

· 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)