

· 基础研究 ·

新疆喀什地区变应性鼻炎与 STAT6 基因多态性关联研究

尔西丁·买买提¹, 阿米娜·阿布来孜¹, 戴江红¹, 姜孝芳², 吐尔逊江·艾力³, 高丽²

(新疆乌鲁木齐市新疆医科大学 1. 公共卫生学院; 2. 基础医学院 新疆 乌鲁木齐 830011; 3. 新疆乌鲁木齐市新疆医科大学第三附属医院, 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要: 目的 通过研究信号转导和转录激活因子 6 (STAT6) 基因多态性与变应性鼻炎的相关性, 探讨 STAT6 链上 1570 C/T 位点基因多态性与变应性鼻炎发病之间的关系。方法 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析法 (PCR-RFLP) 检测 92 例变应性鼻炎患者 (病例组) 和 422 例健康人群 (对照组) 的 STAT6 基因 1570 C/T 位点多态性, 比较两组的基因型和等位基因的分布频率。结果 病例组 TT、CT 和 CC 基因型分布频率分别为 5.43%、70.65% 和 23.91%; 而对照组 TT、CT 和 CC 基因型分布频率分别为 4.48%、75% 和 20.05%, 两组的基因型分布频率和 T1570 和 C1570 等位基因分布频率均无差异 ($P=0.644$ 、 $P=0.724$)。结论 病例组和对照组之间的 STAT6 基因 1570 C/T 多态性基因型频率差异无统计学意义, 提示 STAT6 (1570 C/T) 基因多态性与变应性鼻炎可能没有相关性。

关键词: 变应性鼻炎; 信号转导和转录激活因子 6; 基因多态性

中图分类号: R765.21

文献标识码: A

文章编号: 1007-1520(2010)03-0181-04

Study of allergic rhinitis and its relationship with STAT6 gene polymorphism in Kashghar region

ER Xi - ding Mai - maiti , A mi - na A bu - laizi , DAI jiang - hong , et al .

(College of Public Health , Xinjiang Medical University , Urumchi 830011 , China)

Abstract: **Objective** To study the polymorphism of signal transduction and activator of transcription 6 (STAT6) gene and the relationship between STAT6 1570 C/T and allergic rhinitis. **Methods** The study was conducted in two different groups: patients with allergic rhinitis (the case group, $n=92$) and healthy people (the control group, $n=422$). The STAT6 1570 C/T polymorphism was genotyped with polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The distribution frequencies of genotypes and allelic genes between the two groups were compared. **Results** The distribution frequencies of the three genotypes (TT, CT and CC) in the case group were 5.43%, 70.65% and 23.91% respectively, while those in the control group were 4.48%, 75% and 20.05% correspondingly. The differences of distribution frequencies of genotypes and allelic genes (T1570 and C1570) between the two groups were statistically insignificant ($P>0.05$). **Conclusion** There are no significant differences in frequencies of the STAT6 gene 1570 C/T polymorphism genotypes between patients with allergic rhinitis and normal controls, which hints that STAT6 (1570 C/T) gene polymorphism may not be related to allergic rhinitis.

Key words: Allergic rhinitis; STAT6; Gene polymorphism

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (项目编号: 200821136); 新疆维吾尔自治区高校科研计划重点项目 (项目编号: XJEDU2006141)。

作者简介: 尔西丁·买买提, 男, 副教授。

通讯作者: 高丽, Email: xjmugaoli@gmail.com.

变应性鼻炎 (allergic rhinitis, AR) 是临床上的常见病和多发病,其流行还在不断地增长,现已成为21世纪亟待解决的全球性健康问题之一^[1]。AR病因极其复杂,其根本是遗传和环境因素之间相互复杂作用的结果^[2]。信号转导和转录激活因子6 (STAT6) 是参与IL-4和IL-13介导TH2型细胞因子反应的一种关键的转录因子^[3],在STAT6基因3'非翻译区1570位点存在一个单核苷酸多态性 (SNP),由T→C转换所引起,该多态性可能会影响STAT6基因的表达和mRNA的稳定性^[4],从而影响STAT6蛋白的循环表达量。本研究拟对STAT6基因1570 C/T这一位点进行研究,试图从基因水平探讨AR的发病机制。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2007年8~9月在新疆喀什地区进行现况调查,筛选出AR患者92例(病例组),其中男45例,女47例;年龄17~94岁,平均 44.2 ± 15.7 岁,诊断标准遵循2004(兰州)中华医学会耳鼻咽喉科学分会所定变应性鼻炎诊断的标准^[5]。按性别、民族相同,年龄相近(相差3岁)原则,选取对照人群422例均为非AR患者(对照组),其中男240例,女182例;年龄13~80岁,平均 40.3 ± 12.3 岁。两组间性别和年龄差异无统计学意义。

1.2 研究方法

1.2.1 全血基因组DNA的提取 采静脉血2 ml, EDTA-K2抗凝, -20℃暂存,按基因组DNA提取试剂盒操作说明提取DNA, -20℃保存。

1.2.2 引物设计与合成 引物由大连宝生物工程有限公司合成,上游引物序列为: 5-GAACAGATGGGTAAGGATCG-3, 下游引物序列为: 5-TGACTGACCAAGGGTTGATG-3。其PCR产物为150 bp的片段。

