



•论 著•

H-Y 抗原的研究进展及其法医学应用前景

张尔力 1*

(1. 湖南警察学院, 湖南长沙 410138)

The research progress of H-Y antigen and its application prospect

Er-li Zhang 1*

(Hunan Police Academy, ChangSha, 410138)

Abstract: Through the discovery process of Histocompatibility-Y antigen, coding genes and the antigen in other fields of research status, summing up the application of Histocompatibility-Y antigen in forensic medicine of two trends: quick sex determination, separating mixed stains material evidence of male cells and female cells, the forensic science field research and practical application will have important guiding significance.

Keywords: Histocompatibility-Y antigen, research status, forensic medicine application

中图分类号: R256.12

文献标识码: A

文章编号: 1009-5187(2017)21-056-02

摘要:通过对H-Y抗原的发现过程、编码基因以及该抗原在其他领域的研究现状进行总结,归纳出H-Y抗原在法医学的应用的两大趋势:快速性别鉴定、制备抗体用于分离混合斑物证中的男性与女性体细胞,对法医学相关领域研究和实战应用具有重要的指导意义。

关键词: H-Y抗原; H-Y抗原的研究现状; H-Y抗原的法医学应用

H-Y抗原(Histocompatibility-Y antigen),又叫雄性特异性次要组织相容性抗原,目前已被研究证实以糖蛋白的形式普遍存在于哺乳类动物含有Y染色体的细胞膜表面,是由编码在Y染色体上的序列表达形成的雄性细胞特有的抗原[1]。由于H-Y抗原具有这些特性,就为法医学中生物物证的快速性别鉴定以及性犯罪案件中男性与女性细胞的分离方法研究提供了一种新的可能性。

一、H-Y 抗原的研究进展

(一) H-Y 抗原的发现

早在1955年, Eichwald和Silmsner[2]在对异性小鼠进行皮肤移植的过程中发现,雌性小鼠对来自雄性小鼠的移植物有很强的排斥反应,而雄性小鼠却能够接受雌性小鼠的移植物,其他实验组合(雄性与雄性之间、雌性与雌性之间)的移植不会出现类似反应,由此推断在雄性动物的体细胞表面存在一种特异性的物质。此后,许多实验室相继证实了雄性特异性抗原的存在。1972年,在血清检测中发现了男性特异性抗原,因为它们对男性的依赖性相似,所以被认为是与H-Y相同的抗原。1977年,研究发现该抗原在哺乳动物中由Y染色体决定的,由此被定义为组织相容性-Y型或H-Y型。

(二) H-Y 抗原在其他领域的研究现状

虽然H-Y抗原在法医领域的研究仅仅在起步阶段,但是在其他领域的研究已经较为成熟。性别研究方面, H-Y抗原的结构基因与人类睾丸启动的分化密切相关,也就是具有启动性别分化的作用。阎萍[3]通过H-Y精子免疫法性别化精液技术以及其他胚胎性别控制技术,提高了动物的繁殖力。曹文广[4]等人用H-Y单克隆抗体成功鉴定了家兔和小鼠胚胎性别。在器官移植方面, Steven[5]等发现在肾移植中可能产生的H-Y效应,并且指出男性捐献的肾脏比女性的适用性更好。

(三) H-Y 抗原的编码基因

研究发现, H-Y抗原的结构基因位于Y染色体上。也就是说,在人体的所有含有Y染色体的细胞表面都能够表达H-Y抗原。目前,已经研究发现有SMCY、UTY、DBY、DFFRY、RPS4Y、TMSB4Y等多个编码H-Y抗原的候选基因,这些基因都位于Y染色体的非重组区,只在雄性的组织中表达。而SMCX、UTX、DBX、RPS4X、TMSB4X这些位于X染色体上的类似基因则在雌、雄性体细胞上的表达没有特异性,也就是说这些抗原在雌性和雄性的组织中都会表达。

SMCY基因(selected mouse cDNA on Y),又名KDM5D基因(Lysine-Specific Demethylase 5D),是第一个确定的H-Y抗原候选基因。它在X染色体上的相似基因SMCX有80%以上的同源性,该基因在不同物种间的存在有很强的保守性,比如在人、马和小鼠的SMCY/SMCX基因在染色体上编码序列高度相似,并且差别非常小[6]。人类的SMCY基因定位于Yq11, Y染色体长臂AZFb区,基因长度46525bp, Miklos[7]等人研究发现,该基因编码1500多个氨基酸序列,并且与X染色体上的SMCX有很高的同源性,但是仍然有200多个氨基酸与X染色体上的SMCX不同,有可能编码产生性别特异性肽段。这就为SMCY基因及其编码产物的性别特异性研究提供了可行性。

