

• 临床检验研究论著 •

Sp110 基因 rs1135791、rs2114592 多态性与乙型肝炎易感相关性研究*

叶芳丽, 张平安[△], 祝成亮

(武汉大学人民医院检验科, 湖北武汉 430060)

摘要:目的 探讨 Sp110 基因 rs1135791、rs2114592 多态性与乙型肝炎易感性的相关性。方法 各选取 100 例武汉地区 HBV DNA 阳性的乙型肝炎患者和 100 例健康对照者, 采用 PCR 扩增和 DNA 测序的方法检测 Sp110 基因 rs1135791C/T 位点和 rs2114592 C/T 位点基因型, 运用 χ^2 检验比较其基因型频率差异。结果 乙型肝炎组 Sp110 基因 rs1135791C/C、C/T 和 T/T 基因型频率分别为 79%、8% 和 13%, 对照组分别为 83%、5% 和 12%, 两组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); Sp110 基因 rs2114592 C/C、C/T 和 T/T 基因型在乙型肝炎组分布频率分别为 86%、7% 和 7%, 正常对照组分别为 87%、5% 和 8%, 两组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 Sp110 基因 rs1135791、rs2114592 多态性与武汉地区乙型肝炎的易感性无关。

关键词:肝炎, 乙型; 基因; 多态现象, 遗传; 聚合酶链反应

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.18.005

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2013)18-2362-02

Study on correlation between the polymorphism of RS1135791 and RS2114592 of SP110 gene and hepatitis B virus*

Ye Fangli, Zhang Ping'an[△], Zhu Chengliang

(Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between the polymorphism of rs1135791 and rs2114592 of Sp110 gene and hepatitis B virus. **Methods** Selected 100 hepatitis B patients which HBV DNA was positive in Wuhan area and 100 healthy subjects as control. Detected rs1135791C/T and rs2114592 C/T in Sp110 gene using PCR amplification and DNA sequencing, compared the frequency differences of genotype by chi-square test. **Results** The genotypes of rs1135791 mutation in Sp110 in group of hepatitis B were C/C, C/T, T/T. The frequency of these genotypes was respectively 79%, 8% and 13%, the group of control was respectively 83%, 5% and 13%. Two groups had no statistical significance ($P > 0.05$). The genotypes of rs2114592 mutation in Sp110 in group of hepatitis B were also C/C, C/T, T/T. The frequency of these genotypes was respectively 86%, 7% and 7%, the group of control was respectively 87%, 5% and 8%. Two groups had no statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusion** Polymorphism of rs1135791C/T and rs2114592 C/T in Sp110 gene have independent association with susceptibility of hepatitis B in Wuhan area.

Key words: hepatitis B; genes; polymorphism, genetic; polymerase chain reaction

乙型肝炎是一种严重危害人类健康的传染性疾病, 研究表明除了病毒自身影响外, 乙型肝炎病毒(HBV)感染的不同结果可能与基因多态性的个体遗传因素存在重要的联系。Sp110 是核体蛋白 Sp100/Sp140 家族中的一员, 是核体的组成部分, 编码白细胞特异性核体蛋白。已研究表明, Sp110 基因 rs1135791、rs722555 多态性与结核病具有一定相关性^[1], 但是 Sp110 基因多态性与 HBV 的易感性在国内报道较少。本文采用病例对照研究和聚合酶链反应(PCR)结合 DNA 测序技术, 探讨 Sp110 基因 rs1135791、rs2114592 位点多态性与乙型肝炎易感性的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年武汉地区年龄 20~60 岁 HBV DNA 阳性的乙型肝炎患者 100 例(乙型肝炎组), 其中男 68 例, 女 32 例。同期选取 100 例健康者为对照组, 其中男 78 例, 女 22 例, 年龄(30.7±10.0)岁。所有研究对象均于清晨静脉抽血, 用于基因组 DNA 提取。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 采用 LifeFeng 细胞/血液基因组 DNA 提取试剂盒, 提取待测标本全血基因组 DNA, -20℃ 保存备用。

