基础研究 文章编号:0253-3626(2010)12-1769-04

# 重庆老年汉族人群 klotho G-395A、F352V 与 C370S 基因多态性与原发性骨质疏松症的相关性研究

田小春,马厚勋,刘晓林,周 平,吴 平,金炯娜
(重庆医科大学附属第一医院老年病科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨重庆地区汉族老年人群 klotho G-395A、F352V 与 C370S 3 个位点的单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism,SNP)与原发性骨质疏松症的相关性。方法:应用嵌套式等位基因特异性引物 PCR 技术测定重庆地区汉族老年人群 300 例原发性骨质疏松症患者和 93 例对照者 klotho G-395A、F352V、C370S SNP,比较两组基因型和等位基因分布频率。结果:在 klotho G-395A SNP 中,原发性骨质疏松症组患者 AA 等位基因型频率较对照组高,有显著性差异($P<0.01$),按性别分层研究则仅男性原发性骨质疏松症患者 AA 等位基因型频率较对照组高,有显著性差异($P<0.01$);在 klotho F352V SNP 中,无论男性还是女性原发性骨质疏松症患者 FF、FV 与 VV 各等位基因型频率与对照组均无显著性差异($P>0.05$);在 klotho C370S SNP 中,无论男性还是女性原发性骨质疏松症患者其 CC、CS 与 SS 各等位基因型频率与对照组比较均无显著性差异($P>0.05$)。结论:klotho G-395A SNP 与原发性骨质疏松症有相关性,并存在着性别差异性;而尚未发现 klotho F352V 与 C370S SNP 与原发性骨质疏松症有相关性。

【关键词】Klotho 基因;单核苷酸多态性;原发性骨质疏松症;老年人
【中国图书分类法分类号】R681.5 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-08-12

# Association of single nucleotide polymorphisms of klotho G-395A, F352V and C370S with primary osteoporosis in elderly people of Chinese Han nationality population in Chongqing

*TIAN Xiao-chun, et al*
(*Department of Geriatrics, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the association between primary osteoporosis and single nucleotide polymorphisms (SNP) at three sites of klotho gene of G-395A, F352V and C370S in elderly people of Han nationality in Chongqing. *Methods*: The G-395A, F352V and C370S single nucleotide polymorphism of klotho gene were tested by nested allele-specific primer (NASP) PCR in 300 patients with primary osteoporosis and 93 healthy elderly people of Han nationality in Chongqing. The distribution frequency of genotypes and alleles was compared between the two groups as well as between the gender and age groups. *Results*: The frequency of AA allelic genotypes of klotho G-395A in the osteoporosis group was significantly higher than that of the control group ($P<0.01$). According to gender stratification analysis, only the distribution frequency of AA allelic genotypes of klotho G-395A in male osteoporosis group was significantly higher than that of the male control group ($P<0.01$). There was no significant difference in the frequency of FF, FV or VV allelic genotypes of klotho F352V either in the male or female group between the osteoporosis group and the control group ($P>0.05$). There was no significant difference in the frequency of CC, CS or SS allelic genotypes of klotho C370S either in male or female group between the osteoporosis group and the control group ($P>0.05$). *Conclusion*: The G-395A SNP of klotho gene is associated with primary osteoporosis, which has sex difference between the two groups. No association of SNPs of the F352V and C370S of klotho gene with primary osteoporosis has been found.

【Key words】Klotho gene; Single nucleotide polymorphism; Primary osteoporosis; Elderly people

作者介绍:田小春(1982-),男,硕士,
研究方向:老年相关性疾病基础与临床。
通讯作者:马厚勋,男,主任医师,E-mail:mahouxun1966@yahoo.com.cn。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:30672212);重庆医科大学创新基金资助项目(编号:CX0507)。

原发性骨质疏松是目前严重威胁人类健康和生活质量的一种疾病,在世界范围内广泛流行。家系及双生子研究结果表明,骨质疏松是多基因调控、强遗传性的疾病[1]。Morrison 等[2]首先报道了维生素 D 受体等位基因与骨密度相关,并认为在决定骨密度的遗传因素中,维生素 D 受体等位基因占 75%。目前报道的与骨质疏松相关的基因还有很多,如雌激素受体 -α 基因、载脂蛋白 E 基因、Ⅰ型胶原基因[3]、雄激素受体基因、甲状旁腺素受体基因、降钙素受体基因、大麻素受体基因[4,5]以及低密度脂蛋白受体相关蛋白基因[6]。目前对骨质疏松症候选基因的研究主要集中于维生素 D 受体基因和雌激素受体 -α 基因。

