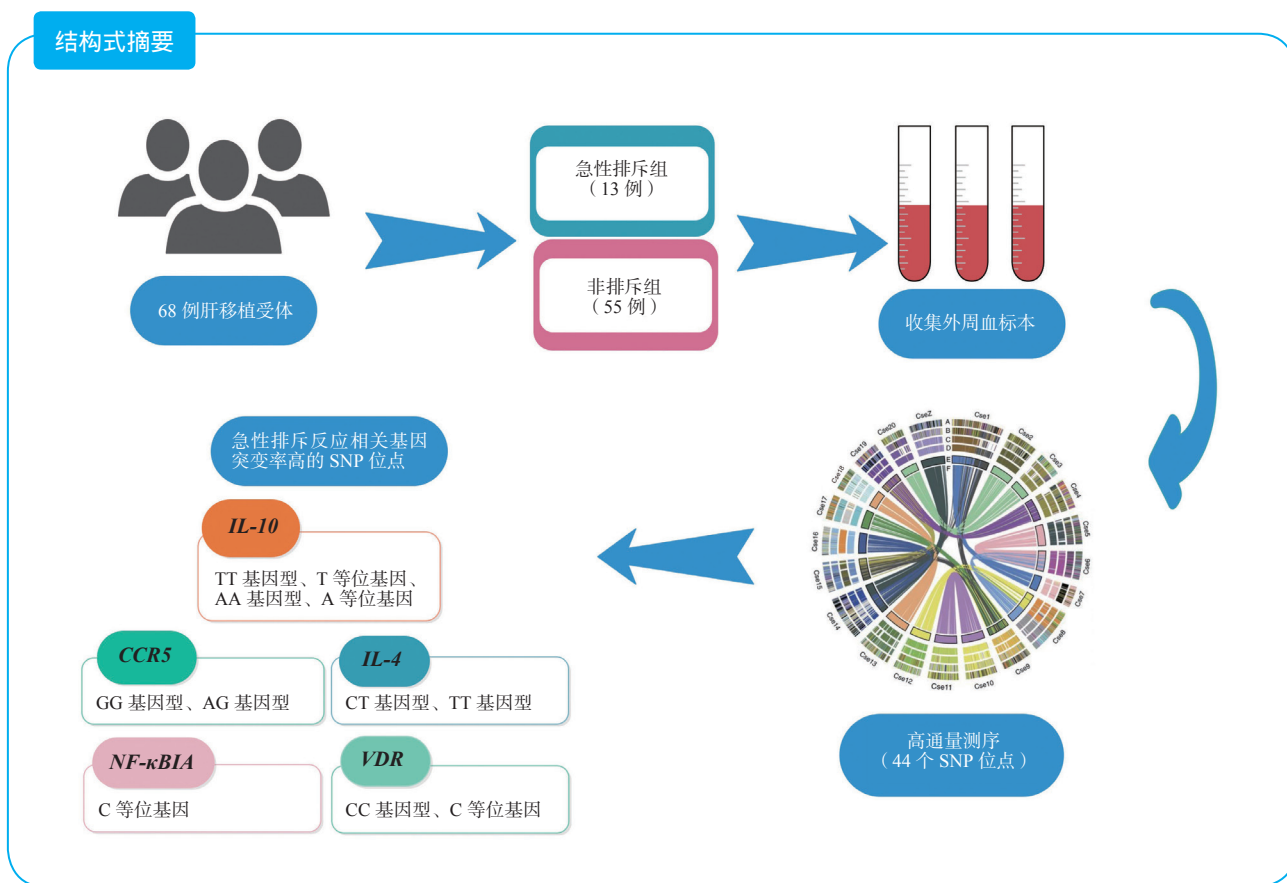


· 实验研究 ·

# 高通量测序分析肝移植急性排斥反应相关基因单核苷酸多态性位点的突变

鲍远大 易述红



**【摘要】** 目的 利用高通量测序分析肝移植术后急性排斥反应相关度最高的基因单核苷酸多态性 (SNP) 位点的突变情况。方法 收集同种异体原位肝移植术的 68 例受体外周血样本, 根据有无发生急性排斥反应分为急性排斥组 (13 例) 和非排斥组 (55 例)。通过查阅文献, 最终确定与排斥反应发生相关的 44 个 SNP 突变位点。以 44 个 SNP 位点作为检测靶点, 用高通量测序分析对两组受体外周血样本进行检测, 经生物信息学分析与急性排斥反应发生相关基因 SNP 位点的突变率。结果 急性排斥组中的白细胞介素 (IL) -10 TT 基因型、T 等位基因、AA 基因型、A 等位基因的 SNP 位点突变率明显高于非排斥组; 急性排斥组中的细胞趋化因子受体 (CCR) 5 AG 基因型的 SNP 位点突变率明显低于非排斥组, CCR5 GG 基因型的 SNP 位点突变率明显高于非排斥组; 急性

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2018.03.007

基金项目: 广东省自然科学基金 (2016A030313224); 广东省省级产业技术研究与开发专项资金项目 (20169013)

作者单位: 510630 广州, 中山大学附属第三医院肝脏外科暨肝移植中心

作者简介: 鲍远大, 男, 1992 年生, 硕士研究生, 研究方向为肝移植, Email:1013261488@qq.com

通讯作者: 易述红, 男, 1973 年生, 博士, 主任医师, 研究方向为肝移植, Email:yishuhong@163.com

排斥组中的 *IL-4* CT 基因型的 SNP 位点突变率明显高于非排斥组, *IL-4* TT 基因型的 SNP 位点突变率明显低于非排斥组; 急性排斥组中核因子  $\kappa$ B 抑制因子  $\alpha$  (*NF- $\kappa$ BIA*) C 等位基因的 SNP 位点突变率明显高于非排斥组; 急性排斥组中维生素 D 受体 (*VDR*) CC 基因型和 C 等位基因的 SNP 位点突变率明显低于非排斥组, 差异均有统计学意义 (均为  $P < 0.05$ )。结论 高通量测序分析发现肝移植术后急性排斥反应相关基因中, 其 SNP 位点突变率较高的包括 *IL-10* TT 基因型、T 等位基因、AA 基因型、A 等位基因, *CCR5* GG 基因型、AG 基因型, *IL-4* CT 基因型、TT 基因型, *NF- $\kappa$ BIA* C 等位基因, *VDR* CC 基因型和 C 等位基因。

【关键词】 肝移植; 急性排斥反应; 高通量测序; 单核苷酸多态性 (SNP); 白细胞介素; 细胞趋化因子受体; 核因子  $\kappa$ B 抑制因子  $\alpha$ ; 维生素 D 受体; 基因突变

【中图分类号】 R617, R318.04 【文献标志码】 A 【文章编号】 1674-7445 (2018) 03-0007-06

### High-throughput sequencing analysis of single nucleotide polymorphism loci mutation in genes associated with acute rejection in liver transplantation

Bao Yuanda, Yi Shuhong. Department of Hepatic Surgery, Liver Transplantation Center, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China

Corresponding author: Yi Shuhong, Email: yishuhong@163.com

【Abstract】 **Objective** To analyze the mutation of single nucleotide polymorphism (SNP) loci in genes most significantly associated with acute rejection after liver transplantation by high-throughput sequencing. **Methods** Peripheral blood samples were collected from 68 recipients undergoing allogeneic orthotopic liver transplantation. According to the incidence of