

PD-1 和 CTLA-4 3'UTR 基因交互作用在 HBV 感染中的作用*

张国好¹ 齐晓霞² 陆宏伟² 卢乐²

(1. 西安交通大学第一附属医院感染科, 陕西 西安 710061; 2. 西安交通大学第二附属医院普外科, 陕西 西安 710004)

【摘要】 目的 探讨慢性 HBV 感染者 PD-1 和 CTLA-4 3'UTR 的基因多态性分布, 以及二者之间的交互作用。方法 通过病例对照研究方法, PCR-RFLP 技术检测慢性 HBV 感染者 433 例, 健康对照者 208 例, PD-1 rs10204525 和 CTLA-4 rs3087243 的基因型分布频率, 采用 χ^2 检验分析 HBV 感染组与健康对照组的基因型频率、等位基因频率、基因间的交互作用、与疾病严重程度的关系。结果 PD-1 rs10204525; 与 GG 基因型相比, 慢性 HBV 感染组的 AA 基因型频率明显高于健康对照组 ($P=0.019$, $OR=2.231$, $95\%CI=1.127\sim4.418$), A 等位基因频率明显高于健康对照组 ($P=0.033$, $OR=1.334$, $95\%CI=1.024\sim1.739$)。CTLA-4 rs3087243; 与 AA 基因型相比, 慢性 HBV 感染组的 GG 基因型频率明显高于健康对照组 ($P=0.016$, $OR=2.196$, $95\%CI=1.145\sim4.214$), G 等位基因频率明显高于健康对照组 ($P=0.040$, $OR=1.320$, $95\%CI=1.012\sim1.723$)。PD-1 和 CTLA-4 的基因型交互后, 在 HBV 感染组和健康对照组中的差异、与疾病严重程度、与肝癌的关系均有统计学意义。结论 PD-1 rs10204525 的 AA 基因型和 A 等位基因可能是慢性 HBV 感染的危险因素, CTLA-4 rs3087243 的 GG 基因型和 G 等位基因可能是慢性 HBV 感染的危险因素。联合基因型可增加慢性 HBV 感染的危险因素。CTLA-4 rs3087243 的 GG 基因型和 G 等位基因可能与 HCC 感染相关。

【关键词】 慢性 HBV 感染; 3'非翻译区; 基因多态性; 程序性细胞死亡分子-1; 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4

【中图分类号】 R512.6⁺2 **【文献标志码】** A **DOI:**10.3969/j.issn.1672-3511.2022.09.011

The role of PD-1 and CTLA-4 3'UTR gene interaction in HBV infection

ZHANG Guoyu¹, QI Xiaoxia², LU Hongwei², LU Le²

(1. Department of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Xian Jiaotong University, Xian 710061, China;

2. Department of General Surgery, The Second Affiliated Hospital of Xian Jiaotong University, Xian 710061, China)

【Abstract】 Objective To investigate the genetic polymorphisms of PD-1 and CTLA-4 3'UTR in chronic HBV infection and the interaction between the two. **Methods** Through the case-control study method, PCR-RFLP technology was used to detect 433 chronic HBV infections and 208 healthy controls. The genotype distribution frequency of PD-1 rs10204525 and CTLA-4 rs3087243 was used to analyze the HBV infection group and health by χ^2 test. The relationship between genotype frequency, allele frequency, gene interaction, and disease severity in the control group. **Results** PD-1 rs10204525; compared with the GG genotype, the frequency of the AA genotype in the chronic HBV infection group was significantly higher than that in the healthy control group ($P=0.019$, $OR=2.231$, $95\%CI=1.127\sim4.418$), A allele The gene frequency was significantly higher than that of the healthy control group ($P=0.033$, $OR=1.334$, $95\%CI=1.024\sim1.739$). CTLA-4 rs3087243; compared with the AA genotype, the frequency of the GG genotype in the chronic HBV infection group was significantly higher than that in the healthy control group ($P=0.016$, $OR=2.196$, $95\%CI=1.145\sim4.214$), and the G allele frequency It was significantly higher than the healthy control group ($P=0.040$, $OR=1.320$, $95\%CI=1.012\sim1.723$). After the genotype interaction of PD-1 and CTLA-4, the differences between the HBV infection group and the healthy control group, the severity of the disease, and the relationship with liver cancer were statistically