Klotho 基因是与人类寿命和各种老年性疾病表型密切相关的一种新基因,klotho 基因突变鼠的表型类似于人类衰老的各种表型,包括寿命缩短、动脉硬化、皮肤萎缩、骨质疏松等,提示 klotho 基因可能与骨质疏松相关[7-9]。遗传分子生物学基因多态性是影响其功能差异性的重要原因,其中单核苷酸多态性最为常见。已有研究证实 klotho 单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism,SNP)与冠心病、卒中、骨质疏松症及寿命等有相关性。目前有关 klotho 基因多态性与骨质疏松相关性的研究主要集中在 klotho G-395A SNP,而有关 klotho F352V SNP 与骨质疏松相关性的研究甚少,如国外学者 Riancho 等[10]研究发现绝经后妇女 klotho F352V 突变与其髋部骨密度增高有相关性,即该位点基因突变可能影响绝经后妇女骨质疏松的发生;而有关 klotho C370S SNP 与原发性骨质疏松症关系的研究尚无报道。为此,本研究针对重庆地区汉族老年人群 klotho G-395A、F352V、C370S SNP 与原发性骨质疏松症关系进行研究,以探寻其与原发性骨质疏松症的相关性,为骨质疏松发病机制和遗传因素的相关性研究提供依据。

## 1 研究对象与方法

### 1.1 研究对象

本文资料选择重庆市自然汉族老年人群个体作为研究对象,随机选择符合 WHO 原发性骨质疏松症诊断标准(即双能 X 线测得骨密度值≤青年健康人群骨密度 -2.5SD)为纳入标准,除外继发性骨质疏松症的老年病人 300 例[男151 例,女 149 例,年龄 62~97 岁,平均年龄(79.66 ± 6.42)岁]作为原发性骨质疏松疾病组;另外选择无亲属关系的 93 例[男 69 例,女 24 例,年龄 60~90 岁,平均年龄(74.2 ± 9.22)岁]骨密度检测无骨质疏松症(即双能 X 线测得骨密度值 > 青年健康人群骨密度 -1SD)汉族老年个体作为骨质疏松症对照组。

### 1.2 研究方法

1.2.1 DNA 提取 取 EDTA 抗凝外周静脉全血 1 ml,用 DNA 提取专业试剂盒(由上海华舜生物工程有限公司提供)抽提白细胞染色体基因组 DNA。

1.2.2 Klotho 基因 SNP 检测

1.2.2.1 引物序列选取与设计 利用嵌套式等位基因特异性引物(Nested allele-specific primer,NASP)PCR 技术[11-13]检测 klotho G-395A、klotho F352V 与 klotho C370S SNP 的等位基因型。根据研究需要通过美国 NCBI(美国国家生物信息中心)的 GenBank 获取 klotho 基因序列 (klotho 基因序列来自 GenBank NO. AB009667. Homo sapiens klot...[gi:60391381])及其相应位点的 SNP 信息。利用 Primer5.0 软件设计符合研究需要的引物。本文设计引物序列均由中国大连宝生物工程有限公司合成。所设计引物序列,见表 1。

1.2.2.2 PCR 反应体系及其反应条件 检测 klotho G-395A、klotho F352V 与 klotho C370S SNP 的 PCR 反应体系中所用EX Taq 酶(5 U/μl)、10 × EX Taq 酶缓冲液、$MgCl_2$(25 mmol/L)、dNTP(含 dATP、dTTP、dGTP、dCTP 各 2.5 mmol/L)均由中国大连宝生物工程有限公司提供。klotho G-395A、klotho F352V 与 klotho C370S PCR 反应体系均为:EX Taq 酶(5 U/μl)0.1 μl、10 × EX Taq 酶缓冲液 2 μl、$MgCl_2$ (25 mmol/L)1.6 μl、dNTP(含 dATP、dTTP、dGTP、dCTP 各 2.5 mmol/L)1.6 μl、引物 1(5 μmol/L)1.6 μl、引物 2(5 μmol/L)1.6 μl 、DNA 模板 0.3 μl、灭菌双蒸水 11.2 μl,反应总体积 20 μl。PCR 反应条件:(1)klotho G-395A:G 等位基因为 94℃预变性 3 min,94℃变性 30 s,63℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共 35 个循环,72℃继续延伸 10 min;A 等位基因为 94℃预变性 3 min,94℃变性 30 s,61℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共 35 个循环,72℃继续延伸 10 min。(2)klotho F352V:F 和 V 等位基因的 PCR 反应条件相同:94℃预变性 3 min,94℃变性 30 s,54℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共 35 个循环,72℃继续延伸 10 min。(3)klotho C370S:C 和 S 等位基因的 PCR 反应条件相同:94℃预变性 3 min,94℃变性 30 s,54℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,共 35 个循

