

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.36.013

## 原发免疫性血小板减少症患者 PTPN22 基因多态性研究\*

孙志强<sup>1,2</sup>, 何玲<sup>3</sup>, 谭大为<sup>1,2</sup>, 詹云<sup>2</sup>, 赵静<sup>2</sup>, 郑方<sup>1,2</sup>

(1. 贵阳医学院附属白云医院血液科 550014; 2. 贵阳医学院附属医院血液科 550004; 3. 贵阳医学院研究生学院 550004)

**[摘要]** **目的** 探讨原发免疫性血小板减少症(ITP)患者蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 22(PTPN22)基因 rs2476601、rs3811021 和 rs2488457 共 3 个位点的基因多态性。**方法** 收集贵阳医学院附属白云医院和贵阳医学院附属医院血液科共 100 例 ITP 患者(ITP 组)和 100 例健康体检人群(对照组)的外周血,聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)检测 PTPN22 基因+1858 位点(rs2476601)和 3'UTR 区 rs3811021 位点,序列特异性引物聚合酶链反应(PCR-SSP)检测启动子-1123 位点(rs2488457)的单核苷酸多态性,并对结果进行统计学分析。**结果** ITP 患者与对照组 PTPN22 基因+1858 位点均为 C 等位基因,未检测到 T 等位基因,无单核苷酸多态性(R620W)存在。PTPN22 基因 rs3811021 位点 TT、CT、CC 共 3 个基因型在 ITP 患者中的频率与对照组比较差异无统计学意义( $\chi^2=3.686, P=0.158$ )。T 等位基因、C 等位基因在两组人群中的频率比较差异无统计学意义( $\chi^2=2.828, P=0.093$ )。PTPN22 基因-1123 位点(rs2488457)GG、GC、CC 3 种基因型在 ITP 中的频率与对照组比较差异无统计学意义( $\chi^2=1.802, P=0.406$ )。C 等位基因和 G 等位基因在两组人群中的频率比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.003, P=0.954$ )。按性别因素分别比较 ITP 患者与对照者 rs3811021 和 rs2488457 两个 SNP 位点的基因型及等位基因频率,证实 ITP 组和对照组女性人群中 3 种基因型及等位基因频率比较差异无统计学意义( $P<0.05$ ),两组男性患者比较差异无统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 中国贵州汉族人群不存在 PTPN22 基因 rs2476601 的单核苷酸多态性;存在 rs3811021 和 rs2488457 位点的单核苷酸多态性,但无性别差异,且与 ITP 的发病无显著相关性。

**[关键词]** 血小板减少症;蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 22 基因;多态性,单核苷酸**[中图分类号]** R558.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2015)36-5087-05**The research of single-nucleotide polymorphisms in the PTPN22 gene conferring the susceptibility in immune thrombocytopenia\***Sun Zhiqiang<sup>1,2</sup>, He Ling<sup>3</sup>, Tan Darwei<sup>1,2</sup>, Zhan Yun<sup>2</sup>, Zhao Jing<sup>2</sup>, Zheng Fang<sup>1,2</sup>

(1. Department of Hematology, the Affiliated Baiyun Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou 550014, China;

2. Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou 550004, China;

3. Graduate School of Guiyang Medical College, Guiyang, Guizhou 550004, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the single-nucleotide polymorphisms of PTPN22 gene rs2476601, rs3811021 and rs2488457 in patients with primary immune thrombocytopenia(ITP). **Methods** Totally 100 patients with ITP and 100 cases as control from Department of Hematology, the Affiliated Baiyun Hospital of Guiyang Medical College and the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College were collected. PTPN22 gene + 1858 loci (rs2476601) and 3'UTR region rs3811021 loci were detected by PCR-RFLP, the promoter-1123 loci (rs2488457) were detected by PCR-SSP, and the results were statistically analyzed. **Results** PTPN22 gene +1858 locus in ITP patients and control group were all C allele, T allele was detected, and there was no single nucleotide polymorphisms (R620W) exist. The frequency of PTPN22 gene rs3811021 locus TT, CT, CC three genotypes in ITP patients and control group had no significant difference( $\chi^2=3.686, P=0.158$ ). The frequency of T allele, C allele in ITP patients and control group had no significant difference( $\chi^2=2.828, P=0.093$ ). The frequency of PTPN22-1123 gene (rs2488457) GG, GC, CC three genotypes in ITP patients and control group had no significant difference( $\chi^2=1.802, P=0.406$ ). The frequency of C allele and G allele in ITP patients and control group had no significant difference( $\chi^2=0.003, P=0.954$ ). According to the gender factors, in females, the genotype and allele frequency of SNP loci rs3811021 and rs2488457 in ITP patients and control group had no significant difference( $P<0.05$ ), so as in males( $P<0.05$ ). **Conclusion** PTPN22 gene rs2476601 this SNP site does not exist in Guizhou Han population, The addition of two SNP loci of PTPN22 gene (rs3811021, rs2488457) exists polymorphism, but the two SNP loci has no sex difference, the onset and ITP in Guizhou Han population had no significant correlation.

