

Toll 样受体 2 亚家族基因单核苷酸多态性与哮喘的关系研究

钱粉红^{1*}, 张倩², 卞秀娟¹, 刘源¹, 张丹凤¹, 殷凯生³

(¹ 江苏大学附属医院呼吸科, 江苏 镇江 212001; ² 南京医科大学附属常州医院呼吸科, 江苏 常州 213003; ³ 南京医科大学第一附属医院呼吸科, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的: 探讨 Toll 样受体(Toll-like receptor, TLR)2 亚家族基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)与中国东南方成人哮喘及其临床表型之间的关系。方法: 共招募哮喘患者 318 例, 正常对照 352 例, TLR2 亚家族中共 8 个 SNP 使用 SNPstream 方法进行了基因分型。对各 SNP 和单倍型与哮喘及其表型进行了分析。结果: 运用 Logistic 回归分析后, 发现 rs7656411/TLR2 突变基因型 TT 与野生型 rs7656411 GG 比较能明显降低 37% 哮喘的发生(校正 OR = 0.63, 95%CI: 0.41~0.98, $P = 0.41$), rs7656411 TT+GT 与哮喘无明显关系(校正 OR = 0.77, 95% CI: 0.54~1.09, $P > 0.05$)。携带 rs2381289/TLR6 T 等位基因的哮喘患者患过敏性鼻炎的危险度为不携带此等位基因哮喘患者的 1.79 倍(95%CI: 1.10~2.91, $P = 0.025$), 然而携带 rs11466651/TLR10 A 等位基因的哮喘患者患过敏性鼻炎的危险度较不携带此等位基因的哮喘患者下降了 51%(95%CI: 0.26~0.95, $P = 0.046$)。结论: TLR2 亚家族基因的突变可能在哮喘易感性中起着重要作用。

[关键词] 哮喘; Toll 样受体; 易感性; 单核苷酸多态性。

[中图分类号] R562.2*5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)03-373-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20150315

Single nucleotide polymorphisms of TLR2 subfamily and its relationship with asthma in a Chinese population

Qian Fenhong^{1*}, Zhang Qian², Bian Xiujian¹, Liu Yuan¹, Zhang Danfeng¹, Yin Kaisheng³

(¹Department of Respiratory Medicine, the Affiliated Jiangbing Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001;

²Department of Respiratory Medicine, the Affiliated Changzhou No.2 People's Hospital of NJMU, Changzhou 213003;

³Department of Respiratory Medicine, the First Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** We sought to determine whether single nucleotide polymorphisms(SNPs) in toll-like receptor(TLR) 2 subfamily genes affect the risk of asthma in adults from southeastern China, and the association between SNPs and asthma clinical phenotypes.

Methods: A total of 318 asthmatic patients and 352 non-asthmatic controls were recruited. Eight SNPs in TLR2 subfamily genes were detected using Genome Lab SNP stream. Each SNP and haploid type as well as asthma phenotype were analyzed. **Results:** We found that patients with the TLR2/rs7656411 TT variant homozygote had a significantly reduced risk of asthma when compared with those with the GG wild-type homozygote [adjusted odds ratio(OR):0.63; 95% confidence interval(CI):0.41-0.98; $P = 0.41$]. There was no significant difference between rs7656411TT +GT and asthma (OR:0.77; 95% CI:0.54-1.09; $P \geq 0.05$). Furthermore, a positive association was observed between the T allele of rs2381289 in TLR6 and allergic rhinitis in asthma (OR:1.79; 95% CI:1.10-2.91; $P = 0.025$), while the A allele of rs11466651 in TLR10 was negatively associated with allergic rhinitis (OR:0.49; 95%CI:0.26-0.95; $P = 0.046$). **Conclusion:** Our results indicate that a genetic variant in the TLR2 subfamily may play a role in susceptibility to asthma.

