

网络出版时间: 2016-6-6 13:52:32 网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20160606.1352.054.html

IL-12B 和 TTC1 基因交互作用与中国汉族人银屑病的相关性研究

黄渊柏¹, 范星¹, 杨春俊², 曾磊¹, 张翠翠¹, 赵素丽¹, 刘建军^{3,4}

摘要 目的 研究 IL-12B 和 TTC1 基因交互作用对中国汉族人银屑病发病的影响。方法 从前期银屑病 GWAS 中选取 1 139 个病例和 1 132 个对照, 经过性别和年龄匹配。使用 PLINK 软件的 SNP × SNP 计算两 SNPs 之间的交互作用, Logistic 回归分析每个 SNP 的最佳关联模型。结果 IL-12B 和 TTC1 在中国汉族人银屑病发病中存在交互作用 ($P = 3.74 \times 10^{-4}$)。IL-12B 的最佳关联模型为累加模型 ($OR = 1.42$, $P = 6.04 \times 10^{-3}$); GG 和 AG 为风险基因型。结论 IL-12B 和 TTC1 在中国汉族人银屑病发病过程中存在交互作用。

关键词 银屑病; IL-12B; TTC1; 交互作用

中图分类号 R 758.63

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)07-1039-04

银屑病是一种以角质形成细胞过度增生为特征的慢性炎症性皮肤病, 其发病机制尚未完全研究清楚, 被普遍认为是一种由遗传因素与环境因素(如感染、应激、外伤等)共同作用的多基因遗传性皮肤病。截止目前, 已经发现 40 多个银屑病的易感位点^[1-2], 如 HLA-C、IL-12、LCE 基因簇、IL23/Th17 信号通路、NF- κ B 信号通路等。此外, 银屑病基因-基因、基因-环境之间的交互作用也逐渐被发现。我们近期的一项研究提示白细胞介素 12B(interleukin 12B, IL-12B) rs3181224 及三十四肽重复域 1(tetratricopeptide repeat domain 1, TTC1) rs11135089 与银屑病患者的一些表型相关, 可能在疾病进程中起一定的作用, 为了探索两者与银屑病的关系, 该研究利用前期银屑病全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)资料, 分析 IL-12B 和 TTC1 基因交互作用对银屑病发病的影响。

2016-03-23 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81273301)

作者单位: ¹ 安徽医科大学第一附属医院皮肤性病科, 合肥 230032

² 安徽医科大学第二附属医院皮肤性病科, 合肥 230601

³ 皮肤病学教育部重点实验室, 合肥 230032

⁴ 安徽医科大学皮肤病研究所, 合肥 230032

作者简介: 黄渊柏, 男, 硕士研究生;

刘建军, 男, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: liuj3@gis.a-star.edu.sg

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取安徽医科大学皮肤病研究所已完成的中国银屑病 GWAS 中 1 139 例银屑病患者(其中男 669 例、女 470 例)和 1 132 例对照(其中男 670 例、女 462 例)共 2 271 例样本。研究对象之间无血缘关系且病例与对照之间经过性别和年龄匹配。病例组年龄 3~78(30.98 ± 12.3)岁, 对照组年龄 5~81(35.09 ± 13.2)岁。病例入选标准: ① 优先入选 I 型银屑病患者, 研究^[3]表明早发型银屑病的遗传性较晚发型强, 在选样时优先选择早发型银屑病患者, 以保证结果的准确性; ② 优先入选有银屑病家族史的患者, 因有家族史的银屑病患者遗传性更强; ③ 优先入选病情较重的银屑病病例; ④ 病例须有两处及两处以上皮损, 且须经过两位副主任及以上职称的皮肤科医师确诊。对照入选标准: ① 无银屑病及银屑病家族史; ② 无其他自身免疫性疾病, 如系统性红斑狼疮、克罗恩病等; ③ 选择年龄和性别与病例组匹配的样本。参与本研究的研究对象均签署了知情同意书, 研究获得安徽医科大学伦理委员会同意, 并遵守《赫尔辛基宣言》。

