

贵州苗族人群 *MICA* 和 *MICB* 基因多态性及单倍型分析

刘香, 朱武, 余平, 罗奇志*, 王芙艳

(中南大学 基础医学院 免疫学系, 中国湖南 长沙 410013)

摘要: 为了探讨贵州苗族人群主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 类链相关基因(MHC class I chain-related gene, MIC gene) *MICA* 和 *MICB* 的分布特征, 以丰富基因数据库中相关信息, 进而研究某些疾病的遗传特征和进化史, 采用基于序列特异性引物的聚合酶链反应(PCR-sequence-specific primer, PCR-SSP)和基于序列分型的聚合酶链反应(PCR-sequence-based typing, PCR-SBT)检测 150 例中国贵州苗族人群外周血 DNA 样本, 分析该人群的 *MICA* 和 *MICB* 基因分布, 用卡方检验对 *MICA* 和 *MICB* 基因分布频率的差异进行评估。基因分型结果显示, 中国贵州苗族人群中 *MICA**019、*MICA**045、*MICA**008:04、*MICA**002:01、*MICA*-A9、*MICA*-A4、*MICB**005:02 和 *MICB**002 等位基因的频率显著高于其他等位基因。*MICA* 和 *MICB* 等位基因的单倍型分析显示, *MICA**019-*MICB**005:02 和 *MICA**008:04-*MICB**005:02 两种单倍型的分布频率较高, 分别为 17.40% 和 16.30%。PCR-SSP 和 PCR-SBT 分析显示, *MICA**010 与 *MICB**005:02、*MICA**002:01 与 *MICB**005:02 以及 *MICA**009:01 与 *MICB**005:02 这 3 种 *MICA* 和 *MICB* 等位基因存在连锁不平衡($P < 0.01$)。上述结果表明, 中国贵州苗族人群 *MICA* 和 *MICB* 基因具有多态性且存在显著的连锁不平衡。本研究为中国少数民族 MIC 基因序列数据库提供了人群样本数据, 该数据为研究 *MICA* 和 *MICB* 基因在同种异体移植和疾病易感性中的可能作用提供了基础资料。

关键词: 苗族; *MICA* 基因; *MICB* 基因; 基因多态性; 单倍型

中图分类号: Q987.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7847(2023)02-0104-10

Polymorphism and Haplotype Analysis of *MICA* and *MICB* Alleles of Miao Population in Guizhou Province

LIU Xiang, ZHU Wu, YU Ping, LUO Qizhi*, WANG Fuyan

(Department of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Central South University, Changsha 410013, Hunan, China)

Abstract: In order to explore the distribution characteristics of major histocompatibility complex (MHC) class I chain-related (MIC) genes *MICA* and *MICB* in the Miao population of Guizhou to establish a genetic database that can be used to study the genetic characteristics and evolutionary history of certain diseases, PCR-sequence-specific primer (PCR-SSP) and PCR-sequence-based typing (PCR-SBT) methods were used to analyse the distribution of *MICA* and *MICB* genes from 150 Miao people in Guizhou Province by detecting their peripheral blood DNA samples. The differences in the distribution frequencies of *MICA* and *MICB* genes were analyzed and evaluated by the chi-square test. The genotyping results showed that the frequencies of *MICA**019, *MICA**045, *MICA**008:04, *MICA**002:01, *MICA*-A9, *MICA*-A4, *MICB**005:02 and *MICB**002 alleles were significantly higher than those of other alleles in the Miao population. Analysis of *MICA*-*MICB* gene sequence haplotypes revealed that the distribution frequency of *MICA**019-*MICB**005:02 and *MICA**002:01-*MICB**005:02

收稿日期: 2022-10-25; 修回日期: 2023-02-06; 网络首发日期: 2023-03-06

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81572040)

作者简介: 刘香(1997—), 女, 湖南长沙人, 硕士; *通信作者: 罗奇志(1970—), 女, 湖南长沙人, 博士, 高级实验师, 主要从事移植免疫研究, E-mail: luoqz1025@163.com。

*CA*008:04-MICB*005:02* was higher, which were 17.40% and 16.30%, respectively, but only *MICA*010-MICB*005:02*, *MICA*002:01-MICB*005:02* and *MICA*009:01-MICB*005:02* were the *MICA-MICB* haplotypes with significant linkage disequilibrium ($P < 0.01$). These results indicate that the *MICA* and *MICB* genes of Miao people in Guizhou are polymorphic and have significant linkage disequilibrium. The study provides experimental data for improving the MIC gene sequence database of ethnic minorities in China. These results could serve as the basis for future studies on the potential role of *MICA* and *MICB* in allogeneic organ transplantation and disease susceptibility in related ethnic groups.

Key words: Miao people; *MICA*; *MICB*; gene polymorphism; haplotype

(*Life Science Research*, 2023, 27(2): 104–113)

人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)的编码基因是目前已知的人类最复杂的基因,位于 6 号染色体短臂,是追踪人类群体遗传背景的有效工具。主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I 类链相关基因(MHC class I chain-related gene, MIC gene)属非经典 HLA-I 类多态基因,包括 *MICA*、*MICB*、*MICC*、*MICD*、*MICE*、*MICF* 和 *MICG* 7 个家族成员,仅 *MICA* 和 *MICB* 具有编码蛋白质的功能,其余家族成员均为假基因^[1]。遗传标记与疾病相关性的研究,首先需要了解该等位基因的频率和单倍型在不同种族中的分布情况,此类背景调查对构建群体遗传数据库具有非常重要的意义。*MICA* 和 *MICB* 基因的多态性在国内外已被广泛研究,包含中国海南黎族、广西壮族、北方汉族人群以及巴西人群和坦桑尼亚人群等^[2-7]。本团队前期研究发现,在广西壮族、海南黎族、湖南张家界土家族等少数民族人群中,*MICA* 和 *MICB* 等位基因及单倍型的分布与汉族人群不同,这一特征可能与某些疾病存在相关性^[8-12]。

苗族是中国主要的少数民族之一,主要居住于中国贵州省西南部凯里地区。根据 2010 年第六次全国人口普查报告,贵州省总人口为 34 746 468 人,其中少数民族占 36.11%,而苗族人口数居贵州省少数民族首位^[13]。目前,贵州苗族人群中 *MICA* 和 *MICB* 基因的分布特征尚无报道。本研究通过收集中国贵州苗族人群的外周血样本,采用基于序列特异性引物的聚合酶链反应(PCR-sequence-specific primer, PCR-SSP)和基于序列分型的聚合酶链反应(PCR-sequence-based typing, PCR-SBT)两种方法测定 *MICA* 和 *MICB* 基因的分型,进而计算其分布频率,旨在确定贵州苗族人群中 *MICA*、*MICB* 基因的多态性,进一步丰富中国少数民族 MIC 基因数据信息。所获数据将为群体遗传

