

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.24.002

雌激素受体 α (ESR1)基因 *Pvu*II 和 *Xba*I 位点基因多态性与 HBV 慢性感染的相关性研究*

任雯^{1,2} 王霞¹ 李平² 马克君² 门可^{1,3Δ}

(1.第四军医大学,军事预防医学院 陕西 西安 710032;2 兰州大学第二医院 甘肃 兰州 730030;

3 西安医学院健康信息与技术研究所 陕西 西安 710021)

摘要 目的:探讨雌激素受体 ESR1(Estrogen Receptor alpha gene)基因的 *Pvu*II(rs2234693)和 *Xba*I(rs9340799)两个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)位点的基因多态性与乙型肝炎病毒 HBV(Hepatitis B Virus)慢性感染的相关性,为控制 HBV 持续感染提供新的思路和科学依据。**方法:**选择 107 例慢性乙型病毒性肝炎患者为病例组及 107 例同期体检的健康人群为对照组,基于高分辨熔解曲线技术(High Resolution Melting, HRM)建立 PCR-HRM 分子诊断方法,检测其雌激素受体 ESR1 基因两个 SNP 位点 rs2234693(T>C)和 rs9340799(A>G)的基因多态性,并通过基因测序进一步验证,探讨上述两个 SNP 位点与 HBV 慢性感染的相关性。**结果:**病例组和健康对照组 ESR1 基因 rs2234693(T>C)位点的基因型频率比较差异具有统计学意义($P<0.05$),而两组间 rs2234693 位点等位基因频率比较差异没有统计学意义($P>0.05$);病例组和健康对照组间 ESR1 基因 rs9340799(A>G)位点的各基因型频率差异具有统计学意义($P<0.05$),慢性乙肝病例组 GG 基因型明显升高,两组间 rs9340799 位点等位基因频率差异亦具有统计学意义($P<0.05$)。Logistic 回归分析显示 rs9340799 位点的 G 基因可增加 HBV 慢性感染的发病风险,A 基因可降低 HBV 慢性感染的发病风险。**结论:**雌激素受体基因 ESR1 的 rs9340799 (A>G)位点的 GG 基因型和 G 等位基因可能是 HBV 感染慢性化的遗传易感基因,GG 基因型与 HBV 的慢性感染具有一定的相关性。

关键词:乙型肝炎;雌激素受体;基因多态性;高分辨熔解曲线

中图分类号:R-33;R512.62 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2018)24-4607-07

Association of *Pvu*II and *Xba*I Polymorphisms in Estrogen Receptor alpha (ESR1) Gene with the Chronic Hepatitis B Virus Infection*

REN Wen^{1,2}, WANG Xia¹, LI Ping², MA Ke-jun², MEN Ke^{1,3Δ}

(1 College of Military Preventive Medical, The Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou, Gansu, 730030, China;

3 Institute for Research on Health Information and Technology, Xi'an, Shaanxi, 710021, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the correlation of *Pvu*II (rs2234693) and *Xba*I (rs9340799) polymorphisms in estrogen Receptor alpha(ESR1)gene with Chronic Hepatitis B Virus Infection, and provide new ideas and scientific basis for controlling chronic infection of HBV. **Methods:** The molecular diagnosis methods of PCR-HRM based on the high resolution melting curve technique (HRM) were established, 107 patients with chronic hepatitis B(CHB) and 105 healthy controls were selected, the gene polymorphisms of two SNPs were determined by PCR-HRM. The results were further verified by gel electrophoresis and gene sequencing, the correlation between these two SNP sites and HBV chronic were analyzed. **Results:** The genotype frequencies of rs2234693 site were significantly different between CHB cases and the controls($P<0.05$), the allele frequency of rs2234693 showed no difference between two groups. The genotype frequencies of rs9340799 site was significantly different between CHB cases and the controls ($P<0.05$). The GG genotype was significantly increased in the chronic hepatitis B group. The allele frequency of rs9340799 site was significantly different between the two groups ($P<0.05$). According to Logistic regression analysis, the G gene of rs9340799 could increase the risk of chronic infection of HBV and the A gene could reduce the risk of chronic infection of HBV. **Conclusions:** The GG genotype and G allele of rs9340799 (A>G) of estrogen-receptor gene ESR1 may be the genetic susceptibility gene of HBV infection. The GG genotype is associated with chronic infection of HBV.

Key words: Hepatitis B; Estrogen receptor; Gene polymorphism; High resolution melting

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R512.62 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)24-4607-07

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81773496);陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2016JM8103);

2014 甘肃省卫生行业管理项目(GWGL2014-70);兰州大学第二医院院内博士科研基金项目(yinbskyjj2015-2-17)

作者简介:任雯(1988-),女,硕士研究生,研究方向:传染病流行病学,E-mail: renwen0625@126.com

Δ 通讯作者:门可(1970-),男,博士,副教授,研究方向:传染病流行病学,E-mail: menke@xjy.edu.cn

(收稿日期:2018-08-13 接受日期:2018-09-10)

