

PNPLA3 基因多态性与非酒精性 脂肪性肝病关系的初步探讨*

宋 燕,邵冬华,何美琳,梁国威 (航天中心医院,北京 100049)

摘要:目的 分析 PNPLA3 基因多态性与非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的关系,探讨 PNPLA3 rs738409G 突变基因携带者 NAFLD 发生的危险因素,为预防 NAFLD 的发生提供理论依据。方法 收集航天中心医院 2012 年~2013 年体检者共 617 例,包括 324 例健康者和 293 例 NAFLD 患者。采用实时荧光定量 PCR 法检测所有研究对象的 rs738409 分型,并采用 Oneway ANOVA 比较不同基因型组之间年龄,性别,BMI,TG,CHOL,hs-CRP,ALT,AST,FPG,HbA1c,CEA,AFP 和 CA19-9 差异有无统计学意义。采用单因素方差分析比较健康组和 NAFLD 组之间部分生化检测指标和肿瘤标志物的表达水平差异有无统计学意义。Logistic 回归分析用于评估 rs738409G 携带者 NAFLD 发生的危险因素。结果 ALT (U/L) 在 CC,CG 和 GG 基因型中的血清水平分别是 17.8(12.9,25.3),20.00(14.40,27.65)和 20.2(14.85,38.8),表达水平逐渐增高,差异均具有统计学意义(P 值均 <0.05)。AST(U/L)在 CC,CG 和 GG 基因型中的血清水平分别是 20.3(17.6,24.5),20.70(17.95,25.20)和 22.3(18.60,29.65),仅在 CC 组和 GG 组($P=0.000$)、CG 和 GG 组($P=0.004$)之间的差异具有统计学意义(P 值均 <0.05)。年龄,性别,BMI,TG,CHOL,hs-CRP,FPG,HbA1c,CEA,AFP 和 CA19-9 在不同基因型的表达差异无统计学意义(P 值均 >0.05)。BMI(Kg/m²),ALT (U/L),AST(U/L),TG(mmol/L),hs-CRP(mg/ml),FPG(mmol/L)和 HbA1c(%) 在 NAFLD 患者组与健康对照组中的表达水平分别是 $[22.97\pm 2.58$ vs $26.74\pm 2.35]$, $[15.65(11.97,21.3)$ vs $24(17.55,35.4)]$, $[19.8(17.3,23.5)$ vs $22(18.9,,27.35)]$, $[0.99(0.75,1.40)$ vs $1.77(1.23,2.54)]$, $[0.89(0.64,1.41)$ vs $1.43(0.96,2.51)]$, $[4.88(4.61,5.21)$ vs $5.14(4.82,5.62)]$ 和 $[5.50(5.3,5.7)$ vs $5.70(5.45,6.00)]$,差异均具有统计学意义(P 值均 <0.05)。Logistic 回归分析结论显示,BMI,TG,ALT 和 HbA1c 是 rs738409G 突变基因携带者 NAFLD 的危险因素,回归系数分别是 0.707,2.968,2.765 和 21.301。结论 对于 rs738409G 突变基因健康携带者应该定期监测 BMI,TG,ALT 和 HbA1c,预防 NAFLD 的发生。

关键词:PNPLA3;多态性;非酒精性脂肪性肝病;Logistic 回归

中图分类号:R575;Q786 文献标志码:A 文章编号:1671-7414(2016)04-005-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.04.002

Preliminary Discussion of the Relationship between PNPLA3 Polymorphism and NAFLD

SONG Yan, SHAO Dong-hua, HE Mei-lin, LIANG Guo-wei
(Aerospace Center Hospital, Beijing 100049, China)