acute rejection, all patients were divided into the acute rejection group ( $n=13$ ) and non-rejection group ( $n=55$ ). Through the literature review, 44 mutant SNP loci associated with acute rejection were finally identified. Using 44 SNP loci as the detection targets, high-throughput sequencing analysis was performed to detect peripheral blood samples in two groups of recipients. Bioinformatics analysis revealed the mutation rate of the SNP loci of genes related to acute rejection. **Results** The mutation rate of SNP loci of the interleukin (*IL*)-10 TT genotype, T allele, AA genotype and A allele in the acute rejection group was significantly higher than that in the non-rejection group. The mutation rate of the SNP loci of the cell chemokine receptor (*CCR*) 5 AG genotype in the acute rejection group was significantly lower than that in the non-rejection group, the mutation rate of the SNP loci of the *CCR5* GG genotype in the acute rejection group was significantly higher than that in the non-rejection group. The mutation rate of the SNP loci of *IL-4* CT genotype in the acute rejection group was significantly higher than that in the non-rejection group, the mutation rate of the SNP loci of *IL-4* TT genotype in the acute rejection group was significantly lower than that in the non-rejection group. The mutation rate of the SNP loci of nuclear factor-kappa B inhibitor alpha (*NF- $\kappa$ BIA*) C allele in the acute rejection group was significantly higher than that in the non-rejection group. The mutation rate of the SNP loci of vitamin D receptor (*VDR*) CC genotype and C allele in the acute rejection group was significantly lower than that in the non-rejection group. Differences were statistically significant (all  $P < 0.05$ ). **Conclusions** High-throughput sequencing analysis shows the genes associated with acute rejection after liver transplantation. Among them, the mutation rate of the SNP loci is relatively high in *IL-10* TT genotype, T allele, AA genotype, A allele, *CCR5* GG genotype, AG genotype, *IL-4* CT genotype, TT genotype, *NF- $\kappa$ BIA* C allele, *VDR* CC genotype and C allele.