表 1 klotho G-395A、klotho F352V 与 klotho C370S 所设计的引物序列

| SNP sites 基因多态性位点 | primer 引物 | |
|---|---|---|
| klotho G-395A | P 11 | 5'-aattggctccagcaatgtccag-3' |
| | P 2-1 | 5'-agaaaaggcgccgaccaacttt[A]-3' |
| | P 2-2 | 5'-agaaaaggcgccgaccaacttt[G]-3' |
| klotho F352V | P 1-1 | 5'-ctttcatctattctgcctgat[T]-3' |
| | P 1-2 | 5'-ctttcatctattctgcctgat[C]-3' |
| | P 22 | 5'-cctgagacaaaccagccatt-3' |
| Klotho C370S | P 11 | 5'-tacaatacttctttccgtccc-3' |
| | P 2-1 | 5'-actcaaggagggtccaaag[C]-3' |
| | P 2-2 | 5'-actcaaggagggtccaaag[G]-3' |

注:引物序列中加框及有背景者代表特异性等位基因位点所在

环，72℃继续延伸 10 min。

1.2.2.3 Klotho 基因多态性检测及结果判断 本研究采用单一等位基因特异性引物 PCR 技术检测 klotho 基因多态性，具体方法参见文献[12~14]：通过使用公用上游引物分别与突变型下游引物、野生型下游引物组成引物对分别按上述提供的反应条件及相应的反应体系进行 PCR 扩增。

其扩增的产物用 2%琼脂糖凝胶电泳，溴化乙锭染色，WD-9403D 型紫外分析仪检测证实 PCR 结果，并用电脑控制的紫外线凝胶成像系统摄像，其电泳结果如下：

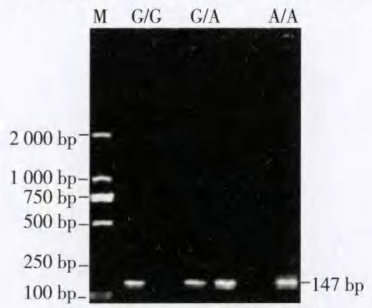



图 1 Klotho G-395A SNP 电泳图




图 2 Klotho F352V SNP 电泳图

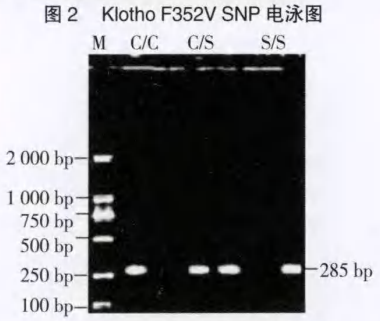



图 3 Klotho C370S SNP 电泳图

Klotho 基因多态性判断标准，参见文献[13,14]：如果 2 次 PCR 反应产物电泳结果均有目标条带出现即判断为杂合子基因型；只有其中 1 次 PCR 产物电泳结果阳性，即为野生型或突变型纯合子基因型。本研究还选择 klotho G-395A 位点 SNP 进行了基因测序分析研究证实其单一等位基因特异性引物 PCR 技术的准确性。

1.3 *资料分析方法*

1.3.1 聚类分析 对每个 SNP 位点的等位基因型，分别进行聚类分析，获得每个等位基因型的分布频数。

1.3.2 统计分析 采用分类资料相关分析，以 $P<0.05$ 作为统计学差异的判别标准。同类数据以均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，以 $P<0.05$ 作为统计学差异的判别标准。数据处理和图表绘制主要在 MS-OFFICE2003 的 EXCEL 软件及 SPSS 18.0 统计软件下完成。

