

## 人类白细胞抗原与鼻咽癌的相关性

汤敏中<sup>1,2</sup>, 蔡永林<sup>2</sup>, 郑裕明<sup>2</sup>, 曾毅<sup>1,3</sup>

1. 北京工业大学生命科学与生物工程学院, 北京 100124;
2. 广西壮族自治区梧州市红十字会医院, 梧州市卫生系统鼻咽癌病因学及分子机理重点实验室, 梧州 543002;
3. 中国疾病预防控制中心, 传染病预防控制国家重点实验室, 北京 100052

**摘要:** 鼻咽癌是一种多因素影响的复杂性疾病, 其发病具有显著的地理分布差异。Epstein-Barr(EB)病毒感染与鼻咽癌发病密切相关已得到公认, 但环境因素及遗传因素在鼻咽癌的发病中也具有重要作用。在鼻咽癌的遗传相关因素中, 位于 6 号染色体上具有高度多态性的人类白细胞抗原(Human leukocyte antigen, *HLA*)与鼻咽癌发病风险相关在多个研究组中被报道。随着 DNA 测序技术的发展, 高分辨基因分型技术的应用, *HLA* 新等位基因数目呈指数级的上升, 更多的 *HLA* 全基因序列被研究者所报道。近年来, 等位基因关联性分析、微卫星连锁不平衡分析及全基因组关联性分析的研究结果均证实了 6 号染色体 *HLA* 区域与鼻咽癌具有显著关联。为了进一步探讨遗传相关性因子 *HLA* 在鼻咽癌发生发展中的作用, 文章着重综述了 *HLA* 与鼻咽癌相关性研究的最新进展, 为鼻咽癌 *HLA* 相关性研究提供新的思路。

**关键词:** 鼻咽癌; 人类白细胞抗原; 多态性; 相关性研究

## Association between human leukocyte antigen and nasopharyngeal carcinoma

TANG Min-Zhong<sup>1,2</sup>, CAI Yong-Lin<sup>2</sup>, ZHENG Yu-Ming<sup>2</sup>, ZENG Yi<sup>1,3</sup>

1. College of Life Science and Bio-engineering, Beijing University of Technology, Beijing 100124, China;
2. Wuzhou Health System Key Laboratory for Nasopharyngeal Carcinoma Etiology and Molecular Mechanism, Wuzhou Red Cross Hospital, Wuzhou 543002, China;
3. State Key Laboratory for Infectious Diseases Prevention and Control, Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100052, China

**Abstract:** Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is characterized by its distinct racial and geographical distribution with a multifactorial etiology. It has been well accepted that NPC is related to Epstein-Barr(EB) virus infection but environmental and genetics factors also play critical roles. Among host genetic markers associated with NPC, the highly variable class I human leukocyte antigen (*HLA*) genes on chromosome 6 (6p21.3) have shown a strong and consistent association with NPC

收稿日期: 2012-03-23; 修回日期: 2012-04-24

基金项目: 美国国立卫生研究院国立癌症研究所项目(编号: N01-CO-12400), 广西科技计划项目(编号: 114003A-49)和梧州市科技计划项目(编号: 201102062)资助

作者简介: 汤敏中, 博士研究生, 专业方向: 生物医学工程。Tel: 18010178840; E-mail: gxtom2000@gmail.com

通讯作者: 曾毅, 中科院院士, 博士生导师, 研究方向: 肿瘤及病毒学。E-mail: zengyi@public.bta.net.cn

网络出版时间: 2012/9/10 11:00:57

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.1913.R.20120910.1100.002.html>

risk. As the consequence of new generation DNA sequencing technologies used in *HLA* genotyping, the number of the reported *HLA* new alleles is dramatically increasing, and more full length sequences of *HLA* alleles have been reported. The significant association between *HLA* genes and NPC has been identified in a series of studies, including *HLA* association study, linkage disequilibrium study for microsatellite markers, and genome wide association study. In this review, we summarize association studies between *HLA* and NPC to evaluate the role of genetic polymorphisms in NPC development and illustrate the new clues of *HLA* association for deep exploration.

**Keywords:** nasopharyngeal carcinoma; *HLA*; polymorphism; association study

鼻咽癌是一种上皮细胞恶性肿瘤,其发病与EB病毒感染、环境因素密切相关。遗传异质性在鼻咽癌的易感和家族聚集及显著的种族地理分布差异特性中具有功能学的作用。根据国际癌症研究中心(International Agency for Research on Cancer, IARC)报道,2008年,全球新发鼻咽癌约84 400例,死亡51 600例,其中超过80%是由中国、东南亚地区的亚洲国家所报道<sup>[1]</sup>。流行病学调查结果表明,鼻咽癌具有明显的家族聚集性,在国外的中国南方移民后裔中亦具有较高的发病率<sup>[2,3]</sup>。在众多的鼻咽癌遗传相关因素中,经典的I类人类白细胞抗原(Human leukocyte antigen, *HLA*)呈现出显著的疾病相关性。Simons等<sup>[4]</sup>在20世纪70年代首先报道在新加坡华人群体中鼻咽癌与*HLA*相关。随后,*HLA*与鼻咽癌的关联性在不同的研究群体均被检测到<sup>[5-7]</sup>。1990年,*Nature*杂志报道了国际性合作研究组在广西南宁、中国香港和新加坡华人的基于患病同胞兄弟的单倍体研究的成果。该研究发现,*HLA*区域内存在鼻咽癌发病易感性相关的隐性基因<sup>[8]</sup>。进而曾毅院士提出了鼻咽癌病因学假说:即遗传因素是基础,EB病毒在鼻咽癌的发病中起着重要作用,而环境中的促癌物和致癌物起协同作用<sup>[9,10]</sup>。近年来,随着分子生物学的发展及DNA测序技术在*HLA*研究中的广泛应用,*HLA*与疾病的相关性研究亦取得了极大的进展。*HLA*与鼻咽癌的相关关系也在等位基因关联性分析、微卫星连锁不平衡分析及全基因组关联性分析的研究中进一步得到证实。本文就*HLA*与鼻咽癌的相关性研究中取得的最新进展进行了综述。