【Key words】 Liver transplantation; Acute rejection; High-throughput sequencing; Single nucleotide polymorphism (SNP); Interleukin; Cell chemokine receptor; Nuclear factor-kappa B inhibitor alpha; Vitamin D receptor; Gene mutation

肝移植是治疗终末期肝病最有效的方法。与其他器官移植相比, 肝移植术后排斥反应发生率相对较低, 然而, 一旦发生宿主抗移植反应甚至是急性排斥反应, 将对预后产生负面影响<sup>[1-3]</sup>。移植排斥反应的早期诊断非常重要, 直接关系到移植的成败。目前,

肝移植术后受体免疫状态的评估主要依赖肝脏生物化学指标和肝脏病理学活组织检查 (活检)<sup>[4-6]</sup>。然而, 肝脏生化指标预测急性排斥反应的灵敏度和精确度均较低, 肝脏病理学活检为有创性操作, 不能满足临床上的实时监测要求, 也不能预测受体的免疫耐受状

况<sup>[7-8]</sup>。因此学者们正积极寻求高特异度、高灵敏度的分子标志物来监测器官移植术后的免疫状态<sup>[2]</sup>。

近年来,已有多项研究利用高通量测序技术,成功发现了可预测肾移植和心脏移植受体急性排斥反应发生的分子标志物<sup>[2,9]</sup>,而肝移植领域的相关研究较少。本研究旨在利用高通量测序技术,寻找与肝移植术后急性排斥反应相关度最高的基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点,分析其突变情况,为下一步研究预测肝移植急性排斥反应的分子标志物作准备。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要材料

选择2016年9月至2017年4月在中山大学附属第三医院岭南医院肝移植中心接受同种异体原位肝移植术的68例受体,筛选时排除血型不合移植病例。所有患者均签署由本院伦理委员会批准的患者知情同意书,符合医学伦理学规定。所有受体术后常规采用他克莫司(FK506)+麦考酚酯+肾上腺皮质激素(激素)三联免疫抑制方案。

根据有否急性排斥反应分为急性排斥组(13例)和非排斥组(55例),急性排斥反应诊断标准为肝功能指标异常,排除病毒感染及外科并发症。急性排斥组中,男11例,女2例,年龄( $32 \pm 16$ )岁。原发病分别为原发性肝癌(肝癌)4例,肝炎后肝硬化8例,肝豆状核变性1例。其中10例因对抗排斥治疗有良好应答而证实,3例经肝穿刺病理学活检证实,排斥反应均发生于术后1个月内。非排斥组中,男47例,女8例,年龄( $47 \pm 5$ )岁,原发病分别为肝癌27例,肝炎后肝硬化27例,朗格汉斯细胞组织细胞增多症1例。两组患者均于肝移植术后第1日抽取外周静脉血10 mL,采用乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)抗凝管保存。

