

文章编号:1673-5501(2008)06-0438-06

## *P2X<sub>7</sub>* 基因多态性与中国汉族儿童结核病易感性的研究

孙琳 肖婧 焦伟伟 李兆娜 赵顺英 李惠民 焦安夏 郭雅洁 江载芳 申阿东

**摘要** **目的** 探讨中国汉族儿童 *P2X<sub>7</sub>* 基因多态性与结核病易感性相关关系,以探讨 *P2X<sub>7</sub>* 基因在儿童结核病发病中的作用。**方法** 病例组为 2005 年 1 月至 2008 年 9 月首都医科大学附属北京儿童医院收治的汉族结核病患儿;对照组为同期在儿外科行手术前体检的患儿。按照年龄等与病例组 3:1 进行匹配。扩增基因组 DNA *P2X<sub>7</sub>* 基因,应用限制性酶切片段长度多态性(PCR-RFLP)分析方法和碱基特异性 PCR 方法,分别对 *P2X<sub>7</sub>* 基因 1513 和 -762 位点多态性与儿童结核病易感性进行相关分析。**结果** 病例组纳入 96 例,平均年龄(5.5 ± 4.5)岁;对照组纳入 384 例,平均年龄(5.9 ± 4.0)岁。*P2X<sub>7</sub>* 基因 1513 位点 A/C 和 C/C 基因型分布,病例组(38.5%和 8.3%)较对照组(31.0%和 11.5%)比率增高,但差异无统计学意义( $\chi^2 = 2.306, P = 0.316$ );1513C 在病例组和对照组分布频率分别为 27.6%和 27.0%,差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.033, P = 0.856$ )。-762 位点 C/C 基因型在整体人群中的分布频率为 56.5%, -762C 在病例组和对照组中的分布频率分别为 77.4%和 71.7%,对照组和病例组各基因频率或基因型频率差异无统计学意义( $\chi^2 = 4.742, P = 0.093$ )。上述基因型和等位基因频率在肺结核亚组和肺外结核病亚组差异均无统计学意义。**结论** 宿主 *P2X<sub>7</sub>* 基因 1513 位点 A/C 和 -762 位点 T/C 的转换可能与中国汉族儿童结核病易感性无相关性。因此,*P2X<sub>7</sub>* 基因多态性与结核病发病以及是否为结核病易感性的影响因素有待进一步验证。

**关键词** *P2X<sub>7</sub>* 受体基因; 儿童结核病; 易感性; 汉族

### *Association of polymorphisms in the P2X<sub>7</sub> gene with tuberculosis in Chinese Han children*

SUN Lin, XIAO Jing, JIAO Wei-wei, LI Zhao-na, ZHAO Shun-ying, LI Hui-min, JIAO An-xia, GUO Ya-jie, JIANG Zai-fang, SHEN A-dong (Beijing Children's Hospital affiliated to Capital Medical University, Beijing 100045, China)

**Corresponding Author:** SHEN A-dong, E-mail: shenad@sohu.com

**Abstract** **Objective** To explore the association of *P2X<sub>7</sub>* gene polymorphisms with the susceptibility to pediatric tuberculosis in Chinese Han. **Methods** Genomic DNA was extracted from peripheral blood by EDTA anticoagulation, using a standard salting-out procedure. The concentration and purity of DNA were estimated spectrophotometrically. The 1513A/C polymorphism was detected via RFLP, by using the restriction enzyme HaeII. The polymorphism at position -762 in the promoter of the *P2X<sub>7</sub>* gene was studied by allele-specific PCR. Products were run on 1.5% agarose gel stained with ethidium bromide, whereupon it was visualized using an UV transilluminator. Statistical analyses were carried out using SPSS software, version 11.5 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). The Hardy-Weinberg equilibrium (HWE), which indicated the absence of discrepancy between genotype and allele frequency, was determined for both control subjects and patients. Overall genotype frequencies in each patient group were compared using a 3 × 2  $\chi^2$  test, and a 2 × 2  $\chi^2$  test was also used to detect any significant difference between the two groups in terms of allele frequency. Patient and clinical information was collected from patient files, and all participating subjects and parents gave written, informed consent. **Results** From Jan, 2005 to Sep, 2008, ninety-six cases of pediatric tuberculosis admitted to Beijing Children's Hospital were identified by clinical manifestation, culture and X-ray results, and by other means, including forty-one active pulmonary tuberculosis and fifty-five extrapulmonary tuberculosis. Three hundred and eighty four children, who were inpatients children for physical examination in surgery department, were collected as controls. The mean age was 5.5 years old (SD: 4.5; range: three months-15 years old) for patients and 5.9 years old (SD: 4.0; range: three months-16 years old) for control subjects. All controls were matched with tuberculosis patients by age, sex, and area. Members of both patient