学、器官移植、疾病易感基因筛选及 MIC 基因的进化等研究提供一定的实验参考,具有重要的免疫遗传学意义。

1 材料与方法

1.1 研究对象

从贵州省贵州医科大学第二附属医院健康体检中心招募 150 名健康的苗族个体,相互之间无亲缘关系。所有参与者均属于完整的苗族血统,即其外祖父母、祖父母及家族中近 3 代人均居住在贵州省西南部凯里地区。参与者包括女性 61 人和男性 89 人,平均年龄 29.76 岁,均签署了知情同意书。研究工作严格遵照伦理委员会的相关要求开展。

1.2 主要试剂

蛋白酶 K 购于美国 Bio-Rad 公司, DNA ladder DL2000 购于康为世纪生物科技股份有限公司, Taq 酶、dNTPs 和 $MgCl_2$ 购于美国 MBI Fermentas 公司, SDS 购于美国 Amresco 公司, BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit 购于美国 Axygen Biosciences 公司, EDTA 购于生工生物工程(上海)股份有限公司, 异丙醇、无水乙醇和 Tris 碱购于杭州双林化工试剂厂。

1.3 外周血 DNA 抽提

利用抗凝管收集 2 mL 新鲜抗凝血,采用世界卫生组织推荐的标准盐析法,根据 DNA 抽提试剂盒(北京天根生化科技有限公司)说明书,从新鲜外周静脉血样本中抽提基因组 DNA^[14],存放于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱。抽提出的 DNA 用试剂盒提供的洗脱缓冲液在无菌条件下溶解,用紫外光微量检测仪分别测定波长在 260 nm 和 280 nm 时已溶解的 DNA 样本的光密度(optical density, OD)值,计算 DNA 样本的浓度和纯度,以 A_{260}/A_{280} 值在 1.6~1.8 范围内为宜。

1.4 *MICA* 和 *MICB* 基因分型的 PCR-SSP 分析

根据不同等位基因核心序列中的碱基差异设计 PCR-SSP。特异性引物仅从其对应的等位基因的核心序列起始扩增,而不与其他类型的核心序列发生退火反应。*MICA* 分型引物参考文献[4]设计,由 67 个引物对组成;通过组合等方式,对每一标本进行 67 个引物对 PCR 反应,根据 PCR 产物有无某产物反应格局可确定该标本的 *MICA* 等位基因型。*MICB* 分型引物设计原理同 *MICA*,分型所用引物也参考文献[4]设计,包括上游引物 21 条,下游引物 18 条,共形成 29 个引物对组合,即实验通过 29 个不同的 PCR 反应格局对 *MICB* 等位基因进行分型。

1.5 *MICA* 和 *MICB* 基因分型的 PCR-SBT 分析

考虑到部分罕见 *MICA* 与 *MICB* 等位基因型别无法用 PCR-SSP 方法分析,需要采用 PCR-SBT 的方法进一步分析,随机抽取部分 DNA 样本,采用 PCR-SBT 方法进一步验证 PCR-SSP 方法的可靠性。对于 PCR-SSP 方法无法检出的 *MICA* 和 *MICB* 基因型也采用 PCR-SBT 方法进行鉴定。

对于 *MICA* 基因分型,设计 1 对引物扩增 *MICA* 基因全长,扩增产物片段横跨 *MICA* 基因序列 2 号外显子至 5 号外显子,其全长为 2.2 kb。引物序列如下: *MICA*-1F, 5'-CGTTCTTGCCCTTTG-CCCCTGTGC-3'; *MICA*-4R, 5'-GAGTGCTTGCC-CCATCCCTTCCCAA-3'。用于测序分析的 4 条寡核苷酸测序引物: *MICA*-CF1, 5'-ATTCCTGCC-CCAGGAAGGTTGG-3'; *MICA*-CR2, 5'-CAACTC-TAGCAGAATTGGAG-3'; *MICA*-CF3, 5'-AAGA-GAAACAGCCCTGTTCTCTCC-3'; *MICA*-CR4, 5'-GATGCTGCCCATTCCTTCCCAA-3'。

对于 *MICB* 基因分型,以 1 对特异性引物扩增 *MICB* 基因 2-5 外显子片段,产物大小约为 2.1 kb。引物序列如下:上游引物 5'-GGACAGCAGACCT-GTGTGTTA-3',下游引物 5'-GGAGATGGGAA-AGCTCCTTT-3'。另外,设计合成了 4 条 *MICB* 基因测序引物: *MICB*-CF1, 5'-GGACAGCAGACCT-GTGTGTTA-3'; *MICB*-CR2, 5'-TGCATCCATAG-CACAGGG-3'; *MICB*-CF3, 5'-CAGGAGTCCACC-CTTGACAT-3'; *MICB*-CR4, 5'-AAAGGAGCTTT-CCCCTCTCC-3'。

PCR 反应扩增体系如下: 10× PCR 缓冲液 2 μL, 20 ng/μL 基因组 DNA 模板 5 μL, 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL, 5 U/μL Taq 聚合酶 0.2 μL, 10 pmol/μL

上下游引物各 1 μL, 超纯水补充至总体积为 20 μL。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 2 min; 94 °C 30 s、68 °C 50 s、72 °C 90 s, 10 个循环; 95 °C 30 s、65 °C 50 s、72 °C 90 s, 25 个循环; 72 °C 10 min, 1 个循环; 4 °C 保温。扩增产物用测序引物和 Big-Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit 在 ABI 3730XL DNA 分析仪上进行测序。测序完成后获得的 *MICA* 和 *MICB* 测序结果用 Chromas Lite 2.01 软件进行分析(<https://technelysium.com.au/wp/chromas/>, 2022-01-05), 扫描多态位点, 进行人工判读, 并与数据库(<https://hla.alleles.org/alleles/classo.html>, 2022-01-06)中的标准序列进行比对, 得出相应的等位基因型。

1.6 统计学分析

采用直接计数法计算 *MICA* 和 *MICB* 等位基因频率。利用在线软件 SHEsis^[15-17] (<http://analysis.bio-x.cn/myanalysis.php>, 2022-01-15)进行哈迪-温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)检验。贵州苗族人群与其他地区人群之间等位基因分布频率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。采用连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)分析 *MICA* 和 *MICB* 单倍型, 计算每个单倍型的连锁不平衡系数 D 、 D' 和 r^2 ^[18-20]。采用 Bonferroni 多重校正法调整 P 值, 校正后的 P 值(即 P_c 值)在 5% 水平上进行检验。

2 结果

2.1 HWE 吻合度检验

对所选择研究对象的 *MICA* 和 *MICB* 等位基因型频率进行 HWE 吻合度检验。结果表明, 所选择的研究对象的 *MICA* 和 *MICB* 等位基因型频率与理论计算的基因型频率无显著性差异($P_c > 0.05$), 符合 HWE 的随机婚配群体。

2.2 *MICA* 和 *MICB* 等位基因的 PCR-SSP 扩增

MICA 和 *MICB* 基因的外显子 2~4 分别编码 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 和 $\alpha 3$ 三个胞外区(图 1A), 其等位基因多态性主要集中在 $\alpha 2$ 和 $\alpha 3$ 结构域。抽提出的 DNA 用试剂盒提供的洗脱缓冲液在无菌条件下溶解, 并用紫外光微量检测仪检测其浓度和纯度, 结果显示, 样本对应的 A_{260}/A_{280} 比值均在 1.6~1.8, 符合实验要求。PCR 扩增时取少量样本并用无菌焦碳酸二乙酯(diethyl pyrocarbonate, DEPC)水稀释到 30 ng/μL, 反应完成后取 6 μL 扩增产物与 1 μL DNA 上样缓冲液混合, 随后在 1× TBE 缓冲液中

