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者的 HLA (人类白细胞抗原) 易感性。方法: 应用聚合酶链反应 / 序列特异性引物 (PCR-SSP) 方法对 34 例广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者及正常对照组 30 例进行 HLA-A、HLA-B 及 DRB1 基因分型。结果: 广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者的 HLA-A\*02、HLA-B\*15、HLA-DRB1\*03 基因位点的频率高于正常对照组。结论: HLA-A\*02、HLA-B\*15、HLA-DRB1\*03 可能是广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者的易感性基因。

**[关键词]** 鼻咽癌; 广东籍; 汉族; 气虚质; 人类白细胞抗原 (HLA)

**[中图分类号]** R739.63 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2014) 01-0130-02

鼻咽癌是我国常见恶性肿瘤之一, 在广东地区尤为高发。中医药学源远流长, 其精髓是辨证论治, 在鼻咽癌防治方面有其独特优势。研究表明, 鼻咽癌的证型与体质密切相关<sup>[1]</sup>。本课题组通过研究特定体质 (气虚质) 鼻咽癌患者的 HLA (人类白细胞抗原) 基因多态性, 试图阐明鼻咽癌患者特定体质形成的分子生物学机制, 为中医学辨证论治提供遗传学依据。

## 1 研究对象

观察对象选取 2011 年 9 月~2012 年 3 月在广州中医药大学附属顺德中医院耳鼻咽喉科、肿瘤科经病理检查确诊的未治鼻咽癌患者, 共 64 例。由 2 名副主任医师根据中医学体质类型标准<sup>[2]</sup>, 选取符合气虚质 (气虚质: 易感冒, 疲乏, 易汗出, 头晕, 舌淡, 脉弱) 的患者共 38 例。然后再排除合并有全身其他主要脏器重大疾病的患者 2 例、非广东籍患者 2 例, 共 34 例广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者进入观察研究对象队列, 设为观察组, 男 26 例, 女 8 例; 年龄 (43.9±10.4) 岁。同时以广东籍汉族健康人 30 例作为正常对照组, 男 18 例, 女 12 例; 年龄 (39.4±10.8) 岁。

## 2 研究方法

**2.1 血液采集** 对符合入组条件的广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者采集血样 10 mL/例, 其中 5 mL 置 EDTA 抗凝、5 mL 置干燥管。广东籍汉族健康人采样同上。

**2.2 HLA 等位基因检测** 模板 DNA 制备: 采用酚氯仿方法全血提取 DNA。经 Pharmacia Biotech Gene Quant II RNA/DNA Calculator 测定 DNA 样本浓度为 50~100 ng/μL, 纯度 A260/A280 为 0.9~1.6。

为获得精确的 HLA 等位基因分型结果, 本研究应用 PCR-SBT 方法进行 34 例鼻咽癌患者标本的 HLA-A、B、DRB1 等位基因分型。根据 International Histocompatibility Working Group (IHWG, 国际组织相容性合作组织) Web 推荐的 SBT 分型方法<sup>[3]</sup>中用于 HLA-A、B、DRB1 位点的扩增引物和测序反应引物序列, 本研究合成了分别用于 HLA-A、B、DRB1 位点的 34 条 PCR 扩增引物和 SBT 测序反应引物及一对 PCR 扩增内对照引物, 经优化改良后成套, 并经预试验验证, 可对 2012 年 WHO-HLA 系统因子命名委员会公布命名的 HLA-A、B、DRB1 位点

**[收稿日期]** 2013-07-26

**[基金项目]** 广东省中医药局科研课题基金资助项目 (编号: 20131096)

**[作者简介]** 高卓维 (1983-), 男, 博士研究生, 研究方向: 中西医结合基础与临床。

等位基因进行测序分型。引物由北京奥科生物技术有限责任公司合成。

2.3 统计学方法 用直接计数法计算等位基因频率,使用单倍型统计软件 arlequin 分析 HLA 易感等位基因,率的比较使用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  为差异有显著性意义,用 SPSS13.0 统计软件进行分析。

### 3 结果

发现广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者组的 HLA-A\*02、HLA-B\*15、HLA-DRB1\*03 位点的基因频率高于正常对照组( $P < 0.05$ )。HLA-B\*40 位点的基因频率低于正常对照组( $P < 0.05$ )。2 组其他基因位点的频率比较,差异均无显著性意义( $P < 0.05$ )。