Abstract: Objective To analyze the relationship between PNPLA3 polymorphism and NAFLD, detect the risk factors of NAFLD for healthy subjects with G allele at rs738409, and provide the theory basis for prevention of NAFLD. **Methods** 617 health examination subjects from 2012~2013 in Aerospace Center Hospital were enrolled in this study and divided into 2 groups, 324 healthy ones and 293 NAFLD patients. Real-time fluorescence quantitative PCR (RT-PCR) was used to detect genotype, while age, BMI, TG, CHOL, hs-CRP, ALT, AST, FPG, HbA1c, CEA, AFP and CA19-9 were analyzed among different genotype groups. One way ANOVA was applied to analyze BMI, TG, CHOL, hs-CRP, ALT, AST, FPG, HbA1c, CEA, AFP and CA19-9 between healthy subjects and NAFLD patients. Logistic regression was used to find out the NAFLD risk factors in healthy person with G allele at rs738409. **Results** Serum ALT (U/L) levels in CC/CG/GG genotype groups were 17.8(12.9, 25.3), 20.00(14.40, 27.65) and 20.2(14.85, 38.8), respectively, $P<0.05$. AST (U/L) levels in CC/CG/GG genotype groups were 20.3(17.6, 24.5), 20.70(17.95, 25.20) and 22.3(18.60, 29.65), but only difference in CC/GG and CG/GG was significant, and P value were 0.000 and 0.004 respectively. Differences of age, BMI, TG, CHOL, hs-CRP, FPG, HbA1c, CEA, AFP and CA19-9 among CC/CG/GG genotype groups were not significant, and all P values >0.05 . BMI (Kg/m²), ALT (U/L), AST (U/L), TG (mmol/L), hs-CRP (mg/ml), FPG (mmol/L) and HbA1c (%) levels between healthy subjects and NAFLD patients were $[22.97\pm 2.58$ vs $26.74\pm 2.35]$, $[15.65(11.97, 21.3)$ vs $24(17.55, 35.4)]$, $[19.8(17.3, 23.5)$ vs $22(18.9, 27.35)]$, $[0.99(0.75, 1.40)$ vs $1.77(1.23, 2.54)]$, $[0.89(0.64, 1.41)$ vs $1.43(0.96, 2.51)]$, $[4.88(4.61, 5.21)$ vs $5.14(4.82, 5.62)]$, $[5.50(5.3, 5.7)$ vs $5.70(5.45, 6.00)]$, respectively, $P<0.05$, and the difference was statistically significant. BMI, ALT, TG and HbA1c were risk factors of NAFLD for healthy person

* 作者简介:宋 燕(1983—),女,硕士,主管技师,研究方向:肿瘤标志物和肿瘤免疫,Tel:010-59971406,E-mail:songyan07@126.com。
通讯作者:梁国威,男,主任医师,E-mail:lgw721@163.com。

with G allele at rs738409 by logistic regression, and the regression coefficients were 0.707, 2.968, 2.765 and 21.301. **Conclusion** It is necessary for healthy person with G allele at rs738409 to monitor BMI, ALT, TG and HbA1c, which will reduce the incidence of NAFLD in the future.

Keywords: PNPLA3; polymorphism; NAFLD; logistic regression

PNPLA3 (patatin-like phospholipase domain containing 3, PNPLA3) 基因定位于染色体的 22q13.31, 编码一个 481 个氨基酸组成的非分泌性蛋白, 该蛋白在肝脏具有三酰甘油水解酶和酰基转移酶的活性。PNPLA3 基因 rs738409 (CG) 多态性导致了 PNPLA3 蛋白第 148 位点上的氨基酸由异亮氨酸转变为蛋氨酸, 从而限制了水解酶的活性, 引起肝脏脂肪增加。国外文献报道显示, PNPLA3 基因 rs738409 的单核苷酸多态性与不明原因的转氨酶升高有一定的相关性^[1], 并且可诱发非酒精性脂肪性肝病 (nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD), 是 NAFLD 的危险因素^[2~4]。但国内关于 rs738409 多态性与 NAFLD 的关系研究文献报道较少。本实验基于此分析了 PNPLA3 rs738409 基因多态性与 NAFLD 的关系, 并进一步探讨了 rs738409G 突变基因健康携带者发生 NAFLD 的危险因素, 为健康携带者预防 NAFLD 的发生提供了一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集航天中心医院 2012~2013 年体检者共 617 例, 所有研究对象均无饮酒史, 并排除并发其他病毒性肝炎及脂肪肝、酒精性肝病、药物性肝病、自身免疫性肝病等患者。包括 324 例健康者和 293 例 NAFLD 患者, 所有 NAFLD 患者均经 B 超检查诊断。324 例健康者平均年龄 46.94 ± 8.41 岁, 范围 25~64 岁, 其中男性 179 例, 女性 145 例。293 例 NAFLD 患者平均年龄 49.81 ± 7.46 岁, 范围 29~64 岁, 其中男性 229 例, 女性 94 例。所有研究对象空腹抽取静脉血 8~10 ml, 其中一管 EDTA-K₂ 抗凝血用于全血基因组检测, 另一管抽血后 3 000 r/min, 离心 6 min, 留取血清用于生化项目和肿瘤标志物检测, 全血标本 -80℃ 保存待用, 血清标本 -20℃ 保存待用。

