

NGHIÊN CỨU MỐI LIÊN QUAN ĐA HÌNH ĐƠN NUCLEOTIDE RS2062345 GEN SOCS6 VÀ UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN DO NHIỄM HBV

Nguyễn Việt Phương¹, Trần Viết Tiến¹, Hoàng Văn Tổng²

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: Khảo sát và phân tích mối liên hệ đa hình đơn nucleotide (SNP) rs2062345 trên gen SOCS6 và ung thư biểu mô tế bào gan (UTBMTBG) do nhiễm vi rút viêm gan B (HBV). **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang trên 235 đối tượng gồm 115 bệnh nhân UTBMTBG nhiễm HBV và 120 nhóm chứng khỏe mạnh. SNP rs2062345 gene SOCS6 được phát hiện bằng phương pháp Tetra- primer ARMS PCR, có đối chiếu với kết quả giải trình tự gen Sanger. **Kết quả:** Kiểu gen GA, alen G trên nhóm UTBMTBG xuất hiện tần suất cao hơn so với nhóm chứng khỏe mạnh, lần lượt OR = 3,33, CI 95% = 1,90 – 5,85, p < 0,01 và OR = 1,69, CI 95% = 1,15 – 2,49, p < 0,01; tương tự mô hình di truyền trội GA và GG với OR = 3,03, CI 95% = 1,75 – 5,24, p < 0,01. Không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa kiểu gen SNP rs2062345 với một số xét nghiệm cận lâm sàng trên đối tượng UTBMTBG. **Kết luận:** Kiểu gen GA, alen G, mô hình di truyền trội SNP rs2062345 gen SOCS6 có mối liên quan có ý nghĩa thống kê với nguy cơ mắc ung thư biểu mô tế bào gan.

Từ khóa: Đa hình đơn nucleotide (SNP), gen SOCS6, ung thư biểu mô tế bào gan, nhiễm vi rút viêm gan B

SUMMARY

ASSOCIATION OF SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM RS2062345 OF SOCS6 GENE AND HBV-RELATED HEPATOCELLULAR CARCINOMA

Objective: To investigate and analyze the association of single nucleotide polymorphism (SNP) rs2062345 of SOCS6 gene and HBV-induced hepatocellular carcinoma. **Subjects and research methods:** Cross-sectional study on 235 subjects including 115 patients with HBV-induced hepatocellular carcinoma and 120 control groups. SNP rs2062345 of SOCS6 gene was detected by Tetra-primer ARMS PCR method, compared with Sanger sequencing. **Results:** Genotype SNP rs2062345GA and minor allele rs2062345G were observed in increased frequencies in HCC group compared to the control group (OR=3.33, CI 95%=1.90–5.85, p < 0.01 and OR=1.69, CI 95%= 1.15 – 2.49, p < 0.01, respectively); similarly to the dominant genetic model GA and GG (OR = 3.03, CI 95% = 1.75 – 5.24, p < 0.01). There was no significant association between genotypes of SNP rs2062345 and laboratory parameters in the HCC group. **Conclusion:** Genotype GA, minor allele G and the dominant genetic model of SNP rs2062345 of the SOCS6 gene might be associated with an increased risk of HCC.

¹Bệnh viện Quân y 103

²Viện nghiên cứu Y dược học Quân sự, Học Viện Quân Y

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Việt Phương

Email: vietphuongnt203@gmail.com

Ngày nhận bài: 15/05/2023

Ngày phản biện khoa học: 30/05/2023

Ngày duyệt bài: 19/06/2023

Keywords: Single nucleotide polymorphism (SNP), SOCS6 gene, hepatocellular carcinoma (HCC), hepatitis B virus infection

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư biểu mô tế bào gan (UTBMTBG) là bệnh ung thư phổ biến xếp hàng thứ sáu trong các bệnh lý ung thư và là nguyên nhân gây tử vong do ung thư đứng hàng thứ tư trên toàn thế giới vào năm 2018, với khoảng 841.000 ca mắc mới và 782.000 ca tử vong hàng năm [1]. Theo Globocan 2020, tỷ lệ mắc ung thư gan đứng hàng thứ đầu ở nam giới, thứ 5 ở nữ giới trong các bệnh lý ung thư tại Việt Nam.