基金项目: 国家自然科学基金(81600474); 陕西省自然科学基金(2018JM7034, 2017JQ8014)

通信作者: 卢乐, E-mail: lule2008@163.com

引用本文: 张国好, 齐晓霞, 陆宏伟, 等. PD-1 和 CTLA-4 3'UTR 基因交互作用在 HBV 感染中的作用[J]. 西部医学, 2022, 34(9): 1306-1311.

DOI:10.3969/j.issn.1672-3511.2022.09.011

significant. **Conclusion** The AA genotype and A allele of PD-1 rs10204525 may be risk factors for chronic HBV infection, and the GG genotype and G allele of CTLA-4 rs3087243 may be risk factors for chronic HBV infection. Combined genotype can increase the risk factors of chronic HBV infection. The GG genotype and G allele of CTLA-4 rs3087243 may be related to HCC infection.

【Key words】 Chronic HBV infection; 3' untranslated region; Gene polymorphism; Programmed cell death molecule-1, Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4

乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染是全世界范围内的严重公共卫生问题之一。据 WHO 统计,全世界约有 20 亿人曾感染过 HBV,而其中超过 2.96 亿是慢性 HBV 感染者,每年全球大约有 82 万人死于 HBV 感染及其相关疾病^[1]。HBV 感染机体后,主要是由于细胞免疫对肝细胞的致病作用对机体造成损伤。近年来,与免疫调节呈负性相关的几个重要的免疫抑制性分子——程序性细胞死亡分子-1(programmed cell death-1, PD-1)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4(cytotoxic T lymphocyte associated antigen-4, CTLA-4)、T 细胞免疫球蛋白及粘蛋白分子-3(T cell immunoglobulin and mucin domain 3, TIM-3)由于在慢性感染中发挥着重要作用而倍受关注^[2-3]。miRNA 是一类非常重要的转录后调控因子,可以通过对靶 mRNA 的负性调控作用,影响生物体的生长发育,细胞的凋亡,疾病的发生等。miRNA 与靶 mRNA 分子 3'非翻译区(3'untranslated region, 3'UTR)的特异性结合是调控 mRNA 水平和蛋白表达的关键。miRNA 与靶基因 mRNA 的结合效率依赖于 mRNA 的序列以及分子内结构。而 miRNA 靶基因 SNP 能够导致 mRNA 侧翼区域结构的改变,建立新的 miRNA 靶结合位点或去掉原有的靶结合位点,影响 miRNA 的结合效率和靶基因的表达^[4-5]。因此,miRNA 靶序列 SNP 可以通过影响 miRNA 与靶 mRNA 3'UTR 的结合,参与基因功能的调控。有研究已经报道了 PD-1 3'UTR 的 rs10204525 位点和 CTLA-4 3'UTR 的 rs3087243 位点在 HBV 感染中分别发挥着作用^[6-7]。因此,我们通过病例对照研究探讨慢性 HBV 感染者 PD-1 和 CTLA-4 3'UTR 的基因多态性分布,以及两者之间的交互作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集西安交通大学第一附属医院 2011 年 8 月~2013 年 6 月慢性 HBV 感染者 433 例,其中男 328 例,女 105 例,平均年龄(39.33±13.20)岁。所有病例的诊断均符合 2019 年中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订的病毒性肝炎诊断标准,并排除合并有其它肝脏疾病(甲型、丙型、丁型、戊型病毒性肝炎、药物性肝炎、脂肪性肝炎、