**[Key words]** thrombocytopenia; PTPN22; polymorphisms, single-nucleotide原发免疫性血小板减少性症(immune thrombocytopenia, ITP)是一种获得性器官特异性自身免疫性疾病<sup>[1]</sup>,是临床最

常见的一种血小板减少性疾病。其发病机制尚未完全清楚,除传统的体液免疫以及细胞免疫机制外,研究发现 ITP 在不同

\* 基金项目:贵州省科技攻关计划基金资助项目[黔科合 LG(2012)070 号];贵阳科技局社会发展攻关计划基金资助项目(筑科合同 20111103 25 号)。 作者简介:孙志强(1969—),主任医师,博士,主要从事造血干细胞移植及出、凝血疾病研究。

表 1 PTPN22 3 个位点扩增引物及片段大小

引物名称	引物序列	产物大小(bp)
rs2476601	上游:5-ACT GAT AAT GTT GCT TCA ACG G-3 下游:5-TCA CCA GCT TCC TCA ACC AC-3	176 和 42
rs3811021	上游:5-TCT TTC AGA TCA TGT GCA ATT TTT-3 下游:5-GTC AGG TGG ATT CTT TGT AAA ATC-3	162
rs2488457	F1:5-CCA TTG AGA GGT TAT GCA AGC TG-3 F2:5-CCA TTG AGA GGT TAT GCA AGC TC-3 R:5-ACC TCA AAC TCC CTT TTG AAT GAA G-3	500

种族发病率有差异,提示 ITP 的发病可能与遗传背景有关。蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 22 (protein tyrosine phosphatase nonreceptor 22, PTPN22) 基因位于 1 号染色体短臂 (1p13.3~13.1), 作为自身免疫性疾病的易感基因, 被认为是除了主要组织相容性抗原复合物 (MHC) 以外最重要的自身免疫性疾病危险因素, 是从自身免疫角度研究 ITP 的重要候选基因。本研究分别检测了 PTPN22 基因 +1858 位点 (rs2476601)、3' UTR 区 rs3811021 位点和启动子-1123 位点 (rs2488457) 的单核苷酸多态性, 旨在探讨该位点变异与中国贵州汉族人群 ITP 发病的相关性。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取贵阳医学院附属白云医院和贵阳医学院附属医院血液科 2013 年 4 月至 2014 年 2 月住院及门诊长期随访的 ITP 患者 100 例作为研究对象, 其中, 男 31 例, 女 69 例, 年龄 14~85 岁, 平均 (41.3±18.468) 岁, 均为汉族患者, 均符合《血液病诊断与疗效标准》第 2 版 ITP 诊断标准<sup>[2]</sup>。同时, 以性别、年龄为匹配因素, 选择贵阳医学院附属医院健康体检者 100 例作为对照组, 其中, 男 37 例, 女 63 例, 年龄 15~76 岁, 平均 (41.19±15.162) 岁, 均为汉族人, 所选对象间均无亲缘关系。

## 1.2 研究方法

**1.2.1 基因组 DNA 提取** 采清晨空腹静脉血 2 mL, 用 EDTA 抗凝管抗凝, 置于 -80 °C 冰箱中保存。用 DNA 提取试剂盒 (生工 SK8224) 提取基因组 DNA, -20 °C 冰箱中保存。DNA 提取试剂盒由上海生工生物工程股份有限公司提供。