Nhiễm vi rút viêm gan B là một trong những nguyên nhân hàng đầu dẫn tới UTBMTBG. Ở những người nhiễm HBV mạn tính không bị xơ gan, nguy cơ mắc UTBMTBG hàng năm là 0,02-03% ở người da trắng và 0,4-0,6% ở người châu Á. Ở những người bị xơ gan, nguy cơ lần lượt là 2,2% và 3,7% ở người da trắng và người châu Á. Việc tìm hiểu các yếu tố nguy cơ, dự báo tiến triển tới ung thư gan có vai trò và ý nghĩa rất thiết thực trong thực hành lâm sàng.

Các gen SOCS thuộc họ gia đình gen ức chế tín hiệu cytokine (SOCS - Suppressors of cytokine signaling), mã hóa cho các protein SOCS, có vai trò quan trọng trong điều hòa các con đường tín hiệu cytokine, đặc biệt là con đường tín hiệu JAK/STAT. Đã có nhiều nghiên cứu chứng minh mối liên quan của đa hình một số gen SOCS như SOCS1, SOCS3 đối với nguy cơ mắc ung thư gan trên đối tượng nhiễm HBV, đã giải thích được một phần cơ chế bệnh sinh sự khác biệt giữa nguy cơ tiến triển ung thư gan trên các chủng tộc khác nhau [2].

Gen SOCS6 là một ứng cử viên mới nổi trong họ gen SOCS, đã và đang thu hút được sự quan tâm của nhiều nhà nghiên cứu, tuy nhiên chức năng và vai trò gen SOCS6 phần lớn vẫn chưa được tìm hiểu đầy đủ. Nghiên cứu của Yoon và Qui đều ghi nhận có giảm biểu hiện gen SOCS6, và sự giảm biểu hiện này có liên quan tới tiên lượng xấu, độc lập và dài hạn trên các đối tượng ung thư gan [3],[4]. Các nghiên cứu đa hình gen SOCS6 trên đối tượng ung thư gan nhiễm HBV và trên người Việt Nam còn rất hạn chế.

Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: **“Xác định đa hình đơn nucleotide (SNP) rs2062345 gen SOCS6 và mối liên quan với ung thư biểu mô tế bào gan do nhiễm HBV”**.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

- Gồm 115 bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan (UTG) và 120 người khỏe mạnh (NC) hiến máu tình nguyện tại Bệnh viện Quân y 103 và Bệnh viện Trung ương quân đội 108.

- Tiêu chuẩn lựa chọn nhóm bệnh: Theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị ung thư biểu mô tế bào gan Bộ Y tế năm 2014.

- Tiêu chuẩn loại trừ: Ung thư gan do di căn từ các cơ quan khác, mắc các bệnh lý ung thư khác kèm theo.

- Địa điểm nghiên cứu: Phòng An toàn Sinh học – Viện Nghiên cứu Y dược học Quân sự – Học viện Quân y.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Mẫu máu phân tích SNP rs2062345 gen SOCS6: Khoảng 5 ml máu tĩnh mạch được thu thập từ các đối tượng tham gia nghiên cứu.

cứu. Mẫu huyết tương và khối tế bào máu được lưu vào các ống eppendoft 1,5ml và được lưu trữ ở tủ âm sâu (-20 hoặc - 80°C) cho đến khi tiến hành phân tích mẫu.

- Quy trình phương pháp T-ARMS PCR xác định SNP rs2062345 gen SOCS6.

+ Tách chiết DNA toàn phần từ máu ngoại vi: Tách DNA toàn phần từ máu ngoại vi bằng bộ Kit Gen JET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo Fisher Scientific, Hoa Kỳ), quy trình theo hướng dẫn nhà sản xuất.