1.2.3 PCR反应条件 反应总体积为25 μl, 内含模板DNA 2 μl、两端引物(引物稀释浓度至20 pmol/μl)各1 μl、10× Buffer 缓冲液2.5 μl、氯化镁2 μl、dNTP 2 μl、Taq

DNA聚合酶0.25 μl, 最后补双蒸灭菌水14.25 μl至终体积25 μl, 所有试剂均为大连宝生物工程有限公司产品。PCR反应循环参数: 95℃预变性5 min, 进行30次循环, 每次循环的条件是, 95℃变性30 s、61℃复性30 s、72℃延伸30 s, 循环完后72℃延伸10 min。

1.2.4 RFLP分析 取10 μl PCR反应产物加入10× T Buffer 2 μl、限制性内切酶Pst I 1 μl, 在数显恒温水浴箱37℃消化1~2 h。酶切产物行2.5%的聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳, 100 V电压, 电泳40 min, 全自动凝胶图像分析系统拍照、保存。

1.3 数据统计学处理

用基因计数法分别统计病例组和对照组STAT6基因型分布频率, 数据经Hardy-Weinberg平衡检验, 用SPSS15.0统计软件分析, 等位基因分布频率比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 PCR产物及Pst I酶切结果

PCR扩增产物长度为150 bp, 经限制性内切酶Pst I酶切后, 可观察到TT、CT和CC 3种基因型(图1)(注: 34 bp分子量小、电泳率快而跑出胶)。

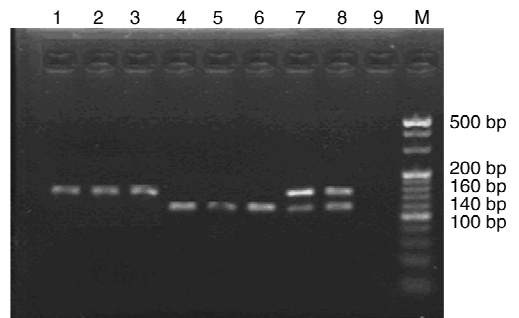


图1 1570 C/T基因多态性PCR-RFLP图谱

1,2,3泳道: TT1570T基因型(150 bp); 4,5,6泳道: CT1570C基因型(116 bp); 7,8泳道: CT1570T基因型(150 bp、116 bp); M: 为DNA Maker

2.2 病例组与对照组STAT6基因型和等位基因分布频率

用基因计数法对病例组和对照组STAT6基因型分布进行Hardy-Weinberg平衡检验 $P < 0.05$ 。病例组和对照组STAT6基因

C1570T 位点多态性分布见表 1, 病例组与对照组相比基因型、相应等位基因间差异均无统计学意义 ($\chi^2 = 0.881, \chi^2 = 0.125$, 均 $P > 0.05$)。

2.3 基因型与变应性鼻炎的多因素分析

将年龄、STAT6、文化程度、吸烟 4 个相关因素进行多因素 Logistic 回归分析。变量具体赋值见表 2。在控制年龄、文化程度、吸烟等因素时, 未见 STAT6 基因 C1570T 位点与变应性鼻炎的相关性(表 3)。

表 1 病例组与对照组 C1570T 基因型和等位基因分布频率比较

组别	例数	基因型频数			等位基因频数	
		TT	TC	CC	T	C
病例组	92	5	65	22	75	109
对照组	422	19	318	85	356	488
χ^2			0.881			0.125
P			0.644			0.724

表 2 分析变量及赋值表

变量	赋值			
年龄*	1 = ≤20 岁	2 = 21 ~ 40 岁	3 = 41 ~ 60 岁	4 = ≥61 岁
STAT 6*	00 = TT	01 = CT	10 = CC	
文化程度*	1 = 未上学	2 = 小学	3 = 中学(初中、高中、中专)	4 = 大专及以上学历
是否吸烟	1 = 是	0 = 否		

注: * 为多分类变量, 进行亚变量处理, 以取值最高者即最后一类作为对照组

表 3 变应性鼻炎危险因素的多因素 Logistic 回归分析

因素	偏回归系数	标准误	Wald χ^2 值	P 值	OR 值	OR 值 95% CI
STAT 6	-	-	1.319	0.517	-	-
STAT 6 (1)	0.030	0.579	0.003	0.959	1.030	0.331 ~ 3.205
STAT 6 (2)	0.312	0.288	1.177	0.278	1.366	0.778 ~ 2.400
年龄	-	-	12.777	0.005 *	-	-
年龄(1)	1.224	0.712	2.953	0.086	3.400	0.842 ~ 13.729
年龄(2)	1.011	0.351	8.311	0.004 *	2.748	1.382 ~ 5.465
年龄(3)	1.261	0.360	12.287	0.000 *	3.529	1.744 ~ 7.144
吸烟史	0.750	0.304	6.070	0.014 *	2.117	1.166 ~ 3.844
常数项	-0.230	0.490	0.219	0.640	0.795	-