酒精性肝炎、自身免疫性肝炎、Wilson's 病)、可引起高代谢的疾病(包括糖尿病,获得性免疫缺陷综合症,甲状腺功能亢进)、伴随严重的心血管系统、呼吸系统以及肾功能损害和年龄不满 18 岁的患者。433 例 HBV 感染者的临床分型为 47 例无症状携带者(Asymptomatic carriers, ASC),154 例慢性肝炎(Chronic hepatitis, CH),130 例肝硬化(Liver cirrhosis, LC)和 102 例肝癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)。健康对照者 208 例,为中国陕西籍或长期居住在陕西地区无血缘关系的健康献血员和健康体检者,其中男 151 例,女 57 例;平均年龄(38.17±14.22)岁。两组在年龄与性别间的差异均无统计学意义($P>0.05$)。所有研究对象均知情同意和自愿参加。

1.2 DNA 提取 所有受试者清晨空腹抽血 2 mL,用 EDTA 抗凝后,-20℃ 冷冻保存待提取人类基因组 DNA。用天根血液基因组 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA。

1.3 基因型分析 采用限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP)技术进行基因型分析^[8-9]。引物序列、内切酶、产物长度见表 1。

表 1 PD-1 和 CTLA-4 基因多态性使用的引物序列、内切酶、PCR 产物长度

Table 1 Primer sequences, endonucleases, PCR product lengths used for PD-1 and CTLA-4 gene polymorphisms

基因型	引物	内切酶	产物长度
PD-1	上游: 5'-CCTCACACCACTC GGGAGA-3'	Nla III	A: 301bp
rs10204525	下游: 5'-AGTGGGGGTGCA GTGTGT-3		G: 137bp + 164bp
CTLA-4	上游: 5'-ATAATGCTTCAT GAGTCAGCTT-3'	MaeII	A: 178 bp
rs3087243	下游: 5'-GAGGTGAAGAAC CTGTGTTAAA -3		G: 107bp + 71bp

1.4 统计学分析 采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析。基因型频率用 Hardy-Weinberg 平衡检验。HBV 感染组与健康对照组的基因型频率、等位基因频率、基因间的交互作用、与疾病严重程度的关系,用 χ^2 检验进行计算。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PD-1 和 CTLA-4 的基因型和等位基因频率

PD-1 rs10204525 A/G 和 CTLA-4 rs3087243 A/G 基因型在 HBV 感染组和健康对照组的分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律, 见表 2。PD-1 rs10204525、CTLA-4 rs3087243 在 HBV 感染组和健康对照组中的差异均有统计学意义。PD-1 rs10204525: 与 GG 基因型相比, 慢性 HBV 感染组的 AA 基因型频率明显高于健康对照组 ($P=0.019$, $OR=2.231$, $95\%CI=1.127\sim4.418$), A 等位基因频率明显高于健康对照组 ($P=0.033$, $OR=1.334$, $95\%CI=1.024\sim1.739$)。CTLA-4 rs3087243: 与 AA 基因型相比, 慢性 HBV 感染组的 GG 基因型频率明显高于健康对照组 ($P=0.016$, $OR=2.196$, $95\%CI=1.145\sim4.214$), G 等位基因频率明显高于健康对照组 ($P=0.040$, $OR=1.320$, $95\%CI=1.012\sim1.723$)。见表 3。

表 2 H-W 平衡检验
Table 2 Hardy-Weinberg equilibrium

项目	检测例数	预期例数	χ^2	P
PD-1 rs10204525	AA AG GG	AA AG GG		
HBV 感染组	252 162 19	256 154 23	1.227	0.268
对照组	107 83 18	106 85 17	0.111	0.739
CTLA-4 rs3087243	GG GA AA	GG GA AA		
HBV 感染组	256 156 21	258 153 22	0.199	0.656
对照组	111 77 20	108 84 16	1.480	0.224

2.2 PD-1 和 CTLA-4 的基因型交互作用 以 HBV 易感基因型 PD-1 rs10204525 (AA) CTLA-4 rs3087243(GG)作为参照, 因 PD-1 rs10204525(GG)、CTLA-4 rs3087243(AA)基因型太少, 遂分别将二者少见基因型合并分析。发现组合基因型在 HBV 感染组和健康对照组中的差异有统计学意义, 见表 4、5。与 PD-1rs10204525(GG)CTLA-4rs3087243(GA+AA)组合基因型组相比, PD-1rs10204525(AA)