+ Xác định điểm đa hình rs2062345 trên gen SOCS6

✓ Xác định trình tự gen SOCS6 trên ngân hàng dữ liệu gen NCBI: Suppressor of cytokine signaling 6; GRCh38.p14 (GCF_000001405.40); NC_000018.10 (70289045 - 70330199)

✓ Lựa chọn SNP nghiên cứu dựa theo tỷ lệ gặp SNP ở người Việt Nam đã được công bố trên trang NCBI; cụ thể SNP rs2062345

Bảng 1. SNP rs2062345 và tần suất alen gen SOCS6 trên người Việt Nam

SNP	Alen	Canonical SPDI	Trình tự	Đoạn gen	Tần suất
rs2062345	G>A	70301817	AGAGTGTGGTGTGCTGAGCAA	Intron	G=0,292453/62

+ Thiết kế mồi (primer) cho phản ứng T-ARMS PCR

Chương trình thiết kế primer cho phương pháp T-ARMS PCR được xây dựng bởi Ye (2001)[5], truy cập trực tuyến theo tại trang web: <http://primer1.soton.ac.uk/primer1.html>.

Bảng 2. Primer phát hiện SNP rs2062345 gen SOCS6 và sản phẩm PCR

SNP rs2062345- Primer	Trình tự primer 5' – 3'	Sản phẩm PCR	
rs2062345	Inner Primer F	GAGGGACCGTGAGAGTGTGTTA	188 bp
	Inner Primer R	CATATCATTTTACCTCTTTGCTCAGAAC	265 bp
	Outer Primer F	ATATCTGCAAGACATCAAAGTGGC	403 bp
	Outer Primer R	TTCCTCTCCAATCTTCTCTGACAC	

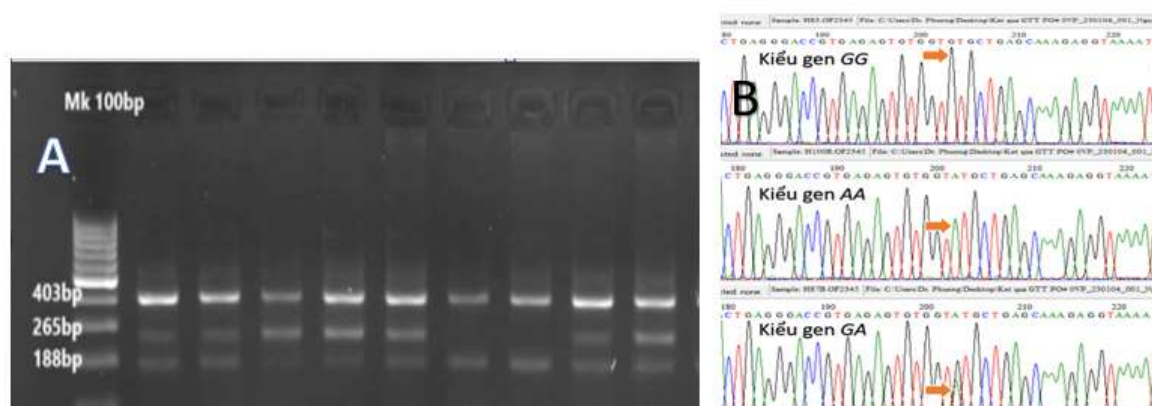
- Giải trình tự Sanger: Sản phẩm nhân gen được tinh sạch bằng kit GeneJET PCR Purification Kit (Thermo Fisher, USA), giải trình tự tự động ABI 3100 Avant, được thực hiện bởi Công ty Cổ phần Phù Sa Genomics.

- Số liệu được nhập liệu bằng phần mềm Microsoft Exel 16.0 và xử lý bằng phần mềm Spss 20.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xác định SNP rs2062345 gen SOCS6 trên đối tượng nghiên cứu

Xác định SNP rs2062345 gen SOCS6 sử dụng trong nghiên cứu bằng phương pháp Tetra-primer ARMS PCR có đối chiếu một số mẫu đại diện với kết quả giải trình tự gen Sanger.



