

# 高加索人群白癜风多态性位点与中国汉族人群 白癜风发病的相关性研究

高敏 张敏 郑晓冬 周伏圣 李扬

**摘要** 目的 探讨高加索人群白癜风易感基因与中国汉族白癜风患者发病的相关性。方法 在1 977例白癜风患者和2 024例健康正常中对 *PTPN22*、*RERE*、*GZMB*、*C1QTNF6* 和 *UBASH3A* 这5个基因的8个易感位点进行基因分型。Plink 1.07和SPSS 16.0软件进行统计分析。结果 ① *PTPN22* (rs2476601)、*RERE* (rs301819、rs4908760、rs11121194)、*GZMB* (rs8192917)、*C1QTNF6* (rs5756546) 和 *UBASH3A* (rs11203203、rs2839511) 这8个SNP位点的等位基因频率在病例和对照组间无显著相关性 ( $P > 0.05$ ); ② 分层分析显示SNP位点rs8192917基因型频率在有无家族史患者间存在差异 ( $P = 0.008$ ); SNP位点rs4908760的等位基因频率在有家族史和无家族史的白癜风患者中存在差异 ( $P = 0.024$ ), 但校正后差异无统计学意义。结论 高加索人群的 *PTPN22*、*RERE*、*GZMB*、*C1QTNF6* 和 *UBASH3A* 这5个基因的易感位点与中国汉族人群白癜风发病无显著关联, 表明不同人群白癜风的发病存在较大的遗传异质性。

**关键词** 白癜风; 易感基因; 汉族人群; 高加索人群  
中图分类号 R 758.4

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)08-1286-04  
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.08.025

白癜风(vitiligo)是一种局限性或者泛发性的色素减退/脱失性疾病。多数学者认为白癜风是一种复杂疾病, 遗传和环境因素共同作用从而导致白癜风的发生和进一步发展。前期研究<sup>[1]</sup>通过全基因组关联分析(genome wide association study, GWAS)的方法在中国汉族人群中发现染色体6q27的一个约200 kb的区域与中国汉族人群白癜风的发病显著相关, 同时通过基因分型的方法检测了大量可疑的易感单核苷酸多态性(SNP)位点。

国外学者 Jin et al<sup>[2]</sup>在1 514 欧美高加索白人白癜风患者和813例与之相匹配的健康对照者中进行了GWAS研究, 发现 *PTPN22*、*RERE*、*GZMB*、

*C1QTNF6* 和 *UBASH3A* 这5个基因的多态性位点与白癜风的发病密切相关。为了验证这些基因是否与中国汉族人群白癜风发病具有相关性, 该研究团队检索了白种人数据库, 利用国际单体型计划(Hap-Map)中的Haploview软件, 筛选了上述5个基因的8个SNP位点进行深入研究, 以期探讨上述基因与中国汉族人群白癜风发病是否相关。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例资料

**1.1.1 入选标准** 在全国范围内收集了汉族人群白癜风患者1 977例, 其中男993例, 女984例; 年龄12~64(27.64±14.46)岁。确诊标准: 所有病例经Wood灯检测后, 由至少两位副高以上的副主任医师确诊。此外, 收集健康对照人群2 024例, 其中男1 081例, 女943例; 年龄14~65(26.20±12.27)岁, 要求其亲属无白癜风以及其他自身免疫性或者系统性疾病。本研究符合赫尔辛基宣言原则且经安徽医科大学伦理委员会批准。每位入选人员抽取静脉血3~5 ml, 置于EDTA-Na<sub>2</sub>抗凝管, 放入-80℃冰箱保存。

**1.1.2 临床分组及分层分析** 按照首次发病年龄划分: ≤20岁称为早发型白癜风; >20岁称为晚发型白癜风。按照先证者一、二、三级家属中有无白癜风患者分为有家族史和无家族史患者两组。

**1.2 SNP位点的选择** 查阅文献以及UCSC、NCBI数据库, 结合国际单体型计划利用Haploview软件, 筛选出位于 *PTPN22*、*RERE*、*GZMB*、*C1QTNF6* 和 *UBASH3A* 这5个基因上的8个TagSNPs位点进一步研究。

