

· 论 著 ·

## 子宫球蛋白基因 G38A 多态性与 IgA 肾病的相关性研究

熊 瑜, 甘 华, 钟 清

(重庆医科大学附属第一医院肾脏内科 400016)

**摘要:**目的 探讨 IgA 肾病(IgAN)患者子宫球蛋白(UG)基因 G38A 多态性的分布特点,及其与 IgAN 病理改变之间的关系。方法 选取经肾穿刺病理活检证实为 IgAN 的患者 102 例,提取外周血基因组 DNA,以聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)确定 UG 基因 G38A 基因型,分析不同基因型频率及其与 IgAN 病理改变之间的关系。结果 IgAN 患者 UG 基因 G38A 的 3 种基因型中基因型 GA 的频率分布与对照组比较差异有统计学意义( $P=0.005$ ),UG 基因 G38A 多态性与 IgAN 病理改变无相关性。结论 UG 基因 G38A 多态性与中国人 IgAN 的发病有关,与病理改变严重程度无相关性。

**关键词:**肾小球肾炎, IgA; 子宫球蛋白; G38A

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.09.008

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)09-0851-02

## Association of uteroglobin gene G38A polymorphism with IgA nephropathy

Xiong Yu, Gan Hua, Zhong Qing

(Department of Nephrology, First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**Abstract:** **Objective** To clarify whether the UG gene G38A polymorphism is connected to human IgAN in both incidence and pathological changes. **Methods** Totally 102 IgAN patients proved by renal biopsy were recruited, genetic DNA was extracted from blood, and genotypes were detected by PCR-RFLP. The frequency of different genotypes was analyzed to find the relationship between them and the clinical pathological changes in IgAN. **Results** There was significant difference among the three genotypes of UG gene between IgAN patients and healthy people ( $P=0.005$ ). The frequency of three genotypes had no significant relationship with clinical manifestations and pathological changes in IgAN patients. **Conclusion** UG gene G38A polymorphism is related to the incidence of IgAN in Chinese people, but it is not related to the pathological changes.

**Key words:** glomerulonephritis, IgA; uteroglobin; G38A

IgA 肾病(IgA nephropathy, IgAN)是全球范围内接受肾活检的患者中最常见的原发性肾小球疾病,也是导致终末期肾病的重要原因之一。肾组织免疫病理学检查可见肾小球系膜区有广泛、显著的以 IgA 为主的沉积,临床以血尿为主要表现<sup>[1]</sup>。其发生与发展的具体机制尚未明了,目前多数研究认为是遗传因素和环境因素共同作用的结果<sup>[2-3]</sup>。子宫球蛋白(uteroglobin, UG)是具有多种生理活性的、由类固醇激素诱导分泌的类细胞因子样蛋白,并且在进化过程中高度保守。但是直到现在为止,UG 的生理功能尚不完全清楚。有研究发现,UG 基因敲除小鼠与 UG 反义转基因小鼠均表现出明显的肾脏损害,提示 UG 具有重要的肾脏保护功能。更为有意义的是,这两种动物模型均表现出了与人类 IgAN 相类似的临床和病理特点,即蛋白尿、血尿,循环中 IgA-纤维连接蛋白(Fn)复合物升高, IgA、Fn、补体 C<sub>3</sub>、胶原在肾小球沉积等。本研究通过分析 UG 基因 G38A 多态性在 IgAN 患者中的分布特点,探讨 UG 基因 G38A 多态性与 IgAN 发病及病理表现的关系。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 随机抽取本院 2008~2009 年收治的 102 例 IgAN 患者(IgAN 组),临床表现为血尿、蛋白尿等 IgAN 的症状,经本院肾穿刺病理活检诊断符合 IgAN 病理诊断标准指导意见,病理分级符合 Lee 分级标准。其中男 45 例,女 57 例;平均年龄(32.94±9.63)岁。选择本院体检中心健康体检者 140 例(对照组),血压、肾功能、尿常规均正常,既往无肾脏病及其他系统疾病病史。其中男 78 例,女 62 例;年龄 22~69 岁,平均(35.81±8.87)岁。

**1.2 方法** 抽取 IgAN 患者及对照组人群空腹静脉血 3 mL,

注入抗凝采血管内(EDTA 抗凝),置于-80℃冰箱中保存,用试剂盒法提取外周血基因组 DNA。采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术检测 UG 基因 1 号外显子 38 位核苷酸 G→A 的单核苷酸多态性。上游引物序列为 5'-GAC TCA GAG ACG GAA CCA GAG CC-3'。下游引物序列为 5'-GGT CTC TGA GCA CTC ACC GGA G-3'。酶切产物用 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳观察,确定各样本 UG 基因 G38A 基因型。