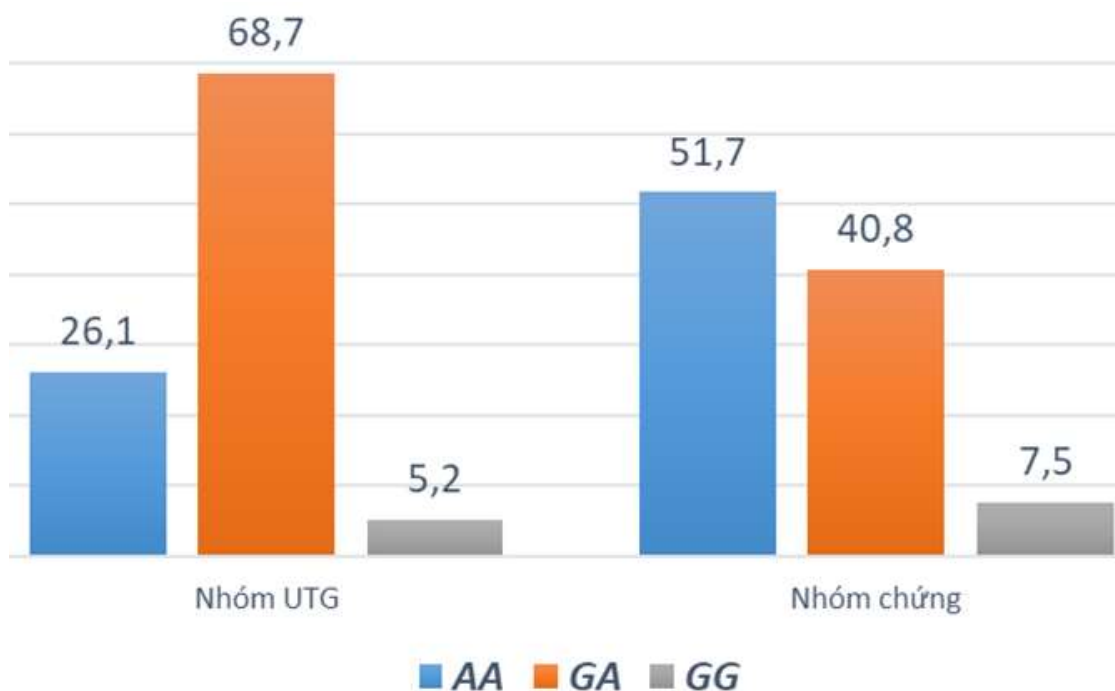
Hình 3.1. Kết quả phân tích điểm SNP rs2062345 một số mẫu nghiên cứu bằng Tetra-primer ARMS PCR và giải trình tự gen Sanger

Nhận xét: Kết quả điện di: các băng đích 403bp, 265bp, 188bp đều sáng rõ, không xuất hiện băng phụ, phù hợp với kiểu dị hợp tử GA, đồng hợp tử GG, AA mục tiêu phân tích. Kết quả giải trình tự Sanger: kiểu gen đồng hợp tử GG có một đỉnh G duy nhất; đồng hợp tử AA có một đỉnh A duy nhất. Kiểu gen dị hợp tử GA có hai đỉnh nucleotide G và nucleotide A lồng vào nhau. Kết quả hai phương pháp có tính tương đồng 100%, đủ tiêu chuẩn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

Bảng 3.1. Tần suất alen, kiểu gen, mô hình di truyền SNP rs2062345 gen SOCS6 trên đối tượng nghiên cứu

SNP rs2062345	Nhóm UTG (n = 115)		Nhóm chứng (n = 120)	
	n	%	n	%
Kiểu gen				
AA	30	26,1	62	51,7
GA	79	68,7	49	40,8
GG	6	5,2	9	7,5
Mô hình trội				
AA	30	26,1	62	51,7
GA+GG	85	73,9	58	48,3
Mô hình lặn				
AA+GA	109	94,8	111	92,5
GG	6	5,2	9	7,5
Alen				
A	139	60,4	173	72,1
G	91	39,6	67	27,9

Nhận xét: Nhóm người khỏe mạnh, kiểu gen AA có tần suất xuất hiện cao nhất 51,7% và alen A chiếm 72,1%. Nhóm UTMBMTBG kiểu gen GA có tần suất xuất hiện cao nhất 68,7% và alen A 60,4%.