前言

乙型肝炎是世界范围内广泛流行的疾病,是由乙肝病毒 HBV(Hepatitis B virus)引起的常见传染病。每年因 HBV 感染导致相关疾病的死亡人数为 50 万至 120 万,位列全球第十位致死因素^[1,2]。尽管启动的新生儿免疫计划将乙肝表面抗原携带者的感染率从 1992 年的 9.8%降到了 2006 年的 7.18%,但是乙肝病毒在发展中国家中依旧存在着很大的经济负担^[3]。我国是 HBV 感染的高发区,由于缺乏特效的治疗,乙型肝炎已成为威胁我国人民健康的主要传染病之一^[4]。2006 年,全国乙肝血清流行病学调查结果显示 HBV 携带者高达 9300 万,慢性乙肝患者达 2500 万^[5]。乙型肝炎病毒是一种性激素应答病毒,肝脏是一种性二态性的器官^[6],男性慢性乙肝的发病率一般高于女性,这种性别上的差异是由于雌激素的分泌减少或雌激素的反应减少所致,并且 ESR1 基因启动子甲基化的存在于乙肝疾病中^[7],性别因素在 HBV 慢性化感染中起重要的作用。肝脏是性激素的代谢器官,人的机体在感染 HBV 后会使用性激素紊乱,对慢性乙肝的进展产生影响,男性病毒性肝炎的患病率要高于女性^[8],急性肝炎也是如此^[9]。

一定水平的雌激素可通过阻止肝纤维化,避免肝细胞炎症损伤,抑制肝细胞凋亡等途径来发挥保护肝脏的作用^[10]。最新的研究表明雌激素及雌激素受体的相互作用在其中占重要的位置,雌激素的作用主要是由两个已知的雌激素受体 α (ESR1)和雌激素受体 β (ESR2)来调节的。其大部分生物学效应主要是由 ESR1 介导的,雌激素主要与雌激素受体 α (ESR1)发挥特异性结合而发挥作用^[11,12]。迄今,已经有许多的研究报道显示 ESR1 基因多态性可能与前列腺^[13]、子宫内膜^[14]、乳腺^[15]、卵巢^[16]、子宫肌瘤^[17]和结肠直肠^[18]等各种器官的肿瘤风险相关,雌激素通过与雌激素受体 α (ESR1)结合来发挥抗癌的作用^[19],雌激素受体 ESR1 的基因多态性也有可能是 HBV 慢性化感染的重要原因之一。本研究从雌激素受体基因 ESR1 多态性方面探讨其与 HBV 慢性化感染的相关性,旨在为控制 HBV 慢性感染提供新的科学依据和线索。

1 材料与方法

1.1 研究对象

根据乙肝的血清学标志物、HBV DNA 定量结果和肝功能指标,选取 2016 年 10 月至 2017 年 10 月期间在兰州大学第二医院肝病科住院的慢性乙型病毒性肝炎患者 107 例作为病例组,所有病例组的研究对象都以有乙型肝炎病史或乙型肝炎表面抗原 HBsAg 阳性持续六个月以上者,现 HBsAg 阳性和 / 或 HBV DNA 仍为阳性者,可诊断为慢性 HBV 感染。患者年龄 9~68(36.9 $\pm$ 12.4)岁,男性 70 例,女性 37 例。选取 2016 年 10 月至 2017 年 10 月在兰州大学第二医院体检中心进行体检的健康人群 107 例作为对照研究组,年龄 14~79(42.3 $\pm$ 14.5)岁,男性 70 例,女性 37 例。其中,慢性乙型病毒性肝炎患者诊断应符合中华医学会肝病学分会、感染学分会于 2015 年修订的慢性乙型肝炎诊断标准^[20]。所选的两组研究人群均无血缘关系,均为汉族,纳入的研究对象均获得个人和家属的知情同意。

1.2 基因组 DNA 的提取和定量

使用 Tigen 生化科技有限公司的血液基因组 DNA 提取试剂盒对收集的病例组 and 对照组的 214 份血液标本进行基因组 DNA 的提取,使用 NanoDrop-2000 微量核酸蛋白检测仪,从上述提取的基因组 DNA 中吸取 1 μ L 放入仪器中检测 DNA 的浓度和纯度,检测所得的浓度单位是 ng/ μ L,一般认为 OD 260/280 $\approx$ 1.8,OD 260/280>1.9,表明有 RNA 污染,OD 260/280<1.6,表明有蛋白质和酚等物质的污染。本实验使用 OD 260/280:1.6~2.0,OD 260/230:1.5~2.0 的值作为纯度要求,于 -40℃保存备用。

1.3 引物设计及 PCR 反应条件

根据雌激素受体基因 ESR1 的两个 SNP 位点:rs2234693 (T>C)和 rs9340799(A>G),结合引物设计原则,设计两个 SNP 位点的上下游引物分别为:rs2234693 (T>C) 上游引物为 5'-A-CATGTTCTGTTGTCCATC-3',下游引物为 5'-CCAACTCTA-GACCACACTCAGG-3',扩增产物长度 102bp rs9340799(A>G)的上游引物为 5'-CATCTGAGTTCCAAATGTCCC-3',下游引物为 5'-TTTCAGAACCATTAGAGACCAATG-3' 扩增产物长度 107bp。引物的合成由北京梓熙生物科技有限公司合成。反应采用三步法 PCR 扩增,优化后的反应体系条件是:95℃预变性 2 min,1 个循环;95℃变性 10 s,58℃退火 15 s,72℃延伸 15 s,扩增 40 个循环。PCR 扩增产物用 4%的琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。