1.2 试剂与仪器 全血基因组 DNA 提取采用的 TIANGEN 血液基因组 DNA 提取试剂盒由天根生化科技 (北京) 有限公司提供, rs738409 分型测定所用仪器为 ABI7500 荧光定量 PCR 仪 (ABI 公司, 美国)。生化项目中谷氨酸氨基转移酶 (ALT), 天冬氨酸氨基转移酶 (AST), 三酰甘油 (TG), 胆固醇 (CHOL), 超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 和空腹血糖 (FPG) 在生化 AU5811 (贝克曼库尔特有限公司, 美国) 上检测, 其中 ALT 和 AST 所用试剂由仪器厂家提供, TG 和 CHOL 试剂由

北京普瑞亚科技有限公司提供, hs-CRP 试剂由日本积水医疗株式会社提供, FPG 试剂由北京利德曼生化股份有限公司提供。糖化血红蛋白 (HbA1c) 在 HLC-723G8 糖化血红蛋白分析仪 (东曹株式会社, 日本) 上检测, 试剂由原厂家提供。肿瘤标志物癌胚抗原 (CEA)、甲胎蛋白 (AFP) 和糖蛋白 19-9 (CA19-9) 在雅培 ARCHITECT 全自动化学发光免疫分析仪 (雅培公司, 美国) 检测, 所用试剂由原厂家配套提供。

1.3 rs738409 分型检测方法 采用实时荧光定量 PCR 的方法检测 rs738409 分型, 其中引物探针采用 ABI 公司的 TaqExpress 软件 (Foster City, CA) 进行设计, 由北京赛百盛基因技术有限公司合成, 其中 C 等位基因特异引物序列为 5'-CCT TGG TAT GTT CCT GCT TCA AC-3', G 等位基因特异引物序列为 5'-CCT TGG TAT GTT CCT GCT TCA AG-3', 下游公用引物序列为 5'-CCG ACT TAC CAC GCC TCT GA-3', TaqMan 探针序列为 5'-FAM-TTC TAC AGT GGC CTT ATC CCT CCT TCC-BHQ-1-3'。PCR 反应体系 20 μ l, 包括基因组 DNA 2 μ l, 2 \times Mastermix 8 μ l 和 Enhance inhibit 1 μ l [天根生化科技 (北京) 有限公司], 上下游引物各 1 μ l (终浓度 0.25 μ mol/L), TaqMan 探针 1 μ l (0.25 μ mol/L), 水 6 μ l。具体反应条件为 95℃ 2 min, 95℃ 15 s 和 60℃ 1 min (40 个循环)。

1.4 统计学分析 采用 SPSS13.0 软件进行统计分析, 其中计量资料中正态分布数据采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 非正态分布数据以四分位数间距表示, 并转换为自然对数后进行比较。组间比较采用单因素方差分析, Logistic 回归分析用于评估 NAFLD 发生的危险因素。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 617 例研究对象不同 rs738409 基因分型间部分临床病例资料的比较 见表 1。实时荧光定量 PCR 技术检测 617 例研究对象 rs738409 分型, 同时收集研究对象基本临床资料, 并进行比较。Oneway ANOVA 结果显示, 三种等位基因型间的年龄, 性别, BMI (体重指数, BMI = 体重 (Kg) / 身高 (m) 的平方), TG, CHOL, hs-CRP, FPG, HbA1c, CEA, AFP 和 CA19-9 差异无统计学意义 (P 值均 > 0.05), ALT 和 AST 在三种基因型间的