## 1 *HLA* 的基因多态性

人类的主要组织相容性抗原复合体命名为 *HLA*,位于第6号染色体短臂6p21.3区域,由三类基因组

成,即 I 类基因、II 类基因和 III 类基因,通常作为一个遗传单位或单倍型而遗传给下一代,属共显性等位基因。*HLA*基因在人群中呈现复杂的多态性,是免疫反应个体差异的分子基础<sup>[11]</sup>。*HLA* I 类基因的产物可分别将内源性和外源性抗原肽递呈给淋巴细胞,诱导机体产生特异的免疫应答。I 类分子分布十分广泛,几乎存在于所有的有核细胞表面,II 类分子则主要表达于激活的T淋巴细胞、B淋巴细胞、巨噬细胞及DC细胞表面。*HLA* I 类和 II 类分子在细胞中的特异性表达受到许多顺式和反式作用因子的严格调控,以此来保证其正常免疫学功能的发挥。经典*HLA* I 类分子是由重链( $\alpha$ 链)和轻链( $\beta$ 链)经非共价键连接成的异二聚体,细胞膜上*HLA* I 类分子表达需要 $\alpha$ 链和 $\beta$ 链同时存在。经典*HLA* I 类分子的 $\alpha$ 链分别由*HLA-A*、*HLA-B*、*HLA-C*基因编码,分子质量约45 kDa,由3个细胞外结构域(即 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 和 $\alpha 3$ )、穿膜区和胞质区3部分组成。 $\alpha 1$ 和 $\alpha 2$ 区的氨基酸顺序变化较大,主要决定 I 类分子的多态性,抗原肽结合凹槽就位于这两个结构域之间<sup>[12]</sup>。常用的*HLA*-SSP和*HLA*-SSOP技术的基因分型试剂就是针对第2和第3外显子设计特异性等位基因引物和探针的<sup>[13-15]</sup>。 $\beta$ 链即 $\beta 2$ 微球蛋白( $\beta 2m$ ),分子质量约为12 kDa,编码基因位于第15号染色体,作用主要是稳定 I 类分子并使其能有效地表达于细胞表面。*HLA*在免疫监视和自身稳定中具有重要的作用,与感染性疾病、自身免疫性疾病及肿瘤等多种疾病都有相关性<sup>[16]</sup>,但是在不同的疾病之间其作用方式也存在差异。在与病毒相关性疾病中认为,特定*HLA*可增强或减弱与致病性抗原肽的亲和能力。因为EB病毒与鼻咽癌的发生发展密切相关,*HLA*与鼻咽癌之间的相关关系也在来源于不同地区的研究群体中被报道<sup>[17-19]</sup>。*HLA*基因的高度多态性及其在人群中的等位基因连

锁不平衡现象可能是人类在进化过程中抵御不良环境因素, 与环境交互作用的一种选择性结果, 显著地体现在等位基因数目上。近年来, 随着传统的DNA测序技术及下一代基因测序技术在HLA分型工作中的应用<sup>[20-22]</sup>, 不断有新的多态性位点被发现, 新等位基因的报道呈指数上升的趋势。截止至2012年4月, 国际免疫遗传学数据库<sup>[23]</sup> (IMGT/HLA Database: <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/align.html>)中已经被命名的类分子共包含5880个等位基因, 其中包括HLA-A 1884个, HLA-B 2490个, HLA-C 1384个, HLA-E 11个, HLA-F 22个, HLA-G 49个, 以及40个假基因。徐筠婷等<sup>[24]</sup>通过对20例中国汉族个体进行HLA-A和HLA-B全长序列的克隆及测序方法, 首次揭示了在IMGT/HLA数据库中未覆盖到的5'启动子及3'UTR区域的多态性模式。曾健强等<sup>[25]</sup>采用长距离PCR技术和高保真性的Pfu酶, 扩增HLA-Cw基因全长序列4.5 kb, 进行分子克隆和单倍体测序, 报道了28个汉族人的22种等位基因的基因序列多态性特点。这些HLA分子DNA序列信息的积累均为后续进行疾病相关性位点的精细定位奠定了基础。

## 2 HLA 等位基因与鼻咽癌的相关性研究

20世纪70年代, 在HLA研究的起步阶段, 研究者就已报道HLA与鼻咽癌具有相关性。传统的HLA分型方法是采用抗HLA标准血清来检测未知淋巴细胞上抗原的型别, 又称补体依赖的微量淋巴细胞毒试验。近年来, 血清学分型方法已完全被更准确的基于DNA序列的分子生物学分型方法所取代。

### 2.1 鼻咽癌易感性相关的 HLA 等位基因

在与鼻咽癌易感性相关的HLA等位基因中, HLA-A2是最早被发现也是报道得最多的等位基因。在1974年由新加坡的Simons等<sup>[4]</sup>在基于华人群体的鼻咽癌研究队列中首先报道。随后Chan等<sup>[5]</sup>在来源于中国、新加坡及中国香港的华人群体研究中, HLA-A2与鼻咽癌发病风险呈正相关得到验证, 与此同时, 另外一个与鼻咽癌发病风险呈正相关的等位基因B46也被报道, 二者同时存在时发病风险更高(RR=2.4,  $P<0.01$ )。这一结果也在基于中国台湾<sup>[26,27]</sup>、泰国<sup>[28]</sup>及中国南方<sup>[29]</sup>的关联性群体分析中得到验