[Key words] asthma; toll-like receptor; susceptibility; single-nucleotide polymorphism

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(03):373-379]

[基金项目] 国家自然科学基金(83170119); 镇江市科技支撑计划(社会发展)(SH2011017); 镇江市医学重点人才项目

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhaopian604@126.com

Toll样受体(Toll-like receptor, TLR)是天然免疫系统中的一类主要模式识别受体家族,也是连接先天性免疫与获得性免疫的桥梁。在脊椎动物中TLR2亚家族为TLR的6家族之一,它是由TLR1、TLR2、TLR6和TLR10组成^[1]。TLR2位于人4q31.3~q32,而TLR1、TLR6、TLR10基因簇位于人4p14上,呈串联排列紧密相连,长约54 kb,三者享有高度同源的氨基酸序列^[1]。研究发现通过TLR诱导的细胞活化对宿主的免疫以及变态反应性疾病有着复杂的双向调节作用^[2]。TLR的序列突变可能破坏免疫应答,导致易感者发展成为哮喘^[3]。TLRs的基因突变可能影响哮喘的易感性,但研究结论不一致^[4]。研究单个基因的单核苷酸多态性(single-nucleotide polymorphism, SNP)对于复杂多基因疾病来说临床意义并不大,但是联合基因分析也许结果更有意义^[5]。

1 对象和方法

1.1 对象

所有哮喘患者均为南京医科大学第一附属医院呼吸科门诊就诊者,共318例。对照组352例均为健康志愿者,否认有遗传性过敏症或个人过敏史。所有入选者均为汉族人,且居住在南京及南京周边地区。哮喘的诊断及其病情严重程度的分级依据中华医学会呼吸病学分会哮喘学组修定的支气管哮喘防治指南。排除标准为除哮喘外的其他呼吸道疾病,近期上、下呼吸道感染,慢性阻塞性肺病,妊娠,心、肝、肾疾病,糖尿病,肿瘤,近期手术,系统性炎症性疾病(如血管胶原性疾病和炎症性肠病等)。所有哮喘患者入选时均进行了血常规、肺功能、皮肤变应原测试,必要时行胸片检查。对照组进行了血常规和肺功能检查。入选患者均填写了知情同意书和调查表。

过敏原皮肤点刺试验液(ALK-Abelló A/S, Hørsholm公司,丹麦),Sysmex XE-2100血常规自动检测仪、血清高敏C-反应蛋白(high-sensitivity C-reactive protein, hsCRP)胶乳增强的超敏免疫透射比浊法试剂、BN II检测仪(Dade Behring公司,德国),血清人总IgE ELISA定量试剂盒(Bethyl实验室,美国)。

1.2 方法

1.2.1 调查表

调查表内容包括以下内容:人口资料的一般信息(如姓名、性别、年龄等),职业,家族史,过敏史,吸烟史,合并的疾病,发病时间,发病症状,使用药物等。吸烟以包年(每天吸烟的包数乘以吸烟的年数)计算,若<5包年则视为未吸烟者,>5包年则视为吸

烟者^[3]。哮喘病情严重程度根据过去3个月内白天和夜间的症状、急性发作的频率、肺功能、使用治疗哮喘的药物剂量(包括使用急救药物)而判定。所有哮喘患者按病情严重程度被分成4组(1级:间歇期;2级:轻度持续;3级:中度持续;4级:重度持续)。

1.2.2 肺功能检查

专业人员使用肺量计(MicroLab Spiro V 1.34, Micro Medical公司,英国)根据欧洲呼吸协会标准检测每一位参加者的肺功能,具体参照文献^[6]。

1.2.3 变应原皮肤点刺实验

受试者前臂内侧或上臂外侧皮肤进行变应原皮肤点刺实验。共13种常见的气源性过敏原(包括屋尘螨、粉尘螨、猫毛、狗毛、蟑螂、花粉、豚草、艾蒿和霉菌),以组胺为阳性对照、生理盐水为阴性对照。风团平均直径>3 mm视为阳性。

1.2.4 血常规、hs-CRP和IgE的检测

血常规的测定采用Sysmex XE-2100自动检测仪。入选者均空腹抽取5 ml静脉血,予1 700 r/min离心10 min,血浆和白细胞层分别分装于-80℃冻存以备后用。血清hsCRP检测采用胶乳增强的超敏免疫透射比浊法试剂在BN II检测仪上测定,最低检测限度为0.15 mg/L。血清总IgE按照ELISA定量试剂盒说明操作,最低检测限度为6.51 U/ml (15.625 ng/ml)。

