

# Graves病的遗传异质性研究进展

刘裕晓<sup>1</sup>, 武革<sup>2</sup>

1. 广东医科大学研究生学院, 广东 湛江 524023;

2. 广东医科大学附属医院内分泌科, 广东 湛江 524001

**【摘要】** Graves病是一种累积多系统的自身免疫性甲状腺疾病, 临床资料提示, 易感基因和环境因素相互作用是疾病发生的关键因素, 其中遗传因素在本病的发生、发展过程中起着重要的作用。尽管已进行了大量的研究, Graves病的遗传学机制至今尚未阐明, 但具有明显的遗传异质性特点。本文就Graves病常见的免疫调节基因及甲状腺特异基因的遗传异质性特征做一综述。

**【关键词】** Graves病; 遗传异质性; 单核苷酸多态性; 免疫调节基因; 甲状腺特异基因

**【中图分类号】** R581.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2019)21-2817-04

**Genetic heterogeneity of Graves' disease.** LIU Yu-xiao<sup>1</sup>, WU Ge<sup>2</sup>. 1. Graduate School, Guangdong Medical University, Zhanjiang 524023, Guangdong, CHINA; 2. Department of Endocrinology, the Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, Guangdong, CHINA

**【Abstract】** Graves' disease is a cumulative multi-system autoimmune thyroid disease. Clinical data suggest that the interaction between susceptible genes and environmental factors is the key factor of disease occurrence, in which genetic factors play an important role in the occurrence and development of this disease. Although many studies have been carried out, the genetic mechanism of Graves' disease has not yet been clarified, but it is clearly characterized by obvious genetic heterogeneity. In this paper, the genetic heterogeneity of immunomodulatory genes and thyroid-specific genes in Graves's disease is reviewed.

**【Key words】** Graves' disease; Genetic heterogeneity; Single nucleotide polymorphism (SNP); Immunoregulatory gene; Thyroid-specific gene

Graves病(Graves' disease, GD)的发生源于自身抗体刺激甲状腺细胞上的促甲状腺受体, 引起甲状腺激素生成过多。造成这些免疫异常的具体机制复杂, 目前尚未完全明了, 但最终造成对甲状腺器官组织的免疫攻击。Graves病的病因是多因素的, 其中遗传易感性与环境因素之间的相互作用是导致免疫耐受性崩溃和疾病发展的关键因素。丹麦的双胞胎研究表明, 单卵双胞胎中GD的一致率明显高于双卵双胞胎<sup>[1]</sup>, 来自加利福尼亚的研究报道了相似的结果<sup>[2]</sup>。基于以上研究, GD的发生79%归于遗传因素所致。因此, 遗传因素在GD中的调控引发了较多的研究与关注。

近年来, 通过家系连锁分析、候选基因法以及全基因组关联分析(GWAS)方法均表明, 免疫调节基因、甲状腺特异基因在GD病中起关键作用, 并且发现了不同种族、不同地域、不同家系的GD的易感基因不同, 因此认为GD的易感基因存在着异质性。对于多基因遗传病学的研究, 清楚地了解其遗传异质性有着重要的科学价值。

## 1 免疫调节基因

### 1.1 人类白细胞抗原(human leukocyte antigen,

HLA)基因 编码HLA的人主要组织相容性复合体(MHC)是目前已知的最具有复杂多态性的基因组区, 位于染色体6q21位置。HLA区域从着丝粒到端粒由三个不同区域组成, 分别为I、II和III类区域。I类区域在人类MHC区域的端粒部分大约为1.8 Mb, 编码经典的I类抗原(HLA-A, -B, -C)和非经典的I类抗原(HLA-E, -F, -G)。经典的I类抗原是一种普遍表达的膜结合糖蛋白, 与 $\beta 2$ 微球蛋白结合, 将细胞内加工的肽抗原呈现给CD8阳性T淋巴细胞的 $\alpha\beta$ T细胞受体( $\alpha\beta$ TCR), 从而抑制细胞免疫应答。II类区域在MHC的着丝粒区大约为0.7 Mb, 编码经典的II类抗原(HLA-DR, -DQ, -DP)和非经典的II类抗原(HLA-DM, -DO)。经典的II类抗原将细胞外加工的多肽抗原呈现给CD4阳性T淋巴细胞的 $\alpha\beta$ TCR, 从而控制体液免疫应答。III类HLA基因位于HLA I类和II类区之间, 长度为0.9 Mb, 其编码了TNF、LTA、LTB基因、热休克蛋白(HSP)基因和相应的补体成分等, 从而参与细胞转录调节、电子转移等重要生物信息过程。由于HLA基因复合体本身具有多基因位点、每个位点极高的多态性以及不同位点上特定的HLA等位基因