3 讨论

AR 是严重影响人类健康的疾病, 且发病率有全球性增长的趋势, 约占人口的 5% ~ 50%^[6]。值得注意的是, 近 10 年 AR 的患病率和发病率在全球范围内呈现逐渐增加的趋势^[7], 已成为一个被广泛重视的全球性的重要健康问题。并且随着分子生物学

与遗传学的发展, 已证实 AR 是一种具有遗传易感性的多基因遗传病。人类 STAT6 基因定位于 12q13-24 染色体区上, 是过敏性疾病的最有前途的候选基因^[8]。在 STAT6 基因 3' 非翻译区 1570 位点存在一个单核苷酸多态性 (SNP), 由 T → C 转换所引起, 该多态性可能会影响 STAT6 基因的表达和 mRNA 的稳定性, 从而影响 STAT6 蛋白的循环表达量。本实验对这一多态性位点进行

分析,研究喀什地区人群 AR 易感性与该位点多态性的关系。

AR 属于鼻部的变态反应性疾病,已证实是一种多基因遗传病^[8]。本实验用 PCR-RFLP 技术对 92 例 AR 患者和 422 例非 AR 患者对照的 STAT6 基因 3' 非翻译区 C1570T 位点多态性进行了分析,从表 1 的结果来看,喀什地区人群中病例组和对照组之间的 STAT6 基因 3' 非翻译区 C1570T 位点的等位基因型频率及其各基因型频率之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。经多因素分析(控制年龄、文化、吸烟等因素)该基因与变应性鼻炎仍无关联性,进一步说明 STAT6 基因 3' 非翻译区 C1570T 位点多态性与 AR 易感性在统计学上无显著相关性。这一结果与 Gabriele Duetsch 等^[9] 所做的研究中的结果不同,其研究结果表明, C1570T 位点多态性与 AR 有显著相关性。本研究分析造成这些结果差异的原因有: ①不同种族、不同地区的人群,由于地理环境、人种差异及生活习惯等因素都可能会影响基因型和等位基因分布频率,因此与变态反应性疾病的相关性也可能不同。② STAT6 的 C1570T 基因多态性会影响 STAT6 的信号传导,进一步改变 STAT6 的生物学功能,但 AR 本质上可能与 STAT6 基因多态性无直接关联,该多态性仅仅提示某些与 AR 直接相关基因存在缺陷。③强烈的环境因素干扰了 C1570T 基因型差异的表达,即在不同的环境和不同的生理状态下 C1570T 等位基因功能的发挥存在差别。④本研究的病例组样本量不大,要确切了解 STAT6 基因多态性与 AR 之间的内在联系,还需要扩大样本量进行更深入的研究。

STAT6 虽然在 AR 的发病中起重要作用,但是研究表明 STAT6 基因 3' 非翻译区 1570T 位点多态性与喀什地区人群 AR 易

感性可能无显著相关性。这一结论只能说明 STAT6 C1570T 基因多态性与 AR 发病可能没有显著的关联,有这样一种趋势。为了进一步明确这一结论,还将继续收集样本进行病例对照研究。

参考文献:

- [1] De-Yun Wang. Risk factors of allergic rhinitis: genetic or environmental? [J]. *Therapeutics and clinical risk management*, 2005, 1(2): 115-123.
- [2] 钱迪,洪苏玲,杨玉成,等. 我国西部部分地区变应性鼻炎流行病学抽样调查[J]. *第三军医大学学报*, 2008, 30(6): 539-542.
- [3] Ohga-K, Kuromitsu-S, Takezawa-R, et al. YM-341619 suppresses the differentiation of spleen T cells into Th2 cells in vitro, eosinophilia, and airway hyperresponsiveness in rat allergic models [J]. *Eur-J-Pharmacol*, 2008, 590(1-3): 409-416.
- [4] Cookson W, Moffatt M. Make sense of asthma genes [J]. *N Engl J Med*, 2004, 351(17): 1794-1796.
- [5] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会中华医学会耳鼻咽喉科分会. 变应性鼻炎的诊治原则和推荐方案(2004年,兰州)[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2005, 3(40): 166-167.
- [6] Herman H. One-daily administration of intranasal corticosteroids for allergic rhinitis: A comparative review of efficacy, safety, patient preference, and cost [J]. *Am J Rhinol*, 2007, 21(1): 70-79.
- [7] Munivrana H, Vorko-Jovic A, Munivrana S, et al. The prevalence of allergic disease among Croatia school children according to the ISAAC Phase One questionnaire [J]. *Med Sci Monit*, 2007, 13(11): 505-509.
- [8] 陈敏,吴斌,梁标. STAT6 及其基因多态性与支气管哮喘[J]. *国外医学呼吸系统分册*, 2005, 25(4): 258-26.
- [9] Gabriele Duetsch, Thomas Illig, Sabine Loesgen, et al. STAT6 as an asthma candidate gene: polymorphism-screening, association and haplotype analysis in a Caucasian sib-pair study [J]. *Human Molecular Genetics*, 2002, 11(6): 613-621.

(修回日期:2010-05-12)