

## ● 甲状腺疾病与基因表达 ●

## SCGB3A2 基因启动子区单核苷酸多态性功能与 Graves 病易感性研究

梁军 王玉 赵双霞 施静艺 彭永德 高冠起 潘春明 袁国跃 韩兵 苏青 高聆  
陈名道 赵家军 宋怀东

**【摘要】 目的** 探讨 SCGB3A2 基因 (secretoglobin family 3A member 2, SCGB3A2) 启动子区单核苷酸多态性 (single-nucleotide polymorphisms, SNPs) 功能与 Graves 病 (GD) 易感性。**方法** 应用荧光素酶检测、实时定量逆转录-聚合酶链反应、等位基因特异性定量转录等方法,对 SCGB3A2 基因启动子区 (SNPs in promoter, pSNPs; SNP76、SNP75 以及 SNP74) 进行体内外功能分析。**结果** SCGB3A2 基因启动子-荧光素酶报告质粒 pGL3-(SNP76+SNP75)、pGL3-(SNP76+SNP74) 以及 pGL3-(SNP76+SNP75+SNP74) 的荧光素酶活性均减弱。T 等位基因能够竞争结合 AG 等位基因,比非易感等位基因 AG 有更强的结合转录因子能力。携带有 SNP76+SNP75 和 SNP76+SNP74 者 SCGB3A2 基因的表达低于不携带该变异者。体内外功能分析显示,SNP76+SNP75 和 SNP76+SNP74 单倍型可使 SCGB3A2 基因表达下调。**结论** SCGB3A2 基因 pSNPs (SNP76、SNP75 以及 SNP74) 的功能与 GD 易感性相关。

**【关键词】** 格雷夫斯病; SCGB3A2 基因; 多态性, 单核苷酸

### Functional single-nucleotide polymorphisms in the SCGB3A2 promoter are associated with susceptibility to Graves' disease

LIANG Jun\*, WANG Yu, ZHAO Shuang-xia, SHI Jing-yi, PENG Yong-de, GAO Guan-qi, PAN Chun-ming, YUAN Guo-yue, HAN Bing, SU Qing, GAO Ling, CHEN Ming-dao, ZHAO Jia-jun, SONG Huai-dong. \*Department of Endocrinology, the Central Hospital of Xuzhou, Xuzhou Clinical School of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221009, China

Corresponding author: SONG Huai-dong, Email: huaidong\_s1966@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the association of functional single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the SCGB3A2 promoter with susceptibility to Graves' disease (GD). **Methods** Functional analysis was carried out in vivo and in vitro in the pSNPs (SNP76, SNP75, and SNP74) by means of luciferase assays, real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction, and allele-specific transcript quantification. **Results** The luciferase activities of pGL3-(SNP76 + SNP75), pGL3-(SNP76 + SNP74), and pGL3-(SNP76 + SNP75 + SNP74) were decreased. T allele was able to compete for binding AG allele and the susceptible allele and showed higher binding affinity with the transcription factor than the non-susceptible allele AG. The expression of the SCGB3A2 gene with SNP76+SNP75 and SNP76 + SNP74 alleles was significantly lower than that in samples with wild-type alleles. Functional analysis in vivo and in vitro suggested that SCGB3A2 were lower in individuals with the haplotype of the SNP76 + SNP74 and SNP76+SNP75. **Conclusion** A significant association of GD with the functional SNPs in the SCGB3A2 gene has been identified.

**【Key words】** Graves' disease; SCGB3A2 gene; Polymorphism, single nucleotide

(Chin J Endocrinol Metab, 2013, 29; 102-107)

Graves 病 (GD) 是人类最常见的自身免疫性疾病

之一。据最新数据估计,在美国的患病率为 1.3%<sup>[1]</sup>。中国人群有 0.25% ~ 1.09% 的人患病<sup>[2]</sup>。GD 发病的一个重要特征就是抗促甲状腺素受体 (TSHR) 抗体的产生,这种抗体导致了甲状腺功能亢进症 (甲亢)。GD 发病病因复杂,常常发生于具有遗传易感性的个体中,与之相关的发病因素包括易感基因<sup>[3]</sup> 以及感染等非遗传因素<sup>[4]</sup>。诸多关于遗传学研究已发现许多 GD 致病基因,如:人类白细胞抗原<sup>[3]</sup>,细胞毒性 T 细胞抗原 4<sup>[5,6]</sup>,CD40 基因<sup>[7]</sup>,蛋白酪氨酸磷酸酶非受体型 22<sup>[8]</sup>,TSHR<sup>[9]</sup> 和 SAS-ZFAT<sup>[10]</sup> 等。本研究对 D5s2090

DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2013.02.003

基金项目:国家高科技项目 (863);国家自然科学基金 (30530370、30971595、30470816、30771017)

