

锌指蛋白基因 *IKZF3* 多态性与中国长江以南汉族人群系统性红斑狼疮的病例对照研究

叶莉霞 付朝伟 江峰 孟炜

200032 上海,复旦大学公共卫生学院流行病学教研室 教育部公共卫生安全重点实验室(叶莉霞、付朝伟、江峰、孟炜); 315010 浙江省宁波市疾病预防控制中心免疫预防所(叶莉霞)

叶莉霞、付朝伟同为第一作者

通信作者:孟炜, Email:wmeng@shmu.edu.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.07.018

【摘要】 目的 研究 *IKZF3* 基因多态性与中国长江以南汉族人群系统性红斑狼疮(SLE)易感性间的关联性。方法 采用病例对照研究(SLE 213 例,正常健康对照者 234 例),应用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法检测 *IKZF3* 基因多态性。在多个遗传模型(加性、隐性、显性)下,利用多因素 logistic 回归模型和广义多因子降维模型(GMDR),分析基因与疾病易感性、疾病临床表型之间的关系,以及基因-基因交互作用,并进行生物信息学分析。结果 *IKZF3* 基因 rs114509391 位点 CA 基因型的个体较 AA 基因型的个体患 SLE 的风险下降($OR=0.14$, $95\%CI: 0.03 \sim 0.56$, $P=0.006$);且在显性模型仍存在统计学意义($OR=0.26$, $95\%CI: 0.09 \sim 0.81$, $P=0.02$)。分层分析提示 rs9635726 和 rs9909593 两位点可能与 SLE 发病也存在关联。表型研究显示,rs907091 位点与肾脏损害(加性模型: $OR=0.59$, $95\%CI: 0.35 \sim 0.98$, $P=0.043$)、抗 SSB 抗体阳性(显性模型: $OR=0.41$, $95\%CI: 0.18 \sim 0.96$, $P=0.040$)相关;rs9909593 位点 GG、GA 基因型的患者出现抗 SSB 抗体阳性的风险也较 AA 基因型患者下降($OR=0.37$, $95\%CI: 0.16 \sim 0.88$, $P=0.025$)。生物信息学分析提示研究位点为功能位点。结论 *IKZF3* 基因 rs114509391、rs9635726 和 rs9909593 可能与 SLE 易感性相关,rs9909593、rs907091 与 SLE 的临床表型相关。

【关键词】 系统性红斑狼疮; *IKZF3* 基因多态性; 病例对照研究

基金项目:上海市公共卫生重点学科建设计划(12GWZX0101)

Association between *IKZF3* gene polymorphisms and systemic lupus erythematosus in Han ethnic group in southern China: a case-control study Ye Lixia, Fu Chaowei, Jiang Feng, Meng Wei
Key Laboratory of Public Health Safety, Ministry of Education-Department of Epidemiology, School of Public Health, Fudan University, Shanghai 200032, China (Ye LX, Fu CW, Jiang F, Meng W); Institute of Immunological Prevention, Ningbo Prefecture Center for Disease Control and Prevention, Ningbo 315010, China (Ye LX)

Ye Lixia and Fu Chaowei are the first authors who contributed equally to the article.

Corresponding author: Meng Wei, Email: wmeng@shmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To understand the association between *IKZF3* gene polymorphism and the risk of systemic lupus erythematosus (SLE) in Han ethnic group in southern China. **Methods** A case-control study was conducted among 213 SLE patients and 234 healthy controls. Venous blood samples were collected from them to measure single nucleotide polymorphism (SNP) in *IKZF3* by using the method of restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Multivariate logistic analysis and generalized multifactor dimensionality reduction (GMDR) method were used under multiple genetic models (additive, dominant, recessive), to analyze the association between *IKZF3* and SLE susceptibility or different clinical features and gene-gene interactions. In addition, bioinformatics analysis was also conducted. **Results** As for rs114509391, CA genotype might decrease the risk of SLE compared with AA genotype ($OR=0.14$, $95\%CI: 0.03-0.56$, $P=0.006$) and significant association

was also observed under dominant model ($OR=0.26$, $95\%CI: 0.09-0.81$, $P=0.02$). Stratified analysis indicated that rs9635726 and rs9909593 were related to SLE onset. The study of clinical features showed that rs907091 was associated with both renal disorder (additive: $OR=0.59$, $95\%CI: 0.35-0.98$, $P=0.043$) and anti-SSB (dominant: $OR=0.41$, $95\%CI: 0.18-0.96$, $P=0.040$). rs9635726 GG and GA genotype might decrease the risk of anti-SSB compared with AA genotype ($OR=0.37$, $95\%CI: 0.16-0.88$, $P=0.025$). In addition, bioinformatics analysis indicated that all the studied SNPs were functional. **Conclusion** *IKZF3* rs114509391, rs9635726 and rs9909593 polymorphisms might be related to SLE susceptibility in Han ethnic group in southern China and rs9909593, rs907091 might be associated with renal disorder and anti-SSB.