表 4 将携带有 CTLA-4 少见基因型合并后的组合基因型分析
Table 4 Combined genotype analysis after combining rare genotypes with CTLA-4

项目	HBV 感染组 (n=433)	对照组 (n=208)	P	$OR(95\%CI)$
PD-1 rs10204525	CTLA-4 rs3087243			
AA	GG	193(44.6)	85(40.9)	1
	GA+AA	59(13.6)	22(10.5)	0.554
AG	GG	47(10.9)	15(7.2)	0.319
	GA+AA	115(26.5)	68(32.7)	0.142
GG	GG	16(3.7)	11(5.3)	0.278
	GA+AA	3(0.7)	7(3.4)	0.009

2.3 PD-1 和 CTLA-4 基因型和等位基因与疾病严重程度关系 将 HBV 感染组按疾病严重程度分为无症状携带者、慢性肝炎、肝硬化和肝癌组, 发现 PD-1

表 3 PD-1 和 CTLA-4 的基因型和等位基因分析 [$n, n(\times 10^{-2})$]
Table 3 Genotype and allele frequencies of PD-1 and CTLA4 polymorphisms

项目	HBV 感染组 (n=433)	对照组 (n=208)	P	$OR(95\%CI)$
PD-1 rs10204525	基因型			
	AA	107(51.4)	1	1
	AG	83(39.9)	0.290	1.207(0.852~1.709)
	GG	18(8.7)	0.019	2.231(1.127~4.418)
	等位基因			
	A	297(71.4)	1	1
	G	119(28.6)	0.033	1.334(1.024~1.739)
CTLA-4 rs3087243	基因型			
	GG	111(53.4)	1	1
	GA	77(37.0)	0.471	1.138(0.800~1.619)
	AA	20(9.6)	0.016	2.196(1.145~4.214)
	等位基因			
	G	299(71.9)	1	1
	A	117(28.1)	0.040	1.320(1.012~1.723)

CTLA-4 rs3087243(GG)组合基因型组在慢性 HBV 感染组的分布频率高于健康对照组 ($P=0.009$, $OR=5.298$, $95\%CI=1.338\sim20.983$)。与 PD-1 rs10204525 (AA)基因型使乙肝的发病危险性升高 2.231 倍相比, CTLA-4 rs3087243(GG)基因型显著升高了基于 PD-1 rs10204525 基础上的乙肝发病危险。与 PD-1 rs10204525(AG+GG)CTLA-4 rs3087243(AA)组合基因型组相比, PD-1 rs10204525 (AA) CTLA-4 rs3087243(GG)组合基因型组在慢性 HBV 感染组的分布频率高于健康对照组 ($P=0.002$, $OR=4.995$, $95\%CI=1.684\sim14.820$)。与 CTLA-4 rs3087243 (GG)基因型使乙肝的发病危险性升高 2.196 倍相比, PD-1 rs10204525 (AA) 基因型显著升高了基于 CTLA-4 rs3087243 基础上的乙肝发病危险。

rs10204525 各组间差异无统计学意义, CTLA-4 rs308724基因型和等位基因各组间差异有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 6。进一步组间分析发现, PD-1

表 5 将携带有 PD-1 少见基因型合并后的组合基因型分析
Table 5 Combined genotype analysis after combining rare genotypes with PD-1

项目	HBV 感染组 (n=433)	对照组 (n=208)	P	OR (95% CI)
PD-1 rs10204525	CTLA-4 rs3087243			
AA	GG	193(44.6)	85(40.9)	1
	GA	43(9.9)	13(6.2)	0.270
	AA	16(3.7)	9(4.3)	0.574
AG+GG	GG	63(14.8)	26(13.9)	0.808
	GA	113(25.9)	64(27.9)	0.216
	AA	5(1.1)	11(6.7)	0.002

