

重症肌无力与 CTLA-4 基因多态性的 Meta 分析

汪煜¹ 陈银河^{2*} 王文静¹ 刘晓敏³

摘要 目的 探讨细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4 (CTLA-4) 基因多位点单核苷酸多态性 (SNP) 与重症肌无力 (MG) 易感性的关联情况。方法 通过中国生物医学文献数据库、中国期刊网全文数据库、万方、维普、PubMed、Cochrane Library、OvidSP、Wiley Online Library、EBSCO、Elsevier Science Direct、Springer Link 数据库检索 CTLA-4 基因与 MG 相关的病例对照研究, 利用 RevMan 5.3 软件计算其基因型和等位基因与 MG 的关联性。结果 共纳入 10 篇文献, 将 MG 分为胸腺瘤型 MG (TAMG)、胸腺增生型 MG (THMG)、自身免疫性 MG (AIMG)。Meta 分析显示携带 CTLA-4 基因 rs231775 G 等位基因的人群罹患 MG 的风险增高 ($OR = 1.55$, 95% $CI: 1.13 \sim 2.12$, $P = 0.006$)、罹患 AIMG 的风险增高 ($OR = 1.39$, 95% $CI: 1.09 \sim 1.77$, $P = 0.007$)、携带 rs733618 CC 基因型的人群罹患 AIMG 的风险增高 ($OR = 3.28$, 95% $CI: 1.89 \sim 5.70$, $P < 0.001$)、携带 rs733618 C 等位基因的人群罹患 AIMG 的风险增高 ($OR = 1.76$, 95% $CI: 1.30 \sim 2.37$, $P < 0.001$)。结论 CTLA-4 基因 rs231775 G 等位基因、rs733618 CC 基因型和 C 等位基因与 AIMG 易感性之间有关联性。

关键词 重症肌无力; 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原; 多态性; 单核苷酸; Meta 分析

中图分类号 R 746.1; R 342.43

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)04-0508-07
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.04.010

重症肌无力 (myasthenia gravis, MG) 是一种以神经肌肉接头处传递障碍为特征的获得性自身免疫性疾病, 是由乙酰胆碱受体抗体介导, 细胞免疫依赖, 补体参与的自身免疫功能障碍导致的自身抗体攻击性疾病。其致病原因包括自身免疫、被动免疫、

遗传性和药源性等因素^[1]。MG 的病因复杂, 目前认为与免疫因素、遗传因素、环境因素等因素有关, 但具体机制尚未完全明确。相关基因的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 与 MG 相关性研究^[2] 一直是 MG 的研究热点, 表明基因多态性可能在 MG 的发病机制中起到重要作用。细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4 (cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4, CTLA-4) 的 SNP 与 MG 易感性的研究^[2-16] 逐渐增多, 但结论尚不统一, 该文通过 Meta 分析方法验证 CTLA-4 基因的多个位点 SNP 与 MG 的关联性, 以提供循证支持。

1 材料与方法

1.1 纳入标准 文献类型为病例对照研究, 病例组为 MG 患者, 对照组为健康人群或非 MG 患者; 病例组与对照组的总例数、基因型或等位基因数量明确。若同一研究单位发表数篇类似文献, 则纳入样本量较大的一篇。

1.2 排除标准 除病例对照研究外的文献类型; 病例组与对照组的总例数、基因型或等位基因数量不明确或无法推算的文献。

1.3 检索方法 网络数据库检索中国生物医学文献数据库 (Chinese biomedical database, CBM)、中国期刊网全文数据库 (China national knowledge infrastructure, CNKI)、万方数据库、维普数据库、PubMed、Cochrane Library、Ovid SP、Wiley Online Library、EBSCO、Elsevier Science Direct、Springer 数据库, 文献检索时间均从建库至 2016 年 8 月。中文数据库自由词为“重症肌无力”、“细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原”或“CTLA”、“多态性”, 英文数据库自由词为“myasthenia gravis”、“cytotoxic T lymphocyte associated antigen”或“CTLA”、“polymorphism”, 检索条件不限制。

1.4 筛选文献 两名作者分别按检索方法进行数据库文献检索, 阅读文题、摘要、全文, 按照纳入和排除标准进行筛选, 意见不一时商讨而定。

1.5 提取资料 包括纳入文献的第一作者, 研究单位所在国家, 病例组和对照组的总例数、基因型例

2017-01-13 接收

基金项目: 安徽省卫生厅医学科研课题 (编号: 13zc032)