**1.2.2 聚合酶链反应 (PCR) 扩增及基因型分析** 利用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 技术进行 PTPN22 基因 +1858 位点 (rs2476601) 和 3' UTR 区 rs3811021 位点的多态性分析, 利用序列特异性引物聚合酶链反应 (PCR-SSP) 技术进行启动子-1123 位点 (rs2488457) 的多态性分析。参考文献设计引物见表 1, 引物均由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。PCR 扩增反应体系总体积为 15.0 μL, 其中, DNA 模板 0.5 μL, 10×Taq 缓冲液 1.5 μL, dNTP 混合物 0.3 μL, 上下游引物各 0.2 μL, 20 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 1.2 μL, 5 U/μL TaqDNA 聚合酶 0.1 μL, 不足体积加高压灭菌水补足; PCR-RFLP 反应条件为 95.0 °C 预变性 5 min 后 95.0 °C 变性 30 s, 58.0 °C 退火 30 s, 72.0 °C 延伸 40 s, 共 40 个循环, 最后 72.0 °C 延伸 6 min, 4 °C 保存。PCR 扩增产物分别以限制性内切酶酶 (RsaI, TaqI) 酶切后以 3% 琼脂糖凝胶电泳, 将扩增物 (5.0 μL) 与溴酚蓝混合后加样于 1×TBE 缓冲液中, 150 V 电泳 0.5 h。PCR-SSP 反应条件: 96.0 °C 预变性 1 min 后 90.0 °C 变性

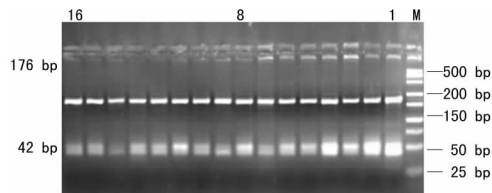
20 s, 65.5 °C 退火 45 s, 72.0 °C 延伸 25 s, 5 个循环; 再 95.0 °C 变性 30 s, 60.0 °C 退火 50 s, 72.0 °C 延伸 30 s, 21 个循环; 再 95.0 °C 变性 25 s, 55.0 °C 退火 50 s, 72.0 °C 延伸 30 s, 4 个循环; 最后 20.0 °C 延伸 2 min, 4.0 °C 保存。PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 150 V 电泳 20 min。得到扩增条带后, 根据电泳结果分析每个个体基因型。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计学软件进行分析处理, 计算基因型以及等位基因频率, 检验其是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律, 基因型和等位基因频率比较采用  $\chi^2$  检验, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

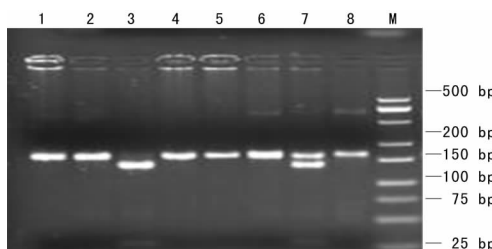
**2.1 PTPN22 位点 rs2476601 和 rs3811021 基因多态性检测** 100 例 ITP 患者及 100 例对照者 PTPN22 基因 +1858 位点 (rs2476601) 均产生了 176 bp 和 42 bp 两个片段, 即该位点均为 C 等位基因, 未检测到 T 等位基因, 未发现存在突变, 无单核苷酸多态性 (R620 W) 存在 (图 1)。而 rs3811021 位点 PCR 片段扩增长度为 162 bp, 该位点的 C 等位基因可被 TaqI 酶切产生 137 bp 和 25 bp 两个条带, 如图 2。

**2.2 PTPN22-1123 位点 (rs2488457) 基因多态性检测** PCR 扩增长度为 500 bp, 每份标本均用 F1 及 F2 进行扩增, F1 对应等位基因 C, 当基因型为 CC 时 F1 可扩增出 PCR 产物, 得到扩增条带; F2 对应等位基因 G, 当基因型为 GG 时 F2 可扩增出 PCR 产物, 得到扩增条带; 当基因型为 GC 时, F1 及 F2 均可得到扩增条带, 见图 3~4。



