

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.10.008

文章编号: 1005-8982(2016)10-0036-04

论著

## 维生素 D 受体基因的多态性 与儿童喘息性疾病的关系

刘莹,张红,乔颖

(天津市人民医院 儿科,天津 300121)

**摘要:目的** 探讨维生素 D 受体基因的多态性与儿童喘息性疾病的关系。**方法** 选取本院 2012 年 9 月 - 2014 年 9 月的 82 例喘息性疾病患儿进行分析。支气管哮喘 41 例,作为试验组 1,喘息性支气管炎 41 例,作为试验组 2,正常对照组 41 例,3 组研究对象采用聚合酶链反应 - 限制性长度多态性检测维生素 D 受体 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I* 和 *Taq I* 基因多态性,观察 3 组研究对象的基因型分布频率及维生素 D 受体基因的多态性与儿童喘息性疾病的相关性。**结果** 试验组 1 与试验组 2 和对照组的维生素 D 受体 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I* 和 *Taq I* 基因型的分布频率之间存在明显差异,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );试验组 1 与试验组 2 和对照组的维生素 D 受体 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I* 和 *Taq I* 等位基因频率之间存在明显差异,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 维生素 D 受体基因的多态性与儿童喘息性疾病具有良好的相关性,为治疗儿童喘息性疾病提供可靠依据。

**关键词:** 维生素 D 受体基因;基因分布;喘息性疾病;相关性

**中图分类号:** R246.4

**文献标识码:** A

## Relationships of vitamin D receptor gene polymorphisms with children asthma and wheezy bronchitis

Ying Liu, Hong Zhang, Ying Qiao

(Department of Pediatrics, the People's Hospital of Tianjin, Tianjin 300121, China)

**Abstract: Objective** To study the relationship of vitamin D receptor gene polymorphisms with children asthma and wheezy bronchitis. **Methods** Eighty-two cases of asthma and wheezy bronchitis treated in our hospital from September 2012 to September 2014 were analyzed and divided into two groups: 41 cases of bronchial asthma were into experimental group 1, 41 cases of asthmatic bronchitis were into experimental group 2. There were 41 cases in normal control group. The three groups used polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) to detect vitamin D receptor *Apa I*, *Fok I*, *Bsm I* and *Taq I* gene polymorphisms. The frequency of genotype distribution of the 3 groups were observed and the correlations of the vitamin D receptor gene polymorphisms with children asthmatic diseases were studied. **Results** The frequency of vitamin D receptor *Apa I*, *Fok I*, *Bsm I* and *Taq I* genotype distribution in the experimental group 1 had significant differences from that in the group 2 and the normal control group ( $P < 0.05$ ). The vitamin D receptor *Apa I*, *Fok I*, *Bsm I* and *Taq I* allele frequency of the experimental group 1 had significant differences from that of the group 2 and the normal control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** The vitamin D receptor gene polymorphisms are closely correlated with asthmatic diseases, which provides a reliable basis for treatment of children with asthmatic diseases.

**Keywords:** vitamin D receptor gene; gene distribution; asthmatic disease; correlation

收稿日期:2015-12-07

维生素 D 是调节骨代谢和钙平衡的一种固醇激素,随着越来越多的研究不断进行,维生素 D 也作为一种调节人体免疫作用的激素,越来越多的被重视。相关研究表明<sup>[1]</sup>,减少阳光暴露与哮喘发病有关,而认为维生素 D 是联系阳光暴露与哮喘发病之间的中介物。维生素 D 缺乏与不足都会使发病率提高,阳光暴露不足的人群是儿童,因此儿童也最容易发生哮喘类疾病。哮喘类疾病的发生与很多炎症因子、细胞介质有很大关系,但是维生素 D 受体基因的多态性与儿童喘息性疾病的发生也是当前研究的重点。维生素 D 受体多态基因主要有 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I*、*Tru 9 I* 等位点,不同的基因在喘息性疾病方面的分布频率不同,通过研究这些基因型的分布频率来确定维生素 D 受体基因的多态性与儿童喘息性疾病的关系。前人的研究<sup>[2-3]</sup>显示,*Apa I* 和 *Bsm I* 位点的多态性分布与喘息性疾病有关,而且不同的哮喘疾病表现不同。有研究<sup>[4]</sup>显示,*Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I*、*Tru 9 I* 位点的多态性与儿童支气管哮喘有关。本研究在前人研究的基础上对维生素 D 受体基因 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I* 位点上的分布频率与儿童喘息性疾病的关系进行分析,从而为儿童喘息性疾病的治疗提供可靠依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