1.2.5 目的SNP的确定及基因分型

通过查阅NCBI和GenBank以下述4点作为参考标准:①选择位点尽量分布在编码区或启动子区;②亚洲人群内少数等位基因频率(minor allele frequencies, MAF) > 5%;③SNP引起的突变为非同义突变;④挑选的位点内若有2个位点之间存在连锁不平衡($r^2 > 0.8$)则只选择其中1个位点检测。此外结合引物设计的可能以及文献查阅,参照有关方面的专家建议,最终确定了目的SNP共为8个。与国家人类基因组南方研究中心合作使用SNPstream方法来进行基因分型。引物设计在www.autoprimer.com上进行,由国家人类基因组南方研究中心设计完成。每份样品的病史信息检测者事先并不知情,每块PCR板均设有阴性对照,同时为确保基因分型的准确率及一致性,我们又抽取了其中10%的样品重新检测,前后基因型吻合率为100%,基因分型的成功率>99%。

1.3 统计学方法

所有统计分析应用统计学软件SAS9.1.3。病例和对照之间人口统计学和临床指标的结果以均数±

标准差($\bar{x} \pm s$)或百分数表示,两组之间各参数的差异比较使用 t 检验或 Fisher 确切概率检验。对照组内所研究基因 SNP 的基因型频率应用拟合优良度 χ^2 检验 Hardy-Weinberg 平衡。分析各基因 SNP 与哮喘危险因素时使用多元 Logistic 回归分析,并校正了年龄、性别、吸烟和特异性,以 OR 值和 95%CI 表示。单倍型的推算使用软件 SAS9.1.3 PROC HAPLOTYPED, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 哮喘组与对照组的一般情况

哮喘组与对照组的一般情况比较见表 1。两组年龄范围均为 14~74 岁,平均年龄对照组较哮喘组年轻 ($P < 0.01$)。哮喘组内女性比例较对照组高 ($P < 0.01$),但吸烟的人数两组比较没有明显的统计学差异 ($P = 0.083$)。哮喘组患者外周血嗜酸性粒细胞数以及血清总 IgE 浓度均明显高于对照组 ($P < 0.001$)。但两组血清 hs-CRP 浓度比较却无明显差别,哮喘组有 75.00% 的患者有 1 种以上的变应原过敏,55.03% 的患者使用吸入激素,多于一半的哮喘患者合并有过敏性鼻炎。

2.2 TLR2 亚家族基因 SNP 的一般情况、基因型与哮喘危险度之间的关系

TLR2 亚家族挑选的目的 SNP 所在染色体的位置、NCBI 上的 reference SNP(rs)号及等位基因突变位点的详细情况见表 2。所有 SNP 的引物信息见表 3,基因分型成功率均 $>99\%$,且基因频率均处于 Hardy-Weinberg 平衡 ($P > 0.05$,表 2)。

TLR2 亚家族中所有 SNP 的等位基因、基因型在哮喘组与对照组内的分布情况见表 4。在单个基因位点多态性分析时,所有位点的基因型在哮喘组对照组内分布却无明显的统计学意义。运用 Logistic 回归分析后,发现 rs7656411/TLR2 突变基因型 TT 与野生型 rs7656411/TLR2 GG 比较能明显降低哮

表 1 哮喘组与对照组的一般情况比较

Table 1 Comparison of demographic and clinical characteristics between the asthma group and the control group

