

CD209-871A/G 位点多态性与结核易感性的 Meta 分析

康 振^a, 雒艳萍^a, 时春虎^a, 田金徽^a, 杨克虎^a, 祝秉东^b

(兰州大学 a. 基础医学院; b. 结核病研究中心, 兰州 730000)

[摘要] 目的 评价 CD209-871A/G 位点多态性与结核易感性的相关性。方法 以“DC-SIGN、CD209、ICAM-3、polymorphism、single nucleotide polymorphism、tuberculosis”为检索词,检索 PubMed、EMBASE 和 Web of Science 数据库;以“DC-SIGN、CD209、ICAM-3、结核、多态性”为检索词,检索中国学术期刊全文数据库(CNKI)、中国生物医学文献数据库(CBM)和万方数据库,检索时间截止至 2011 年 3 月。全面收集 CD209-871A/G 位点多态性与结核易感性的文献。排除不相关研究、会议摘要及综述类文章等,纳入公开发表的病例对照研究,病例组为确诊的结核病患者,无论是否合并人类免疫缺陷病毒感染,对照组为与病例组无血缘关系、无慢性感染性疾病史的健康人群;用 Meta 分析的方法合并比较基因型 AA、GG、AG 和等位基因 A、G 在结核组与对照组中是否有差异。结果 共纳入 3 篇文献,共有结核病患者 726 例,健康对照 744 例。对总体人群进行 Meta 分析,未发现等位基因 G 和结核易感性相关[比值比 0.60,95%可信区间(0.27,1.35), $P=0.22$];基因型 AA 和等位基因 A 在结核病与健康对照组之间差异有统计学意义[比值比 1.51,95%可信区间(1.01,2.26), $P=0.04$;比值比 1.28,95%可信区间(1.06,1.55), $P=0.01$]。结论 本研究提示 CD209-871AA 基因型和等位基因 A 与结核病的易感性有关,而-871G 可能与结核病的机体免疫保护有关,尚需大样本病例对照试验证实。

[关键词] 结核易感性;基因多态性;CD209-871A/G 多态性;Meta 分析

[中图分类号] R521 [文献标识码] A [文章编号] 1671-5144(2011)06-0358-06

Correlation between CD209-871A/G Polymorphism and Susceptibility to Tuberculosis: A Meta-Analysis

KANG Zhen^a, LUO Yan-ping^a, SHI Chun-hu^a, TIAN Jin-hui^a, YANG Ke-hu^a, ZHU Bing-dong^b
(a. Basic Medical School; b. Tuberculosis Research Center, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China)

Abstract: Objective To assess the correlation of CD209-871A/G polymorphism and susceptibility to tuberculosis. **Methods** We searched PubMed, EMBASE, Web of Science with retrieval items “DC-SIGN, CD209, ICAM-3, polymorphism, single nucleotide polymorphism, tuberculosis”, and “DC-SIGN, CD209, ICAM-3, tuberculosis, polymorphism” for China Academic Journal, Chinese BioMedical Literature Database, Wanfang Database. We collected all the publications assessing CD209-871A/G polymorphism and susceptibility to tuberculosis, excluded unrelated studies, conference abstracts, summarization and included case-control studies. The case groups were patients diagnosed with tuberculosis regardless of HIV status and the control groups were healthy people without chronic disease. Meta-analysis was performed to check the difference of genotypes including AA, GG, AG and also allele A and G between the two groups. **Results** A total of 3 studies were included, consisting of 726 tuberculosis patients and 744 healthy people. In the meta-analysis of total population, we did not find allele G related to susceptibility to tuberculosis [OR=0.60, 95%CI(0.27,1.35), $P=0.22$]. However, there was a significant difference as to genotype AA [OR=1.51, 95%CI(1.01,2.26), $P=0.04$] and allele A [OR=1.28, 95%CI(1.06,1.55), $P=0.01$] in the two groups. **Conclusions** Genotype AA and allele A were related to susceptibility to tuberculosis, while -871G may be related to host immune protection to tuberculosis, which need to be confirmed by large sample of case-control studies.