M: Marker, 1~16 为 CC 基因型酶切结果。

图 1 PTPN22 基因 +1858 位点 (rs2476601) 基因分型图



M: Marker, 3 为 CC 纯合子, 7 为 CT 杂合子, 其余为 TT 纯合子。

图 2 PTPN22 基因 rs3811021 基因分型图

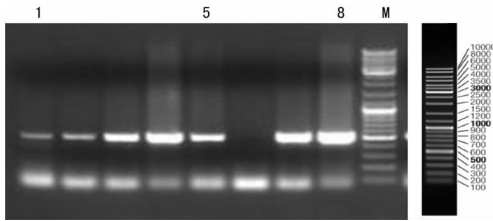


图 3 引物 F1 扩增 C 等位基因电泳图

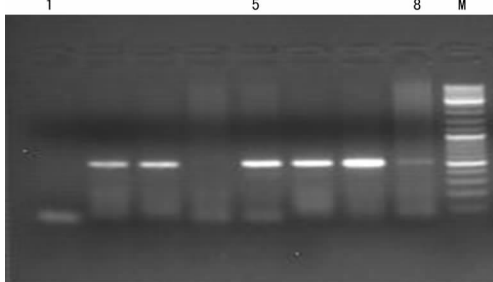


图 4 引物 F2 扩增 G 等位基因电泳图

2.3 PTPN22 基因 3 个位点的基因型和等位基因分布频率

2.3.1 PTPN22 基因 rs2476601 位点 对该位点 SNP 检测的 100 例 ITP 患者及 100 例对照者中,未检测到 T 等位基因,即没有发现 PTPN22+1858 存在突变。

2.3.2 PTPN22 基因 rs3811021 位点 (1)比较 ITP 组与对照组总体基因型及等位基因频率,PTPN22 基因 rs3811021 位点 TT、CT、CC 3 个基因型在 ITP 患者中的频率分别为 52.0%、39.0%、9.0%;在对照组中分别为 60.6%、36.4%、3.0%(表 2)。3 种基因型在 ITP 患者中的频率与对照者比较差异无统计学意义( $\chi^2=3.686, P=0.158$ )。T 等位基因、C 等

位基因在 ITP 患者中的频率为 71.5%、28.5%;在对照者中分别为 78.8%、21.2%。2 个等位基因在两组人群中的频率比较差异无统计学意义( $\chi^2=2.828, P=0.093$ )。(2)按性别因素分别比较 ITP 组与对照组基因型及等位基因频率,以 ITP 组女性及对照组女性比较,如表 3 所示,PTPN22 基因 rs3811021 位点 TT、CT、CC 3 个基因型在 ITP 女性患者中的频率分别为 50.7%、42.0%、7.3%;在对照女性组中分别为 58.1%、37.1%、4.8%。3 种基因型在 ITP 女性患者中的频率与女性对照者相比差异无统计学意义( $\chi^2=0.835, P=0.659$ )。T 等位基因、C 等位基因在 ITP 女性患者中的频率为 71.7%、28.3%;在女性对照者中分别为 76.7%、23.4%。两个等位基因在两组女性人群中的频率比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.807, P=0.369$ )。

表 2 PTPN22 基因 rs3811021 位点基因型和等位基因分布比较[n(%)]

组别	n	基因型			等位基因	
		TT	CT	CC	T	C
ITP 组	100	52(52.0)	39(39.0)	9(9.0)	143(71.5)	57(28.5)
对照组	99	60(60.6)	36(36.4)	3(3.0)	156(78.8)	42(21.2)
$\chi^2$			3.686			2.828
P			0.158			0.093

3 种基因型在 ITP 男性患者中的频率与男性对照者比较差异无统计学意义( $\chi^2=5.097, P=0.078$ )。T 等位基因、C 等位基因两个等位基因在两组男性人群中的频率比较差异无统计学意义( $\chi^2=2.520, P=0.112$ )。

表 3 PTPN22 基因 rs3811021 位点按性别比较基因型和等位基因分布比较[n(%)]