**基金项目** 国家自然科学基金资助项目:30672258

**作者单位** 首都医科大学附属北京儿童医院 北京,100045

**通讯作者** 申阿东, E-mail: shenad@sohu.com

and control groups were of Chinese Han ancestry. The genotypic and allelic frequencies of two different SNPs of the *P2X<sub>7</sub>* gene were analyzed. The frequencies of the alleles were found in HWE. The frequency of A/C and C/C genotype at the 1513 site was higher in tuberculosis patients (38.5% and 8.3%) than in controls (31.0% and 11.5%), but no statistical difference was obtained ( $\chi^2 = 2.306, P = 0.316$ ). Similarly, the frequency of 1513C in tuberculosis patients and controls (27.6% and 27%) had no statistical difference ( $\chi^2 = 0.033, P = 0.856$ ). The frequency of C/C genotype at the -762 site was high in all the subjects enrolled (56.4%), while the frequencies of -762 C in tuberculosis patients and controls were 77.4% and 71.7%, no statistical difference was obtained ( $\chi^2 = 22.670, P = 0.102$ ). There were no significant associations between each of the genotypic or allelic distributions and pulmonary or extrapulmonary TB. **Conclusions** The 1513 and -762 polymorphisms in human *P2X<sub>7</sub>* gene had no association with pediatric tuberculosis in China. Although the mechanism of protection or pathogenicity by these genotypes had not been fully elucidated, we considered these apparently discrepant results to be of interest. Individual SNP within genes varied markedly among different racial groups, the number of subjects enrolled was different, the *P2X<sub>7</sub>* receptor gene was not the major gene to produce a marked effect. Thus, further studies are needed to clarify whether the polymorphisms in *P2X<sub>7</sub>* gene is associated with tuberculosis or susceptible to tuberculosis.

**Key words** *P2X<sub>7</sub>* receptor gene; Pediatric tuberculosis; Susceptibility; The Han nationality

由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 引起的结核病是当今世界上最普遍的人类传染病之一。据 WHO 估算, 全球约有 1/3 的人口感染了 MTB<sup>[1]</sup>, 其中 5% ~ 10% 会发展为活动性结核病<sup>[2]</sup>, 提示结核病的发生、发展和临床结局, 不仅受病原体的毒力和环境因素的控制, 而且受到宿主遗传基因及其多态性的影响。近年报道<sup>[3-7]</sup> 与结核病易感性相关的基因包括人类白细胞抗原 (HLA) 基因和非 HLA 基因, 后者又包括 *P2X<sub>7</sub>* 受体 (*P2X<sub>7</sub> receptor*, *P2X<sub>7</sub>*) 基因、人类自然抵抗相关巨噬细胞蛋白 1 (natural resistant-associated macrophage protein 1, NRAMP1) 基因、维生素 D 受体 (vitamin D receptor, VDR) 基因、甘露糖结合植物凝集素 (mannose binding lectin, MBL) 基因和干扰素  $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 基因等。