1.2.2 SNP 位点选择 在 NCBI 的 dbSNP 数据库, 范围从 5' 端启动区到 3' 端调控区, 以外显子的突变为主, 筛选出 Sp110

基因 rs1135791C/T、rs2114592C/T 两个 SNP 位点为对象。

1.2.3 基因多态性分析 采用专用引物软件 primer 5.0 设计引物, 序列如下: rs1135791 上游引物: 5'-TAC TCC TTC CAC CTC ACA-3', 下游引物: 5'-TGC TCT TAA AGC TCC ACT-3'。rs2114592 上游引物: 5'-TTA TGG CTT CAA GTT CTC-3', 下游引物: 5'-GAA TAA ACT GTG CTG GGT-3'。rs1135791 位点 PCR 反应体系为: Buffer 10 μL, H₂O 7 μL, 引物 1 μL, 模板 2 μL, 共 20 μL。PCR 条件为: 预变性 42℃ 4 min, 95℃ 3 min, 变性 94℃ 3 s, 退火 51℃ 50 s, 延伸 72℃ 50 s, 循环 35 次后终末延伸 72℃ 10 min。rs2114592 位点 PCR 反应体系为: Buffer 10 μL, H₂O 6 μL, 引物 1 μL, 模板 3 μL, 共 20 μL。PCR 反应条件为: 预变性 42℃ 4 min, 95℃ 3 min, 变性 94℃ 3 s, 退火 57℃ 50 s, 延伸 72℃ 50 s, 循环 35 次后终末延伸 72℃ 10 min。Sp110 基因 rs1135791C/T、rs2114592C/T 两个位点扩增片段大小分别为 341 bp 和 382 bp。扩增产物凝胶回收后, 在 ABI3130 测序分析仪上进行测序反应, 分析 Sp110 基因 rs1135791C/T、rs2114592C/T 位点多态性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件包进行数据处理。率的比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

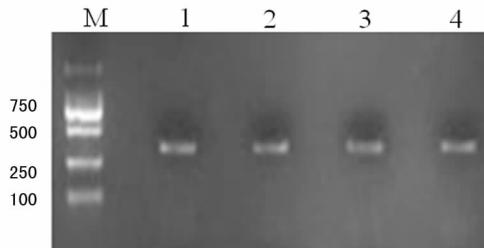
2 结 果

2.1 Sp110 基因 PCR 扩增结果 见图 1~2, 片段大小与

* 基金项目: 国家临床重点专科建设资助项目(2009ZX1004-207)。△ 通讯作者, E-mail: zhangpingan@yahoo.com.cn。

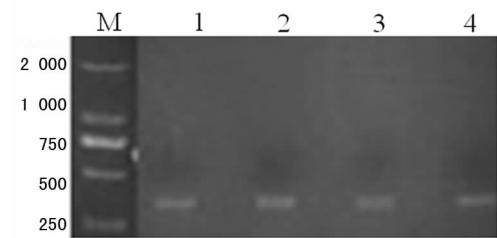
作者简介: 叶芳丽, 女, 在读研究生, 主要从事感染性疾病的免疫遗传学研究。

Genbank 相符。Sp110 基因 rs1135791C/T 和 rs2114592C/T 测序结果见图 3~4(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。



1~4 为 PCR 产物, M 为 DNA 标记物。

图 1 Sp110 基因 rs1135791C/T 位点 PCR 产物电泳图



1~4 为 PCR 产物, M 为 DNA 标记物。

图 2 Sp110 基因 rs2114592C/T 位点 PCR 产物电泳图

2.2 基因多态性检测情况 见表 3。

表 3 两组间 Sp110 基因 rs1135791、rs2114592 基因型频率分布比较

基因位点	乙型肝炎组[n(%)]		对照组[n(%)]	OR 值(95%CI)	χ^2	P
rs1135791	C/C	79(79.00)	83(83.00)	0.771(0.379~1.567)	0.520	0.471
	C/T	8(8.00)	5(5.00)	1.652(0.521~5.236)	0.740	0.390
	T/T	13(13.00)	12(12.00)	1.096(0.474~2.535)	0.046	0.831
rs2114592	C/C	86(86.00)	87(87.00)	0.918(0.408~2.067)	0.043	0.836
	C/T	7(7.00)	5(5.00)	1.430(0.438~4.667)	0.355	0.552
	T/T	7(7.00)	8(8.00)	0.866(0.302~2.485)	0.072	0.788

3 讨 论

个体感染 HBV 后,其预后表现差异可以很大,一些感染者机体能自发清除病毒并不表现出病症,部分表现为急性自限性肝炎,发病后大多数个体也能清除病毒。而另一些个体不能自发清除病毒,并发展成为慢性肝炎、肝硬化,甚至发生原发性肝癌^[2-5]。而且,慢性乙肝患者可因接受乙肝康复者的骨髓移植而使病毒在体内得到清除^[6-9]。这些现象提示个体免疫应答基因的差异可能影响了 HBV 感染的预后。