作者单位:221009 江苏省徐州市中心医院,徐州医学院,徐州临床学院内分泌科 (梁军、王玉);上海交通大学附属瑞金医院医学分子中心、医学基因组学国家重点实验室、上海市内分泌代谢病研究所 (赵双霞、施静艺、潘春明、韩兵、陈名道、宋怀东);上海交通大学附属第一人民医院内分泌科 (彭永德);山东省临沂人民医院内分泌科 (高冠起);江苏大学附属医院内分泌科 (袁国跃);上海交通大学医学院附属新华医院内分泌科 (苏青);山东大学附属省立医院内分泌科 (高聆、赵家军)

通信作者:宋怀东,Email:huaidong\_s1966@163.com

这个微卫星标记周围 3.0 Mb 以内区域的 179 个 SNPs 筛查,发现 SNP rs1368408 与 GD 相关性最大 ( $P = 3.69 \times 10^{-5}$ ),通过对 rs1368408 附近的 SNPs 进一步分析提示 SCGB3A2 基因启动子区的 SNP76 和 SNP75 存在最大程度相关性,特别是他们以 SNP76 和 SNP75 或者 SNP76 和 SNP74 单倍型存在时。本研究拟对 SCGB3A2 基因启动子区 SNPs 的功能与 GD 相关性进行研究。

## 对象和方法

### 一、对象

GD 的诊断依据是甲亢和弥漫性甲状腺肿的临床表现和生化指标,以及符合下面各项中的至少一项:促甲状腺素 (thyroid-stimulating hormone, TSH) 受体抗体试验阳性,<sup>131</sup>I 摄取率增高,或存在突眼症状。山东组:541 例 GD 患者和 478 名无甲状腺疾病的对照人群。上海组:545 例患者和 603 名对照人群。不同地区组:中国不同地区如江苏,安徽,河南等的 1 725 例患者和 1 726 名对照人群。均为中国汉族人群,并知情同意。

### 二、方法

1. 细胞培养,转染以及荧光素酶检测:构建 SCGB3A2 基因启动子区域包含多种 SNPs 的启动子-荧光素酶报告质粒:pGL3-N、pGL3-SNP76、pGL3-SNP75、pGL3-SNP74、pGL3-(SNP76 + SNP75)、pGL3-(SNP76+SNP74)和 pGL3-(SNP76+SNP75+SNP74)(图 1A 和 B)。构建 pcDNA3.1-TTF1 表达质粒。各编码序列都由人类肺腺癌细胞 (SPC-A1) 的总 RNAs 是通过反转录 PCR (reverse transcription-PCR, RT-PCR) 技术来扩增的。PCR 扩增是用正向引物 5'-ATCCTCGA-GATGTCCGATGACTCCAAAGC-3' 和反向引物 5'-ATAG-GATCCACCAGGTCCGACCGTATAGC-3',将扩增片段克隆入 pcDNA3.1/Myc-His(+)-C 载体的 XhoI-BamH I 区域。在 10% 胎牛血清 (fetal calf serum, FCS) 的 DMEM 培养基中,培养 HeLa 细胞和 SPC-A1 细胞 36 h。实验前 16 h,在 12 孔培养板每孔置  $5 \times 10^4$  个细胞,用 300 ng SCGB3A2 荧光素酶和 30 ng pcDNA3.1-TTF1 或 pcDNA3.1 载体,加上 0.3 ng pRL-SV40 以大约 50% ~ 70% 融合率进行转染作标准对照。用双荧光素酶报告检测系统评定荧光素酶活性。每个 SCGB3A2 基因荧光素酶报告区的发光单元都以 pRL-SV40 对照质粒为标准。

2. 实时定量逆转录-聚合酶链反应:对山东省立医院收集的 93 个行外科手术的甲状腺腺瘤、多结节性甲状腺肿患者的甲状腺组织(这些患者无甲亢症状),

进行 TaqMan 探针定量 PCR 检测。其中 11 个样本是 SNP76+SNP75 单倍型,5 个是 SNP76+SNP74 单倍型,16 个为无 SNP76,SNP75 和 SNP74 变异组。引物序列:人类 SCGB3A2 基因引物(正向 5'-GCTACTGCCT-TCCTCATCAACAA-3'); GAPDH (正向 5'-GAAGGTG-AAGGTCCGAGTC-3';反向 5'-GAAGATGGTGATGGGA-TTTC-3')。TaqMan 探针序列:SCGB3A2 探针(5'-TGCCCCCTTCCTGTTGACAAGTTGGC-3'); GAPDH 探针(5'-CAAGCTTCCCGTTCTCAGCC-3')。反应温度和循环参数:95℃ 15 min,45 个循环(94℃ 30 s,58℃ 40 s,72℃ 1 min),72℃ 10 min。用来源于已知的包含关注基因的质粒(100 ~ 10 000 000 复制)的标准曲线进行量化对比。