近年来有关 *P2X<sub>7</sub>* 基因多态性在结核病发生和发展中的作用备受国外学者的重视, 相关研究主要集中于英国、美国、澳大利亚和俄罗斯等国<sup>[8-11]</sup>, 而国内尚未有相关研究报道。目前研究报道与结核病易感性相关的 *P2X<sub>7</sub>* 基因多态性位点主要有 4 个, 分别为位于其启动子区的 -762T/C、位于 13 外显子的 1513A/C (E496A)、1729T/C (I568N) 和 946G/A (R307Q)。国外研究报道最多的是 -762T/C、1513A/C 位点与结核病易感性相关。但由于结核病宿主易感基因在不同种族和人群中的基因多态性不尽相同<sup>[7,12]</sup>, 其不同国家和地区的研究结果存在一定的差异。在冈比亚人群中<sup>[8]</sup>, 1513C 基因频率为 7.6%, 而在澳大利亚高加索人种<sup>[11]</sup> 和澳籍越南人群<sup>[13]</sup> 中则分别为 17.2% 和 25%。结果提示, 1513C 可能是澳大利亚高加索人种和澳籍越南人群结核病发生的易感基因。同样在冈比亚人群研究中, 健康对照组和结核组 -762C 的基因频率分别为 32.9% 和 25.4%。然而, 对俄罗斯高加索人种<sup>[10]</sup> 的研究发现, -762C 基因频率分布在健康对照组和结核组相似为 69.3% 和 51.2%。

本研究选取 *P2X<sub>7</sub>* 基因的 -762T/C 和 1513A/C 位点进行行分析, 探讨 *P2X<sub>7</sub>* 基因多态性与汉族儿童结核病易感性的相关性, 试图明确 *P2X<sub>7</sub>* 基因在儿童结核病发病中所起的作用, 为结核病患病风险提供遗传背景依据, 为结核病的防治提供新思路。

## 1 方法

**1.1 儿童结核病诊断及纳入标准 (病例组)** 病原学检测是结核病诊断的金标准, 但由于结核病患儿的细菌载量低, 儿童咳嗽反射和气管纤毛运动能力差, 且常合并肺外结核, 痰标本不易获取, 因此病原学检测阳性率常低于 20%。目前结核病诊断标准<sup>[14,15]</sup> 可分为确诊病例和临床诊断病例。鉴于本研究病例为首都医科大学附属北京儿童医院收治的结核病患儿, 均为外院病原学检测阴性患儿或为不排痰的无传染性的患儿, 因此, 具有典型的临床症状和影像学证据, 同时存在病原学检测或组织病理学检测阳性者, 即为确诊病例; 具有典型的临床症状和影像学证据, 同时具有 ① 活动性结核病接触史; ② 结核菌素试验阳性; ③ 抗结核治疗有效; ④ 排除其他肺部疾病 4 项中任意 2 项者, 即为临床诊断病例。根据结核部位分为肺结核病亚组和肺外结核亚组。

**1.2 对照组纳入标准** 按照年龄等与病例组按例数 3:1 例数进行匹配。① 选取首都医科大学附属北京儿童医院门诊行外科手术前查体儿童; ② 无结核病接触史; ③ X 线胸片检查未见异常, PPD 硬结 < 10 mm (如有卡瘢者, PPD 硬结反应平均 < 10 mm; 如无卡瘢、无 BCG 接种史者 PPD 硬结反应平均 < 5 mm)。

**1.3 病例组和对照组的共同排除标准** ① 患有其他感染性疾病、自身免疫性疾病和内分泌系统疾病; ② 使用肾上腺皮质激素及其他免疫抑制剂; ③ HIV 感染等其他重大疾病。

**1.4 知情同意** 本研究取得了首都医科大学附属北京儿

童医院伦理委员会的批准,患儿或其监护人了解了本研究的目的并同意参与本研究。

1.5 实验室检查

1.5.1 血标本采集 抽取纳入对象的外周静脉血 2 mL, EDTA 抗凝, -20℃ 保存。

1.5.2 基因 DNA 提取 采用改进的 Miller 盐析法进行基因组 DNA 提取,溶于 TE 溶液,所提取 DNA 浓度用分光光度计测量后,于 -20℃ 冻存。