1.2 目标基因及 SNPs 的选择 IL-12B 是较早被发现和广泛证实的银屑病易感基因, 在银屑病发病中起着非常重要的作用。近期的研究显示 IL-12B rs3181224 与银屑病患者发病年龄相关; TTC1 rs11135089 与银屑病患者临床类型、严重程度相关(结果尚未发表)。因此, 选取前期银屑病 GWAS 数据库中这两个 SNPs 位点的相关数据, 进行交互作用分析, 研究两者在银屑病发病中所起的作用。

1.3 质量控制 样本质量控制: ① 去除入选银屑病患者的一级、二级亲属, 保证样本的独立性, 这部分使用 PLINK 软件中的 IBS 进行质控; ② 使用主成分分析(PCA)除去样本和对照之间不匹配的样本。SNP 质量控制: ① 去除 X、Y 染色体、线粒体及 CNV 探针上的 SNPs; ② 去除 call rate < 90% 的 SNPs; ③ 去除 MAF(最小等位基因频率) < 1% 的 SNPs; ④ 去除对照组 Hardy-Weinberg equilibrium 明显偏离($P <$

10^{-7}) 的 SNPs。

1.4 统计学处理 年龄平均年龄及标准差等计量资料使用 SPSS 20.0 进行计算,频率估算及差异采用 χ^2 检验计算(当四格表中样本数 < 40 或理论频数 < 1 时,采用 Fisher's 确切概率法);使用 Logistic 回归分析两 SNPs 之间交互作用及每个 SNP 的最佳关联模型。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两 SNPs 等位基因、基因型与银屑病的相关性分析 对两 SNPs 进行风险等位基因分析,发现 rs3181224-G 和 rs11135089-T 为风险等位基因(表 1)。再分别对每个 SNP 的 3 种基因型与银屑病的相关性作进一步分析(表 2),发现含有 rs3181224-AG 基因型个体的银屑病发病风险是 AA 基因型个体的 1.35 倍;含有 rs3181224-GG 基因型个体的银屑病发病风险是 rs3181224-AA 基因型的 7.23 倍。含有 rs11135089-TT 和-TC 基因型个体的银屑病发病风险分别是含有 -CC 基因型个体的 1.19 倍和 1.11 倍。

表 1 风险等位基因分析

SNP	A1	F_A	F_U	A2	OR(95% CI)	P 值
rs3181224	G	0.069 8	0.050 35	A	1.42(1.11 ~ 1.82)	6.00E-03
rs11135089	T	0.217 0	0.201 30	C	1.10(0.95 ~ 1.28)	2.24E-01

A1: 最小等位基因; A2: 主要等位基因; F_A: 病例中此等位基因频率; F_U: 对照中此等位基因频率; OR: 对于 A1 来说, A2 是参照

表 2 两 SNPs 基因型与银屑病的相关性分析

Genotype	Case	Control	OR(95% CI)	P 值
IL-12B rs3181224				
AA	986	1 019	1.00	N/A
AG	146	112	1.35(1.04 ~ 1.75)	2.50E-02
GG	7	1	7.23(0.89 ~ 58.91)	3.05E-02
TTC1 rs11135089				
CC	728	752	1.00	N/A
TC	365	340	1.11(0.93 ~ 1.33)	2.59E-01
TT	46	40	1.19(0.77 ~ 1.84)	4.38E-01

表 3 两个 SNPs 的关联模型分析

SNP	关联模型	A1	A2	Case	Sum	Control	Sum	P 值	OR(95% CI)
rs3181224	累加	G	A	7/146/986	1 139	1/112/1 019	1 132	6.04E-03	1.42(1.11 ~ 2.75)
	显性			153/986	1 139	113/1 019	1 132	1.29E-02	1.39(1.07 ~ 1.80)
	隐性			7/1 132	1 139	1/1 131	1 132	6.91E-02	6.99(0.86 ~ 56.94)
rs11135089	累加	T	C	46/365/728	1 139	40/340/752	1 132	2.09E-01	1.10(0.95 ~ 1.28)
	显性			411/728	1 139	380/752	1 132	2.20E-01	1.12(0.94 ~ 1.33)
	隐性			46/1 093	1 139	40/1 092	1 132	5.39E-01	1.15(0.74 ~ 1.77)