Biểu đồ 3.2. Phân bố kiểu gen SNP rs2062345 gen SOCS6 đối tượng nghiên cứu
3.2. Mối liên quan SNP rs2062345 gen SOCS6 và ung thư gan nhiễm HBV

Bảng 3.2. Mối liên quan SNP rs2062345 gen SOCS6 với ung thư biểu mô tế bào gan

SNP rs2062345		UTG so với NC	
		OR 95%CI	p
Kiểu gen	AA		
	GA	3,33 1,90-5,85	< 0,01*
	GG	1,38 0,45-4,23	> 0,05
Mô hình trội	AA	3,03	< 0,01^Δ
	GA+GG	1,75- 5,24	
Mô hình lặn	AA+GA	0,68	> 0,05 ^Δ
	GG	0,23 - 1,97	
Kiểu alen (2n)	A	1,69	< 0,01^Δ
	G	1,15 - 2,49	

*Hồi quy nhị phân binary logistic, ^Δ Kiểm định Chi-square

Nhận xét: Kiểu gen GA, alen G và mô hình trội ghi nhận xuất hiện tần suất cao ở nhóm ung thư gan so với nhóm chứng, cụ thể:
 - Kiểu gen GA so với AA có OR = 3,33; 95%CI = 1,90 - 5,85, p < 0,01.

- Mô hình trội GA và GG so với AA có OR = 3,03; 95%CI = 1,75 - 5,24 (p < 0,01).
 - Kiểu alen G so với alen A có OR = 1,69; 95%CI = 1,15 - 2,49 (p < 0,01).

Bảng 3.3. Đa hình SNP rs2062345 gen SOCS6 với một số đặc điểm cận lâm sàng trên nhóm ung thư gan

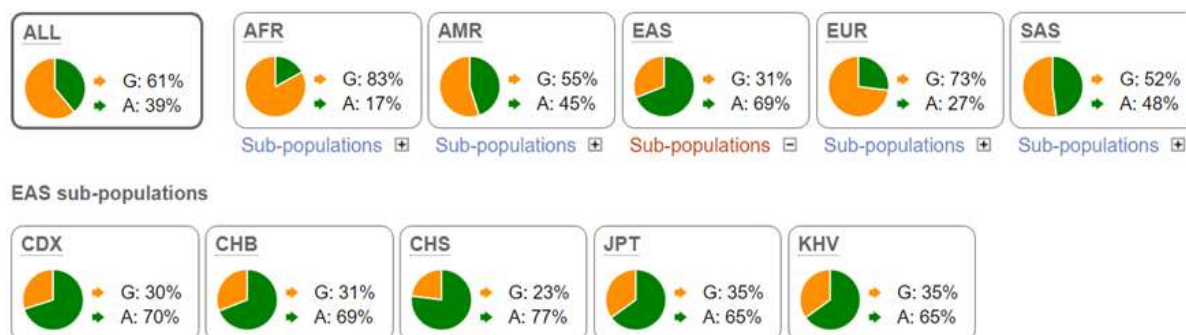
Xét nghiệm		Kiểu gen SNP rs2062345		
		GG	AA	GA
AST (U/L)	X ± SD	72,51±43,18	69,22±30,55	93,55±91,29
	Trung vị	67,54	76,00	58,00
p		>0,05*		
ALT (U/L)	X ± SD	38,43±20,26	59,96±46,57	63,78±69,27
	Trung vị	31,80	50,41	44,00
p		>0,05*		
BiliTP (µmol/l)	X ± SD	16,44±8,89	22,07±13,22	39,46±76,96
	Trung vị	12,93	17,64	17,60
p		>0,05*		
Albumin (g/l)	X ± SD	36,25±5,83	38,04±5,21	38,11±5,80
	Trung vị	37,60	38,47	40,00
p		>0,05*		
PT(%)	X ± SD	95,67±8,14	86,13±15,98	82,04±19,81
	Trung vị	94,50	89,50	82,00
p		>0,05*		
TC (G/l)	X ± SD	215,67±103,34	158,26±84,31	177,14±89,33
	Trung vị	223,50	142,00	178,00
p		>0,05*		
AFP (ng/ml)	X ± SD	934,04±1024,99	1486,48±4537,74	3209,63±11209,72
	Trung vị	789,53	352,74	236,96
p		>0,05*		

Nhận xét: Không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các chỉ số cận lâm sàng (AST, ALT, Bilirubin TP, Albumin, PT (%), AFP) giữa các kiểu gen SNP rs2062345 ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