作者单位: ¹安徽医科大学附属省立医院神经内科, 合肥 230001

²安徽医科大学附属阜阳医院骨科, 阜阳 236000

³安徽省肿瘤医院 (安徽省立医院西区) 急诊内科, 合肥 230031

作者简介: 汪煜, 男, 硕士研究生;

陈银河, 男, 住院医师, 责任作者, E-mail: chenmilkyway@163.com;

王文静, 女, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: wangwj1961@aliyun.com

* 对本文具有同等贡献

数、等位基因频数。若病例组分为胸腺瘤型 MG (thymoma-associated MG, TAMG)、胸腺增生型 MG (thymic hyperplasia MG, THMG)、自身免疫性 MG (autoimmune MG, AIMG) 等不同类型,记录相关基因型和等位基因频数。文献中数字未提及或无法计算用 NA 表示。

1.6 文献质量评价 计算纳入文献中的对照组次要等位基因频率(minor allele frequency, MAF)和对照组的基因型频率是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡(hardy-weinberg equilibrium, HWE)。若 HWE $P \leq 0.05$, 则该文献为低质量;若 $P > 0.05$, 则该文献为高质量。

1.7 统计学处理 采用 Revman 5.3 软件进行 Meta 分析。计数资料采用比值比(OR)及其 95% 置信区间(CI)表示。根据 I^2 的大小判断异质性,若 $I^2 < 25%$, 则异质性不明显,应用固定效应模型;若 $I^2 \geq 25%$, 则异质性明显,应用随机效应模型^[17]。发表偏倚分析采用 Begg's 检验和 Egger's 检验定量评估。检验水准 $\alpha = 0.01$ 。

2 结果

2.1 文献检索结果 按照文献检索方法检索文献 22 篇,筛选流程及最终结果见图 1。病例组和对照组的 CTLA-4 基因第 1 外显子 +49A/G 位点(rs231775) SNP 的资料见表 1,文献 [3]、[9]和 [12]未列出各基因型和等位基因的频数,未纳入最终统计。病例组和对照组的 CTLA-4 基因启动子区-1772T/C 位点(rs733618) SNP 的资料见表 2,文献 [3]、[13]和 [14]数据雷同,仅纳入文献 [14]一篇;文献 [7]、[15]数据类似,仅纳入文献 [7]一篇;文献 [9]未列出各基因型和等位基因的频数,未纳入最终统计。

2.2 Meta 分析结果

2.2.1 CTLA-4 基因 rs231775 与 MG 在表 3 中, AA 基因型与病例组差异有统计学意义($P = 0.006$),但与 TAMG、THMG、AIMG 亚组差异均无统计学意义;A 等位基因虽与病例组差异有统计学意义($P = 0.010$),但与各亚组差异无统计学意义;G 等位基因与病例组差异有统计学意义($P = 0.006$),亚组分析后仅与 AIMG 亚组差异有统计学意义($P = 0.007$)提示携带 G 等位基因人群患 AIMG 的风险增高,见图 2。

2.2.2 CTLA-4 基因 rs733618 与 MG 在表 4 中, TT 基因型与病例组及各亚组差异均无统计学意义;

CC 基因型虽与病例组差异无统计学意义,但与 AIMG 亚组差异有统计学意义($P < 0.001$),提示携带 CC 基因型人群患 AIMG 的风险增高,见图 3;T 和 C 等位基因虽与病例组均差异无统计学意义,但 T 和 C 等位基因均与 AIMG 亚组差异有统计学意义($P < 0.001$),提示携带 C 等位基因人群患 AIMG 的风险增高,见图 4。

2.3 敏感性分析

2.3.1 CTLA-4 基因 rs231775 与 MG 在表 3 中, AA 和 GG 基因型、A 和 G 等位基因与 MG 组的异质性均较明显,采用逐一剔除纳入原始文献的方法进行敏感性分析,显示在 AA 基因型的对比中,当剔除 Wang et al^[2] 研究时异质性下降($I^2 = 9%$, $P = 0.36$),当剔除孔晓彤等^[11] 研究时异质性下降($I^2 = 9%$, $P = 0.36$)。在 GG 基因型、A 和 G 等位基因的对比中,逐一剔除纳入原始文献后未显示异质性明显变化。

