

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.23.001
文章编号: 1005-8982 (2023) 23-0001-09

儿科疾病专题·论著

PLA2G4和ABCC1基因多态性与支气管哮喘 患儿孟鲁司特疗效的研究*

任梦洋¹, 魏兵², 李令雪², 贾京晶¹, 张世楠³, 尤瑄³, 支艳杰⁴

(1. 惠州市第一妇幼保健院, 广东 惠州 516007; 2. 中国人民解放军北部战区总医院, 辽宁 沈阳 110016; 3. 中国医科大学北部战区总医院研究生培养基地, 辽宁 沈阳 110016; 4. 大连医科大学北部战区总医院研究生培养基地, 辽宁 沈阳 110016)

摘要: **目的** 探讨胞浆型磷脂酶A2(PLA2G4)基因和ATP结合盒亚家族C成员1(ABCC1)基因单核苷酸多态性(SNPs)与支气管哮喘儿童白三烯受体拮抗剂(LTRA)孟鲁司特疗效的关系。**方法** 选取2019年3月—2021年9月于中国人民解放军北部战区总医院诊治的121例哮喘患儿为研究对象, 受试儿童均采用常规治疗+孟鲁司特方案治疗1个月。应用imLDR™技术检测受试儿童PLA2G4基因rs10157410、rs10489409、rs932476位点和ABCC1基因rs215066位点的SNPs, 探究各位点不同基因型间治疗前后肺功能、炎症指标及哮喘症状控制水平分级的变化情况。**结果** 孟鲁司特治疗前后PLA2G4基因rs10157410、rs10489409、rs932476位点不同基因型间的肺功能指标比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。孟鲁司特治疗后, PLA2G4基因rs10157410位点GC和GG基因型、rs10489409位点CT和TT基因型、rs932476位点GA和AA基因型及ABCC1基因rs215066位点的第1秒用力呼气容积占预计值百分比、第1秒用力呼气容积与用力肺活量比值、用力呼出50%和75%肺活量时的瞬时流量占预计值百分比均升高($P < 0.05$)。孟鲁司特治疗后, PLA2G4基因rs10489409位点CC基因型患儿嗜酸性粒细胞计数较治疗前改善不显著($P > 0.05$), PLA2G4、ABCC1基因各位点不同基因型的免疫球蛋白(IgE)、呼出一氧化氮均较治疗前改善显著($P < 0.05$)。孟鲁司特治疗后, PLA2G4基因rs10157410位点GC基因型良好控制比例高于GG基因型, 未控制低于GG基因型($P < 0.05$); PLA2G4基因rs932476位点GA和AA基因型良好控制比例与GG基因型比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。Logistic回归分析结果显示, PLA2G4基因rs10157410位点GC基因型良好控制比例是GG基因型的5.639倍[$\hat{OR} = 5.639(95\% CI: 2.078, 15.298)$], rs932476位点GG基因型良好控制比例是AA基因型的0.053倍[$\hat{OR} = 0.053(95\% CI: 0.006, 0.430)$]。**结论** PLA2G4基因rs10157410位点GC基因型和rs932476位点AA基因型对孟鲁司特具有更好的敏感性。

关键词: 支气管哮喘; 儿童; 基因多态性; 胞浆型磷脂酶A2; ATP结合盒亚家族C成员1; 孟鲁司特
中图分类号: R725.6 **文献标识码:** A

Study on the polymorphisms of PLA2G4 and ABCC1 genes and the efficacy of montelukast in children with bronchial asthma*

Ren Meng-yang¹, Wei Bing², Li Ling-xue², Jia Jing-jing¹, Zhang Shi-nan³, You Xuan³, Zhi Yan-jie⁴

(1. Huizhou First Maternal and Child Health Care Hosital, Huizhou, Guangdong 516007, China; 2. Chinese General Hospital of the Northern Theater of the People's Liberation Army, Shenyang, Liaoning 110016, China; 3. Graduate Training Base of Northern Theater General Hospital of China Medical University, Shenyang, Liaoning 110016, China; 4. Graduate Training Base of Northern Theater General Hospital of Dalian Medical University, Shenyang, Liaoning 110016, China)

收稿日期: 2023-03-13

* 基金项目: 辽宁省民生科技计划(No:2021JH2/10300060); 沈阳市科技计划(No:20-205-4-062)