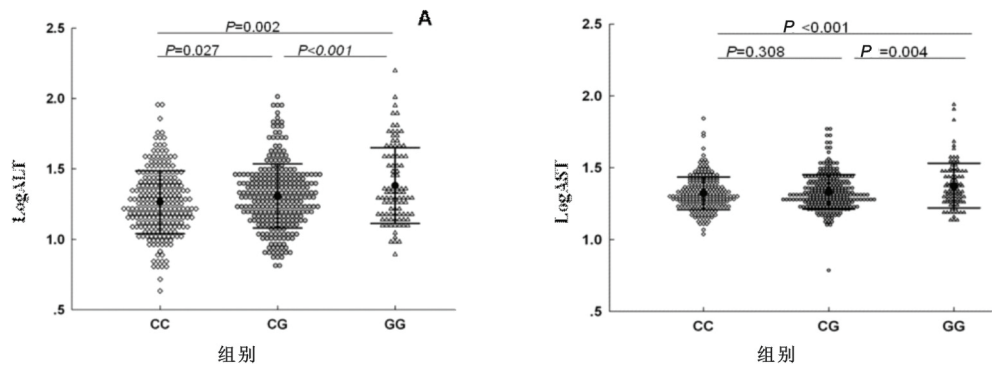
差异有统计学意义(P 值均 <0.05),其中 ALT 在 CC,CG 和 GG 三种基因型研究对象中的表达水平逐渐增高,且差异均具有统计学意义(P 值均 <0.05),见图 1A。AST 在 CC,CG 和 GG 三组研究

对象中的表达水平也是逐渐增高,但是只是在 CC 和 GG 组、CG 和 GG 组之间的差异具有统计学意义($P<0.05$),AST 在 CC 和 CG 组之间的表达差异无统计学意义($P>0.05$),见图 1B。

表 1 PNPLA3rs738409 不同基因型基本资料比较

基本资料	CC($n=243$)	CG($n=278$)	GG($n=96$)	F 值	P 值
性别(男/女)	156/87	186/92	63/33	0.353	0.703
年龄(岁)	48.33 \pm 8.01	48.5 \pm 8.3	49.89 \pm 7.28	2.457	0.087
BMI(Kg/m ²)	24.57 \pm 3.39	24.9 \pm 2.88	25.0 \pm 3.02	0.561	0.571
TG(mmol/L)	1.24(0.83,1.90)	1.29(0.91,1.90)	1.5(0.88,2.08)	0.518	0.596
CHOL(mmol/L)	4.91(4.35,5.38)	4.80(4.31,5.39)	4.95(4.41,5.55)	0.690	0.502
HSCRP(mg/ml)	1.21(0.82,1.87)	1.08(0.72,1.86)	1.12(0.77,1.60)	1.134	0.322
ALT(U/L)	17.8(12.9,25.3)	20.00(14.40,27.65)	20.2(14.85,38.8)	8.980	0.000*
AST(U/L)	20.3(17.6,24.5)	20.70(17.95,25.20)	22.3(18.60,29.65)	6.491	0.002*
FPG(mmol/L)	4.98(4.67,5.37)	4.99(4.69,5.35)	4.98(4.67,5.49)	1.235	0.291
HbA1c(%)	5.60(5.30,5.90)	5.60(5.30,5.80)	5.60(5.40,5.90)	1.921	0.147
CEA(ng/ml)	1.74(1.22,2.52)	1.75(1.15,2.59)	1.77(1.24,2.38)	0.172	0.842
AFP(ng/ml)	3.36(2.54,4.58)	3.43(2.55,4.46)	3.23(2.49,4.53)	0.154	0.857
CA19-9(U/ml)	7.55(3.34,11.56)	6.72(3.97,12.09)	5.79(3.58,9.35)	1.890	0.152

注:非正态分布数据以中位数(25%,75%)表示,并转换为自然对数后进行比较;*差异具有统计学意义。



注:图中数据为转化后的自然对数值,图 A 和 B 分别表示 ALT 和 AST 在不同基因型样本中的表达情况。

图 1 ALT 和 AST 在不同基因型研究对象中表达情况的比较

2.2 比较健康者和非酒精性脂肪肝患者血清中部分检测指标的表达差异 见表 2。617 例研究对象根据 B 超检测结果分为 324 例健康者和 293 例 NAFLD 患者,采用单因素方差分析比较了两组研究对象中 BMI,ALT,AST,TG,CHOL,hs-CRP,FPG,CEA,AFP 和 CA19-9 的表达水平,结果显示

NAFLD 患者的 BMI 值明显高于健康组,且差异具有统计学意义($P<0.05$)。ALT,AST,TG,HSCRP,FPG 和 HbA1c 在两组间的表达水平差异也有统计学意义(P 值均 <0.05)。CHOL,CEA,AFP 和 CA19-9 在两组间的表达差异无统计学意义(P 值均 >0.05)。

