

- [3] CAKAR E, DURMUS O, TEKIN L, et al. The ankle-foot orthosis improves balance and reduces fall risk of chronic spastic hemiparetic patients[J]. Eur J Phys Rehabil Med, 2010, 46(3): 363-368.
- [4] TYSON SF, SADEGHI-DEMNEH E, NESTER CJ. A systematic review and meta-analysis of the effect of an ankle-foot orthosis on gait biomechanics after stroke[J]. Clin Rehabil, 2013, 27(10): 879-891.
- [5] 中华神经科学会, 中华神经外科学会. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996, 29(6): 379-380.
- [6] 倪朝民. 神经康复学[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 46-50.
- [7] 刘丽玲, 倪朝民, 岳童, 等. 脑卒中偏瘫患者步行时足底压力中心的特点[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2015, 37(11): 830-834.
- [8] 王静, 郭宇. 早期佩戴可动踝足矫形器对脑卒中患者的康复疗效[J]. 中国康复医学杂志, 2011, 26(10): 975-977.
- [9] 励建安, 孟殿怀. 步态分析的临床应用[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2006, 28(7): 500-503.
- [10] 赵军, 张通, 芦海涛, 等. 脑卒中偏瘫步态分析的临床应用[J]. 中国康复理论与实践, 2013, 19(7): 655-657.
- [11] FERREIRA LA, NETO HP, GRECCO LA, et al. Effect of ankle-foot orthosis on gait velocity and cadence of stroke patients: a systematic review[J]. Phys Ther Sci, 2013, 25(11): 1503-1508.
- [12] 单莎瑞, 黄国志, 曾庆, 等. 步态诱发功能性电刺激对脑卒中后足下垂患者步态时空参数的影响[J]. 中国康复医学杂志, 2013, 28(6): 558-563.
- [13] 叶长青, 许晶莉, 高晶, 等. 夜间膝踝足矫形器治疗痉挛型双瘫患儿的疗效观察[J]. 中国康复, 2016, 31(4): 301-302.
- [14] 崔高亮. 佩戴踝足矫形器对脑卒中患者重心转移功能的影响[J]. 中国康复, 2017, 32(3): 257-259.
- [15] NIKAMP CDM, PALEN J VAN DER, HERMENS HJ, et al. The influence of early or delayed provision of ankle-foot orthoses on pelvis, hip and knee kinematics in patients with sub-acute stroke: a randomized controlled trial [J]. Gait & Posture, 2018, 63: 260-267. DOI: 10.1016/j.gaitpost.2018.05.012.
- [16] 黄美玲, 杨万章, 范佳进, 等. 早期使用踝足矫形器对脑卒中偏瘫患者步行功能影响的表面肌电信号研究[J]. 中国康复医学杂志, 2014, 29(5): 446-450.
- [17] 高亚南, 付彦, 刑方印, 等. 踝足矫形器的早期应用对脑卒中患者日常生活活动能力及生活质量影响的临床研究[J]. 北京医学, 2018, 40(1): 42-44.
- [18] TOTAH D, MENON M, JONES-HERSHINOW C, et al. The impact of ankle-foot orthosis stiffness on gait: a systematic literature review[J]. Gait & Posture, 2019, 69: 101-111.

(收稿日期: 2020-08-18, 修回日期: 2020-10-07)

引用本文: 陈学兵, 欧世梅, 张利沙. 胆固醇 7-羟化酶基因 rs4738687 多态性与乙型肝炎病毒感染的相关性研究[J]. 安徽医药, 2022, 26(6): 1147-1150. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2022.06.020.