[通信作者] 魏兵, E-mail: weib71@sina.com

Abstract: Objective To investigate the correlation between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of cytosolic phospholipase A2 (PLA2G4) gene and ATP-binding cassette subfamily C member 1 (ABCC1) gene and the efficacy of leukotriene receptor antagonists (LTRA) montelukast in children with bronchial asthma. **Methods** A total of 121 asthmatic children treated at the Northern Theater General Hospital of the People's Liberation Army from March 2019 to September 2021 were selected for the study. The children received routine treatment plus montelukast for one month. The imLDRTM technique was used to detect SNPs of PLA2G4 gene at rs10157410, rs10489409, rs932476 loci, and ABCC1 gene at rs215066 locus. Changes in lung function, inflammatory indicators, and asthma symptom control levels were explored among different genotypes at each locus before and after treatment. **Results** The comparison of lung function indicators among different genotypes of PLA2G4 gene at rs10157410, rs10489409, and rs932476 loci before and after montelukast treatment showed no significant differences ($P > 0.05$). After montelukast treatment, the percentage of predicted forced expiratory volume in 1 second (FEV₁), the ratio of FEV₁ to forced vital capacity (FVC), and the percentage of predicted peak expiratory flow at 50% and 75% of vital capacity significantly increased for genotypes GC and GG at rs10157410 locus, CT and TT at rs10489409 locus, GA and AA at rs932476 locus, and for genotype CC at ABCC1 gene rs215066 locus ($P < 0.05$). After montelukast treatment, there was no significant improvement in eosinophil count in children with genotype CC at rs10489409 locus ($P > 0.05$), while immunoglobulin E (IgE) and exhaled nitric oxide levels significantly improved for different genotypes at PLA2G4 and ABCC1 gene loci compared to pre-treatment ($P < 0.05$). After montelukast treatment, the proportion of good control for genotype GC at rs10157410 locus was significantly higher than GG, and for genotypes GA and AA at rs932476 locus, the proportion of good control was significantly different from GG ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that the proportion of good control for genotype GC at PLA2G4 gene rs10157410 locus was 5.639 times that of GG [$\hat{OR} = 5.639$ (95% CI: 2.078, 15.298)], and the proportion of good control for genotype GG at rs932476 locus was 0.053 times that of AA [$\hat{OR} = 0.053$ (95% CI: 0.006, 0.430)]. **Conclusion** PLA2G4 gene rs10157410 genotype GC and rs932476 genotype AA have better sensitivity to the efficacy of montelukast.

Keywords: bronchial asthma; children; genetic polymorphism; cytosolic phospholipase a2; ATP-binding cassette subfamily C member 1; montelukast

支气管哮喘是与可逆性气流阻塞且与支气管高反应相关的慢性炎症病变。全世界有3亿多人患有支气管哮喘,被认为是儿童最常见的疾病之一,1990年全国城市14岁以下儿童支气管哮喘的累计患病率为1.09%,2000年为1.97%,2010年为3.02%,20余年来我国儿童支气管哮喘的患病率呈明显上升趋势^[1-4]。支气管哮喘的发病机制很复杂,多为基因和环境因素相互作用,现致病机制仍未明确,对该疾病的治疗也以预防慢性症状、维持肺功能和允许正常的日常活动为主,使患儿达到“无症状”状态^[5]。孟鲁司特是最常用的白三烯受体拮抗剂,是目前治疗儿童支气管哮喘的主要药物之一。有研究证明孟鲁司特可显著降低气道高反应性,改善气道重塑,但孟鲁司特疗效有明显的个体差异,其原因除患儿耐药性差异外,还可能与患儿体内白三烯

关^[6-7]。LTs是花生四烯酸的水解产物,磷脂酶A₂是水解花生四烯酸的关键酶,ATP结合盒亚家族C成员1(ATP-binding cassette subfamily C member 1, ABCC1)基因编码的多药耐药相关蛋白1是内源性物质LTs的转运蛋白^[8-9]。因此推测,调控和转运LTs的胞浆型磷脂酶A2(recombinant cytosolic phospholipase A2, PLA2G4)基因和ABCC1基因是影响孟鲁司特疗效发挥的重要因素之一。本研究通过分析PLA2G4基因和ABCC1基因多态性与哮喘儿童孟鲁司特疗效的反应性,希望为支气管哮喘患儿提供潜在的药物遗传学标记及用药方案指导。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取2019年3月—2021年9月于中国人民解放军北部战区总医院诊治的121例支气管哮喘患儿为

研究对象。其中, 男性 80 例, 女性 41 例; 年龄 4 ~ 9 岁。所有入组儿童为东北地区汉族儿童。纳入标准: ①符合中华医学会儿科学分会呼吸学组制订的《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 年版)》^[4]的诊断标准; ②1 个月内未全身使用糖皮质激素或免疫调节剂; ③能够配合完成肺功能检查和治疗。排除标准: ①既往有反复呼吸道感染史; ②合并有心血管、肝、肾、内分泌或造血系统等严重原发性疾病及精神病; ③对本研究中的药物过敏。本研究经医院医学伦理委员会批准[伦审 Y(2020)054 号], 所有患儿家属签署知情同意书。

1.2 治疗方法

根据疾病发作时的严重程度, 依据《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016 年版)》^[4]的治疗方案, 给予常规吸氧、雾化平喘、祛痰止咳、抗感染、纠正