【Key words】 Systemic lupus erythematosus; *IKZF3* gene polymorphism; Case-control study

Fund program: Key Discipline Construction of Public Health of Shanghai (12GWZX0101)

系统性红斑狼疮(SLE)系以多器官受累,多组织损害,高水平的自身抗体为特征的慢性全身性自身免疫性疾病^[1-2]。目前全球发病率为20/10万~150/10万^[3],以女性为主,亚洲地区人群的发病率较欧洲地区人群为高,且症状更为严重,其血清自身抗体水平更高^[4-5],在我国是现阶段重要的公共卫生问题^[6]。

IKZF3 基因位于染色体17q21区域,包含9个外显子。其编码的Aiolos蛋白,是锌指蛋白家族成员。锌指蛋白家族是一组重要的转录因子,对T、B淋巴细胞以及自然杀伤细胞的发育具有重要作用。其中Aiolos蛋白对B淋巴细胞的活化起着至关重要的作用^[7]。近年来,*IKZF3* 基因被发现是多种免疫相关疾病的候选基因^[8-10]。美国近期一项研究认为*IKZF3* 多态性可能与SLE有关^[11]。目前国内也有一项病例对照研究提示*IKZF3* rs907091可能与SLE有关^[12]。但国内外尚未见探讨*IKZF3* 多个单核苷酸多态性(SNP)位点与SLE发病以及临床表型关系的研究。为此本研究以中国长江以南地区汉族人群为研究对象,探讨*IKZF3* 多个SNP位点对SLE发病和临床表型的影响。

对象与方法

1. 研究对象:病例组213例,源自苏州大学第一附属医院、复旦大学附属中山医院、杭州市第三人民医院2005年10月至2009年6月住院及门诊SLE病例,均经专业皮肤科医生按照美国风湿病学会(ACR)1997年修订标准诊断^[13];对照组为同一时期在该医院体检、不患任何自身免疫疾病的人群共234例。所有纳入对象均为独立个体,无血缘关系,排除合并发生其他免疫相关疾病者。本研究通过复旦大学伦理委员会审查,调查对象均签署知情同意书。

2. SNP位点的选择:根据HapMap dbSNP数据库(www.hapmap.ncbi.nlm.nih.gov),采用HaploView 4.2软件,在*IKZF3* 基因的上游4 000 bp到下游1 500 bp之间选择标签SNP(tagSNPs)rs907091、rs114509391、rs9909593、rs9635726。同时通过文献查阅,还发现rs1453559与免疫相关疾病哮喘有相关性,因此也将该位点纳入本研究。根据HapMap数据,5个SNP位点满足在中国人群的最小等位基因频率(MAF)均>0.05。

3. 研究方法:采用结构式问卷,由经过统一培训的调查员进行面对面调查,内容包括一般人口学资料和既往环境暴露史,并利用医院的病例管理系统收集临床表型和免疫学表型资料。采集研究对象的外周静脉血5 ml,用EDTA抗凝,保存在-80℃冰箱;酚氯仿法提取DNA,分装后采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法对*IKZF3* 基因rs907091(C/T)、rs114509391(C/A)、rs9909593(G/A)、rs9635726(C/T)、rs1453559(G/A)位点进行基因分型。各位点的上下游引物、限制性内切酶以及酶切产物见表1。PCR反应条件:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,退火(退火温度依次为52℃、51.5℃、53.5℃、50℃、59℃)反应30 s,72℃反应

表1 *IKZF3* 基因各位点的PCR引物和酶切产物

SNP	区域	引物(5'~3')	酶切产物长度(bp)
rs907091	3'端非翻译区	F: TGTCATTAGATTAGGGAGA R: ACATAGCCAGAGGAGAAC	CC: 181, 339 CT: 181, 339, 520 TT: 520
rs114509391	外显子	F: AATGCTCATTCTCTCACTTAC R: GTTTCTCCACTTGCCTGT	CC: 34, 207 CA: 34, 97, 110, 207 AA: 34, 97, 110
rs9909593	内含子	F: GCAGGAGGATTGATTG R: ATTACGCCACATTTA	GG: 105, 484 GA: 105, 484, 589 AA: 589
rs9635726	靠近5'端	F: ACCCCCCATGTCTGTCA R: TTAACCTGTGCAAGCAGTAGA	CC: 19, 187 CT: 19, 187, 206 TT: 206
rs1453559	5'端非翻译区	F: GCTGGAGCTGCCTCTGTGGGTA R: TGTCGGGGTTCCTTGGGTTTG	GG: 19, 257 GA: 19, 257, 276 AA: 276

30 s, 循环33次; 循环后, 72 °C延伸10 min。扩增产物使用限制性内切酶(依次为 *Msp* I、*Dde* I、*Blp* I、*Hind* II 和 *Kpn* I) 酶切, 37 °C水浴6 h; 酶切产物于2.5%琼脂糖凝胶电泳成像并判断分型。

4. 生物信息学分析: 采用F-SNP、RegulomeDB、SNPinfo 和 PolymiRTS 等多种综合生物信息数据库, 对 *IKZF3* 基因的5个 SNP 位点进行潜在功能预测。