## 2 结 果

**2.1** IgAN 组与对照组 UG 基因 G38A 基因型频率分布的比较 两组比较,基因型 GA 的分布差异有统计学意义( $P=0.005$ ),而基因型 GG 和 AA 的分布差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 1。

表 1 两组 UG 基因 G38A 基因型频率分布比较[n(%)]

组别	n	GG	GA	AA
IgAN 组	102	16(15.7)	76(74.5)	10(9.8)
对照组	140	36(25.7)	80(57.1)	24(17.1)
$\chi^2$		3.517	7.769	2.632
P		0.061	0.005	0.105

**2.2** IgAN 组与对照组 UG 基因 G38A 等位基因频率分布的比较 两组比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。

**2.3** IgAN 患者 UG 基因 G38A 多态性临床资料比较 UG 基因 G38A 多态性与患者肾穿刺时的性别、年龄,以及血压、血肌酐、尿蛋白等临床表现无关( $P>0.05$ ),见表 3。

**2.4 UG 基因 G38A 多态性与 IgAN 患者病理损害程度的关系** UG 基因 G38A 多态性与 IgAN 病理损害程度差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 4。

**表 2 两组 UG 基因 G38A 等位基因频率分布比较[n(%)]**

组别	等位基因	G	A	$\chi^2$	P
IgAN 组	204	108(52.9)	96(47.1)	0.086	0.770
对照组	280	152(54.3)	128(45.7)		

**表 3 IgAN 患者 UG 基因 G38A 多态性与患者性别、年龄等的关系(n)**

基因	性别		年龄(岁)		高血压		血肌酐升高		24 h 尿蛋白(g)	
	男	女	>35	≤35	是	否	是	否	>1.0	≤1.0
GG	10	6	12	4	6	10	3	13	8	8
GA	29	47	34	42	32	44	15	61	35	41
AA	3	7	7	3	6	4	2	8	4	6
总计	42	60	53	49	54	48	20	82	47	55
$\chi^2$	0.177		3.078		2.541		0.765		1.254	
P	0.075		0.061		0.287		0.354		0.812	

**表 4 UG 基因 G38A 多态性与病理 Lee 分级的关系(n)**

基因型	I~III	IV~V	r	P
GG	11	5		
GA	52	24	0.099	0.325
AA	9	1		

### 3 讨论

UG 是单克隆基因,其在组织和器官特异性的表达是由于他 5'启动子区激素反应片段的的存在。对于小鼠 UG 启动子和外显子 1 非编码区的研究发现了许多与 UG 蛋白表达调节相关的重要的转录因子。TATA 盒的下游,发现的最小的启动子是一 50~+58 片段,并在 UG 启动子的转录调节中起着重要的作用<sup>[4]</sup>。而 G38A 多态性就局限于该最小启动子的相应区域,并被认为有可能很明显地影响蛋白表达水平<sup>[5]</sup>。有体外研究证实,在 G38A 这一位点上腺苷酸(A)代替鸟苷酸(G)的出现,会降低翻译的充分性,减少 UG 的表达<sup>[6]</sup>。也有研究表明,UG 量的减少或消失会使宿主易于产生很强的免疫反应。因此 UG 基因 G38A 位点上等位基因 A 的出现被认为与许多疾病的发生、发展有一定的关系。

在动物模型中,UG 基因敲除小鼠和 UG 反义转基因小鼠均表现出了明显的肾脏损害,与人类 IgAN 有类似的临床和病理特点,提示 UG 可能具有保护机体免于发生 IgAN 及其慢性化进展的作用。在这两种动物模型中,一种是 UG 内源性基因被去除(基因敲除),另一种是 UG 基因的蛋白产物因 UG 的反义 RNA 作用被抑制,而内源 UG 基因未被破坏。两种模型均发生明显的肾脏疾病,如肾组织学检查发现大量的嗜复红蛋白复合物在肾小球沉积,肾小管细胞增生,肾实质纤维化,免疫荧光检查发现 Fn、胶原、IgA 和补体 C<sub>3</sub> 在肾小球沉积,并且沉积的强度在 UG<sup>-/-</sup>小鼠明显高于 UG<sup>+/-</sup>小鼠,而在 UG<sup>+/+</sup>小鼠则无异常,提示 UG 可能具有保护机体免于发生 IgAN 的作用。

体外实验研究也证实,IgA 能与肾小球系膜细胞、单核细胞及中性粒细胞结合,而且在 IgAN 中这种结合明显加强。用<sup>125</sup>I-IgA-Fn 复合物和<sup>125</sup>I-IgA 体外作用于培养的系膜细胞,结果发现二者均能与细胞结合,但<sup>125</sup>I-IgA-Fn 复合物结合能力更强,而且当 UG 存在时,<sup>125</sup>I-IgA-Fn 复合物的结合能力明显降低,这说明 UG 能阻止 IgA-Fn 复合物与系膜细胞的结合,表明 UG 具有明确的肾脏保护作用,特别是能保护肾脏免于 IgA 及其复合物沉积所致的肾脏疾病。