酸碱平衡等对症治疗。所有患儿睡前口服 1 次孟鲁司特(顺尔宁, 杭州默沙东有限公司, 国药准字: J20140167), 2 ~ 5 岁患儿服用剂量为 4 mg, 6 ~ 14 岁患儿服用剂量为 5 mg, 1 次/d, 连续治疗 1 个月。

1.3 基因型检测

抽取受试儿童外周静脉血 3 mL 于抗凝管中, 置入 -80 °C 冰箱冷冻保存备用, 提取各样本血细胞基因组 DNA 行 PCR 扩增, 应用 Primer 3 软件设计 PCR 引物(上海生工生物工程股份有限公司), 引物序列见表 1。反应条件: 95 °C 预变性 2 min, 94 °C 变性 20 s, 65 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 1.5 min, 共 35 个循环。PCR 产物纯化后, 采用 ABI3730XL 测序仪对 PLA2G4 基因 rs10157410、rs10489409、rs932476 位点和 ABCC1 基因 rs215066 位点进行基因型检测(上海天昊生物科技有限公司)。

表 1 PLA2G4、ABCC1 基因各位点的引物序列

基因	位点	引物序列	长度/bp
PLA2G4	rs10157410	正向: 5'-GATCCCCTGACTTGCTCACAGTTC-3'	239
		反向: 5'-GAAACTGCTAGCCATTGTGTACTGCT-3'	
	rs10489409	正向: 5'-GAGAGGATTGCATGTTGCATGTC-3'	188
		反向: 5'-CCCAAATCACAGTAACCATGCTGAG-3'	
	rs932476	正向: 5'-CAAGTGAATTAGGAGCACCACATAA-3'	209
		反向: 5'-GCTAGAGCAAGGGTCCCAAGG-3'	
ABCC1	rs215066	正向: 5'-TCCCAGCTTCTGCCATTCTAA-3'	242
		反向: 5'-AGAGCTGCTGGGAAACAAGTG-3'	

1.4 观察指标

1.4.1 肺功能检查 治疗前及治疗 1 个月后应用肺功能仪(型号: MasterScreen, 德国 JAEGER 公司)对患儿进行肺通气功能检查, 数据均用实测值占预计值百分比表示, 纳入指标包含: 用力肺活量占预计值百分比(forced vital capacity in predicted, FVC%pred)、第 1 秒用力呼气容积占预计值百分比(forced expiratory volume in one second in predicted, FEV₁%pred)、第 1 秒用力呼气容积与用力肺活量比值(forced expiratory volume in one second to forced vital capacity ratio, FEV₁/FVC)、最大呼气流量占预计值百分比(maximal expiratory flow in predicted, PEF%pred)、用力呼出 50% 肺活量时的瞬时流量占预计值百分比(forced expiratory flow at 50% of forced vital capacity in

predicted, FEF50%pred)、FEF75%pred。

1.4.2 呼出气一氧化氮(fractional exhaled nitric oxide, FeNO)检查 检测仪器为一氧化氮分析仪(型号: NIOX VERO, 英国 CIRCASSIA 公司), 操作参照《儿童肺功能及气道非创伤性炎症指标系列指南(七): 呼出气体一氧化氮监测》^[10]。所有受试者需在检测前 4 h 内禁食酒精类食物, 2 h 内禁食含硝酸盐食物、禁食水、避免剧烈运动。测试过程中应保持吸气及呼气连续进行, 不可屏气或停顿。

1.4.3 实验室指标 分别抽取治疗前和治疗 1 个月后患儿空腹静脉血 2 mL, 采用血细胞分析仪(型号: LH780, 德国 COULTER 公司)检测嗜酸性粒细胞计数(eosinophil count, EOS), 采用酶联免疫吸附试验检测患儿免疫球蛋白 E(Immunoglobulin E, IgE)水平,

操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.5 疗效评价

依据《儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)》^[4]对患儿近4周的哮喘症状进行控制水平分级。评估项目:日间症状(<6岁,>1次/周;≥6岁,>2次/周);夜间因哮喘憋醒或咳嗽;应急缓解药物使用(<6岁,>1次/周;≥6岁,>2次/周);因哮喘出现活动受限。良好控制:无上述各项;部分控制:存在1或2项;未控制:存在3或4项。

1.6 统计学分析

数据分析采用SPSS 23.0统计软件。计量资料以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,符合正态分布和方差齐性检验的两组比较用*t*检验、多组比较用单因素方差分析,符合正态分布但不符合方差齐性检验的两组及多组比较用非参数检验;计数资料以构成比(%)表示,比较用 χ^2 检验;等级资料以等级表示,比较用Kruskal-Wallis *H*非参数检验。采用Logistic回归对PLA2G4基因与孟鲁司特疗效进行分析。*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PLA2G4、ABCC1基因各位点不同基因型治疗前后肺功能指标比较