① F-SNP (<http://compbio.cs.queensu.ca/F-SNP/>): 对基因多态位点在剪接、转录、翻译及翻译后水平的潜在功能进行预测^[14]。② RegulomeDB (<http://regulome.stanford.edu/>): 整合 ENCODE 和其他数据库资源的分析结果, 通过决策树方法对 SNP 引起的各种基因功能改变进行定量评估和危险度分级。RegulomeDB 分值(1~6分), 分值越低, 表示该 SNP 越有可能位于功能区域^[15]。③ SNPinfo (<http://snpinf.niehs.nih.gov/snpinf/snpfunc.htm>): 利用对预测功能性位点的两个等位基因不同效应的计算、实验结果、流行病学资料以及 GWAS 的结果和连锁不平衡信息来对 SNP 位点进行优化, 进一步对疾病致病位点进行精细定位^[16]。④ PolymiRTS: 整合了 SNP、整合序列多态性、表型和表达微阵列数据, 对预测3'端 SNP 位点是否是 microRNA 目标位点^[17]。

5. 统计学分析: 采用直接计数法计算基因型和等位基因频率, 采用 Plink 1.07 软件, 对各位点基因型进行 Hardy-Weinberg (H-W) 遗传平衡检验, 进行不同遗传模型下(相加、隐性、显性模型)单因素、多因素 logistic 回归分析, 研究 *IKZF3* 多态性与 SLE 之间的关系, 并计算5个 SNP 位点的连锁不平衡情况分析(r^2 值)。在单纯病例研究中, 采用多因素 logistic 回归分析, 使用 Stata 12.0 软件, 研究基因多态性与临床表型(包括器官损伤和血清免疫学指标)之间的相关性。采用 HaploView 4.2 软件和 Plink 1.07 软件进行连锁分析和单倍型分析。所有统计学检验均为双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 基本情况: 病例组女性200例(93.90%, 200/213), 对照组女性227例(97.01%, 227/234), 两组间性别分布差异无统计学意义($\chi^2 = 2.53, P = 0.108$); 病例组平均年龄(35.35 ± 11.85)岁, 对照组平均年龄(33.17 ± 11.25)岁, 差异无统计学意义($t = -1.93, P = 0.053$)。共对183例病例(85.92%)和184例对照(78.63%)进行环境因素调查, 其中冻疮史、居住环境潮湿、紫外线暴露史、药物过敏史、带状疱疹病史、荨

麻疹病史和家族疾病史的分布, 病例组高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 见表2。考虑到可能存在失访偏倚, 对纳入环境因素调查人群和总研究人群的 SNP 基因型分布进行 χ^2 检验, 结果显示两者分布的差异无统计学意义($P > 0.05$), 提示纳入环境因素调查的人群对总研究人群有很好的代表性。所有 SNP 基因型分布均符合 H-W 遗传平衡(表3), 提示样本具有很好的代表性。

表2 两组研究对象环境因素的分布

环境因素	病例组 (n=183)	对照组 (n=184)	χ^2 值	P值
冻疮史	108(59.02)	37(20.11)	58.11	<0.001
居住环境潮湿	34(18.58)	7(3.80)	20.02	<0.001
药物过敏史	54(29.51)	20(10.87)	19.80	<0.001
家族疾病史	61(33.33)	4(2.17)	61.54	<0.001
紫外线暴露史	37(20.22)	19(10.33)	6.94	0.010
激素使用史	33(18.03)	24(13.04)	1.74	0.187
结核病史	8(4.37)	5(2.72)	0.73	0.391
带状疱疹病史	21(11.48)	8(4.35)	6.40	0.011
荨麻疹病史	29(15.85)	15(8.15)	5.15	0.023
口腔溃疡	8(4.37)	9(4.89)	0.06	0.813
输血史	10(5.46)	11(5.98)	0.04	0.832
吸烟	7(3.83)	6(3.26)	0.09	0.770

注: 括号外数据为用例数, 括号内数据为发生率(%)

2. *IKZF3* 基因多态性和 SLE 易感性相关性:

(1) 基因型及等位基因频率分布: *IKZF3* 基因5个 SNP 位点的基因型及 MAF 分布见表3。rs114509391、rs9635726 两位点基因型和 MAF 分布在病例组和对照组间的差异有统计学意义。对于 rs114509391, 最小等位基因 C 的频率病例组低于对照组; 基因型分布上, 杂合子 CA 的频率病例组低于对照组, 在显性模型下病例组和对照组的分布差异也有统计学意义(表3)。rs9635726 的最小等位基因 C 频率病例组低于对照组; 基因型分布上, 加性和显性模型均显示, CC、CT 基因型的频率病例组高于对照组。rs907091、rs9909593 和 rs1453559 的基因型及 MAF 分布在病例组和对照组之间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。