UTY基因(ubiquitously transcribed tetratricopeptide repeat containing, Y-linked),人类的UTY基因定位于Yq11, Y染色体短臂Sxrb区,基因长度249901bp,含有45个外显子,有一个可能与蛋白质间的相互作用相关的重复序列。主要在人的外周血细胞、胸腺、脾脏、睾丸和前列腺细胞中表达。X染色体上与其相似的UTX基因则主要在肝脏和大脑中表达[8]。

DBY基因又称为DDX3Y基因(dead-box helicase 3, Y-linked),人类的DBY基因定位于Yq11, Y染色体短臂AZFa区域,含有19个外显子,基因长度16371bp,编码一种ATP依赖性RNA解螺旋酶,这种酶由约660个氨基酸组成。DBY氨基酸残基序列与X染色体上与其相似的DBX基因编码出的肽有90%以上的同源性,有三个氨基酸序列不同,这也是异性移植过程中产生排斥反应的一个重要原因[9]。

DFFRY基因又称为USP9Y基因(ubiquitin specific peptidase 9, Y-linked),定位于Y11.2, Y染色体短臂AZFa区,基因长度约159614bp。它含有46个外显子,在X染色体上的相似基因DFFRX有89%相同。DFFRY基因在成年人和胚胎组织中广泛表达,是精子的发生过程中Y连锁的主要基因之一,目前在男性无精症患者以及男性生殖

作者简介: 张尔力(1987—),女,土家族,湖南张家界人,湖南警察学院刑事科学技术系助教,医学硕士,研究方向为法医遗传学。



细胞缺陷患者中,发现了该基因的缺失[10]。

RPS4Y 基因(ribosomal protein S4, Y-linked)又称 RPS4Y1 基因,定位于 Yp11.3,含有 8 个外显子,基因长度 25375bp,该基因编码与移植抗宿主反应相关的蛋白。

TMSB4Y 基因(thymosin beta 4, Y-linked)定位于 Yq11.221,含有 2 个外显子,基因长度为 2458bp。不同于其他传统的位于可读框的编码 H-Y 抗原的基因,在 TMSB4Y 基因的 5' -非编码区有一个 H-Y 抗原编码序列。TMSB4Y 基因在男性的血液中表达[11]。

(四) 抗 H-Y 抗原抗体的研究现状

H-Y 抗原的发现,使得人们很快认识到其在动物性别分化中和性别鉴定中的重要价值。由于 H-Y 抗原属于弱抗原,在哺乳动物之间序列高度保守,所以很难用普通的免疫学方法得到高效的特异性抗体,导致目前还不能利用抗 H-Y 抗原抗体高效地开展性别鉴定的工作。所以,通过一定的方法制备出高效的抗 H-Y 抗原抗体,对于我们开展更加深入的研究有非常重要的意义。到目前为止,抗 H-Y 抗原抗体的制备主要有三种技术途径:皮肤移植技术[12]、细胞免疫技术和分子生物学技术。组织移植技术,最早是将雄鼠的皮肤移植到雌鼠身上,通过雌鼠的免疫排斥反应得到抗体,但是这种方法进行移植操作复杂,从血清中提取抗体的步骤也很繁琐;第二种是将雄性小鼠的组织细胞作为免疫原对雌性进行免疫,再提取雌性血清中的抗体,这种方法比皮肤移植简单,维持了很长的时间。第三种方法,是目前研究最多的,它是将抗 H-Y 抗原抗体的蛋白序列解开,通过基因表达重组的方法,得到重组蛋白,这个方法可以保留并提高 H-Y 抗原的免疫特性,并且解决了免疫过程中的繁琐步骤的问题,但是这种方法产生的抗体还需要进一步提纯和浓缩。

二、H-Y 抗原的法医学应用前景展望

虽然 H-Y 抗原研究已久,但在法医学领域只在起步阶段,还有很广阔的研究前景。

一般法医学中用于区分男女性别的方式主要是对人类体细胞中的 DNA 进行检测,但是这一方式往往耗时较长,程序比较复杂,往往要 6-8 小时才能得到最后结果,如果能够将 H-Y 抗原制备成相关抗体与荧光物质进行偶联,制备成为便携式的试剂,则可能实现对生物物证的性别的快速识别。