如表2、3所示,PLA2G4基因rs10157410、rs10489409和rs932476位点不同基因型间的肺功能指标治疗前后比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05)。PLA2G4基因rs10157410位点GC和GG基因型、rs10489409位点CT和TT基因型和rs932476位点GA和AA基因型的FEV₁%pred、FEV₁/FVC、FEF50%pred、FEF75%pred治疗前后比较,差异均有统计学意义(*P*<0.05);治疗后较治疗前均升高。此外,PLA2G4基因rs932476位点GG基因型的FEV₁/FVC和FEF75%pred治疗前后比较,差异有统计学意义(*P*<0.05);治疗后较治疗前升高。ABCC1基因rs215066位点只检测出1种基因型GG,故不再进行基因型间的肺功能指标分析。孟鲁司特治疗前后ABCC1基因rs215066位点GG基因型的FEV₁%pred、FEV₁/FVC、FEF50%pred、FEF75%pred比较,差异均有统计学意义(*P*<0.05);治疗后较治疗前均升高。

表2 PLA2G4基因各位点不同基因型治疗前后肺功能指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

基因型	n	FVC%pred		t值	P值	FEV ₁ %pred		t值	P值	FEV ₁ /FVC		t值	P值
		治疗前	治疗后			治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
rs10157410													
GC	27	84.62 ± 20.87	88.56 ± 15.42	-0.799	0.431	75.73 ± 24.36	90.59 ± 13.39 ^①	-2.470	0.020	77.72 ± 9.74	87.04 ± 7.60 ^①	-3.582	0.001
GG	94	88.93 ± 15.55	90.26 ± 11.86	-0.709	0.480	82.22 ± 19.24	94.08 ± 13.15 ^①	-5.146	0.000	80.70 ± 10.04	88.32 ± 6.33 ^①	-6.054	0.000
t/F/H值		0.696 ^②	-0.613			1.661 ^②	-1.211			-1.366	-0.883		
P值		0.404	0.541			0.198	0.228			0.175	0.379		
rs10489409													
CC	8	89.10 ± 17.39	93.58 ± 13.97	-0.560	0.593	80.28 ± 27.33	95.95 ± 14.53	-1.226	0.260	79.87 ± 12.46	87.22 ± 7.65	-1.197	0.270
CT	37	85.46 ± 15.49	90.22 ± 10.67	-1.687	0.100	78.99 ± 20.41	93.20 ± 11.73 ^①	-4.080	0.000	80.66 ± 8.86	87.47 ± 6.29 ^①	-4.154	0.000
TT	70	89.84 ± 17.77	89.43 ± 13.41	0.169	0.867	82.21 ± 20.30	93.60 ± 13.80 ^①	-3.847	0.000	79.61 ± 10.69	88.84 ± 6.77 ^①	-5.813	0.000
t/F/H值		0.808	0.399			0.294	0.143			0.127	0.625		
P值		0.448	0.672			0.746	0.867			0.881	0.537		
rs932476													
GG	14	92.03 ± 16.68	85.95 ± 13.15	1.080	0.300	83.02 ± 19.15	92.86 ± 17.45	-1.472	0.165	78.04 ± 13.05	90.44 ± 6.35 ^①	-2.984	0.011
GA	48	85.86 ± 17.09	87.73 ± 13.20	-0.624	0.536	77.11 ± 20.76	90.94 ± 13.39 ^①	-3.706	0.001	79.00 ± 9.00	88.12 ± 6.51 ^①	-5.297	0.000
AA	59	88.72 ± 16.80	92.57 ± 11.77	-1.560	0.124	83.21 ± 20.62	95.33 ± 11.81 ^①	-3.942	0.000	81.35 ± 10.01	87.40 ± 6.75 ^①	-3.887	0.000
t/F/H值		0.836	2.770			1.266	1.485			1.043	1.204		
P值		0.436	0.067			0.286	0.231			0.356	0.304		