证。Goldsmith等<sup>[30]</sup>应用荟萃分析(Meta-analysis), 综合血清学及分子生物学分型的关联性研究结果提出HLA-A2、B14及B46与鼻咽癌的发病风险呈正相关。近10年发展起来的分子生物学分型技术在HLA与疾病关联性分析中也得到了广泛的应用, 一些与鼻咽癌发病呈正相关的等位基因陆续被研究者所报道, 例如:A\*33, B\*38及B\*58<sup>[27,29]</sup>。Heildsheim等<sup>[6]</sup>运用高分辨的HLA分型方法进一步确证了HLA-A2亚型A\*02:07与鼻咽癌易感性相关(OR=2.3, 95% CI=1.5~3.5), 而另一常见等位基因A\*02:01则未显示出显著性差异。结果提示HLA-A2与鼻咽癌的相关具有等位基因亚型的特异性。A\*02:07在东南亚地区及中国南方具有较高的等位基因分布频率, 而在全世界其他地方分布频率相对较低<sup>[31]</sup>。这一研究结果也部分解释了HLA-A2与鼻咽癌发病呈正相关在非黄种人的鼻咽癌研究队列中不能重复的原因, 例如:突尼斯的非洲研究人群<sup>[32]</sup>及美国的高加索研究人群<sup>[33]</sup>。高分辨的基因分型技术因其结果精确、可提供更全面的序列信息, 而在目前的HLA与疾病的关联性研究中被研究者采用。Yu等<sup>[34]</sup>对中国台湾的301例鼻咽癌和1010例对照采用高分辨基因分型方法报道了等位基因A\*11:01与鼻咽癌的抗性相关, A\*02:07、A\*33:03、B\*38:02和B\*58:01与鼻咽癌的高发风险相关。这种特定等位基因差异分布的现象在鼻咽癌高发区尤为明显。本课题组通过对985例鼻咽癌病例及对照应用PCR-SSOP(Sequence specific oligonucleotide probes, SSOP)基因分型的方法, 报道了在中国南方鼻咽癌高发区的研究队列中检测到4种常见的HLA-A2基因亚型:A\*02:01、A\*02:03、A\*02:06及A\*02:07, 分布频率最高的A2基因亚型为A\*02:03。等位基因HLA-A\*02:06和B\*38:02, 单倍体A\*02:07-B\*46:01及A\*33:03-B\*58:01为高发区人群中鼻咽癌易感性的风险因子, 合并比数比值为2.6( $P<0.0001$ )<sup>[7]</sup>。

### 2.2 鼻咽癌保护性相关的 HLA 等位基因

1981年, Chan等<sup>[35]</sup>报道了与正常对照相比, 鼻咽癌病例中HLA-A11具有较低的等位基因分布频率(OR=0.5,  $P=0.00008$ )。A11与鼻咽癌发病风险的负相关在不同研究队列的人群中的重复。随后报道的12个来源于中国广东<sup>[36]</sup>、新加坡<sup>[4,5,35,37-39]</sup>、中国台湾<sup>[26,27]</sup>、

泰国<sup>[28]</sup>及马来西亚<sup>[40,41]</sup>的研究队列中,有 8 个研究队列确认了 *A11* 与鼻咽癌的显著性负相关,其余研究队列的分析结果虽未达显著性水平但也显示出等位基因 *HLA-A11* 在鼻咽癌组中的低频率分布。吴国光等<sup>[42]</sup>对 6965 例中国汉族骨髓供者 *HLA* 多态性分析发现, *HLA-A\*11* 为中国人常见等位基因,具有很高的基因分布频率,南方人群及北方人群中基因频率分别为 33.7% 及 39.5%。本课题组对鼻咽癌高发区人群进行 *HLA* 分析发现 *A\*11:01* 与鼻咽癌发病风险呈负相关 ( $P < 0.0001$ ), *A\*11* 在鼻咽癌组和对照组中分布频率分别为 23.7% 和 32.5% ( $P = 0.0001$ ), 研究队列检测出 2 个 *HLA-A\*11* 等位基因亚型: *A\*11:01* 及 *A\*11:02*, 但 *A\*11:02* 却未显示出与鼻咽癌发病风险的负相关关系<sup>[7]</sup>。 *A\*11:01* 和 *A\*11:02* 等位基因的 DNA 序列仅有 1 个核苷酸的差别, 导致第 19 位氨基酸 Glu→Lys 的变化。差别氨基酸为抗原结合凹槽的外部提示可能存在其他影响机制。在 *HLA* 与鼻咽癌的相关性分析中, *B13* 与鼻咽癌发病风险的负相关也被多个来自于鼻咽癌高发区的研究队列所发现<sup>[4,27,29]</sup>。等位基因连锁不平衡分析提示, *A11-B13* 为中国人人群中常见扩展单倍型<sup>[43]</sup>。本课题组对 *A\*11:01* 及 *B\*13:01* 进行等位基因分层分析亦发现, *B\*13:01* 单独存在时不具有鼻咽癌发病的保护作用, 只有在 *B\*13:01* 与 *A\*11:01* 同时呈现时才具有显著性的鼻咽癌发病风险负相关 ( $P = 0.001$ )<sup>[7]</sup>。但是在鼻咽癌中, 低发地区却没有这种 *A11*、*B13* 等位基因与鼻咽癌发病的显著性负相关的关系, 北非突尼斯人群中等位基因 *B13* 是最常见的 *HLA-B* 等位基因<sup>[44]</sup>, 在摩洛哥人群中携带 *B13* 等位基因鼻咽癌发病风险高达 4.14 ( $P < 0.001$ )<sup>[45]</sup>。提示鼻咽癌高、中、低发地区之间病因或人群之间的差异, 可能存在不同的免疫抵抗机制。与之不同的另一个保护性等位基因是 *B\*55*, *HLA-B\*55* 在鼻咽癌高发及中低发地区均显示出较低的等位基因分布频率, 但是由于样品数量较少, 差异未达显著性水平<sup>[29,41]</sup>。我们基于广西鼻咽癌高发区的研究报道了 *B\*55* 在鼻咽癌高发区人群中具有中等的等位基因分布频率, 正常对照人群中基因频率约 4.2%, 但在鼻咽癌病例组中基因频率只有 0.56% ( $P < 0.0001$ ), 采用高分辨基因分型的方法共检出 4 种 *B\*55* 的亚型, *B\*55:01*、*B\*55:02*、*B\*55:03* 及 *B\*55:07*, 与鼻咽癌发病风险负相关的是等位基因