表 2 健康者和 NAFLD 患者部分检测指标的差异比较

检测项目	健康者	NAFLD	t 值	P 值
BMI(Kg/m ²)	22.97 \pm 2.58	26.74 \pm 2.35	-14.78	0.000
ALT(U/L)	15.65(11.97,21.3)	24(17.55,35.4)	-11.24	0.000
AST(U/L)	19.8(17.3,23.5)	22(18.9,27.35)	-5.22	0.000
TG(mmol/L)	0.99(0.75,1.40)	1.77(1.23,2.54)	-13.28	0.000
CHOL(mmol/L)	4.79(4.23,5.43)	4.91(4.46,5.39)	-1.19	0.236
hsCRP(mg/ml)	0.89(0.64,1.41)	1.43(0.96,2.51)	-8.81	0.000
FPG(mmol/L)	4.88(4.61,5.21)	5.14(4.82,5.62)	-6.87	0.000
HbA1c(%)	5.50(5.3,5.7)	5.70(5.45,6.00)	-6.96	0.000
CEA(ng/ml)	1.7(1.14,2.45)	1.81(1.26,2.53)	-1.59	0.113
AFP(ng/ml)	3.36(2.43,4.67)	3.40(2.64,4.33)	-0.004	0.997
CA19-9(U/ml)	6.59(3.34,11.83)	6.77(3.92,10.56)	-0.16	0.873

2.3 Logistic 回归分析 G 突变基因健康携带者 NAFLD 发生的危险因素 根据是否携带有

rs738409G 突变基因进一步将 324 例健康者分为 137 例野生型和 187 例突变基因携带者,将 293 例 NAFLD 患者分为 105 例野生型和 188 例突变基因携带者。为了探讨 rs738409G 突变基因携带者 NAFLD 发生的危险因素,我们采用 Logistic 回归进行分析评估。将单因素分析中具有统计学意义的 BMI,ALT,AST,TG,hs-CRP,FPG 和 HbA1c 7 个指标作为自变量,以是否发生 NAFLD 为因变量,进行多因素 Logistic 回归分析。结果显示,BMI,TG,ALT 和 HbA1c 是 rs738409G 突变基因携带者 NAFLD 的危险因素($P<0.05$),见表 3。

表 3 rs738409G 突变基因健康携带者
NAFLD 危险因素的 Logistic 回归分析

危险因素	回归系数	P 值
BMI	0.707	0.000
ALT	2.968	0.002
TG	2.765	0.006
HbA1c	21.381	0.004

3 讨论 NAFLD 是指除外酒精和其他明确的损肝因素所致的,以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的临床征状,包括单纯性脂肪肝以及由其演变来的脂肪性肝炎(NASH)和肝硬化^[5]。NAFLD 在西方国家已经成了肝病的最主要病因,普通人群中的发病率大约在 20%~35%^[6],文献报道在亚洲 NAFLD 的发病率在 10%~30%,其中在中国普通人群中发病率大约在 5%~24%^[7]。NAFLD 发生的具体机制目前还不是很明确,多数文献报道认为肥胖和 2 型糖尿病是 NAFLD 发生发展的主要危险因素^[8],赵枰等^[9]的研究结论显示,对于青少年 NAFLD 患者,肥胖、胰岛素抵抗和脂联素是其发生的主要危险因素。在 NAFLD 发病机制的各个环节,基因多肽性均起了重要的作用,尤其是 PNPLA3 的基因多态性与 NAFLD 的相关性,已成为了研究的热点^[10,11]。

关于 NAFLD 的发生机制,以前比较认可的是“二次打击学说”,目前有人提出“三次打击学说”。三酰甘油在肝细胞内聚集作为第一次打击,在这个过程中胰岛素抵抗起了一定的作用。启动第二次打击的因素包括氧化应激、线粒体功能障碍、凋亡及肠源性细菌引起的内毒素血症。第三重打击是个体基因多态性和肝细胞再生功能的异常,包括 PNPLA3 基因的多态性^[12]。

文献报道 PNPLA3 具有三酰甘油水解酶和酰基转移酶的活性,rs738409(CG)多态性使得肝脏脂肪增加,通过一系列机制引发肝脏损伤并导致部分肝酶表达水平的增加,其中研究较多的酶是 ALT 和 AST^[1,13]。我们的实验结果也显示,与野