指标	对照组(n=352)	哮喘组(n=318)
年龄(岁)	34.26 ± 13.31	39.80 ± 14.23*
男/女(n/n)	200/152	135/183*
吸烟[n(%)]		
不吸烟	302(85.80)	280(88.05)
曾吸烟	50(14.20)	38(11.95)
嗜酸性粒细胞($\times 10^9$ 个/L)	0.14 ± 0.11	0.46 ± 0.71**
IgE(U/ml)	1.19 ± 0.60	1.82 ± 0.50**
hs-CRP(mg/L)	2.16 ± 1.60	2.50 ± 1.42
过敏[n(%)]	-	237(75.00)
吸入激素[n(%)]	-	175(55.03)
FEV ₁	-	2.06 ± 0.89
FEV ₁ %	-	70.11 ± 25.66
FEV ₁ /FVC	-	68.18 ± 14.78
过敏性鼻炎[n(%)]		
无	-	137(43.08)
有	-	181(56.92)

IgE = \lg_{10} -transformed immunoglobulin E levels; 两组比较, * $P < 0.01$, ** $P < 0.001$ 。

喘的发生率(校正 OR = 0.63, 95%CI: 0.41~0.98, $P = 0.041$), rs7656411/TLR2 TT+GT 与哮喘易感性无明显关系(校正 OR = 0.77, 95%CI: 0.54~1.09, $P > 0.05$)。因为 TLR2 亚家族基因在转导通路之间作用的相似,本研究还进行了这 4 种基因之间的上位效应分析,显示均无明显的相互作用。

2.3 TLR2 亚家族基因 SNP 的单倍型与哮喘危险度之间的关系

在进行单倍型分析时,先构建了 TLR6、TLR10 的单倍型,未发现单倍型与哮喘有联系。由于 TLR1、TLR6、TLR10 的物理位置紧密相连,作用机制相似,故将此三者共 7 个 SNP 联合一起进行了单倍型分析,共列出 16 种在哮喘组和对照组比例 $>1\%$ 的单倍型,分别占对照组和哮喘组染色体总数的 96.5%、95.1%。两组之间单倍型分布统计学无明显差异。在

表 2 TLR2 亚家族基因的目的 SNP 及其变异情况

Table 2 SNP and its variation of TLR2 gene family

基因及位置	SNP 号	突变位点	碱基突变	Hardy-Weinberg 平衡	基因分型(%)
TLR1 4p14	rs4833095	N248S	C/T	0.59	99.9
TLR2 4q31.3	rs7656411	3' near gene	G/T	0.96	99.7
TLR6 4p14	rs5743808	I120T	T/C	0.30	99.9
	rs5743831	3' near gene	A/G	0.82	100.0
	rs2381289	3' near gene	C/T	0.49	100.0
TLR10 4p14	rs11466651	V298I	G/A	0.70	100.0
	rs11466655	G381D	G/A	0.97	99.9
	rs4504265	3' near gene	C/A	0.32	100.0

表3 各基因位点的引物

Table 3 Polymerase chain reaction primers and extension probes

基因位点	序列(5'→3')		
rs4833095	PCR	U	GATCCTAATGAAAGAATFCCAAG
	PCR	L	AAATCTGGAACACTATCTAATATCAAATGTG
	SNP	U	GACCTGGGTGTCGATACCTATGTTCAATGTTGTTAAGGTAAGA
rs7656411	PCR	U	UATCTACCTTTAAATTACTGTGTATCA
	PCR	L	CTTTTCCTTCTTCGAAAAGTCT
	SNP	U	CGTGCCGCTCGTGATAGAATACTATTTTTGAGTCATTATGAGGAA
rs5743808	PCR	U_1	AGGATTTAGAATATTTGGATTTATCTCA
	PCR	U_2	AGGATTTAGAATATTTGGATTTATCTCA
	PCR	L	CTTGAAATCATTGAATGAGAGATCT
	SNP	U	AGCGATCTGCGAGACCGTATTTGCAAAGATATCCTGCCATCCTA
rs5743831	PCR	U	AAGCACTGATAGCAACCTGC
	PCR	L	TATAGTTTCTTTGCACAACAGGC
	SNP	L	GTGATTCTGTACGTGTCGCCAGCTACTCTTCCATAGTCAAAGCCA
rs2381289	PCR	U	AAGCAGATTTTTGAATGAGGTG
	PCR	L	TGAATCTTGGGCAGATACCA
	SNP	U	CGTGCCGCTCGTGATAGAATAATCCCTTAAATAGAGGTGCAATGA
rs11466651	PCR	U	ACTTTTGGTGGTAAGGCTTATCT
	PCR	L	TTTTCTATGTCCATTTTGGTCAA
	SNP	U	GGCTATGATTGCGAATGCTTCAATTCATTTGACTACTCAAATACT
rs11466655	PCR	U	AATTTTGCCAAATAATATCTTAACAGAC
	PCR	L	TTCCAAGGTGTGTTGTTAG
	SNP	U	AGCGATCTGCGAGACCGTATCACTTGAAAACCTCTCATTTTGAATG
rs4504265	PCR	U	GATTACAGGGAGCATTGA
	PCR	L	ACCAGAAAAGAAGATCAAGCC
	SNP	U	ACGCACGTCCACGGTGATTTAGAAAAAAATAAAGATAGTTTTTA