目前,有关 UG 基因与人类 IgAN 相关关系的研究有很多,但是尚未得出一致的结论。有文献报道,在日本 IgAN 患者中,38AA 基因型的频率是正常对照的 2 倍,表明该基因型可能与发病相关<sup>[7]</sup>。然而,在另一组日本患者及在意大利、匈牙利、韩国的研究却表明 G38A 多态性与发病无关<sup>[8-11]</sup>。不过,多数研究都表明该位点的基因多态性与 IgAN 的血尿、蛋白尿及肾功能等临床表现无显著相关,但是可能影响预后。对高加索人群和日本人的研究表明,38GG 基因型预后差<sup>[8-9]</sup>,而在朝鲜族中却发现 38AA 基因型是影响预后的危险因子<sup>[10]</sup>,表明该位点对 IgAN 预后的影响可能存在种族差异性。

在本研究中,发现中国人群 UG 基因 1 号外显子 G38A 基因的 GA 基因型在 IgAN 组与对照组的分布差异显著( $P=0.005$ ),提示 UG 基因 G38A 基因型差异与 IgAN 的发生有明显的联系。IgAN 组基因型 GG 与 AA 的频率均低于健康人群,但是差异无统计学意义( $P>0.05$ )。本研究没有发现该位点上 A 与 G 等位基因出现频率的差异。而 UG 基因 G38A 多态性与 IgAN 患者各临床变量之间的比较结果显示,其多态性与 IgAN 患者的年龄、性别、血压、24 h 尿蛋白、血肌酐均无关,这也与之前的一些报道相同<sup>[7-12]</sup>。另外,本研究也发现 UG 基因 G38A 多态性与 IgAN 病理损害程度无关。

### 参考文献:

- [1] 余萍莉,李秋. 儿童 IgA 肾病的临床与病理分析[J]. 重庆医学,2005,34(10):1450-1452.
- [2] Barratt J, Feehally J. IgA nephropathy[J]. Am Soc Nephrol, 2005,16(5):2088-2097.
- [3] Suzuki H, Moldoveanu Z, Hall S, et al. IgA nephropathy: characterization of IgG antibodies specific for galactose-deficient IgA1 [J]. Contrib Nephrol, 2007, 157(8): 129-133.
- [4] Shijubo N, Kawabata I, Sato N, et al. Clinical aspects of Clara cell 10-kDa protein/uteroglobin (secretoglobin 1A1) [J]. Curr Pharm Des, 2003, 9(14):1139-1149.
- [5] Patierno SR, Manjak MJ, Fernandez PM, et al. Uteroglobin: a potential novel tumor suppressor and molecular therapeutic for prostate cancer[J]. Clin Prostate Cancer, 2002, 1(2):118-124.
- [6] Kim YS, Kang D, Kwon DY, et al. Uteroglobin gene polymorphisms affect the progression of immunoglobulin a nephropathy by modulating the level of uteroglobin expression[J]. Pharmacogenetics, 2001, 11(4):299-305.
- [7] Matsunaga A, Chikahiki N, Kawakami T, et al. Association of uteroglobin gene polymorphism with IgA nephropathy[J]. Am J Kidney Dis, 2002, 39(1):36-41. (下转第 855 页)

Knobloch 等<sup>[9]</sup>的研究相符,但与 Berger 等<sup>[10]</sup>的报道不符,可见 LOH 在膀胱肿瘤方面的研究还存在一定分歧。这更说明同一肿瘤的 LOH 研究受遗传因素的影响,而且选择种族、地区、染色体、等位基因位点和(或)数量的不同,结果也可能截然不同。等位基因缺失是肿瘤发生过程中的重要事件,同时这些遗传变化将在以后的分子演变过程中得以保留<sup>[11]</sup>。因此猜测在膀胱癌进展的不同时期,可在染色体 9p 区及 p53 区检测到高度保守的等位基因缺失模式,这将有助于了解膀胱癌发生的分子机制。

肿瘤组织中等位基因 LOH 是一种常见现象<sup>[12]</sup>,TCC 癌变过程中伴有明显的 LOH 改变,本研究选择的 5 个位点诊断组合阳性率较高,技术成熟,简便经济,较适合膀胱肿瘤的早期临床诊断和术后监测,从而可做到对肿瘤的早发现、早治疗和术后复发监测,对膀胱肿瘤患者术后生活质量提高有着积极作用<sup>[13]</sup>。但国内许多研究人员也发现<sup>[14]</sup>,国外报道的等位基因标记组合的敏感性<sup>[15]</sup>与我国人群差异较大,考虑与人种、病因学差异有关。临床工作中应注意到国人与其他民族的这种差异,采用多个分布于不同染色体的等位基因位点组合筛选、检测,对膀胱肿瘤患者的普查是一种方便、有效、快速、无创的检测方法,并且可以对膀胱肿瘤术后随访患者进行膀胱冲洗液尿脱落细胞 LOH 的监测,结合膀胱镜检,可能对及时发现复发患者有较大帮助。

#### 参考文献:

[1] Wong KK, Tsang YT, Chang YM, et al. Genomewide allelic imbalance analysis of pediatric gliomas by single nucleotide polymorphic allele array[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(23):11172-11180.