## 2 结 果

本文研究结果显示：(1)老年原发性骨质疏松症组 klotho G-395A SNP AA 等位基因型频率较对照组高，有显著性差异（$P<0.01$）；其余各等位基因型频率 2 组均无显著性差异（$P>0.05$）。按性别分层研究，仅原发性骨质疏松症组男性患者 klotho G-395A SNP AA 等位基因型频率较对照组高，有显著性差异（$P<0.01$），而原发性骨质疏松症女性患者 AA 等位基因型频率与对照组比较无显著性差异（$P>0.05$）；原发性骨质疏松症女性患者 GG 等位基因型频率（46.98%）较对照组低（66.67%），但两者比较未达到显著性差异（$P=0.073$）；其余各等位基因型频率两组间均无显著性差异（$P>0.05$）。(2)老年原发性骨质疏松症组 klotho F352V SNP FF、FV 与 VV 各等位基因型频率与对照组比较均无显著性差异（$P>0.05$）；按性别分层研究，无论原发性骨质疏松症组男性患者还是女性患者 klotho F352V SNP FF、FV 与 VV 各等位基因型频率与对照组比较，两组均未达到显著性差异（$P>0.05$）。(3)老年原发性骨质疏松症组 klotho C370S SNP CC、CS 与 SS 各等位基因型频率与对照组比较，均无显著性差异（$P>0.05$）；按性别分层研究，结果显示原发性骨质疏松症组无论男性还是女性患者其 CC、CS 与 SS 各等位基因型频率与对照组比较，两组均未达到显著性差异（$P>0.05$）。其余详见表 2。

采用 Logistic 回归分析 klotho G-395A、F352V 与 C370S SNP 与原发性骨质疏松症关系时，发现 klotho G-395A SNP 与原发性骨质疏松症有明确相关关系（$P=0.017$），经年龄、性别分层后其相关性仍然存在（$P=0.003$）；而 klotho F352V 与 C370S SNP 与原发性骨质疏松症无明确相关关系（$P>0.05$）。

## 3 讨 论

骨密度是反映骨质疏松症骨量减少的可靠指标，受遗传和环境等多种因素的影响。基因多态性与骨质疏松的关系是近年来国内外研究的热点。目前发现多种基因，例如 ER 基因、维生素 D 基因、转化生长因子基因的多态性可能与骨密度有关[15-17]。Klotho 基因为一种由 Kuro-o 等[18]在 1997 年所发现的与衰老有明确相关性的基因，研究发现该基因缺陷的小鼠会出现包括动脉硬化、皮肤萎缩、骨质疏松等类衰老表型，提示其可能与骨质疏松相关。随后发现人类 klotho 基因定位于染色体 13q12 上，为含有 5 个外显子大约 50 kb 的基因组 DNA[19]所组成，由此开始了人类 klotho 基因功能及表达研究的先河。

近年来有关 klotho 基因多态性与人类疾病关系的研究取得了一些成果，已有研究报道该基因多态性与人类冠心病、卒中、骨质疏松症以及寿命有关，如 klotho F352V 和 C370S 两个单核苷酸多态性突变导致了氨基酸的替换，其中 F352V 在真核细胞生物同源蛋白质中是非常保守的，该位点

表 2 原发性骨质疏松症组与对照组 Klotho G-395A、F352V 和 C370S SNP 等位基因型分布比较表

| 基因型 | 骨质疏松症组 | | | | | | 对照组 | | | | | | P值 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 总数 | 频率 | 男 | 频率 | 女 | 频率 | 总数 | 频率 | 男 | 频率 | 女 | 频率 | 总数 | 男 | 女 |
| klotho G-395G | 136 | 45.33 | 66 | 43.71 | 70 | 46.98 | 50 | 53.76 | 34 | 49.28 | 16 | 66.67 | 0.178 | 0.442 | 0.073 |
| klotho G-395A | 112 | 37.33 | 54 | 35.76 | 58 | 38.93 | 38 | 40.86 | 31 | 44.93 | 7 | 29.17 | 0.541 | 0.195 | 0.360 |
| klotho A-395A | 52 | 17.34 | 31 | 20.53 | 21 | 14.09 | 5 | 5.38 | 4 | 5.80 | 1 | 4.16 | 0.004 | 0.006 | 0.176 |
| klotho F352F | 105 | 35.00 | 48 | 31.79 | 57 | 38.26 | 38 | 40.86 | 28 | 40.58 | 10 | 41.67 | 0.305 | 0.203 | 0.750 |
| klotho F352V | 188 | 62.67 | 98 | 64.90 | 90 | 60.40 | 53 | 56.99 | 39 | 56.53 | 14 | 58.33 | 0.326 | 0.234 | 0.848 |
| klotho V352V | 7 | 2.33 | 5 | 3.31 | 2 | 1.34 | 2 | 2.15 | 2 | 2.90 | 0 | 0.00 | 0.918 | 0.871 | 0.568 |
| klotho C370C | 143 | 47.67 | 75 | 49.67 | 68 | 45.64 | 45 | 48.39 | 38 | 55.08 | 7 | 29.17 | 0.903 | 0.457 | 0.131 |
| klotho C370S | 149 | 49.67 | 72 | 47.68 | 77 | 51.68 | 45 | 48.39 | 30 | 43.48 | 15 | 62.50 | 0.829 | 0.562 | 0.324 |
| klotho S370S | 8 | 2.66 | 4 | 2.65 | 4 | 2.68 | 3 | 3.22 | 1 | 1.45 | 2 | 8.33 | 0.775 | 0.580 | 0.160 |

