

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.18.006

文章编号: 1005-8982(2017)18-0032-06

<3 岁反复喘息患儿外周血血清 *ORMDL3* 基因在不同临床表型中的表达及其与 IL-17 和 ECP 的关系

郑虹, 王威, 何昭, 刘金宝, 钟剑

(广东省惠州市第一人民医院 儿科, 广东 惠州 516000)

摘要:目的 探讨 <3 岁反复喘息患儿外周血血清类黏蛋白 1 样蛋白 3 (*ORMDL3*) 基因在不同临床表型中的表达及其与血清白介素 -17 (IL-17) 和嗜酸性细胞阳离子蛋白 (ECP) 的关系。**方法** 选取该院儿科就诊 <3 岁反复哮喘的患儿 87 例, 根据患儿是否存在高危因素分成特应性哮喘组 (64 例) 和非特应性哮喘组 (23 例), 再选取同期在儿科体检的健康儿童 30 例。分析 3 组研究对象 *ORMDL3* 基因表达水平、血清 IL-17 和 ECP 含量和 *ORMDL3* 基因频率分布的差异, 并对 3 组研究对象 *ORMDL3* 基因表达水平和血清 IL-17 和 ECP 含量的相关性进行分析。**结果** 特应性哮喘组 *ORMDL3* 基因表达水平 (11.57 ± 1.96)%, 血清 IL-17 (1354.46 ± 873.48) pg/ml 和血清 ECP (45.65 ± 12.76) μ g/L 均高于非特应性哮喘组和对照组 ($P=0.000$); 3 组的 *ORMDL3* 基因 AA、AG 和 GG 3 种基因型的频率分布差异有统计学意义 ($\chi^2=12.84, P=0.012$)。特应性哮喘组的 *ORMDL3* 基因表达水平与血清 IL-17 ($r=0.318, P=0.000$)、血清 ECP ($r=0.540, P=0.000$) 均呈正相关。**结论** 不同临床类型的哮喘患儿血清中的 *ORMDL3* 基因表达水平、IL-17 和 ECP 含量不同。特应性哮喘患儿的血清 *ORMDL3* 基因表达水平与血清 IL-17、ECP 含量存在正相关性。

关键词: 反复喘息; 特应性哮喘; 非特应性哮喘; 黏蛋白 1 样蛋白 3 基因

中图分类号: R725

文献标识码: A

Surum expression of *ORMDL3* gene and its relationships with IL-17 and ECT in recurrent wheezing patients under 3 years

Hong Zheng, Wei Wang, Zhao He, Jin-bao Liu, Jian Zhong
(Department of Pediatrics, the First People's Hospital of Huizhou,
Huizhou, Guangdong 516000, China)

Abstract: Objective To investigate the expression of orosomucoid 1-like protein 3 (*ORMDL3*) gene of different clinical phenotypes and its relationship between serum interleukin-17 (IL-17), serum eosinophil cationic protein (ECP) in peripheral blood of the recurrent asthma patients no more than 3 years old. **Methods** Eighty recurrent asthma children no more than 3 years old admitted to our hospital were selected and divided into atopic asthma group (64 cases) and non-atopic asthma group (23 cases) according to the existence of high risk factors. In the same period 30 cases of healthy children were selected in the control group. The differences of *ORMDL3* gene expression, serum IL-17, serum ECP, and *ORMDL3* gene frequency distribution in the three groups were analyzed, and the correlations of *ORMDL3* gene expression level with serum IL-17 content, serum ECP content in the 3 groups were analyzed. **Results** The expression levels of *ORMDL3* gene (1354.46 ± 873.48) pg/ml and serum ECP content (45.65 ± 12.76) μ g/L in the atopic asthma group were higher than those in the non-atopic asthma group and the control group ($P=0.000$). The distribution of AA, AG and GG genotypes of *ORMDL3* had no significant difference among the 3 groups ($\chi^2=12.84, P=0.012$). The expression levels of *ORMDL3* gene was positively related with serum IL-17 ($r=0.318, P=0.000$) and serum Eop ($r=0.540, P=0.000$) in the atopic group. **Conclusions** The serum expression levels of *ORMDL3* gene,

ECP and IL-17 are different among asthma children with different clinical phenotypes. The expression level of ORMDL3 gene in the serum of atopic asthma patients no more than 3 years old is related to the levels of serum IL-17 and ECP.