A1: 最小等位基因; A2: 主要等位基因; OR: 对于 A1 来说, A2 是参照

2.2 两 SNPs 交互作用分析及关联模型的确定

Logistic 回归分析显示 IL-12B rs3181224 和 TTC1 rs11135089 之间存在交互作用(STAT = 12.66, $P = 3.74 \times 10^{-4}$)。分别在累加模型、显性模型、隐性模型中分析两个 SNPs 与银屑病的最佳关联模型(表 3)。对于 rs3181224, 关联分析显示最显著结果是在累加模型中得到的($P = 6.04 \times 10^{-3}$, OR = 1.42);但是未发现 rs11135089 与银屑病的最佳关联模型。

3 讨论

过去的 10 多年里,在银屑病易感基因及环境易感因素方面已取得了丰硕的成果。如今,探索基因-基因、基因-环境之间交互作用在银屑病发病中所起的作用成为银屑病研究中的新热点。截至目前,已经发现 IL-23/Th17 通路基因^[4], LCE 与 CLEC16A 基因^[5], MHC、LCE 与 IL-12B 基因^[6] 在汉族人银屑病的发病中存在着交互作用,影响银屑病的发生及发展。

IL-12B 基因位于染色体 5q31-33, 编码 IL-12, 与 IL-23 共同亚基 p40, 影响炎症介质 IL-12 和 IL-23 的生成。研究^[7]表明银屑病患者血清 IL-12 水平明显高于正常人, IL-12 水平和病情严重程度相关。IL-23 在银屑病皮损处表达亦明显增加。IL-12 通过诱导幼稚 CD4 T 细胞向 Th1 细胞和 NK 细胞增殖和活化, 分别分泌 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ) 和肿瘤坏死因子; IFN- γ 在角质形成细胞中刺激树突细胞产生 IL-1 和 IL-23, 诱导大量的炎性分子, 并最终导致银屑病中的炎症反应。IL-23 则通过激活巨噬细胞和诱导辅助性 T 细胞 17(T helper cell 17, Th17), 分泌 IL-17 和 IL-22, IL-17 作为一种有效的致炎细胞因子刺激角质形成细胞产生中性粒细胞趋化因子。IL-17 还能诱导成纤维细胞分泌 IL-6, 此种细胞因子可将未致敏 T 细胞转换为 Th17 进而潜在激活一个正反馈通路, 持续 Th17 的炎症反应, 维持慢性炎症^[8]。

银屑病发病过程中的 T 细胞活化可通过多条信号转导通路实现,酪氨酸激酶信号传导及转录激活因子(Janus Kinase Signal transducers and activators of transcription, JAK-STAT) 通路是主要途径,IL-12B、IL-23 就是通过此信号通路参与银屑病的发病过程。JAK-STAT 主要转导调节信号,调节细胞增殖、分化、凋亡及炎症等多种病理生理过程。此外,丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK) 通路异常亦与银屑病的发病有关,MAPK 主要调控增值性信号,在细胞增殖、分化、凋亡中发挥重要作用。MAPK 通路激活后可诱导 Th1/Th2 分化,导致表皮高度增殖。p38 作为 MAPK 途径的一个经典亚型,其抑制剂已用于银屑病、哮喘等的临床试验,并获得了良好的效果。

TTC1 基因编码产物在蛋白质-蛋白质相互作用中扮演了重要的角色,被认为是一个新型适配器,能将特定的 G 蛋白偶联受体结合在 Ras 蛋白上。TTC1 可以促进 Ras 的积累和磷酸化,激活 Ras 信号通路。当 Ras 活化后,位于细胞质中的丝裂原活化蛋白激酶激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase kinase, MAPKKK) 又称 Raf 蛋白趋向到质膜内侧并与之结合,使 Raf 活化。活化的 Raf 进一步促使丝裂原活化蛋白激酶激酶(mitogen-activated protein kinase kinase, MAPKK) 的丝/苏氨酸残基磷酸化,从而活化 MAPKK。MAPKK 是双特异性磷酸化激酶,可对 MAPK (ERK) 双位点磷酸化激活 MAPK。TTC1 基因正是通过 Ras-Raf-MAPK 途径参与银屑病的发病过程。JAK-STAT 通路 MAPK 通路还存在着交叉对话^[9],这进一步说明了银屑病发病机制的复杂性。