(2) 多因素 logistic 回归分析: 环境因素中可能存在潜在混杂因素, 因此在相加、隐性、显性模型下, 采用多因素 logistic 回归模型, 调整年龄、性别和有统计学意义的危险环境因素(包括冻疮史、居住环境潮湿、药物过敏史、荨麻疹病史和家族疾病史), 分析 *IKZF3* 基因多态性与 SLE 易感性的相关性(表3)。结果显示, rs114509391 位点的基因型在病例组和对照组中分布的差异有统计学意义, 携带 CA 基因型的个体较携带 AA 基因型的个体患 SLE 的风险下

表3 两组人群IKZF3基因多态性和SLE易感性关联分析

基因型及分析模型	病例组 ^a	对照组 ^a	P值 ^b	OR值(95%CI) ^c	P值 ^c	aOR值(95%CI) ^d	P值 ^d
rs907091			0.247				
CC	14(6.57)	13(5.56)		1.10(0.50 ~ 2.44)	0.808	1.25(0.41 ~ 3.77)	0.693
CT	78(36.62)	99(42.31)		0.81(0.55 ~ 1.19)	0.280	0.92(0.54 ~ 1.56)	0.746
TT	121(58.81)	122(52.14)		1.00		1.00	
C vs. T	106(24.88)	125(26.71)		0.91(0.67 ~ 1.23)	0.542		
显性模型(CC+CT vs. TT)				0.83(0.57 ~ 1.20)	0.322	0.94(0.56 ~ 1.57)	0.819
隐性模型(CC vs. CT+TT)				1.20(0.55 ~ 2.61)	0.652	1.17(0.40 ~ 3.39)	0.773
相加模型(CC vs. CT vs. TT)				0.91(0.67 ~ 1.23)	0.526	0.98(0.64 ~ 1.50)	0.940
rs114509391			0.433				
CC	3(1.41)	1(0.43)		3.12(0.32 ~ 30.20)	0.327	2.28(0.19 ~ 26.70)	0.513
CA	4(1.88)	21(8.97)		0.20(0.07 ~ 0.59)	0.003	0.14(0.03 ~ 0.56)	0.006
AA	206(96.71)	212(90.60)		1.00		1.00	
C vs. A	10(2.35)	23(4.92)		0.47(0.22 ~ 0.99)	0.050		
显性模型(CC+CA vs. AA)				0.33(0.14 ~ 0.78)	0.012	0.26(0.09 ~ 0.81)	0.019
隐性模型(CC vs. CA+AA)				3.33(0.34 ~ 32.25)	0.299	2.46(0.21 ~ 28.90)	0.475
相加模型(CC vs. CA vs. AA)				0.53(0.26 ~ 1.06)	0.073	0.47(0.20 ~ 1.13)	0.092
rs9909593			0.179				
GG	14(6.57)	12(5.13)		1.17(0.52 ~ 2.62)	0.709	1.25(0.38 ~ 4.12)	0.712
GA	75(35.21)	100(42.74)		0.75(0.51 ~ 1.11)	0.148	0.88(0.51 ~ 1.50)	0.628
AA	124(58.22)	122(52.14)		1.00		1.00	
G vs. A	103(24.18)	124(26.50)		0.88(0.65 ~ 1.20)	0.442		
显性模型(GG+GA vs. AA)				0.78(0.54 ~ 1.14)	0.197	0.90(0.54 ~ 1.51)	0.688
隐性模型(GG vs. GA+AA)				1.30(0.59 ~ 2.88)	0.516	1.18(0.39 ~ 3.62)	0.767
相加模型(GG vs. GA vs. AA)				0.88(0.65 ~ 1.20)	0.419	0.95(0.62 ~ 1.46)	0.826
rs9635726			0.121				
CC	7(3.29)	16(6.84)		0.40(0.16 ~ 1.01)	0.053	0.36(0.10 ~ 1.32)	0.122
CT	86(40.38)	110(47.01)		0.72(0.49 ~ 1.05)	0.088	0.71(0.42 ~ 1.21)	0.210
TT	120(56.34)	108(46.15)		1.00		1.00	
C vs. T	100(23.47)	142(30.34)		0.70(0.52 ~ 0.95)	0.024		
显性模型(CC+CT vs. TT)				0.66(0.46 ~ 0.96)	0.032	0.68(0.40 ~ 1.13)	0.138
隐性模型(CC vs. CT+TT)				0.46(0.19 ~ 1.15)	0.097	0.48(0.15 ~ 1.57)	0.225
相加模型(CC vs. CT vs. TT)				0.67(0.49 ~ 0.93)	0.015	0.69(0.44 ~ 1.06)	0.089
rs1453559			0.651				
GG	4(1.88)	8(3.42)		0.50(0.15 ~ 1.70)	0.270	1.70(0.28 ~ 10.29)	0.566
GA	47(22.07)	65(27.78)		0.73(0.47 ~ 1.12)	0.151	0.92(0.51 ~ 1.65)	0.775
AA	162(76.06)	161(68.80)		1.00		1.00	
G vs. A	55(12.91)	81(17.31)		0.71(0.49 ~ 1.03)	0.076		
显性模型(GG+GA vs. AA)				0.69(0.46 ~ 1.06)	0.087	0.95(0.54 ~ 1.69)	0.874
隐性模型(GG vs. GA+AA)				0.54(0.16 ~ 1.82)	0.321	1.61(0.26 ~ 10.21)	0.611
相加模型(GG vs. GA vs. AA)				0.71(0.49 ~ 1.03)	0.073	1.00(0.59 ~ 1.67)	0.992