1.5.3 *P2X<sub>7</sub>* 基因多态性分析

1.5.3.1 *P2X<sub>7</sub>* 基因 1513A/C 位点多态性分析 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)的方法进行检测,引物设计参考文献 [16]:

上游引物为:5'-AGACCTGCGATGGACTTCACAG-3'

下游引物为:5'-GCCAGGTGGCGTAGCACCTG-3'。

PCR 扩增条件为:95℃ 预变性 3 min,94.5℃ 45 s,65℃ 1 min,72℃ 30 s,共 3 个循环;94℃ 50 s,64℃ 45 s,72℃ 30 s,共 3 个循环;94℃ 45 s,63℃ 40 s,72℃ 30 s,共 30 个循环;72℃ 延伸 4 min。扩增片段长度为 316 bp,以限制性内切酶 Hae II (Promega,美国)37℃ 酶切 3 h 后产物 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,判断基因型。

1.5.3.2 *P2X<sub>7</sub>* 基因 -762T/C 位点多态性分析 采用碱基特异性 PCR 方法进行检测,引物设计参考文献 [10]。

外引物分别为:

*P2X<sub>7</sub>*3: 上游:5'-GAAACAGGGCCCTGGCTCCTC-3'

*P2X<sub>7</sub>*4: 下游:5'-TGCTGGGGTGGAGGGGC-3'

内引物分别为:

*P2X<sub>7</sub>*5: 上游:5'-GGTGTCCCTCACTGAATAGGTCAAT-3'

*P2X<sub>7</sub>*6: 下游:5'-GGCAGTCCAACAAAGTTAGGTITG-3'。

PCR 扩增条件为 95℃ 预变性 5 min,94℃ 20 s,65℃ 30 s,72℃ 30 s,共 10 个循环;94℃ 20 s,63℃ 30 s,72℃ 30 s,共 30 个循环;72℃ 延伸 10 min。扩增产物于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,其结果直接进行基因型判定。

1.6 *P2X<sub>7</sub>* 基因多态性分析预试验结果解释

在进行本研究 *P2X<sub>7</sub>* 基因位点检测前,依据对照组纳入和排除标准选取病例行 *P2X<sub>7</sub>* 基因多态性分析预试验,从中选取与参考文献 [11,16] 比对相同的 *P2X<sub>7</sub>* 不同多态位点 PCR 及酶切后电泳图(图 1)。图 1A 所示,*P2X<sub>7</sub>* 基因 1513 位点为 A/A 时,无酶切位点存在,限制性内切酶 Hae II 酶切后仍为 316 bp 片段,命名为 A/A 基因型;位点为 C/C 时,酶切后产生 199 和 120 bp 2 个片段,命名为 C/C 基因型;位点为 A/C 时,酶切后为 316、199 和 120 bp 3 个片段,命名为 A/C 基因型。如图 1B 所示,*P2X<sub>7</sub>* 基因 -762 位点为 C/C 时,PCR 产物为 373 和 235 bp,命名为 C/C 基因型;该位点为 T/T 时,PCR 产物为 373 和 186 bp,命名为 T/T 基因型;该位点为 T/C 时,PCR 产物为 373、235 和 186 bp 3 个片段,命名为 T/C 基因型。

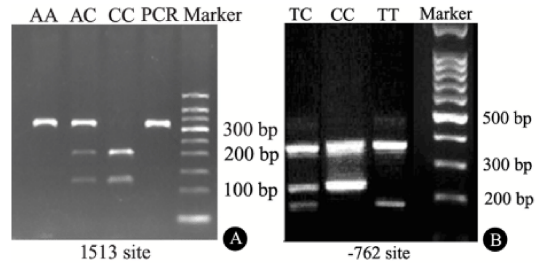


图 1 *P2X<sub>7</sub>* 不同多态位点 PCR 及酶切后电泳图  
Fig 1 Gel electrophoresis of the PCR products and their restriction fragments of different *P2X<sub>7</sub>* polymorphic sites

Notes: PCR products of the two polymorphic sites were consistent with expectancy, genotypes were confirmed by gel electrophoresis after digestion with restriction enzyme.