电泳。电泳结果显示, *MICA* 和 *MICB* 的条带分别约为 2.2 kb 和 2.1 kb, 与预期扩增条带片段大小一致(图 1B)。经紫外透射仪检测无明显杂带后即完成基因扩增, 最后与 *MICA* 和 *MICB* 分型 PCR 产物扩增的反应格局图进行对照以确定等位基因型别。

2.3 *MICA* 和 *MICB* 等位基因型别的 PCR-SBT 验证

将 SBT 技术获得的测序文件导入 SBT 分型软件 Chromas Lite 2.01, 通过与 *MICA* 和 *MICB* 标准序列比对, 判定 *MICA* 和 *MICB* 的等位基因型别, 获得基因测序峰图。单个峰代表该位点的两个碱基为同一种碱基(纯合, 图 2A), 当同一个碱基位点出现两个重叠峰时, 则说明该位点的两个碱基为不同种的碱基(杂合, 图 2B)。实验结果表明两种方法所得基因型别完全一致。

2.4 贵州苗族人群 *MICA* 和 *MICB* 等位基因的分布频率

在样本中共观察到 11 个 *MICA* 等位基因、5 个 *MICA* 短串联重复序列(short tandem repeat, STR)和 14 个 *MICB* 等位基因, 其等位基因的分布频率见表 1。由表 1 可知, 苗族 *MICA* 等位基因以 *MICA**019 (24.00%)、*MICA**045 (23.67%)、*MICA**008:04 (16.33%) 和 *MICA**002:01 (15.67%) 较为常见,

*MICA**008:02 (0.33%)、*MICA**016 (0.33%)、*MICA**A*028 (0.33%) 和 *MICA**008:01 (0.67%) 等位基因的频率较低; 在 *MICA*-STR 中, A9 (36.67%) 和 A4 (31.67%) 较为常见; 在 *MICB* 等位基因中, *MICB**B*005:02 (54.67%) 和 *MICB**002 (10.33%) 较为常见, *MICB**001 (0.33%)、*MICB**003 (0.33%)、*MICB**B*005:01 (0.67%)、*MICB**006 (0.67%) 和 *MICB**012 (0.67%) 的频率较低。

2.5 贵州苗族人群与其他人群 *MICA* 等位基因频率比较

将中国贵州苗族人群与中国北方汉族^[9]、中国湖南汉族^[21]、中国广东汉族^[22]、中国浙江汉族^[23]以及泰国^[15]、韩国^[16]、日本^[24]等人群进行 *MICA* 等位基因分布频率比较, 结果显示: 在上述比较的各人群中 *MICA**002:01 为常见的等位基因; 与其他人群相比, 中国贵州苗族人群中 *MICA**008:01 和 *MICA**010 的分布频率较低, 而 *MICA**008:04、*MICA**019 和 *MICA**045 的分布频率较高(表 2), 表明中国贵州苗族人群 *MICA* 等位基因有其独特的分布规律。进一步将贵州苗族人群 *MICA*-STR 基因型与广西壮族^[9]、广东汉族^[22]、北方汉族^[9]、湖南汉族^[21]、浙江汉族^[23]和海南黎族^[2]等人群比较(表 3), 结果显示: A5、A5.1 及 A9 在上述比较的各人群中的分布频率均较高; 与广东汉族、北方汉族、浙

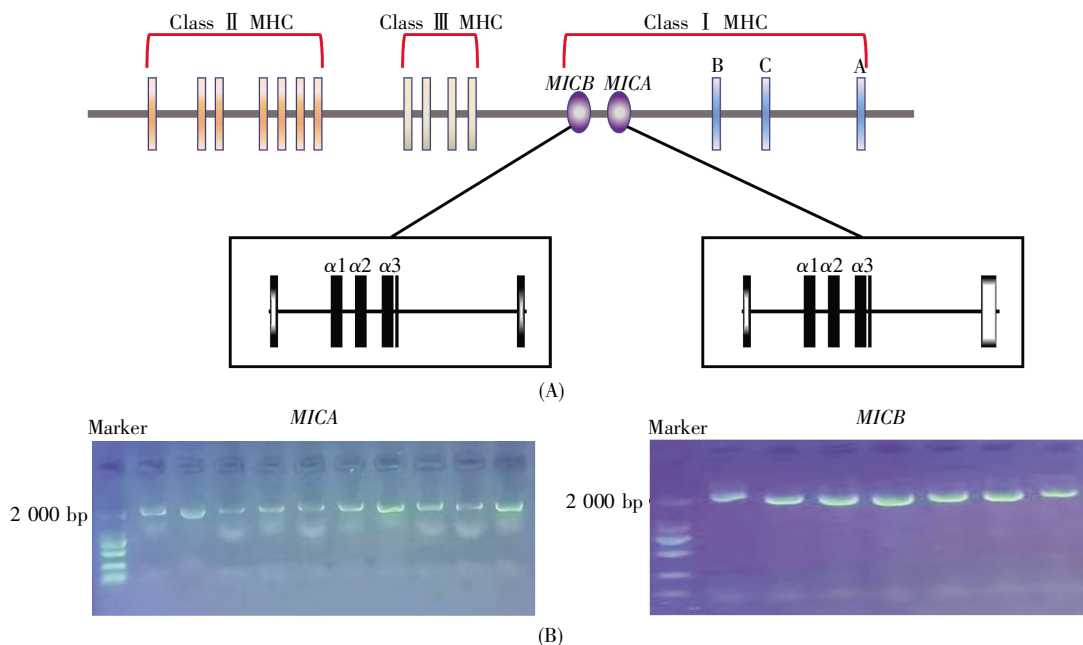


图 1 PCR 扩增 *MICA* 和 *MICB* 等位基因

(A) *MICA* 和 *MICB* 基因结构示意图; (B) *MICA* 和 *MICB* 经 PCR-SSP 方法扩增后的琼脂糖凝胶电泳图。

Fig.1 *MICA* and *MICB* alleles amplified by PCR

(A) Structure diagram of *MICA* and *MICB* genes; (B) Agarose gel electrophoresis of *MICA* and *MICB* amplification products by PCR-SSP method.