Key words: tuberculosis susceptibility; genetic polymorphisms; CD209-871A/G polymorphisms; meta-analysis

[基金项目] 中央高校基本科研业务费专项资金(lzujbky-2009-140);国家大学生创新性实验计划(091073059)。
[作者简介] 康振(1989-),男,河南开封人,兰州大学 2007 级医学影像学本科在读,研究方向为结核病免疫病理及循证研究。
[通讯作者] 雒艳萍, Tel:0931-8915022; E-mail: luoyanp@lzu.edu.cn

结核病(tuberculosis, TB)是由结核分枝杆菌感染引起的慢性传染病,在全球范围内对人类健康造成了严重危害。世界卫生组织(WHO)2010年结核病控制的最新数据显示,全球有940万结核病患者,1400万结核感染者。全球80%的活动性结核病患者主要集中于22个低收入国家^[1]。人类基因组学不断发现与结核病相关的基因,遗传因素对结核病的易感性或抵抗力日益被重视,结核分枝杆菌感染者中约90%表现为无症状的隐性感染,仅有10%的感染者会进一步发展为临床结核病^[2],遗传易感性可能是影响宿主免疫功能和结核病发生发展的因素之一^[3]。遗传易感性及基因多态性被很多方法如病例对照研究和基因相关性研究等证明是与结核易感性有关系的因素之一^[4]。越来越多的研究结果提示,宿主遗传因素在结核病的发生、发展中扮演着重要角色^[5]。CD209基因编码DC-SIGN(树突状细胞特异性细胞间黏附分子-3结合非整合素因子)分子,DC-SIGN位于树突状细胞表面,是近年发现的与结核病发生密切相关的天然免疫识别受体,体外细胞水平研究结果发现结核菌可通过其胞壁成分脂阿拉伯甘露聚糖(mannose-capped lipoarabinomannan, ManLAM)与DC-SIGN结合,可能通过下述机制抑制宿主抗结核免疫应答:抑制未成熟树突状细胞成熟;诱导周围未被感染的树突状细胞处于半成熟状态;上调树突状细胞表达免疫抑制因子IL-10等^[6]。

有研究表明CD209启动子区域-871A/G多态性与机体结核病易感性有关系^[7-8],但研究结果不一致,我们用Meta分析的方法研究CD209-871A/G位点多态性与结核易感性的相关性,为结核病的防治提供一定线索。

1 资料与方法

1.1 纳入与排除标准

1.1.1 研究设计

公开发表的CD209-871A/G位点多态性与结核易感性的病例对照研究,文种限中、英文。

1.1.2 研究对象

病例组为经临床、影像、细菌学检测或组织抗酸染色阳性的结核病患者,无论是否合并人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)即艾滋病病毒感染,对照组与病例组无血缘关系,无慢性感染性疾病史的健康人群。研究样本量达到H-W遗传平衡检验的标准。

1.1.3 干预措施

研究中含有等位基因或基因型数据,两组人群均经相同的方法检测基因。

1.1.4 统计学方法

统计学方法应用恰当,数据质量可靠,结果表达明确,有或可计算出比值比(odds ratios, OR)。

1.2 排除标准

①会议摘要、病例报道、评论和综述类文章;②未涉及CD209-871A/G位点多态性研究;③研究对象不是人类。

1.3 文献检索

以DC-SIGN、CD209、ICAM-3、polymorphism、single nucleotide polymorphism、tuberculosis为检索词,检索PubMed、EMBASE和Web of Science数据库;以DC-SIGN、CD209、ICAM-3、结核、多态性为检索词,检索中国学术期刊全文数据库、中国生物医学文献数据库和万方数据库,检索策略按照自由词与主题词检索相结合的原则进行,各数据库依主题词不同而略有改变;并检索相关参考文献。检索时间截止至2011年3月。

1.4 文献数据提取

两位研究员采用统一的数据提取表独立完成数据提取并进行核对,提取资料包括第一作者姓名、文献出版年份、研究所属国家、纳入患者和健康对照者的基线情况、检测基因的方法及与CD209-871A/G位点多态性的等位基因和基因型的表达和分布、OR值、P值等信息。

1.5 文献质量评价

参考英国牛津循证医学中心文献严格评价项目(Oxford critical appraisal skill program, Oxford CASP, 2004)评价纳入病例对照研究的质量:①样本量是否充分;②诊断标准交待是否清楚;③分组匹配情况;④对照组是否与病例组具有可比性;⑤基因检测方法是否合理;⑥数据是否充分。条目全为“是”定义为质量高,出现“否”及“不清楚”定义为质量中等或差。