SNP rs2062345 có vị trí nằm trên vùng intron của gen SOCS6, trình tự nucleotide có thể thay đổi G>A. Trong ngân hàng dữ liệu Genbank, chưa có một nghiên cứu vai trò điểm SNP rs2062345 trong các bệnh lý người nói chung. Về tần suất các Alen G, A

hoặc kiểu gen GG, AA, GA có sự khác nhau theo chủng tộc. Tần suất alen G, A tổng dân số nói chung lần lượt là 61% và 39%. Người Châu Phi (AFR), alen G xuất hiện với tần suất cao, chiếm đa số và cao hơn hẳn các chủng tộc khác 83%; ngược lại với người Đông Á (EAS) trong đó có Việt Nam (KHV); tần suất Alen A lại chiếm tỷ lệ đa số. Tỷ lệ alen A và G người Việt Nam (KHV) lượt là 65% và 35%; tỷ lệ kiểu gen đồng hợp trội AA, đồng hợp lặn GG và dị hợp tử G/A lần lượt là 44,4%, 15,2% và 40,4%.



Hình 3. Tần suất alen SNP rs2062345 trên Genbank

*Nguồn: https://asia.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi, trên đối tượng khỏe mạnh, tần suất alen A 72,1%; alen G 27,9%; kiểu gen đồng hợp AA thường gặp nhất với tần suất 51,7%, kiểu gen đồng hợp GG chỉ chiếm 7,5%. Kết quả phù hợp với công bố dữ liệu Genbank kiểu gen và kiểu alen người Việt Nam. Trên đối tượng ung thư gan, tần suất alen A vẫn chiếm tỷ lệ cao hơn alen G. Về kiểu gen, nhóm ung thư gan kiểu gen dị hợp tử GA chiếm tỷ lệ cao nhất với 68,7%, kiểu gen đồng hợp tử AA chỉ chiếm 26,1%. Như vậy, có sự biến đổi về tần suất giữa kiểu gen SNP rs2062345 giữa nhóm chúng và nhóm ung thư, điều này có thể giải thích do sự tác động của vi rút viêm gan B với sự thay đổi tần suất kiểu gen trên đối tượng ung thư gan của điểm SNP này.

Qua phân tích hồi quy nhị phân binary logistic, kiểu gen GA, Alen G của SNP rs2062345 gen SOCS6 là các yếu tố tăng nguy cơ mắc ung thư gan so với kiểu gen AA và alen A; lần lượt OR = 3,33 (p < 0,01) và OR = 1,69 (p < 0,01). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với một số nghiên cứu đa hình gen thuộc họ gia đình gen SOCS trên các đối tượng nhiễm HBV. Nghiên cứu của tác giả Trương Xuân Hoàn và cộng sự năm 2017, phân tích các điểm SNP rs12953258 và rs111033850 trên vùng promoter gen SOCS3 trên đối tượng người nhóm Việt Nam khỏe mạnh và nhóm nhiễm HBV. Kết quả, alen A của SNP rs12953258

liên quan tới tăng nhạy cảm với nhiễm HBV trên đối tượng người khỏe mạnh (OR = 1,3, 95% CI 95% = 1,1-1,6, p < 0,05). Alen C (SNP rs111033850) và alen A (SNP rs12953258) ghi nhận có tần suất cao ở nhóm bệnh nhân ung thư gan và xơ gan so với bệnh nhân viêm gan vi rút B mạn tính, được coi là một yếu tố nguy cơ tiến triển ung thư gan và xơ gan trên đối tượng này với OR lần lượt 1,7 và 1,4 (p < 0,05) [6]. Nghiên cứu của tác giả Zhangyong Hu và cộng sự 2014, phân tích tính đa hình gen CISH trên đối tượng người Trung Quốc (khỏe mạnh và nhiễm HBV). Kết quả, alen A và kiểu gen AA tại SNP rs414171, và kiểu gen TT tại SNP rs2239751 có liên quan tới nhiễm HBV mạn tính, tuy nhiên không ghi nhận liên quan tới tiến triển của bệnh như xơ gan, ung thư gan [7]. Nghiên cứu của Pingping Zhang năm 2014, cũng ghi nhận SNP rs243327 và rs33932899 gen SOCS1 có liên quan tới nhiễm vi rút viêm gan B mạn tính và tiến triển của bệnh [8]. Phân tích đa hình gen có vai trò quan trọng trong phát triển y học, hướng tới mục tiêu y học cá thể hóa. Các biến thể trong trình tự DNA của con người có thể ảnh hưởng đến cách cơ thể phát triển bệnh, cách cơ thể đáp ứng với các tác nhân gây bệnh, các hóa chất, thuốc, vaccin và các loại tác nhân khác. Nghiên cứu của chúng tôi là một nghiên cứu đa hình đầu tiên về gen SOCS6 trên đối tượng người Việt Nam, kết quả cho thấy điểm SNP rs2062345 gen

SOCS6 có liên quan tới mắc nguy cơ ung thư gan nhiễm HBV.