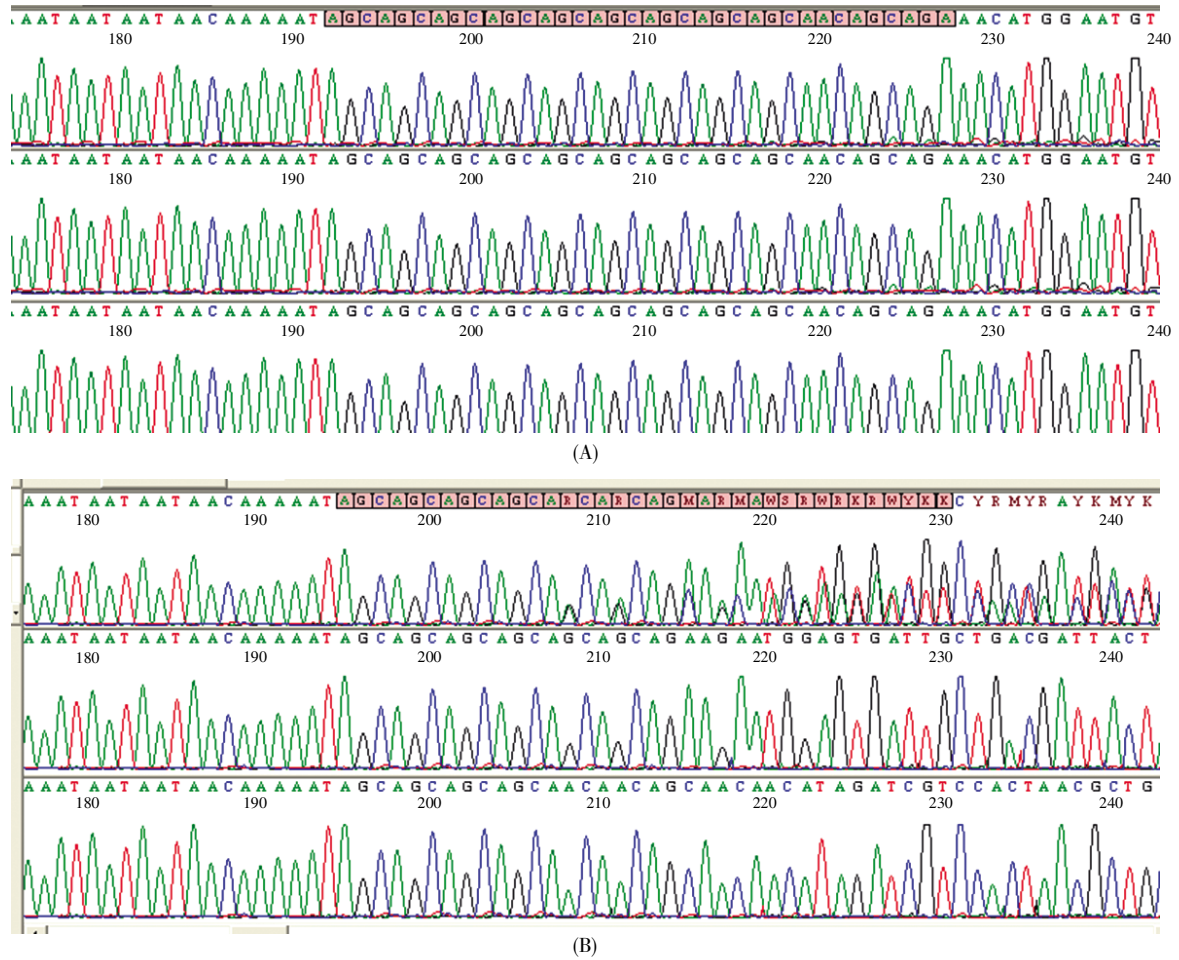


图2 PCR-SBT 技术测序峰图

(A) 纯合子测序峰图, 每个位点都为单峰信号; (B) 杂合子测序峰图, 部分杂合位点出现双峰信号。

Fig.2 Sequencing of *MICA* and *MICB* by PCR-SBT technology

(A) Sequencing peak map of homozygotes, showing the single-peak signal at all loci; (B) Sequencing peak map of heterozygotes, showing the double-peak signal at some heterozygous loci.

表1 贵州苗族人群中 *MICA* 和 *MICB* 等位基因的分布频率
Table 1 Frequency distribution of *MICA* and *MICB* alleles in Guizhou Miao people

Allele	Allele number (2n=300)	Allele frequency/(%)	Allele	Allele number (2n=300)	Allele frequency/(%)
Sequence-allele			Sequence-allele		
<i>MICA</i> *002:01	47	15.67	<i>MICB</i> *001	1	0.33
<i>MICA</i> *008:01	2	0.67	<i>MICB</i> *002	31	10.33
<i>MICA</i> *008:02	1	0.33	<i>MICB</i> *003	1	0.33
<i>MICA</i> *008:04	49	16.33	<i>MICB</i> *005:01	2	0.67
<i>MICA</i> *009:01	7	2.33	<i>MICB</i> *005:02	164	54.67
<i>MICA</i> *010	16	5.33	<i>MICB</i> *006	2	0.67
<i>MICA</i> *012:01	33	11.00	<i>MICB</i> *007	7	2.33
<i>MICA</i> *016	1	0.33	<i>MICB</i> *008	20	6.67
<i>MICA</i> *019	72	24.00	<i>MICB</i> *009N	29	9.67
<i>MICA</i> *028	1	0.33	<i>MICB</i> *011	3	1.00
<i>MICA</i> *045	71	23.67	<i>MICB</i> *012	2	0.67
<i>MICA</i> STR allele			<i>MICB</i> *014	21	7.00
A4	95	31.67	<i>MICB</i> *016	5	1.67
A5	39	13.00	<i>MICB</i> *024	3	1.00
A5.1	40	13.33			
A6	16	5.33			
A9	110	36.67			

表 2 贵州苗族与其他人群 *MICA* 等位基因分布频率的比较
Table 2 Comparison of *MICA* allele frequency distribution between Miao people in Guizhou Province and other ethnic groups

<i>MICA</i> allele	Allele frequency/(%)							
	Chinese population					Thai population ^[15] (2n=510)	Korean population ^[16] (2n=278)	Japanese population ^[24] (2n=260)
	Guizhou Miao population (2n=300)	Beifang Han population ^[3] (2n=208)	Hunan Han population ^[21] (2n=324)	Guangdong Han population ^[22] (2n=288)	Zhejiang Han population ^[23] (2n=200)			
<i>MICA</i> *001			2.78					
<i>MICA</i> *002:01	15.67	12.02	20.06	18.06	15.50	17.65	17.63	14.60
<i>MICA</i> *004		4.81	0.62	0.69	0.50	3.53	8.27	9.20
<i>MICA</i> *006							1.44	
<i>MICA</i> *007:01		1.44		1.74	1.00		3.96	1.20
<i>MICA</i> *007:02				0.35			0.36	
<i>MICA</i> *008:01	0.67	23.08**		16.32**	27.00**	21.37**	14.75**	30.80**
<i>MICA</i> *008:02	0.33	0.48		0.69	1.50		0.36	
<i>MICA</i> *008:04	16.33		40.43					
<i>MICA</i> *009:01	2.33	12.02*	7.72	7.64	8.00	2.35	3.60	16.50*
<i>MICA</i> *009:02		0.48			0.50		0.36	
<i>MICA</i> *010	5.33	18.75*	17.28	22.22**	18.50*	18.23*	19.42*	10.80
<i>MICA</i> *011		0.48	2.47				1.08	
<i>MICA</i> *012:01	11.00	0.96**	4.94*	4.90*	5.00*	3.14*	9.36	12.30
<i>MICA</i> *016	0.33	0.96				0.20		
<i>MICA</i> *017		1.92		0.35		2.16	0.36	
<i>MICA</i> *018		0.48	3.08			6.08		
<i>MICA</i> *019	24.00	3.85*	0.31**	14.93	9.50	15.29	0.36**	3.50*
<i>MICA</i> *020						0.39		
<i>MICA</i> *026						1.37		
<i>MICA</i> *027		5.29		2.08	7.00		5.04	
<i>MICA</i> *028	0.33							
<i>MICA</i> *031			0.31					
<i>MICA</i> *033		0.48						
<i>MICA</i> *045	23.67	8.17*		7.64*	1.50**		3.24*	
<i>MICA</i> *049					3.50		7.91	
<i>MICA</i> *052				0.35		8.24		
<i>MICA</i> *059		0.48						
<i>MICA</i> *061				0.35				
<i>MICA</i> -null	0.34	3.85		1.74	1.00		2.52	1.10