1.6 统计学分析

根据文献报道CD209-871A/G等位基因和基因型表达和分布情况计算合并OR值及95%可信区间(confidence interval, CI),采用RevMan5.0对各文献结果进行异质性检验,并根据检验结果选取相应的数据合并方法,若各研究结果间无统计学异质性($P \leq 50\%$),则采用固定效应模型进行数据合并;若各研究结果间有统计学异质性($P >$

50%),分析异质性原因,采用随机效应模型进行数据合并或进行亚组分析及敏感性分析。

2 结果

2.1 检索结果

初检出文献 69 篇。排除各数据库收录重复文献 30 篇,阅读文题及摘要排除综述、非临床研究、与结核病无关及其它类型的研究等 32 篇,初步纳入文献 7 篇。进一步阅读全文排除未达到纳入标准的文献 3 篇,为研究中不涉及-871 位点多态性的研究。另 1 篇研究语种为俄语,最终纳入 3 项研究^[8-10]。

2.2 纳入文献的基本特征

各研究均报道纳入人群符合 H-W 遗传平衡检验,从纳入文献中提取资料,包括研究人群、分组例数及基因型在各组中的分配及-871A/G 位点多态性与结核易感性的关系、OR 值及 P 值等。纳入文献的总体特征和各纳入研究的基线情况见表 1,-871A/G 基因型及等位基因的表达分布情况见表 2。

2.3 纳入研究的质量学评价

按照英国牛津循证医学中心文献严格评价项目(Oxford critical appraisal skill program,Oxford CASP,2004)评价纳入病例对照研究的质量:纳入研究的质量较高;纳入的三个研究样本量均充分;

表 1 纳入研究的总体特征和基线情况

研究项目	研究国家和地区	种族	病例入选标准		年龄(岁)		男性所占比例(%)		基因检测方法	研究结论
			病例组	对照组	病例组	对照组	病例组	对照组		
Barreiro (2006)	南非开普敦地区	南非有色人种	经细菌学证实的结核病患者	同一地区的与病例组无关的处于同一社会阶层的健康人,能够获得健康保障,既往无结核病症状及病史	36.7 (Mean)	34.6 (Mean)	51.8	22	Fluorescence polarization 或 TaqMan	等位基因 -871A 提高结核易感性
Ben-Ali (2007)	南非突尼斯	突尼斯人	经临床、影像及细菌学证实的结核病患者	与病例组不相关的健康志愿者,性别和社会阶层与病例组相匹配,既往和现在无结核病及其他免疫性疾病	18~65	25~60	NA	NA	Genalys v 2.0b software	无明显差异
Zheng (2010)	中国上海	汉族人	经临床影像和痰培养证实的结核病患者	和病例组在性别、年龄、种族和社会阶层上相匹配的健康人	46.6	NA	65.4	NA	焦磷酸测序	无明显差异

NA=数据不可得到; Mean=平均值。

表 2 纳入研究的-871A/G 基因型及等位基因的表达情况

研究项目	分组例数(N)		基因型 AA:AG:GG		等位基因 A:G		P 值	OR(95%CI)
	病例组	对照组	病例组	对照组	病例组	对照组		
Barreiro (2006)	351	360	292:55:4	262:94:4	639:63	618:192	8.2×10 ⁻⁴ **	1.85 [1.29, 2.66]**
Ben-Ali (2007)	138	140	NA [#]	NA [#]	195:81	195:85	0.854 7 [△]	1.03 [0.70, 1.53] [△]
Zheng (2010)	237	244	148:89 [*]	138:106 [*]	376:98	374:114	0.188 ^a 0.315 ^b	1.277 [0.887, 1.840] ^a 1.169 [0.862, 1.587] ^b

* 基因型 AG+GG 两者之和; # 文献中为-871A/G 与-336A/G 基因型之和的数据,故不能得出单独的-871A/G 基因型分配数据; a 基因型 AA vs. AG+GG 之值, b 等位基因 A vs. G 之值; ※ 出现频率最常见的基因型 vs. 其余基因型; △ 病例组 vs. 对照组。