续表 2

基因型	n	PEF%pred		t 值	P 值	FEF50%pred		t 值	P 值	FEF75%pred		t 值	P 值
		治疗前	治疗后			治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
rs10157410													
GC	27	61.95 ± 22.87	67.16 ± 16.78	-0.878	0.388	53.43 ± 27.25	73.80 ± 20.10 ^①	-2.897	0.008	43.14 ± 26.17	75.74 ± 30.14 ^①	-3.839	0.001
GG	94	67.81 ± 18.59	70.83 ± 17.31	-1.242	0.217	62.71 ± 26.53	79.17 ± 18.19 ^①	-5.050	0.000	55.61 ± 29.59	80.58 ± 26.37 ^①	-6.133	0.000
t/F/H 值		-1.369	-0.980			-1.594	-1.320			-1.977	-0.814		
P 值		0.174	0.329			0.114	0.189			0.050	0.417		
rs10489409													
CC	8	66.85 ± 30.07	66.72 ± 14.65	0.011	0.992	66.69 ± 40.87	78.12 ± 14.15	-0.679	0.519	57.58 ± 39.36	77.34 ± 25.96	-1.038	0.334
CT	37	64.56 ± 18.97	72.34 ± 17.43	-1.803	0.080	59.55 ± 23.90	78.22 ± 18.16 ^①	-3.898	0.000	48.93 ± 26.72	80.35 ± 27.28 ^①	-4.818	0.000
TT	70	66.36 ± 18.76	69.74 ± 17.40	-1.232	0.222	60.58 ± 27.11	78.34 ± 19.56 ^①	-4.524	0.000	55.00 ± 30.05	81.07 ± 27.43 ^①	-5.406	0.000
t/F/H 值		0.113	0.468			0.228	0.001			0.596	0.069		
P 值		0.894	0.628			0.797	0.999			0.553	0.934		
rs932476													
GG	14	69.02 ± 19.82	64.22 ± 18.35	0.862	0.404	61.24 ± 33.18	76.52 ± 20.40	-1.493	0.159	60.44 ± 29.95	85.88 ± 30.67 ^①	-2.545	0.024
GA	48	64.24 ± 20.22	68.99 ± 16.75	-1.279	0.207	55.88 ± 23.14	75.87 ± 18.56 ^①	-4.522	0.000	47.61 ± 29.17	75.60 ± 26.04 ^①	-4.564	0.000
AA	59	67.74 ± 19.35	72.24 ± 17.16	-1.329	0.189	64.37 ± 27.90	80.02 ± 18.48 ^①	-3.616	0.001	55.26 ± 28.88	81.16 ± 27.30 ^①	-4.952	0.000
t/F/H 值		0.546	1.384			1.334	0.698			1.455	0.987		
P 值		0.581	0.255			0.267	0.500			0.238	0.376		

注: ①与治疗前比较, P<0.05; ②为非参数检验 H 值。

表 3 ABCC1 基因 rs215066 位点治疗前后肺功能指标比较 (n=121, $\bar{x} \pm s$)

组别	FVC%pred	FEV ₁ %pred	FEV ₁ /FVC	PEF%pred	FEF50%pred	FEF75%pred
治疗前	87.97 ± 16.88	80.77 ± 20.56	80.03 ± 10.02	66.50 ± 19.68	60.64 ± 26.86	52.83 ± 29.22
治疗后	89.89 ± 12.69	93.30 ± 13.23	88.04 ± 6.62	70.02 ± 17.19	77.97 ± 18.68	79.50 ± 27.20
t 值	-1.053	-5.625	-7.056	-1.529	-5.840	-7.246
P 值	0.295	0.000	0.000	0.129	0.000	0.000

2.2 PLA2G4、ABCC1 基因各位点不同基因型治疗前后炎症指标比较

PLA2G4 基因 rs10157410、rs10489409、rs932476 位点不同基因型间的炎症指标治疗前后比较, 差异均无统计学意义(P>0.05)。治疗前后 PLA2G4 基因 rs10489409 位点 CC 基因型的 EOS 比较, 差异无统计学意义(P>0.05), PLA2G4、ABCC1 基因各位点不同基因型的炎症指标比较, 差异均有统计学意义(P<0.05); 治疗后较治疗前改善。见表 4。

2.3 PLA2G4、ABCC1 基因各位点不同基因型的症状控制水平分级及 Logistic 回归分析

PLA2G4 基因 3 个位点的症状控制水平分级比

较结果显示, rs10157410 位点和 rs932476 位点基因型间的症状控制水平分级比较, 差异均有统计学意义(P<0.05); 其中 rs10157410 位点 GC 基因型良好控制比例明显高于 GG 基因型, 未控制显著低于 GG 基因型(P<0.05); rs932476 位点 GA 和 AA 基因型的良好控制比例与 GG 基因型比较, 差异有统计学意义(P<0.05)。ABCC1 基因 rs215066 位点只检测出 1 种基因型, 故未做基因型间的症状控制水平分级比较。见表 5。

以疗效(部分控制+未控制=0, 良好控制=1)为因变量, 以基因型为自变量进行 Logistic 回归分析。其中以主等位基因构成的纯合基因型为参照组,

表 4 PLA2G4、ABCC1 基因各位点不同基因型治疗前后炎症指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