1.4 HRM 检测

检测在 Rotor-Gene6000 荧光定量 PCR 仪上完成。使用 HRM Analysis PreMix 酶体系扩增并熔解,其中含有 EvaGreen 饱和染料,在高浓度情况下不会抑制 PCR 反应,可以使双链 PCR 产物的结合量达到饱和状态,能够很好的区分扩增产物之间单个碱基的差异。

熔解条件是 96℃变性 1 min,40℃退火 1 min,从 71℃开始熔解并收集荧光信号到 83℃,0.2℃/s,HRM 分析依据每个 SNP 位点的标本熔解曲线特征峰进行基因分型。

1.5 方法学验证

结合熔解曲线的位置和形状进行基因分型,随机选取已经进行过 HRM 基因分型的不同熔解曲线峰型的标本各 2~3 例和熔解曲线发生漂移不能直接进行基因分型的标本,将这些标本的 PCR 扩增产物在 100V 电压下,用 4%的琼脂糖凝胶电泳 15 min,确定目的条带为位置合适的单一的明亮条带时,将这些 PCR 产物送往生物公司进行基因测序,来验证本实验中基因分型的正确性。

1.6 统计学分析

采用 Hardy-Weinberg 平衡检验来确定研究的群体是否具有群体代表性,当检验得到的值 $P>0.05$ 时即表示研究的群体符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律,即具有群体代表性,采用 SHEsis 在线分析软件对研究对象进行 Hardy-Weinberg 平衡检验,并对所研究基因位点的等位基因频率和基因型频率进行统计分析,每个位点基因型的危险评估采用比值比(OR)及其 95%的可信区间(95%CI)表示, P 值 <0.05 时为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ESR1 基因 rs2234693 和 rs9340799 两个位点的 PCR 产物

电泳

雌激素受体 ESR1 基因两个 SNP 位点经 PCR 反应后使用 4 % 的琼脂糖凝胶电泳来鉴定基因组 DNA 的完整性, 下图是两个位点部分基因组 DNA 的电泳图, 电泳结果显示所扩增的

目的基因产物长度为 110 bp 左右, 为单一明亮条带, 未见杂带, 说明 PCR 产物没有非特异性扩增, 提示提取的基因组 DNA 完整性较好, 见图 1。

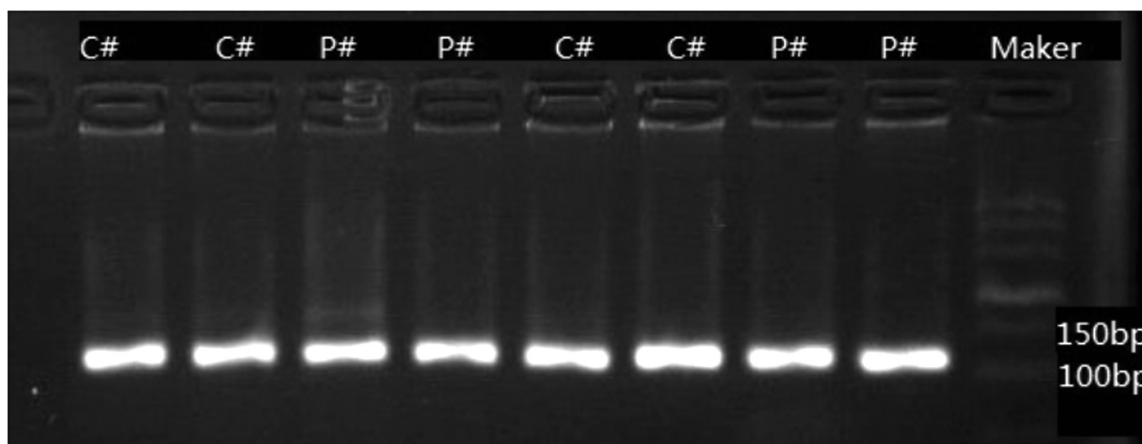


图 1 PCR 产物电泳图

Fig.1 Electrophoresis of PCR product

注: 最右端为 DNA Maker 电泳条带, 剩余电泳条带为随机选取的 SNP 位点的 PCR 扩增产物, 条带均位于 100bp-150 bp 之间, 与我们引物设计的 PCR 产物长度一致。

Note: The right end band is DNA Marker, and the remaining bands are PCR amplification products of randomly selected SNP sites. The bands are all located between 100bp-150 bp which is consistent with the length of PCR products designed by our primer.