3. 等位基因特异性定量转录:甲状腺组织取自于肺癌或甲状腺腺瘤及多结节性甲状腺肿的手术患者。将包括 SNP75(-623 ~ -622,AG/T),SNP76(rs1368408,G/A)和 SNP89(rs34212847,G/A)的区域分成两个片段(两个片段都包含 SNP rs1368408),用以下引物扩增:引物 1,正向 5'-CATATGGACTCCGCTTTCTATTTTC-3';反向 5'-CAACCCTGCAAATATGTGC-3';引物 2,正向 5'-GGATTCGTTGGGCTCTTTG-3';反向 5'-TGGT-AGAACAGTTTCAGGCAG-3'。扩增产物被克隆成 PGEM-T 简易载体,经测序,筛选出 SCGB3A2 基因的 SNP75,SNP76 和 SNP89 SNPs 纯合或杂合单倍型个体。通过 PCR 用以下引物对 SCGB3A2 基因进行扩增:5'-TGGTGACCATCAGCCTTTG-3' 和 5'-TGTCCTTT-TCACGGGTCCTACTAC-3'。反应温度及循环参数如下:95℃ 15 min,35 个循环 95℃ 30 s,62℃ 30 s,72℃ 30 s。产物在第 35 个循环时用 DIG-11-dUTP (德国罗氏公司)进行了标记。产物由 Mae III (德国罗氏公司)纯化并在 2% 的琼脂糖凝胶电泳上进行分辨。为了对照检测 ASTQPCR 产物是否完全被纯化,本研究对纯合基因型 SNP89(rs34212847,G/G)扩增的等量 PCR 产物进行了 MaeIII 纯化。位于 SNP89 的 G 形成了一个断裂位点。被纯化的产物转入到碱性溶液的带正电荷的 N 端过滤膜 (Roche, Germany),然后此过滤膜于 80℃ 烘干 30 min。根据操作说明,此过滤膜经过冲洗和固定然后与抗-DIG 血清共轭碱性磷酸酶一同培养。CDP-star 被用作化学发光基板。信号可于 X 射线平片中看到。用 Quantity One 软件(软件 BIO-RAD)扫描暴露的波段得到数据。纯化片段 380 和 253 bp 的波段强度被确定并且代表了相关区域(SNP75,SNP76 和 SNP89 SNPs)的易感单倍型(T:A:A)和非易感单倍型(AG:G:G)的 SCGB3A2 mRNA 转录水平。SNP89 的 G 等位基因(127 bp)的较小波段由于强