生型(CC)相比,ALT 在杂合子(CG)和突变型(GG)中的表达含量明显增加,且在各组间的差异有统计学意义(P 值均 <0.05)。AST 在 CC,CG 和 GG 三组研究对象中的表达水平逐渐增高,但是只在 CC 和 GG 组,CG 和 GG 组之间的差异具有统计学意义($P<0.05$),AST 在 CC 和 CG 组之间的表达差异无统计学意义($P>0.05$)。

肥胖和 2 型糖尿病被认为是 NAFLD 发生发展的主要危险因素,我们的研究结论显示,NAFLD 患者组 BMI 明显高于健康对照组,FPG 和 HbA1c 水平在两组间的表达差异也具有统计学意义(P 值均 <0.05)。PNPLA3 rs738409(CG)多态性使得编码蛋白功能发生改变,导致三酰甘油代谢异常,在肝脏异常聚集,导致肝脏功能异常,我们的研究也表明 TG 以及反映肝脏功能的 ALT 和 AST 水平在 NAFLD 组明显高于健康组(P 值 <0.05)。Ahmed 等^[12]的文章指出,绝大部分的 NAFLD 患者最终会死于心血管疾病,而 hs-CRP 在临床上可作为心血管疾病的独立预测因子,在我们的研究中,hs-CRP 在 NAFLD 患者组的水平也明显高于健康组(P 值 <0.05)。

上文提及,基因多态性,主要是 PNPLA3 rs738409(CG)多态性,在 NAFLD 的发生中起了重要作用,为了评估 rs738409G 携带者 NAFLD 发生的危险因素,我们将研究对象锁定为携带有 rs738409G 突变基因的 187 例健康者和 188 例 NAFLD 患者,将单因素分析中具有统计学意义的 BMI,ALT,AST,TG,hs-CRP,FPG 和 HbA1c 7 个指标作为自变量,以是否发生 NAFLD 作为因变量,进行多因素 Logistic 回归分析,结果显示 BMI,TG,ALT 和 HbA1c 是 rs738409G 突变基因携带者 NAFLD 的危险因素($P<0.05$)。这个结论与赵枰等^[9]的研究结论有所出入,分析主要原因是选定的研究人群不一样,赵枰等^[9]选用的研究人群是青少年 NAFLD 患者,而本研究关于 NAFLD 危险因素分析纳入的研究对象是 PNPLA3 rs738409G 突变基因携带者。

综上所述,PNPLA3 rs738409(CG)多态性可引起三酰甘油代谢异常,导致肝功损伤,并有可能发展为 NAFLD,尤其是在肥胖或者有 2 型糖尿病病史的人群中。对于 rs738409G 突变基因的健康携带者应该定期监测 BMI,TG,ALT 和 HbA1c,预防 NAFLD 的发生。

参考文献:

- [1] Li Q, Qu HQ, Rentfro AR, et al. PNPLA3 polymorphisms and liver aminotransferase levels in a mexican american population[J]. Clin Invest Med, 2012, 35

- (4):E237-245.
- [2] Pan Q, Zhang RN, Wang YQ, et al. Linked PNPLA3 polymorphisms confer susceptibility to nonalcoholic steatohepatitis and decreased viral load in chronic hepatitis B[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2015, 21(28):8605-8614.
 - [3] He S, McPhaul CJ, Li JZ, et al. A sequence variation (I148M) in PNPLA3 associated with nonalcoholic fatty liver disease disrupts triglyceride hydrolysis[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(9):6706-6715.
 - [4] Zhang Y, Cai W, Song J, et al. Association between the PNPLA3 I148M polymorphism and non-alcoholic fatty liver disease in the Uygur and Han ethnic groups of northwestern China[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10):e108381.
 - [5] Ratzliff V, Bellentani S, Cortez-Pinto H, et al. A position statement on NAFLD/NASH based on the EASL 2009 special conference[J]. *J Hepatol*, 2010, 53(2):372-384.
 - [6] Bhala N, Jouness RI, Bugianesi E. Epidemiology and natural history of patients with NAFLD[J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(29):5169-5176.
 - [7] Agrawal A, Duseja AK. Non-alcoholic fatty liver disease: east versus west[J]. *J Clin Exp Hepatol*, 2012, 2(2):122-134.
 - [8] Xu R, Tao A, Zhang S, et al. Association between patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) polymorphisms and nonalcoholic fatty liver disease: A HuGE review and meta-analysis[J]. *Scientific Reports*, 2015(5):9284.
 - [9] 赵 枰, 胡晓蓉, 洪 宏, 等. 青少年非酒精性脂肪肝与血清脂联素水平及胰岛素抵抗的关系[J]. *现代检验医学杂志*, 2009, 24(4):139-141.
 - Zhao P, Hu XR, Hong H, et al. Relationship between serum adiponectin levels and insulin resistance in adolescents with nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2009, 24(4):139-141.
 - [10] Duwaerts CC, Maher JJ. Mechanisms of liver injury in non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Curr Hepatol Rep*, 2014, 13(2):119-129.
 - [11] Macaluso FS, Maida M, Petta S. Genetic background in nonalcoholic fatty liver disease: a comprehensive review[J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2015, 21(39):11088-11111.
 - [12] Ahmed M. Non-alcoholic fatty liver disease in 2015[J]. *World Journal of Hepatology*, 2015, 7(11):1450-1459.
 - [13] Qu HQ, Li Q, Grove ML, et al. Population-based risk factors for elevated alanine aminotransferase in a south Texas Mexican-American population[J]. *Arch Med Res*, 2012, 43(6):482-488.