另外,法医学研究的一些刑事案件,比如强奸案、性侵害案,嫌疑人和受害者常常会在犯罪现场遗留一些特殊的生物物证,主要由男性精子或者上皮细胞与女皮细胞性的上皮细胞混合组成,而往往是这些混合斑物证,成为了法医实验室的疑难检材。如何将男性和女性细胞成分分开,得到两个个体的 DNA,对于确定嫌疑人身份、认定死者身份都起到至关重要的作用,是侦查破案的关键。目前较为有效的方式是差异裂解法和细胞捕获法[13],但是这些方法各有缺点,前者容易出现。分离不全或者过度消化的情况,导致最后的 DNA 分型出现混合分型或者位点丢失;后一种方法结果准确,但是仪器设备价格高昂,对操作人员的技术要求高,基层办案难以普及配备。而免疫磁珠法,目前也只能实现精子与上皮细胞的分离。

随着免疫磁珠技术和抗体制备技术的成熟与发展[14],可以生产高效的抗 H-Y 抗原抗体,包裹在磁性微球表面,制备成新型免疫磁珠。由于 H-Y 抗原以糖蛋白的形式广泛存在于人类含有 Y 染色体的细胞膜表面,所以,用抗 H-Y 抗原抗体免疫磁珠去捕获含有 Y 染色体的细胞,

通过磁珠表面的抗体与细胞表面的抗原结合,外加磁场吸附,就能够实现把男性体细胞从混合斑中分离出来的目的。继而将男性体细胞的 DNA 进行测序,最终得到男性的 DNA-STR 分型。

三、结语

随着免疫学和分子生物学的进一步发展和法医学界对 H-Y 抗原的更加深入全面的研究,相信在不久的将来,H-Y 抗原在法医学的应用必定会有新的发展。

参考文献:

- [1] Lyer S V, Nandedkar T D, Hegde U C. Production of H-Y antibody in the ascites fluid of mouse and localization of the antigen on cells and tissues[J]. Gamete Research, 1989, 22(1): 37-49.
- [2] Eichwald E J, Silmsker C R. Skin[J]. Transplant Bull, 1955, 2: 148-149.
- [3] 阎萍. 生殖免疫技术在动物繁殖中的应用[J]. 中国草食动物, 2007, 24(3): 52-54.
- [4] 曹文广, 董伟, 毛尧伴. 应用 H-Y 单克隆抗体鉴定小鼠和家兔胚胎性别[J]. 畜牧兽医学报, 1993, 27(12): 506-511.
- [5] Steven Wagner, MD, H-Y Antigen in Kidney Transplant: Does Gender Matter?[J]. Gender Medicine, 2012, 5(9): 387-388.
- [6] Wang W, Meadows T R, Den Haan J M, et al. Human H-Y: A Male-specific Histocompatibility Antigen Derived from the SMCY Protein[J]. Science, 1995, 269(5230): 1588-1590.
- [7] Miklos D B, Kim H T, Miller K H, et al. Antibody responses to H-Y minor histocompatibility antigens correlate with chronic graft-versus-host disease and disease remission[J]. Biology of Blood & Marrow Transplantation, 2004, 10(7): 18-19.
- [8] Warren E H, Gavin M A, Simpson E, et al. The human UTY gene encodes a novel HLA-B8-restricted H-Y antigen[J]. Journal of Immunology, 2000, 164(5): 2807-2814.
- [9] Vogt M H, Van Den Muijsenberg J W, Goulmy E, et al. The DBY gene codes for an HLA-DQ5-restricted human male-specific minor histocompatibility antigen involved in graft-versus-host disease[J]. Blood, 2002, 99(8): 3027-3032.
- [10] Spierings E, Vermeulen C J, Vogt M H, et al. Identification of HLA class II -restricted H-Y-specific T-helper epitope evoking CD4+ T-helper cells in H-Y-mismatched transplantation[J]. Lancet, 2003, 362(9384): 610-615.
- [11] Wachte I G M, Wachte I S S, Nakamura D, et al. H-Y antibodies recognize the H-Y transplantation antigen[J]. Transplantation, 1984, 37(1): 8-13.
- [12] Bilingham R E, Silvers W K. Induction of tolerance of skin isografts from male donors in female mice. Science, 1958, 128: 780.
- [13] 赵兴春, 姜伯玮. 精子细胞定向捕获与分离技术初步研究[J]. 刑事技术, 2012 (1): 14-17.
- [14] 郭磊, 刘晓芳, 韩莹, 王燕, 赵兴春, 叶健. 免疫磁珠技术和精子抗原研究进展与法医学应用[J]. 中国法医学杂志, 2012(03): 212-214.