Đa hình gen là một biến dị di truyền phổ biến ở người. Quá trình hình thành các biến dị này có thể do tác động của chọn lọc tự nhiên, hệ gen của người tự biến đổi và sửa chữa để thích nghi với môi trường sống; hoặc cũng là các biến thể của gen vật chủ chịu ảnh hưởng quá trình tương tác kéo dài với các căn nguyên vi sinh. Sự biến đổi này đều cần có một quá trình, do vậy các nghiên cứu đa hình gen nói chung và các gen SOCS nói riêng, đều ít ghi nhận mối liên quan rõ rệt giữa các xét nghiệm sinh hóa, huyết học thông thường với các kiểu gen của các đa hình gen [6],[7]. Do vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi chưa ghi nhận một sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các kiểu gen tại SNP rs2062345 gen SOCS6 với các xét nghiệm cận lâm sàng thường quy trên đối tượng ung thư gan, phù hợp với các nghiên cứu đa hình gen nói chung.

V. KẾT LUẬN

Qua phân tích SNP rs2062345 gen SOCS6 trên 235 đối tượng bao gồm 115 bệnh nhân ung thư gan và 120 đối tượng nhóm chứng khỏe mạnh, chúng tôi ghi nhận một số kết quả sau:

- Phân bố kiểu gen, alen SNP rs2062345 gen SOCS6: nhóm người khỏe mạnh, kiểu gen AA và alen A chiếm tỷ lệ đa số lần lượt 51,7% và 72,1%. Nhóm ung thư gan kiểu gen GA có tần suất xuất hiện cao nhất 68,7%, alen A 60,4%.

- Kiểu gen GA, alen G và mô hình di truyền trội SNP rs2062345 gen SOCS6 là các yếu tố nguy cơ mắc ung thư gan với $p < 0,01$.

- Không ghi nhận mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa các kiểu gen SNP rs2062345 gen SOCS6 với một số chỉ số cận lâm sàng trên đối tượng ung thư gan nhiễm HBV.

VI. LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn các bệnh nhân và những người hiến máu tình nguyện đã tham gia vào nghiên cứu này. Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 108.02-2017.15.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bray F., Ferlay J., Soerjomataram I. et.al.** (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. 68 (6), 394-424.
2. **Xie J., Wang M., Cheng A. et.al.** (2021). The role of SOCS proteins in the development of virus- induced hepatocellular carcinoma. *Virology Journal*, 18 (1), 74.
3. **Yoon S., Yi Y. S., Kim S. S. et.al.** (2012). SOCS5 and SOCS6 have similar expression patterns in normal and cancer tissues. *Tumour Biol*, 33 (1), 215-221.
4. **Qiu X., Zheng J., Guo X. et.al.** (2013). Reduced expression of SOCS2 and SOCS6 in hepatocellular carcinoma correlates with aggressive tumor progression and poor prognosis. *Mol Cell Biochem*, 378 (1-2), 99-106.
5. **Ye S., Dhillon S., Ke X. et.al.** (2001). An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nucleic Acids Res*, 29 (17), E88-88.
6. **Hoan N. X., Van Tong H., Giang D. P. et.al.** (2017). SOCS3 genetic variants and promoter hypermethylation in patients with chronic hepatitis B. *Oncotarget*, 8 (10), 17127-17139.
7. **Hu Z., Yang J., Wu Y. et.al.** (2014). Polymorphisms in CISH gene are associated with persistent hepatitis B virus infection in Han Chinese population. *Plos one*, 9 (6), e100826.
8. **Zhang P., Li F., Li N. et.al.** (2014). Genetic variations of SOCS1 are associated with chronic hepatitis B virus infection. *Hum Immunol*, 75 (8), 709-714.