*B\*55:02* ( $P < 0.0001$ ), 同时还报道了等位基因 *B\*27*, 特别是等位基因亚型 *B\*27:04* 与鼻咽癌发病风险呈负相关 ( $P = 0.005$ )<sup>[7]</sup>。已知 *HLA-B27* 抗原的表达与强直性脊椎炎有高度相关性, 超过 90% 的强直性脊椎炎患者其 *HLA-B27* 抗原表达为阳性<sup>[46]</sup>。 *HLA-B27* 在全世界大部分地区都呈现出较低的等位基因分布频率<sup>[47]</sup>。先前的研究资料亦报导鼻咽癌患者中 *HLA-B27* 呈现等位基因低频率分布<sup>[29]</sup>。由于 *B\*27* 在人群中较低的等位基因分布频率, 它与鼻咽癌之间的关联性仍需要在大量样品量的人群中进一步验证。特定等位基因与鼻咽癌低发风险相关的特性也提示等位基因之间的共性可能是与疾病抗性相关的主要因素, 通过对等位基因的 DNA 或氨基酸序列的精细分析有可能进一步定位疾病相关的决定性因子。

### 3 *HLA* 经典 类分子与鼻咽癌的相关性

与 *HLA* 经典 类分子相比, *HLA* 经典 类分子并未呈现出在多研究队列中与鼻咽癌发病风险呈显著性相关的趋势, 大部分研究报道未发现其与鼻咽癌的显著相关性。1995 年, Li 等<sup>[48]</sup>采用 PCR-SSP 及 RFLP 的基因分型方法对来源于中国南方人群的 51 例鼻咽癌和 85 例对照进行 *HLA-DQ* 及 *DR* 的鼻咽癌关联性分析, 报道 *HLA-DQ* 和 *DR* 等位基因在鼻咽癌病例及对照中分布差异无显著性。国内中南大学湘雅医学院研究者对湖南汉族群体鼻咽癌患者 *HLA-DR*、*DP* 及 *DQ* 位点的关联性分析亦未发现与鼻咽癌发病风险相关的具有显著性差异的等位基因<sup>[49,50]</sup>。Heildsheim 等<sup>[6]</sup>通过高分辨基因分型的方法分析 *HLA-DRB1-DQA-DQB* 3 个基因座位单倍型, 报道 *HLA-DRB1\*0301-DQA1\*0501-DQB1\*0201/2* 单倍型与鼻咽癌易感性呈显著正相关。扩展单倍型分析提示, 这个单倍型是 *HLA* 类基因 *A\*33:03-B\*58:01* 单倍型的扩展部分, 作为 *HLA* 经典 I 类分子单倍型的连锁标志与鼻咽癌发病风险呈正相关。这一结果也与本课题组在中国南方鼻咽癌高发区人群中报道的 *A\*33:03-B\*58:01* 单倍型依赖性的鼻咽癌发病风险正相关的结果相吻合。王培等<sup>[51]</sup>对 104 例广东籍的汉族 NPC 患者和 105 例广东籍对照者进行 *HLA-DPB1* 基因调控区分型及比较, 报道 *DPB1* 位点 3' 调控区 *BB* 基因型、*B* 单倍型等位基因可能与广东地区汉族人群鼻咽癌的发生有关。基因的 3' 调控区对组织特



异性的表达及水平有不同程度的影响,具有稳定 mRNA 水平、定位、运输的功能。例如,miRNA 主要与位于靶标 mRNA 3'非翻译区域(UTR)的部分互补结合位点结合,通过干扰翻译及引导 mRNA 脱腺苷酸化和脱帽,启动 mRNA 降解两种方式抑制该 mRNA 的表达。Kulkarni 等<sup>[52]</sup>研究发现 *HLA-C* 基因 3'-UTR 区的多态性位点具有调节 microRNA *Hsa-miR-148a* 结合能力的作用,导致与这一 microRNA 结合的 *HLA-C* 等位基因在细胞表面的低表达及逃避转录后调控的 *HLA-C* 等位基因高表达,进而影响 HIV 的疾病进程。提示对 *HLA* 经典 I 类或 II 类分子的调控区的分析有可能揭示 *HLA* 与疾病相关的新机制而值得研究者进行深入探讨。

## 4 *HLA* 相关基因及位点与鼻咽癌的相关性研究

### 4.1 鼻咽癌与 *KIR* 的相关性

*HLA* 基因除了通过参与获得性免疫与鼻咽癌密切相关之外,在天然免疫,特别是 NK 细胞的激活方面,同样具有重要的作用。NK 细胞表面可表达多种与 *HLA* 分子结合的受体,称之为杀伤细胞免疫球蛋白样受体(Killer cell immunoglobulin-like receptor, *KIR*),通过识别表达于靶细胞表面的 *HLA* 类分子,传递抑制或激活信号,调节细胞的活性功能,继而发挥免疫杀伤细胞清除病毒感染细胞、肿瘤细胞等固有免疫的能力<sup>[53-56]</sup>。*KIR* 与 *HLA* 相互作用,在先天免疫耐受及后天免疫应答中发挥了重要作用。自身组织细胞表达自身 *HLA* 类分子, NK 细胞通过 NK 受体群(*NKR*)识别自身 *HLA* 类分子或类 *HLA* 类分子,通过抑制性信号通路使细胞处于抑制状态,维持对自身组织细胞的耐受。肿瘤细胞部分表达或不表达 *HLA* 类分子, *KIR* 无法通过与 *HLA* 类分子结合而对 NK 细胞产生抑制作用, NK 细胞被激活从而杀伤肿瘤细胞<sup>[57]</sup>。Butsch 等<sup>[58]</sup>对来源于中国台湾的 295 例鼻咽癌病例及 252 例对照样品的高分辨 *KIR* 基因分型分析结果显示,在 EB 病毒血清学阳性组中,表达 5 个或 5 个以上活化性 *KIR* 分子的个体,其鼻咽癌发病风险 3.4 倍高于不表达活化性 *KIR* 分子的个体。*KIR* 与鼻咽癌发生的可能假说为:活化性 *KIR* 分子通过非特异的慢性炎症过程,如激发对氧化性