注: 与贵州苗族 *MICA* 等位基因频率相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。后续表格中的统计分析类似。

Notes: Compared with the frequency of *MICA* alleles in the Miao ethnic group of Guizhou, * $P<0.05$, ** $P<0.01$. The marks have the same meanings in following Tables.

表 3 贵州苗族与其他人群 *MICA*-STR 等位基因分布频率的比较
Table 3 Comparison of *MICA*-STR allele frequency distribution between Miao people in Guizhou Province and other ethnic groups

<i>MICA</i> -STR allele	Allele frequency/(%)						
	Guizhou Miao population (2n=300)	Guangxi Zhuang population ^[4] (2n=418)	Guangdong Han population ^[22] (2n=288)	Beifang Han population ^[3] (2n=208)	Hunan Han population ^[21] (2n=324)	Zhejiang Han population ^[23] (2n=200)	Hainan Li population ^[2] (2n=688)
	A4	31.67	25.12	14.58*	11.54*	11.11	7.50**
A5	13.00	34.93	39.58	29.33	17.59	35.00	26.16
A5.1	13.33	20.10	17.01	23.56	40.43	28.50*	17.73
A6	5.33	2.63	8.33*	17.79*	10.80	12.50*	2.04
A9	36.67	15.31	18.75	13.94	20.06	15.50	17.59
STR-null	0	0.91	1.74	3.85	0	1.00	0.87

江汉族人群相比, 贵州苗族人群中 A6 的分布频率显著降低($P<0.05$), 而 A4 的分布频率显著升高

($P<0.05$), 表明贵州苗族人群 *MICA*-STR 等位基因亦有其独特的分布规律。

2.6 贵州苗族人群与其他人群 *MICB* 等位基因频率比较

将中国贵州苗族人群与中国浙江汉族^[23]、中国北方汉族^[3]、中国南方汉族^[25]以及韩国^[16]、西班牙^[26]、威尔士^[27]等人群进行 *MICB* 等位基因分布频率比较(表 4), 结果显示: 在上述比较的人群中 *MICB**002 和 *MICB**005:02 为常见的等位基因; 与其他人群相比, 中国贵州苗族人群中 *MICB**007 和

*MICB**009N 的分布频率较高, 表明中国贵州苗族人群 *MICB* 等位基因有其独特的分布规律。

2.7 *MICA* 与 *MICB* 等位基因连锁不平衡分析

采用 SHEsis 软件计算 *MICA* -*MICB* 连锁不平衡, 结果显示, 在贵州苗族人群样本中单倍型频率>2%的 *MICA* -*MICB* 单倍型有 11 种(表 5), 其中以单倍型 *MICA**019 -*MICB**005:02 和 *MICA**008:04 -*MICB**005:02 为主, 频率分别为 17.40%

表 4 贵州苗族与其他人群 *MICB* 等位基因分布频率的比较

Table 4 Comparison of *MICB* allele frequency distribution between Miao people in Guizhou Province and other ethnic groups

<i>MICB</i> allele	Allele frequency/(%)						
	Chinese population				Korean population ^[16] (2n=278)	Spanish population ^[26] (2n=200)	Welsh population ^[27] (2n=332)
	Guizhou Miao population (2n=300)	Zhejiang Han population ^[23] (2n=200)	Beifang Han population ^[3] (2n=208)	Nanfang Han population ^[25] (2n=402)			
<i>MICB</i> *001	0.33				11.50	17.00	15.70
<i>MICB</i> *002	10.33	12.25	16.35	12.44	2.50	3.50	4.80
<i>MICB</i> *003	0.33	1.75	1.44	0.25	8.30	13.50	25.60
<i>MICB</i> *004		8.37	11.54	7.21		1.00	
<i>MICB</i> *005:01	0.67	5.62	0.48		57.20	48.00	35.50
<i>MICB</i> *005:02	54.67	57.38	51.44	64.93	8.30	4.50	0.90
<i>MICB</i> *005:03			4.33	3.23			
<i>MICB</i> *005:06				0.25			
<i>MICB</i> *006	0.67						
<i>MICB</i> *007	2.33						
<i>MICB</i> *008	6.67	0.88	1.92	3.73	6.80	12.50	15.40
<i>MICB</i> *009N	9.67		3.37	0.25	2.20		
<i>MICB</i> *010				0.25			
<i>MICB</i> *011	1.00						
<i>MICB</i> *012	0.67						
<i>MICB</i> *013							0.30
<i>MICB</i> *014	7.00	3.88	8.65	7.21	3.20		1.80
<i>MICB</i> *016	1.67						
<i>MICB</i> *023			0.48				
<i>MICB</i> *024	1.00						
<i>MICB</i> *026				0.25			

表 5 贵州苗族人群 *MICA* 与 *MICB* 的连锁不平衡分析

Table 5 Linkage disequilibrium analysis between *MICA* and *MICB* in Guizhou Miao people

Haplotype	Haplotype frequency/(%)	<i>D</i>	<i>D'</i>	<i>r</i> ²	<i>P</i>
<i>MICA</i> *010 - <i>MICB</i> *005:02	5.60	0.048	0.616	2.303	<0.001
<i>MICA</i> *019 - <i>MICB</i> *008	6.30	0.058	3.861	3.838	0.225
<i>MICA</i> *019 - <i>MICB</i> *005:02	17.40	0.005	0.159	0.617	0.146
<i>MICA</i> *045 - <i>MICB</i> *009N	9.30	-0.016	-0.644	1.361	0.108
<i>MICA</i> *045 - <i>MICB</i> *014	10.00	0.063	1.960	3.690	0.372
<i>MICA</i> *002:01 - <i>MICB</i> *002	10.00	0.010	2.815	1.086	0.147
<i>MICA</i> *002:01 - <i>MICB</i> *005:02	5.00	0.023	0.084	1.744	<0.001
<i>MICA</i> *008:04 - <i>MICB</i> *005:02	16.30	0.016	0.644	1.361	0.107
<i>MICA</i> *009:01 - <i>MICB</i> *005:02	2.30	0.013	0.506	1.113	<0.001
<i>MICA</i> *012:01 - <i>MICB</i> *007	2.30	0.007	0.300	0.922	0.868
<i>MICA</i> *012:01 - <i>MICB</i> *005:02	7.90	0.058	3.861	3.838	0.225

注: *D*、*D'* 和 *r*² 是 LD 的系数, 代表双等位基因位点间连锁不平衡的强度。

Notes: *D*, *D'* and *r*² are the coefficients of LD, representing the strength of linkage disequilibrium between diallelic loci.