注：总数、男、女的单位为(例)，频率的单位为(%)

的突变对 klotho 基因的功能产生了非常重要的意义[20]；klotho 启动子区域的 G-395A 通过 G/A 替换影响了 DNA 与蛋白质的结合，进而影响代谢特别是骨代谢[21]。Ogata 等[22]研究发现绝经后 10~20 年妇女其 klotho 基因末端外显子的下游携带 7 个 CA 重复序列者其骨密度较高，而携带 5 个 CA 重复序列者骨密度较低，提示该 CA 重复序列多态性参与了骨质疏松症的发病。Mullin 等[23]研究发现 klotho 基因 G1775A SNP G 等位基因携带者骨钙素水平较 A 等位基因携带者更低，这就提示 klotho 基因产物变异影响成骨细胞活性，这种作用并不依赖于破骨细胞活性，但这种突变并未对骨结构有影响。Yamada 等[24]发现日本妇女 klotho G -395A SNP GG 携带者其腰椎骨密度较 AA 或 GA+AA 携带者低，同时发现在绝经前妇女这种位点多态性与其骨密度并无相关性，而只在绝经后妇女这种位点多态性与其骨密度减低有关；Riancho 等[10]研究发现绝经后妇女 klotho F352V 中 FV/VV 基因型者髋部骨密度较野生型高，而在绝经前妇女该等位基因型与其骨密度无关，klotho F352V SNP 与绝经后妇女骨密度有关，这提示 klotho基因突变影响骨骼老化。

目前关于 klotho G-395A SNP 与骨代谢关系的研究报道较少。本研究以重庆地区汉族老年人群作为研究对象，发现在老年原发性骨质疏松症组患者中，klotho G-395A SNP AA 等位基因型频率较对照组高，有显著性差异($P<0.01$)，其余各等位基因型频率两组均无显著性差异($P>0.05$)；按性别分层研究则仅男性原发性骨质疏松症患者 AA 等位基因型频率较对照组高，有显著性差异($P<0.01$)，即提示 AA 等位基因型男性携带者其易患原发性骨质疏松症，而在原发性骨质疏松症老年女性患者中 GG 等位基因型频率(46.98%)虽较对照组低(66.67%)，但两者比较未达到显著性差异($P=0.073$)。本文发现 klotho G-395A SNP AA 等位基因型与男性老年人骨质疏松症有关，这可能与该位点变异影响其 DNA 与蛋白质相互作用，进而影响骨代谢有关[21]。

目前有关 klotho F352V SNP 与骨质疏松相关性研究的文献甚少，而有关 klotho C370S SNP 与原发性骨质疏松症相关性的研究尚未见报道。本文就重庆地区汉族老年人群原发性骨质疏松症与 klotho F352V 和 C370S SNP 的关系研究，发现在 klotho F352V SNP 中，无论男性还是女性原发性骨质疏松症患者 FF、FV 与 VV 各等位基因型频率与对照组比较均无显著性差异($P>0.05$)；在 klotho C370S SNP 中，无论男性还是女性原发性骨质疏松症患者其 CC、CS 与 SS 各等位基因型频率与对照组比较均无显著性差异($P>0.05$)。本文研究并未发现 klotho F352V 和 C370S SNP 与原发性骨质疏松症有相关性，并未发现与文献报道[10]klotho F352V 的该位点突变影响其绝经后妇女骨密度的相似结果，这可能与人群种族差异以及研究对象样本有关，为此尚需进一步研究加以证实。