[2] Sourvinos G, Kazanis I, Delakas D, et al. Genetic detection of bladder cancer by microsatellite analysis of p16, RB1 and p53 TSG[J]. *Urology*, 2001, 165(1):249-252.

[3] Stoehra R, Zietz S, Burger M. Deletions of Chromosomes 9 and 8p in Histologically Normal Urothelium of Patients with Bladder Cancer[J]. *Eur Urol*, 2007, 47(6):58-63.

[4] Bakkar AA, Wallerand H, Radvanyi F, et al. FGFR3 and TP53 gene mutations define two distinct pathways in urothelial cell carcinoma of the bladder[J]. *Cancer Res*,

2003, 63(24):8108-8112.

[5] Woodhouse EC, Chuaqui RF, Liotta LA. General mechanisms of metastasis[J]. *Cancer*, 1997, 80(8 Suppl):S1529-1537.

[6] Frost P, Levin B. Clinical implications of metastatic process[J]. *Lancet*, 1992, 339(20):1458-1461.

[7] Jemal A, Murray T, Ward E, et al. Cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2005, 55(2):10-30.

[8] Habuchi T, Yoshida O, Knowles MA. A novel candidate tumour suppressor locus at 9q32-33 in bladder cancer: localization of the candidate region within a single 8 402 kb YAC[J]. *Hum Mol Genet*, 1997, 6(6):913-919.

[9] Knobloch R, Hegele A, Brandt H, et al. Serum DNA and urine DNA alterations of urinary transitional cell bladder carcinoma detected by fluorescent microsatellite analysis[J]. *Int J Cancer*, 2001, 94(1):67-72.

[10] Berger AP, Parson W, Stenzl A, et al. Microsatellite alterations in human bladder Cancer: detection of tumor cells in urine sediment and tumor tissue[J]. *Eur Urol*, 2002, 41(5):532-539.

[11] Brunelli M, Gobbo S, Cossu-Rocca P, et al. Chromosomal gains in the sarcomatoid transformation of chromophobe renal cell carcinoma[J]. *ModPathol*, 2008, 20(4):303-309.

[12] Nagano Y, Kimdo H, Zhang L, et al. Allelic alterations in pancreatic endocrine tumors identified by genome-wide single nucleotide polymorphism analysis[J]. *Endocr Relat Cancer*, 2007, 14(8):483-486.

[13] 杨明莹, 贺加, 王剑松, 等. 膀胱肿瘤患者术后生活质量调查评估[J]. *重庆医学*, 2009, 38(9):1108-1110.

[14] 邱林, 丛笑, 谭一韦, 等. 尿脱落细胞微卫星 DNA 改变在膀胱癌早期诊断中的应用[J]. *中华肿瘤杂志*, 2002, 22(6):483-486.

[15] Czerniak B, Li L, Chaturvedi V, et al. Genetic modeline of human urinary bladder carcinogenesis[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2000, 27(4):392-402.

(收稿日期:2010-08-10 修回日期:2010-09-17)

(上接第 852 页)

[8] Szelestei T, Bahring S, Kovacs T, et al. Association of a uteroglobin polymorphism with IgA nephropathy[J]. *Am J Kidney Dis*, 2000, 36(3):468-473.

[9] Narita I, Saito N, Goto S, et al. Role of uteroglobin G38A polymorphism in the progression of IgA nephropathy in Japanese patients[J]. *Kidney Int*, 2002, 61(5):1853-1858.

[10] Kim YS, Kang D, Kwon DY, et al. Uteroglobin gene polymorphisms affect the progression of immunoglobulin: a nephropathy by modulating the level of uteroglobin ex-

pression[J]. *Pharmacogenetics*, 2001, 11(4):299-305.

[11] Gharavi AG, Yan Y, Scolar I F, et al. IgA nephropathy, the most common cause of glomerulonephritis, is linked to 6q22-23[J]. *Nat Genet*, 2000, 26(3):354-357.

[12] Menegatti E, Nardacchione A, Alpa M, et al. Polymorphism of the uteroglobin gene in systemic lupus erythematosus and IgA nephropathy[J]. *Lab Invest*, 2002, 82(5):543-546.

(收稿日期:2010-08-26 修回日期:2010-12-09)