Sp110 位于人类 2 号染色体 2q37.1,其 cDNA 全长 2 336 bp,从核苷酸的 78 位至 2146 位是一个开放读码框,编码 689 个氨基酸。Sp110 包含了 SAND 区、PHD 区和 bromo 区,这些区域都是与基因转录有关的,因此 Sp110 可能在基因的转录调控中起重要作用^[10]。有文献报道,Sp110 基因存在多个区域的多态性,且与感染性疾病如结核病的易感性相关^[11-12]。但 Sp110 基因多态性与 HBV 感染之间的关系尚不清楚,研究者采用病例对照研究和 PCR 扩增结合 DNA 测序技术,研究 Sp110 基因 rs1135791、rs2114592 多态性与乙型肝炎易感性的关系。检测发现 Sp110 基因 rs1135791 位点存在 C/C、C/T 和 T/T 基因型,rs2114592 位点也存在 C/C、C/T 和 T/T 3 种基因型,经统计学分析,两组 rs1135791、rs2114592 基因型分布频率比较差异无统计学意义($P > 0.05$),表明 SP110 基因 rs1135791、rs2114592 多态性与乙型肝炎易感性无关。

综上所述,虽然 Sp110 具有基因转录激活因子的功能,可能在细胞核激素受体、干扰素信号传输和病原体之间相互作用,但是由于本实验仍存在许多不足,可能标本量不够多或其他原因,在病例组和对照组的研究中,未发现 Sp110 基因 rs1135791、rs2114592 多态性与乙型肝炎易感性相关。因此,SP110 基因多态性在 HBV 的发生发展中是否起直接作用,还是与其他因素协同作用,有待进一步明确。

参考文献

[1] 周丹,陶杨,蔡家春,等. Sp110 基因 rs1135791、rs722555 多态性

与结核病的相关性研究[J]. 流行病与统计方法, 2008, 35(3): 416-419.

- [2] 张平安,魏新素,李艳,等. 黏病毒抗性蛋白 A 基因多态性与 HBV 感染转归的关系[J]. 现代检验医学杂志, 2011, 26(3): 17-20.
- [3] 高宝霞,浦江,张国顺,等. IL-6 基因多态性与乙型肝炎慢性化的相关性[J]. 肝脏, 2012, 17(10): 700-703.
- [4] 张淑云,李迪,谷鸿喜,等. HBV 感染者人类白细胞 I、II 类抗原等位基因多态性分析[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(10): 963-968.
- [5] 王林川,陈崴,于燕. 乙型肝炎病毒 B、C 基因型与乙肝临床特征的相关性[J]. 西安交通大学学报, 2012, 33(2): 207-210.
- [6] Bloch DB, Nakajima A, Gulick T, et al. Sp110 localizes to the PML-Sp100 nuclear body and may function as a nuclear hormone receptor transcriptional coactivator [J]. Mol Cell Biol, 2000, 20(16): 6138-6146.
- [7] 陆浩然,蔡秋成,吕志立,等. 乙肝核心抗体阳性供肝在肝移植中的应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复杂志, 2011, 15(18): 3367-3370.
- [8] 檀玉乐,牛玉坚,臧运金,等. 乙肝相关性肝病肝移植术后乙肝病毒存留和复制状况的研究现状[J]. 山东医药, 2012, 52(28): 92-93.
- [9] 陈泽,郑虹,史瑞,等. 核苷类药物对肝移植受者肝门淋巴结内乙肝病毒分子病毒学状态的影响[J]. 中华外科杂志, 2012, 50(9): 835-838.
- [10] 丛建妮,李革,周丹,等. Sp110 基因多态性与重庆汉族肺结核遗传易感性关联性研究[J]. 卫生研究, 2010, 39(5): 540-544.
- [11] Kerrie T, Sarah J. Variants in the Sp110 gene are associated with genetic susceptibility to tuberculosis in west Africa[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(27): 10364-10368.
- [12] Thye T, Browne EN. No associations of human pulmonary tuberculosis with Sp110 variants[J]. J Med Genet, 2006, 43(4): e32.

(收稿日期:2013-05-10)