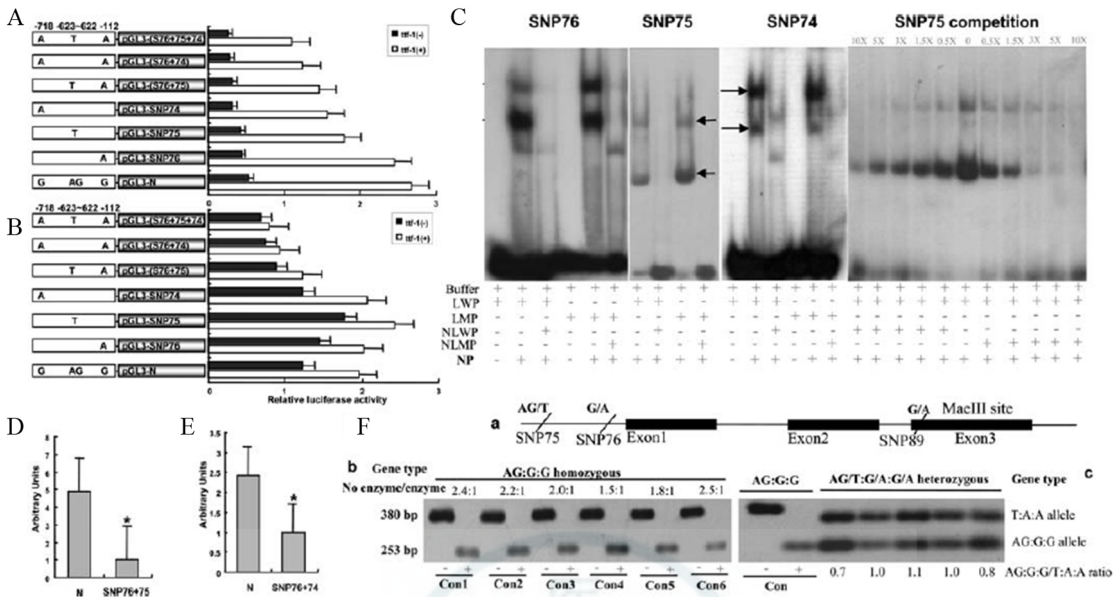


图1 体内外分析 SNPs 对 SCGB3A2 基因表达的影响

Fig 1 The effect of SNPs on SCGB3A2 expression in in vitro and in vivo analyses

注: A、B: 包含了结合不同 SNPs 的 SCGB3A2 基因启动子区域和无变异者对照组的报告质粒的相对荧光素酶活性在 SPC-A1 (A) 和 HeLa (B) 细胞中进行检测。开口的以及填充的直条代表了甲状腺转录因子 1 (TTF-1) 的共转染, 带有或不带有质粒表达基因。直条图代表标准误 Relative luciferase activities of the reporter plasmids containing SCGB3A2 promoter regions with distinct pSNP combination and a wild-type control were detected in SPC-A1 (A) and HeLa (B) cell lines. Open and filled bars represent co-transfection with or without a plasmid expressing the gene for thyroid transcription factor-1 (TTF-1). The bars indicate the standard error. C: 箭头代表每个 SNP76、SNP75 和 SNP74 探针得到的 EMSAs 波段, 从 SPC-A1 细胞提取细胞核进行培养。上下箭头分别与波段 I 和波段 II 相一致。LWP 和 NLWP 分别表示标记的和未标记的无变异者探测。LMP 和 NLMP 分别表示标记和未标记的突变型探测。NP 为核提取蛋白 Arrows indicate the bands of the EMSAs using each of the SNP76, SNP75, and SNP74 probes incubated with nuclear extracts from SPC-A1 cells. Top and bottom arrows correspond to band I and band II, respectively. LWP and NLWP: the labeled and unlabeled wild-type probes, respectively. LMP and NLMP: labeled and unlabeled mutant probes, respectively. NP: extracted nuclear protein. D: 与缺少 SNP76、SNP75 或 SNP74 (n=16) 的甲状腺组织相比, 带有单倍型 SNP76+SNP75 (n=11) 的甲状腺组织中 SCGB3A2 基因表达水平出现大幅度降低 The expression levels of SCGB3A2 in thyroid tissues with haplotype SNP76+SNP75 (n=11) were significantly decreased, as compared with those devoid of SNP76, SNP75 or SNP74 (n=16). E: 带有单倍型 SNP76+SNP74 (n=5) 的 SCGB3A2 基因表达水平与无变异者的对比 Comparison of SCGB3A2 gene expression with SNP76+SNP74 haplotype (n=5) and wild-type haplotypes. F: SCGB3A2 基因表达的易感型 (SNP75T-SNP76A-SNP89A) 和非易感型 (SNP75AG-SNP76G-SNP89G) 单倍体的相对分布, 以 SNP89A (380 bp) 到 G (253 bp) 的比率来表示 Relative contributions of the susceptible (SNP75T-SNP76A-SNP89A) and non-susceptible (SNP75AG-SNP76G-SNP89G) haplotypes to SCGB3A2 expression are presented as a SNP89A (380 bp) to G (253 bp) ratio

度较低, 并不包括在 T:A:A 和 AG:G:G 单倍型比率之计算之内, 这导致了所有 SNP89 A/G 的比率被估计偏高了; 因此, 实际上正常的操作是用 6 个正常对照肺组织的 SNP75, SNP76 和 SNP89 SNPs 区域的纯合等位基因。

4. 半定量 RT-PCR: 对小鼠及人类组织的 SCGB3A2 基因和巨噬清道夫受体胶原组织蛋白 MARCO 基因表达进行半定量 RT-PCR 分析。由不同组织的总 RNA (1~2 μg) 在 20 μl 的反应缓冲液中合成了 cDNAs 第一链, 然后 cDNAs 通过特异基因 PCR 技术扩增。甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 也被用作内部对照。PCR 混合物包括 cDNA (1 μl), 10 mmol/L dNTP (0.5 μl), 10xPCR 缓冲液加上 Taq (2 ml) 和 Taq+DNA 聚合酶 (2U, Sangon), GAPDH 引物 (10 pmol) 和基因特异性-跨内含子引物 (20 pmol)。此反应在 PCR 仪器中进行 (PTC-100 MJ. RESARCH, Inc) 一个 PCR 循环包括