基因型	n	EOS/%		t 值	P 值	IgE/(IU/mL)		t 值	P 值	FeNO/ppb		t 值	P 值
		治疗前	治疗后			治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
PLA2G4 rs10157410													
GC	27	5.43 ± 4.21	1.52 ± 1.63 ^①	4.948	0.000	275.03 ± 325.36	59.31 ± 22.94 ^①	3.376	0.002	29.93 ± 15.47	12.44 ± 4.35 ^①	5.577	0.000
GG	94	5.55 ± 6.06	1.95 ± 1.91 ^①	5.593	0.000	292.48 ± 578.42	58.91 ± 19.88 ^①	3.904	0.000	34.22 ± 17.20	13.23 ± 4.51 ^①	11.535	0.000
t/F/H 值		-0.100	-1.071			-0.150	0.088			-1.167	-0.807		
P 值		0.920	0.287			0.881	0.930			0.245	0.421		
PLA2G4 rs10489409													
CC	8	4.51 ± 3.50	1.55 ± 0.82	2.155	0.068	214.41 ± 147.71	59.04 ± 16.88 ^①	3.016	0.020	38.13 ± 21.25	10.25 ± 5.06 ^①	3.541	0.009
CT	37	6.26 ± 8.42	1.67 ± 1.61 ^①	3.252	0.002	224.91 ± 211.23	60.38 ± 22.44 ^①	4.682	0.000	32.32 ± 12.82	12.78 ± 4.49 ^①	8.397	0.000
TT	70	5.11 ± 3.76	1.96 ± 2.07 ^①	6.489	0.000	334.72 ± 676.17	57.98 ± 19.37 ^①	3.412	0.001	33.03 ± 18.56	13.29 ± 4.35 ^①	8.860	0.000
t/F/H 值		0.613	0.202 ^②			0.576	0.169			0.609 ^②	1.698		
P 值		0.543	0.904			0.564	0.845			0.737	0.188		
PLA2G4 rs932476													
GG	14	4.25 ± 2.67	2.20 ± 2.22 ^①	2.700	0.018	237.34 ± 238.01	48.91 ± 15.06 ^①	2.894	0.013	29.36 ± 20.04	11.57 ± 3.27 ^①	3.135	0.008
GA	48	5.02 ± 4.02	2.19 ± 2.13 ^①	4.637	0.000	407.55 ± 805.47	60.98 ± 23.70 ^①	2.969	0.005	32.26 ± 16.12	13.77 ± 4.57 ^①	8.098	0.000
AA	59	6.24 ± 7.14	1.50 ± 1.45 ^①	4.964	0.000	203.96 ± 161.15	59.79 ± 18.30 ^①	6.798	0.000	35.00 ± 16.73	12.83 ± 4.59 ^①	9.664	0.000
t/F/H 值		1.006	2.495 ^②			0.081 ^②	1.996			0.771	1.471		
P 值		0.369	0.287			0.960	0.140			0.465	0.234		
ABCC1 rs215066													
GG	121	5.53 ± 5.68	1.86 ± 1.86 ^①	6.778	0.000	288.58 ± 531.30	59.00 ± 20.50 ^①	4.733	0.000	33.26 ± 16.86	13.10 ± 4.47 ^①	12.816	0.000

注：①与治疗前比较, P<0.05; ②非参数检验 H 值。

表 5 PLA2G4、ABCC1 基因各位点不同基因型的症状控制水平分级比较 例

控制水平分级	PLA2G4 基因 rs10157410		PLA2G4 基因 rs10489409			PLA2G4 基因 rs932476			ABCC1 基因 rs215066
	GC	GG	CC	CT	TT	GG	GA	AA	GG
良好控制	21 [†]	36	2	20	30	1	21 [†]	35 [†]	57
部分控制	6	32	4	12	22	7	16	15	38
未控制	0 [†]	26	2	5	18	6	11	9	26
H 值		15.202		2.915			12.482		—
P 值		0.000		0.233			0.002		—

注：†与 GG 比较, P<0.05。

结果显示 rs10157410 位点 GC 基因型良好控制比例是 GG 基因型的 5.639 倍 [$\hat{OR} = 5.639$ (95% CI: 2.078, 15.298)], rs932476 位点 GG 基因型良好控制比例是 AA 基因型的 0.053 倍 [$\hat{OR} = 0.053$ (95% CI: 0.006, 0.430)]。故 rs10157410 位点 GC 基因型与

rs932476 位点 AA 基因型是孟鲁司特治疗良好控制的独立影响因素。ABCC1 基因 rs215066 位点只检测出 1 种基因型 (GG), 故未做基因型间症状控制水平分级的 Logistic 回归分析。见表 6。

表 6 PLA2G4 基因各位点不同基因型症状控制水平分级的 Logistic 回归分析参数

基因型	<i>b</i>	<i>S_b</i>	Wald χ^2	\hat{OR}	95% CI	
					下限	上限
PLA2G4rs10157410						
GC	1.730	0.509	11.538	5.639	2.078	15.298
GG	-0.477	0.212	5.052	0.621	1.001 [†]	
PLA2G4rs10489409						
CC	-0.811	0.851	0.907	0.444	0.084	2.358
CT	0.450	0.409	1.213	1.569	0.704	3.496
TT	-0.288	0.242	1.419	0.750	1.001 [†]	
PLA2G4rs932476						
GG	-2.942	1.071	7.546	0.053	0.006	0.430
GA	-0.629	0.394	2.551	0.533	0.247	1.153
AA	0.377	0.265	2.027	1.458	1.001 [†]	