1.7 统计学方法 采用 SPSS 11.5 软件进行统计分析,计算病例组和对照组基因型和等位基因频率,进行  $\chi^2$  检验,并进行 Hardy-Weinberg 平衡检测。

2 结果

2.1 一般资料

2.1.1 病例组 2005 年 1 月至 2008 年 9 月收治的结核病患者 96 例,男 53 例,女 43 例,平均年龄为 (5.5 ± 4.5) 岁。组织病理学检测阳性 10 例 (10.4%), 为确诊结核病患者。结合临床症状、影像学检查、病史和 PPD 反应临床诊断结核病患者 86 例 (89.6%) 为临床诊断病例。24 例 (25.0) 具有典型的发热、盗汗、纳差和消瘦等结核中毒症状,34 例 (35.4%) 影像学检查显示有典型结核病表现,57 例 (59.4%) 有结核病密切接触史,35 例 (36.5%) 有 BCG 接种史,70 例 (72.9%) PPD 反应硬结 ≥ 10 mm。活动性肺结核病亚组 41 例;肺外结核病亚组 55 例,其中结核性脑膜炎 34 例、结核性胸膜炎 5 例、结核性腹膜炎 4 例、全身播散性结核病 8 例、骨结核 2 例、结核性心包炎 1 例和右腋窝淋巴结结核 1 例。

2.1.2 对照组 为同期在北京儿童医院门诊行外科手术前查体儿童,共 384 例,男 226 例,女 158 例。平均年龄为 (5.9 ± 4.0) 岁,主要疾病为疝气、牙齿校正和舌系带短等外科手术病例。

2.2 基因型频率及基因频率 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验 经 Hardy-Weinberg 平衡检测两组均符合遗传平衡 (HWE  $P$ : *P2X<sub>7</sub>* 1513 位点为 0.296 和 0.989, *P2X<sub>7</sub>* -762 位点为 0.597 和 0.101, 均 > 0.05), 表明两组样本来自于遗传平衡群体, 有较好的可比性。

2.3 *P2X<sub>7</sub>* 基因多态性与儿童结核病的相关性分析

2.3.1 *P2X<sub>7</sub>* 基因 1513 位点分析 病例组 96 例患儿 1513 位点 A/A、A/C 和 C/C 基因型分别有 51 例 (53.1%), 37 例

(38.5%)和8例(8.3%)。对照组384例1513位点A/A、A/C和C/C基因型分别有221例(57.6%)、119例(31.0%)和44例(11.4%)。两组差异无统计学意义( $\chi^2=2.306, P=0.316$ ) (表1)。

病例组1513位点A、C等位基因频率分别有139频次(72.4%)和53频次(27.6%)，对照组1513位点A、C等位基因频率分别有561频次(73.0%)、207频次(27.0%)；两组差异无统计学意义( $\chi^2=0.033, P=0.856$ )。上述基因型和等位基因频率在肺结核病亚组和肺外结核亚组差异也均无统计学意义(表2)。

表1 病例组和对照组  $P2X_7$  1513 位点基因型分布[ n(%) ]

Tab 1 Frequency of genotype of  $P2X_7$  1513 site in tuberculosis patients and controls[ n(%) ]