### 1.3 研究方法

**1.3.1 基因组DNA的提取和标化** 参照Qiagen公司的Flexi Gene DNA提取试剂盒说明书提取基因组DNA, 紫外分光光度计测其浓度后将其标准化至15~20 ng/μl备用。

**1.3.2 引物设计** 在NCBI数据库中获取上述8个SNP位点的序列, 利用Assay Designer3.1软件设

2018-04-28 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81072460)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院皮肤科, 合肥 230022

作者简介: 高敏, 女, 副主任医师, 副教授, 硕士生导师, 责任作者,

E-mail: ahhngm@163.com

计引物。上海生工合成引物后进行稀释待用。

**1.3.3 基因分型** PCR 扩增获得 DNA 片段,经电泳、纯化后在 Sequenom Massarray iPLEX 系统(美国 Sequenom 公司)上对筛选出的 8 个 SNP 位点进行基因分型。

**1.4 统计学处理** PLINK 1.07 软件进行 Hardy-Weinberg (HWE) 平衡检验和最小等位基因频率 (MAF) 计算。采用 SPSS 16.0 软件计算优势比 (odds ratio, OR)、95% 可信区间 (confidence intervals, CI) 和  $P$  值 组间比较采用  $\chi^2$  检验  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 基因分型** *PTPN22*、*RERE*、*GZMB*、*C1QTNF6* 和 *UBASH3A* 基因上的多态性位点 rs2476601、rs301819、rs4908760、rs11121194、rs8192917、rs5756546、rs11203203 和 rs2839511 在 1 977 例白癜风患者和 2 024 例健康对照组间无显著相关性 ( $P > 0.05$ ) 见表 1。

## 2.2 基因型 - 表型分析

**2.2.1 按照早发/晚发型分组** 在 1 977 例白癜风患者中,早发型患者与晚发型患者两组之间的基因型以及等位基因频率分布上的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

**2.2.2 按照有/无家族史分组** 207 例患者具有家族史,1 764 例患者无家族史,6 例患者家族史不详。位于 *RERE* 基因上的 SNP 位点 rs4908760 的等位基因频率在有家族史和无家族史患者中差异有统计学意义 ( $P = 0.024$ ) 基因型频率在两组患者之间差异性有统计学意义 ( $P = 0.012$ ) (表 2),但对上述结果进行组间比较校正后 结果显示差异无统计学意义;位于 *GZMB* 基因上的 SNP 位点 rs8192917 的基因型频率在有家族史和无家族史患者之间差异具有统计学意义 ( $P = 0.008$ ) 但其等位基因频率在两组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) 见表 3。

## 3 讨论

白癜风是一种多基因遗传的复杂性皮肤病,其发病机制未明,但是遗传因素在其发病机制中的作用得到广泛认同。近年来,随着分子生物学技术和高通量测序技术的飞速发展,白癜风的遗传学研究取得了较大的进展,尤其是国内外学者运用 GWAS,发现了许多有意义的白癜风易感基因及位点<sup>[3]</sup>。国外学者 Spritz 团队完成了欧美人群白癜风的 GWAS 研究,结果显示寻常型白癜风与某些自身免疫性疾病相关联的基因具有相关性,如本研究中的 *GZMB*、*RERE*、*PTPN22*、*UBASH3A* 和 *C1QTNF6* 基因。