rs10204525 各组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。而在 CTLA-4 rs308724 组中,与 GA 基因型相比,ASC 组的 GG 基因型频率低于 HCC 组 ($P = 0.026$, $OR = 0.411$, $95\%CI = 0.154 \sim 0.508$),ASC 组的 G 等位基因频率低于 HCC 组 ($P = 0.018$, $OR = 0.483$, $95\%CI = 0.263 \sim 0.888$);与 GA 基因型相比,CH 组的 GG 基因型频率低于 HCC 组 ($P < 0.001$, $OR = 0.279$, $95\%CI = 0.172 \sim 0.568$),G 等位基因频率低于 HCC 组 ($P < 0.001$, $OR = 0.442$, $95\%CI = 0.277 \sim 0.704$);与 GA 基因型相比,LC 组的 GG 基因型频率低于 HCC 组 ($P < 0.001$, $OR = 0.336$, $95\%CI = 0.182 \sim 0.620$),G 等位基因频率低于 HCC 组 ($P = 0.012$, $OR = 0.541$, $95\%CI = 0.332 \sim 0.879$)。提示 CTLA-4 rs3087243 的 GG 基因型和 G 等位基因可能与 HCC 感染相关。

2.4 PD-1 和 CTLA-4 组合基因型与疾病严重程度的关系 以 HBV 易感基因型 PD-1 rs10204525(AA) CTLA-4 rs3087243 (GG) 作为参照,因 PD-1 rs10204525(GG)、CTLA-4 rs3087243(AA)基因型太少,遂将二者少见基因型合并分析,发现组合基因型在各组中的差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 7。进一步组间分析发现:与 PD-1 rs10204525(AA)CTLA-4 rs3087243 (GA+AA) 组合基因型组相比,PD-1 rs10204525(AA)CTLA-4 rs3087243(GG) 组合基因型组在 ASC 组、CH 组的分布频率分别低于 HCC 组 ($P = 0.013$, $OR = 0.233$, $95\%CI = 0.070 \sim 0.779$ 和 $P = 0.001$, $OR = 0.197$, $95\%CI = 0.071 \sim 0.543$);与 PD-1 rs10204525(AG+GG)CTLA-4 rs3087243 (GA+AA) 组合基因型组相比,PD-1 rs10204525(AA)CTLA-4

表 6 PD-1 和 CTLA-4 的基因型和等位基因与疾病严重程度的关系
Table 6 Genotype and allele frequencies of PD-1 and CTLA-4 polymorphisms in hepatitis B virus infected patients with different clinical diagnoses

项目	无症状携带者 (n=47)	慢性肝炎 (n=154)	肝硬化 (n=130)	肝癌 (n=102)	P
PD-1 rs10204525					
基因型					
AA	30(63.8)	92(59.7)	75(57.7)	55(53.9)	1
AG	14(29.8)	55(35.7)	53(40.8)	40(39.2)	0.615
GG	3(6.4)	7(4.5)	2(1.5)	7(6.9)	0.235
等位基因					
A	74(78.7)	239(77.6)	203(78.1)	150(73.5)	1
G	20(21.3)	69(22.4)	57(21.9)	54(26.5)	0.622
CTLA-4 rs3087243					
基因型					
GG	27(57.4)	78(50.6)	73(56.2)	78(76.5)	1
GA	16(34.0)	68(44.2)	53(40.8)	19(18.6)	<0.001
AA	4(8.5)	8(5.2)	4(3.1)	5(4.9)	0.470
等位基因					
G	70(74.5)	224(72.7)	199(76.5)	175(85.8)	1
A	24(25.5)	84(27.3)	61(23.5)	29(14.2)	0.006

rs3087243(GG)组合基因型组在 CH 组的分布频率低于 HCC 组 ($P = 0.045$, $OR = 0.515$, $95\%CI = 0.268 \sim 0.990$);与 PD-1 rs10204525 (AG+GG) CTLA-4 rs3087243(GG)组合基因型组相比,PD-1 rs10204525 (AA)CTLA-4 rs3087243(GG)组合基因型组在 LC 组的分布频率高于 HCC 组 ($P = 0.007$, $OR = 2.847$, $95\%CI = 1.314 \sim 6.165$);与 PD-1 rs10204525 (AA) CTLA-4 rs3087243 (GA+AA) 组合基因型组相比,PD-1 rs10204525(AA)CTLA-4 rs3087243(GG)组合基因型组在 CH 组的分布频率低于 LC 组 ($P = 0.029$, $OR = 0.452$, $95\%CI = 0.219 \sim 0.932$)。