诊断标准均交代清楚;组间可比性及匹配情况均好,基因检测方法合理。仅基因分型的数据欠佳,Ben-Ali 的研究中,基因型 AA:AG:GG 的结果未能得到,Zheng 的研究中,仅能得到基因型 AA:(AG+GG)的数据。

2.4 Meta 分析结果

2.4.1 -871 AA 基因型与结核易感性的 Meta 分析

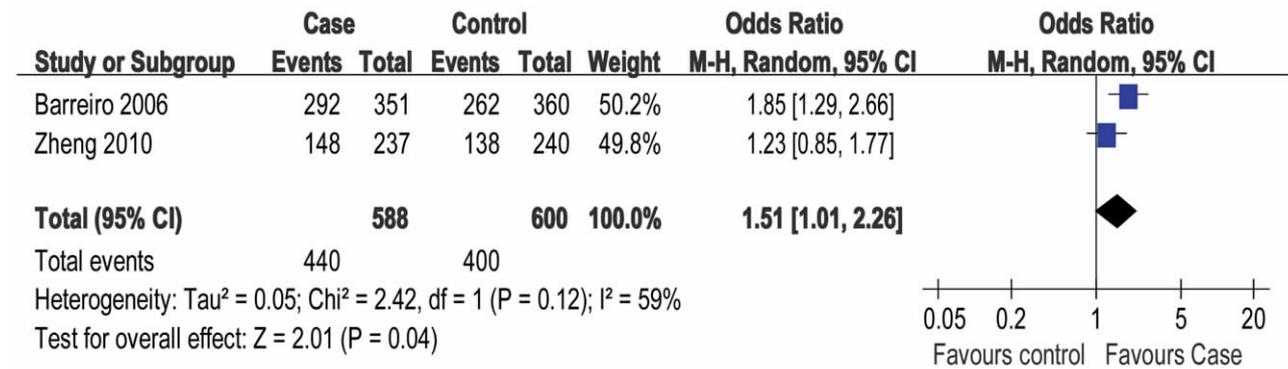


图 1 基因型 AA 在病例组与对照组比较的 Meta 分析

2.4.2 -871 AG+GG 基因型与结核易感性的 Meta 分析

两个研究报告了病例组与对照组之间基因型 AG+GG 的分配情况^[8-9],研究之间的异质性为 $I^2=41%$, $P=0.19$,因研究间异质性较小,故采用固定

两个研究报告了病例组与对照组之间基因型 AA 的分配情况^[8-9],研究之间的异质性为 $I^2=59%$, $P=0.12$,因研究间的异质性较大,故采用随机效应模型进行合并,Meta 分析结果显示基因型 AA 在病例组与对照组的频率差异有统计学意义,OR=1.51 [1.01, 2.26], $P=0.04$,见图 1,提示基因型 AA 可提高结核易感性。

效应模型进行合并,Meta 分析结果显示,基因型 AG+GG 在病例组与对照组的频率差异有统计学意义,OR=0.64 [0.49, 0.83], $P=0.0006$,见图 2,提示基因型 AG+GG 可能起到提高宿主抗结核的作用。