◇临床医学◇



胆固醇 7-羟化酶基因 rs4738687 多态性与乙型肝炎病毒感染的相关性研究

陈学兵^{1a}, 欧世梅^{1b}, 张利沙²

作者单位: ¹德阳市人民医院, ^a感染科, ^b耳鼻喉头颈外科, 四川 德阳 618000;

²德阳市第二人民医院检验科, 四川 德阳 618000

摘要: **目的** 探讨胆固醇 7-羟化酶(CYP7A1)基因 rs4738687 多态性与乙型肝炎病毒(HBV)感染的相关性。**方法** 回顾性选取 2015 年 1 月至 2019 年 2 月在德阳市人民医院治疗的 HBV 感染病人 200 例(观察组), 其中慢性 HBV 感染者 140 例, HBV 相关肝硬化病人 60 例; 同时选取该院健康体检者 120 例作为对照组。采用改良多重高温连接酶检测反应技术检测 CYP7A1 基因的 rs4738687 位点多态性。**结果** 观察组和对照组 rs4738687 位点基因型和等位基因分布比较差异无统计学意义($P>0.05$); 观察组 HBV 相关肝硬化病人 rs4738687 位点 AG+GG 基因型比例为 90.00%, 明显高于慢性 HBV 感染病人 35.00% ($P<0.05$); 观察组不同性别、年龄病人 rs4738687 位点 AG+GG 基因型比例比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** CYP7A1 基因 rs4738687 位点多态性与 HBV 感染易感性无明显关系, 但可能与 HBV 相关肝硬化发生存在正相关关系。

关键词: 乙型肝炎病毒; 胆固醇 7-羟化酶; rs4738687 位点; 基因多态性

Relationship between cholesterol 7-hydroxylase gene rs4738687 polymorphism and hepatitis B virus infection

CHEN Xuebing^{1a}, OU Shimei^{1b}, ZHANG Lisha²

Author Affiliations: ^{1a}Department of Infection, ^{1b}Department of Otolaryngology, Head and Neck, Deyang People's Hospital, Deyang, Sichuan 618000, China; ²Clinical Laboratory, The Second People's Hospital of Deyang, Deyang, Sichuan 618000, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between rs4738687 polymorphism of cholesterol 7-hydroxylase (CYP7A1) gene and hepatitis B virus (HBV) infection. **Methods** Two hundred patients (observation group) with HBV infection, who were treated at Deyang People's Hospital from January 2015 to February 2019, were retrospectively selected, including 140 patients with chronic HBV infection and 60 patients with HBV-associated cirrhosis. Another 120 healthy people having check-up in the hospital were selected as control group. The rs4738687 polymorphism of CYP7A1 gene was detected by improved multiple high temperature ligase assay. **Results** There was no significant difference in the distribution of rs4738687 genotype and allele between the observation group and the control group ($P > 0.05$). The percentage of AG + GG genotype at rs4738687 locus in the patients with HBV-associated cirrhosis in observation group was 90.00%, which was significantly higher than that in the patients with chronic HBV infection (35.00%, $P < 0.05$). There were no significant differences in the proportion of AG + GG genotype at rs4738687 locus among the patients with different genders and ages in the observation group ($P > 0.05$). **Conclusion** The rs4738687 polymorphism of CYP7A1 gene is not related to the susceptibility of HBV infection, but may be positively correlated with the occurrence of HBV-associated cirrhosis.

Key words: Hepatitis B virus; Cholesterol 7-hydroxylase; Rs4738687 locus; Gene polymorphism