综上，对于骨质疏松症的治疗尚无理想方法，一旦发生，就无法使骨质疏松的骨骼恢复原来的骨质量，因此对于骨质疏松症来说预防大于治疗。本文研究发现 klotho G-395A SNP AA 等位基因型男性携带者有可能易患原发性骨质疏松症，这就能为其筛选原发性骨质疏松症高危人群提供遗传学依据，为其原发性骨质疏松症的早期防治提供线索。

## 参 考 文 献


[1] Kanis J A, Melton L J 3rd, Christiansen C, et al. The diagnosis of osteoporosis[J]. J Bone Miner Res, 1994, 9(8): 1137-1141.

[2] Morrison N A, Qi J C, Tokita A, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles[J]. Nature, 1994, 367(6460): 284-287.

[3] Ralston S H, Uitterlinden A G, Brandi M L, et al. Large-scale evidence for the effect of the COLIA1 Sp1 polymorphism on osteoporosis outcoms: the GENOMOS study[J]. PloS Med, 2006, 3(4): e90.

[4] Idris A I, Van't Hof R J, Greig I R, et al. Regulation of bone mass, bone loss and osteoclast activity by cannabinoid receptors[J]. Nat Med, 2005, 11(7): 774-779.

[5] Karsak M, Cohen-Solal M, Freudenberg J, et al. Cannabinoid receptor type 2 gene is associated with human osteoporosis[J]. Hum Mol Genet, 2005, 14(22): 3389-3396.

[6] Koay M A, Woon P Y, Zhang Y, et al. Influence of LRP5 polymorphisms on normal variation in BMD[J]. J Bone Miner Res, 2004, 19(10): 1619-1627.

[7] Tsujikawa H, Kurotaki Y, Fujimori T, et al. Klotho, a gene related to a syndrome resembling human premature aging, functions in a negative regulatory circuit of vitamin D endocrine system[J]. Mol Endocrinol, 2003, 17(12): 2393-2403.

基础研究 文章编号:0253-3626(2010)12-1773-06

# 肝癌细胞微环境对不同分化阶段树突状细胞功能状态的影响

曾 柱[1],龙金华[2],陈 琳[3]

(1.贵州省贵阳医学院生物技术教研室,贵阳 550004;2.贵州省肿瘤医院头颈肿瘤科,贵阳 550004;3.贵州省贵阳医学院物理教研室,贵阳 550004)

【摘 要】目的:肿瘤的发生发展伴随有其对免疫系统各效应单元的显著抑制,树突状细胞(Dendritic cells,DCs)是目前所知功能最为强大的抗原呈递细胞(Antigen presenting cells,APC)并在天然和适应性免疫应答的启动方面发挥着至关重要的作用。本文探讨肝癌细胞(Hepatocellular carcinoma cells,HCC)分泌的可溶性细胞因子营造的微环境对树突状细胞的功能状态的影响,以探索傅立叶变换红外光谱(Fourier transformed infrared spectrum,FT-IR)技术在基于 DCs 的抗肿瘤细胞免疫治疗中的临床应用。方法:用免疫磁珠(Miltenyi biotec)从人外周血分离 $CD14^+$ 单核细胞,加入粒-巨噬细胞集落刺激因子(Recombinant human granulocyte-macrophage CSF,rhGM-CSF)、白介素 4(Recombinant human interleukins 4,rhIL-4)将单核细胞诱导分化为未成熟 DCs(Immature DCs,imDCs),利用肿瘤坏死因子 α(Tumor necrosis factor-α,TNF-α)将 imDCs 诱导为成熟 DCs(Mature DCs,mDCs),分别将 imDCs 和 mDCs 与 HCC 在 Transwell 中共培养 48 h,正常培养和撤生长因子培养的 DCs 作为对照,采用 FT-IR 技术和分子生物学技术研究 HCC 对 DCs 功能状态的影响。结果:与正常培养和撤生长因子培养的 DCs 相比,与 HCC 共培养 DCs 的基因转录活性和能量状态受到了显著的抑制,免疫印迹的结果进一步证实 DCs 的转录因子 NF-κB 的确受到了由 HCC 分泌的细胞因子的抑制。结论:HCC 能够抑制 DCs 的基因转录活性和能量状态,FT-IR 的变化与转录因子 NF-κB 的表达具有高度的相关性,这为 FT-IR 技术应用于检测 DCs 的功能状态奠定了基础,对基于 DCs 的抗肿瘤免疫治疗具有重要意义。