Keywords: recurrent asthma; atopic asthma; non-atopic asthma; orosomucoid 1-like protein 3 gene

气管哮喘为慢性炎症基础上的非特异性呼吸道过敏反应,支气管平滑肌在乙酰胆碱以及组胺等刺激下发生痉挛。长期的支气管哮喘可导致患者出现血氧饱和度的下降、动脉管壁的慢性内皮损伤以及肺动脉高压等疾病发生率增加^[1]。儿童喘息多为过敏性以及体内免疫系统紊乱导致的局部黏膜上皮的炎症性改变,虽然临床上尚未达到支气管哮喘的诊断标准,但英国自然科学杂志对于大样本量的反复喘息性儿童患者进行长期随访研究,发现 15% 未经过特殊治疗的儿童可进展为支气管哮喘而需要特殊干预^[2-3]。血清类黏蛋白 1 样蛋白 3 (orosomucoid 1-like protein 3, ORMDL3) 是近年来研究较多的血清学指标,其对于局部免疫源性蛋白的四级折叠以及神经鞘脂等的修饰作用,可以影响到相关炎症因子的表达和调控,该调控能力与 ORMDL3 的基因多态性有关,研究表明,ORMDL3 基因与儿童哮喘相关的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 高度相关,但在不同的人群有差异,如欧美人的 SNP 为 rs4378650 和 rs12603332,日本人的 SNP 为 rs7216389,香港人的 SNP 为 rs4379650。本课题的预实验显示,本院收治 <3 岁反复喘息儿童的 ORMDL3 基因的 rs7216389 位点的 GG、AG 和 AA 基因型或与反复喘息发病相关,本研究在进一步验证的同时,探讨 ORMDL3 存在形式为蛋白时,与外周血的白介素 17 (interleukin-17, IL-17) 及嗜酸性细胞阳离子蛋白 (eosinophil cationic protein, ECP) 的相关性及病理意义,为理清 <3 岁反复喘息儿童的病理变化和制定治疗方案提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 5 月 -2017 年 4 月本院儿科就诊的 <3 岁反复喘息的患儿 87 例,根据患儿是否有高危因素(是否患有过敏性疾病或父母的哮喘病史)分成两组,有高危因素的为特应性哮喘组和无高危因素的为非特应性哮喘组,再选取同期在儿科体检的健康儿童 30 例作为对照组。特应性哮喘组 64 例患者。其中,男性 39 例,女性 27 例;年龄 6 个月 ~ 3

岁,平均(1.28 ± 0.27)岁;平均体重(14.65 ± 5.34)kg;平均身高(101.31 ± 8.84)cm。非特应性哮喘组 23 例患者。其中,男性 13 例,女性 10 例;年龄 6 个月 ~ 2 岁 9 个月,平均(1.47 ± 0.37)岁;平均体重(15.06 ± 4.97)kg;平均身高(103.26 ± 9.34)cm。对照组 30 例患者。其中,男性 18 例,女性 12 例;年龄 8 个月 ~ 2 岁 10 个月,平均(1.41 ± 0.29)岁;平均体重(15.39 ± 6.44)kg;平均身高(99.57 ± 9.66)cm。3 组患儿的年龄、性别、体重及身高差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有受试对象的家长均签署知情同意书。

1.2 纳入或排除标准

1.2.1 纳入标准 特应性哮喘组:①根据《儿童支气管哮喘诊断与防治指南 2008 版》诊断的年龄 <3 岁,喘息次数 >2 次 / 半年或 >3 次 / 年的患儿;②患儿有包括湿疹、过敏性鼻炎、变应性皮炎或食物过敏等过敏性疾病,或者父母有一方或双方均有哮喘病史;③排除引起喘息的其他疾病。非特应性哮喘组:①根据《儿童支气管哮喘诊断与防治指南 2008 版》诊断的年龄 <3 岁,喘息次数 >2 次 / 半年或 >3 次 / 年的患儿;②患儿无过敏性疾病,或者父母无哮喘病史;③排除引起喘息的其他疾病。对照组:无哮喘病史、过敏性疾病和家族史。