30 s (94°C) 变性, 30 s (60°C) 退火和 45 s (72°C) 的延伸。每个 PCR 反应包括 25~28 个循环。

## 结果

一、SCGB3A2 基因 pSNPs (SNP76, SNP75 以及 SNP74) 与基因功能分析

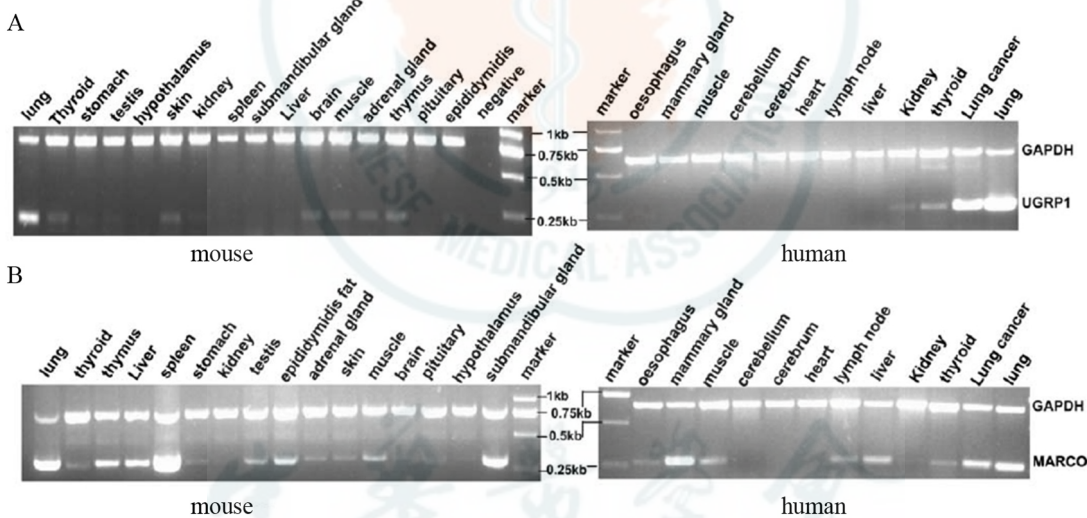
与 GD 相关的 SNP 单倍型均位于 SCGB3A2 基因启动子区, 而此区域含有相对保守的转录因子结合区 (图 2)。构建 7 个 SCGB3A2 基因启动子区荧光素酶报告载体并转染到 HeLa 细胞和 SPC-A1 细胞 (图 1A, B)。如图 1 所示与其他单倍型相比, pGL3- (SNP76+SNP75), pGL3- (SNP76+SNP74) 以及 pGL3- (SNP76+SNP75+SNP74) 的荧光素酶活性在宫颈癌细胞 (HeLa 细胞) 和 SPC-A1 细胞中均减弱 (图 1A, B)。用未标记的 AG 和 T 等位基因与 SNP75 标记的 AG 等位基因相竞争, 结果显示 T 等位基因能够竞争结合 AG 等位基因, 而 SNP74 的竞争性结合作用减弱 (图 1C)。且等



注:在人类基因序列中,我们预测在 SNP76 区域附近有 2 个 TTF-1、1 个 NF-κB 和 1 个 C/EBPα 结合区,而 1 个 TTF-1 位于 SNP75 区域。在当前的 pSNPs 中,位于 SNP76 附近的 C/EBPα 已消失,而 1 个 TBP 出现在 SNP75、SNP74 区域。虚线处表示与 SNP75 或 SNP74 结合的假设 TBP 等位基因区域。In the human sequence, two TTF-1, one NF-κB and one C/EBPα binding site near SNP76, and one TTF-1 motif adjacent to SNP75, were predicted. In the presence of pSNPs, the C/EBPα near SNP76 disappears, while a TBP binding site appears at the positions of SNP75 and SNP74. The broken lines indicate the putative TBP binding sites alleles with the SNP75 or SNP74

图 2 保守序列和转录因子的联合区域位于 SNP75, SNP76 和 SNP74 附近,正如 UCSC 网站 (<http://genome.ucsc.edu/>) 和 Alibata 2.1 软件分别预测的一样

Fig 2 Sequence conservation and transcription factor binding sites near the SNP76, SNP75 and SNP74, as predicted by the web site of UCSC (<http://genome.ucsc.edu/>) and using the Alibata 2.1 software, respectively



注:A:在人类小鼠肺组织 SCGB3A2 基因转录水平较高,在人类甲状腺,肾脏以及小鼠的肾上腺,胸腺,大脑以及肌肉皮肤中较低。The SCGB3A2 transcript was detected at a high level in lung tissues from both mouse and human, while low-level expression was detected in human thyroid and kidney, and in adrenal gland, thymus, brain, muscle and skin of mice. B:MARCO 基因在人类小鼠的肺及肝中以及人类的乳腺和小鼠的下颌下腺,脾脏,胸腺及附睾都是高水平表达,在人类和小鼠的甲状腺,肌肉中以及人类的淋巴结和小鼠的睾丸中是低水平表达。The MARCO gene was expressed at a high level in lung and liver (human and mouse), mammary gland (human), submandibular gland, spleen, thymus and epididymis fat (mouse), while a low level of expression was measured in thyroid and muscle (human and mouse), lymph node (human) and testis (mouse)

图 3 不同人种和小鼠组织中 SCGB3A2 基因表达及其受体 MARCO 的 RT-PCR 分析

Fig 3 RT-PCR analysis of the expression of SCGB3A2 and the gene for its receptor, MARCO, in different human and mouse tissues