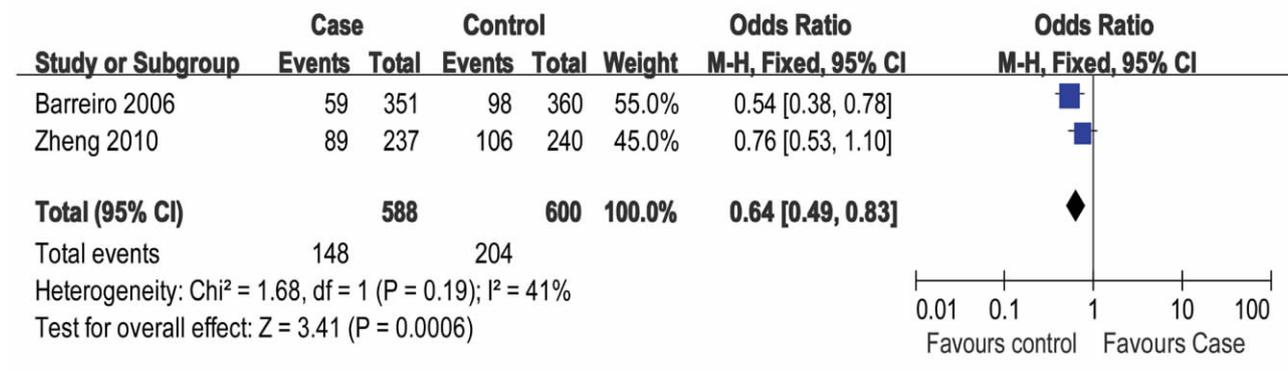


图 2 基因型 AG+GG 在病例组与对照组比较的 Meta 分析

2.4.3 等位基因 A 与结核易感性的 Meta 分析

三个研究报告了病例组与对照组之间等位基因 A 的分配情况^[8-10],研究之间的异质性为 $I^2=50%$, $P=0.14$,因研究间异质性较小,故采用固定效应模型进行合并,Meta 分析结果显示,等位基因 A 在病例组与对照组的频率差异有统计学意

义,OR=1.28 [1.06, 1.55], $P=0.01$,见图 3,提示等位基因 A 可提高结核易感性。

2.4.4 等位基因 G 与结核易感性的 Meta 分析

三个研究报告了病例组与对照组之间等位基因 G 的分配情况^[8-10],研究之间的异质性为 $I^2=95%$, $P<0.00001$,因研究间异质性大,故采用随机