1.2.2 排除标准 ①先天性肺实质、气道发育不全、气道内阻塞、支气管扩张、活动性肺结核及先天性心脏病患者均排除;②未签署知情同意书。

1.3 指标检测

两组患者入院后采取清晨静脉血 4 ml, 2 000 r/min 离心 4 min 分离血清。

1.3.1 免疫发光法和聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 检测外周血 ORMDL3 的测序表达 采用免疫发光法检测 ORMDL3 表达水平。PCR 检测:取冷冻保存已裂解的病毒冲洗液,按照 10 000 r/min 的离心速度进行离心分离病毒,每 1 ml 的 Trizol 试剂裂解的样品中加入 0.2 ml 的氯仿,进行裂解操作,采用 4℃ 无酶的核糖核酸 (ribonucleic acid, RNA) 冲洗液进行洗涤,再次 10 000 r/min 离心 5 min,得到 RNA。混合液在加入莫洛尼鼠白血病病毒逆转录酶之前先 70℃ 干浴 3 min,取出后立即冰水

浴至管内外温度一致,然后加逆转录酶 0.5 μl,37℃ 水浴 60 min,室温放置 5 min 使其完全溶解,使其逆转录为互补DNA。以 β-actin 为模版,在反应体系中加入 SYBR Green 1 染料、上游引物、下游引物及脱氧核糖核苷三磷酸,使得总体积达 20 μl,上机,反应条件为:93℃ 预变性 2 min、93℃ 变性 1 min、55℃ 退火 2 min,共 40 个循环。引物设计,ORMDL3 正向引物:5'-ATGGGTGTAAATTAATG-3',反向引物:5'-TACCTGTGCCAAAGTCAA-3',引物由上海英骏生物科技有限公司合成。采用琼脂糖凝胶回收 DNA 纯化 PCR 产物,得到的纯度高,片段完整性和高生物活性。步骤如下:紫外灯投射仪下切下含目的 DNA 的凝胶,轻轻擦干吸凝胶,置于离心管并称重,加入 3 个凝胶体积的 Buffer DE-A 并在 75℃ 的水浴中加热混合 10 min,再加 0.5 个 Buffer DE-A 体积的 Buffer DE-B,并加入 1 个凝胶体积的异丙醇,混合均匀,转移入制备管,离心,弃滤液。将 DNA 制备管,加入 Buffer W2,离心弃滤液。将 DNA 制备管置于洁净的离心管,在制备膜中央部位加入 Eluent,离心洗脱 DNA,即得 PCR 产物,测序分析。

1.3.2 血清 IL-17 和血清 ECP 含量 采用 QG1020 AH 仪(日本 Panasonic 公司),严格按照说明书进行操作检测血清 IL-17 含量和血清 ECP 水平,试剂盒为美国罗氏公司生产。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 13.0 统计软件,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,3 组比较用方差分析,两两比较用 LSD-t 法;百分比、构成比和率比用(%)表示并用 χ^2 检验进行比较;Pearson 法行直线相关分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组外周血的 ORMDL3、IL-17 和 ECP 表达比较

特异性哮喘组 ORMDL3 蛋白表达水平($11.57 \pm$

1.96)%,高于非特异性哮喘组(8.31 ± 1.61)%($t = 7.149$)和对照组(5.07 ± 1.52)%($t = 14.029$,均 $P = 0.000$);特异性哮喘组血清 IL-17 (1354.46 ± 873.48)pg/ml,均高于非特异性哮喘组(343.35 ± 162.36)pg/ml($t = 5.498$)和对照组(38.49 ± 2.55)pg/ml($t = 8.228$,均 $P = 0.000$);特异性哮喘组血清 ECP (45.65 ± 12.76)μg/L,均高于非特异性哮喘组(10.23 ± 2.93)μg/L($t = 13.142$)和对照组(3.22 ± 1.05)μg/L($t = 18.132$,均 $P = 0.000$)。见表 1。

2.2 3 组 ORMDL3 基因 AA、AG 和 GG 基因型分布比较

特异性哮喘组的 ORMDL3 基因 AA、AG 和 GG 基因型的频率分别为 32.81%、40.63%和 26.56%;非特异性哮喘组的 ORMDL3 基因 AA、AG 和 GG 基因型的频率分别为 21.74%、65.22%和 13.04%;对照组