注：^a括号外数据为例数，括号内数据为比例(%)；^b对照组H-W遗传平衡检验的P值；^c等位基因和基因型在病例组和对照组之间比较时采用Fisher's精确概率法，在不同遗传模型下计算OR值(95%CI)和P值采用单因素logistic回归；^daOR值(95%CI)为调整OR值(95%CI)，采用多因素logistic回归计算，纳入环境因素包括年龄、冻疮史、潮湿环境、药物过敏史、荨麻疹病史和疾病家族史

降，显性模型也有统计学意义。其他4个SNP位点在所有的遗传模型下均未发现有统计学意义的关联。

随后根据临床表型进行分层分析。证实rs114509391、rs9635726两位点与SLE易感性的相关性。提示rs9909593、rs907091可能也与SLE存在相关性。抗SSB抗体阳性患者与对照组相比，携带rs9909593位点GG和GA基因型的个体，较AA基因型的个体而言，患SLE的风险降低(显性模型:OR=0.31, 95%CI:0.11~0.87, P=0.026);抗dsDNA抗体

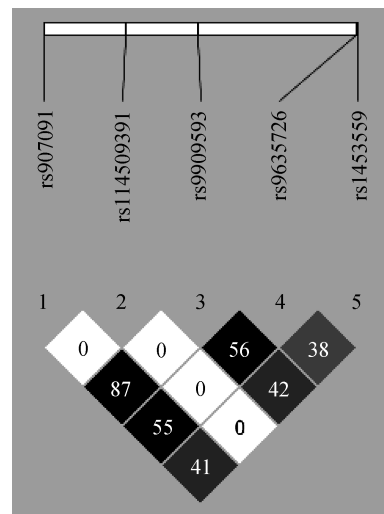
阴性患者与对照组相比，携带rs907091位点CC基因型的个体，较携带CT、TT基因型的个体，患SLE的风险增加(隐性模型:OR=3.75, 95%CI:1.08~12.99, P=0.037)。

3. IKZF3基因多态性与SLE临床表型相关性:采用多因素logistic回归模型和单纯病例研究设计，在调整年龄、性别和有统计学意义的危险环境因素(包括冻疮史、居住环境潮湿、药物过敏史、荨麻疹病史和家族疾病史)后，比较某个临床表型阳性和阴性

的患者,进一步对 *IKZF3* 多态性与 SLE 的临床表型(包括器官损伤和血清免疫学指标)的相关性进行了分析。结果显示,对于 rs907091 位点的基因型分布在有/无肾脏损害患者之间的差异有统计学意义(加性模型: $OR=0.59$, $95\%CI: 0.35 \sim 0.98$, $P=0.043$),携带等位基因 C 的患者较等位基因 T 者,出现肾脏损害的风险降低;携带 rs907091 位点 CC、CT 基因型的患者出现抗 SSB 抗体阳性的风险,较 TT 基因型的患者降低(显性模型: $OR=0.41$, $95\%CI: 0.18 \sim 0.96$, $P=0.040$)。此外,对于 rs9909593 位点,携带 GG、GA 基因型的患者出现抗 SSB 抗体阳性的风险也较 AA 基因型患者下降(显性模型: $OR=0.37$, $95\%CI: 0.16 \sim 0.88$, $P=0.025$)。

4. 连锁不平衡和单倍型分析:连锁不平衡分析显示,rs907091 与 rs9909593 之间存在连锁不平衡($r^2>0.8$),其他各 SNP 位点之间的 r^2 值均 <0.6 (图1)。在 5 个 SNP 的单倍型分析中,调整年龄、性别和有统计学意义的危险环境因素(包括冻疮史、居住环境潮湿、药物过敏史、荨麻疹病史和家族疾病史)后发现,单倍型 TCATT(rs907091-rs114509391-rs9909593-rs9635726-rs1453559)在病例组的频率为 2.04%,低于对照组的 5.16%($P=0.027$)。

5. 生物信息学分析:采用多种 SNP 功能预测网站,预测 *IKZF3* 基因 5 个 SNP 位点潜在功能(表4)。结果提示,rs907091 是位于 3' 端非翻译区的 MicroRNA 结合位点,可结合 hsa-miR-326、hsa-miR-330-5p 和 hsa-miR-450b-3p;RegulomeDB 评分为 1f,在人类外周血 B 细胞、T 细胞起到强转录因子的作用。rs114509391 是外显子,编码锌指蛋白 Aiolos 亚型 8;根据 NCBI 的蛋白数据库,该蛋白是调节 B 淋巴细胞增殖和分化的重要转录因子。rs9909593 虽然是内含子,但是其 RegulomeDB 评分为 1f,提示该位点是可能影响绑定与目标基因表达的功能位点,在人类外周血 B 细胞、T 细胞和自然杀