构建的16种单倍型中,只有 CATTAGA 在哮喘组中的比例(1.1%)明显较对照组(2.9%)少,与其他单倍型相比,CATTAGA 单倍型携带者哮喘危险度要明显降低 62%(校正 OR=0.38,95%CI:0.16~0.94, $P=0.035$,表 5)。

2.4 TLR2 亚家族基因 SNP、单倍型与哮喘临床表现之间的关系

本研究进行了哮喘组 TLR2 亚家族 SNP 与哮喘病情严重程度的分析,未发现有任何基因的基因型在这 4 级哮喘里分布有统计学意义。本研究将哮喘组和对照组按照性别、hsCRP 蛋白、血清总 IgE 浓度、外周血嗜酸性粒细胞数分层后,分析了 rs7656411/TLR2 与上述临床指标的相关性,未发现与 rs7656411/TLR2 有显著的相关性。

此外,本研究还分析了这 4 种基因 SNP 与哮喘患者的过敏性鼻炎和特异症相关性(表 6),发现携带 rs2381289/TLR6 T 等位基因的哮喘患者患过敏性鼻炎的危险度为不携带此等位基因哮喘患者的 1.79 倍(OR=1.79, 95%CI:1.10~2.91, $P=0.025$),然而,携带 rs11466651/TLR10 A 等位基因的哮喘患者

患过敏性鼻炎的危险度较不携带此等位基因哮喘患者却显著下降了 51%(OR=0.49,95%CI:0.26~0.95, $P=0.046$),未发现任何 SNP 与哮喘患者的特异症相关。

3 讨论

本研究分析了 TLR2 亚家族基因共 8 个 SNPs 与中国汉族成人哮喘的关系,发现 TLR2 基因的突变纯合子 rs7656411/TT 能明显降低哮喘发生的风险,携带 rs2381289/TLR6 T 等位基因的哮喘患者患过敏性鼻炎的危险度明显增高,而携带 rs11466651/TLR10 A 等位基因的哮喘患者患过敏性鼻炎的危险度明显低于不携带此等位基因的哮喘患者。

TLR2 在整个 TLR 家族中有着与众不同的特点,它能够识别很多病原体成分,包括细菌、支原体、真菌等。TLR2 可表达于许多不同种类细胞的表面,如树突状细胞、巨噬细胞和 T 细胞等。TLR2 可以与其他 TLR1、TLR6 以及 CD36 结合成异二聚体,正是通过这种异二聚体形式用较少的受体数量达到广泛而精确的识别,迅速完成免疫应答^[7]。近来有研究证

表 4 各基因 SNP 与哮喘相关性
Table 4 Logistic regression analyses of associations between SNP and risk of asthma

