

宜宾地区汉族人群 *Sp110* 基因多态性与肺结核易感性的相关性

张健¹, 张毅²

(1. 宜宾市第一人民医院呼吸内科, 四川 宜宾 644000;

2. 四川省宜宾卫生学校内科教研室, 四川 宜宾 644000)

摘要:目的 探讨宜宾地区汉族人群 *Sp110* 基因多态性与肺结核易感性的相关性。方法 选择 2011 年 1 月—2012 年 12 月按病例对照研究设计选取 112 例肺结核患者和 140 例健康人作为研究对象, 比较两组的一般资料, 测定其 *Sp110* 基因 2 个 SNP 位点(*rs11679983*、*rs3948464*)的基因型, 探索其与肺结核易感性的相关性。结果 (1) 观察组和对照组吸烟史(49.1% vs 33.6%)和家族结核病史(23.2% vs 9.3%)差异有统计学意义($P < 0.05$); (2) 观察组 *rs11679983* G 等位基因频率(51.8% vs 33.6%)、*rs3948464* C 等位基因频率(92.9% vs 81.4%)高于对照组($P < 0.05$), 其 OR 分别为 2.13 和 2.97; (3) 两组患者 *rs11679983* 和 *rs3948464* 的基因型分布不一致($P < 0.05$)。结论 *Sp110* 基因的 *rs11679983*A/G 和 *rs3948464*C/T 位点多态性可能是该地区汉族人群肺结核易感性的影响因素。

关键词: 宜宾地区; 汉族人群; *Sp110* 基因; 肺结核; 单核苷酸多态性; 易感性

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2017.12.016

The relationship between *Sp110* gene polymorphism and tuberculosis susceptibility of Chinese Han population in Yibin region

ZHANG Jian¹, ZHANG Yi²

(1. Department of Respiratory Medicine, The First People's Hospital of Yibin, Yibin, Sichuan 644000, China;

2. Department of Internal Medicine, Yibin Health School, Yibin, Sichuan 644000, China)

Abstract: Objective To explore the relationship between *Sp110* gene polymorphism and tuberculosis susceptibility of Chinese Han population in Yibin region. **Methods** One hundred and twelve tuberculosis patients and 140 control patients were selected from January 2011 to December 2012 at the First People's Hospital and Infectious Disease Hospital of Yibin by using case-control study to investigate their normal information and detect 2 SNP sites of *Sp110* gene, finally the relationship between *Sp110* gene SNPs polymorphism and tuberculosis susceptibility was explored. **Results** (1) There were significant differences in smoking history (49.1% vs 33.6%) and family history (23.2% vs 9.3%) of tuberculosis between case group and control group ($P < 0.05$). (2) The frequencies of *rs11679983* G allele (51.8% vs 33.6%) and *rs3948464* C allele (92.9% vs 81.4%) in case group were significantly higher than those in control group with an OR 2.13 and 2.97 respectively ($P < 0.05$). (3) The genotypes of *rs11679983* and *rs3948464* were not consistent in two groups ($P < 0.05$). **Conclusions** The polymorphisms of *rs11679983* A/G and *rs3948464* C/T of *Sp110* gene may be the influencing factors of tuberculosis susceptibility of Chinese Han population in Yibin region.

Key words: Yibin region; Chinese Han population; *Sp110* gene; Tuberculosis; Single nucleotide polymorphism; Susceptibility

肺结核是单一致病菌引起病死率较高的疾病之一, 占全球总病死率的第 7 位, 且近年来有发展的趋势, 居传染病死亡人数的首位。许多流行病学研究证实, 仅有 10% 左右结核杆菌感染者会表现出疾病^[1], 存在明显的个体差异, 而这种个体差异主要取决于某些遗传易感性基因, 如 *TAP*、*MBL*、*NRAMP1*、*VDR* 基因等^[2-5]。但不同地区、不同民族人群中各种基因存在一定的差异, 因此调查不同人