注:方块中的值为 2 个 SNP 位点间的 r^2 值(0~100),其颜色越深代表 r^2 值越大

图1 *IKZF3* 基因连锁不平衡分析

伤细胞均是起到了基因增强子的作用;并且 rs9909593 是一个保守位点,有较大的遗传学意义。rs9635726、rs1453559 均为转录调控因子,且为保守位点,有遗传学意义;rs1453559 的变异可能影响分子的剪接,从而改变其多种剪接方式的表达水平;rs9635726、rs1453559 的 Regulome DB 评分均为 4,在人类外周血 B 细胞、T 细胞中是活跃的转录起始位点(TSS)。

讨论

SLE 是一种由遗传因素和环境因素共同作用导致的复杂多因素疾病,其病因至今仍不明确。其中组织和器官的损伤,大量自身抗体产生、补体激活、免疫复合物沉积是其主要特征^[1,18]。

IKZF3 基因是 IKAROS 家族转录因子,调节 B 淋巴细胞的发育和分化。动物实验研究提示,缺乏 *IKZF3* 基因的小鼠会出现 B 细胞功能障碍、自身抗体生产、组织损伤以及 SLE 症状^[19]。此外,有研究表

表4 *IKZF3* 基因 SNP 位点生物信息学分析

SNP	功能区域 (dbSNP)	SNPinfo	F-SNP		RegulomeDB 分值	PolymiRTS	
			功能作用	FS 分值		miRNA	结合的 miRNA
rs907091	3' 端非翻译区	miRNA	-	-	1	+	T: hsa-miR-326 hsa-miR-330-5p hsa-miR-450b-3p C: hsa-miR-326
rs114509391	外显子	-	-	-	4	-	-
rs9909593	内含子	-	保守位点	-	1	-	-
rs9635726	靠近 5' 端	TFBS	保守位点	-	4	-	-
rs1453559	5' 端非翻译区	TFBS ESE/ESS	转录调控,保守位点	0.101	4	-	-

注:miRNA:MicroRNA 结合位点; TFBS:转录因子结合位点;ESE:外显子剪接增强子;ESS:外显子剪接沉默子;FS 分值:功能意义分值;Regulome DB 分值:分数 1~6,用以评估 SNP 作为转录因子结合位点的功能性位点可能程度

明, SLE患者 Aiolos mRNA 表达降低, 且与 SLE 活动指数呈一定相关性^[20]。提示 *IKZF3* 基因可能是 SLE 的候选基因。近年美国一项 *IKZF3* 多态性与 SLE 发病相关性研究认为 *IKZF3* 基因的 rs9913957、rs8076347 和 rs8079075 位点在亚洲人群中均无多态性^[11]。近期 Cai 等^[12] 在中国人群中的研究提示 *IKZF3* 基因的 rs907091 位点与 SLE 易感性相关。

本研究关联分析显示, *IKZF3* 的 rs114509391 位点与 SLE 的发病有较强的关联性。但生物信息学分析显示, rs114509391 是外显子, 编码锌指蛋白 Aiolos 亚型 8, 该蛋白在多项研究中被证实是调节 B 淋巴细胞增殖和分化的重要转录因子^[21-22], 而 B 细胞通路是 SLE 的重要致病机制之一^[23-24]。分层分析进一步提示 rs9635726、rs9909593 两位点可能与 SLE 的发病也存在关联。在 Cai 等^[12] 的研究中也发现了 rs9909593 位点与 SLE 存在关联, 与本研究结果一致。生物信息学分析进一步提示 rs9909593 虽是内含子, 但影响绑定和目标基因的表达, 在 B、T 细胞中起到基因增强子的作用; 而 rs9635726 是转录调控因子, 在 B、T 细胞中是活跃的转录起始位点。本研究与 Cai 等^[12] 的研究结果不一致的是, 并未发现 rs907091 与 SLE 的发病存在相关性。然而, 生物信息学分析结果提示 rs907091 是 MicroRNA 结合位点, 其结合的 miR-326 被报道可能在多发性硬化症这种自身免疫性疾病中起到重要作用^[25-26], 提示 rs907091 可能在 SLE 的病理过程中起到一定作用。临床表型关联性研究中发现 rs907091 与肾脏损害和抗 SSB 抗体产生有关, 也佐证了 rs907091 在 SLE 病理过程的作用。此外本研究还显示 rs9909593 位点与抗 SSB 抗体产生相关, 可能是由于该位点作为基因增强子, 在 B 细胞通路和抗体产生中起到了作用。单倍型分析显示, 单倍型 TCATT 在病例组的频率较对照组低, 可能是一个保护性因素。