基金项目: 广东省自然科学基金(编号: 06028968)

通讯作者: 武革, 主任医师, E-mail: wuge427427@126.com

的遗传特性,因而其与许多免疫应答相关,也是GD易感基因之一。

早期通过家系连锁、关联分析、基因组筛选方法等,发现了不少HLA家族的单核苷酸多态性(SNPs),其中某些多态性具有独特的GD易感性,后来用候选基因及GWAS得到了证实。在高加索人中,报告了HLA-DQA1\*0501和-DQB1\*0301、-DRB1\*03和-DRB1\*08与GD有关<sup>[3]</sup>。在日本人群中,HLA-B\*35:01、-DRB1\*14:03和-DQB1\*0604与GD呈正相关<sup>[4]</sup>。在中国人群中,HLA-A\*11:01/02、-DRB1\*15:01和-DQB1\*05:02与GD呈正相关<sup>[5]</sup>。在韩国人群中,HLA-DRB1\*030101、-DRB1\*080201、-DRB1\*0803和-DRB1\*140301与GD呈正相关<sup>[6]</sup>。在黑种人群中,DRB3\*01:01与牙买加人GD呈密切相关<sup>[7]</sup>。但在印度南部地区,等位基因DQB1\*02:02,\*06:03,\*06:09,\*03:02和\*03:03,\*02:01,\*05:02和\*06:02对GD病则有保护作用<sup>[8]</sup>。可见,在不同的种族以及不同的地理环境,HLA基因与GD的相关性有着较大的差异。

1.2 细胞毒性T淋巴细胞抗原-4 (cytotoxic T-lymphocyte associated antigen,CTLA-4)基因 CTLA-4是一种经典的存在于活化的T细胞上的跨膜免疫调节蛋白,由染色体2q33上的CTLA-4区编码,其编码产物CTLA-4是T细胞介导的免疫应答的主要负性调节因子。CTLA-4与抗原提呈细胞CD80/86复合物结合,抑制T细胞活化,从而介导抗原特异性凋亡。多项研究表明,CTLA-4基因是GD的易感基因<sup>[9-10]</sup>。WANG等<sup>[11]</sup>研究报道了CTLA-4基因的单核苷酸多肽rs231775与亚洲地区GD患者疾病复发密切相关。但是,最近的一项观察队列研究表明,患有GD的白种人中,复发风险与CTLA-4 rs231775之间没有关联<sup>[12]</sup>。CTLA-4基因多态性(A49G)被认为是GD的危险因素<sup>[13]</sup>。HOU等<sup>[14]</sup>在一项荟萃分析中显示,A49G的G等位基因突变增加了总人群中GD的风险,然而,该基因的遗传变异在非洲人中具有保护作用。在中国汉族人群中,CTLA-4基因中的TCGCTGC和TCACTAC单倍型分别是Graves病的危险因素和保护因素<sup>[15]</sup>。所以,CTLA-4基因多态性在种族和地区上也存在差异。

1.3 其他免疫调节基因 其他免疫相关的GD易感基因包括抗原肽转运载体(transporters associated with antigen processing, TAP)、肿瘤坏死因子 $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、细胞受体 $\beta$ 链(TCR- $\beta$ )基因、CD40、信号传导及转录激活因子4 (signal transducers and activators of transcription 4, STAT4)等。TAP基因是MHC基因群中一种,定位在DP与DQ基因之间,具有一定程度的多态性。TAP基因产物TAP通过限制多肽转运而调控抗原呈递。有研究表明,白种人的TAP1\*0301和TAP2\*0101与GD的易感性相关,而