综上所述,IL-12B 和 TTC1 在汉族人银屑病发病中存在交互作用是对银屑病发病机制认识的进一步深化。两个基因可能直接或间接通过与银屑病发

病相关的信号转导通路发生作用,从而影响 T 细胞活化、炎症介质释放等环节,导致银屑病的发病或病情加重。银屑病发病涉及众多基因、环境、及其相互作用,通过多条信号通路组成一个复杂的网络,不同信号通路之间亦存在相互联系、相互制约,共同导致疾病的发生和发展。通过深入研究基因-基因之间的交互作用,有助于进一步深入了解银屑病的发病机制,进而为研发更加安全、高效的药物提供理论基础。

参考文献

- [1] Perera G K, Di Meglio P, Nestle F O. Psoriasis [J]. *Annu Rev Pathol* 2012, 7: 385 - 422.
- [2] Tsoi L C, Spain S L, Knight J, et al. Identification of 15 new psoriasis susceptibility loci highlights the role of innate immunity [J]. *Nat Genet* 2012, 44(12): 1341 - 8.
- [3] 张学军, 陈珊宇, 王福喜, 等. 寻常型银屑病遗传流行病学分析 [J]. *中华皮肤科杂志* 2000, 33(6): 383 - 5.
- [4] 王文菊, 尹先勇, 崔勇, 等. IL23/Th17 通路基因上位性作用与汉族人银屑病易感性研究 [J]. *实用医院临床杂志* 2013, 10(1): 1 - 3.
- [5] Wang J B, Ding Y T, Fan X, et al. Gene-gene interaction between LCE and CLEC16A increases the risk of psoriasis in a Chinese population [J]. *Ann Dermatol* 2014, 26(3): 421 - 3.
- [6] Zheng H F, Zuo X B, Lu W S, et al. Variants in MHC, LCE and IL12B have epistatic effects on psoriasis risk in Chinese population [J]. *J Dermatol Sci* 2011, 61(2): 124 - 8.
- [7] Chiricozzi A, Saraceno R, Chimenti M S, et al. Role of IL-23 in the pathogenesis of psoriasis: a novel potential therapeutic target [J]. *Expert Opin Ther Targets* 2014, 18(5): 513 - 25.
- [8] Tang C, Chen S, Qian H, et al. Interleukin-23: as a drug target for autoimmune inflammatory diseases [J]. *Immunology* 2012, 135(2): 112 - 24.
- [9] Xu W, Comhair S A, Zheng S, et al. STAT-1 and c-Fos interaction in nitric oxide synthase-2 gene activation [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2003, 285(1): L137 - 48.

Interactions between IL-12B and TTC1 gene associate with psoriasis in Chinese Han population

Huang Yuanbo¹, Fan Xing¹, Yang Chunjun², et al

(¹Dept of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032;

²Dept of Dermatology, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To investigate the effect of interactions between IL-12B and TTC1 gene on psoriasis in Chinese Han population. **Methods** A total of 1 139 cases and 1 132 controls were selected from our previous psoriasis GWAS, matched by gender and age. SNP × SNP of PLINK software was used to calculate the interaction between the two SNPs. Logistic regression analyzed the best association model of each SNP. **Results** IL-12B and TTC1 had