2.3.2 CTLA-4 基因 rs733618 与 MG 在表 4 中, TT 和 CC 基因型、T 和 C 等位基因与 MG 组的异质性均较明显。在 TT 基因型的对比中,当剔除林晓芳等^[16] 研究时异质性下降($I^2 = 0$, $P = 0.63$);在 CC 基因型的对比中,当剔除 Wang et al^[14] 研究时异质性下降($I^2 = 0$, $P = 0.43$),剔除 Sun et al^[7] 研究时异质性下降($I^2 = 3%$, $P = 0.36$);在 T 等位基因的对比中,当剔除林晓芳等^[16] 研究时异质性下降($I^2 = 0$, $P = 0.46$);在 C 等位基因的对比中,当剔除林晓芳等^[16] 研究时异质性下降($I^2 = 0$, $P = 0.46$)。

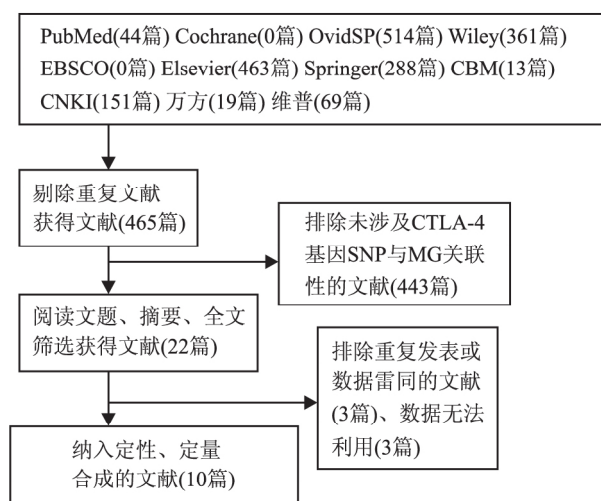


图 1 文献筛选流程

2.4 发表偏倚评估

2.4.1 CTLA-4 基因 rs231775 与 MG AA 基因型、

表1 病例组和对照组 CTLA-4 基因 rs231775 SNP 的基本特征(n)

第一作者	国家	组别	n	基因型		等位基因数		MAF	HWE
				AA	GG	A	G	P 值	P 值
Wang ^[2] 2002	瑞典	病例组	101	30	24	107	95	0.48	1.000
		TAMG	15	2	6	11	19		
		THMG	30	12	3	39	21		
		AIMG	56	16	15	57	55		
毛海婷 ^[3] 2004	瑞典	对照组	122	32	28	126	118	NA	NA
		病例组	165	NA	NA	NA	NA		
Chuang ^[4] 2005	德国	病例组	208	87	31	264	152	0.36	0.020
		TAMG	79	36	8	107	51		
		THMG	129	51	23	157	101		
		对照组	173	78	30	221	125		
Fernández ^[5] 2009	美国	AIMG	37	11	9	39	35	0.43	0.838
		对照组	98	32	19	111	85		
张军 ^[6] 2011	中国	病例组	79	39	12	106	52	0.16	1.000
		TAMG	44	19	9	54	34		
		AIMG	35	20	3	52	18		
Sun ^[7] 2014	中国	病例组	168	10	98	80	256	0.68	0.550
		对照组	233	22	104	151	315		
Chuang ^[8] 2014	德国	病例组	116	39	25	130	102	0.36	0.013
		THMG	31	17	5	43	19		
		AIMG	28	7	8	27	29		
		对照组	172	78	30	220	124		
夏梦 ^[9] 2014	中国	病例组	480	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		对照组	487	NA	NA	NA	NA		
彭忠伟 ^[10] 2015	中国	病例组	90	7	39	58	122	0.60	0.248
		AIMG	56	2	24	34	78		
孔晓彤 ^[11] 2016	中国	病例组	76	24	36	64	88	0.22	0.051
		对照组	59	33	0	92	26		
Li ^[12] 2016	中国	病例组	389	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		对照组	487	NA	NA	NA	NA		

GG 基因型、A 等位基因、G 等位基因的 Begg's 检验 ($z = -0.12, 1.61, 1.36, 1.36; P = 1.000, 0.108, 0.174, 0.174$) 和 Egger's 检验 ($t = -1.10, 1.96, -1.71, 1.71; P = 0.314, 0.098, 0.137, 0.137$) 结果显示差异无统计学意义。

2.4.2 CTLA-4 基因 rs733618 与 MG TT 基因型、T 等位基因、C 等位基因的 Begg's 检验 ($z = 0.34, P = 0.734$) 和 Egger's 检验 ($t = 0.10, -0.41, 0.41, P = 0.930, 0.723, 0.723$) 结果显示差异无统计学意义。CC 基因型的 Begg's 检验 ($z = 1.70, P = 0.089$) 和 Egger's 检验 ($t = -16.22, P = 0.004$) 结果显示差异有统计学意义。