### 1.2 实验试剂及仪器

DNA提取试剂盒购自广东国盛医学科技有限公司; Ion AmpliSeq™ Library Kit 2.0-96LV、Ion Xpress™ Barcode Adapters、Ion Library Equalizer™ Kit、Ion PGM™ Hi-Q™ View OT2 Kit、Ion PGM™ Hi-Q™ View Sequencing Kit、无核酸酶水均购自美国Life Technology公司。

高速离心机购自德国Eppendorf公司;聚合酶链反应(PCR)仪购自美国ABI公司;超微量分光光度计、

纯化水系统购自美国Millipore公司;二代测序仪(Ion Torrent PGM)购自美国Thermo Fisher公司。

### 1.3 SNP位点筛选及DNA提取

通过文献查阅,最终确定与排斥反应发生相关的44个SNP位点,使用专用软件设计引物并合成,得到SNP引物Transpl\_Immuno\_SNP panel。

采集肝移植受体的抗凝血,经 $800 \times g$ 离心10 min后分别收集血浆和白膜层细胞。通过DNA提取试剂盒的步骤提取基因组DNA。

### 1.4 DNA文库建立及模板制备

通过PCR法进行目的基因片段扩增、建库增效反应以及接头连接反应,用磁珠法将已连接好DNA文库进行富集、纯化和定量,用油包水PCR法对DNA文库进行扩增后,富集并纯化得到测序模板。

### 1.5 芯片测序及序列分析

将制备好的模板转移到Ion芯片,离心后放入Ion Torrent PGM测序仪进行测序。按照一定顺序掺入T、A、C、G的脱氧核糖核苷三磷酸盐(deoxyribonucleoside triphosphate, dNTP)流,引物与DNA聚合酶同时参与,若dNTP与模板结合,则释放相应数量的 $H^+$ ,芯片下方的感应器可探测出pH值的变化并识别相应的碱基。每次dNTP流过均伴随洗脱过程,洗脱未结合的dNTP。

Ion Torrent PGM测序仪产生数据后,将数据自动传送到测序服务器上。通过信号处理和碱基算法分析,产生单次读长的相关DNA序列。通过生物信息学分析,将68个样品的44个SNP位点的碱基与参考基因组进行比较,判断该SNP位点是否发生突变。通过分析比较急性排斥组与非排斥组发生突变的SNP位点突变频率,寻找与肝移植急性排斥反应相关的SNP突变位点。

### 1.6 统计学方法

采用SPSS 20.0软件进行统计学分析。计数资料以率或构成比表示,两组间比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概率法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

与肝移植术后急性排斥反应相关的基因SNP突变位点见表1。急性排斥组中的白细胞介素(IL)-10 TT基因型、T等位基因、AA基因型、A等位基因的SNP位点突变率明显高于非排斥组;急性排斥组中的细胞趋化因子受体(cell chemokine receptor, CCR)5

AG 基因型的 SNP 位点突变率明显低于非排斥组, CCR5 GG 基因型的 SNP 位点突变率明显高于非排斥组 (均为  $P<0.05$ ) ; 急性排斥组中的 *IL-4* CT 基因型的 SNP 位点突变率明显高于非排斥组, *IL-4* TT 基因型的 SNP 位点突变率明显低于非排斥组 (均为  $P<0.05$ ) ; 急性排斥组中核因子- $\kappa$ B 抑制因子  $\alpha$  (nuclear factor-kappa B inhibitor alpha, *NF- $\kappa$ BIA*) C 等位基因的 SNP 位点突变率明显高于非排斥组 (均

为  $P<0.05$ ) ; 急性排斥组中维生素 D 受体 (vitamin D receptor, *VDR*) CC 基因型和 C 等位基因的 SNP 位点突变率明显低于非排斥组, 差异均有统计学意义 (均为  $P<0.05$ ) 。