表 1 3 组外周血的 ORMDL3、IL-17 和 ECP 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	ORMDL3/%	IL-17(pg/ml)	ECP(μg/L)
特异性哮喘组(n=64)	11.57 ± 1.96 ⁽¹⁾²⁾	1354.46 ± 873.48 ⁽¹⁾²⁾	45.65 ± 12.76 ⁽¹⁾²⁾
非特异性哮喘组(n=23)	8.31 ± 1.61 ¹⁾	343.35 ± 162.36 ¹⁾	10.23 ± 2.93 ¹⁾
对照组(n=30)	5.07 ± 1.52	38.49 ± 2.55	3.22 ± 1.05
F 值	138.425	53.260	248.149
P 值	0.000	0.000	0.000

注:1)与对照组比较, $P < 0.05$;2)与非特异性哮喘组比较, $P < 0.05$

表 2 3 组 ORMDL3 基因多态性分布比较 例(%)

组别	基因型			χ^2 值	P 值
	AA	AG	GG		
特异性哮喘组	21(32.81)	26(40.63)	17(26.56)		
非特异性哮喘组	5(21.74)	15(65.22)	3(13.04)	12.840	0.012
对照组	8(26.67)	7(23.33)	15(50.0)		

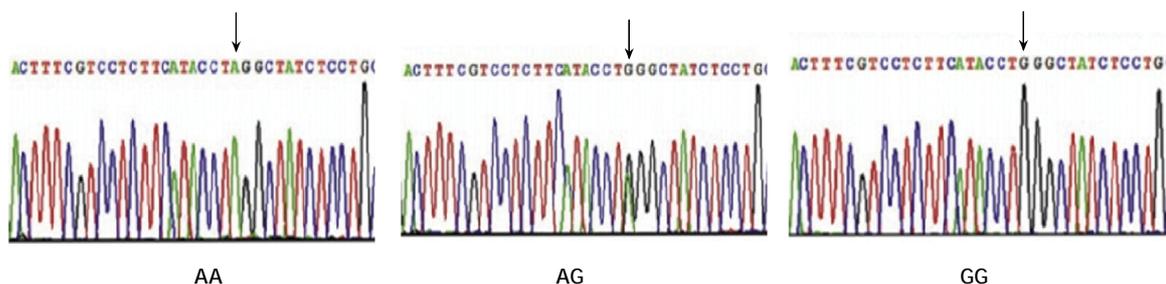


图 1 ORMDL3 基因 rs7216389 位点基因型 AA、AG 和 GG (箭头标示突变)

的 *ORMDL3* 基因 AA、AG 和 GG 基因型的频率分别为 26.67%、23.33% 和 50.0%; 3 组 *ORMDL3* 基因型的分布差异有统计学意义 ($\chi^2=12.84, P=0.012$)。见表 2 和图 1。

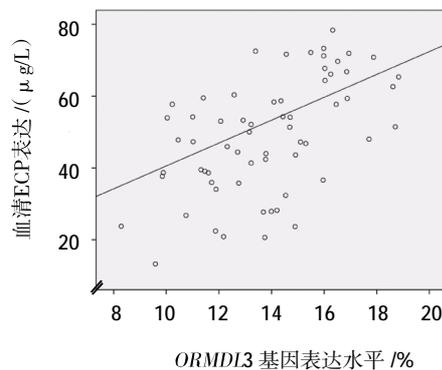
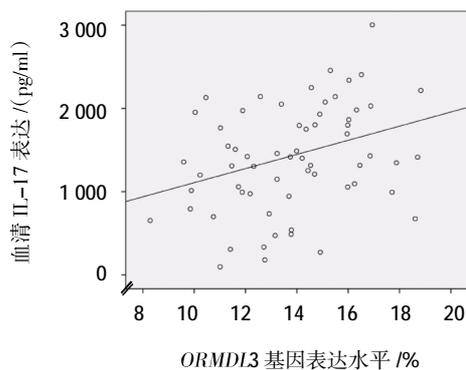
2.3 3 组 *ORMDL3* 和血清 IL-17、ECP 含量相关性分析