TAP1\*0401可能为GD的保护基因<sup>[16]</sup>。肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )居于人类6号染色体的短臂(6p21.3),含有HLA分子的编码基因。TU等<sup>[17]</sup>研究表明在TNF- $\alpha$ 基因内只有启动子SNPs1800629与发生GD的风险增加,这种关联性在欧洲人群中明显,但在亚洲人群中没有检测到这种关联性。这表明不同种族之间存在遗传异质性,这可能是由于基因-环境相互作用的差异造成的。TCR- $\beta$ 基因决定了T细胞受体表型,而异常的T细胞浸润与T细胞受体相关,由此可见,TCR- $\beta$ 基因与GD发病密切相关<sup>[18]</sup>。然而,在中国人群中,TCR- $\beta$ 基因的PCR产物经过Bgi酶切后具有了三种基因型,即杂合子10/9.2 kb以及纯合子10/10 kb和9.2/9.2 kb,其中10/9.2 kb杂合子对Graves病有易感性,10/10 kb纯合子对于Graves病有一定抵抗性,然而,该研究则未确定TCR- $\beta$ 基因多态性与Graves病有关<sup>[19]</sup>。CD40能刺激淋巴细胞的增殖和分化,是甲状腺滤泡细胞和抗原表达细胞必不可少的免疫调节成分,因此,其亦作为Graves病的重要易感基因之一。CD40基因5'-非翻译区C/T多态性与白种人<sup>[20]</sup>和韩国人Graves病密切相关<sup>[21]</sup>。而CD40 rs1883832多态性对亚洲人和高加索人Graves病有保护作用<sup>[22]</sup>。STAT4基因编码一种重要的转录因子,它传递与自身免疫性疾病相关的多种细胞因子诱导的信号,已被确认为多种自身免疫性疾病的易感基因。STAT4 rs7574865多态性与亚洲人群的GD病易感性显著相关,而在非洲人群中则不明显<sup>[23]</sup>。综合上述结果,提示在不同种族,GD的易感基因多态性有较大差异。

## 2 甲状腺固有基因

2.1 促甲状腺激素受体 (thyrotropin-receptor, TSHR)基因 TSHR基因位于染色体14q13基因片段,其中10个外显子编码TSHR。GD的重要特征是抗促甲状腺激素抗体的产生,激活甲状腺激素的合成和分泌,导致临床甲状腺中毒。动物模型及免疫学指标的变化不单证实了TSHR参与了GD的发病,而且TSHR抗体水平还预示着GD病情的活动。然而,在该基因单核苷酸多态性(SNPs)的研究中结果非常不一致。TSHR基因多态性研究主要集中在3个多态位点上,即细胞内密码子727 (D727E)和外显子1的两个多态位点(P52T和D36H)。在俄罗斯人群中,TSHR基因的D727E变异与Graves病有关<sup>[24]</sup>。DE ROUX等<sup>[25]</sup>研究在英国人群中对位于TSHR基因内含子内的3个高度多态的微卫星进行描述,未发现其在GD中的连锁和关联。在中国安徽北部汉族人群中,TSHR等位基因rs179247-g,rs12101261-c和rs4903964-g与GD呈负相关,rs2284722-a和rs17111394-c等位基因与GD呈显著正相关<sup>[26]</sup>。因此,TRSH基因与GD在不同地区的关联也存在差异。

2.2 甲状腺球蛋白(Thyroglobulin, TG)基因 人类染色体8q24上的TG基因是GD的候选遗传标记之一。TG基因的表达产物甲状腺球蛋白是GD的主要自身抗原之一。关于TG基因与GD的相关性鲜有报道,来自不同地区人群的结论也不一致。在美国白种人中发现TG基因与GD相关,但在英国高加索人中并不存在相关性<sup>[27-28]</sup>。目前关于TG在GD中发挥的抗原作用机制仍不清楚,需要进一步的研究阐明。

