

全基因组关联研究发现 8p21.3 区域的 *INTS10* 基因是一种新的抑制 HBV 感染的抗性基因



李元丰 博士

李元丰, 思兰兰, 翟芸, 贺福初, 张红星, 周钢桥

中国人民解放军军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京蛋白质组研究中心, 蛋白质组学国家重点实验室, 北京 100850

乙型肝炎病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染是最常见的病毒性传染病之一, 全球大约有 2.5 亿 HBV 慢性携带者。我国大约有 7500 万 HBV 慢性携带者, 位列全球各国之首。HBV 感染后可能引发一系列肝脏疾病, 包括慢性乙型肝炎、肝硬化和肝癌。因此, 预防和治疗 HBV 慢性感染意义重大。成年个体感染 HBV 后, 绝大多数个体可以清除病毒, 只有少部分个体(~10%)会发展成为慢性感染者。病毒因素和环境因素均可能导致这种个体化差异。病毒因素和环境因素主要包括性别、年龄、HBV 基因型等。而分离分析和双生子研究提示, 遗传因素在 HBV 慢性感染过程中也发挥重要作用。以往基于候选基因的研究策略, 研究人员已陆续发现了若干个与 HBV 感染慢性化显著相关的单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP) 这些 SNP 位于 *ESR1*、*CD24*、*TNF- α* 等基因上。随着全基因组关联研究(Genome-wide association study, GWAS)的兴起, 研究人员基于该策略在亚洲人群中陆续发现了数个新的与 HBV 感染慢性化相关的遗传易感基因区域, 包括 *HLA-DP*(rs3077 和 rs9277535)、*HLA-DQ*(rs2856-718 和 rs7453920)、*HLA-C*(rs3130542)、*EHMT2* (rs652888)、*TCF19*(rs1419881)、*CFB*(rs12614)、*UBE2-L3*(rs4821116)和 *CD40*(rs1883832)。其中绝大多数位点(除 rs4821116 和 rs1883832 外)位于主要组织相容性复合体(Major histocompatibility complex, MHC)区域。

为进一步发掘新的易感基因, 本研究团队与国内多家研究单位合作, 开展了新一轮 HBV 感染慢性化的 GWAS。在本项研究中, 我们使用 HBV 持续性感染者作为病例, 使用自限性恢复者作为对照, 以发现与 HBV 持续性感染相关的遗传易感位点。在 GWAS 发掘阶段, 我们基于我国科学家以往发表在

Nature Genetics 或 *Plos Genetics* 杂志上的其它复杂疾病或表型的 GWAS 数据(包括 HBV 相关肝癌、鼻咽癌、肺癌和血清 C3/C4 水平), 从中筛选出符合本项研究的 1251 例病例和 1057 例对照。

我们通过全基因组 SNP 推算, 合并不同来源的 GWAS 数据并进行了全基因组水平的遗传关联分析。本项研究重复出了大部分以往通过 GWAS 发现的与 HBV 感染慢性化显著相关的 SNP 位点, 如 *HLA-DP*、*HLA-DQ*、*CFB*、*CD40* 等基因上的 SNP 位点。同时, 本项研究重复出以往发现的与 HBV 感染慢性化显著相关的若干其它 *HLA* 基因。为了发现新的与 HBV 感染慢性化相关的 SNP 位点, 我们选取了最为显著的 72 个候选位点进行了多个独立人群的关联分析验证。最终, 我们新发现了 8p21.3 区域的 rs7000921 与 HBV 感染慢性化显著相关, 遗传关联的 P 值达到 3.2×10^{-12} 。

以往的研究表明, 位于非编码区的 SNP 位点, 可能位于增强子等功能调控元件区, 从而特定调控基因 mRNA 和蛋白表达水平, 进而影响疾病的易感性。为此, 我们使用了两个肝脏组织来源的 mRNA 表达谱数据集, 发现 rs7000921 的保护性等位型 C 与 *INTS10* 基因的高表达呈显著正相关, 并且携带 rs7000921 保护性 C 等位的样本(CC 和 CT) 其 *INTS10* 表达值较之 TT 基因型的个体高 22%~31%, 提示该区域的易感基因是 *INTS10*, 且 *INTS10* 可能是抗病毒基因。

INTS10 是整合因子复合体亚基之一。该基因在肝脏组织中有较高表达。但该基因以往从未被报道与抗病毒作用有关。我们通过体外表型实验, 证明了 *INTS10* 在体外水平具有抑制 HBV 复制的功能。

我们进一步通过组学数据的通路聚类分析, 预测 *INTS10* 可能通过诱导基因蛋白 1(Retinoic acid-inducible gene 1, RIG-I)样受体(RIG-I-like receptor, RLR)信号通路发挥抑制 HBV 复制的功能。随后我们通过体外实验, 证明了 *INTS10* 能够激活 IRF3 的磷酸化, 并进一步激活下游干扰素刺激应答元件(Interferon-stimulated response element, ISRE), 诱导产生更多的 III 型干扰素, 从而发挥抑制 HBV 的功能(图 1)。我们进一步在 HBV 慢性感染者的肝脏组织中证实, *INTS10* 与磷酸化 IRF3 的水平呈显著正相关。进一步研究发现, 在持续性感染者的血浆样本中, *INTS10* 蛋白的表达量显著低于自限性恢复者, 并且 *INTS10* 的表达与 HBV DNA 载量呈显著负相关,

并且在 HBV e 抗原(Hepatitis B e antigen, HBeAg)阳性个体中相关性更为显著。

综上所述, 我们通过全基因组关联研究和后续的功能机制研究, 首次发现并证实了整合因子复合体基因 *INTS10* 可通过 RIG-I 样受体信号通路激活机体的先天性免疫功能, 从而发挥抑制乙型肝炎病毒复制的作用。这一成果揭示了整合因子复合体具有此前从未被发现的抑制 HBV 感染的新功能, 为整合因子复合体的研究开辟了新的方向; 同时, 有助于深入了解 HBV 慢性感染的分子机制, 为其有效防治提供了理论依据和新的候选生物靶标。本研究成果于 2016 年 5 月 31 日在线发表在国际著名刊物 *Nature Communications*(DOI: 10.1038/ncomms11664)。

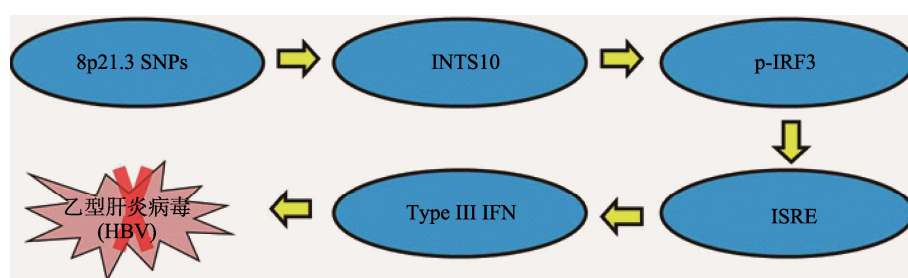


图 1 *INTS10* 抑制 HBV 复制的机制示意图

Fig. 1 The mechanism by which *INTS10* suppresses HBV replication