群中相关易感基因多态性与肺结核的关系, 为科学阐明肺结核发病的分子机制、分子诊断、人群防控都有一定的指导意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取 2011 年 1 月—2012 年 12 月于宜宾市第一人民医院及宜宾市传染病医院确诊的肺结核病例 120 例作为观察组, 最终资料收集完整者共 112 例, 回收率为 93.3%, 其中男性 68 例, 女性 44 例, 年龄 20 ~ 55 岁, 平均年龄 (34.3 ± 4.6) 岁, 诊断符合肺结核诊断标准 (WS 288-2008): (1) 两次痰标本涂片镜检抗酸杆菌阳性或分离培养

分支杆菌阳性;(2)肺部病理学检查符合肺结核病变者。所有病例均排除肺炎、肺癌、尘肺等具有结核相似病症者;同时排除人类免疫缺陷病毒(HIV)、肝炎病毒等感染,糖尿病、肿瘤等消耗性疾病,长期使用激素等免疫功能低下者。同时选取同期经诊断排除肺结核的健康人 140 例作为对照组,其年龄、性别构成均与观察组差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有调查对象均为汉族。

1.2 方法

1.2.1 实验设计及流行病学调查 采用病例对照研究的原则设计对照组和观察组,并收集其基本信息,包括一般情况、行为习惯(吸烟、饮酒、饮食等)、疾病史、预防接种史、家族结核病史等。

1.2.2 实验方法 抽取所有研究对象晨起空腹静脉血 3~5 mL,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,-20℃冷冻保存备用。采用南京生兴生物提供的血液基因组 DNA 提取试剂盒提取样本血液中的 DNA,查阅文献并在 genbank 中确定 *Sp110* 基因序列,选择 *Sp110* 基因的 2 个 SNP 位点(*rs11679983*、*rs3948464*)进行研究,参考文献[6]设计引物并用 Primer 5.0 验证,并由上海生工生物工程公司合成,具体引物见表 1。SNP 位点多态性检测:*rs11679983A/G* 采用等位基因特异扩增(ASA-PCR)法检测,*rs3948464* 采用聚合酶链反应-限制性片段多态性(PCR-RFLP)方法检测。PCR 反应体系:针对 *rs11679983*,10×buffer 2 μL,dNTPs 1 μL,上游/下游引物各 2 μL,Taq 0.1 μL,模板 DNA 50 ng,加 ddH₂O 至 20 μL;针对 *rs3948464*,10×buffer 2 μL,dNTPs 2 μL,上游/下游引物各 1 μL,Taq 0.3 μL,模板 DNA 100 ng,加 ddH₂O 至 20 μL。PCR 反应条件

均为 95℃ 5 min 预变性,94℃ 变性 30 s,55℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min,共 35 个循环,72℃ 终末延伸 7 min。

表 1 不同 SNP 位点的引物设计

SNP 位点	多态性	引物
<i>rs11679983</i>	<i>A/G</i>	针对 <i>A</i> :5'-AGTGCCCGCAATAGGCGGCTT- 3'
		针对 <i>G</i> :5'-ACTGCCCCGAATAGGCGGCTC- 3'
		下游引物:5'-AGGTCCAAATGTTCTGAAGGCTGA- 3'
<i>rs3948464</i>	<i>C/T</i>	正义链引物:5'-GGCAAGATAACTCTCTGAAAG- 3'
		反义链引物:5'-CAAAGCCAAGGTGAAC TG- 3'

1.3 统计学方法 所有数据用 SPSS17.0 录入并处理。SNP 发生频率用百分比表示,各群体的基因型平衡检验则采用 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验;各群体间基因型比较采用 χ^2 检验,并计算比值(OR)及其 95% 可信区间(95% CI)。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 两组一般资料的比较 两组在年龄、性别、居住环境和卡介苗接种史等方面比较差异无统计学意义($P > 0.05$),但在吸烟史和家族结核病史方面差异有统计学意义($P < 0.05$),具体数据见表 2。