2.3 甲状腺过氧化物酶(Thyropoxidase, TPO)基因 人甲状腺过氧化物酶(TPO)是甲状腺激素三碘甲状腺原氨酸(T3)和甲状腺素(T4)生物合成的主要酶。TPO是一种关键的自身抗原,是GD中自身抗体的主要抗原靶点。TPO自身抗体(TPOABs)几乎普遍存在于GD患者中,因此TPO自身抗体(TPOABs)经常被用作诊断GD的生物指标之一,且血清TPO抗体的滴度变化可作为诊断GD病治疗后复发的预测指标<sup>[29]</sup>。但是早年的研究中并没有发现TPO基因与Graves病有关联或连锁。最近, KUS等<sup>[30]</sup>在两项独立的全基因组关联研究中发现, TPO附近的rs 11675434单核苷酸多态性(SNPs)与血清甲状腺过氧化物酶(TPO)抗体水平有关,表明TPO与Graves病有一定的相关性。

### 3 Graves病与PTPN22基因

PTPN 22基因位于第1p13染色体上,由21个外显子构成,编码人类蛋白质淋巴特异性蛋白酪氨酸磷酸酶(lymphoid protein tyrosine phosphatase, LYP)。LYP蛋白由3个结构域组成,其中一个结构域允许LYP与CSK酪氨酸激酶的SCR同源性3(SH3)结构域连接,介导T细胞受体信号的负调控作用,从而维持机体的免疫平衡。PTPN22中功能缺失的突变将增加GD的易感性。许多的证据表明了LYP在维持细胞的免疫稳态中有着关键性的作用,该基因的变异将增加了发生自身免疫性疾病的危险性。研究者发现了PTPN 22的单核苷酸多态性(rs2476601)编码一种更活跃的磷酸酶,即LYP变异体r620w,它是T细胞活化的一种强有力的抑制剂,因此,其在自身反应性T淋巴细胞的逃逸水平上起着重要的作用<sup>[31]</sup>。PTPN 22多态性(rs2476601)与GD之间的关联已在许多白种人<sup>[32-33]</sup>的研究中得到证实。然而,在亚洲人和非洲人中,PTPN 22多态性(rs2476601)与GD发病之间没有关联<sup>[34-35]</sup>。同样地,在克什米尔人群中,PTPN22 1858C/T单核苷酸多态性与GD无相关性<sup>[36]</sup>。综上所述,PTPN 22基因多肽性与GD发病率之间的关系在种族之间存在差异。

### 4 展望

遗传学研究手段的进展有助于更进一步地揭示GD的遗传机制,但是由于GD遗传机制的复杂性以及样本量的限制,目前的研究尚不能展示其全貌。通过家系连锁分析、候选基因法分析、全基因组关联分析

(GWAS)方法,发现GD易感基因在不同种族、不同地域、不同家系间有着较大的差异。事实上,许多易感基因对于复杂的多基因疾病发生和发展影响甚微,因而遗传易感基因的变异,在尚无以基因改变干预疾病的有效治疗时,或许其对GD的影响是有限的。

GD作为一种复杂的多基因疾病,是长期基因-基因间和基因-环境间的交互作用的结果。目前对于基因多态性与GD易感性关系的研究结果各异,其原因可能是研究设计差异、人群遗传异质性等原因,更大的局限性在于绝大多数研究的思路仍只停留在分析单一基因的多态性位点与疾病的关系。因此,要全面阐明GD的病因和病理生理机制可能还有很长的路要走。