2.2 SNP 位点基因分型与验证

2.2.1 rs2234693(T>C)的 HRM 的基因分型和测序验证 经检测, 本研究发现了 rs2234693(T>C)位点的三种基因型, 分别是:

野生型 TT、突变杂合型 CT、突变纯合型 CC。HRM 熔解曲线的基因分型图 and 对应基因测序图如图 2-1 和 2-2 所示, 结果表明 HRM 的基因分型结果和测序结果一致率达 99 %。

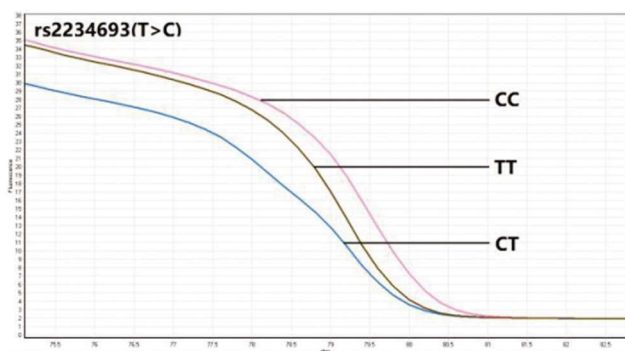


图 2-1 rs2234693(T>C)HRM 基因分型图

Fig.2-1 Genotyping map of rs2234693 (T>C)

2.2.2 rs9340799 (A>G) 的 HRM 的基因分型和测序验证 通过检测, 我们发现了 rs9340799 (A>G)位点的三种基因型, 分别是: 野生型 AA、突变杂合型 AG、突变纯合型 GG, HRM 熔解曲线的基因分型图 and 对应基因测序图如图 3-1 和 3-2 所示, 表明 HRM 的基因分型结果和测序结果一致率达 99 %。

2.3 Hardy-Weinberg 平衡检验

对病例组和健康对照组的 2 个 SNP 位点 rs2234693(T>C)、rs9340799 (A>G) 进行 Hardy-Weinberg 平衡检验, rs2234693 (T>C)位点的检验结果为病例组 P 值为 0.216, 符合遗传学平衡研究, 具有群体遗传代表性, 健康对照组 P 值为 0.000897, 不符合遗传学平衡研究, 不具有群体遗传代表性, 分析原因是样本

量的问题, 样本量太少会导致 Hardy-Weinberg 检验不平衡。

SNP 位点 rs9340799(A>G)的 Hardy-Weinberg 平衡检验的结果为病例组 P 值为 0.342, 健康对照组 P 值为 0.177, 说明病例组和健康对照组都符合遗传学平衡研究, 具有群体遗传代表性。

2.4 ESR1 基因两个 SNP 位点的多态性分布

进一步检测 ESR1 基因 rs2234693(T>C)位点的基因型频率和等位基因频率, 结果显示 HBV 病例组和健康对照组中基因型频率的分布差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), HBV 病例组和健康对照组等位基因频率分布差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 使用 SHEsis 在线软件进行 Logistic 回归分析, OR 值为 1.0 (95 % CI 0.67~1.47), 见表 1。