位基因 T 比非易感等位基因 AG 有更强的结合转录因子能力(图 1C 右侧)。

对甲状腺组织样本的实时定量 PCR 结果发现携带有 SNP76+SNP75 和 SNP76+SNP74 者 SCGB3A2 基因的表达低于不携带该变异者(P 值分别为 0.047 和 0.027;图 1D, E)。以 5 个携带有 SNP76+SNP75+SNP89 杂合基因的甲状腺组织为样本,用位于

SCGB3A2 基因 3 号外显子上的 cSNP, rs34212847 (SNP89) 的限制性 Mae III 片段长度多态性,评估每种单倍型对于 SCGB3A2 基因转录产物的影响(图 1F)。如图 1Fc 所示,380 bp 和 253 bp 波段强度表现了来自 GD 易感单倍型 T : T : A 和非易感单倍型 AG : G : G 的 SCGB3A2 基因 mRNA 转录水平。由于片段强度是由来自等位基因特异性组织定量实验的 RT-PCR 的产

物长度决定的,当 2 个等位基因 mRNA 转录相同时,380 bp 和 253 bp 片段强度之比理论上应大于 1:1。实际上当从带有纯合等位基因 AG:G:G 的 6 个肺组织样本中扩增出等量 ASTQ 产物并在琼脂糖凝胶进行分离时(带或不带有消化酶 Mae III),380 bp 和 253 bp 片段强度的确切比率为  $2.1 \pm 0.4$  (图 1Fb)。然而,以 5 位在 SNP75,SNP76 和 SNP89 区域有杂合基因个体的甲状腺组织为样本,其 ASTQ 片段的比率为  $0.9 \pm 0.2$  (图 1Fc),这些结果都表明 GD 易感单倍型使 SCGB3A2 基因 mRNA 转录水平降低。

## 二、SCGB3A2 基因及其受体 MARCO 基因的表达谱

相关研究提示人类肺组织中 SCGB3A2 基因的 mRNA 表达水平最高,而在甲状腺组织中较低<sup>[11]</sup>。本研究证实小鼠和人类的肺组织中 SCGB3A2 基因的 mRNA 都是高水平表达状态,而人类的甲状腺组织和肾组织,以及小鼠的肾上腺,胸腺,大脑组织,肌肉组织以及皮肤组织都是低水平转录(图 3A)。近期研究认为 MARCO 是 SCGB3A2 基因的受体<sup>[12]</sup>。本研究用半定量 RT-PCR 分析发现 MARCO 在很多组织中都表达,如脾脏,淋巴结以及肝脏等(图 3B)。

## 讨 论

本研究验证了基因 SCGB3A2 上的诸多 SNPs 与 GD 高度相关,位于启动子区的(pSNP,SNP76 和 SNP75)相关程度最大。应用荧光素酶检测、实时定量逆转录-聚合酶链反应、等位基因特异性定量转录等方法,对 SCGB3A2 基因启动子区(SNP76,SNP75 以及 SNP74)进行体内外功能分析,SCGB3A2 基因启动子-荧光素酶报告质粒 pGL3-(SNP76+SNP75),pGL3-(SNP76+SNP74)以及 pGL3-(SNP76+SNP75+SNP74)的荧光素酶活性均减弱。T 等位基因能够竞争结合 AG 等位基因,比非易感等位基因 AG 有更强的结合转录因子能力。携带有 SNP76+SNP75 和 SNP76+SNP74 者 SCGB3A2 基因的表达低于不携带该变异者。体内外功能分析显示,SNP76+SNP75 和 SNP76+SNP74 单倍型可使 SCGB3A2 基因表达下调。

SCGB3A2 基因编码了一种分泌蛋白子宫球蛋白相关蛋白 1(UGRP-1)<sup>[13]</sup>,是新近发现的功能尚未完全明确的分泌蛋白,主要表达于肺和气管,在甲状腺也有少量表达。目前关于 UGRP-1 功能尚未完全阐明,研究发现 UGRP-1 具有抗炎作用,并证实抗原诱导的肺部炎症与 UGRP-1 表达减少有关<sup>[11]</sup>;有学者发现 UGRP-1 通过炎症反应、免疫调节等机制在支气管哮喘等疾病的发病过程中发挥作用<sup>[14]</sup>。最近一项研究