注: †以该基因型为参考进行 Logistic 回归分析。

3 讨论

哮喘是儿童最为常见的慢性气道炎症性疾病, 治疗目标是有效控制哮喘症状, 维持正常的活动水平。迄今为止, 尚未发现根治哮喘的治疗方法, 频繁的发作和长期的药物治疗严重影响患儿的身心健康, 给患儿家庭带来了巨大的经济负担和精神压力^[11-12]。目前, 在治疗哮喘炎症和缓解气道痉挛方面的药物选择十分有限, 部分药物虽能够有效控制症状, 但疗效的个体差异性大。基因多态性影响药物靶分子或影响药物代谢从而导致个体对哮喘治疗的差异性, 故探寻基因多态性与药物疗效之间的关系具有十分重要的意义。

LTs 是一种能够引起支气管收缩的炎性介质, 通过增强炎症细胞反应、支气管收缩力、黏液分泌和气道重塑, 从而介导哮喘的发生^[13]。PLA2G4 基因能够编码磷脂酶 A₂, 水解膜磷脂, 释放花生四烯酸, 在 5-脂加氧酶氧化下生成 LTs 等炎性介质, 参与气道高反应性^[14-15]。因此推测, PLA2G4 基因可能与哮喘患儿的肺功能指标和炎症指标密切相关。孟鲁司特作为 FDA 批准的 LTRA, 与白三烯竞争受体, 从而阻断白三烯与受体的结合, 进而减轻炎症反应和气道高反应性^[16]。孟鲁司特具有良好的依从性和有效性, 在哮喘的治疗中广泛应用, 但受到个体差异的影响, 疗效不尽相同。故

本研究探讨了哮喘患儿 PLA2G4 基因 rs10157410、rs10489409 和 rs932476 位点突变对肺功能指标、炎症指标及症状控制水平的影响。结果显示与治疗前相比, rs10157410 位点 GC、GG 基因型的 FEV₁%pred、FEV₁/FVC、FEF50%pred、FEF75%pred 肺功能指标及 EOS%、IgE、FeNO 炎症指标均有显著改善, 提示孟鲁司特能有效缓解 GC、GG 基因型哮喘患儿的气道阻塞和气道炎症, 但在控制水平分级方面 GC 基因型良好控制比例明显高于 GG 基因型, 未控制显著低于 GG 基因型, 且 Logistic 回归分析提示 GC 基因型是患儿孟鲁司特治疗良好控制的独立影响因素, 故认为 GC 基因型对孟鲁司特具有更好的反应性。考虑可能与该基因位点编码的磷脂酶 A2 介导下产生的白三烯与受体的结合受到了抑制, 从而缓解了支气管收缩和气道炎症相关。TREMBLAY 等^[17]研究了长链 n-3 脂肪酸和 PLA2G4 基因 rs10157410 位点的交互作用, 发现补充长链 n-3 脂肪酸可导致花生四烯酸减少, 从而影响 LTs 等炎性介质的产生, 与本研究结果一致, 国内未发现该位点与哮喘的相关研究。JONG 等^[18]通过全基因组关联分析发现 PLA2G4 基因 rs932476 位点能够激活 p38MAPK 通路进而影响肺功能。此外, 郭青等^[14]研究表明孟鲁司特对该位点 AA 型患儿炎症反应的控制及肺功能的改善均优于 GG 型, 提示该位点多态

性可能对孟鲁司特的疗效有一定的影响。本研究结果证实rs932476位点GA、AA基因型的FEV₁%pred、FEV₁/FVC、FEF50%pred、FEF75%pred肺功能指标及EOS%、IgE、FeNO炎症指标相比治疗前改善明显，GA和AA基因型良好控制比例显著高于GG基因型，Logistic回归分析提示AA基因型是患儿孟鲁司特治疗良好控制的独立影响因素，综上所述说明rs932476位点AA基因型对孟鲁司特疗效更加显著。

ABCC1基因编码的MRP1利用ATP水解的能量实现底物在细胞内外的跨膜转运，在LTs转运中具有重要作用，因此推测ABCC1基因可能与孟鲁司特疗效相关。目前国外关于该基因与孟鲁司特疗效关系的研究较少，国内尚未发现ABCC1基因与儿童哮喘的相关研究。在一项由577例美国哮喘患者参加的关于孟鲁司特疗效相关基因的SNPs与5-脂加氧酶抑制剂关系的研究中检测出ABCC1基因rs215066位点有GG、GA和AA3种基因型^[19]。本研究受试儿童中只检测出一种GG基因型，基因型分布与国外分布不同，考虑与样本量较少和人种差异相关。国外研究表明哮喘患者经孟鲁司特治疗后，ABCC1基因rs215066位点的FEV₁%pred指标较治疗前显著升高^[20]。本研究表明治疗后ABCC1基因rs215066位点GG基因型的FEV₁%pred、FEV₁/FVC、FEF50%pred、FEF75%pred肺功能指标和炎症指标均显著改善，提示孟鲁司特对GG基因型炎症反应的控制及肺功能改善有一定作用。