### 参考文献

- [1] BRIX TH, KYVIK KO, CHRISTENSEN K, et al. Evidence for a major role of heredity in Graves' disease: a population-based study of two Danish twin cohorts [J]. Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(2): 930-934.
- [2] RINGOLD DA, NICOLOFF JT, KESLER M, et al. Further evidence for a strong genetic influence on the development of autoimmune thyroid disease: the California twin study [J]. Thyroid, 2002, 12(8): 647-653.
- [3] TOMER Y, DAVIES TF. Searching for the autoimmune thyroid disease susceptibility genes: from gene mapping to gene function [J]. Endocrine Reviews, 2003, 24(5): 694-717.
- [4] OKADA Y, MOMOZAWA Y, ASHIKAWA K, et al. Construction of a population-specific HLA imputation reference panel and its application to Graves' disease risk in Japanese [J]. Nat Genet, 2015, 47(7): 798-802.
- [5] CHEN PL, FANN CS, CHU CC, et al. Comprehensive genotyping in two homogeneous Graves' disease samples reveals major and novel HLA association alleles [J]. PLoS One, 2011, 6(1): e16635.
- [6] JANG HW, SHIN HW, CHO HJ, et al. Identification of HLA-DRB1 alleles associated with Graves' disease in Koreans by sequence-based typing [J]. Immunological Investigations, 2011, 40(2): 172-182.
- [7] SMIKIE MF, PASCOE RW, BARTON E, et al. HLA-DRB3\*0101 is associated with Graves' disease in Jamaicans [J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2001, 55(6): 805-808.
- [8] RAMGOPAL S, RATHIKA C, PADMA MALINI R, et al. Critical amino acid variations in HLA-DQB1\* molecules confers susceptibility to autoimmune thyroid disease in south India [J]. Genes Immun, 2019, 20(1): 32-38.
- [9] TING WH, CHIEN MN, LO FS, et al. Association of cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4 (CTLA4) gene polymorphisms with autoimmune thyroid disease in children and adults: case-control study [J]. PLoS One, 2016, 11(4): e0154394.
- [10] FOUAD NA, SAEED AM, MAHEDY AW, et al. Association of CTLA-4 +49 A/G and CT60 gene polymorphism with Graves' disease [J]. Egypt J Immunol, 2017, 24(2): 63-70.
- [11] WANG PW, CHEN IY, JUO SH, et al. Genotype and phenotype predictors of relapse of Graves' disease after anti-thyroid drug withdrawal [J]. Eur Thyroid J, 2013, 1(4): 251-258.
- [12] VOS XG, ENDERT E, ZWINDERMAN AH, et al. Predicting the