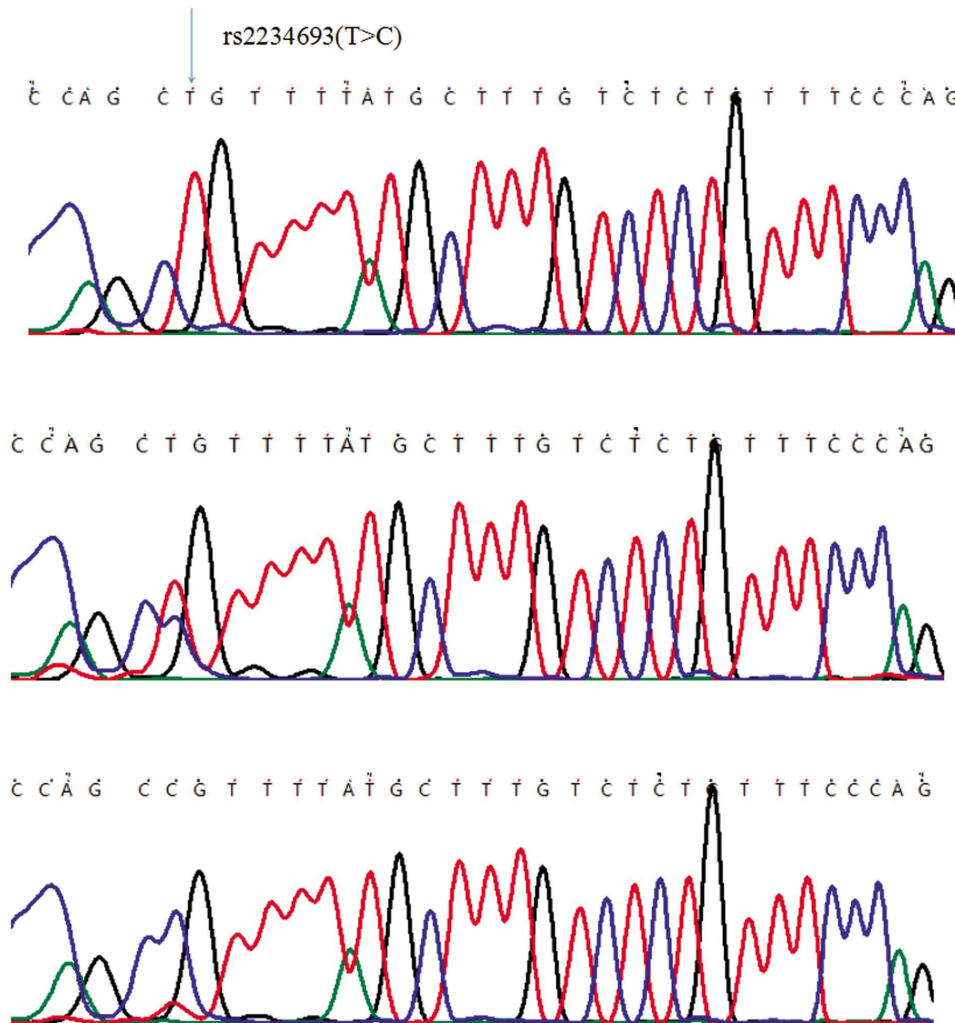


图 2-2 rs2234693(T>C)基因测序图(从上到下依次为 TT、CT、CC 基因型,其中图中红色表示碱基 T,蓝色表示碱基 C,绿色表示碱基 A,黑色表示碱基 G)

Fig.2-2 Sequencing map for genotypes of ESR1 Pvu II (rs2234693)polymorphism in genotyping by direct sequencing

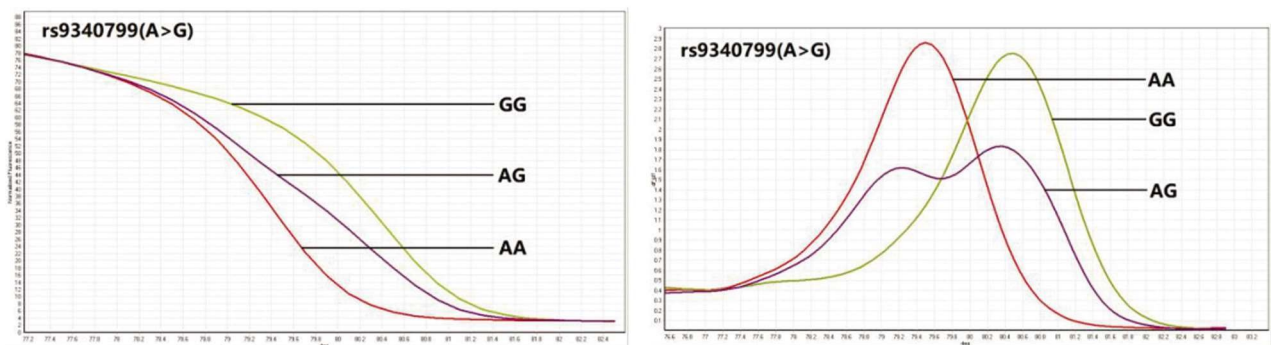


图 3-1 rs9340799(A>G)HRM 基因分型图

Fig.3-1 Genotyping map of rs9340799 (A>G)

检测 ESR1 基因 rs9340799(A>G)位点的基因型频率和等位基因频率,基因型频率和等位基因频率在 HBV 病例组和健康对照组中的分布中具有统计学显著差异($P<0.01$),A/G OR 值 0.27 (95 % CI 0.16~0.46),GG 基因型和 G 等位基因在 HBV 病例组中的分布明显高于健康对照组 (表 2),表明 rs9340799 (A>G)位点中的等位基因 A 是慢性乙肝的保护基因,等位基因 G 是慢性乙肝的危险基因,GG 基因型是慢性 HBV 感染的易感基因型,可增加 HBV 的发病风险。

3 讨论

雌激素受体(estrogen receptor, ER)是一种蛋白质分子,存在于靶细胞内,可与雌激素发生特异性结合形成激素-受体复合物,使雌激素发挥生物学效应。雌激素受体是核受体超家族成员,介导雌激素的多项效应,包括经典的核受体和膜性受体。其中,核受体包括 ER α (ESR1)和 ER β (ESR2)两种亚型,雌激素的作用是通过 ER α 和 ER β 来调节的,ER α 和 ER β 是细胞核