乙型肝炎病毒(HBV)感染属于全球性健康问题,研究发现目前世界范围内近20亿人感染过HBV,但是病人临床结局存在较大差异,一般取决于HBV持续感染性以及病人康复状态,HBV感染病人发生发展对于指导病人治疗以及改善预后具有重要意义,因此如何有效的评价病人病情进展一直是临床关注的热点^[1]。研究显示宿主因素主要是宿主基因单核苷酸多态性是影响HBV感染与疾病发展的重要因素,既往研究发现钠离子-牛磺胆酸共转运蛋白为肝细胞表面胆汁酸受体,也是HBV感染肝细胞受体,介导病毒进入到肝细胞,HBV则可以同胆汁酸竞争性结合,胆固醇7-羟化酶(cholesterol 7 alpha hydroxylase, CYP7A1)属于胆汁酸生物合成途径重要的限速酶,具有分解胆固醇变为胆汁酸能够维持肝细胞脂质稳定的功能,有研究发现HBV能够结合钠离子-牛磺胆酸抑制胆汁酸进入到肝细胞,造成了该基因表达升高,促进了人体胆固醇转变为胆汁酸导致肝细胞被破坏,但是临床对于CYP7A1基因多态性对于HBV感染的相关性临床分析极为少见^[2]。本研究分析了CYP7A1基因rs4738687多态性与HBV感染的相关性,目的是分析该基因多态性同HBV病人临床结局之间的关系,对HBV病人发病机制进行探讨,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性选取2015年1月至2019年2月在德阳市人民医院治疗的HBV感染病人(观察组),纳入标准:①诊断符合《慢性乙型肝炎防治指南(2019年版)》^[3]中的标准;②入院前未接受抗病毒治疗;③病人及近亲属知情同意。排除标准:①有其他病毒性肝炎、酒精性肝病、自身免疫性肝病等其他肝脏病变;②有HIV感染。最终纳入200例(观察组),其中慢性HBV感染者140例,HBV肝硬化病人60例。同时选取该院健康体检者120例作为对照组,两组一般资料比较差异无统计学意义($P >$

0.05),见表1。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》中的相关要求。

表1 观察组(乙型肝炎病毒感染病人)和对照组(健康体检者)一般资料比较

组别	例数	男/女/例	年龄/ (岁, $\bar{x} \pm s$)	体质量指数/ (kg/m^2 , $\bar{x} \pm s$)
对照组	120	80/40	44.40 $\pm$ 9.55	21.80 $\pm$ 5.45
观察组	200	120/80	45.87 $\pm$ 8.43	22.60 $\pm$ 3.67
$t(\chi^2)$ 值		(1.42)	1.44	1.57
P 值		0.233	0.152	0.118

1.2 实验方法 抽取病人空腹静脉血3 mL,取200 μL 全血采用TIANamp基因组DNA试剂盒提取全血DNA,采用Haploview 4.2软件对CYP7A1 rs4738687位点进行筛选,采用改进多重高温连接酶检测反应技术进行基因分型,PCR循环程序为95 $^{\circ}\text{C}$ 2 min, 11个循环(94 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 65 $^{\circ}\text{C}$ 每个循环递减0.5 $^{\circ}\text{C}$ 40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 90 s); 72 $^{\circ}\text{C}$ 2 min后4 $^{\circ}\text{C}$ 60 min,在10 μL PCR产物加入5单位虾碱性磷酸酶及2单位核酸外切酶I, 37 $^{\circ}\text{C}$ 温浴1 h, 75 $^{\circ}\text{C}$ 灭活15 min。连接程序为38个循环(94 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 56 $^{\circ}\text{C}$ 4 min), 4 $^{\circ}\text{C}$ 60 min取0.5 μL 稀释后连接产物,同0.5 μL Liz500 SIZE STANDARD与9 μL Hi-Di混匀后95 $^{\circ}\text{C}$ 变性5 min,采用ABI3730XL测序仪开展监测,利用GENEMapper 5.0生物系统分析并将最终结果输出。

1.3 统计学方法 采用SPSS 22.0软件,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示。两独立样本 t 检验分析组间差异;采用Hardy-Weinberg平衡规律检验样本代表性;计数资料采用频数或百分比的形式表示, χ^2 检验分析组间差异。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CYP7A1基因rs4738687多态性 CYP7A1基因rs4738687位点检测出AA、GA和GG基因型,观

察组和对照组 rs4738687 位点多态性符合 Hardy-Weinberg 平衡规律。

2.2 两组 rs4738687 多态性比较 观察组和对照组 rs4738687 位点基因型和等位基因分布比较均差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 2。