分别对特异性哮喘组、非特异性哮喘组和对照组的 *ORMDL3* 基因表达水平与血清 IL-17、ECP 做 Pearson 相关分析发现,特异性哮喘组的 *ORMDL3* 基

因表达水平与血清 IL-17 ($r=0.318, P=0.000$)、血清 ECP ($r=0.540, P=0.000$) 均呈正相关。见表 3 和图 2。

表 3 3 组 *ORMDL3* 与血清 IL-17、ECP 含量相关性分析

组别	血清 IL-17/(pg/ml)		血清 ECP/(μ g/L)	
	r 值	P 值	r 值	P 值
特异性哮喘组	0.381	0.000	0.540	0.000
非特异性哮喘组	0.054	0.367	0.118	0.081
对照组	0.087	0.312	0.122	0.094



与血清 IL-17 ($r=0.318, P=0.000$), 血清 ECP ($r=0.540, P=0.000$) 均呈正相关

图 2 特异性哮喘组的 *ORMDL3* 基因表达水平与血清 IL-7、ECP 的关系

3 讨论

年龄 <3 岁的小儿, 体内细胞免疫特别是 CD4⁺ T 淋巴细胞介导的抗原提呈免疫以及体液免疫调节功能虽然相对完备, 但抗体性物质以及 Treg T 淋巴细胞诱导释放增加, 对于外源性过敏原或者呼吸道黏膜的刺激的反应过激, 可导致局部免疫调节失衡。虽然喘息在短时间内对于患者的血氧含量以及心血管对于氧的利用能力无明显影响, 但长期反复的喘息 (如喘息每日持续 >3 次, 每次 10 min, 持续 6 个月) 可导致呼吸道腺体分泌的自主神经调节异常^[4], 约有 20% <3 岁小儿发展为临床型支气管哮喘^[5]。

导致大量反复喘息患儿未能得到很好的治疗而长期发病的原因在于喘息的病因尚未研究透彻和临床的治疗仅以对症处理为主, 对症治疗的根本原因也在于病因尚不明确, 可见病因的研究迫在眉睫, 目前在基因遗传方面获得了一些有益信息。与喘息临床症状和发病机理类似的哮喘研究显示, MOFFATT 等人在 2007 年首次证实 *ORMDL3* 基因多态性与儿童哮喘易感性有关, 携带 *ORMDL3* 基因变异的儿童的哮喘风险可增加至少 60%。国内学者也陆续发现, *ORMDL3* 基因 rs7216389 位点的多态性与中国

儿童哮喘易感相关, 那么儿童喘息, 尤其 <3 岁反复喘息患儿的 *ORMDL3* 基因的 rs7216389 位点是否存在遗传变异, 该类研究国内较少人进行。

本研究前期探索性研究显示, 与儿童哮喘易感相关的 *ORMDL3* 基因 rs7216389 位点的多态性也可发生在年龄 <3 岁的反复喘息患儿, 纳入较多样本的结果显示, 特异性喘息组患儿的 *ORMDL3* 表达高于非特异性哮喘组和对照组, 非特异性哮喘组也高于对照组, 进一步, 特异性哮喘组、非特异性哮喘组和对照组的 *ORMDL3* 基因 rs7216389 位点的 AA、AG 和 GG 基因型分布是存在差异, 特异性哮喘和非特异性哮喘组的表达为 AG、AA 和 GG 依次递减, 但对照组为 GG、AA 和 AG 依次递减, 与非特异性哮喘组比较, 特异性哮喘的 AG 分布略有增高, 差异无统计学意义, 提示 *ORMDL3* 表达诊断喘息的发病程度和评估预后, *ORMDL3* 基因 rs7216389 位点的变异与年龄 <3 岁的患儿喘息易感性相关, 类似的结果也可以从文献中搜索到, 如 XIAO Q 等^[6]通过动物试验进行肺泡灌洗液的分析, 发现 *ORMDL3* 基因表达产物 *ORMDL3* 蛋白在呼吸道喘息或者哮喘小鼠中的表达具有一定临床特征依赖性, TAVENDALE 等^[7]发现