对天津市人民医院 2012 年 9 月 -2014 年 9 月的 82 例儿童喘息性疾病患儿进行分析。所有患儿符合哮喘及喘息性支气管炎疾病的诊断标准<sup>[5]</sup>:①反复

发作喘息、咳嗽、气促、胸闷等症状;②患儿发作时双肺可听到弥漫性哮鸣音,呼气相延长;③患儿的症状经过抗哮喘类药物治疗均可以有效治疗。排除其他疾病所引起的喘息、咳嗽、气促和胸闷症状。支气管哮喘 41 例,作为试验组 1,喘息性支气管炎 41 例,作为试验组 2,正常对照组 41 例。正常对照组没有以上症状的表现。其中试验组 1 中男性 24 例,女性 17 例,年龄 1~7 岁,平均年龄为(3.9±1.2)岁;试验组 2 中男性 25 例,女性 16 例,年龄 1~6 岁,平均年龄为(3.4±1.1)岁;正常对照组 41 例,男性 23 例,女性 18 例,年龄 1~7 岁,平均年龄为(3.7±1.3)岁。3 组患者在一般资料方面差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。

### 1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取 采集 3 组研究对象的 2.0 ml 外周静脉血,用 2%乙二胺四乙酸抗凝,采用酚氯法提取 DNA,并保存在 -20℃冰箱冷冻待用。

1.2.2 引物设计及合成<sup>[6]</sup> PCR 引物序列见表 1。

1.2.3 维生素 D 基因型分析<sup>[6]</sup> 采用 PCR-RFLP 技术确定维生素 D 基因型,PCR 体系 50 μl,循环参数:95℃ 预变性 10 min,94℃ 变性 1 min,65℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 1 min,30 s 后进行 35 个循环。最后 72℃ 延伸 7 min,扩增产物经 1%琼脂糖电泳,溴化乙锭染色,扩增的 PCR 产物采用纯化试剂盒进行纯化。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析,计数数据用例数和构成比表示,用  $\chi^2$  检验, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

表 1 PCR 引物序列

基因位点	正向引物 -5'	反向引物 -3'
<i>Apa I</i>	CCTCATGTCTTCTGTTGGAG	TGCATCTGACCCTGGACTTC
<i>Fok I</i>	GTAGAATAGAAGGAGGGAAGC	AGCTTCATGCTGCACTCAGGCT
<i>Bsm I</i>	AACCAAGACTACAAGTACCGGGTCAGTGA	TGGCGGCAGCGGATGTACGCTCTGC
<i>Taq I</i>	ATAAGGAAATACCTACTTTGCTGGTTT	TAGGTGCTCAATAAATTGTTGCTAAG

## 2 结果

2.1 3 组研究对象的维生素 D 受体 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I* 位点基因型分布频率比较(见表 2)

2.2 维生素 D 受体 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I* 位点基因型分布频率两两比较

试验组 1 和试验组 2 以及试验组 1 与对照组之间差异有统计学意义( $P<0.05$ );试验组 2 与对照组

差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 3。

2.3 3 组研究对象的维生素 D 受体 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I* 位点等位基因型分布频率比较(见表 4)

2.4 维生素 D 受体 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I* 位点等位基因型分布频率两两比较

试验组 1 和试验组 2 以及试验组 1 与对照组之间差异有统计学意义( $P<0.05$ );试验组 2 与对照组差异无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 5。

表 2 3 组研究对象的维生素 D 受体 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I* 位点基因型分布频率比较 [n=41, 例(%)]