表 7 PD-1 和 CTLA-4 组合基因型与疾病严重程度的关系

Table 7 Combined analysis of PD-1 and CTLA-4 polymorphisms in hepatitis B virus infected patients with different clinical diagnoses

项目	无症状携带者 (n=47)	慢性肝炎 (n=154)	肝硬化 (n=130)	肝癌 (n=102)	P	
PD-1 rs10204525	CTLA-4 rs3087243					
AA	GG	21(44.7)	61(39.6)	61(46.9)	50(49.0)	1
	GA+AA	9(19.1)	31(20.1)	14(10.8)	5(4.9)	0.004
AG+GG	GG	6(12.8)	17(11.0)	12(9.2)	28(27.5)	0.038
	GA+AA	11(23.4)	45(29.3)	43(33.1)	19(18.6)	0.189

2.5 PD-1 和 CTLA-4 组合基因型与肝癌的关系
以 HCC 易感基因型 PD-1 rs10204525 (AG+GG)CTLA-4 rs3087243 (GG) 作为参照, 因 PD-1 rs10204525 (GG)、CTLA-4 rs3087243 (AA) 基因型太少, 遂将二者少见基因型合并分析。发现组合基因型在肝癌组和非肝癌组中的差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 8。与 PD-1 rs10204525 (AG+GG)CTLA-4 rs3087243 (GA+AA)、PD-1 rs10204525 (AA)CTLA-4 rs3087243

(GG)、PD-1 rs10204525 (AA)CTLA-4 rs3087243 (GA+AA) 组合基因型组相比, PD-1 rs10204525 (AG+GG)CTLA-4 rs3087243 (GG) 组合基因型组在非肝癌组的分布频率低于肝癌组 (分别为 $P < 0.001$, $OR = 0.240$, $95\%CI = 0.119 \sim 0.482$; $P = 0.006$, $OR = 0.437$, $95\%CI = 0.242 \sim 0.790$; $P < 0.001$, $OR = 0.116$, $95\%CI = 0.041 \sim 0.328$)。

表 8 PD-1 和 CTLA-4 组合基因型与肝癌的关系

Table 8 Combined analysis of PD-1 and CTLA-4 polymorphisms in patients with or without HCC

项目	非肝癌 (n=331)	肝癌 (n=102)	P	OR (95% CI)
PD-1 rs10204525	CTLA-4 rs3087243			
AG+GG	GG 35(10.6)	28(27.5)	1	1
	GA+AA 99(29.9)	19(18.6)	< 0.001	0.240(0.119~0.482)
AA	GG 143(43.2)	50(49.0)	0.006	0.437(0.242~0.790)
	GA+AA 54(16.3)	5(4.9)	< 0.001	0.116(0.041~0.328)

3 讨论

PD-1 是一种抑制性免疫受体, 属于免疫球蛋白超家族, 主要在活化的淋巴细胞, 自然杀伤细胞和单核细胞中表达^[10]。一旦与它的两个配体 PD-L1 (B7-H1) 和 PD-L2 (B7-DC) 连接, PD-1 可以下调 T 细胞增殖和活性, 抑制细胞因子分泌, 诱导 T 细胞凋亡。PD-1 基因位于染色体的 2q37.3, 由 5 个外显子和 4 个内含子组成。作为肿瘤免疫调节的关键靶点, PD-1 和它的两个配体基因单核苷酸多态性 (SNP) 变异研究主要集中在肿瘤中, 也包括本研究所探讨的 rs10204525 位点, 如肺癌、结直肠癌、上消化道癌等^[11-13]。随着对 PD-1 研究的不断深入, 逐渐发现许多引起慢性感染的微生物都可能利用了 PD-1-PD-L 通路削弱抗感染免疫, 并造成持续的感染状态^[14-15]。因此, 对 PD-1 基因多态性在慢性 HBV 感染中的研究也逐渐进入人们的视野。位于基因 3'UTR 的 SNP 可通过与 miRNA 特异性结合, 进而调控 mRNA 和蛋白的表达。已有研究发现 PD-1 非编码区的基因多态性可以通过改变外周血单个核细胞 (PBMC) 的细胞因子产生和 PD-1 表达而与 HBV 感染的慢性和进展相关^[16-18]。本研究也有类似发现, PD-1 rs10204525 的 AA 基因型和 A 等位基因可能是慢性 HBV 感染的危险因素。