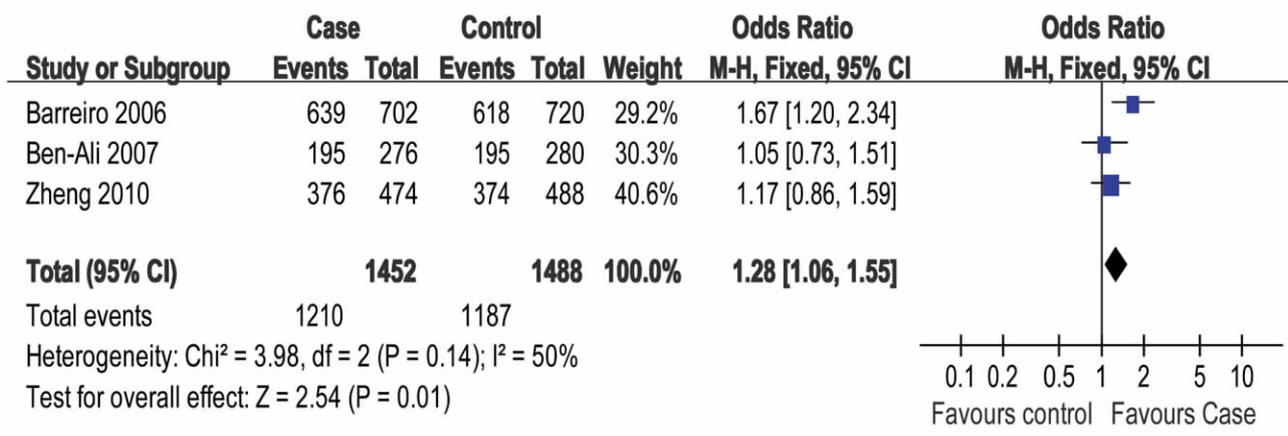


图 3 等位基因 A 在病例组与对照组比较的 Meta 分析

效应模型进行合并, Meta 分析显示等位基因 G 在病例组与对照组的频率差异无统计学意义, OR=

0.60[0.27, 1.35], P=0.22, 见图 4。

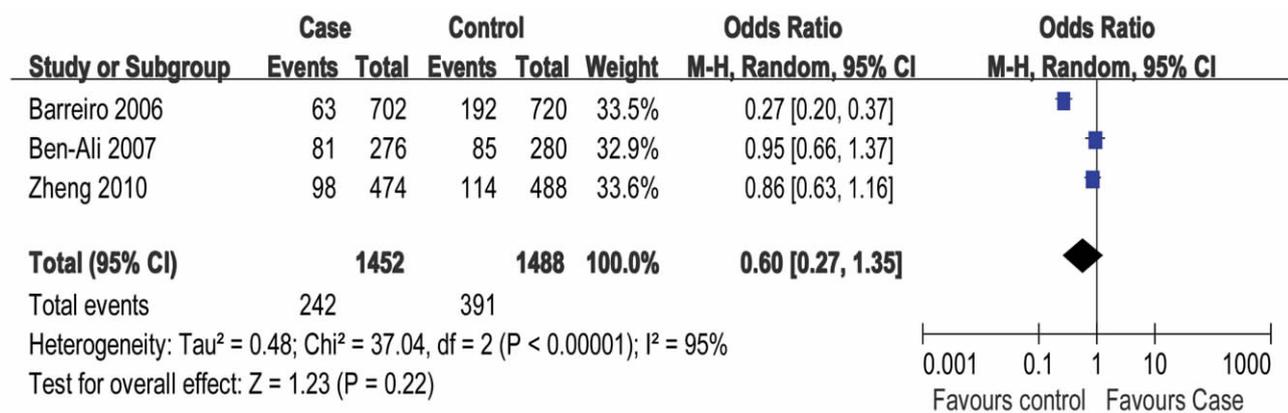


图 4 等位基因 G 在病例组与对照组比较的 Meta 分析

3 讨论

结核病是由结核分枝杆菌引起的传染病,也是世界范围内影响人类健康的主要传染病^[11]。通常认为结核病的发生是机体免疫力与结核杆菌相互作用的结果,宿主抗结核免疫力包括天然免疫和适应性免疫。尽管 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞介导的适应性细胞免疫是机体抗结核的主要效应方式,但 T 细胞的有效激活依赖于天然免疫细胞特别是巨噬细胞和 DC 对结核抗原的提呈,且已证明天然免疫在机体抗结核免疫过程中起着重要的作用,可以消除大部分外来性异物^[12]。树突状细胞在天然免疫和适应性免疫过程中起着很重要的连接作用^[13]。DC-SIGN 是表达在树突状细胞上的重要天然免疫受体,可以识别很多种类的微生物。最近的

研究提示其 CD209 基因启动子-871 位点多态性与结核易感性存在密切关系,可以调节机体对抗结核分枝杆菌的免疫功能^[9],且 DC-SIGN 的启动区长度与结核易感性无关^[10]。

本研究表明,CD209-871 位点基因多态性 -871AA 基因型与 -871A 等位基因可以提高宿主对结核的易感性,而 AG+GG 基因型有助于宿主抵抗结核的感染,可能是 -871AA 基因型与 -871A 等位基因可以影响转录 mRNA 的活性与稳定性,从而起到调节其所编码蛋白的作用,使得机体抗结核能力下降。等位基因 G 在病例组的频率低于对照组,提示等位基因 G 可能与机体的抗结核免疫有关。纳入研究具有足够的相似性,运用 Meta 分析的方法将各个研究结果进行综合,合并的结果表明 -871AA 基因型与 -871A 等位基因与机体的结核易感性有

关,且 AG+GG 基因型有助于宿主抵抗结核菌的感染,间接提示-871G 与结核的免疫保护有关,这与 Barreiro 等^[9]的研究结果相一致,但需更多研究证实这一观点。

纳入的 3 篇文献,Barreiro 等研究中病例组是经细菌学证实(痰阳性或痰培养阳性)的结核病人,对照组是同一团体不相关的健康人群,无结核症状和既往结核病史,因为此地区内的结核感染率在 1999 年是 2.8%~3.5%,故对照组均处于结核病暴露环境之中,所有参与者均 HIV 阴性,基因检测方法是 fluorescence polarization 或 TaqMan,基因多态性相关数据交代清楚。Ben-Ali 等的研究中,结核的诊断标准是临床、影像和细菌学(痰阳性或痰培养阳性),对照组人群与病例组在性别和社会经济状态相一致,目前和既往均无结核病史及其他免疫疾病,基因扩增采用 PCR 方法,基因型 AA:AG:GG 的结果未能得到,因是与-336 位点合并进行统计的,仅能得到等位基因 A 和 G 的分配数据。Zheng 等的研究中,结核病的诊断标准是临床影像证据和痰培养阳性,对照组是健康人群,且在性别、年龄、信仰、社会经济状况方面与病例组相一致,所有参与者均 HIV 阴性,基因多态性数据结果中将 AG 与 GG 合在一起,故得到的数据是 AA:(AG+GG)。纳入研究的数据结果欠佳,不能得出 AG 与 GG 基因型各自与结核易感性的 Meta 分析结果,余评价条目质量较高(按英国牛津循证医学中心文献严格评价项目)。