证明,在因 IL-5 和 IL-9 导致的过敏性气道炎症的小鼠模型中,该基因表达降低<sup>[15,16]</sup>。而 IL-10 可以提高 SCGB3A2 基因 mRNA 表达<sup>[17]</sup>。研究显示,人类 SCGB3A2 基因启动子区位于-112 区的多态性(G/A),即 SNPrs1368408 位点被认为与日本成人支气管哮喘的高危险性有关<sup>[14]</sup>。尽管此相关性并未在另一包括日本哮喘儿童<sup>[18]</sup>,日耳曼-高加索<sup>[19]</sup>以及印度人<sup>[20]</sup>小样本量人群研究中得到证实。Inoue<sup>[21]</sup>等最近提出带有-112A 等位基因的 SCGB3A2 基因血浆水平在很大程度上低于不带有此基因的( $P = 0.025$ )。UGRP-1 蛋白表达与非小细胞肺癌的发生、发展存在一定的关系<sup>[22]</sup>,可作为非小细胞肺癌早期筛选的一项指标,并对疾病的预后有着重要意义。对于 UGRP-1 在非小细胞肺癌中表达的作用尚未明确,推测可能与 UGRP-1 负性调节了肿瘤细胞生长、增殖、分化有关。最近研究表明,SCGB3A2 作为一个新的诊断肺癌的肿瘤基因标记物<sup>[23]</sup>。SCGB3A2 能够抑制博来霉素导致的肺纤维化,通过增加 STAT1 和 SMAD7 的表达,减少 SMAD2/3 磷酸化作用,抑制 TGF $\beta$  信号传导通路,从而抑制成肌纤维细胞<sup>[24]</sup>。

UGRP-1 蛋白被认为是甲状腺特异转录因子 1 的下游靶结合位点,可以调节一些甲状腺特异性基因的表达,如甲状腺球蛋白基因<sup>[25]</sup>,甲状腺过氧化物酶基因<sup>[26,27]</sup>,TSH 受体基因<sup>[28]</sup>和钠-碘同向转运体基因<sup>[29]</sup>以及肺表面活性蛋白基因<sup>[30]</sup>。最近研究显示,MARCO 是 SCGB3A2 基因的受体<sup>[12]</sup>。并且在脾脏和淋巴结<sup>[31]</sup>及肺泡<sup>[12]</sup>的巨噬细胞中表达,推测肺组织中分泌的 SCGB3A2 基因蛋白可能会通过 MARCO 来调节各免疫器官的功能,可能会通过介导免疫炎症反应而参与 GD 的致病过程,因此与 GD 易感性相关,还需要更进一步的研究来证明此假设。

[本文主要内容已刊载于 Human Molecular Genetics, 2009, 18:1156-1170.]

## 参 考 文 献

- [1] Hollowell JG, Staehling NW, Flanders WD, et al. Serum TSH, T4, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). J Clin Endocrinol Metab, 2002, 87:489-499.
- [2] Chen X, Wu WS, Chen GL, et al. The effect of saltiodization for 10 years on the prevalences of endemic goiter and hyperthyroidism. J Chin Endocrinol Metab, 2000, 18:342-344.
- [3] Tomer Y, Davies TF. Searching for the autoimmune thyroiddisease susceptibility genes: from gene mapping to gene function. Endocr Rev, 2003, 24:694-717.
- [4] Onodera T, Awaya A. Anti-thyroglobulin antibodies induced with recombinant reovirus infection in BALB/c mice. Immunology, 1990, 71:581-585.