2.2 *Sp110* 基因 *rs11679983* 和 *rs3948464* SNP 位点等位基因频率分布 观察组的 *rs11679983* 等位基因分布 *A* 为 48.2%,*G* 为 51.8%,对照组 *A* 为 66.4%,*G* 为 33.6%,差异有统计学意义($P < 0.05$),其 OR 为 2.13;观察组和对照组的 *rs3948464* 等位基因的 *C* 分布概率分别为 92.9% 和 81.4%,差异有统计学意义($P < 0.05$),其 OR 为 2.97,具体数据见表 3。

表 2 两组一般资料的比较

组别	例数	年龄/(岁, $\bar{x} \pm s$)	男性/例(%)	居住环境(有粉尘污染)/ 例(%)	有卡介苗接种史/ 例(%)	有吸烟史/ 例(%)	有家族结核病史/ 例(%)
对照组	140	35.0±5.5	90(64.3)	27(19.3)	129(92.1)	47(33.6)	13(9.3)
观察组	112	34.3±4.6	68(60.7)	23(20.5)	101(90.2)	55(49.1)	26(23.2)
$t(\chi^2)$ 值		1.08	(0.34)	(0.06)	(0.30)	(6.23)	(9.23)
<i>P</i> 值		0.28	0.60	0.87	0.66	0.01	0.00

表 3 *Sp110* 基因 *rs11679983* 和 *rs3948464* SNP 位点等位基因频率分布

组别	例数	<i>rs11679983</i> 等位基因					<i>rs3948464</i> 等位基因				
		<i>A</i>	<i>G</i>	OR(95% CI)	χ^2 值	<i>P</i> 值	<i>C</i>	<i>T</i>	OR(95% CI)	χ^2 值	<i>P</i> 值
对照组	140	186(66.4)	94(33.6)	2.13(1.48~3.05)	16.99	0.00	228(81.4)	52(18.6)	2.97(1.64~5.35)	13.93	0.00
观察组	112	108(48.2)	116(51.8)				208(92.9)	16(7.1)			

表 4 *Sp110* 基因 *rs11679983* 和 *rs3948464* SNP 位点基因型频率分布

组别	例数	<i>rs11679983</i> 基因型					<i>rs3948464</i> 基因型				
		<i>AA</i>	<i>AG</i>	<i>GG</i>	χ^2 值	<i>P</i> 值	<i>CC</i>	<i>CT</i>	<i>TT</i>	χ^2 值	<i>P</i> 值
对照组	140	58	70	12	18.89	0.00	92	44	4	16.23	0.00
观察组	112	27	54	31			98	12	2		

2.3 *Sp110* 基因 *rs11679983* 和 *rs3948464* SNP 位点基因型频率分布 两组患者在 *rs11679983* 和 *rs3948464* 位点都分别检出了 3 种基因型,经 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验,各组均符合遗传平衡,但两组间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),具体数据见表 4。

3 讨论

结核杆菌感染机体后通常只有极少部分表现出疾病,据世界卫生组织报道,全球约有 1/3 的人感染了结核杆菌,每年有 300 万人死于结核病,我国结核病发病形势相当严峻,是位居全球第二的结核病高负担国家^[7],且耐药状况相当突出,已经形成结核杆菌多种药物耐受的局面^[8],四川也是结核病发病的重灾区,2004 年报道全省平均发病率 102.2/10 万,显著高于全国平均水平^[9]。关于结核杆菌易感基因全球的相关研究很多,认为多种基因的位点突变可能和结核的发病有关。