3 讨论

人 CTLA-4 基因位于染色体 2q33, 具有 4 个外显子和 3 个内含子。CTLA-4 分子是激活的 CD4⁺、

CD8⁺ T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞表达的, 通过与抗原提呈细胞表面的 B7 分子结合, 负性调控 T 细胞增殖和活化、诱导 T 细胞耐受的一种膜蛋白。CTLA-4 基因多态性已显示与多种免疫相关性疾病有关联性, 如 1 型糖尿病、甲状腺功能亢进、系统性红斑狼疮、抗中性粒细胞胞浆抗体相关性脉管炎、溃疡性结肠炎、强直性脊柱炎、自身免疫性 Addison 病等, 并不是 MG 的唯一致病因素。CTLA-4 基因多态性可能导致不同的基因剪接而形成膜型和可溶性 CTLA-4, 可溶性 CTLA-4 主要存在于血浆中, 与膜型竞争结合配体, 通过干扰 B7/CD28 或 B7/CTLA-4 信号传导途径在免疫调节中发挥不同作用。激素治疗或胸腺切除可减少可溶性 CTLA-4 的表达, 提示 CTLA-4 参与 MG 的发病过程^[18]。相关位点基因突变可影响基因的剪接, CTLA-4 基因 rs733618 T→C 的突变使核因子 1 结合位点消失, rs4553808A→G

表2 MG组和对照组 CTLA-4 基因 rs733618 SNP 的基本特征(n)

第一作者	国家	组别	n	基因型		等位基因数		MAF	HWE
				TT	CC	T	C	P 值	P 值
毛海婷 ^[3] 2004	瑞典	病例组	165	131	0	296	34	0.07	0.178
		对照组	148	128	2	274	22		
Sun ^[7] 2014	中国	病例组	168	62	45	185	106	0.33	1.000
		对照组	233	105	25	313	153		
夏梦 ^[9] 2014	中国	病例组	480	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		对照组	487	NA	NA	NA	NA		
孔晓彤 ^[11] 2016	中国	病例组	76	23	13	86	66	0.31	1.000
		对照组	59	28	6	81	37		
Li ^[12] 2016	中国	病例组	389	NA	NA	NA	NA	NA	NA
		对照组	487	NA	NA	NA	NA		
毛海婷 ^[13] 2005	瑞典	病例组	165	131	0	296	34	0.07	0.178
		TAMG	22	15	0	37	7		
		THMG	59	49	0	108	10		
		AIMG	17	13	0	30	4		
Wang ^[14] 2008	瑞典	病例组	165	131	0	296	34	0.07	0.178
		TAMG	22	15	0	37	7		
		THMG	59	49	0	108	10		
		AIMG	17	13	0	30	4		
谢琰臣 ^[15] 2009	中国	对照组	148	128	2	274	22	0.07	0.178
		病例组	166	61	45	182	150		
		TAMG	27	10	6	31	23		
		AIMG	129	46	37	138	120		
林晓芳 ^[16] 2014	中国	对照组	233	104	25	312	154	0.33	1.000
		病例组	90	42	10	122	58		
		对照组	80	26	6	100	60		

表3 CTLA-4 基因 rs231775 的 Meta 分析结果

比较类型	分组	异质性			效应模型	Meta 分析结果		
		χ^2 值	I^2 (%)	P 值		OR(95% CI)	Z 值	P 值
AA 基因型	病例组	10.23	32	0.180	随机	0.68(0.52~0.89)	2.75	0.006
	TAMG	5.39	63	0.070	随机	0.58(0.25~1.34)	1.28	0.200
	THMG	3.94	49	0.140	随机	1.19(0.69~2.05)	0.61	0.540
	AIMG	5.23	23	0.260	固定	0.67(0.46~0.99)	1.99	0.050
GG 基因型	病例组	19.50	64	0.007	随机	1.50(0.98~2.32)	1.85	0.060
	TAMG	17.71	89	<0.001	随机	0.29(0.06~1.49)	1.48	0.140
	THMG	0.13	0	0.940	固定	0.26(0.17~0.41)	5.85	<0.001
	AIMG	40.53	90	<0.001	随机	0.63(0.18~2.23)	0.72	0.470
A 等位基因	病例组	33.99	79	<0.001	随机	0.66(0.48~0.90)	2.58	0.010
	TAMG	12.41	84	0.002	随机	0.60(0.25~1.45)	1.13	0.260
	THMG	4.32	54	0.120	随机	1.18(0.78~1.79)	0.77	0.440
	AIMG	4.49	11	0.340	固定	0.75(0.59~0.95)	2.35	0.020
G 等位基因	病例组	33.02	79	<0.001	随机	1.55(1.13~2.12)	2.74	0.006
	TAMG	12.41	84	0.002	随机	1.67(0.69~4.02)	1.13	0.260
	THMG	4.32	54	0.120	随机	0.85(0.56~1.29)	0.77	0.440
	AIMG	3.61	0	0.460	固定	1.39(1.09~1.77)	2.67	0.007