DNA 损伤、局部组织的增生、组织的破坏和纤维化等因素增加患鼻咽癌的风险。卢亮等<sup>[59]</sup>采用 PCR-SSP 方法对 67 名临床诊断为鼻咽癌的南方汉族患者的血样和 77 例随机健康对照组血样进行 *KIR* 基因分型。结果显示,与对照组相比 *KIR2DL3* 基因频率在患者组显著降低( $P<0.05$ ,  $RR=0.08$ ); *KIR2DS5* 和 *KIR2DL5B* 基因频率在患者组显著升高( $P<0.05$ ,  $RR>1$ ),提示 *KIR* 基因可能通过与 *HLA* 之间的相互协同作用与鼻咽癌发生发展相关。

### 4.2 鼻咽癌与 *HLA* 连锁位点的相关性分析

第一个鼻咽癌的连锁相关性研究是国内曾毅教授及法国巴斯德研究所 Guy de The 教授组织的国际性合作组在广西南宁、中国香港和新加坡华人开展的基于患病同胞兄弟的单倍体研究。研究结果报道了 *HLA* 区域内存在鼻咽癌发病易感性相关的隐性基因,存在易感性相关基因的个体发病风险 10 倍高于 *HLA-B\*46* 或 *B\*17* 的发病风险性,应用最大似然法估算发病风险值约为 21<sup>[8]</sup>。Ooi 等<sup>[39]</sup>对新加坡华人群体的 55 例鼻咽癌和 62 例对照的 *HLA* 区域的微卫星位点进行检测报道,微卫星 *D6S1624* 等位基因 4 与鼻咽癌高发风险呈正相关( $P<0.005$ ,  $RR=3.5$ )。这个研究结果被随后的两个来自于中国台湾的研究组进一步深化。2003 年, Lu 等<sup>[27]</sup>报道了靠近 *HLA-A* 位点近端粒方向约 97 kb 的一个微卫星位点 *D6S211* 与鼻咽癌的显著相关( $OR=3.97$ ,  $P=0.042$ )。随后在 2005 年 Lu 等<sup>[60]</sup>通过检测 8 个 *HLA-A* 位点约覆盖 1 Mb 基因范围的微卫星位点把鼻咽癌遗传易感区域精细定位到 *HLA-A* 位点附近约 132 kb 长度的片段范围内。近年来,随着新一代分子遗传标记——单核苷酸多态性标记在科研上的应用及生物芯片技术的发展,使得对样本进行全基因组 SNP 扫描,直接锁定疾病易感基因成为可能。全基因组关联性研究(Genome-wide association study, GWAS)通过在全基因组层面上,开展多中心、大样本、反复验证的基因与疾病的关联研究,进而全面揭示疾病发生、发展与治疗相关的遗传基因<sup>[61,62]</sup>。2009 年~2010 年间国际权威杂志报道了 3 篇关于鼻咽癌全基因组关联性分析的文章<sup>[63-65]</sup>。其中基于中国台湾地区和中国南方地区研究队列的两篇 GWAS 文章报道与鼻咽癌最显著性相关的基因区域位于 6 号染色体 6p21.3 区域靠近

*HLA-A*位点,使*HLA*成为鼻咽癌遗传性因素研究中最具有代表性的可重复验证的区域而进一步被重视。

## 5 结 语

鼻咽癌是一种多因素影响的复杂性疾病,其发生及发展与EBV病毒感染、环境因素及遗传因素密切相关。在众多的鼻咽癌相关遗传因素中,*HLA*与鼻咽癌的相关关系在多个不同的研究队列中得到验证,并因其在微卫星连锁不平衡分析及全基因组关联性分析中呈现出显著性而被研究者重点提及。近年来,新一代DNA测序技术已广泛应用于生物学研究的各个领域,针对6号染色体*HLA*区域的全长测序也已成为可能,这将进一步帮助人们更全面、更深入地分析基因组,给生物医学领域带来革命性的变革。

基因是遗传信息的携带者,蛋白质是生物功能的执行者。除了在DNA水平分析疾病的相关因素,今后研究还应着重于基因组、转录组及蛋白质之间交互作用,整合分析发生在各层次上的分子生物学事件,这样才能真实地阐明细胞癌变和肿瘤发生发展的机理,并真正运用于转化医学,为个体化治疗等方面提供科学依据。