### 3 讨论

高通量测序技术又称“下一代”测序技术, 以能一次并行对几十万到几百万条 DNA 分子进行序列测

表 1 两组肝移植受体 SNP 基因型分析

Table 1 SNP genotype analysis of liver transplant recipients in two groups

基因	SNP	rs 号	基因型	突变率 [n (%) ]		$\chi^2$ 值	P 值
				急性排斥组 (n=13)	非排斥组 (n=55)		
<i>IL-10</i>	592C/T	rs1800872	TT	9 (69)	21 (38)	4.11	<0.05
			TG	4 (31)	27 (49)	1.42	>0.05
			GG	0	7 (13)	1.84	>0.05
			T 等位基因	22 (85)	69 (63)	4.55	<0.05
			G 等位基因	4 (15)	41 (37)		
<i>IL-10</i>	819T/C	rs1800871	AA	9 (69)	21 (38)	4.11	<0.05
			AG	4 (31)	27 (49)	1.42	>0.05
			GG	0	7 (13)	1.84	>0.05
			A 等位基因	22 (85)	69 (63)	4.55	<0.05
			G 等位基因	4 (15)	41 (37)		
<i>CCR5</i>	2459A/G	rs1799987	AA	2 (15)	6 (11)	0.20	>0.05
			AG	2 (15)	30 (55)	6.47	<0.05
			GG	9 (69)	19 (35)	5.22	<0.05
			A 等位基因	6 (23)	42 (38)	2.10	>0.05
			G 等位基因	20 (77)	68 (62)		
<i>NF-<math>\kappa</math>BIA</i>	126G/A	rs696	CC	8 (62)	19 (35)	3.20	>0.05
			CT	5 (39)	26 (47)	0.33	>0.05
			TT	0	10 (18)	2.77	>0.05
			C 等位基因	21 (81)	64 (58)	4.58	<0.05
			T 等位基因	5 (19)	46 (42)		
<i>IL-4</i>	590C/T	rs2243250	CC	0	2 (4)	-	>0.05
			CT	9 (69)	16 (29)	5.66	<0.05
			TT	4 (31)	37 (67)	5.85	<0.05
			C 等位基因	9 (35)	20 (18)	3.39	>0.05
			T 等位基因	17 (65)	90 (82)		
<i>VDR</i>	ApaI T>G	rs7975232	CC	3 (23)	32 (58)	5.19	<0.05
			CA	6 (46)	19 (35)	0.61	>0.50
			AA	4 (31)	4 (7)	3.56	>0.05
			C 等位基因	12 (46)	83 (75)	8.57	<0.05
			A 等位基因	14 (54)	27 (25)		

- 为无  $\chi^2$  值



定和一般读长较短等为标志,高通量测序技术有三大优点是传统测序法所不具备的<sup>[10]</sup>:第一,它利用芯片进行测序,可以在数百万个点上同时阅读测序,把平行处理的思想用到极致,因此也被称为大规模平行测序。第二,高通量测序技术有完美的定量功能,这是因为样品中某种DNA被测序的次数反映了样品中这种DNA的丰度。第三,成本低廉,高通量测序技术耗资明显低于传统测序法。SNP是指在基因组上单个核苷酸的变异,包括转换、颠换、缺失和插入,其数量较多,多态性丰富。在人类基因组中大概每1000个碱基就有1个SNP,人类基因组上的SNP总量大概是 $3 \times 10^6$ 个。人体许多表型差异、对药物或疾病的易感性等都可能与SNP相关<sup>[11]</sup>。

肝移植术后急性排斥反应发生率约24%~60%,典型的急性排斥反应临床表现为发热、移植肝肿大和压痛、黄疸出现或加重等。由于免疫抑制剂的应用,急性排斥反应的临床症状往往不典型。为寻找能预测肝移植术后急性排斥反应发生的分子标志物,我们通过高通量测序技术检测并分析与急性排斥反应相关基因的SNP位点突变率。

文献报道指出,IL-10参与调控移植排斥反应,其表达水平与移植存活时间呈正相关,具有592C和819C等位基因的肝移植受体移植存活时间更长<sup>[12]</sup>。本研究发现急性排斥组中的IL-10 TT基因型、T等位基因、AA基因型、A等位基因的SNP位点突变率明显高于非排斥组,提示上述突变可能增加急性排斥反应的发生风险。