的突变产生 CCAAT/增强子结合蛋白 β 结合位点, 影响负性调节信号而导致 MG 的发病^[12]。

一项以北美白种人为研究对象的全基因组关联研究^[19]显示 CTLA-4 基因 rs231770 ($OR = 1.37$, $95\% CI: 1.25 \sim 1.49$, $P = 3.98 \times 10^{-8}$) 与 MG 有关

联性, 并且在意大利人群中得以验证, 由于该位点的文献仅此一篇, 未进行 Meta 分析。国内一项大样本病例回顾性^[20]分析, MG 合并胸腺增生约 66.4%, 合并胸腺瘤约 14.8%。故本文将病例组分为 TAMG、THMG、AIMG 三个亚组进行分析, 但由于文

表4 CTLA-4 基因 rs733618 的 Meta 分析结果

比较类型	分组	异质性			效应模型	Meta 分析结果		
		χ^2 值	I^2 (%)	P 值		OR(95% CI)	Z 值	P 值
TT 基因型	病例组	9.74	69	0.020	随机	0.79(0.47~1.32)	0.92	0.360
	TAMG	1.38	28	0.240	随机	0.52(0.25~1.12)	1.67	0.090
	AIMG	0.21	0	0.650	固定	0.67(0.44~1.01)	1.90	0.060
CC 基因型	病例组	4.53	34	0.210	随机	2.04(1.09~3.82)	2.22	0.030
	TAMG	0.13	0	0.710	固定	2.23(0.87~5.73)	1.66	0.100
	AIMG	0.19	0	0.660	固定	3.28(1.89~5.70)	4.22	<0.001
T 等位基因	病例组	5.39	44	0.150	随机	0.84(0.62~1.13)	1.17	0.240
	TAMG	0.67	0	0.410	固定	0.60(0.37~0.97)	2.08	0.040
	AIMG	0.01	0	0.920	固定	0.57(0.42~0.77)	3.67	<0.001
C 等位基因	病例组	5.39	44	0.150	随机	1.19(0.89~1.60)	1.17	0.240
	TAMG	0.67	0	0.410	固定	1.68(1.03~2.74)	2.08	0.040
	AIMG	0.01	0	0.920	固定	1.76(1.30~2.37)	3.67	<0.001