本研究纳入的研究均符合 H-W 遗传平衡定律,使得各研究人群具有一定的代表性^[14],但本研究亦有一定的局限性,是将不同国家和地区的人群合并在一起观察-871A/G 基因多态性与结核易感性的关系,这在一定程度会影响证据的可靠性,因不同地区的人群-871A/G 基因表型出现的频率是不同的,在同一非洲大陆,开普敦有色人种和突尼斯人的基因频率亦有较大的差别,但从纳入的 3 篇文献等位基因 A、G 与结核易感性的 Meta 森林图可以看出,随着病例数的增加,等位基因 A 在结核病患者组中出现的频率增加,而等位基因 G 在健康对照组中出现的频率增加,使得结论更趋向于符合 Barreiro 等的研究结论,亦使本研究的结论具有较高的可信度。

本研究在基因层面证实 CD209-871 位点 AA

基因型与等位基因 A 与结核易感性有关,间接提示-871G 与结核的免疫保护有关,尚需多中心、大样本、病例对照研究证实。

[参 考 文 献]

- [1] Lawn SD, Zumla AI. Tuberculosis [J]. Lancet, 2011,378(9785):57-72.
- [2] Greenwood B. The epidemiology of pneumococcal infection in children in the developing world [J]. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 1999,354(1384):777-785.
- [3] 高玉婧,裴秀英. 宿主基因与结核病遗传易感性研究进展 [J]. 中国人兽共患病学报, 2007(5):518-520+458.
- [4] Yim JJ, Selvaraj P. Genetic susceptibility in tuberculosis [J]. Respirology, 2010,15(2):241-256.
- [5] Cheepsattayakorn A, Cheepsattayakorn R. Human genetic influence on susceptibility of tuberculosis: From infection to disease [J]. J Med Assoc Thai, 2009,92(1):136-141.
- [6] 马素忍. DC-SIGN 分子配体对肺结核患者树突状细胞黏附 BCG 能力的影响 [D]. 重庆医科大学, 2009.
- [7] Ogarkov OB, Medvedeva TV, Nekipelov OM, et al. Study of DC-SIGN gene polymorphism in patients infected with Mycobacterium Tuberculosis strains of different genotypes in the Irkutsk Region [J]. Probl Tuberk Bolezn Legk, 2007,(11):37-42.
- [8] Zheng RJ, Zhou Y, Qin LH, et al. Relationship between polymorphism of DC-SIGN (CD209) gene and the susceptibility to pulmonary tuberculosis in an eastern Chinese population [J]. Hum Immunol, 2010,72(2):183-186.
- [9] Barreiro LB, Neyrolles O, Babb CL, et al. Promoter variation in the DC-SIGN-encoding gene CD209 is associated with tuberculosis [J]. PLoS Med, 2006,3(2):230-235.
- [10] Ben-Ali M, Barreiro LB, Chabbou A, et al. Promoter and neck region length variation of DC-SIGN is not associated with susceptibility to tuberculosis in Tunisian patients [J]. Hum Immunol, 2007,68(11):908-912.
- [11] Saiga H, Shimada Y, Takeda K. Innate immune effectors in mycobacterial infection [J]. Clin Dev Immunol, 2011,2011:347594.
- [12] Valdivia-Arenas M, Amer A, Henning L, et al. Lung infections and innate host defense [J]. Drug Discov Today Dis Mech, 2007,4(2):73-81.
- [13] Alaniz RC, Sandall S, Thomas EK, et al. Increased dendritic cell numbers impair protective immunity to intracellular bacteria despite augmenting antigen-specific CD8+ T lymphocyte responses [J]. J Immunol, 2004,172(6):3725-3735.
- [14] 刘红,胡永华. 遗传流行病学研究中的 H-W 平衡检验 [J]. 中南大学学报(医学版), 2010,35(1):90-93.

[收稿日期] 2011-05-06