## 参考文献(References):

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69–90. DOI
- [2] Ng WT, Yau TK, Yung RW, Sze WM, Tsang AH, Law AL, Lee AW. Screening for family members of patients with nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer*, 2005, 113(6): 998–1001. DOI
- [3] Sun LM, Epplein M, Li CI, Vaughan TL, Weiss NS. Trends in the incidence rates of nasopharyngeal carcinoma among Chinese Americans living in Los Angeles County and the San Francisco metropolitan area, 1992–2002. *Am J Epidemiol*, 2005, 162(12): 1174–1178. DOI
- [4] Simons MJ, Day NE, Wee GB, Shanmugaratnam K, Ho HC, Wong SH, Ti TK, Yong NK, Darmalingam S, De Thé G. Nasopharyngeal carcinoma V: immunogenetic studies of Southeast Asian ethnic groups with high and low risk for the tumor. *Cancer Res*, 1974, 34(5): 1192–1195. DOI
- [5] Chan SH, Day NE, Kunaratnam N, Chia KB, Simons MJ. HLA and nasopharyngeal carcinoma in Chinese—a further study. *Int J Cancer*, 1983, 32(2): 171–176. DOI
- [6] Hildesheim A, Apple RJ, Chen CJ, Wang SS, Cheng YJ, Klitz W, Mack SJ, Chen IH, Hsu MM, Yang CS, Brinton LA, Levine PH, Erlich HA. Association of HLA class I and II alleles and extended haplotypes with nasopharyngeal carcinoma in Taiwan. *J Natl Cancer Inst*, 2002, 94(23): 1780–1789. DOI
- [7] Tang M, Zeng Y, Poisson A, Marti D, Guan L, Zheng Y, Deng H, Liao J, Guo X, Sun S, Nelson G, de Thé G, Winkler CA, O'Brien SJ, Carrington M, Gao X. Haplotype-dependent HLA susceptibility to nasopharyngeal carcinoma in a Southern Chinese population. *Genes Immun*, 2010, 11(4): 334–342. DOI
- [8] Lu SJ, Day NE, Degos L, Lepage V, Wang PC, Chan SH, Simons M, McKnight B, Easton D, Zeng Y. Linkage of a nasopharyngeal carcinoma susceptibility locus to the HLA regions. *Nature*, 1990, 346(6283): 470–471. DOI
- [9] 曾毅. 遗传因素、环境因素及EB病毒在鼻咽癌发生中作用的研究. *中国肿瘤*, 1995, 4(3): 24–25. DOI
- [10] Liu ZS, Liu YF, Zeng Y. Synergistic effect of Epstein-Barr virus and tumor promoters on induction of lymphoma and carcinoma in nude mice. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1998, 124(10): 541–548. DOI
- [11] Duquesnoy RJ. A structurally based approach to determine HLA compatibility at the humoral immune level. *Hum Immunol*, 2006, 67(11): 847–862. DOI
- [12] Heemels MT, Ploegh H. Generation, translocation, and presentation of MHC class I-restricted peptides. *Annu Rev Biochem*, 1995, 64: 463–491. DOI
- [13] Adams SD, Barracchini KC, Simonis TB, Stronck D, Marincola FM. High throughput HLA sequence-based typing (SBT) utilizing the ABI Prism 3700 DNA Analyzer. *Tumori*, 2001, 87(2): S40–S43. DOI
- [14] Cox ST, McWhinnie AJ, Robinson J, Marsh SGE, Parham P, Madrigal JA, Little AM. Cloning and sequencing full-length HLA-B and -C genes. *Tissue Antigens*, 2003, 61(1): 20–48. DOI
- [15] 闫春霞, 宋艳萍, 赖淑苹, 赖江华, 张洪波, 赵君海, 李生斌. 应用PCR-SSOP技术研究中国汉族、维吾尔族HLA-A基因座基因多态性. *遗传学报*, 2002, 29(5): 384–389. DOI
- [16] Baines M, Ebringer A. HLA and disease. *Mol Aspects Med*, 1992, 13(4): 263–378. DOI
- [17] Hildesheim A, Wang CP. Genetic predisposition factors and nasopharyngeal carcinoma risk: a review of epidemiological association studies, 2000–2011: Rosetta Stone for NPC: genetics, viral infection, and other environmental factors. *Semin Cancer Biol*, 2012, 22(2): 107–116. DOI
- [18] Zhao ML, Cai HB, Li X, Zheng H, Yang XX, Fang WY, Zhang LC, Wei GG, Li M, Yao KT, Li X. Further evidence for the existence of major susceptibility of nasopharyngeal carcinoma in the region near HLA-A locus in Southern Chinese. *J Transl Med*, 2012, 10(1): 57. DOI