基因位点	对照组 ^a [n(%)]	哮喘组 ^a [n(%)]	未校正 OR(95%CI)	校正 OR(95%CI)
rs4833095				
CC	144 (41.0)	133 (41.8)	1	1
TC	158 (45.0)	130 (40.9)	0.90(0.64~1.25)	0.94(0.67~1.33)
TT	49 (14.0)	55 (17.3)	1.22(0.78~1.92)	1.26(0.79~2.01)
TC+TT	207 (59.0)	185 (58.2)	0.97(0.71~1.32)	1.01(0.74~1.39)
T allele	256 (36.5)	240 (37.7)		
rs7656411				
GG	92 (26.2)	103 (32.5)	1	1
GT	175 (49.9)	155 (48.9)	0.79(0.56~1.13)	0.84(0.58~1.21)
TT	84 (23.9)	59 (18.6)	0.63(0.41~0.97) [#]	0.63(0.41~0.98) [*]
GT+TT	259 (73.8)	214 (67.5)	0.74(0.53~1.03)	0.77(0.54~1.09)
T allele	343 (48.9)	273 (43.1)		
rs5743831				
AA	211 (60.0)	191 (60.1)	1	1
GA	124 (35.2)	113 (35.5)	1.01(0.73~1.39)	0.95(0.68~1.32)
GG	17 (4.8)	14 (4.40)	0.91(1.44~1.90)	0.96(0.45~2.06)
GA+GG	141 (40.0)	127 (39.9)	1.00(0.73~1.36)	0.95(0.69~1.31)
G allele	158 (22.4)	141 (22.2)		
rs5743808				
TT	314 (89.5)	293 (92.1)	1	1
TC	37 (10.5)	25 (7.9)	0.73(0.43~1.24)	0.80(0.46~1.37)
CC	0 (0.)	0 (0)	NA	NA
TC+CC	37 (10.5)	25 (7.9)	0.72(0.43~1.23)	0.79(0.46~1.37)
C allele	37 (5.3)	25 (3.9)		
rs2381289				
CC	109 (31.0)	94 (29.6)	1	
TC	168 (47.7)	145 (45.6)	1.00(0.70~1.43)	1.02(0.71~1.47)
TT	75 (21.3)	79 (24.8)	1.22(0.80~1.86)	1.15(0.74~1.77)
TC+TT	243 (68.0)	224 (70.6)	1.07(0.77~1.49)	1.06(0.75~1.49)
T allele	318 (45.2)	303 (47.6)		
rs11466651				
GG	294 (83.5)	275 (86.5)	1	1
GA	56 (15.9)	43 (13.5)	0.82(0.53~1.26)	0.89(0.57~1.39)
AA	2 (0.6)	0 (0)	NA	NA
GA+AA	58 (16.5)	43 (13.5)	0.79(0.52~1.22)	0.86(0.55~1.33)
A allele	60 (8.5)	43 (6.8)		
rs11466655				
GG	214 (61.0)	195 (61.3)	1	
GA	120 (34.2)	108 (34.0)	0.99(0.72~1.37)	1.02(0.73~1.42)
AA	17 (4.8)	15 (4.7)	0.97(0.47~2.00)	1.02(0.48~2.17)
GA+AA	137 (39.0)	123 (38.7)	0.99(0.72~1.35)	1.02(0.74~1.40)
A allele	154 (21.9)	138 (21.7)		
rs4504265				
CC	98 (28.1)	93 (29.3)	1	1
CA	165 (47.3)	147 (46.4)	0.96(0.67~1.37)	0.98(0.67~1.41)
AA	86 (24.6)	77 (24.3)	0.96(0.63~1.46)	0.95(0.62~1.46)
CA+AA	251 (71.9)	224 (70.7)	0.94(0.67~1.32)	0.95(0.67~1.34)
A allele	337 (48.3)	301 (47.5)		

a: 因基因分型部分未成功, 每个位点的哮喘组和对照组总数可能分别少于 318、352。校正的混杂因素有年龄、性别、吸烟和特应症。NA: 位点数少于 5; 与 GG 基因型比较, ^{*}P=0.041, [#]P=0.036。

表5 TLR1、TLR6和TLR10基因的单倍型与哮喘相关性
Table 5 Correlation between the haplotypes of TLR1, TLR6 and TLR10 gene and asthma