Subjects	Subjects			P
	AA	AC	CC	
Control (n=384)	221 (57.6)	119 (31.0)	44 (11.4)	
Patients (n=96)	51 (53.1)	37 (38.5)	8 (8.3)	0.316
Pulmonary TB (n=41)	21 (51.2)	18 (43.9)	2 (4.9)	0.160
Extrapulmonary TB (n=55)	30 (54.5)	19 (34.5)	6 (10.9)	0.868

表2 病例组和对照组  $P2X_7$  1513 位点等位基因频率分布[ 频次(%) ]

Tab 2 Frequency of allele of  $P2X_7$  1513 site in tuberculosis patients and controls[ frequency(%) ]

Subjects	Allele		P	HWE (P) <sup>1)</sup>
	A	C		
Control (frequency = 768)	561 (73.0)	207 (27.0)		0.296
Patients (frequency = 192)	139 (72.4)	53 (27.6)	0.856	0.989
Pulmonary TB (frequency = 82)	60 (73.2)	22 (26.8)	0.981	
Extrapulmonary TB (frequency = 110)	79 (71.8)	31 (28.2)	0.786	

Notes:1)HWE (P) was the significance of correspondence to the Hardy-Weinberg proportions according to Person's  $\chi^2$  test

2.3.2  $P2X_7$  基因 - 762 位点分析 病例组有3例基因DNA提取失败。病例组-762位点T/T、T/C和C/C基因型分别有10例(10.8%)、22例(23.7%)和61例(65.6%)。对照组T/T、T/C和C/C基因型分别有41例(10.7%)、135例(35.2%)和208例(54.2%)。两组差异无统计学意义( $\chi^2=4.742, P=0.093$ ) (表3)。

病例组-762位点T、C等位基因频率各有42频次

(22.6%)、144频次(77.4%)，对照组-762位点T和C等位基因频率分别有217频次(28.3%)和551频次(71.7%)；两组差异无统计学意义( $\chi^2=2.670, P=0.102$ )。上述基因型和等位基因频率在肺结核病亚组和肺外结核亚组也均无统计学差异(表3,4)。

表3 病例组和对照组  $P2X_7$  -762 位点基因型分布[ n(%) ]

Tab 3 Frequency of genotype of  $P2X_7$  -762 site in tuberculosis patients and controls[ n(%) ]

Subjects	Subjects			P
	TT	TC	CC	
Control (n=384)	41 (10.7)	135 (35.2)	208 (54.2)	
Patients (n=93)	10 (10.8)	22 (23.7)	63 (61.6)	0.093
Pulmonary TB <sup>1)</sup> (n=38)	4 (10.5)	11 (28.9)	23 (60.5)	0.726
Extrapulmonary TB (n=55)	6 (10.9)	11 (20.0)	38 (69.1)	0.076

Notes:1)Failure of DNA extraction in 3 cases and genotyping was not performed

表4 病例组和对照组  $P2X_7$  -762 位点等位基因频率分布[ 频次(%) ]

Tab 4 Frequency of allele of  $P2X_7$  -762 site in tuberculosis patients and controls[ frequency(%) ]

Subjects	Allele		P	HWE (P) <sup>1)</sup>
	T	C		
Control (frequency = 768)	217 (28.2)	551 (71.7)		0.597
Patients (frequency = 186)	42 (22.6)	144 (77.4)	0.118	0.101
Pulmonary TB <sup>2)</sup> (frequency = 76)	19 (25.0)	57 (75.0)	0.546	
Extrapulmonary TB (frequency = 110)	23 (20.9)	87 (79.1)	0.106	

Notes:1)HWE (P) was the significance of correspondence to the Hardy-Weinberg proportions according to Person's  $\chi^2$  test;2)Failure of DNA extraction in 3 cases and genotyping was not performed