2.3 观察组不同疾病病人 rs4738687 基因型及吸烟、饮酒情况比较 观察组 HBV 相关肝硬化病人 rs4738687 位点 AG+GG 基因型比例明显高于慢性 HBV 感染病人 ($P<0.05$); 慢性 HBV 感染和 HBV 相关肝硬化病人吸烟、饮酒比较均差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

表 3 观察组[乙型肝炎病毒(HBV)感染病人]不同疾病病人 rs4738687 基因型及吸烟、饮酒情况比较/例(%)

组别	例数	AG+GG	吸烟	饮酒
慢性 HBV 感染	140	49(35.00)	62(44.29)	45(32.14)
HBV 肝硬化	60	54(90.00)	24(40.00)	23(38.33)
χ^2 值		50.87	0.32	0.72
P 值		<0.001	0.575	0.397

2.4 观察组不同性别、年龄病人 rs4738687 基因型比较 观察组不同性别、年龄病人 rs4738687 位点 AG+GG 基因型比例比较均差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 4。

表 4 观察组(乙型肝炎病毒感染病人)不同性别、年龄病人 rs4738687 基因型比较/例(%)

组别	例数	AG+GG	χ^2 值	P 值
性别			0.05	0.817
男	120	61(50.83)		
女	80	42(52.50)		
年龄			2.26	0.132
<45 岁	118	66(55.93)		
≥45 岁	82	37(45.12)		

3 讨论

乙型病毒性肝炎是临床常见的肝脏传染性疾病,我国流行病学调查显示在 1~4 岁、5~14 岁、15~29 岁人群中 HBV 表面抗原流行率为 0.32%、0.94%、4.38%,每年有近百万人死亡于肝硬化、原发性肝癌等严重肝脏疾病,严重地影响了人们身心健康和生命质量^[3-4]。HBV 感染病人随着病情不断进展会逐

渐发展为肝硬化,肝细胞广泛变性、坏死,再生结节形成,结缔组织增生,导致肝脏中的血液循环障碍,肝细胞营养障碍加重,门静脉高压、肝功能损害^[5]。病理学研究发现 HBV 感染病人出现细胞外基质的异常沉积,肝星状细胞发挥了主要的调节作用,一旦病人肝脏细胞受到损伤后,肝星状细胞会大量增殖,促进了胶原合成,朝向成纤维细胞转化,大量增生的纤维组织会重新分割包绕肝细胞,让正常的肝小叶结构转变成肝硬化结节,因此慢性肝炎肝硬化均是肝细胞纤维化程度加重累积过程^[6-7]。此外内质网应激诱导炎症、凋亡和上皮细胞间质转变属于刺激因素参与到组织损伤和 HBV 感染发生发展过程中,目前临床寻找诊断 HBV 感染特异性和敏感性的非创伤性指标极为重要,已有的血清学指标在评估肝纤维化程度时可能受到肝脏炎症活动度影响^[8-9]。

HBV 感染病人病毒持续存在的原因尚不清晰,有报道指出即使同种族、性别及年龄相似的个体经同一种方式感染相同的病毒亚型,也会产生不同的后果,这提示了遗传基因因素在慢性乙型肝炎中起着重要的作用^[10-11]。本研究中重点分析了 CYP7A1 基因 rs4738687 多态性与 HBV 感染之间的关联, CYP7A1 是细胞色素 P450 酶,主要特异性存在人体肝脏微粒体,包含 6 个外显子与 5 个内含子,也是人体催化胆固醇朝向胆汁酸转化的第 1 步,属于胆汁酸合成限速酶,胆固醇可以转变为 7 α -羟胆固醇,胆固醇核还原、羟化等过程形成具有 24 碳初级胆汁酸与结合胆汁酸,可以反映人体胆汁酸合成的快慢^[12-14]。研究显示当人体出现胆汁淤积会导致胆汁酸代谢紊乱,造成肝细胞损伤与凋亡,严重的会发生坏死,而在 HBV 感染病人肝细胞中的 CYP7A1 会表达升高 12 倍,且同肝脏组织损伤严重程度呈现正相关性^[15-17]。还有学者发现宿主因素特别是宿主基因单核苷酸多态性是导致 HBV 感染与疾病进展的重要因素,单核苷酸多态性可能会影响 CYP7A1 表达引发胆汁酸生成,造成肝脏不同程度炎症反应^[18-19]。本研究分析的 rs4738687 位点主要在该基因内含子,内含子突变会导致基因发生剪接,对基因表达发挥调控作用,有报道指出该位点的突变与