单倍型	病例组 ^a (n=694) 对照组 ^a (n=634)		OR(95%CI)
	[n(%)]	[n(%)]	
CATTGGA	258(37.2)	240(37.9)	1.04(0.82~1.30)
TATCGGC	64(9.2)	60(9.5)	0.98(0.67~1.44)
TGTCGAC	66(9.5)	56(8.8)	0.97(0.66~1.42)
TATCGAC	37(5.3)	43(6.8)	1.35(0.85~2.17)
CGTCGGA	30(4.3)	35(5.5)	1.20(0.72~2.01)
CGTCGGC	37(5.3)	26(4.1)	0.74(0.43~1.25)
TATCAGA	31(4.5)	25(3.9)	0.92(0.53~1.60)
CACTGGC	28(4.0)	18(2.8)	0.73(0.39~1.36)
TATTGAC	21(3.0)	14(2.2)	0.72(0.35~1.46)
TATTGGC	14(2.0)	16(2.5)	1.36(0.64~2.88)
TGTTGGC	16(2.3)	14(2.2)	0.91(0.44~1.92)
CATTGGC	13(1.9)	16(2.5)	1.26(0.59~2.69)
CATCGGC	12(1.7)	16(2.5)	1.26(0.58~2.75)
CATTAGA	20(2.9)	7(1.1)	0.38(0.16~0.94)*
CATTGAC	15(2.2)	9(1.4)	0.60(0.43~1.25)
CATCGGA	8(1.2)	8(1.3)	0.99(0.36~2.74)

单倍型的构成(7个SNP的排列顺序): rs4833095-rs5743831-rs5743808-rs2381289-rs11466651-rs11466655-rs4504265。a: 以上列出的单倍型均为病例组和哮喘组内频率 $\geq 1\%$ 。校正的混杂因素有年龄、性别、吸烟和特应症。两组比较,* $P = 0.035$ 。

表6 TLR基因SNP与哮喘患者中过敏性鼻炎的相关性

Table 6 Allergic rhinitis in asthmatic patients with respect to the genotypes of rs2381289 and rs11466651

基因位点	过敏性鼻炎[n(%)]	非过敏性鼻炎[n(%)]	OR(95%CI)	P值
rs2381289				
CC	44(24.31)	50(36.50)	1	
TC+TT	137(75.69)	87(63.50)	1.79(1.10~2.91)	0.025
rs11466651				
GG	163(90.06)	112(81.75)	1	
GA+AA	18(9.94)	25(18.25)	0.49(0.26~0.95)	0.046

的改变使得宿主体内促炎症因子与抗炎因子比例失调,诱发哮喘。但是,上述只是设想,关于rs7656411的功能仍需进一步实验验证。位于不同细胞表面的TLR活化后可以释放一系列效应分子,如细胞因子和化学趋化因子等,从而影响获得性免疫,引发过敏性疾病^[15]。

过敏性鼻炎与哮喘均为气道慢性炎症,两者常同时发生。本研究结果也证实了此观点,而且有文献揭示合并有过敏性鼻炎的哮喘较无过敏性鼻炎的哮喘患者临床表现更严重,也更难控制,生活质量更差^[16]。本研究明确了TLR如TLR6、TLR10在过敏性疾病中的免疫调节作用,但具体机制还需要进一步大型临床研究来核实。

实活化TLR2可诱发Th2样反应,从而引发实验性哮喘,说明了TLR2对哮喘发生起着关键作用^[8-9]。

目前只有少数几篇文献研究了TLR2基因的SNP与哮喘易感性的关系,尚无关于TLR2基因的SNP与中国人群哮喘易感性关系的研究。最初Eder等^[10]研究发现携带TLR2/-16934(rs4696480)T等位基因且父母是农民的欧洲农村儿童跟携带TLR2/-16934(rs4696480)AA基因型且父母是农民的儿童比较少发生哮喘^[10]。后来在了一项日本人群的研究中重点分析了4个位点突变却未发现有任何SNP或单倍型与哮喘的发生有关,但体外研究后发现在TLR2基因的5'未翻译区一插入/缺失多态性中,含缺失等位基因的构建体可致转录活性降低^[11]。同样,Smit等^[12]首先研究了100例新发的丹麦年轻农民哮喘患者TLR2的3种SNP,未发现有明显的相关性,但后来发现TLR2/+596C等位基因无论在病例对照研究还是在家庭为基础的研究中均与哮喘发生相关^[13]。Bjørnsvold等^[14]也发现TLR2 rs3804100T等位基因及其单倍体与哮喘、I型糖尿病相关。本研究首次发现TLR2/rs7656411与哮喘易感性显著相关,可能是rs7656411基因型TT影响蛋白与DNA之间的相互作用,突变的TLR2/rs7656411导致免疫应答