*PTPN22* 基因编码蛋白络氨酸磷酸酶家族非受

表 1 8 个 SNPs 位点的等位基因频率在病例和对照组间的比较

基因	SNP 位点	等位基因	最小等位基因频率		$P$ 值	OR 值	95% CI
			病例	对照			
<i>PTPN22</i>	rs2476601	A	0.000	0.000	0.319	0.335	0.035 ~ 3.219
<i>RERE</i>	rs301819	A	0.153	0.165	0.132	0.916	0.817 ~ 1.027
	rs4908760	G	0.157	0.172	0.053	0.895	0.799 ~ 1.001
	rs11121194	C	0.157	0.168	0.138	0.918	0.819 ~ 1.028
<i>GZMB</i>	rs8192917	G	0.272	0.264	0.352	1.046	0.952 ~ 1.149
<i>C1QTNF6</i>	rs5756546	T	0.099	0.100	0.847	0.986	0.858 ~ 1.134
<i>UBASH3A</i>	rs11203203	A	0.039	0.037	0.531	1.073	0.862 ~ 1.335
	rs2839511	A	0.035	0.034	0.834	1.025	0.815 ~ 1.289

表 2 在有无家族史患者中 rs4908760 的基因型和等位基因分布

家族史	基因型 (%)			$P$ 值	等位基因 (%)		$P$ 值	OR (95% CI)
	AA ( $n = 1\ 407$ )	GA ( $n = 507$ )	GG ( $n = 57$ )		G	A		
有	131 (63.3)	71 (34.3)	5 (2.4)	0.012	81 (19.5)	333 (80.4)	0.024	1.346
无	1 276 (72.3)	436 (24.7)	52 (3.0)		540 (15.3)	2 988 (84.7)		(1.038 ~ 1.745)

表 3 在有无家族史患者中 rs8192917 的基因型和等位基因分布

家族史	基因型 (%)			$P$ 值	等位基因 (%)		$P$ 值	OR (95% CI)
	AA ( $n = 1\ 028$ )	GA ( $n = 802$ )	GG ( $n = 141$ )		G	A		
有	94 (45.4)	104 (50.2)	9 (4.4)	0.008	122 (29.5)	292 (70.5)	0.346	1.114 (0.890 ~ 1.393)
无	934 (52.9)	698 (39.6)	132 (7.5)		962 (27.3)	2564 (72.7)		

体 4 型亚科。研究<sup>[4]</sup>显示该基因的多态性与类风湿性关节炎和系统性红斑狼疮等自身免疫性疾病明显相关。Jin et al<sup>[2]</sup> 研究发现其 SNP 位点 rs2476601 与欧美人群白癜风发病具有相关性。UBASH3A 基因编码 T 细胞泛素配体家族,可以负向调节 T 细胞信号,与糖尿病的发病密切相关,其 SNP 位点 rs11203203 和 rs2839511 与欧美人群白癜风发病相关<sup>[5]</sup>。C1QTNF6 基因是 C1q 和肿瘤坏死因子相关蛋白 6,与中国汉族人群 Graves 病的发生具有相关性,该基因的多态性位点 rs5756546 与欧美人群白癜风发病相关<sup>[6]</sup>。但是本研究中并未显示上述三个基因的多态性位点与中国汉族人群白癜风发病具有相关性。

*RERE* 基因位于染色体 1q36.23 区域,该基因编码精氨酸谷氨酸的酸二肽重复蛋白质,其超表达可以诱发细胞凋亡,有研究<sup>[7]</sup>表明其与神经系统发育异常有关。Jin et al<sup>[2]</sup> 研究发现 *RERE* 基因上的 SNP 位点 rs1121194、rs4908760 和 rs301819 与高加索人群白癜风的发病有关。本研究显示该基因上的 SNP 位点 rs4908760 的等位基因频率在有家族史和无家族史患者中差异有统计学意义 ( $P = 0.024$ ),基因型频率在两组之间也具有差异性,但是经过校正后,差异并无统计学意义。

*GZMB* 基因又称颗粒酶 B,能够被细胞毒性 T 细胞和 NK 细胞识别,从而溶解特定的靶细胞,在细胞介导的免疫反应中发挥作用,有研究<sup>[8]</sup>表明该基因与类风湿性关节炎的发生具有相关性。国外学者发现其 SNP 位点 rs8121917 与欧美高加索人群白癜风发病有关<sup>[2]</sup>。本研究显示该 SNP 位点的基因型频率在有无家族史患者中存在差异 ( $P = 0.008$ ),但等位基因频率在两组患者之间无差异。