组别	<i>Apa I</i>			<i>Fok I</i>		
	AA	Aa	aa	FF	Ff	ff
试验组 1	7(17.1)	15(36.6)	19(46.3)	8(19.5)	13(31.7)	20(48.8)
试验组 2	2(4.9)	5(12.2)	34(82.9)	2(4.9)	6(14.6)	33(80.5)
正常对照组	1(2.4)	4(9.8)	36(87.8)	1(2.4)	5(12.2)	35(85.4)

  

组别	<i>Bsm I</i>			<i>Taq I</i>		
	BB	Bb	bb	TT	Tt	tt
试验组 1	9(21.9)	11(26.8)	21(51.2)	6(14.6)	11(26.8)	24(58.5)
试验组 2	2(4.9)	5(12.2)	34(82.9)	2(4.9)	6(14.6)	33(80.5)
正常对照组	1(2.4)	4(9.8)	36(87.8)	1(2.4)	5(12.2)	35(85.4)

表 3 维生素 D 受体 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I* 位点基因型分布频率两两比较

组别	<i>Apa I</i>		<i>Fok I</i>		<i>Bsm I</i>		<i>Taq I</i>	
	$\chi^2$ 值	P 值						
试验组 1 与试验组 2	5.64	0.025	5.43	0.024	5.89	0.035	5.42	0.028
试验组 1 与对照组	9.32	0.021	9.43	0.019	9.94	0.015	9.90	0.016
试验组 2 与对照组	0.87	0.552	0.58	0.643	0.12	0.953	0.99	1.053

表 4 3 组研究对象的维生素 D 受体 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I* 位点等位基因型分布频率比较 [n=41, 例(%)]

组别	<i>Apa I</i>		<i>Fok I</i>	
	A	a	F	f
试验组 1	29(35.4)	53(64.6)	29(35.4)	53(64.6)
试验组 2	9(11.0)	73(89.0)	10(12.2)	72(87.8)
正常对照组	6(7.3)	76(92.7)	7(8.5)	75(91.5)

  

组别	<i>Bsm I</i>		<i>Taq I</i>	
	B	b	T	t
试验组 1	29(35.4)	53(64.6)	23(28.0)	59(72.0)
试验组 2	9(11.0)	73(89.0)	10(12.2)	72(87.8)
正常对照组	6(7.3)	76(92.7)	7(8.5)	75(91.5)

表 5 维生素 D 受体 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I* 位点等位基因型分布频率两两比较

组别	<i>Apa I</i>		<i>Fok I</i>		<i>Bsm I</i>		<i>Taq I</i>	
	$\chi^2$ 值	P 值						
试验组 1 与试验组 2	5.63	0.025	5.58	0.026	5.32	0.029	5.67	0.022
试验组 1 与对照组	9.56	0.019	9.57	0.019	9.89	0.015	9.98	0.012
试验组 2 与对照组	0.37	0.295	0.78	0.589	0.18	0.185	0.93	1.035

### 3 讨论

维生素D受体基因多态性的基因型的变化与喘息性疾病有一定关系。研究发现与哮喘有关的染色体DNA可以与维生素D激素受体进行结合形成激素-受体复合物,该复合物对特色的DNA具有一定的表达,可以诱导炎症因子的发生,从而导致喘息性疾病的发生<sup>[6]</sup>。研究发现,喘息性疾病的发生主要是

因为Th1/Th2的平衡被打破,而维生素D能抑制Th1淋巴细胞的作用,同时增强Th2淋巴细胞的作用,导致Th1/Th2的平衡的破坏,可见维生素D与哮喘疾病有关<sup>[7]</sup>。本研究通过研究发现喘息性支气管炎患者的维生素D受体*Apa I*、*Fok I*、*Bsm I*、*Taq I*位点基因型分布频率与其他研究组存在明显差异,而且与正常人群比较,不同基因型存在明显差异,

这也表明维生素 D 受体基因多态性与儿童喘息性疾病具有良好的关系。刘飒等<sup>[8]</sup>人通过采用维生素 D 治疗儿童喘息性疾病,可以明显的改善患儿的炎症因子,可见维生素 D 可以降低气道反应性,从而达到治疗效果,这也说明维生素 D 与哮喘疾病有关。