本研究表明TLR2的遗传性变异在中国东南部成人哮喘的发生中起着一定的作用。尚需更大样本的、包括更多“标签”SNP以及环境因素的临床研究来进一步证实本研究的结论。TLR2的基因突变为分子标志物用于筛选高危人群或易感个体,可能有望为今后哮喘防治提供新的思路和策略。

[参考文献]

- [1] Kawai T, Akira S. The role of pattern recognition receptors in innate immunity; update on toll-like receptors [J]. Nat Immunol, 2010, 11(5): 373-384
- [2] von Gunten S, Cortinas-Elizondo F, Kollarik M, et al. Mechanisms and potential therapeutic targets in allergic inflammation; recent insights [J]. Allergy, 2013, 68(12):

- 1487-1498
- [3] 袁欣,张倩,韦国桢,等. Toll样受体3单核苷酸多态性与中国东南方汉族人群哮喘关系的研究[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2009,29(9):1242-1246
- [4] Tesse R, Pandey RC, Kabesch M. Genetic variations in toll-like receptor pathway genes influence asthma and atopy[J]. *Allergy*, 2011, 66(3):307-316
- [5] Tapping RI, Omueti KO, Johnson CM. Genetic polymorphisms within the human Toll-like receptor 2 subfamily [J]. *Biochem Soc Trans*, 2007, 35(Pt 6): 1445-1448
- [6] 鲁静洁,钱粉红,张倩,等.TLR4基因单核苷酸多态性与哮喘严重程度及哮喘相关临床指标的关系[J]. 南京医科大学学报:自然科学版,2014,33(9):1231-1236
- [7] O'Neill LA J, Bowie AG. The family of five; TIR-domain containing adaptors in Toll-like receptor signaling[J]. *Nat Rev Immunol*, 2007, 7(5):353-364
- [8] Vercelli D. Gene-environment interactions in asthma and allergy: the end of the beginning[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2010, 10(2):145-148
- [9] Liu JR, dler D, Illi S, et al. TLR2 polymorphisms influence neonatal regulatory T cells depending on maternal atopy[J]. *Allergy*, 2011, 66(8):1020-1029
- [10] Eder W, Klimecki W, Yu L, et al. Toll-like receptor 2 as a major gene for asthma in children of European farmers [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2004, 113(3):482-488
- [11] Noguchi E, Nishimura F, Fukai H, et al. An association study of asthma and total serum immunoglobulin E levels for Toll-like receptor polymorphisms in a Japanese population[J]. *Clin Exp Allergy*, 2004, 34(2):177-183
- [12] Smit LA, Bongers SI, Ruven HJ, et al. Atopy and new-onset asthma in young Danish farmers and CD14, TLR2, and TLR4 genetic polymorphisms: a nested case-control study[J]. *Clin Exp Allergy*, 2007, 37(11):1602-1608
- [13] Smit LA, Siroux V, Bouzigon E, et al. CD14 and toll-like receptor gene polymorphisms, country living, and asthma in adults[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 179(5):363-368
- [14] Jørmvold M, Munthe-Kaas MC, Egeland T, et al. A TLR2 polymorphism is associated with type 1 diabetes and allergic asthma[J]. *Genes Immun*, 2009, 10(2):181-187
- [15] Holt PG, Strickland DH, Hales JB, et al. Defective respiratory tract immune surveillance in asthma: a primary causal factor in disease onset and progression[J]. *Chest*, 2014, 145(2):370-378
- [16] Bousquet JS, chünemann HJ, Samolinski B, et al. Allergic rhinitis and its impact on asthma (ARIA) achievements in 10 years and future needs[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2012, 130(5):1049-1062

[收稿日期] 2014-08-15