CTLA-4 基因同 PD-1 基因一样也位于 2 号染色体上 (2q33~q37), 包含 4 个内含子和 3 个外显子, 目前已发现若干个基因多态性位点, 这些 SNPs 可能影响 CTLA-4 的表达量以及结构和功能。但有关 CTLA-4 非编码区的基因多态性的研究却相对较少, 仅见于一些自身免疫性疾病和过敏性疾病^[19-20]。本次研究探讨了 CTLA-4 基因 3'UTR 的 SNP 差异在

HBV 感染中的作用。发现 CTLA-4 rs3087243 的 GG 基因型和 G 等位基因可能是慢性 HBV 感染的危险因素。且 CTLA-4 rs3087243 的 GG 基因型和 G 等位基因可能与 HCC 感染相关, 这与其他研究结果一致^[21]。进一步将 CTLA-4 和 PD-1 基因进行联合分析, 发现联合基因型可增加慢性 HBV 感染的危险因素, PD-1 rs10204525 (AA)CTLA-4 rs3087243 (GG) 组合基因型分别增强了 PD-1 rs10204525 (AA) 基因型 (OR 从 2.231 增至 5.298) 和 CTLA-4 rs3087243 (GG) 基因型 (OR 从 2.196 增至 4.995) 的发病风险。

PD-1 和 CTLA-4 作为作为 T 细胞表面一种重要的抑制性共刺激分子, 在免疫调节中发挥着重要的负性调节作用, 并维持着外周免疫耐受^[22-25], 两者的表达水平与慢性 HBV 感染的发生发展密切相关。本研究发现 PD-1 和 CTLA-4 基因 3'UTR 的 SNP 差异与慢性 HBV 感染的发病风险相关, 且两者间存在交互作用。可能通过影响基因 3'UTR 与 miRNA 的结合, 进而影响 PD-1 和 CTLA-4 的表达水平, 最终影响慢性乙型肝炎的发病风险。这可能有助于深入了解它们在遗传学上与 HBV 感染易感性、疾病进展以及结局的关系, 为 HBV 感染基于基因信息的个体化防治提供新的策略。

4 结论

PD-1 rs10204525 的 AA 基因型和 A 等位基因可能是慢性 HBV 感染的危险因素, CTLA-4 rs3087243 的 GG 基因型和 G 等位基因可能是慢性 HBV 感染的危险因素。联合基因型可增加慢性 HBV 感染的危险因素。CTLA-4 rs3087243 的 GG 基因型和 G 等位基因可能与 HCC 感染相关。