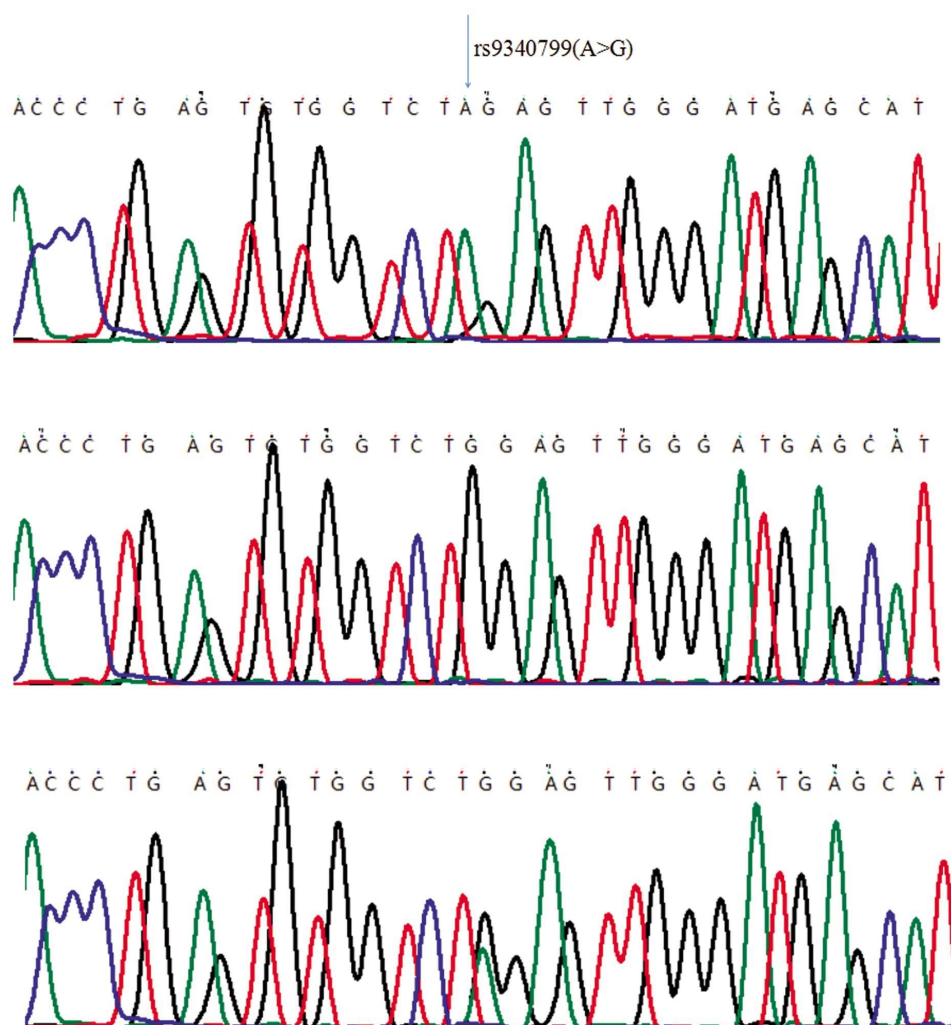


图 3-2 rs9340799(A>G)基因测序图(从上到下依次为 AA、GG、AG 基因型,其中图中红色表示碱基 T,蓝色表示碱基 C,绿色表示碱基 A,黑色表示碱基 G)

Fig.3-2 Sequencing map for genotypes of ESR1 XbaI(rs9340799)polymorphism in genotyping by direct sequencing

表 1 ESR1 基因 rs2234693(T>C)位点多态性

Table 1 ESR1 PvuII (rs2234693)polymorphism

Groups	n	Genotype frequency(n, %)			Gene frequency(n, %)	
		CC	CT	TT	C	T
CHB	107	20(19.2)	44(42.3)	40(38.5)	84(40.4)	124(59.6)
Controls	107	9(8.6)	67(63.8)	29(27.6)	85(40.5)	125(59.5)
χ^2			10.687		0.000364	
P			<0.01		>0.05	

的转录因子^[20],通过调节特异性靶基因的转录而发挥基因型调节效应。雌激素的作用主要是通过雌激素受体 ER α (ESR1)和 ER β (ESR2)调节的,大多数的生物学效应是由 ESR1 介导的。人体 ESR1 基因位于染色体 6q24~27 区带,基因全长 140 kb,由 8 个外显子和 7 个内含子组成。雌激素受体基因 ESR1 的 rs2234693 和 rs9340799 这两个 SNP 位点在内含子 1 中,是 ESR1 基因研究最广泛的两个多态性位点。有学者筛选了 ER α 单核苷酸多态性,确定了 29T/C 与 252966A/G 两个 SNPs 与 HBV 感染相关。因此,进一步研究 ESR1 基因这两个 SNP 位点多态性是非常有价值的。

本研究对雌激素受体 ESR1 基因的 Pvu II (rs2234693)和 XbaI(9340799)两个位点基因多态性与 HBV 慢性化感染相关性进行了实验研究,采用病例 - 对照的实验方法,根据人体感染 HBV 后的临床表型如慢性病毒携带、乙型肝炎、肝损伤、肝硬化、原发性肝癌,选取了慢性乙型病毒性肝炎(CHB)患者作为研究的病例组,健康的体检人群作为对照组,由于时间和经费的限制,未进一步对肝功能异常和肝硬化等进行基因多态性的研究。本研究中,雌激素受体 ESR1 基因 rs2234693(T>C)位点多态性检测结果显示慢性 HBV 病例组中 TT 基因型比例略高于健康对照组,HBV 病例组和健康对照组中基因型频率分布

表 2 ESR1 基因 rs9340799(A>G)位点多态性
Table 2 ESR1 XbaI(rs9340799)polymorphism

Groups	n	Genotype frequency(n, %)			Gene frequency(n, %)	
		AA	AG	GG	A	G
CHB	107	45(42.9)	44(41.9)	16(15.2)	134(63.8)	76(36.2)
Controls	107	56(73.8)	21(26.3)	0(0.00)	139(86.9)	21(13.1)
χ^2			23.066		24.976	
P			<0.01		<0.01	