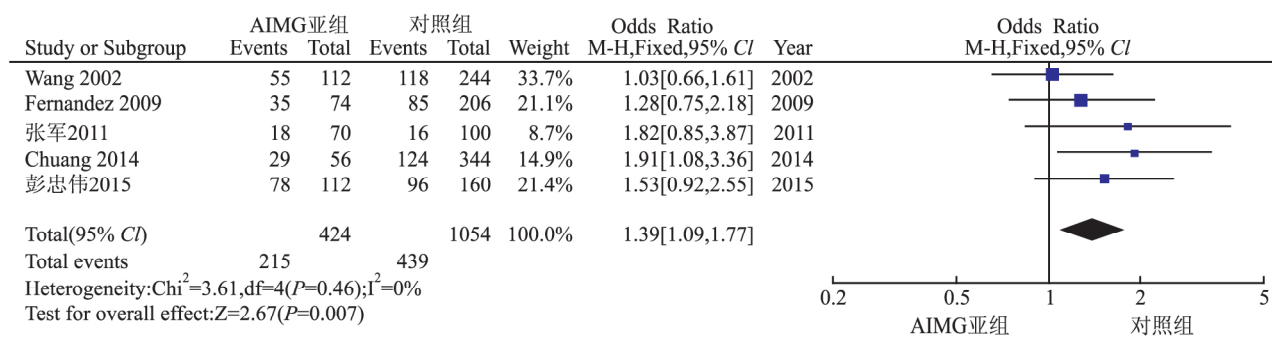


图2 CTLA-4 基因 rs2317755 G 等位基因与 AIMG 亚组的森林图

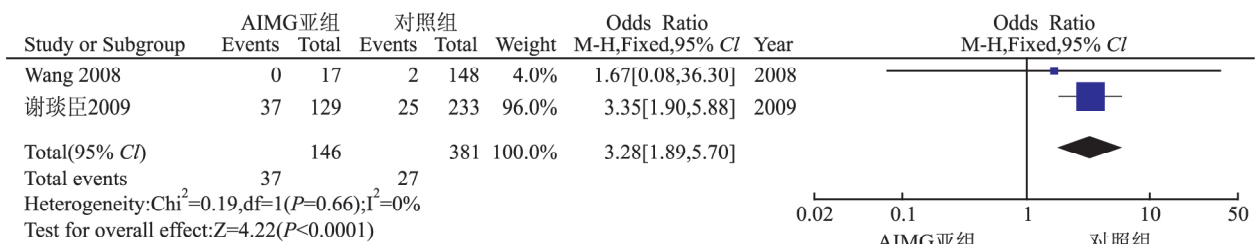


图3 CTLA-4 基因 rs733618 CC 基因型与 AIMG 亚组的森林图

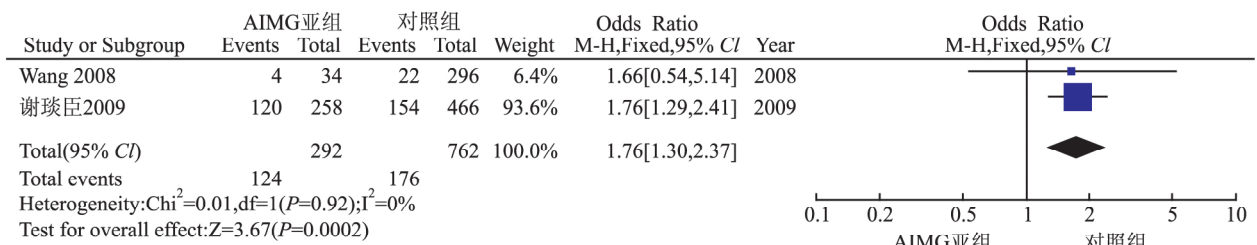


图4 CTLA-4 基因 rs733618 C 等位基因与 AIMG 亚组的森林图

献较少、原始研究分组数据不详细以致纳入文献较少,所得结果论证力度不强。本文对研究较多的 CTLA-4 基因 rs231775、rs733618 位点的 SNP 进行 Meta 分析,联合检索中文和英文数据库,剔除重复文献,将选择偏倚将至最低,所得结果相对可靠。文中两个位点 SNP 各基因型和等位基因的对比研究

中异质性均较明显,行逐一剔除纳入原始研究的方法进行敏感性分析,显示 rs231775 AA 基因型研究中,异质性可能来源于 Wang et al^[2] 和孔晓彤等^[11] 研究,虽然两者的文献质量较高,可能与后者研究中对对照组人数较少有关。在 rs733618 与 MG 研究的敏感性分析中,异质性来源于 Wang et al^[14] 的原因可

能是对照组中 CC 基因型人数少, 异质性来源于林晓芳等^[16]的原因可能是文献质量较低、样本代表性较差, 但也可能存在其他无法解释的原因。本文存在不足之处: ① 未检索 Embase 数据库以致可能漏检少量灰色文献; ② 大多数原始文献未将 MG 组详细分组以致结果较为笼统; ③ 少量原始文献未提供具体数据以致部分数据缺失、结果准确性下降。

综上所述, CTLA-4 基因 rs231775 G 等位基因、rs733618 CC 基因型和 C 等位基因与 AIMG 易感性之间有关联性。建议后期研究者设计良好的病例对照研究, 如大样本、病例组和对照组提供详细的数据、病例组明确 MG 的分型等。