苏格兰籍的青少年 *ORMDL3* 基因的 SNP rs7216389 与哮喘易感性和病情进展相关,李波等^[8]通过荟萃分析(meta)显示欧洲人群 *ORMDL3* 基因(rs7216389)多态性与儿童哮喘的易感相关性高于亚洲人群。崔云霞等^[9]研究 *ORMDL3* 基因 SNP 位点 rs7216389 多态性与儿童哮喘易感性的相关性。HALAPI 等^[10]认为,rs7216389 位点多态性与哮喘相关程度与年龄有关,相关性仅限于低龄患儿哮喘,随着年龄的增加,相关性约低,成人哮喘几乎无关。KANG 等^[11]还发现除位点 rs7216389, 还有 rs4065275、rs4794820 和 rs11650680 的多态性与低龄患儿哮喘易感相关,类似的结果甚至还可在动脉粥样硬化患者中体现^[12],提示,*ORMDL3* 基因 SNP 位点 rs7216389 多态性可能普遍与炎症反应密切相关。但也有相反结论的报道,如金哲等^[13]发现 *ORMDL3* 基因 SNPs 位点 rs7216389 与北京区域儿童哮喘无关,阳爱梅等^[14]研究 98 例湖南省汉族 0~5 岁儿童 *ORMDL3* 基因 rs7216389 存在单核苷酸多态性,哮喘组与对照组的基因型及等位基因构成比无差异。本课题结果产生与文献不同的原因,首先是病种有根本的差异,本课题探讨的是反复喘息,金哲等人研究的是哮喘,而且基因变异可能与不同种族间遗传背景的差异有关,基因遗传病在不同人群中存在的哮喘易感基因也可能不同,环境因素也可以影响婴幼儿呼吸道疾病的发生、发展。

IL-17 是由辅助性 T 细胞 17(T helper cell 17, Th17)细胞分泌的一种促炎因子,在自身免疫性疾病、变态反应性疾病及炎症反应中发挥作用,在上述疾病患者的肺组织、支气管肺泡灌洗液、痰液及血清中均升高,患者气道高反应性的严重程度与 IL-17 的表达水平密切相关。嗜酸粒细胞的浸润是支气管病变的重要特征,嗜酸粒细胞胞内有许多蛋白颗粒,ECP 是最重要也是研究透彻的一种,对于支气管病变的发作、预后和方案制定具有重要的指导价值。IL-17 及 ECP 是支气管哮喘以及喘息发生的中心性炎症调控因子,研究下显示 IL-17 及 ECP 在支气管肺泡灌洗液以及患者的外周血血清中均高于正常对照人群。XIAO 等^[11,15]学者认为,评估 IL-17 及 ECP 的血清学含量的改变可以评估糖皮质激素雾化吸入治疗的效果,并预测远期复发风险。在该基础上,笔者研究 *ORMDL3* 表达和外周血 IL-17 及 ECP 的关系,结果显示特异性哮喘组的 *ORMDL3* 基因表达水平与血清 IL-17 和 ECP 均呈正相关,提示

ORMDL3 基因在反复发生喘息的患儿发病以及预后评估中具有一定的临床价值,原因可能在于 *ORMDL3* 蛋白在分泌型免疫球蛋白 A (secretory immunoglobulin A, IgA)及局部黏膜免疫蛋白的四级空间结构的折叠、卷曲等修饰上发挥调控作用,*ORMDL3* 基因转录翻译表达的增加也可促进过敏反应 Th2 淋巴细胞的激活,通过局部募集黏膜上皮的嗜酸性粒细胞进而促进呼吸道的炎症反应^[16-17]。TORTORA 等^[18-19]学者在分析小儿喘息发生的机制时,基于高危临床因素进行炎症因子或者信号通路蛋白表达的分析,提出特异性抗体介导治疗的新思路。TORTORA 的提法也为大家一些启示,通过分析 *ORMDL3* 基因的调控途径或可成为免疫治疗提供参考。

综上所述,*ORMDL3* 基因在 <3 岁反复发生喘息患儿体内异常扩增,其等位基因的突变可能促进患儿喘息的发生、发展,同时 *ORMDL3* 基因与 IL-17 以及 ECP 等血清炎症因子具有一定的关系,*ORMDL3* 基因的调控途径或可为小儿 3 岁反复发生喘息患儿的治疗提供帮助。

参 考 文 献:

- [1] 朱道娟,彭东红,黄英,等. 2013 年某院儿童哮喘急性发作住院患儿的病原特点分析[J]. 重庆医学, 2015, 23(19): 2629-2631.
- [2] 赵冰,潘家华. 学龄前儿童反复喘息相关危险因素 Logistic 回归分析[J]. 安徽医科大学学报, 2015, 20(8): 1154-1156.
- [3] 袁姝华,王薇,殷勇,等. 儿童哮喘控制测试与全球哮喘防治倡议标准控制分级的比较[J]. 重庆医学, 2015, 22(18): 2543-2545.
- [4] 郁志伟,钱俊,顾晓虹,等. 婴幼儿喘息性社区获得性肺炎患儿血清炎症因子的变化[J]. 中国当代儿科杂志, 2015, 30(8): 815-818.
- [5] 王静,向莉. 1 年尘螨特异性免疫治疗哮喘合并变应性鼻炎患儿的肺功能动态变化[J]. 中国实用内科杂志, 2014, 24(5): 74-76.
- [6] XIAO Q, REN L, ZHENG S, et al. Prevalence and molecular characterizations of enterovirus D68 among children with acute respiratory infection in China between 2012 and 2014 [J]. Sci Rep, 2015, 23(5): 16-18.
- [7] TAVENDALE R, MACGREGOR D F, MUKHOPADHYAY S, et al. Apolymorphism controlling *ORMDL3* expression is associated with asthma that is poorly controlled by current medications [J]. Journal of Allergy & Clinical Immunology, 2008, 121(4): 860-863.
- [8] 李波,曲书强. *ORMDL3/GSDMB* 基因多态性与儿童支气管哮喘遗传易感性的 Meta 分析[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(22): 1726-1728.
- [9] 崔云霞,张慧妹,师岩,等. *ORMDL3* 基因 SNP 位点 rs7216389 多态性与儿童哮喘易感性关系的荟萃分析[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2012, 46(4): 530-533.

- [10] HALAPI E, GUDBJARTSSON D F, JONSDPTTIR G M, et al. A sequence variant on 17q21 is associated with age at onset and severity of asthma[J]. *Eur J Hum Genet*, 2010, 18(8): 902-908.
- [11] KANG M J, YU H S, SEO J H, et al. GSDMB/ORMDL3 variants contribute to asthma susceptibility and eosinophil-mediated bronchial hyperresponsiveness[J]. *Hum Immunol*, 2012, 73(9): 954-959.
- [12] MA X, QIU R, DANG J, et al. ORMDL3 contributes to the risk of atherosclerosis in Chinese Han population and mediates oxidized low-density lipoprotein-induced autophagy in endothelial cells[J]. *Sci Rep*, 2015, 5(11): 17194.
- [13] 金哲, 王金凤, 李红, 等. 北京地区儿童生活方式、免疫状态及 ORMDL3 基因 SNPs 与哮喘发生的相关性研究[J]. *医学研究杂志*, 2010, 39(11): 21-24.
- [14] 阳爱梅, 黄榕, 金世杰. 湖南省 98 例哮喘儿童 ORMDL3 基因多态性分析及与 OPN、TGF- β 水平相关性探讨[J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(4): 324-328.
- [15] 单文婕, 卢燕鸣, 李亚琴, 等. 婴幼儿反复喘息危险因素 Meta 分析[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2015, 30(10): 761-764.
- [16] 何春卉, 林俊宏, 陈容珊, 等. 孟鲁司特钠联合丙酸氟替卡松治疗螨虫过敏的儿童咳嗽变异型哮喘的疗效及安全性[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2015, 34(14): 1106-1109.
- [17] 李芙蓉, 王捷军. 儿童支气管哮喘控制不良因素中鼻窦炎患病率观察[J]. *中国实用内科杂志*, 2014, 25(5): 106-108.
- [18] TORTORA R P, GUIMARAES M A, DE SOUZA L M, et al. Adenovirus species C detection in children under four years of age with acute bronchiolitis or recurrent wheezing[J]. *J Clin Virol*, 2015, 73(6): 77-80.
- [19] OZDOGAN S, TABAKCI B, DEMIREL A S, et al. The evaluation of risk factors for recurrent hospitalizations resulting from wheezing attacks in preschool children[J]. *Ital J Pediatr*, 2015, 41(1): 91-94.