- [19] Ghandri N, Gabbouj S, Farhat K, Bouaouina N, Abdelaziz H, Nouri A, Chouchane L, Hassen E. Association of *HLA-G* polymorphisms with nasopharyngeal carcinoma risk and clinical outcome. *Hum Immunol*, 2011, 72(2): 150–158. [DOI](#)
- [20] Lind C, Ferriola D, Mackiewicz K, Heron S, Rogers M, Slavich L, Walker R, Hsiao T, McLaughlin L, D'Arcy M, Gai X, Goodridge D, Sayer D, Monos D. Next-generation sequencing: the solution for high-resolution, unambiguous human leukocyte antigen typing. *Hum Immunol*, 2010, 71(10): 1033–1042. [DOI](#)
- [21] Erlich RL, Jia XM, Anderson S, Banks E, Gao XJ, Carrington M, Gupta N, DePristo MA, Henn MR, Lennon NJ, de Bakker PI. Next-generation sequencing for HLA typing of class I loci. *BMC Genomics*, 2011, 12: 42. [DOI](#)
- [22] Holcomb CL, Höglund B, Anderson MW, Blake LA, Böhme I, Egholm M, Ferriola D, Gabriel C, Gelber SE, Goodridge D, Hawbecker S, Klein R, Ladner M, Lind C, Monos D, Pando MJ, Proll J, Sayer DC, Schmitz-Agheguian G, Simen BB, Thiele B, Trachtenberg EA, Tyan DB, Wassmuth R, White S, Erlich HA. A multi-site study using high-resolution HLA genotyping by next generation sequencing. *Tissue Antigens*, 2011, 77(3): 206–217. [DOI](#)
- [23] Robinson JMK, McWilliam H, Lopez R, Parham P, Marsh SGE. The IMGT/HLA Database. *Nuclei Ac Res*, 2011, 39(Suppl.): D1171–D1176. [DOI](#)
- [24] 徐筠娉, 邓志辉, 邹红岩, 高素青, 王大明, 何柳媚, 魏天莉. 中国汉族个体HLA-A、-B基因全长序列的测定及调控区多态性. *遗传*, 2010, 32(7): 685–693. [DOI](#)
- [25] 曾健强, 徐筠娉, 王大明, 高素青, 邹红岩, 邓志辉. 汉族人群中 22 个HLA-Cw等位基因全长序列单核苷酸多态性分析. *遗传*, 2010, 32(5): 473–479. [DOI](#)
- [26] Wu SB, Hwang SJ, Chang AS, Hsieh T, Hsu MM, Hsieh RP, Chen CJ. Human leukocyte antigen (HLA) frequency among patients with nasopharyngeal carcinoma in Taiwan. *Anticancer Res*, 1989, 9(6): 1649–1653. [DOI](#)
- [27] Lu CC, Chen JC, Jin YT, Yang HB, Chan SH, Tsai ST. Genetic susceptibility to nasopharyngeal carcinoma within the *HLA-A* locus in Taiwanese. *Int J Cancer*, 2003, 103(6): 745–751. [DOI](#)
- [28] Pimthanotai N, Kangwanshirata O, Charoenwongse P. Serological analysis of human leukocyte antigens-A and -B antigens in Thai patients with nasopharyngeal carcinoma. *J Med Assoc Thai*, 2003, 86(Suppl. 2): S237–S241. [DOI](#)
- [29] Hu SP, Day NE, Li DR, Luben RN, Cai KL, Ou-Yang T, Li B, Lu XZ, Ponder BA. Further evidence for an HLA-related recessive mutation in nasopharyngeal carcinoma among the Chinese. *Br J Cancer*, 2005, 92(5): 967–970. [DOI](#)
- [30] Goldsmith DB, West TM, Morton R. HLA associations with nasopharyngeal carcinoma in Southern Chinese: a meta-analysis. *Clin Otolaryngol Allied Sci*, 2002, 27(1): 61–67. [DOI](#)
- [31] Middleton D, Menchaca L, Rood H, Komerofsky R. New allele frequency database: <http://www.allelefrequencies.net>. *Tissue Antigens*, 2003, 61(5): 403–407. [DOI](#)
- [32] Makni H, Daoud J, Ben Salah H, Mahfoudh N, Haddar O, Karray H, Boudawara T, Ghorbel A, Khabir A, Frikha M. HLA association with nasopharyngeal carcinoma in southern Tunisia. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(5): 2533–2539. [DOI](#)
- [33] Burt RD, Vaughan TL, McKnight B, Davis S, Beckmann AM, Smith AG, Nisperos B, Swanson GM, Berwick M. Associations between human leukocyte antigen type and nasopharyngeal carcinoma in Caucasians in the United States. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1996, 5(11): 879–887. [DOI](#)
- [34] Yu KJ, Gao XJ, Chen CJ, Yang XR, Diehl SR, Goldstein A, Hsu WL, Liang XS, Marti D, Liu MY, Chen JY, Carrington M, Hildesheim A. Association of human leukocyte antigens with nasopharyngeal carcinoma in high-risk multiplex families in Taiwan. *Hum Immunol*, 2009, 70(11): 910–914. [DOI](#)
- [35] Chan SH, Day NE, Khor TH, Kunaratnam N, Chia KB, Simons MJ. Nasopharyngeal carcinoma // Grundmann E, Krueger GRF, Ablashi DV, Eds, Cancer Campaign Volume 5: Nasopharyngeal carcinoma. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag, 1981, 5: 205–211.
- [36] 区宝祥, 阮华业, 方熾, 刘丽梅, 李振权, 张锋. 广州地区HLA-A、B、C、DR与鼻咽癌关联的研究. *癌症*, 1985, 4(1): 5–8. [DOI](#)
- [37] Simons MJ, Wee GB, Chan SH, Shanmugaratnam K, Day NE, de Thé G. Immunogenetic aspects of nasopharyngeal carcinoma (NPC) III. HL-a type as a genetic marker of NPC predisposition to test the hypothesis that Epstein-Barr virus is an etiological factor in NPC. *IARC Sci Publ*, 1975, (11 Pt 2): 249–258. [DOI](#)
- [38] Simons MJ, Wee GB, Singh D, Dharmalingham S, Yong NK, Chau JC, Ho JH, Day NE, de Thé G. Immunogenetic aspects of nasopharyngeal carcinoma. V. Confirmation of a Chinese-related HLA profile (A2, Singapore 2) associated with an increased risk in Chinese for nasopharyngeal carcinoma. *Natl Cancer Inst Monogr*, 1977, 47: 147–151. [DOI](#)
- [39] Ooi EE, Ren EC, Chan SH. Association between microsatellites within the human MHC and nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer*, 1997, 74(2): 229–232. [DOI](#)
- [40] Chan SH, Chew CT, Prasad U, Wee GB, Srinivasan N, Kunaratnam N. HLA and nasopharyngeal carcinoma in Malays. *Br J Cancer*, 1985, 51(3): 389–392. [DOI](#)