组别	女/男	基因型						等位基因			
		TT		CT		CC		T		C	
		女	男	女	男	女	男	女	男	女	男
ITP 组	69/31	35(50.7)	17(54.8)	28(42.0)	10(32.3)	5(7.3)	4(12.9)	99(71.7)	44(71.0)	39(28.3)	18(29.0)
对照组	62/37	36(58.1)	24(64.9)	23(37.1)	13(35.1)	3(4.8)	0(0)	95(76.7)	61(82.5)	29(23.4)	13(17.6)
$\chi^2$ (女/男)				1.835/5.097				0.807/2.520			
P(女/男)				0.659/0.078				0.369/0.112			

2.4 PTPN22 基因-1123 位点(rs2488457) (1)比较 ITP 组与对照组总体基因型及等位基因频率,PTPN22 基因 rs2488457 位点 GG、GC、CC 3 个基因型在 ITP 患者中的频率分别为 27.6%、66.3%、6.1%;在对照组中分别为 32.0%、58.0%、10.0%(表 4)。3 种基因型在 ITP 患者中的频率与对照者比较差异无统计学意义( $\chi^2=1.802, P=0.406$ )。C 等位基因、G 等位基因在 ITP 患者中的频率为 60.7%、39.2%;在健康对照者中分别为 61.0%、39.0%。两个等位基因在两组人群中的频率比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.003, P=0.954$ )。(2)按性别因素分别比较 ITP 组与对照组基因型及等位基因频率以 ITP 组女性及对照组女性比较,如表 5 所示,PTPN22 基因-1123 位点 GG、CG、CC 3 个基因型在 ITP 女性患者中的频率分别为 23.5%、75.0%、1.5%;在对照组女性中分别为 28.6%、61.9%、9.5%。3 种基因型在 ITP 女性患者中的频率与健康女性对照者比较差异无统计学意义( $\chi^2=5.106, P=0.078$ )。G 等位基因、C 等位基因在 ITP 女性患者中的频

率为 61.0%、39.0%;在女性对照者中分别为 60.0%、40.0%。两个等位基因在两组女性人群中的频率比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.140, P=0.906$ )。3 种基因型在 ITP 男性患者中的频率与男性对照者比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.503, P=0.778$ )。G 等位基因、C 等位基因 2 个等位基因在两组男性人群中的频率比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.174, P=0.677$ )。

表 4 PTPN22 基因-1123 位点基因型和等位基因分布比较[n(%)]

组别	n	基因型			等位基因	
		GG	CG	CC	G	C
ITP 组	98	27(27.6)	65(66.3)	6(6.1)	119(60.7)	77(39.2)
对照组	100	32(32.0)	58(58.0)	10(10.0)	122(61.0)	78(39.0)
$\chi^2$			1.802			0.003
P			0.406			0.954

表 5 PTPN22 基因-1123 位点按性别比较基因型和等位基因分布比较[n(%)]

组别	女/男	基因型						等位基因			
		GG		CG		CC		G		C	
		女	男	女	男	女	男	女	男	女	男
ITP 组	68/30	16(23.5)	11(36.7)	51(75.0)	14(46.7)	1(1.5)	5(16.6)	83(61.0)	36(60.1)	53(39.0)	24(39.9)
对照组	63/37	18(28.6)	14(37.8)	39(61.9)	19(51.4)	6(9.5)	4(10.8)	76(60.0)	47(63.5)	50(40.0)	27(36.5)
$\chi^2$ (女/男)		5.106/0.503						0.140/0.174			
P(女/男)		0.078/0.778						0.906/0.677			

**2.5 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验** 本研究对照人群中 PTPN22 基因 rs3811021 与 rs2488457 位点的基因型频率分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律(rs3811021,  $\chi^2 = 0.775$ ,  $P > 0.05$ ; rs2488457,  $\chi^2 = 4.790$ ,  $P > 0.05$ ), 即群体的基因达到遗传平衡, 样本选取和实验分型结果可靠。