表 2 观察组(乙型肝炎病毒感染病人)和对照组(健康体检者)rs4738687 多态性比较

组别	例数	基因型/例(%)			等位基因/个(%)	
		AA	AG	GG	A	G
对照组	120	55(45.83)	47(39.17)	18(15.00)	157(65.42)	83(34.58)
观察组	200	97(48.50)	83(41.50)	20(10.00)	277(69.25)	123(30.75)
χ^2 值			1.79			1.01
P 值			0.408			0.315

近端大肠癌发病关系密切^[20]。本研究观察发现肝硬化病人 AG+GG 基因型比例显著升高,提示该位点出现突变后可能会导致 HBV 感染病人疾病出现进展,而在性别与年龄分层发现,观察组不同性别、年龄病人 rs4738687 位点 AG+GG 基因型比例比较差异无统计学意义,说明 HBV 感染病人 CYP7A1 基因 rs4738687 位点基因型与等位基因在性别与年龄分层方面不具有差别,但是由于本研究纳入病人数量较少,尤其是女性病人的样本含量还不够大,可能导致各基因型分布比例偏差较大,需要扩充样本量进一步验证上述位点的意义。

本研究分析显示 CYP7A1 基因 rs4738687 位点检测出 AA、GA 和 GG 基因型,观察组和对照组 rs4738687 位点多态性符合 Hardy-Weinberg 平衡规律,而且观察组和对照组 rs4738687 位点基因型和等位基因分布比较差异无统计学意义,说明 HBV 感染病人 CYP7A1 基因 rs4738687 位点基因型与等位基因方面同健康人群差异无统计学意义。观察组 HBV 肝硬化病人 rs4738687 位点 AG+GG 基因型比例明显高于慢性 HBV 感染病人,说明肝硬化病人 CYP7A1 基因 rs4738687 位点 AG+GG 基因型比例显著升高,也提示了上述位点发生突变后可能加速病人肝脏功能恶化,使 HBV 慢性感染发展为肝硬化。本研究的优势在于提出了 CYP7A1 基因 rs4738687 多态性在 HBV 感染病人中的变化,为临床研究国人 HBV 感染不同临床结局遗传基础的认识,但是仍需开展多中心、多民族、大样本、多基因的联合分析,并进行相关功能学及感染机制的研究,为 HBV 感染的防控提供依据。