【参考文献】

- [1] Health Organization. Hepatitis B. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>.
- [2] ZHANG E, KOSINSKA A, LU M, *et al*. Current status of immunomodulatory therapy in chronic hepatitis B, fifty years after discovery of the virus: Search for the "magic bullet" to kill cccDNA[J]. *Antiviral Res*, 2015,123:193-203.
- [3] WANG L, ZHAO C, PENG Q, *et al*. Expression levels of CD28, CTLA-4, PD-1 and Tim-3 as novel indicators of T-cell immune function in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. *Biomed Rep*, 2014,2(2):270-274.
- [4] XIE X, LU J, KULBOKAS E J, *et al*. Systematic discovery of regulatory motifs in human promoters and 3' UTRs by comparison of several mammals[J]. *Nature*, 2005,434(7031):338-345.
- [5] LE T D, LIU L, TSYKIN A, *et al*. Inferring microRNA-mRNA causal regulatory relationships from expression data[J]. *Bioinformatics*, 2013,29(6):765-771.
- [6] ZHANG G, LI N, LI Z, *et al*. microRNA-4717 differentially interacts with its polymorphic target in the PD1 3' untranslated region: A mechanism for regulating PD-1 expression and function in HBV-associated liver diseases[J]. *Oncotarget*, 2015,6(22):18933-18944.
- [7] CHEN M, CHANG Y, TANG F, *et al*. Influence of cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 polymorphisms on the outcomes of hepatitis B virus infection[J]. *Mol Med Rep*, 2014,9(2):645-652.
- [8] DİRESKENELİ H, TUNA-ERDOĞAN E, GÜNDÜZ F, *et al*. PDCD1 polymorphisms are not associated with Takayasu's arteritis in Turkey[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2012,30(1 Suppl 70):S11-14.
- [9] BAN Y, CONCEPCION E S, VILLANUEVA R, *et al*. Analysis of immune regulatory genes in familial and sporadic Graves' disease[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004,89(9):4562-4568.
- [10] CHEN L. Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2004,4(5):336-347.
- [11] 于伟玲,肖莎,谢宗宙,等. PD-1 基因多态位点 rs2227982 和 rs10204525 与肺癌关联性分析[J]. *现代肿瘤医学*, 2020,28(8):1289-1292.
- [12] 赵苑村,毛志刚,庞华,等. 中国汉族群体中 PDCD1 基因多态性与结直肠癌的相关性[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2018,35(2):219-223.
- [13] 赵月涛,郑晓明,于志勇,等. 定量评估 PD-1 多态性 rs10204525 与中国人上消化道癌症风险的相关性分析[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2018,12(5):310-314.
- [14] BARBER D L, WHERRY E J, MASOPUST D, *et al*. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection[J]. *Nature*, 2006,439(7077):682-687.
- [15] 宁文静,陈奋天,罗文新. 免疫检查点抑制剂在慢性乙型肝炎中的研究进展[J]. *微生物学报*, 2021,61(5):1160-1170.
- [16] HUANG C, GE T, XIA C, *et al*. Association of rs10204525 genotype GG and rs2227982 CC combination in programmed cell death 1 with hepatitis B virus infection risk[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019,98(35):e16972.
- [17] ÜLGER Y, BAYRAM S, SANDIKÇI M Ü, *et al*. Relationship between programmed cell death-1 polymorphisms and clearance of hepatitis B virus[J]. *Int J Immunogenet*, 2015,42(3):133-139.
- [18] ZHANG G, LI N, ZHANG P, *et al*. PD-1 mRNA expression is associated with clinical and viral profile and PD1 3'-untranslated region polymorphism in patients with chronic HBV infection[J]. *Immunol Lett*, 2014,162(Pt A):212-216.
- [19] 侯新,毛金媛,李玉姝,等. CTLA-4 基因 rs3087243 位点与中国汉族自身免疫性甲状腺疾病的相关性研究[J]. *临床内科杂志*, 2016,33(10):669-671.
- [20] 宋尚骅,王小强,沈暘,等. 细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 基因多态性与儿童变应性鼻炎合并哮喘遗传易感性研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2016,30(20):1597-1600.
- [21] YANG J, LIU J, CHEN Y, *et al*. Association of CTLA-4 tagging polymorphisms and haplotypes with hepatocellular carcinoma risk: A case-control study[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019;98(29):e16266.
- [22] 李鹏尉,沈宇清. 免疫检查点分子在慢性 HBV 感染中对 T 细胞功能影响的研究进展[J]. *病毒学报*, 2021,37(2):465-470.
- [23] PROBST H C, MCCOY K, OKAZAKI T, *et al*. Resting dendritic cells induce peripheral CD8+ T cell tolerance through PD-1 and CTLA-4[J]. *Nature Immunol*, 2005,6(3):280-286.
- [24] ZHENG H, NING Y, ZHAN Y, *et al*. New insights into the important roles of tumor cell-intrinsic PD-1[J]. *Int J Biol Sci*, 2021,17(10):2537-2547.
- [25] FIFE B T, BLUESTONE J A. Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways[J]. *Immunol Rev*, 2008,224:166-182.

(收稿日期: 2021-10-24; 修回日期: 2022-01-07; 编辑: 张翰林)