差异具有统计学意义,而等位基因频率在 HBV 分布差异无统计学意义。国内学者 Deng 等^[22]通过对 27 例中国人进行 ESR1 基因区单核苷酸多态性再测序,发现 ESR1 的 29T/T 基因型的个体与至少含一个 29C 等位点的个体相比持续 HBV 感染的易感性显著增加。也有学者对广西壮族人群的 rs2234693 位点的多态性进行研究,结果显示 CC 基因型与 TT 基因型相比,对 CHB 的易感性显著增加,研究认为 CC 基因型与 CHB 的风险增加有关^[23]。这提示不同民族之间 HBV 感染可能存在差异性。最新研究报道 ESR1 基因 rs2234693 位点位于 b-Myb 转录因子的潜在结合位点,而 ESR1 的过表达与 C 等位基因的相关性显著高于 T 等位基因^[24]。本研究对象均为汉族,研究样本量也较少,今后需进一步扩大样本量对该位点进行深入研究。

而对于 rs9340799 (A>G) 位点,GG 基因型只出现在 HBV 病例组中,健康对照组中没有出现 GG 基因型,可能是样本量过少和该基因型本身出现频率较低有关。HBV 病例组中更容易发生纯合突变,HBV 病例组 GG 基因型和 G 等位基因分布明显高于在健康对照组。Logistic 回归分析中表明 rs9340799 (A>G)位点中的等位基因 A 是慢乙肝的保护基因,等位基因 G 是慢乙肝的危险基因,GG 基因型是慢性 HBV 感染的易感基因型,可增加 HBV 发病风险,rs9340799 (A>G)位点的 GG 基因型和 G 等位基因可能是 HBV 感染慢性化的遗传易感基因。

HBV 感染慢性化是一个多因素的结果,除了与 HBV 的变异、宿主的年龄、性别和免疫状态等有关外,机体遗传的基因多态性可能是导致 HBV 慢性感染的一个重要原因^[25],国内外关于雌激素受体基因多态性与 HBV 慢性感染的研究比较少,原因有可能是病毒与具有多等位基因宿主之间相互作用的复杂性,遗传易感性机制可能涉及了多个基因位点和单倍体的变异之间的相互作用。因此,我们后续应该从多方面、大样本、多地域的进行深入研究,以更深入了解 HBV 慢性化感染和基因多态性之间的相互关系,进一步探索出 HBV 感染的基因遗传易感性的病理机制,为抗乙肝病毒治疗和乙肝的预防提供新的思路。

参考文献(References)

[1] Mahoney F J. Update on diagnosis, management, and prevention of hepatitis B virus infection [J]. Clinical Microbiology Reviews, 1999, 12(2): 351-366
[2] Ocama P, Opio CK, Lee WM. Hepatitis B virus infection: current status [J]. Am J Med, 2005, 118(12): 1413
[3] Zampino R, Boemio A, Alessio L, et al. Hepatitis B virus burden in developing countries [J]. World journal of gastroenterology, 2015, 21:

11941-11953
[4] Lesmana LA, Leung NW, Mahachai V, et al. Hepatitis B: overview of the burden of disease in the Asia-Pacific region[J]. Liver Int, 2006, 26 (Suppl 2): 3-10
[5] 中华人民共和国卫生部.2006 年~2010 年全国乙型病毒性肝炎防治规划[J].中国实用乡村医生杂志, 2006, 13(08):1-4
Ministry of Health of the PRC. National hepatitis B prevention and control plan from 2006 to 2010[J]. Chinese Practical of Rural Doctor, 2006, 13(08): 1-4
[6] Wang SH, Chen PJ, Yeh SH. Gender disparity in chronic hepatitis B: Mechanisms of sex hormones [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2015, 30: 1237-1245
[7] Dou CY, Fan YC, Cao CJ, et al. Sera DNA methylation of CHD1, DNMT3b and ESR1 promoters as biomarker for the early diagnosis of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma [J]. Dig Dis Sci, 2016, 61: 1130-1138
[8] Chan SL, WongVW, Qin S, et al. Infection and Cancer: The Case of Hepatitis B [J]. Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology, 2016, 34: 83-90
[9] Miao N, Zhang G, Zheng H, et al. Analysis of the hepatitis B report data pilot surveillance in 200 counties in China, 2013 [J]. Chinese journal of preventive medicine, 2015, 49: 766-770
[10] 刘丹,李秀惠,郭纯刚,等.性激素在慢性乙型肝炎进展中的作用[J]. 肝脏, 2012, 17(11): 821-823
Liu Dan, Li Xiu-hui, Guo Chun-gang, et al. The role of sex hormones in the progression of chronic hepatitis B [J]. Journal of Hepatology, 2012, 17(11): 821-823
[11] Ahlborn-Dieker DL, Stride BD, Leder G, et al. DNA binding by estrogen receptor-alpha is essential for the transcriptional response to estrogen in the liver and the uterus [J]. Mol Endocrinol, 2009, 23(10): 1544-1555
[12] Yan Z, Tan W, Xu B, et al. A cis-acting regulatory variation of the estrogen receptor alpha (ESR1) gene is associated with hepatitis B virus-related liver cirrhosis[J]. Hum Mutat, 2011, 32(10): 1128-1136
[13] Li L, Zhang X, Xia Q, et al. Association between estrogen receptor alpha PvuII polymorphism and prostate cancer risk [J]. Tumour Biol, 2014, 35: 4629-4635
[14] Zhou X, Gu Y, Wang DN, et al. Eight functional polymorphisms in the estrogen receptor 1 gene and endometrial cancer risk: a meta-analysis[J]. PLoS One, 2013, 8(4): e60851
[15] Chattopadhyay S, Siddiqui S, Akhtar MS, et al. Genetic polymorphisms of ESR1, ESR2, CYP17A1 and CYP19A1 and the risk of