### 3 讨论

ITP 属于获得性器官特异性自身免疫性疾病, 其病因及发病机理尚未完全清楚, 大量研究证实 ITP 的发病与免疫功能异常密切相关。有关发病机制的研究, 目前, 传统的理论认为, 是 B 细胞介导的自身抗体的产生导致单核巨噬细胞系统破坏血小板过多, 为体液免疫异常所致。随着研究的不断深入, 发现除了体液免疫外, 细胞免疫在 ITP 的发病机制中也起着重要的作用, 其中抗原特异性自身反应性 T 细胞, 特别是调节性 T 细胞的功能异常, 是 ITP 免疫发病的关键因素。另外, ITP 作为一种常见的自身免疫性疾病, 除上述发病机理外, 研究者发现, 其在不同种族的发病率有差异, 提示 ITP 的发病可能与遗传背景有关。近期, 至少有 12 项关于 ITP 患者遗传学方面的研究显示, 在 ITP 患者中可发现细胞因子基因多态现象, 涉及甲基化转移酶基因多态性<sup>[3-4]</sup>、CD72 基因多态性<sup>[5]</sup>、MHC 基因表达<sup>[6]</sup>等方面的研究。

PTPN22 编码产生淋巴蛋白酪氨酸磷酸酶 (lymphoid protein tyrosine phosphatase, LYP), LYP 通过直接去磷酸化 Src 家族的激酶来抑制 TCR 信号途径, 在 T 细胞信号通路中起负性调节作用<sup>[7]</sup>。在正常机体内, 调节性 T 细胞对于防止自身免疫性疾病的发生有着极其重要的作用。有理论认为 PTPN22 基因某位点突变可导致该基因活性增加, 从而降低调节性 T 细胞的 TCR 信号转导, 减弱调节性 T 细胞的调节功能<sup>[8]</sup>。另外, PTPN22 的活性增强还能提高胸腺细胞发育中效应性 TCR 信号转导的阈值, 导致缺乏对自身反应性 T 细胞的阴性选择<sup>[9]</sup>。通过上述机制的作用, PTPN22 功能异常可以导致自身免疫性疾病的发生, 并被认为是除了 MHC 以外最重要的自身免疫性疾病危险因素, 是从自身免疫角度研究 ITP 的重要候选基因。

近年研究发现, PTPN22 基因 +1858 位点突变参与多种自身免疫性疾病的发生, 其单核苷酸多态性由胞苷酸(C)突变成胸苷酸(T)(C1858T), 蛋白水平的第 620 位由精氨酸(R)突变成色氨酸(W)(R620W), 改变了 LYP C 端的一个富含脯氨酸基序的 P1 结构域<sup>[10]</sup>, 而细胞中 LYP 正是通过该结构域与酪氨酸激酶 Csk 的 SH3 结合来抑制 T 细胞信号, 因此, PTPN22 +1858 位点突变导致 T 细胞活性增加, 从而参与多种自身免疫性疾病有关, 如 I 型糖尿病(T1DM)<sup>[10]</sup>、类风湿性关节炎(RA)<sup>[11]</sup>、白癜风<sup>[12]</sup>、系统性红斑狼疮(SLE)<sup>[13]</sup>、ANCA 相关性小血管炎<sup>[14]</sup>等, 但在不同国家健康人群中该位点基因型的分布存在地域差异及种族差异, 其中在北美地区 1858T 最

高<sup>[13]</sup>, 由北向南逐渐降低, 亚洲地区如日本<sup>[15]</sup>未检测到该位点的 T 等位基因。另外, 德国 Kahles 等<sup>[16]</sup>关于 PTPN22 C1858T 与 T1DM 的研究表明, 女性 T1DM 组与健康女性对照组间 PTPN22 1858T 基因型分布比较差异有统计学意义( $P = 0.0003$ ), 但男性 T1DM 组与健康对照组间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。提示 PTPN22 C1858T 的分布除了地域及种族差异外, 可能还存在性别差异。本实验检测的是贵州汉族人群中该位点的 SNP, 同样未检测到单核苷酸多态性(R620W)存在, 这与有关学者关于 PTPN22 +1858 位点在亚洲国家如日本及韩国人群中的基因多态性分布的研究结果相一致。这种结果的出现可能是由地域及人种之间的差异所致, 而在亚洲人群中该位点的突变率可能极低。

本研究对中国贵州汉族人群 PTPN22 基因另外两个 SNP 位点(rs3811021, rs2488457)进行了检测, 并针对性别因素分别对 ITP 组及对照组基因型及等位基因频率进行比较。