参考文献

- [1] 中国免疫学会神经免疫学分会, 中华医学会神经病学分会神经免疫学组. 重症肌无力诊断和治疗中国专家共识[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2012, 19(6): 401-8.
- [2] Wang X B, Kakoulidou M, Qiu Q, et al. CDS1 and promoter single nucleotide polymorphisms of the CTLA-4 gene in human myasthenia gravis[J]. *Genes Immun*, 2002, 3(1): 46-9.
- [3] 毛海婷, 王雄彪, 张玲, 等. CTLA-4 基因多态性在重症肌无力发病机理中的作用[J]. 中华医学遗传学杂志, 2004, 21(6): 574-8.
- [4] Chuang W Y, Ströbel P, Gold R, et al. A CTLA4 high genotype is associated with myasthenia gravis in thymoma patients[J]. *Ann Neurol*, 2005, 58(4): 644-8.
- [5] Fernández-Mestre M, Sánchez K, Balbás O, et al. Influence of CTLA-4 gene polymorphism in autoimmune and infectious diseases[J]. *Hum Immunol*, 2009, 70(7): 532-5.
- [6] 张军. PTPN22、CTLA-4 基因多态性与胸腺瘤型重症肌无力的相关性研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2011.
- [7] Sun L, Meng Y, Xie Y, et al. CTLA4 variants and haplotype contribute genetic susceptibility to myasthenia gravis in northern Chinese population[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e101986.
- [8] Chuang W Y, Ströbel P, Bohlender-Willke A L, et al. Late-onset myasthenia gravis-CTLA4low genotype association and low-for-age thymic output of naïve T cells[J]. *J Autoimmun*, 2014, 52: 122-9.
- [9] 夏梦, 李海峰. CTLA-4 基因多态性与重症肌无力易感性的关联性研究[A]. 中华医学会, 中华医学会神经病学分会. 中华医学会第十七次全国神经病学学术会议论文汇编(上)[C]. 中华医学会、中华医学会神经病学分会, 2014: 1.
- [10] 彭志伟, 刘肇绩, 郑维红. CTLA-4 基因外显子 49 位点多态性与重症肌无力的相关性研究[J]. *中外医学研究*, 2015, 13(5): 17-20.
- [11] 孔晓彤, 王丽华, 王健健, 等. 重症肌无力与多基因多位点单核苷酸多态性的相关性研究[J]. *中华神经科杂志*, 2016, 49(4): 307-11.
- [12] Li H F, Hong Y, Zhang X, et al. Gene polymorphisms for both auto-antigen and immune-modulating proteins are associated with the susceptibility of autoimmune myasthenia gravis[J]. *Mol Neurobiol*, 2016 [Epub ahead of print].
- [13] 毛海婷, 王雄彪, 张玲, 等. CTLA-4 在重症肌无力患者中的表达及其多态性导致的无效转录研究[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2005, 25(4): 257-62.
- [14] Wang X B, Pirskanen R, Giscombe R, et al. Two SNPs in the promoter region of the CTLA-4 gene affect binding of transcription factors and are associated with human myasthenia gravis[J]. *J Intern Med*, 2008, 263(1): 61-9.
- [15] 谢琰臣, 孙亮, 李海峰, 等. CTLA-4 基因-1722 位点多态性与重症肌无力的相关性研究[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2009, 16(5): 356-8.
- [16] 林晓芳, 刘肇绩, 郑维红, 等. CTLA-4 基因启动子 1722 位点多态性与重症肌无力的相关性研究[J]. *医学分子生物学杂志*, 2014, 11(2): 98-101.
- [17] Peng W J, He Q, Yang J X, et al. Meta-analysis of association between cytokine gene polymorphisms and lung cancer risk[J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(5): 5187-94.
- [18] 郑维红, 王文杰, 林晓芳, 等. 血清可溶性 CTLA-4 表达与重症肌无力的相关性研究[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2013, 33(7): 513-7.
- [19] Renton A E, Pliner H A, Provenzano C, et al. A genome-wide association study of myasthenia gravis[J]. *JAMA Neurol*, 2015, 72(4): 396-404.
- [20] Huang X, Liu W B, Men L N, et al. Clinical features of myasthenia gravis in southern China: a retrospective review of 2,154 cases over 22 years[J]. *Neurol Sci*, 2013, 34(6): 911-7.

Association between CTLA-4 gene polymorphism and myasthenia gravis susceptibility: a Meta-analysis

Wang Yu¹, Chen Yinhe², Wang Wenjing¹, et al

(¹Dept of Neurology, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001;

²Dept of Orthopaedic Surgery, The Affiliated Fuyang Hospital of Anhui Medical University, Fuyang 236000)

Abstract Objective To explore the association between CTLA-4 gene polymorphism and susceptibility to myasthenia gravis (MG). **Methods** The case-control studies from Chinese biomedical database, Chinese national knowl-