和 16.30%。进一步的分析表明,在贵州苗族人群样本中只有 3 种 *MICA-MICB* 单倍型显示出显著的连锁不平衡,分别为 *MICA*010-MICB*005:02*、*MICA*002:01-MICB*005:02* 和 *MICA*009:01-MICB*005:02* ($P<0.01$)。

3 讨论

目前,国内外尚无关于中国贵州苗族人群 *MICA* 和 *MICB* 基因多态性的研究报道,本研究探讨了贵州苗族人群 *MICA* 和 *MICB* 等位基因的分布特征。我们的研究结果显示,中国贵州苗族人群 *MICA* 和 *MICB* 等位基因存在着高度多样性,具有自己独特的分布特征,这可能与苗族所处的自然环境相关^[28-29]。

MICA 基因多态性的检测结果显示,在中国贵州苗族人群中, *MICA*019*、*MICA*045*、*MICA*008:04* 和 *MICA*002:01* 等位基因的分布频率较高(表 1),为苗族人群的优势等位基因,其频率依次为 24.00%、23.67%、16.33% 和 15.67%; *MICA-STR A9*、*A4* 等位基因的频率亦较高(表 1),分别为 36.67%、31.67%。通过比较不同人群之间 *MICA* 等位基因的频率发现,中国贵州苗族人群中 *MICA*019* 等位基因的频率最高(24.00%),且其频率显著高于其他被比较人群中该等位基因的频率; *MICA*008:01* (0.67%) 和 *MICA*010* (5.33%) 等位基因的频率在中国贵州苗族人群中较低,且均显著低于其他被比较人群(表 2)。贵州苗族与中国其他民族 *MICA-STR* 等位基因分布频率的比较结果(表 3)显示,国内不同民族的 *MICA-STR* 等位基因分布频率存在差异,贵州苗族中 *A4* 的分布频率显著高于广东汉族、北方汉族及浙江汉族, *A6* 的分布频率则显著低于广东汉族、北方汉族及浙江汉族。此外,在所比较的不同人群中, *A9* 在贵州苗族人群中的分布频率最高(表 3)。研究报道, *MICA-null* 等位基因的频率在韩国人群中为 2.52%^[16],在日本人群中为 1.10%^[24],在中国汉族人群中为 1.70%^[23],而本文所得中国贵州苗族人群中的 *MICA-null* 等位基因频率仅为 0.34%。此外, *MICA-null* 等位基因在日本人群中与 *HLA-B*48* 具有连锁不平衡^[30]。

本研究在贵州苗族人群中共检出 14 种 *MICB* 等位基因,其中 *MICB*005:02* 等位基因的频率最高(54.67%),为最常见的等位基因,其在所比较的各人群间的分布频率均较高(35.50%~64.93%); 其

次为 *MICB*002* 等位基因,其频率为 10.33%; *MICB*001* 和 *MICB*003* 等位基因的频率最低,两者频率均为 0.33% (表 4)。此外, *MICB*004* 等位基因在其他 6 个人群中均有检出,但在中国贵州苗族人群中未检出(表 4),这与李沈明等^[31]在中国贵州侗族人群中未检出 *MICB*004:01* 等位基因相似,可能与中国少数民族所处的地理位置及自然环境相关^[28]。

针对正常人群 *MICA* 和 *MICB* 基因多态性的研究有助于了解 *MICA* 和 *MICB* 多态性与疾病的关系。本研究室在既往研究中发现, *MICA* 基因多态性与机体的病原体易感性相关^[32-34]。此外, *MICA* 基因多态性还与肿瘤、某些自身免疫病(如 I 型糖尿病和强直性脊柱炎等)的发生和转归相关^[21, 35-37]。有研究表明,在西班牙人群中, *A4* 与溃疡性结肠炎的发生负相关,而 *A5.1* 与脓肿形成相关^[38]; 在亚洲人群中, *A9* 可能是类风湿性关节炎发生的风险因子^[39]。亦有报道指出, *MICB* 基因多态性与某些疾病存在相关性,例如: *MICB*004* 与多发性硬化和类风湿性关节炎易感性呈正相关^[25, 40]; *MICB*008* 和 *MICB*002* 等位基因与西班牙人的乳糜泻易感性呈正相关^[41],而在中国人群中 *MICB*008* 与溃疡性结肠炎发病正相关^[42]; 在泰国人群中, *MICB*005:02* 与宫颈癌的发生负相关^[43]。此外,越来越多的研究表明, *MICB* 等位基因多态性与口腔鳞状细胞癌、银屑病、精神分裂症等疾病有关^[44-46]。

本研究在 *MICB* 基因座中观察到 *MICB* 等位基因型比例偏离,而在 *MICA* 基因座中没有观察到这种现象。这一结果可能由如下两个原因造成:其一, *MICB* 等位基因的多态性低于 *MICA* 等位基因的多态性;其二, *MICB* 等位基因的多态性较低,在分析 HWE 比例时, SHEsis 软件根据其规则,将该样本群体中几个频率较低的 *MICB* 等位基因忽略不计,从而影响了统计结果。另外,本研究在贵州苗族人群样本中进行了 *MICA-MICB* 等位基因连锁不平衡分析,结果表明, *MICA-MICB* 单倍型以 *MICA*019-MICB*005:02* 和 *MICA*008:04-MICB*005:02* 为主,其频率分别为 17.40% 和 16.30%,但只有 *MICA*010-MICB*005:02*、*MICA*002:01-MICB*005:02* 和 *MICA*009:01-MICB*005:02* 单倍型显示出显著的连锁不平衡($P<0.01$)。

综上所述,在中国贵州苗族人群中 *MICA* 和 *MICB* 基因具有高度多态性。针对正常人群 *MICA* 和 *MICB* 基因多态性的研究是人类基因组多态性

研究的一部分, 这些资料将为进一步研究贵州苗族人群 *MICA* 和 *MICB* 基因在免疫遗传学与疾病易感性方面的作用提供基础, 具有重要的遗传学意义。

参考文献(References):