总之, 本研究通过病例对照研究设计, 描述了对 *IKZF3* 基因不同功能区域的 5 个 SNP 位点与 SLE 的发病和临床表型间的关系。rs114509391、rs9635726 和 rs9909593 可能与 SLE 易感性相关, rs9909593、rs907091 与 SLE 的临床表型相关。但本研究仍存在不足。如研究对象仅为单一地区的汉族人群, 由于民族、地域的差异, 可能在其他人群中无法重复本文结果, 有些关联尚与其他研究存在不一致; 究其原因, 可能是由于 OR 值较接近 1, 需要更大的样本量之故。所以今后有待于在不同民族、大样本人群中进一步验证。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Ghodke-Puranik Y, Niewold TB. Immunogenetics of systemic lupus erythematosus: a comprehensive review[J]. J Autoimmun, 2015, 64: 125-136. DOI: 10.1016/j.jaut.2015.08.004.
- [2] Frieri M. Mechanisms of disease for the clinician: systemic lupus erythematosus[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2013, 110(4): 228-232. DOI: 10.1016/j.anaai.2012.12.010.
- [3] Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus[J]. N Engl J Med, 2011, 365(22): 2110-2121. DOI: 10.1056/NEJMra1100359.
- [4] Rider V, Abdou NI. Gender differences in autoimmunity: molecular basis for estrogen effects in systemic lupus erythematosus[J]. Int Immunopharmacol, 2001, 1(6): 1009-1024. DOI: 10.1016/S1567-5769(01)00046-7.
- [5] Jakes RW, Bae SC, Louthrenoo W, et al. Systematic review of the epidemiology of systemic lupus erythematosus in the Asia-Pacific region: prevalence, incidence, clinical features, and mortality[J]. Arthritis Care Res, 2012, 64(2): 159-168. DOI: 10.1002/acr.20683.
- [6] 曹平, 赵玉, 王静. 系统性红斑狼疮分子病因研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2013, 29(6): 657-661, 664. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2013.06.022.
- [7] Cao P, Zhao Y, Wang J. Advances in molecular genetic studies of systemic lupus erythematosus[J]. Chin J Immunol, 2013, 29(6): 657-661, 664. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2013.06.022.
- [8] Cortés M, Georgopoulos K. Aiolos is required for the generation of high affinity bone marrow plasma cells responsible for long-term immunity[J]. J Exp Med, 2004, 199(2): 209-219. DOI: 10.1084/jem.20031571.
- [9] Qiu R, Zhang H, Zhao H, et al. Genetic variants on 17q21 are associated with ankylosing spondylitis susceptibility and severity in a Chinese Han population[J]. Scand J Rheumatol, 2013, 42(6): 469-472. DOI: 10.3109/03009742.2013.786755.
- [10] Kurreeman FAS, Stahl EA, Okada Y, et al. Use of a multiethnic approach to identify rheumatoid-arthritis-susceptibility loci, 1p36 and 17q12[J]. Am J Hum Genet, 2012, 90(3): 524-532. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.01.010.
- [11] Marinho S, Custovic A, Marsden P, et al. 17q12-21 variants are associated with asthma and interact with active smoking in an adult population from the United Kingdom[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 2012, 108(6): 402-411.e9. DOI: 10.1016/j.anaai.2012.03.002.
- [12] Lessard CJ, Adrianto I, Ice JA, et al. Identification of IRF8, TMEM39A, and IKZF3-ZBP2 as susceptibility loci for systemic lupus erythematosus in a large-scale multiracial replication study[J]. Am J Hum Genet, 2012, 90(4): 648-660. DOI: 10.1016/j.ajhg.2012.02.023.
- [13] Cai XZ, Qiao Y, Diao C, et al. Association between polymorphisms of the IKZF3 gene and systemic lupus erythematosus in a Chinese Han population[J]. PLoS One, 2014, 9(10): e108661. DOI: 10.1371/journal.pone.0108661.
- [14] Hochberg MC. Updating the American college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(9): 1725.

[14] Lee PH, Shatkhay H. F-SNP: computationally predicted functional SNPs for disease association studies [J]. *Nucleic Acids Res*, 2008, 36(Database issue): D820–824. DOI: 10.1093/nar/gkm904.

[15] Boyle AP, Hong EL, Hariharan M, et al. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB [J]. *Genome Res*, 2012, 22(9): 1790–1797. DOI: 10.1101/gr.137323.112.

[16] Xu ZL, Taylor JA. SNPinfo: integrating GWAS and candidate gene information into functional SNP selection for genetic association studies [J]. *Nucleic Acids Res*, 2009, 37(Web Server issue): W600–605. DOI: 10.1093/nar/gkp290.

[17] Bao L, Zhou M, Wu LG, et al. PolymiRTS Database: linking polymorphisms in microRNA target sites with complex traits [J]. *Nucleic Acids Res*, 2007, 35 (Database issue) : D51–54. DOI: 10.1093/nar/gkl797.

[18] Pan HF, Ye DQ, Li XP. Type 17 T-helper cells might be a promising therapeutic target for systemic lupus erythematosus [J]. *Nat Rev Rheumatol*, 2008, 4(7) : 352–353. DOI: 10.1038/nrprheum0815.

[19] Sun J, Matthias G, Mihatsch MJ, et al. Lack of the transcriptional coactivator OBF-1 prevents the development of systemic lupus erythematosus-like phenotypes in Aiolos mutant mice [J]. *J Immunol*, 2003, 170 (4) : 1699–1706. DOI: 10.4049/jimmunol.170.4.1699.