干扰 RNA 沉默 *tpd52* 基因对胶质瘤细胞增殖及凋亡的影响

秦浩¹, 高兵兵¹, 孙移坤², 张昊驹¹, 刘晨², 侯江雷², 黄佛宝², 罗丹², 戴宜武¹

摘要 目的 探究沉默 *tpd52* 基因表达后对胶质瘤 U87 细胞增殖、周期及凋亡的影响。方法 将携带着 shRNA-*tpd52* (抑制 *tpd52* 的核苷酸序列)、shRNA-NC(阴性对照的核苷酸序列)的慢病毒体外转染胶质瘤细胞系 U87。在转染 48 h 后荧光显微镜下观察表达 GFP 细胞数量,采用荧光定量 PCR、Western blot 分别检测 TPD52 mRNA 及蛋白表达量,MTT 检测细胞增殖能力,流式细胞术检测细胞周期分布,Annexin V 和 PI 双染流式细胞术检测细胞凋亡。结果 U87 细胞转染率 > 90%,与 shRNA-NC 组及空白对照组相比较,shRNA-*tpd52* 组细胞 TPD52 mRNA 及蛋白表达量明显减少 ($P < 0.01$),而且细胞增殖能力明显下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);细胞周期被阻滞在 G0/G1 期、细胞凋亡比例明显增加 ($P < 0.05$)。结论 沉默胶质瘤细胞中 *tpd52* 基因表达后,可以有效抑制细胞增殖,阻滞细胞周期,促进细胞凋亡。

关键词 胶质瘤; *tpd52*; 细胞增殖; 细胞凋亡

中图分类号 R 730.246

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)04-0514-05

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.04.011

2016-12-30 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81271391)

作者单位: ¹安徽医科大学附属陆军总医院临床学院神经外科,北京 100000

²陆军总医院神经外科,北京 100000

作者简介: 秦浩,男,硕士研究生;

戴宜武,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者, E-mail: qinhaoweidong@163.com

脑胶质瘤是发病率最高的颅内恶性肿瘤^[1],约占中枢神经系统肿瘤的一半,平均生存期仅为 9 ~ 12 个月^[2]。虽然临床上“手术 + 放疗 + 化疗”^[3]为主的综合治疗取得很大进步,但由于胶质瘤的浸润性、放疗的低敏感性、血脑屏障对化疗药物的阻隔性,患者预后仍未明显改善。近年来随着生物靶向治疗方法的出现,明确肿瘤发生发展的具体分子调节机制日益重要,这将是人类治疗肿瘤的新方法。肿瘤蛋白 D52(TPD52)家族是近年来发现的一类原癌基因,包括 *hD52(tpd52)*、*hD53(tpd52L1)*、*hD54(tpd52L2)*、*hD55(tpd52L3)*,其位于 8q12 染色体上,其由 200 余个氨基酸组成。近年显示 TPD52 在多种肿瘤组织中表达升高,包括前列腺癌、乳腺癌、肺癌、结肠癌、卵巢癌及黑色素瘤,且与肿瘤分级、预后密切相关,参与肿瘤发生、扩增、浸润及转移等进程。然而,TPD52 在胶质瘤细胞中的分子机制仍未有报道。该研究通过干扰 RNA 沉默胶质瘤细胞中 *tpd52* 基因表达来研究其对胶质瘤增殖、凋亡及周期的影响。

1 材料与方法

1.1 试剂 DMEM 培养基、血清、胰蛋白酶、Lipofectamine™ 2000、总 RNA 抽提试剂 TRIzol、TPD52 siRNA 和对照 siRNA 均购自美国 Invitrogen 公司; U87 细胞购自中科院上海生物细胞研究所; MTT 购

edge infrastructure, Wanfang, Weipu, PubMed, Cochrane Library, OvidSP, Wiley Online Library, EBSCO, Elsevier Science Direct, Springer Link databases for the association CTLA-4 gene polymorphism with MG. The association strength were assessed by RevMan 5.3 software. **Results** Ten references were enrolled in total. MG was divided into thymoma-associated MG(TAMG), thymic hyperplasia MG(THMG) and autoimmune MG(AIMG). The Meta analysis showed that carriers of rs231775 allele G have higher risk of MG(OR = 1.55, 95% CI: 1.13 ~ 2.12, P = 0.006), and higher risk of AIMG(OR = 1.39, 95% CI: 1.09 ~ 1.77, P = 0.007) by subgroup analysis. Carriers of rs733618 genotype CC(OR = 3.28, 95% CI: 1.89 ~ 5.70, P < 0.001) and allele C(OR = 1.76, 95% CI: 1.30 ~ 2.37, P < 0.001) have higher risk of AIMG by subgroup analysis. **Conclusion** The meta analysis reveals that rs231775 allele G, rs733618 genotype CC and allele C of CTLA-4 gene is associated with the susceptibility to MG.

Key words mysathenia gravis; cytotoxic T lymphocyte associated antigen; polymorphism; single nucleotide; Meta-analysis