PTPN22 基因 rs3811021 位于 3' UTR 区, Kyogoku 等<sup>[13]</sup>发现位于该区域(rs3811021)的 SNP 与风湿性关节炎的发病有关, 其机制可能是通过影响转录稳定性及拼接过程来改变 PTPN22 基因活性。本实验结果显示该位点 TT、CT、CC 3 个基因型在 ITP 患者中的频率与对照者比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 3.754$ ,  $P = 0.153$ ), T 等位基因、C 等位基因在两组人群中的频率比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.005$ ,  $P = 0.944$ )。另外, 根据性别因素比较两组人群证实, ITP 组与对照组女性人群中 3 种基因型及等位基因频率比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 两组男性比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。表明该位点的单核苷酸多态性与 ITP 发病无相关性, 且该 SNP 位点分布不存在性别差异, 这与国内 2009 年袁锋等<sup>[17]</sup>关于该位点 SNP 与中国汉族人群白癜风发病无显著相关性的结论一致。

PTPN22 基因 rs2488457 位于启动子区的-1123 位点, 有学者对 PTPN22 基因的 3' UTR 区, 启动子区, 1~21 号外显子进行单核苷酸扫描鉴定, 研究亚洲人群中 PTPN22 基因 SNP 与 T1DM 的相关性, 结果发现位于启动子区的-1123 位点(rs2488457)的单核苷酸多态性与亚洲 T1DM 的发病具有相关性。Viken 等<sup>[18]</sup>做了关于 PTPN22 基因-1123 位点的 SNP 与挪威人群类风湿性关节炎患者的相关性研究, 发现该位点变异与挪威人群 RA 的发病具有相关性。以上研究显示, PTPN22 基因-1123 位点单核苷酸多态性与亚洲及欧洲人群的自身免疫性疾病的发病具有相关性。国内也有相关报道, 如于志云等<sup>[19]</sup>研究证实, PTPN22 基因启动子的-1123 G>C 的 SNP 与中国北方汉族人群 Graves 病的发生具有相关性。目前, 关于该位点变异导致自身免疫性疾病的发生机制还不清楚, 可能是通过影响 LYP 的转录效率进而对 LYP 的表达产生影响。本实验结果显示该位点 GG、GC、CC 3 种基因型在 ITP 患者中的频率与对照者比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.441$ ,  $P =$

0.802)。C 等位基因和 G 等位基因在两组人群中的频率比较差异无统计学意义( $\chi^2=0.094, P=0.76$ )。另外,根据性别因素比较两组人群证实,ITP 组和对照组女性人群中 3 种基因型及等位基因频率比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),两组男性比较差异亦无统计学意义( $P>0.05$ )。表明该位点的单核苷酸多态性与 ITP 发病无相关性,且该 SNP 位点分布不存在性别差异。这与上述文献报道结果不一致,其原因可能与研究的疾病种类不同,实验样本数量多少以及 PTPN22 基因其他位点的潜在性影响有关。

综上所述,PTPN22 基因 rs2476601 这个 SNP 位点在中国贵州汉族人群中不存在,该基因另外 2 个 SNP 位点(rs3811021,rs2488457)与中国贵州汉族人群 ITP 的发病无显著相关性,且该位点分布不存在性别差异。目前,发现的关于 PTPN22 基因的 SNP 位点有 250 个,而本实验仅仅选择了其中的 3 个,并不能完全代表该基因的全部 SNP 位点,因此,不能排除 PTPN22 基因其他位点的 SNP 参与 ITP 的发病。另外,本研究样本数量较少,可能存在其他基因潜在影响 PTPN22 基因表达等也会影响实验的结果。虽然本实验未发现 PTPN22 基因这 3 个 SNP 位点的多态性与 ITP 发病具有显著相关性,但对于 ITP 发病与 PTPN22 基因其他 SNP 位点相关性研究具有一定的参考价值,而 PTPN22 基因其他 SNP 位点是否与 ITP 的发病具有相关性还有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] Rodeghiero F, Stasi R, Gernsheimer T, et al. Standardization of terminology definitions and outcome criteria in immune thrombocytopenic purpura of adults and children: report from an international working group [J]. *Blood*, 2009, 113(11): 2386-2393.
- [2] 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 2 版. 北京: 科学技术出版社, 1999: 279-284.
- [3] Zhao H, Du W, Wang D, et al. The expression of IFN-gamma, IL-4, Foxp3 and perforin genes are not correlated with DNA methylation status in patients with immune thrombocytopenic purpura [J]. *Platelets*, 2010, 21(2): 137-143.
- [4] Zhao H, Du W, Wang D, et al. Single nucleotide polymorphism in the methyl-CpG binding domain 4 gene and the risk for immune thrombocytopenic purpura in Chinese population [J]. *Platelets*, 2010, 21(2): 132-136.
- [5] Xu J, Lu S, Tao J, et al. CD72 polymorphism associated with child-onset of idiopathic thrombocytopenic purpura in Chinese patients [J]. *J Clin Immunol*, 2008, 28(3): 214-219.
- [6] Maia MH, Peixoto Rde L, de Lima CP, et al. Predisposition to idiopathic thrombocytopenic purpura maps close to the major histocompatibility complex class I chain-related gene A [J]. *Hum Immunol*, 2009, 70(3): 179-183.
- [7] Hill RJ, Zozulya S, Lu YL, et al. The lymphoid protein tyrosine phosphatase Lyp interacts with the adaptor molecule Grb2 and functions as a negative regulator of T-cell