### 4 讨论

一般认为,鼻咽癌发病的主要原因包括了遗传易感、EB 病毒和环境因素。其中遗传因素在鼻咽癌发病过程中起着十分重要的作用<sup>[4]</sup>。而本课题组前期查阅文献,未见国内外关于气虚质鼻咽癌患者 HLA 基因易感性的报道。本课题组通过检测广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者的 HLA-A、B、DRB1,发现广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者的 HLA-A\*02、HLA-B\*15、HLA-DRB1\*03 位点的基因频率高于正常对照组,HLA-B\*40 位点的基因频率低于对照组。对比曾学辉等<sup>[4]</sup>此前关于中国南方鼻咽癌患者的 HLA-A、B、DRB1 的研究,本研究中广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者的 HLA-B\*15 位点的基因频率明显高于其报道<sup>[4]</sup>的中国南方鼻咽癌患者(不分民族、不分体质类型)的 HLA-B\*15 位点的基因频率( $P < 0.05$ );而本研究中广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者 HLA-B\*58 位点的基

因频率与本研究中的正常对照组比较,差异无显著性意义。以上研究结果提示,HLA-A\*02、HLA-B\*15、HLA-DRB1\*03 可能是气虚质鼻咽癌患者的易感性基因,而 HLA-B\*15 可能是广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者的特有易感基因。但本研究中广东籍汉族气虚质鼻咽癌患者 HLA-B\*58 位点的基因频率与本研究中的正常对照组比较,差异无显著性意义,与前期文献<sup>[4]</sup>中鼻咽癌患者(不分民族、不分体质类型)HLA-B\*58 位点的基因频率高于健康对照组的的结果不一致,其原因有待进一步深入研究。总体来说,本研究能考虑到地域、种族的差异来研究特定体质类型鼻咽癌患者的 HLA 易感性,但由于样本数尚不够大,有待在今后的研究中进一步扩大样本量,以期更好探寻鼻咽癌患者其特定体质形成的分子生物学机制。

### [参考文献]

- [1] 王贤文,田道法. 初诊鼻咽癌患者临床证型及体质类型的调查[J]. 中国中西医结合耳鼻喉科学杂志, 2007, 15(2): 116-119.
- [2] 周小军,田道法. 鼻咽癌家系体质调查研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2002, 8(11): 60-63.
- [3] Robinson J, Halliwell JA, McWilliam H, et al. The IMGT/HLA database[J]. Nucleic Acids Research 2011, 39(Database issue): D1171-1176.
- [4] 曾学辉,肖露露,李疆,等. HLA-A、B、DRB1 等位基因多态性与中国南方鼻咽癌的相关性研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2007, 23(9): 819-823.

(责任编辑:黎国昌)

## 第 23 次全国特色医疗名医学术交流暨肝病脾胃病论坛通知

为了加强中医药特色医疗经验的学术交流,全国科技推广工作先进单位—北京聚医杰医药科学研究院将与中国特色医疗学术研究会、中国医疗卫生信息网在江苏省苏州市联合主办本次会议,会议时间为 2014 年 4 月 22 日—25 日(21 日为报到时间),欢迎各级中医、中西医结合医、民间中医、乡村中医报名参会。一、会议征文:运用中医药、民族民间医药或中西医结合等特色疗法治疗肝病、脾胃病及常见病疑难病等方面的经验,论文必须打印或从电子信箱发来,Email: 100036-98@63.com 文后附 200 字左右的作者简介。会后论文可安排在有关杂志上发表。二、会议内容:1. 邀请有关专家作中医治疗肝病脾胃病等方面的学术讲座;2. 交流肝病、脾胃病及常见病疑难病等方面防治诊疗经验;3. 评选表彰“优秀论文”、“中华中医肝病名医”、“中华中医脾胃病名医”、“中华特色医疗名医”等;4. 增聘一批“肝病研究专家委员会委员”;成立“中华中医脾胃病研究专家委员会”并聘任专家委员;聘任一批“中医肝病研究特约研究单位”和“中华中医脾胃病研究特约研究单位”等。5. 参观两天(参观苏州市名胜一天,参观周庄一天)。三、有关说明:1. 凡参会者均发“中华特色医疗学术交流纪念奖章”、荣誉证书及颁发学术资料和《实用中医验方 200 首》等书刊资料,纪念品 2-3 种;2. 参会者交报名费 200 元、会务资料费 950 元,会期食宿、旅游费用自理。四、报名方法:将参会报名费 200 元连同二寸登记相片四张、交流论文(无论文者也可报名)、作者简介、评选名医申请等一起在 4 月 5 日前用快递寄北京市 100036-98 信箱,苏州会议会务组叶续宗主任收,邮编 100036,联系电话:010-63772051、18611174565、18600893817,欢迎登陆: <http://www.zgt.syl.com>。