- risk of recurrence before the start of anti-thyroid drug therapy in patients with Graves' hyperthyroidism [J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2016, 101(4): 1381-1389.
- [13] HAN XR, WEN X, WANG S, et al. Correlations of CTLA-4 exon-1 49 A/G and promoter region 318C/T polymorphisms with the therapeutic efficacy of <sup>131</sup>I radionuclide in Graves' disease in Chinese Han population [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(8): 6383-6390.
- [14] HOU HF, JIN X, SUN T, et al. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 gene polymorphisms and autoimmune thyroid diseases: an updated systematic review and cumulative meta-analysis [J]. *Int J Endocrinol*, 2015, 2015: 1-9.
- [15] CHEN X, HU Z, LIU M, et al. Correlation between CTLA-4 and CD40 gene polymorphisms and their interaction in Graves' disease in a Chinese Han population [J]. *BMC Med Genet*, 2018, 19(1): 171.
- [16] RAU H, NICOLAY A, USADEL KH, et al. Polymorphisms of TAP1 and TAP2 genes in Graves' disease [J]. *Tissue Antigens*, 1997, 49(1): 16-22.
- [17] TU Y, FAN G, ZENG T, et al. Association of TNF- $\alpha$  promoter polymorphism and Graves' disease: an updated systematic review and meta-analysis [J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(2): BSR20180143.
- [18] MARTIN A, BARBESINO G, DAVIES TF. T-cell receptors and autoimmune thyroid disease-signposts for T-cell-antigen driven disease [J]. *Int Rev Immunol*, 1999, 18(1-2): 111-140.
- [19] LEE BW, TAN J, YAP HK, et al. Restriction fragment length polymorphism of the T cell receptor beta-chain gene in Chinese patients with thyrotoxic hypokaleamic periodic paralysis and Graves' disease [J]. *Autoimmunity*, 1995, 21(4): 241-244.
- [20] HEWARD JM, SIMMONDS MJ, CARR-SMITH J, et al. A single nucleotide poly-morphism in the CD40 gene on chromosome 20q (GD-2) provides no evidence for susceptibility to Graves' disease in UK Caucasians [J]. *Clin. Endocrinol (Oxf)*, 2004, 61(2): 269-272.
- [21] KIM TY, PARK YJ, HWANG JK, et al. A C/T polymorphism in the 5' untranslated region of the CD40 gene is associated with Graves' disease in Koreans [J]. *Thyroid*, 2003, 13(10): 919-925.
- [22] WANG XX, WANG XX, CHEN T. Association between the CD40 rs1883832 polymorphism and Graves' disease risk: a meta-analysis [J]. *Excli J*, 2019, 18: 10-20.
- [23] GAO X, WANG J, YU Y, et al. The association between STAT4 rs7574865 polymorphism and the susceptibility of autoimmune thyroid disease: a meta-analysis [J]. *Front Genet*, 2019, 9: 708.
- [24] CHISTIakov DA, SAVOST'ANOV KV, TURAKULOV RI, et al. Further studies of genetic susceptibility to Graves' disease in a Russian population [J]. *Med Sci Monit*, 2002, 8(3): CR180-184.
- [25] DE ROUX N, SHIELDS DC, MISRAHI M, et al. Analysis of the thyrotropin receptor as a candidate gene in familial Graves' disease [J]. *Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81 (10): 3483-3486.
- [26] SUN W, ZHANG X, WU J. Correlation of TSHR and CTLA-4 single nucleotide polymorphisms with Graves' disease [J]. *Int J Genomics*, 2019, 2019: 6982623.
- [27] BAN Y, GREENBERG DA, CONCEPCION E, et al. Amino acid substitutions in the thyroglobulin gene are associated with susceptibility to human and murine autoimmune thyroid disease [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2003, 100(25): 15119-15124.
- [28] COLLINS JE, HEWARD JM, HOWSON M. Common allelic variants of exons 10, 12, and 33 of the thyroglobulin gene are not associated with autoimmune thyroid disease in the United Kingdom [J]. *Clin Endocrinol Metab*, 2004, 89(12): 6336-6339.
- [29] CHOI YM, KWAK MK, HONG SM, et al. Changes in thyroid peroxidase and thyroglobulin antibodies might be associated with Graves' disease relapse after antithyroid drug therapy [J]. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2019, 34(3): 268-274.
- [30] KUŚ A, SZYMAŃSKI K, JURECKA-LUBIENIECKA B, et al. Gender-dependent and age-of-onset-specific association of the rs11675434 single-nucleotide polymorphism near TPO with susceptibility to Graves' ophthalmopathy [J]. *J Hum Genet*, 2017, 62(3): 373-377.
- [31] STANFORD S M, BOTTINI N. PTPN22: the archetypal non-HLA autoimmunity gene [J]. *Nature Reviews Rheumatology*, 2014, 10 (10): 602-611.
- [32] 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(11): 5862-5865.
- [33] WAWRUSIEWICZ-KURYLONEK N, KOPER-LENKIEWICZ OM, GOŚCIK J, et al. Association of PTPN22 polymorphism and its correlation with Graves' disease susceptibility in Polish adult population-A preliminary study [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7(6): e661.
- [34] PŁOSKI R, SZYMANSKI K, BEDNARCZUK T. The genetic basis of Graves' disease [J]. *Curr Genomics*, 2011, 12(8): 542-563.
- [35] XUE L, PAN C, GU Z, et al. Genetic heterogeneity of susceptibility gene in different ethnic populations: refining association study of PTPN22 for Graves' disease in a Chinese Han population [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e84514.
- [36] SHEHJAR F, DIL-AFROZE, MISGAR RA, et al. PTPN22 1858 C/T exon polymorphism is not Associated with Graves' disease in Kashmiri population [J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2018, 22(4): 457-460.

(收稿日期:2019-06-20)