- [1] LUO Q, GUO X, PENG S, *et al.* The association between *MICA*/*MICB* polymorphism and respiratory syncytial virus infection in children[J]. *International Journal of Immunogenetics*, 2017, 44(6): 328–336.
- [2] LIN L, YANG W, CHEN E, *et al.* MIC gene polymorphism and haplotype diversity in Li nationality of Southern China[J]. *Tissue Antigens*, 2015, 85(1): 45–49.
- [3] LIU X X, TIAN W, LI L X, *et al.* Characterization of the major histocompatibility complex class I chain-related gene B (*MICB*) polymorphism in a northern Chinese Han population: the identification of a new *MICB* allele, *MICB*023*[J]. *Human Immunology*, 2011, 72(9): 727–732.
- [4] CHEN E, LIN L, CHEN C J, *et al.* MIC gene polymorphism and haplotype diversity in Zhuang nationality of Southern China[J]. *Human Immunology*, 2014, 75(9): 953–959.
- [5] JARDULI L R, ALVES H V, DE SOUZA V H, *et al.* Association of *MICA* and HLA-B alleles with leprosy in two endemic populations in Brazil[J]. *International Journal of Immunogenetics*, 2021, 48(1): 25–35.
- [6] ABBAS M, BERKA N, KHRAIWESH M, *et al.* Genetic polymorphisms of TLR4 and *MICA* are associated with severity of trachoma disease in Tanzania[J]. *Autoimmune and Infectious Diseases*, 2016, 2(3): 10.16966/2470-1025.116.
- [7] LIU X X, CHEN X, WEI X M, *et al.* Genetic polymorphism analysis of *MICB* gene in Jing ethnic minority of Southern China[J]. *HLA*, 2018, 92(4): 224–230.
- [8] LUO X J, WANG Y, SHEN A, *et al.* Relationship between the rs2596542 polymorphism in the *MICA* gene promoter and HBV/HCV infection-induced hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. *BMC Medical Genetics*, 2019, 20: 142.
- [9] MARIASELVAM C M, BOUKOUACI W, CHARRON D, *et al.* Association of *MICA*-129 polymorphism and circulating soluble *MICA* level with rheumatoid arthritis in a South Indian Tamil population[J]. *International Journal of Rheumatic Diseases*, 2018, 21(3): 656–663.
- [10] MINGORANCE GÁMEZ C G, MARTÍNEZ CHAMORRO A, MORENO CASARES A M, *et al.* Joint study of the associations of HLA-B and the transmembrane short tandem repeat polymorphism of *MICA* protein with alopecia areata shows independent associations of both with the disease[J]. *Clinical and Experimental Dermatology*, 2020, 45(6): 699–704.
- [11] MARANGÓN C G, DE BITENCORTE J T, MICHITA R T, *et al.* Association between *MICA* rs2596542 polymorphism with the risk of hepatocellular carcinoma in chronic hepatitis C patients[J]. *Pathology & Oncology Research*, 2020, 26(3): 1519–1525.
- [12] KUANG X J, MO D C, QIN Y, *et al.* Single nucleotide polymorphism of rs2596542 and the risk of hepatocellular carcinoma development: a meta-analysis[J]. *Medicine*, 2019, 98(11): e14767.
- [13] 国务院第六次全国人口普查办公室, 国家统计局人口和就业统计司. 2010年第六次全国人口普查主要数据[M]. 北京: 中国统计出版社(Office of the Sixth National Population Census of the State Council, Population and Employment Statistics Department of the National Bureau of Statistics. Major Figures on 2010 Population Census of China[M]. Beijing: China Statistics Press), 2011.
- [14] 李晓晓, 赵焕英, 杨云廷, 等. 三种人全血基因组 DNA 提取方法的比较[J]. *现代生物医学进展*(LI Xiaoxiao, ZHAO Huanying, YANG Yunting, *et al.* Comparing the three methods to extract human genomic DNA from whole blood[J]. *Progress in Modern Biomedicine*), 2013, 13(27): 5221–5225.
- [15] ROMPHRUK A V, NARUSE T K, ROMPHRUK A, *et al.* Diversity of *MICA* (PERB11.1) and HLA haplotypes in northeastern Thais[J]. *Tissue Antigens*, 2001, 58(2): 83–89.
- [16] SOHN Y H, CHA C H, OH H B, *et al.* *MICA* polymorphisms and haplotypes with *HLA -B* and *HLA -DRB1* in Koreans[J]. *Tissue Antigens*, 2010, 75(1): 48–55.
- [17] KLASBERG S, SURENDRANATH V, LANGE V, *et al.* Bioinformatics strategies, challenges, and opportunities for next generation sequencing-based HLA genotyping[J]. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 2019, 46(5): 312–325.
- [18] 王东梅, 刘娜, 王丽君, 等. 北方汉族 *MICA* 基因遗传多态性及与 *HLA-B* 连锁不平衡研究[J]. *中国输血杂志*(WANG Dongmei, LIU Na, WANG Lijun, *et al.* Genetic polymorphism of *MICA* gene and its linkage disequilibrium with *HLA -B* in Northern Han population[J]. *Chinese Journal of Blood Transfusion*), 2019, 32(5): 423–426.
- [19] 申成凯, 赵海军, 孙代同, 等. 白细胞介素-1B 基因连锁不平衡分析与骨性关节炎发病率的关系[J]. *中华实验外科杂志*(SHEN Chengkai, ZHAO Haijun, SUN Daitong, *et al.* Correlation study of interleukin-1B gene linkage disequilibrium and the incidence of osteoarthritis[J]. *Chinese Journal of Experimental Surgery*), 2018, 35(9): 1761–1763.
- [20] DEVLIN B, RISCH N. A comparison of linkage disequilibrium measures for fine-scale mapping[J]. *Genomics*, 1995, 29(2): 311–322.
- [21] LUO Q Z, LIN L, GONG Z, *et al.* Positive association of major histocompatibility complex class I chain-related gene A polymorphism with leukemia susceptibility in the people of Han nationality of Southern China[J]. *Tissue Antigens*, 2011, 78(3): 178–184.
- [22] 冯明亮, 张景怡, 谢军华, 等. 广州地区 106 例汉族人群 *MICA* 和 *MICB* 微卫星基因座单体型研究[J]. *遗传*(FENG Mingliang, ZHANG Jingyi, XIE Junhua, *et al.* The study on the haplotype of *MICA* and *MICB* microsatellite locus in Guangzhou Han population[J]. *Hereditas* (Beijing), 2004, 26(3): 291–294.
- [23] XU X Z, XIA W J, TIAN L W, *et al.* Distribution of *MICA* haplotypes in a Chinese Han population[J]. *Human Immunology*, 2012, 73(1): 75–79.
- [24] AHMAD T, MARSHALL S E, MULCAHY-HAWES K, *et al.* High resolution MIC genotyping: design and application to the investigation of inflammatory bowel disease susceptibility[J]. *Tissue Antigens*, 2002, 60(2): 164–179.
- [25] LIU X X, LI L X, PAN F H, *et al.* *MICB* polymorphism in a southern Chinese Han population: the identification of two new *MICB* alleles, *MICB*005:06* and *MICB*026*[J]. *Human Immunology*, 2012, 73(8): 818–823.
- [26] GONZÁLEZ S, RODRÍGUEZ-RODERO S, MARTÍNEZ-BORRA J, *et al.* *MICB* typing by PCR amplification with sequence specific primers[J]. *Immunogenetics*, 2003, 54(12): 850–855.
- [27] REES M T, DOWNING J, DARKE C. A typing system for the major histocompatibility complex class I chain related genes A and B using polymerase chain reaction with sequence-specific primers[J]. *Genetic Testing*, 2005, 9(2): 93–110.
- [28] 霍晓丽. 贵州苗族酸文化的应用与发展[J]. *四川旅游学院学报*(HUO Xiaoli. The application and development of Miao's sour diet culture in Guizhou[J]. *Journal of Sichuan Tourism University*), 2020(1): 11–15.