[20] 杨莹, 陈晓红, 刘样满, 等. SLE患者外周血单个核细胞中 Aiolos mRNA 的表达 [J]. *中国皮肤性病学期刊*, 2013, 27(4) : 331–333, 336.

[21] Caballero R, Setien F, Lopez-Serra L, et al. Combinatorial effects of splice variants modulate function of Aiolos [J]. *J Cell Sci*, 2007, 120(15) : 2619–2630. DOI: 10.1242/jcs.007344.

[22] Liippo J, Nera KP, Veistinen E, et al. Both normal and leukemic B lymphocytes express multiple isoforms of the human Aiolos gene [J]. *Eur J Immunol*, 2001, 31 (12) : 3469–3474. DOI: 10.1002/1521-4141(200112)31:12<3469::AID-IMMU3469>3.0.CO;2-G.

[23] Liu XG, Hou M. Immune thrombocytopenia and B-cell-activating factor/a proliferation-inducing ligand [J]. *Semin Hematol*, 2013, 50 Suppl 1: S89–99. DOI: 10.1053/j.seminhematol.2013.03.021.

[24] Hepburn AL, Narat S, Mason JC. The management of peripheral blood cytopenias in systemic lupus erythematosus [J]. *Rheumatology*, 2010, 49 (12) : 2243–2254. DOI: 10.1093/rheumatology/keq269.

[25] Zahednasab H, Balood M. The role of miR-326 and miR-26a in MS disease activity [J]. *Gene*, 2014, 548(1) : 158. DOI: 10.1016/j.gene.2014.07.014.

[26] Fenoglio C, Ridolfi E, Galimberti D, et al. MicroRNAs as active players in the pathogenesis of multiple sclerosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(10) : 13227–13239. DOI: 10.3390/ijms131013227.

(收稿日期: 2015-12-23)
(本文编辑: 张林东)

中华流行病学杂志第七届编辑委员会成员名单

(按姓氏汉语拼音排序)

名誉总编辑	郑锡文(北京)	王滨有(黑龙江)	乌正赉(北京)	张孔来(北京)	赵仲堂(山东)	庄辉(北京)
顾问	曲成毅(山西)	冯子健(北京)	顾东风(北京)	何耀(北京)	贺雄(北京)	姜庆五(上海)
总编辑	李立明(北京)	徐建国(北京)	詹思延(北京)	曹务春(北京)	陈峰(江苏)	陈坤(浙江)
副总编辑	曹务春(北京)	蔡琳(福建)	曹广文(上海)	杜建伟(海南)	段广才(河南)	方向华(北京)
编辑委员	汪华(江苏)	陈维清(广东)	程锦泉(广东)	郭志荣(江苏)	何耀(北京)	何剑峰(广东)
	毕振强(山东)	龚向东(江苏)	顾东风(北京)	胡志斌(江苏)	胡志斌(江苏)	贾崇奇(山东)
	陈可欣(天津)	胡东生(广东)	胡国良(江西)	胡永华(北京)	李丽(宁夏)	李群(北京)
	冯子健(北京)	姜庆五(上海)	阚飙(北京)	康德英(四川)	刘静(北京)	刘民(北京)
	贺雄(北京)	李俊华(湖南)	李立明(北京)	廖苏苏(北京)	刘静(北京)	罗会明(北京)
	姜宝法(山东)	李殿武(河北)	卢金星(北京)	陆林(云南)	栾荣生(四川)	潘凯枫(北京)
	李敬云(北京)	吕繁(北京)	吕筠(北京)	马文军(广东)	米杰(北京)	施榕(上海)
	刘殿武(河北)	祁禄(美国)	乔友林(北京)	邱洪斌(黑龙江)	孟蕾(甘肃)	沈洪兵(江苏)
	吕繁(北京)	施小明(北京)	时景璞(辽宁)	苏虹(安徽)	仇小强(广西)	唐金陵(香港)
	祁禄(美国)	汪宁(北京)	王蓓(江苏)	王岚(北京)	谭红专(湖南)	王定明(贵州)
	施小明(北京)	王全意(北京)	王素萍(山西)	吴凡(上海)	王鸣(广东)	吴尊友(北京)
	汪宁(北京)	项永兵(上海)	徐爱强(山东)	徐建国(北京)	吴先萍(四川)	夏洪波(黑龙江)
	王全意(北京)	严延生(福建)	叶冬青(安徽)	于普林(北京)	徐建中(北京)	许汴利(河南)
	项永兵(上海)	俞敏(浙江)	张瑜(湖北)	张博恒(上海)	赵亚双(黑龙江)	于雅琴(吉林)
严延生(福建)	张作风(美国)	赵根明(上海)	周宝森(辽宁)	周晓农(上海)	张建中(北京)	
俞敏(浙江)	朱谦(河南)	庄贵华(陕西)			张博恒(上海)	
张作风(美国)					张顺祥(广东)	
朱谦(河南)					周宝森(辽宁)	
					周晓农(上海)	