综上所述，PLA2G4基因及ABCC1基因多态性与孟鲁司特疗效有关。其中，PLA2G4基因rs10157410位点GC基因型和rs932476位点AA基因型对孟鲁司特疗效具有更好的敏感性，为基因检测指导下的个体化治疗提供参考依据。本研究存在样本量不足及人种、地域单一的问题，未来仍需要大规模、多中心的联合研究。

参 考 文 献：

- [1] 全国儿科哮喘协作组. 全国90万0~14岁儿童中支气管哮喘患病情况调查[J]. 中华结核病学杂志, 1993, 16(增1): 64-68.
- [2] 全国儿童哮喘防治协作组. 中国城区儿童哮喘患病率调查[J]. 中华儿科杂志, 2003, 41(2): 123-127.
- [3] 全国儿科哮喘协作组, 中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所. 第三次中国城市儿童哮喘流行病学调查[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(10): 729-735.
- [4] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, «中华儿科杂志»编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(3): 167-181.
- [5] DEVONSHIRE A L, KUMAR R. Pediatric asthma: principles and treatment[J]. Allergy Asthma Proc, 2019, 40(6): 389-392.
- [6] TENERO L, PIAZZA M, SANDRI M, et al. Effect of montelukast on markers of airway remodeling in children with asthma[J]. Allergy Asthma Proc, 2016, 37(5): 77-83.
- [7] 袁姝华, 殷勇, 董文芳, 等. 哮喘儿童白三烯受体调节剂临床疗效与白三烯C4合成酶及5-脂氧化酶基因的相关性[J]. 临床儿科杂志, 2014(12): 1126-1131.
- [8] TAN T L, GOH Y Y. The role of group IIA secretory phospholipase A2 (sPLA2-IIA) as a biomarker for the diagnosis of sepsis and bacterial infection in adults—a systematic review[J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0180554.
- [9] BRUCKMUELLER H, CASCORBI I. ABCB1, ABCG2, ABCC1, ABCC2, and ABCC3 drug transporter polymorphisms and their impact on drug bioavailability: what is our current understanding[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2021, 17(4): 369-396.
- [10] 中华医学会儿科学分会呼吸学组肺功能协作组, «中华实用儿科临床杂志»编辑委员会. 儿童肺功能及气道非创伤性炎症指标系列指南(七): 呼出气体一氧化氮监测[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2017, 32(21): 1622-1627.
- [11] REGE S, KAVATI A, ORTIZ B, et al. Documentation of asthma control and severity in pediatrics: analysis of national office-based visits[J]. J Asthma, 2020, 57(2): 205-216.
- [12] 张静, 殷勇. 儿童哮喘家庭教育现状[J]. 中国实用儿科杂志, 2020, 35(3): 237-241.
- [13] KANAOKA Y, AUSTEN K F. Roles of cysteinyl leukotrienes and their receptors in immune cell-related functions[J]. Adv Immunol, 2019, 142: 65-84.
- [14] 郭青, 沈照波, 孙晓敏, 等. 胞浆型磷脂酶A2多态性与儿童支气管哮喘发生及孟鲁司特疗效的相关性[J]. 中国当代儿科杂志, 2019, 21(2): 155-160.
- [15] YANG Y, WANG W F, LI Y H, et al. Sevoflurane attenuates ventilator-induced lung injury by regulating c-PLA2 expression[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(3): 2923-2928.
- [16] AL-AZZAM N, ELSALEM L. Leukotriene D₄ role in allergic asthma pathogenesis from cellular and therapeutic perspectives[J]. Life Sci, 2020, 260: 118452.
- [17] TREMBLAY B L, RUDKOWSKA I, COUTURE P, et al. Modulation of C-reactive protein and plasma omega-6 fatty acid levels by phospholipase A2 gene polymorphisms following a 6-week supplementation with fish oil[J]. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids, 2015, 102-103: 37-45.

- [18] de JONG K, VONK J M, IMBODEN M, et al. Genes and pathways underlying susceptibility to impaired lung function in the context of environmental tobacco smoke exposure[J]. *Respir Res*, 2017, 18(1): 142.
- [19] TANTISIRA K G, LIMA J, SYLVIA J, et al. 5-lipoxygenase pharmacogenetics in asthma: overlap with cys-leukotriene receptor antagonist loci[J]. *PharmacogenetGenomics*, 2009, 19(3): 244-247.
- [20] GARCÍA-MENAYA J M, CORDOBÉS-DURÁN C, GARCÍA-MARTÍN E, et al. Pharmacogenetic factors affecting asthma

treatment response. potential implications for drug therapy[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 520.

(张西倩 编辑)

本文引用格式: 任梦洋, 魏兵, 李令雪, 等. PLA2G4 和 ABCC1 基因多态性与支气管哮喘患儿孟鲁司特疗效的研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(23): 1-9.

Cite this article as: REN M Y, WEI B, LI L X, et al. Study on the polymorphisms of PLA2G4 and ABCC1 genes and the efficacy of montelukast in children with bronchial asthma[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(23): 1-9.