研究认为,哮喘与喘息性支气管炎的发生与遗传和环境有一定关系,而遗传和环境的影响各占一半<sup>[9]</sup>。环境中阳光暴露也是一种重要环境因素,在阳光下充分暴露可以明显的减少患上喘息性疾病的机率。充足的阳光可以促进维生素 D 的合成,起到提高免疫的作用。研究发现<sup>[10]</sup>,维生素 D 与儿童支气管哮喘有关,发现血清维生素 D 水平越少,患儿的肺功能就会越差,维生素 D 的低水平存在与哮喘的形成有关。研究认为<sup>[11]</sup>,血清维生素 D 水平与儿童哮喘发生率呈负相关。即血清中维生素 D 的含量越少,发生儿童哮喘的机率就会增大。分析其原因是因为维生素 D 的受体基因发生变化。甄艳芬等人<sup>[12]</sup>维生素 D 的受体基因位点的 *Apa I* 的基因型进行分析发现发生哮喘的患儿的基因型分布频率要低于正常人群。本研究中对维生素 D 的受体基因位点的 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I* 和 *Taq I* 基因型的分布频率及其等位基因的分布频率进行比较发现支气管哮喘患儿的维生素 D 的受体基因位点的 *Apa I*、*Fok I*、*Bsm I* 和 *Taq I* 的基因型分布频率和等位基因型的分布频率与喘息性支气管炎患儿和正常人群差异有统计学意义,由此可见维生素 D 受体基因的多态性与儿童喘息性疾病有关。而且不同性质的喘息性疾病中的支气管哮喘和喘息性支气管炎的维生素 D 受体基因的多态性的表现不同,也说明了不同的喘息性疾病与维生素 D 受体基因的多态性的关系存在一定

差异。本研究得到的结果与其他研究结果基本一致。

综上所述,维生素 D 受体基因的多态性与儿童喘息性疾病具有良好的相关性,为治疗儿童喘息性疾病提供可靠依据。

#### 参 考 文 献:

- [1] 陈晓锐. 儿童血清 25 羟维生素 D 水平及其受体基因多态性与哮喘的相关性研究[D]. 南方医科大学, 2014.
- [2] 王振华, 李丽红, 鲁继荣, 等. 维生素 D 受体基因多态性与小儿反复呼吸道感染的相关性研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2013, 23(4): 304-305.
- [3] 李飞, 高金明. 维生素 D、维生素 D 受体与支气管哮喘[J]. 中华哮喘杂志(电子版), 2012, 4(1): 38-43.
- [4] 莫丽亚, 邓永超, 黄彩芝, 等. 维生素 D 受体基因多态性与儿童哮喘相关性研究[J]. 中国儿童保健杂志, 2015, 23(7): 741-743.
- [5] KAREN SL, J DAYRE M, MATTHEW RM, 等. 急性下呼吸道感染儿童的维生素 D 摄入[J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(1): 1-6.
- [6] 李万伟, 任彩玲, 李晓红, 等. 儿童哮喘危险因素的病例对照研究[J]. 环境与健康杂志, 2014, 31(2): 137-139.
- [7] 曾繁睿, 沙杭. 维生素 D 缺乏对呼吸系统疾病的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2015, 31(1): 76-78.
- [8] 刘飒, 戈艳蕾, 王红阳, 等. 维生素 D 治疗支气管哮喘患者临床疗效探讨[J]. 中国现代医学杂志, 2012, 22(32): 80-82.
- [9] CAMARGO C A, INOHAM T, WICKENSK, et al. Cord-Blood 25-hydroxyvitamin D levels and risk of respiratory infection wheezing, and asthma[J]. *Pediatr Res*, 2013, 127(1): e180-e187.
- [10] BREHM J M, COLODON J C, SOTO-UIROS M E, et al. Serum vitamin D levels and markers of severity of childhood asthma in Costa Rica[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 179(9): 765-771.
- [11] SOHN M H. Genetic variation in the promoter region of chitinase3-like 1 is associated with atopy[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 179(6): 449-456.
- [12] 甄艳芬, 王琳. 维生素 D 受体基因多态性与儿童喘息性疾病相关性研究[J]. 中国预防医学杂志, 2013, 11(10): 1055-1058.

(张蕾 编辑)