收稿日期:2015-11-20

修回日期:2016-06-12

(上接4页)

增强型 Trop2-CD40L VLPs。实验结果显示,这种重组 VLPs 电镜结构完整,并能够表达 Trop2 靶抗原;通过 Cytokine ELISA 检测所制备 VLPs 刺激 BMDCs 分泌细胞因子 IL-2 的水平,反映了 Trop2-CD40L VLPs 良好的体外生物活性,并且相比 Trop2 VLPs 产生了更高水平的 IL-2,说明 CD40L 作为免疫佐剂发挥了免疫增强作用,使 Trop2-CD40L VLPs 具有更强刺激机体产生免疫应答的能力,为后续研究此种增强型 VLPs 的免疫原性及对肺癌荷瘤小鼠的抑瘤作用提供了良好的实验基础,也为肿瘤疫苗设计方案提供了参考依据。

参考文献:

- [1] Ungaro F, Conte C, Quaglia F, et al. VLPs and particle strategies for cancer vaccines[J]. *Expert Rev Vaccines*, 2013, 12(10):1173-1193.
- [2] Kapoor S. TROP2 expression and its evolving role in tumor pathogenesis in systemic tumors[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(3):1967-1968.
- [3] Cubas R, Zhang S, Li M, et al. Chimeric Trop2 virus-like particles: a potential immunotherapeutic approach against pancreatic cancer[J]. *J Immunother*, 2011, 34(3):251-263.
- [4] Figgett WA, Vincent FB, Saulep-Easton D, et al. Roles of ligands from the TNF superfamily in B cell development, function, and regulation[J]. *Semin Immunol*, 2014, 26(3):191-202.
- [5] Chonan M, Saito R, Shoji T, et al. CD40/CD40L expression correlates with the survival of patients with glioblastomas and an augmentation in CD40 signaling enhances the efficacy of vaccinations against glioma models[J]. *Neuro Oncol*, 2015, 17(11):1453-1462.
- [6] Vogel SZ, Schlickeiser S, Jurchott K, et al. TCAIM decreases T cell priming capacity of dendritic cells by inhibiting TLR-induced Ca²⁺ influx and IL-2 production[J]. *J Immunol*, 2015, 194(7):3136-3146.
- [7] Ning S, Liang N, Liu B, et al. TROP2 expression and its correlation with tumor proliferation and angiogenesis in human gliomas[J]. *Neurol Sci*, 2013, 34(10):1745-1750.
- [8] Yan D, Wei YQ, Guo HC, et al. The application of virus-like particles as vaccines and biological vehicles[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(24):10415-10432.
- [9] Chroboczek J, Szurgot I, Szolajska E. Virus-like particles as vaccine[J]. *Acta Biochim Pol*, 2014, 61(3):531-539.
- [10] Crosby CM, Weaver EA, Khare R, et al. A Novel codon-optimized SIV gag-pol immunogen for gene-based vaccination[J]. *Viral Rep*, 2015(5):47-55.
- [11] Hernandez BY, Ton T, Shvetsov YB, et al. Human papillomavirus (HPV) L1 and L1-L2 virus-like particle-based multiplex assays for measurement of HPV virion antibodies[J]. *Clin Vaccine Immunol*, 2012, 19(9):1348-1352.

收稿日期:2016-06-12

修回日期:2016-07-02