子宫发育异常患者妊娠结局分析

朱 颖, 曹云霞

摘要 目的 探讨子宫发育异常对妊娠结局及围产儿的影响。方法 回顾性分析 50 例子宫发育异常妊娠患者和 60 例子宫发育正常孕妇分娩方式、并发症及对围产儿结局的影响。结果 子宫发育异常患者死胎死产、剖宫产、胎位异常与对照组比较显著升高 ($P < 0.05$)。子宫发育异常患者足月妊娠率、新生儿体重和身长显著低于对照组 ($P < 0.05$)。子宫发育异常患者发生胎盘异常的机率显著高于对照组 ($P < 0.05$)。子宫发育异常患者胎膜早破、脐带缠绕、羊水过少、产后出血、新生儿窒息与对照组比较差异无统计学意义。单角子宫发生胎膜早破的机率高于其他类型的子宫发育异常 ($P < 0.05$)。结论 子宫发育异常患者妊娠合并胎位异常、胎位异常、早产、死胎死产明显增高, 剖宫产率增高, 同时新生儿出生体重和身长较低。重视子宫发育异常的孕前诊断及手术治疗, 对子宫发育异常合并妊娠患者加强孕期保健, 延长孕周, 提高围产儿存活率。

关键词 子宫发育异常; 阴道斜隔综合征; 妊娠结局

中图分类号 R 714.42+2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)07-1042-04

女性胚胎时期双侧苗勒氏管最终发育形成输卵管、子宫、宫颈和阴道的上部。子宫发育异常因其解剖的复杂性, 临床上表现为原发性闭经、周期性下腹痛、不孕、早产、月经紊乱等, 部分患者可合并其他脏器畸形, 肾脏发育异常最为多见。子宫发育异常患者妊娠时因其解剖上的异常多伴有难产, 威胁母婴健康。该研究为降低孕产妇死亡率和提高围产儿存

活率, 对子宫发育异常合并妊娠的患者进行回顾性分析, 总结经验教训, 提高诊断治疗水平。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取 2012 年 1 月~2015 年 12 月于安徽医科大学第一附属医院妇产科就诊的子宫发育异常合并妊娠患者 50 例(观察组), 其中完全子宫纵隔 6 例, 不全子宫纵隔 25 例, 单角子宫 7 例(残角子宫 6 例), 双子宫 8 例(1 例为阴道斜隔综合征术后)、鞍状子宫 4 例。观察组年龄 21~41(27.02 $\pm$ 4.60)岁, 合并妊娠期糖尿病 7 例, 子痫前期 3 例, 既往有自然流产病史 8 次, 合并肾脏异常 3 例(均为孤立肾)。同期入院分娩的子宫发育正常孕妇中随机抽取 60 例作为对照组, 对照组年龄 22~39(29.68 $\pm$ 4.06)岁, 合并妊娠期糖尿病 6 例, 子痫前期 5 例, 既往有自然流产病史 3 次。两组孕妇产次数、自然流产次数、合并症发生率差异无统计学意义。观察组足月妊娠 23 例, 对照组 50 例, 观察组足月妊娠率明显低于对照组 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 一般资料比较

项目	观察组	对照组	P 值
孕产次数(n)	3	2.5	0.825
自然流产次数(n)	8	3	0.056
妊娠期糖尿病[n(%)]	7(14.00)	6(10.00)	0.518
子痫前期[n(%)]	3(6.00)	5(8.33)	0.920
足月妊娠率[n(%)]	23(46.00)	50(83.33)	<0.010

1.2 诊断标准 子宫发育异常按照美国生殖医学学会(AFS) 1988 年提出的分类标准^[1]。子宫发育异常的诊断经超声或剖宫产手术中证实。产后出血因诊断标准修正 2013 年 4 月之前按胎儿娩出后 24 h 内失血量超过 500 ml 诊断。2013 年 4 月之后, 按照

2016-05-09 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金(编号: 1308085MH149); 安徽高校省级自然科学基金项目(编号: KJ2012Z151)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院妇产科, 合肥 230022

作者简介: 朱 颖, 女, 副教授, 副主任医师;

曹云霞, 女, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: caoyunxia6@126.com

interactions on psoriasis in Chinese Han population ($P = 3.74 \times 10^{-4}$). The best association model of IL-12B was additive model ($OR = 1.42$, $P = 6.04 \times 10^{-3}$); GG and AG were the risk genotypes. **Conclusion** There are interactions between IL-12B and TTC1 gene on pathogenesis of psoriasis in Chinese Han population.

Key words psoriasis; IL-12B; TTC1; interaction