本研究并未显示上述 8 个 SNP 位点与中国汉族人群白癜风的发病明显相关,其原因考虑如下:① 遗传异质性:欧美高加索白种人群与中国汉族黄种人群在白癜风的遗传学发病机制中具有明显的遗传异质性,其特有的易感基因位点不是中国汉族人群白癜风的易感基因位点;② SNP 位点存在异质性:因为不同种人群的 TagSNPs 可能不同,并且 Tag-SNPs 无法覆盖整个基因,故而会导致中国汉族人群中的实验结果与欧美人群存在差异;③ 样本量可能不足:本研究显示某些致病 SNP 位点对疾病的效力

可能比较微弱,故而不一定能够被检测出,因此,以后可以通过进一步加大样本量以及提高 SNP 的密度来验证这些易感位点与中国汉族人白癜风发病的相关性。

该研究虽未能在中国汉族人群中成功验证 *RE-RE*、*PTPN22*、*GZMB*、*UBASH3A* 和 *C1QTNF6* 基因的多态性位点与白癜风的相关性,但并不表明这 5 个基因在汉族人白癜风发病中不起作用,如有可能,将来可通过全基因测序的方法来真正发现这些基因与汉族人群白癜风发病的关联。此外,由于白癜风发病复杂,环境因素在其发病中也起了至关重要的作用,将来可以通过其他手段,如蛋白质芯片、表达谱芯片和甲基化芯片从多方面来发现白癜风发病的病因,从而为早期诊断、干预和治疗奠定基础。

### 参考文献

- [1] Quan C, Ren Y Q, Xiang L H, et al. Genome-wide association study for vitiligo identifies susceptibility loci at 6q27 and the MHC [J]. *Nat Genet*, 2010, 42(7): 614-8.
- [2] Jin Y, Birlea S A, Fain P R, et al. Variant of TYR and autoimmunity susceptibility loci in generalized vitiligo [J]. *N Engl J Med* 2010, 362(18):1686-97.
- [3] Jin Y, Andersen G, Yorgov D, et al. Genome-wide association studies of autoimmune vitiligo identify 23 new risk loci and high-light key pathways and regulatory variants [J]. *Nat Genet*, 2016, 48(11):1418-24.
- [4] López-Cano D J, Cadena-Sandoval D, Beltrán-Ramírez O, et al. The PTPN22 R263Q polymorphism confers protection against systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis, while PTPN22 R620W confers susceptibility to Graves' disease in a Mexican population [J]. *Inflamm Res*, 2017, 66(9):775-81.
- [5] Ge Y, Paisie T K, Newman J R B, et al. UBASH3A mediates risk for type 1 diabetes through inhibition of T-cell receptor-induced NF- $\kappa$ B signaling [J]. *Diabetes* 2017, 66(7):2033-43.
- [6] Zhang X H, Shen M, Liu L, et al. Association analysis of single nucleotide polymorphisms in C1QTNF6, RAC2, and an intergenic region at 14q32.2 with Graves' disease in Chinese Han population [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2017, 21(8):479-84.
- [7] Wang H, Gui H, Rallo M S, et al. Atrophin protein RERE positively regulates Notch targets in the developing vertebrate spinal cord [J]. *J Neurochem*, 2017, 141(3):347-57.
- [8] Colombo E, Scarsi M, Piantoni S, et al. Serum levels of granzyme B decrease in patients with rheumatoid arthritis responding to abatacept [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2016, 34(1):37-41.