- [29] 林小峰, 陈兴燕. 贵州苗族黔东南方言区青年群体的语言使用态度调查分析[J]. 黔南民族师范学院学报(LIN Xiaofeng, CHEN Xingyan. The language attitude and the identity self-consciousness of Hmong youth today[J]. Journal of Qiannan Normal University for Nationalities), 2017, 37(6): 20–22, 31.
- [30] EXCOFFIER L, SLATKIN M. Maximum-likelihood estimation of molecular haplotype frequencies in a diploid population[J]. Molecular Biology and Evolution, 1995, 12(5): 921–927.
- [31] 李沈明, 陈富超, 陈纯静, 等. 贵州侗族人群 *MICB* 等位基因多态性研究[J]. 激光生物学报(LI Shenming, CHEN Fuchao, CHEN Chunjing, et al. Study on the allele polymorphism of *MICB* in Dong nationality of Guizhou[J]. Acta Laser Biology Sinica), 2017, 26(2): 162–167.
- [32] MEI B, DU K, HUO Z, et al. Discrepant effects of *Chlamydia trachomatis* infection on *MICA* expression of HeLa and U373 cells[J]. Infection, Genetics and Evolution, 2010, 10(6): 740–745.
- [33] MEI B, LUO Q Z, DU K, et al. Association of *MICA* gene polymorphisms with *Chlamydia trachomatis* infection and related tubal pathology in infertile women[J]. Human Reproduction, 2009, 24(12): 3090–3095.
- [34] GONG Z, LUO Q Z, LIN L, et al. Association of *MICA* gene polymorphisms with liver fibrosis in schistosomiasis patients in the Dongting Lake region[J]. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, 2012, 45(3): 222–229.
- [35] HUGHES E H, COLLINS R W M, KONDEATIS E, et al. Associations of major histocompatibility complex class I chain-related molecule polymorphisms with Behcet's disease in Caucasian patients[J]. Tissue Antigens, 2005, 66(3): 195–199.
- [36] GUPTA M, NIKITINA-ZAKE L, ZARGHAMI M, et al. Association between the transmembrane region polymorphism of MHC class I chain related gene-A and type 1 diabetes mellitus in Sweden[J]. Human Immunology, 2003, 64(5): 553–561.
- [37] JIANG X, ZOU Y, HUO Z, et al. Association of major histocompatibility complex class I chain-related gene A microsatellite polymorphism and hepatocellular carcinoma in South China Han population[J]. Tissue Antigens, 2011, 78(2): 143–147.
- [38] MARTINEZ-CHAMORRO A, MORENO A, GÓMEZ-GARCÍA M, et al. *MICA**A4 protects against ulcerative colitis, whereas *MICA**A5.1 is associated with abscess formation and age of onset[J]. Clinical and Experimental Immunology, 2016, 184(3): 323–331.
- [39] LEE Y H, BAE S C, KIM J H, et al. Meta-analysis of the association between functional *MICA*-TM polymorphisms and systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis[J]. Zeitschrift für Rheumatologie, 2015, 74(2): 146–152.
- [40] FERNANDEZ-MORERA J L, RODRIGUEZ-RODERO S, TUNON A, et al. Genetic influence of the nonclassical major histocompatibility complex class I molecule *MICB* in multiple sclerosis susceptibility[J]. Tissue Antigens, 2008, 72(1): 54–59.
- [41] RODRIGUEZ-RODERO S, RODRIGO L, FDEZ-MORERA J L, et al. MHC class I chain-related gene B promoter polymorphisms and celiac disease[J]. Human Immunology, 2006, 67(3): 208–214.
- [42] LI Y, XIA B, LÜ M, et al. *MICB*0106 gene polymorphism is associated with ulcerative colitis in central China[J]. International Journal of Colorectal Disease, 2010, 25(2): 153–159.
- [43] JUMNAINSONG A, JEANANAIKON P, KHAHMAHPAHTHE S, et al. Associations of *MICB* with cervical cancer in north-eastern Thais: identification of major histocompatibility complex class I chain-related gene B motifs influencing natural killer cell activation[J]. Clinical and Experimental Immunology, 2008, 153(2): 205–213.
- [44] IVANOVA M, AL HADRA B, YORDANOV S, et al. Associations of high-resolution-typing-defined *MICA* and *MICB* polymorphisms, and the levels of soluble *MICA* and *MICB* with oral squamous cell carcinoma in Bulgarian patients[J]. Journal of Oral Pathology & Medicine, 2021, 50(8): 758–765.
- [45] MORELLI M, GALLUZZO M, MADONNA S, et al. *HLA-Cw6* and other *HLA-C* alleles, as well as *MICB-DT*, *DDX58* and *TYK2* genetic variants associate with optimal response to anti-IL-17A treatment in patients with psoriasis[J]. Expert Opinion on Biological Therapy, 2021, 21(2): 259–270.
- [46] MALAVIA T A, CHAPARALA S, WOOD J, et al. Generating testable hypotheses for schizophrenia and rheumatoid arthritis pathogenesis by integrating epidemiological, genomic, and protein interaction data[J]. NPJ Schizophrenia, 2017, 3: 11.

(上接第 103 页)

- [10] AVKIRAN M, ROWLAND A J, CUELLO F, et al. Protein kinase D in the cardiovascular system: emerging roles in health and disease[J]. Circulation Research, 2008, 102(2): 157–163.
- [11] JAGGI M, DU C, ZHANG W G, et al. Protein kinase D1: a protein of emerging translational interest[J]. Frontiers in Bioscience, 2007, 12: 3757–3767.
- [12] VEGA R B, HARRISON B C, MEADOWS E, et al. Protein kinases C and D mediate agonist-dependent cardiac hypertrophy through nuclear export of histone deacetylase 5[J]. Molecular and Cellular Biology, 2004, 24(19): 8374–8385.
- [13] XU Q, STEMPLE D, JOUBIN K. Microinjection and cell transplantation in zebrafish embryos[J]. Methods in Molecular Biology, 2008, 461: 513–520.
- [14] JOHANNES F J, PRESTLE J, EIS S, et al. PKCu is a novel, atypical member of the protein kinase C family[J]. Journal of Biological Chemistry, 1994, 269(8): 6140–6148.
- [15] SHAHEEN R, AL HASHEM A, ALGHAMDI M H, et al. Positional mapping of *PRKD1*, *NRP1* and *PRDM1* as novel candidate disease genes in truncus arteriosus[J]. Journal of Medical Genetics, 2015, 52(5): 322–329.
- [16] MISKA E A, KARLSSON C, LANGLEY E, et al. HDAC4 deacetylase associates with and represses the MEF2 transcription factor[J]. The EMBO Journal, 1999, 18(18): 5099–5107.
- [17] AICART-RAMOS C, HE S D Q, LAND M, et al. A novel conserved domain mediates dimerization of protein kinase D (PKD) isoforms: dimerization is essential for PKD-dependent regulation of secretion and innate immunity[J]. Journal of Biological Chemistry, 2016, 291(45): 23516–23531.