综上所述,CYP7A1 基因 rs473868 位点多态性与 HBV 感染易感性无明显关系,但可能与 HBV 肝硬化发生存在正相关关系。

参考文献

- [1] 吴文楠,曾勇彬,林锦骝,等.福建省汉族乙型肝炎病毒感染者胆固醇 7 α -羟化酶基因的多态性分析[J].中华检验医学杂志,2018,41(2):155-164.
- [2] 林烨鸿,林苏,周卿,等.白细胞介素-6 单核苷酸多态性与乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭发生与预后的相关性[J].中华肝病杂志,2019,27(4):250-255.
- [3] 中华医学会感染病学分会,中华医学会肝病学会.慢性乙型肝炎防治指南(2019 年版)[J].肝脏,2019,24(12):1335-1356.
- [4] 王利平,高有方.恩替卡韦联合胸腺 α 1 治疗慢性乙型肝炎的疗效观察[J].安徽医药,2018,22(5):944-947.
- [5] SWAYAM P, MANAS RP, SURAKSHA A, et al. Vascular endothelial growth factor gene polymorphism is associated with long-term kidney allograft outcomes[J]. Kidney International Reports, 2018, 3(2):321-327.
- [6] 刘洪锋,延学军.恩替卡韦联合肝动脉化疗栓塞治疗乙型肝炎病毒相关性不可切除肝癌患者的疗效观察[J].安徽医药,2018,22(11):2234-2236.
- [7] CAVIT C, SEDAT Y, SERKAN D, et al. Emphasis of FAS/FASL gene polymorphism in patients with non-muscle invasive bladder cancer[J]. Ir J Med Sci, 2018, 187(3):1-5.
- [8] 高素青,焦佰海,洪文旭,等.南方汉族肝癌患者 KIR/HLA 等位基因的分布特征[J].中华医学遗传学杂志,2019,36(5):439-442.
- [9] 林烨鸿,林苏,周卿,等.白细胞介素-6 单核苷酸多态性与乙型肝炎病毒相关慢加急性肝衰竭发生与预后的相关性[J].中华肝病杂志,2019,27(4):250-255.
- [10] NAJAFI S, MOHAMMADZADEH M, ZAHEDI A, et al. Association of serotonin transporter gene polymorphism with recurrent aphthous stomatitis[J]. Avicenna Journal of Medical Biotechnology, 2018, 10(1):56-60.
- [11] ATAMAN AV, HARBUZOVA VY, OBUKHOVA OA, et al. Analysis of ectonucleotide pyrophosphatase/phosphodiesterase 1 gene K121Q polymorphism association with some risk factors of atherosclerosis in patients with acute coronary syndrome[J]. Cytology & Genetics, 2018, 52(2):127-131.
- [12] MOHAGHECHI S, KHODADADI I, KARAMI M, et al. Gene polymorphism of matrix metalloproteinase 9 in asthenozoospermic male subjects[J]. International Journal of Fertility & Sterility, 2018, 11(4):247-252.
- [13] 王铁忠,王征,袁嘉阳.白细胞介素-6 基因单核苷酸多态性与乙型肝炎患者肝癌易感性及临床预后的关系[J].中国基层医药,2019,26(14):1670-1673.
- [14] 林苏,周卿,林烨鸿,等.白细胞介素-22 基因多态性与乙型肝炎病毒相关性慢加急性(亚急性)肝功能衰竭的预后分析[J].中华传染病杂志,2018,36(12):730-735.
- [15] DEKKER HTD, JADDOE VWV, REISS IK, et al. Maternal folic acid use during pregnancy, methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism, and child's lung function and asthma[J]. Clinical & Experimental Allergy, 2018, 48(2):175-185.
- [16] 吴文楠,曾勇彬,林锦骝,等.福建省汉族乙型肝炎病毒感染者胆固醇 7 α -羟化酶基因的多态性分析[J].中华检验医学杂志,2018,41(2):155-164.
- [17] YANAL A, SHAFAGOJ, RANDA G, et al. APOE Gene polymorphism among Jordanian Alzheimer's patients with relation to lipid profile[J]. Neurosciences, 2018, 23(1):29-34.
- [18] LIUTKEVICIENE R, VILKEVICIUTE A, BORISOVAITE D, et al. Association of exudative age-related macular degeneration with matrix metalloproteinases-2 (1306 C/T) rs243865 gene polymorphism[J]. Indian Journal of Ophthalmology, 2018, 66(4):551-557.
- [19] 胡平,冯国昌,张华强.胆固醇 24 S-羟化酶基因 rs754203 多态性与阿尔茨海默病发病风险的 Meta 分析[J].中国老年学杂志,2019,39(9):2175-2179.
- [20] 王立芹,郭维恒,郭志旺,等. PNPLA3、TM6SF2 基因多态性及其与吸烟、饮酒交互作用对 HBV 相关肝癌的影响[J].中华流行病学杂志,2018,39(12):1611-1616.

(收稿日期:2020-05-11,修回日期:2020-06-18)