结核病的发生发展过程受多种因素影响,除病原体、宿主免疫状态、环境-社会经济等因素外,宿主易感基因起着重要作用。易感基因参与调控结核分枝杆菌(MTB)感染后细胞凋亡、促炎症因子表达、炎症相关信号通路激活等活动^[10]。人体核体蛋白 *Sp110* 是与 *Ipr1* 最接近的同源蛋白,可能在细胞核激素受体、干扰素信号传输和病原体之间介导了一种相互交叉作用,从而影响机体感染结核杆菌后的发生、发展过程^[11],*Sp110* 基因可影响结核杆菌感染免疫及产生组织学应答最主要的效应细胞巨噬细胞的功能和活性,*Sp110* 的编码产物均可调节巨噬细胞生物活性,影响结核分枝杆菌在其内的生长繁殖^[12],从而影响结核分支杆菌在巨噬细胞中的存活、生长及感染后的转归等^[13]。大量流行病学研究证实 *Sp110* 基因 SNPs 多态性与结核病易感性相关^[14]。研究发现,小鼠 *Ipr1* 基因可通过上调多种先天免疫力基因表达(尤其 *TLR2*/*TLR4* 基因)以及激活 *TLRs* 信号通路^[15],从而增强巨噬细胞活性和对抗 MTB 感染的能力,因此推测人类 *Sp110* 基因在体内也有类似功能。有研究者认为^[10,16]:*Sp110* 基因

可能是与人体结核病易感性相关的一个新候选基因,它编码白细胞特异性核体蛋白,主要是在外周血白细胞和脾脏中表达。

本研究中我们发现 *rs11679983* 和 *rs3948464* SNP 位点可能出现的突变,并估计了其在结核病患者和健康人中的大致发生频率,其相应的基因型构成比也和相关文献报道一致^[6],*rs11679983* 的 *A/G* 基因型可能增加肺结核感染的可能性^[10]。但在 *rs3948464* 的 *TT* 基因型上并未完全一致,这可能与该基因型在不同人群中的分布并不一致有关,也可能是由于样本量不足导致的。通过本研究可以认为 *Sp110* 的相关 SNP 位点突变可能与个体结核病的发病有关。

参考文献

[1] 李继东,朱运奎,肖永久. 结核病易感基因的研究现状[J]. 临床肺科杂志,2009,14(2):219-220.

[2] GOMEZ LM, CAMARGO JF, CASTIBANCO J, et al. Analysis of IL1B, TAP1, TAP2 and IKBL polymorphisms on susceptibility to tuberculosis[J]. Tissue Antigens,2006,67(4):290-296.

[3] 冯福民,王东,郭梅,等. MBP-52 位点多态性与肺结核易感性的病例对照研究[J]. 现代预防医学,2007,34(3):438-440.

[4] 安雅臣,冯福民,袁聚祥,等. NRAMP1 基因 INT4 和 3'UTR 位点多态性与肺结核易感性的研究[J]. 中华流行病学杂志,2006,27(1):37-40.

[5] 刘玮,张翠英,吴晓明,等. 维生素 D 受体多态性与肺结核易感性的病例对照研究[J]. 中国流行病杂志,2003,24(5):389-392.

[6] 丛建妮,李革,周丹,等. *Sp110* 基因多态性与重庆汉族肺结核遗传易感性关联性研究[J]. 卫生研究,2010,39(5):540-544.

[7] WHO. Global tuberculosis report 2014[R]. WHO: Geneva,2014.

[8] 周炳来. 结核与免疫[J]. 临床荟萃,2000,15(10):473-474.

[9] 沈卓之,冯子建,马家奇,等. 四川省 2004 年肺结核流行特征及空间聚集性分析[J]. 现代预防医学,2008,35(8):1412-1413.

[10] 周莹,黄迪迪,何丹,等. *SP110* 基因 *rs11679983A/G* 多态性与中国南方汉族肺结核易感性研究[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(7):1477-1479.

[11] 周丹,陶杨,蔡家春,等. *SP110* 基因 *rs1135791*、*rs722555* 多态性与结核病的相关性研究[J]. 现代预防医学,2008,35(3):416-419.

[12] 周丹,李革. 核体蛋白 *SP110* 及其生物学功能[J]. 医学分子生物学杂志,2006,3(4):271-274.