【关键词】树突状细胞;傅立叶变换红外光谱;基因转录活性;能量状态

作者介绍:曾 柱(1969-),男,副教授,博士,研究方向:树突状细胞生物学。

基金项目:教育部科学技术重点项目(编号:210196);贵州省省长基金(编号:黔省专字 2009-79);贵州省自然科学基金(编号:黔省合 J 字 2008-2274);贵州省贵阳市科学技术项目(编号:2010 筑科农合同字第 1-社-12)。

[8] Kuro-o M. Klotho as a regulator of fibroblast growth factor signaling and phosphate/calcium metabolism[J].Curr Opin Nephrol Hypertens,2006,15(4):437-441.

[9] Nabeshima Y. Toward a better understanding of Klotho[J].Sci Aging Knowledge Environ,2006,2006(8):pe11.

[10] Riancho J A,Valero C,Hernández J L,et al.Association of the F352V variant of the Klotho gene with bone mineral density[J].Biogerontology,2007,8(2):121-127.

[11] 马厚勋,牛永红,李章勇,等.等位基因特异性引物 PCR 技术其应用研究[J].生物技术,2005,15(1):15-18.

[12] 马厚勋,谢正祥,牛永红,等.中国汉族人群 NOS3 基因启动子 T-786C、A-922G 与第 7 外显子 G894T 多态性等位基因及其组合分布[J].中国老年学杂志,2004,24(12):1137-1140.

[13] 马厚勋,谢正祥,牛永红,等.汉族人群 NOS3 A-922G、NOS3 T-786C 与 NOS3 G894T SNP 的等位基因及其组合分布与高血压的相关性[J].遗传,2006,28(1):3-10.

[14] 华明娟,马厚勋,牛永红,等.KLOTHO 的 3 个 SNP 位点分布与几种疾病相关性的研究[J].中国现代医学杂志,2008,18(9):1174-1178.

[15] 何进卫,黄琪仁,章振林,等.雌激素受体 α 和维生素 D 受体基因多态性与上海市妇女峰值骨量的关系[J].中华内分泌代谢杂志,2004,20(2):140-142.

[16] 李海林,龚晓辉,黄永坤,等.维生素 D 受体基因 Apa Ⅰ多态性与维生素 D 缺乏性佝偻病易感性研究[J].中华医学遗传学杂志,2005,22(1):105-107.

[17] 叶 伟,彭 焰,黄东生,等.TGF-β1 基因 -509 C>T 单核苷酸多态性与椎间盘疾病的关系[J].中国矫形外科杂志,2006,14(7):531-534.

[18] Kuro-o M,Matsumura Y,Aizawa H,et al. Mutation of the mouse Klotho gene leads to a syndrome resembling aging[J].Nature,1997,390(6655):45-51.

[19] Matsumura Y,Aizawa H,Shiraki-Iida T,et al. Identification of the human Klotho gene and its two transcrips encoding membrane and secreted Klotho protein[J].Biochem Biophys Res Commun,1998,242(3):626-630.

[20] Arking D E,Krebsova A,Macek M Sr,et al. Association of human aging with a functional variant of klotho[J].Proc Natl Acad Sci USA,2002,99(2):856-861.

[21] Kawano K,Ogata N,Chiano M,et al. Klotho gene polymorphisms associated with bone density of aged postmenopausal women[J].J Bone Miner Res,2002,17(10):1744-1751.

[22] Ogata N,Matsumura Y,Shiraki M,et al.Association of klotho gene polymorphism with bone density and spondylosis of the lumbar spine in postmenopausal women[J].Bone,2002,31(1):37-42.

[23] Mullin B H,Wilson S G,Islam F M,et al.Klotho gene polymorphisms are associated with osteocalcin levels but not bone density of aged postmenopausal women[J]. Calcif Tissue Int,2005,77(3):145-151.

[24] Yamada Y,Ando F,Niino N,et al.Association of polymorphisms of the androgen receptor and klotho genes with bone mineral density in Japanese women[J].J Mol Med,2005,83(1):50-57.

(责任编辑:关蕴良)