- breast cancer: a case control study from North India[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(5): 4517-4527
- [16] Doherty JA, Rossing MA, Cushing-Haugen KL, et al. Polymorphism and invasive epithelial ovarian cancer risk an ovarian cancer association consortium study [J]. *Cancer Epidemiol, Biomarkers Prev*, 2010, 19: 245-250
- [17] Feng Y, Lin X, Zhou S, et al. The associations between the polymorphisms of the ER-alpha gene and the risk of uterine leiomyoma (ULM)[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(5): 3077-3082
- [18] Slattery ML, Sweeney C, Murtaugh M, et al. Associations between ERalpha, ERbeta, and AR genotypes and colon and rectal cancer[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14(12): 2936-2942
- [19] Hishida M, Nomoto S, Inokawa Y, et al. Estrogen receptor 1 gene as a tumor suppressor gene in hepatocellular carcinoma detected by triple-combination array analysis[J]. *Int J Oncol*, 2013, 43: 88-94
- [20] 中华医学会肝病学会与感染学分会. 慢性乙型肝炎诊断标准 (2015 年版)[J]. *中西医结合肝病杂志*, 2015, 25(6): 384-384
- Association of Hepatology and infectious diseases, Chinese Medical Association. Diagnostic criteria for chronic hepatitis B (2015) [J]. *Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine on Liver Diseases*, 2015, 25(6): 384-384
- [21] Perissi V, Rosenfeld MG. Controlling nuclear receptors: the circular logic of cofactor cycles [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2005, 6 (7): 542-554
- [22] Deng G, Zhou G, Zhai Y, et al. Association of estrogen receptor alpha polymorphisms with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection[J]. *Hepatology*, 2004, 40(2): 318-326
- [23] Yanqiong Liu, Yan Liu, Xiamei Huang, et al. Association of PvuII and XbaI polymorphisms in estrogen receptor alpha gene with the risk of hepatitis B virus infection in the Guangxi Zhuang population[J]. *Elsevier*, 2014, (27): 69-76
- [24] Herrington DM, Howard TD, Brosnihan KB, et al. Common estrogen receptor polymorphism augments effects of hormone replacement therapy on E-selectin but not C-reactive protein[J]. *Circulation*, 2002, 105(16): 1879-1882
- [25] Thurszm. Genetic susceptibility in chronic viral hepatitis[J]. *Antiviral Res*, 2001, (2): 113-116

(上接第 4606 页)

- [18] Boelens MC, Wu TJ, Nabet BY, et al. Exosome transfer from stromal to breast cancer cells regulates therapy resistance pathways [J]. *Cell*, 2014, 159(3): 499-513
- [19] Chen J, Li Y, Yu TS, et al. A restricted cell population propagates glioblastoma growth after chemotherapy [J]. *Nature*, 2012, 488 (7412): 522-526
- [20] Ahmed M, Sottnik JL, Dancik GM, et al. An Osteopontin/CD44 Axis in RhoGDI2-Mediated Metastasis Suppression [J]. *Cancer Cell*, 2016, 30(3): 432-443
- [21] Lubanska D, Market-Velker BA, deCarvalho AC, et al. The cyclin-like protein Spy1 regulates growth and division characteristics of the CD133+ population in human glioma [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(1): 64-76
- [22] Kim IG, Kim SY, Choi SI, et al. Fibulin-3-mediated inhibition of epithelial-to-mesenchymal transition and self-renewal of ALDH+ lung cancer stem cells through IGF1R signaling [J]. *Oncogene*, 2014, 33 (30): 3908-3917
- [23] Raha D, Wilson TR, Peng J, et al. The cancer stem cell marker aldehyde dehydrogenase is required to maintain a drug-tolerant tumor cell subpopulation[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(13): 3579-3590
- [24] Cojoc M, Peitzsch C, Kurth I, et al. Aldehyde Dehydrogenase Is Regulated by beta-Catenin/TCF and Promotes Radioresistance in Prostate Cancer Progenitor Cells[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(7): 1482-1494
- [25] Walser TC, Jing Z, Tran LM, et al. Silencing the Snail-dependent RNA splice regulator ESRP1 drives malignant transformation of human pulmonary epithelial cells[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(8): 1986-1999
- [26] Mac Donagh L, Gallagher MF, French B2, et al. Targeting the cancer stem cell marker, aldehyde dehydrogenase 1, to circumvent cisplatin resistance in NSCLC[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(42): 72544-72563
- [27] Park JW, Jung KH, Lee JH, et al. Inhibition of aldehyde dehydrogenase 1 enhances the cytotoxic effect of retinaldehyde on A549 cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(59): 99382-99393