- [41] Lee LK, Tan EL, Gopala K, Sam CK. Human leukocyte class I antigen alleles A2 and A11 are not associated with nasopharyngeal carcinoma in West Malaysia. *Singapore Med J*, 2007, 48(7): 632–634. [DOI](#)
- [42] 吴国光, 邓志辉, 高素青, 程良红, 金士正, 周丹, 李桢, 邹红岩, 张旋, 魏天莉, 程曦, 王大明. 6965 名汉族骨髓供者HLA多态性分析. *中华血液学杂志*, 2004, 25(8): 27–31. [DOI](#)
- [43] 袁方, 孙玉英, 骆媛, 梁飞, 刘楠, 金荔, 刘金锋, 刘曙光, 奚永志. 我国汉族人群HLA I 类经典基因单倍型及连锁分析. *中国实验血液学杂志*, 2007, 15(5): 1084–1089. [DOI](#)
- [44] Betuel H, Camoun M, Colombani J, Day NE, Ellouz R, de Thé G. The relationship between nasopharyngeal carcinoma and the HL-A system among Tunisians. *Int J Cancer*, 1975, 16(2): 249–254. [DOI](#)
- [45] Dardari R, Khyatti M, Jouhadi H, Benider A, Ettayebi H, Kahlain A, Mansouri A, El Gueddari B, Benslimane A. Study of human leukocyte antigen class I phenotypes in Moroccan patients with nasopharyngeal carcinoma. *Int J Cancer*, 2001, 92(2): 294–297. [DOI](#)
- [46] Reveille JD, Ball EJ, Khan MA. HLA-B27 and genetic predisposing factors in spondyloarthropathies. *Curr Opin Rheumatol*, 2001, 13(4): 265–272. [DOI](#)
- [47] Gonzalez-Galarza FF, Christmas S, Middleton D, Jones AR. Allele frequency net: a database and online repository for immune gene frequencies in worldwide populations. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(Database issue): D913–D919. [DOI](#)
- [48] Li PKT, Poon AS, Tsao SY, Ho S, Tam JS, So AK, Lai KN. No association between HLA-DQ and -DR genotypes with nasopharyngeal carcinoma in southern Chinese. *Cancer Genet Cytogenet*, 1995, 81(1): 42–45. [DOI](#)
- [49] 周劲峰, 郭实士, 余平. 湖南汉族人群HLA-DP、-DQ位点等位基因多态性与鼻咽癌的相关性. *中华医学遗传学杂志*, 2003, 20(3): 90–92. [DOI](#)
- [50] 王志鹏, 郭实士, 余平. 湖南汉族人群HLA-DR位点等位基因多态性与鼻咽癌的相关性研究. *中国病理生理杂志*, 2005, 21(5): 1014–1015, 1025. [DOI](#)
- [51] 王培, 邹华, 丁琳, 陈秋坚, 郑亿庆, 吴玉萍, 徐安龙, 刘宜敏, 孔月萍. 广东汉族鼻咽癌与DPB1-3'调控区多态性相关研究. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2010, 24(6): 261–263. [DOI](#)
- [52] Kulkarni S, Savan R, Qi Y, Gao XJ, Yuki Y, Bass SE, Martin MP, Hunt P, Deeks SG, Telenti A, Pereyra F, Goldstein D, Wolinsky S, Walker B, Young HA, Carrington M. Differential microRNA regulation of HLA-C expression and its association with HIV control. *Nature*, 2011, 472(7344): 495–498. [DOI](#)
- [53] Dorak MT. Role of natural killer cells and killer immunoglobulin-like receptor polymorphisms: association of HLA and KIRs. *Methods Mol Med*, 2007, 134: 123–144. [DOI](#)
- [54] Moretta L, Moretta A. Killer immunoglobulin-like receptors. *Curr Opin Immunol*, 2004, 16(5): 626–633. [DOI](#)
- [55] Khakoo SI, Thio CL, Martin MP, Brooks CR, Gao XJ, Astemborski J, Cheng J, Goedert JJ, Vlahov D, Hilgartner M, Cox S, Little AM, Alexander GJ, Cramp ME, O'Brien SJ, Rosenberg WM, Thomas DL, Carrington M. HLA and NK cell inhibitory receptor genes in resolving hepatitis C virus infection. *Science*, 2004, 305(5685): 872–874. [DOI](#)
- [56] Naumova E, Mihaylova A, Stoitchkov K, Ivanova M, Quin L, Toneva M. Genetic polymorphism of NK receptors and their ligands in melanoma patients: prevalence of inhibitory over activating signals. *Cancer Immunol Immunother*, 2005, 54(2): 172–178. [DOI](#)
- [57] Mingari MC, Ponte M, Vitale C, Bellomo R, Moretta L. Expression of HLA class I-specific inhibitory receptors in human cytolytic T lymphocytes: a regulated mechanism that controls T-cell activation and function. *Hum Immunol*, 2000, 61(1): 44–50. [DOI](#)
- [58] Butsch Kovacic M, Martin M, Gao X, Fuksenko T, Chen CJ, Cheng YJ, Chen JY, Apple R, Hildesheim A, Carrington M. Variation of the killer cell immunoglobulin-like receptors and HLA-C genes in nasopharyngeal carcinoma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14(11 Pt 1): 2673–2677. [DOI](#)
- [59] 卢亮, 金士正, 王大明, 高素青, 邓志辉. 杀伤细胞免疫球蛋白样受体基因多样性与中国南方汉族人群鼻咽癌相关性的研究. *中国实验血液学杂志*, 2011, 19(3): 798–800. [DOI](#)
- [60] Lu CC, Chen JC, Tsai ST, Jin YT, Tsai JC, Chan SH, Su IJ. Nasopharyngeal carcinoma-susceptibility locus is localized to a 132 kb segment containing HLA-A using high-resolution microsatellite mapping. *Int J Cancer*, 2005, 115(5): 742–746. [DOI](#)
- [61] Consortium TWTCC. Genome-wide association study of 14, 000 cases of seven common diseases and 3, 000 shared controls. *Nature*, 2007, 447(7145): 661–678. [DOI](#)
- [62] Feero WG, Gutmacher AE, Manolio TA. Genomewide association studies and assessment of the risk of disease. *N Engl J Med*, 2010, 363(2): 166–176. [DOI](#)
- [63] Ng CC, Yew PY, Puah SM, Krishnan G, Yap LF, Teo SH, Lim PV, Govindaraju S, Ratnavelu K, Sam CK, Takahashi A, Kubo M, Kamatani N, Nakamura Y, Mushiroda T. A genome-wide association study identifies ITGA9 conferring risk of nasopharyngeal carcinoma. *J Hum Genet*, 2009, 54(7): 392–397. [DOI](#)
- [64] Tse KP, Su WH, Chang KP, Tsang NM, Yu CJ, Tang P, See LC, Hsueh C, Yang ML, Hao SP, Li HY, Wang MH, Liao LP, Chen LC, Lin SR, Jorgensen TJ, Chang YS, Shugart



YY. Genome-wide association study reveals multiple nasopharyngeal carcinoma-associated loci within the HLA region at chromosome 6p21. 3. *Am J Hum Genet*, 2009, 85(2): 194–203. [DOI](#)

- [65] Bei JX, Li Y, Jia WH, Feng BJ, Zhou GQ, Chen LZ, Feng QS, Low HQ, Zhang HX, He FC, Tai ES, Kang TB, Liu ET, Liu JJ, Zeng YX. A genome-wide association study of nasopharyngeal carcinoma identifies three new susceptibility loci. *Nat Genet*, 2010, 42(7): 599–603. [DOI](#)