- activation [J]. *Exp Hematol*, 2002, 30(3): 237-244.
- [8] Gregersen PK. Gaining insight into PTPN22 and autoimmunity [J]. *Nat Genet*, 2005, 37(12): 1300-1302.
- [9] Liston A, Lesage S, Gray DH, et al. Genetic lesions in T-cell tolerance and thresholds for autoimmunity [J]. *Immunol Rev*, 2005, 204(204): 87-101.
- [10] Bottini N, Musumeci L, Alonso A, et al. A functional variant of lymphoid tyrosine phosphatase is associated with type I diabetes [J]. *Nat Genet*, 2004, 36(4): 337-338.
- [11] Begovich AB, Carlton VE, Honigberg LA, et al. A missense single-nucleotide polymorphism in a gene encoding a protein tyrosine phosphatase (PTPN22) is associated with rheumatoid arthritis [J]. *Am J Hum Genet*, 2004, 75(2): 330-337.
- [12] Cantón I, Akhtar S, Gavalas NG, et al. A single-nucleotide polymorphism in the gene encoding lymphoid protein tyrosine phosphatase (PTPN22) confers susceptibility to generalised vitiligo [J]. *Genes Immun*, 2005, 6(7): 584-587.
- [13] Kyogoku C, Langefeld CD, Ortmann WA, et al. Genetic association of the R620W polymorphism of protein tyrosine phosphatase PTPN22 with human SLE [J]. *Am J Hum Genet*, 2004, 75(3): 504-507.
- [14] Cao Y, Yang J, Preston GA, et al. Expression of the PTPN22 gain-of-function Variant results in ERK inhibition leading to down-regulation of IL-10 expression in leukocytes of patients with ANCA disease [J]. *Kidney Int*, 2011, In-revised.
- [15] Ban Y, Tozaki T, Taniyama M, et al. The codon 620 single nucleotide polymorphism of the protein tyrosine phosphatase-22 gene does not contribute to autoimmune thyroid disease susceptibility in the Japanese [J]. *Thyroid*, 2005, 15(10): 1115-1118.
- [16] Kahles H, Ramos-Lopez E, Lange B, et al. Sex-specific association of PTPN22 1858T with type 1 diabetes but not with Hashimoto's thyroiditis or Addison's disease in the German population [J]. *Eur J Endocrinol*, 2005, 153(6): 895-899.
- [17] 袁锋, 权晟, 王丹妮, 等. PTPN22 基因多态性与汉族人白癜风易感性关联分析 [J]. *安徽医科大学学报*, 2009, 44(3): 308-310.
- [18] Viken MK, Olsson M, Flåm ST, et al. The PTPN22 promoter polymorphism-1123G>C association cannot be distinguished from the 1858C>T association in a Norwegian rheumatoid arthritis material [J]. *Tissue Antigens*, 2007, 70(3): 190-197.
- [19] 于志云, 张进安, 买尔哈巴, 等. PTPN22 基因多态性与自身免疫甲状腺病的相关性 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2008, 24(8): 804-807.