网络出版时间: 2018-6-22 17:52 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180621.1453.026.html>

## 肝型脂肪酸结合蛋白对比白介素 18 对肝硬化失代偿期急性肾损伤患者的诊断价值

康晓征, 赵勇, 乐磊, 李珍, 郑微, 任春梅, 张宇

**摘要** 目的 探究肝型脂肪酸结合蛋白(L-FABP)与白介素 18(IL-18)对于肝硬化失代偿期急性肾损伤(AKI)诊断的临床价值。方法 选取医院治疗的肝硬化患者为观察对象,将符合 AKI 诊断的患者纳入观察组( $n=30$ ),选取年龄、性别以及疾病严重程度与观察组匹配的患者为对照组( $n=30$ )。分析两组中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(NGAL)、IL-18、L-FABP、血肌酐(sCr)和血清胱抑素 C(CysC)水平,用 ROC 曲线分析 5 种生化指标对 AKI 诊断的特异性和敏感度。结果 观察组患者的 NGAL、L-FABP、IL-18、Cys-C 和 sCr 水平均高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。AKI 血清学诊断指标 sCr、L-FABP、IL-18 在 ROC 曲线下面积分别为 0.757(95% CI: 0.564 ~ 0.913)、0.905(95% CI: 0.822 ~ 0.985)、0.880(95% CI: 0.723 ~ 0.947)。sCr 最佳诊断点为

74.79, 敏感度为 45%, 特异性为 95%; L-FABP 最佳诊断点为 9.68, 敏感度为 95%, 特异性为 75%; IL-18 最佳诊断点为 95.71, 敏感度为 85%, 特异性为 80%。结论 与 IL-18 相比, L-FABP 诊断肝硬化失代偿期 AKI 的价值最高, 临床意义大, 值得临床推广。

**关键词** 急性肾损伤; 肝型脂肪酸结合蛋白; 白介素 18

中图分类号 R 692

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2018)08-1289-05

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.08.026

2018-03-08 接收

基金项目: 四川省卫生和计划生育委员会科研课题(编号:150192)

作者单位: 四川省医学科学院四川省人民医院, 成都 610100

作者简介: 康晓征, 女, 硕士, 主治医师, 责任作者, E-mail: yukkkk123@163.com

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是肝硬化失代偿期常见并发症之一, 出现 AKI 预示疾病迅速恶化, 近期有死亡可能性, AKI 的早期诊断有利于降低疾病的死亡率<sup>[1-3]</sup>。目前临床诊断 AKI 的常用生化指标有血肌酐(serum creatinine, sCr)、肾小球滤过率、白介素-18(interleukin-18, IL-18)和肝型脂肪酸结合蛋白(liver-type fatty acid binding proteins, L-FABP), 其中 sCr 在 AKI 的诊断中应用最早, 在近几

## The association study between the susceptible loci in Caucasians and Chinese Han population

Gao Min, Zhang Min, Zheng Xiaodong, et al

(Dept of Dermatology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022)

**Abstract Objective** To investigate the correlation between the susceptibility genes of vitiligo in the Caucasus and the incidence of vitiligo in Chinese Han population. **Methods** The eight susceptible loci of five genes, *PTPN22*, *RERE*, *GZMB*, *C1QTNF6* and *UBASH3A* were genotyping in 1 977 patients with vitiligo and 2 024 healthy controls. Plink 1.07 and SPSS 16.0 software were used for statistical analysis. **Results** ① There was no significant correlation of the eight SNPs between the case and the control groups ( $P>0.05$ ). ② The stratified analysis showed that the genotype frequency of rs8192917 was different in the patients with family history ( $P=0.008$ ); Allele frequencies of rs4908760 at SNP locus were different in vitiligo patients with family history and without family history ( $P=0.024$ ), but no difference was found after correction. **Conclusion** There is no significant correlation between the susceptibility loci of *PTPN22*, *RERE*, *GZMB*, *C1QTNF6* and *UBASH3A* in the Caucasian population, and those in Chinese Han vitiligo population, indicating that there is a large genetic heterogeneity in the different populations.

**Key words** vitiligo; susceptibility gene; Chinese; Caucasians