趋化因子及其受体在急性排斥反应中起重要作用,与移植免疫密切相关<sup>[13]</sup>。CCR5作为炎症性细胞因子受体,表达于辅助性T细胞(helper T cell, Th)1型效应细胞。研究表明在肝移植急性排斥反应发生时,浸润的淋巴细胞和枯否(Küpferr)细胞CCR5及其配体表达上调,受体中CCR5 59029-A/A基因型可促进CD4<sup>+</sup>T细胞活化并向移植部位聚集,引起急性排斥反应<sup>[14]</sup>。本研究中急性排斥组中的CCR5 AG基因型的SNP位点突变率明显低于非排斥组,CCR5 GG基因型的SNP位点突变率明显高于非排斥组,提示CCR5 AG基因型的SNP位点突变可降低肝移植受体急性排斥反应的发生风险,而GG基因型的SNP位点突变则会增加急性排斥反应的发生风险。

IL-4是Th2亚型的细胞因子,在体液免疫和细胞免疫中发挥重要的作用,文献报道携带IL-4 590T

等位基因的肝移植受体术后急性排斥反应发生率较低<sup>[15]</sup>。我们发现急性排斥组中的IL-4 CT基因型的SNP位点突变率明显高于非排斥组,IL-4 TT基因型的SNP位点突变率明显低于非排斥组,提示IL-4 CT基因型的SNP位点突变可增加肝移植受体急性排斥反应的发生风险,而IL-4 TT基因型的SNP位点突变则会降低急性排斥反应的发生风险。

核因子(NF)- $\kappa$ B是广泛存在于各种细胞中的一种转录因子,能与多种基因启动子和增强子序列位点发生特异性结合,调控其转录和表达,这些基因在移植排斥反应的发病机制和免疫系统的激活中起重要作用。研究发现NF- $\kappa$ BIA 126AA基因型是预测肝移植术后急性排斥反应的分子标志物,发生纯合突变时受体急性排斥反应的发生风险增加<sup>[16]</sup>。我们的研究发现急性排斥组中NF- $\kappa$ BIA C等位基因的SNP位点突变率明显高于非排斥组。

维生素D及VDR介导的生物效应可参与调节多种病理生理过程,包括钙磷代谢、免疫调控、胚胎发育、体内代谢、抗炎等。Falletti等<sup>[17]</sup>研究发现肝移植受体的VDR基因多态性与急性排斥反应的发生密切相关。我们的研究发现急性排斥组中VDR CC基因型和C等位基因的SNP位点突变率明显低于非排斥组。

综上所述,IL-10 TT基因型、T等位基因、AA基因型、A等位基因的SNP位点,CCR5 GG基因型的SNP位点,IL-4 CT基因型的SNP位点以及NF- $\kappa$ BIA C等位基因型的SNP位点突变可能增加肝移植受体术后急性排斥反应的发生风险。CCR5 AG、IL-4 TT、VDR CC基因型的SNP位点和C等位基因的SNP位点突变可能降低受体术后急性排斥反应的发生风险。对于本研究的实验结果,后续仍需更大量样本的检测验证,需对相关基因的RNA表达情况进行验证,并补充体外实验等。

#### 参考文献:

- [1] 陈规划,姜楠.肝移植免疫耐受的研究热点和思考[J].器官移植,2017,8(1):1-4. DOI:10.3969/j.issn.1674-7445.2017.01.001.  
CHEN GH,JIANG N. Research focus and thinking of immune tolerance in liver transplantation[J]. Organ Transplant, 2017, 8(1): 1-4. DOI:10.3969/j.issn.1674-7445. 2017.01.001.
- [2] 徐翠香,靳占奎,王曦,等. Luminex技术检测肾移植患者血清IL-17预测急性排斥反应的回顾性研究[J].现代检验医学杂志,2017,32(4):87-90.