- [5] Ueda H, Howson JMM, Esposito L, et al. Association of the T-cell regulatory gene CTLA 4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature*, 2003, 423:506-511.
- [6] Yanagawa T, Hidaka Y, Guimaraes V, et al. CTLA-4 gene polymorphism associated with Graves' disease in a Caucasian population. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995, 80:41-45.
- [7] Tomer Y, Concepcion E, Greenberg DA. AC/T single-nucleotide polymorphism in the region of the CD40 gene is associated with Graves' disease. *Thyroid*, 2002, 12:1129-1135.
- [8] Velaga MR, Wilson V, Jennings CE, et al. The codon 620 tryptophan allele of the lymphoid tyrosine phosphatase (LYP) gene is a major determinant of Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89:5862-5865.
- [9] Hiratani H, Bowden DW, Ikegami S, et al. Multiple SNPs in intron 7 of thyrotropin receptor are associated with Graves' disease. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005, 90:2898-2903.
- [10] Shirasawa S, Harada H, Furugaki K, et al. SNPs in the promoter of a B cell-specific antisense transcript, SAS-ZFAT, determine susceptibility to autoimmune thyroid disease. *Hum Mol Gen*, 2004, 13:2221-2231.
- [11] Niimi T, Keck-Waggoner CL, Popescu NC, et al. SCGB3A2, a uteroglobin/Clara cell secretory protein-related protein, is a novel lung-enriched downstream target gene for the T/EBP/NKX2.1 homeodomain transcription factor. *Mol Endocrinol*, 2001, 15:2021-2036.
- [12] Bin LH, Nielson LD, Liu X, et al. Identification of uteroglobin-related protein 1 and macrophage scavenger receptor with collagenous structure as a lung-specific ligand-receptor pair. *J Immunol*, 2003, 171:924-930.
- [13] Porter D, Lahti-Domenici J, Torres-Arzuayus M, et al. Expression of high in normal-I (HIN-1) and uteroglobin related protein-1 (UGRP1) in adult and developing tissues. *J Mech Dev*, 2002, 114(1-2):201-204.
- [14] Niimi T, Munakata M, Keck-Waggoner CL, et al. A Polymorphism in the human UGRP1 gene promoter that regulates transcription is associated with an increased risk of asthma. *J A J Hum Genet*, 2002, 70(3):718-725.
- [15] Chiba Y, Srisodsai A, Supavilai P, et al. Interleukin-5 reduces the expression of uteroglobin-related protein (UGRP) 1 gene in allergic airway inflammation. *Immunol Lett*, 2005, 97:123-129.
- [16] Chiba Y, Kusakabe T, Kimura S. Decreased expression of uteroglobin-related protein 1 in inflamed mouse airways is mediated by IL-9. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, 287:L1193-L1198.
- [17] Srisodsai A, Kurotani R, Chiba Y, et al. Interleukin-10 induces uteroglobin-related protein (UGRP) 1 gene expression in lung epithelial cells through homeodomain transcription factor T/EBP/NKX2.1. *J Biol Chem*, 2004, 279:54358-54368.
- [18] Jian Z, Nakayama J, Noguchi E, et al. No evidence for association between the -112G/A polymorphism of UGRP1 and childhood atopic asthma. *Clin Exp Allergy*, 2003, 33:902-904.
- [19] Heinzmann A, Dietrich H, Deichmann KA. Association of uteroglobin-related protein 1 with bronchial asthma. *Int Arch Allergy Immunol*, 2003, 31:291-295.
- [20] Batra J, Niphadkar PV, Sharma SK, et al. Uteroglobin-related protein 1 (UGRP1) gene polymorphisms and atopic asthma in the Indian population. *Int Arch Allergy Immunol*, 2005, 136:1-6.
- [21] Inoue K, Wang X, Saito J, et al. Plasma UGRP1 levels associate with promoter G-112A polymorphism and the severity of asthma. *Allergol Int*, 2008, 57:57-64.
- [22] 王彦云, 哈敏文, 刘维, 等. BAG-1; UGRP-1 在非小细胞肺癌中的表达及其在临床预后预测中的价值. *山东医药*, 2011, 51(4):68-70.
- [23] Kurotani R, Kumaki N, Naizhen X, et al. Secretoglobin 3A2/uteroglobin-related protein 1 is a novel marker for pulmonary carcinoma in mice and humans. *Lung Cancer*, 2011, 71:42-48.
- [24] Kurotani R, Okumura S, Matsubara T, et al. Secretoglobin 3A2 Suppresses Bleomycin-induced Pulmonary Fibrosis by Transforming Growth Factor Signaling Down-regulation. *J Biol Chem*, 2011, 286:19682-19692.
- [25] Civitarella D, Lonigro R, Sinclair AJ, et al. A thyroid-specific nuclear protein essential for tissue-specific expression of the thyroglobulin promoter. *EMBO J*, 1989, 8:2537-2542.
- [26] Francis-Lang H, Price M, Polycarpou-Schwarz M, et al. Cell-type-specific expression of the rat thyroperoxidase promoter indicates common mechanisms for thyroid-specific gene expression. *Mol Cell Biol*, 1992, 12:576-588.
- [27] Kikkawa F, Gonzalez FJ, Kimura S, et al. Characterization of a thyroid-specific enhancer located 5.5 kilobase pairs upstream of the human thyroid peroxidase gene. *Mol Cell Biol*, 1990, 10:6216-6224.
- [28] Shimura H. Thyroid-specific expression and cyclic adenosine 30, 50-monophosphate autoregulation of the thyrotropin receptor gene involves thyroid transcription factor-1. *Mol Endocrinol*, 1994, 8:1049-1069.
- [29] Endo T, Kaneshige M, Nakazato M, et al. Thyroid transcription factor-1 activates the promoter activity of rat thyroid Nat/I-Symporter Gene. *Mol Endocrinol*, 1997, 11:1747-1755.
- [30] Bohinski RJ, Di Lauro R, Whittsett JA. The lung-specific surfactant protein B gene promoter is a target for thyroid transcription factor 1 and hepatocyte nuclear factor 3, indicating common factors for organ-specific gene expression along the foregut axis. *Mol Cell Biol*, 1994, 14:5671-5681.
- [31] Elomaa O, Kangas M, Sahlberg C, et al. Cloning of a novel bacteria-binding receptor structurally related to scavenger receptors and expressed in a subset of macrophages. *Cell*, 1995, 80:603-609.

(收稿日期:2012-01-29)

(本文编辑:朱铨达)