- DOI: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.04.024.
- XU CX, JIN ZK, WANG X, et al. Retrospective study of detection of serum IL-17 for predicting early acute renal allograft rejection by Luminex technique[J]. *J Mod Lab Med*, 2017, 32(4): 87-90. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7414.2017.04.024.
- [3] VERHELST XP, TROISI RI, COLLE I, et al. Biomarkers for the diagnosis of acute cellular rejection in liver transplant recipients: a review[J]. *Hepatol Res*, 2013, 43(2): 165-178. DOI: 10.1111/hepr.12012.
- [4] 杨扬, 邓宜南. 抗体免疫诱导治疗在肝移植中的应用[J]. *临床肝胆病杂志*, 2015, 31(12): 2031-2034. DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2015.12.010.
- YANG Y, DENG YN. Application of immune induction therapy with antibodies in liver transplantation[J]. *J Clin Hepatol*, 2015, 31(12): 2031-2034. DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2015.12.010.
- [5] AGUADO-DOMÍNGUEZ E, GÓMEZ L, SOUSA JM, et al. Identification of the cellular components involved in de novo immune hepatitis: a quantitative immunohistochemical analysis[J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1):62. DOI: 10.1186/s12967-018-1440-8.
- [6] MORIS D, TSILIMIGRAS DI, NTANANISIS-STATHOPOULOS I, et al. Liver transplantation in patients with liver metastases from neuroendocrine tumors: a systematic review[J]. *Surgery*, 2017, 162(3):525-536. DOI: 10.1016/j.surg.2017.05.006.
- [7] RODRÍGUEZ-PERÁLVAREZ M, GERMANI G, TSOCHATZIS E, et al. Predicting severity and clinical course of acute rejection after liver transplantation using blood eosinophil count[J]. *Transpl Int*, 2012, 25(5):555-563. DOI: 10.1111/j.1432-2277.2012.01457.x.
- [8] LIU XQ, HU ZQ, PEI YF, et al. Clinical operational tolerance in liver transplantation: state-of-the-art perspective and future prospects[J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2013, 12(1):12-33.
- [9] CHEN Y, ZHANG H, XIAO X, et al. Peripheral blood transcriptome sequencing reveals rejection-relevant genes in long-term heart transplantation[J]. *Int J Cardiol*, 2013, 168(3): 2726-2733. DOI: 10.1016/j.ijcard.2013.03.095.
- [10] WHEELER DA, SRINIVASAN M, EGHOLM M, et al. The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing[J]. *Nature*, 2008, 452(7189): 872-876. DOI: 10.1038/nature06884.
- [11] REUTER JA, SPACEK DV, SNYDER MP. High-throughput sequencing technologies[J]. *Mol Cell*, 2015, 58(4): 586-597. DOI: 10.1016/j.molcel.2015.05.004.
- [12] TURNER DM, WILLIAMS DM, SANKARAN D, et al. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter[J]. *Eur J Immunogenet*, 1997, 24(1):1-8.
- [13] 苏青和, 郑红. 趋化因子及树突状细胞与移植免疫耐受[J]. *免疫学杂志*, 2004, 20(5): 403-406. DOI:10.3969/j.issn.1000-8861.2004.05.021.
- SU QH, ZHENG H. Dendritic cells, chemokines, and graft immune tolerance[J]. *Immunol J*, 2004, 20(5): 403-406. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8861.2004.05.021.
- [14] 杨蕾, 刘永锋, 王凤山, 等. 趋化因子受体多态性与肝移植急性排斥反应的关系[J]. *免疫学杂志*, 2008, 24(2):249. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8861.2008.02.035.
- YANG L, LIU YF, WANG FS, et al. Association between polymorphism of chemokine receptor and acute rejection in liver transplantation[J]. *Immunol J*, 2008, 24(2): 249. DOI: 10.3969/j.issn.1000-8861.2008.02.035.
- [15] WU W, LIU Y, LI S, et al. Association between IL-4 polymorphism and acute rejection of solid organ allograft: a Meta-analysis[J]. *Gene*, 2013, 513(1):14-21. DOI: 10.1016/j.gene.2012.10.028.
- [16] KRAMER K, THYE T, TRESZL A, et al. Polymorphism in NFκ BIA gene is associated with recurrent acute rejections in liver transplant recipients[J]. *Tissue Antigens*, 2014, 84(4):370-377. DOI: 10.1111/tan.12411.
- [17] FALLETI E, BITETTO D, FABRIS C, et al. Association between vitamin D receptor genetic polymorphisms and acute cellular rejection in liver-transplanted patients[J]. *Transpl Int*, 2012, 25(3): 314-322. DOI: 10.1111/j.1432-2277.2011.01419.x.

(收稿日期: 2018-03-05)

(本文编辑: 石梦辰 吴秋玲)