### 3 讨论

结核病的发病是一个多因素综合作用的结果,除致病菌及环境因素影响结核病的发生以外,宿主的易感基因多态性对结核病的发生和发展也起着重要的作用。 $P2X_7$  基因位于人12号染色体,有13个外显子,编码595个氨基酸,组成选择性离子通道型嘌呤能受体( $P2X_7$ 受体)。 $P2X_7$  受体广泛表达于人和小鼠的巨噬细胞表面<sup>[17]</sup>,具有两个跨膜结构,能够与ATP结合,诱导免疫细胞凋亡<sup>[18~20]</sup>,参与宿主巨噬细胞识别并吞噬胞内MTB的免疫调控机制。

$P2X_7$  基因的单核苷酸多态性常引起  $P2X_7$  受体功能异常<sup>[21~24]</sup>。 $P2X_7$  基因外显子 13 编码蛋白质的羧基末端,该外显子 1513A/C 单核苷酸多态性可以导致  $P2X_7$  受体功能明显改变,其杂合性改变可使  $P2X_7$  受体功能下降 50% ,而纯合性改变可使其功能完全丧失<sup>[25,26]</sup>。此外,在第一外显子上游也存在若干个多态性位点,有研究者推测第 762 位 T/C 转换,可能下调序列上某些转录因子的结合位点的功能,包括 CCAAT 增强子结合蛋白和 GATA 结合因子等,从而  $P2X_7$  受体功能下降。上述基因型的保护性或病原性机制可能为  $P2X_7$  受体功能下降所致,包括  $P2X_7$  受体与 ATP 结合障碍,吞噬体和溶 MTB 生长和播散的能力下降,从而导致结核病发病。有研究<sup>[27]</sup>发现,机体巨噬细胞对 ATP 的反应存在差异,表明遗传异质性会影响宿主  $P2X_7$  的表达或信号转导功能。人群中约 10% 的机体巨噬细胞存在对 ATP 应答的减弱或无反应,该比率接近于机体感染 MTB 后结核病发病的百分率(5% ~ 10%)<sup>[8]</sup>。上述研究提示, $P2X_7$  功能异常与宿主结核病易感性之间可能存在相关性。

本研究发现,病例组 1513C 较对照组比率增高,携带者患结核病的风险升高,但无统计学意义。-762C 在整个人群中的分布频率很高,对照组和病例组各基因频率或基因型频率差异无统计学意义。这一研究结果与澳大利亚和俄罗斯等国家的研究结果相近<sup>[10,11,16]</sup>,但与英国等研究结果相反<sup>[8]</sup>。目前各国的研究结果存在差异, $P2X_7$  基因多态性与结核病发病以及是否为结核易感性的影响因素有待进一步验证。

分析  $P2X_7$  基因多态性与结核病易感性的相关性研究结果不尽相同,原因可能由以下几点:①以病例-对照为基础的疾病易感性相关分析(case-control association analysis),是基于遗传背景相对单一的群体中进行的,但由于各国的研究所选取的研究对象的种族和民族不同,而疾病的易感性在种族和民族间存在一定的差异,从而得到不同的结果;②大样本量是疾病易感性相关分析的另一关键要素,因此不同国家和地区的研究所选取的样本量不同,在一定程度上也会造成结果偏倚,而使研究结果受到影响;③结核病的发病是有多个基因共同调控作用的结果,可能  $P2X_7$  基因的调控作用不占主要地位,或者其生物学功能被其他基因所补充。

总之, $P2X_7$  基因多态性在结核病发病中的作用目前尚不能定论,需在今后的工作中进一步扩大样本量来确定  $P2X_7$  基因多态性在结核病发病中的作用。

本研究的不足之处:本研究仅进行了  $P2X_7$  基因的 2 个常见位点 1513A/C 和 -762T/C 的筛查,未能继续进行其余全部外显子区序列的分析,有可能导致有些并不常见的突变类型的漏检。仅检出单个突变患儿的意义尚需进一步研究。尽管在对照组的选取中尽可能扩大了样本量达到 3:1 的比例,但结核病患儿的样本量还有待进一步扩大,从

而减小样本量引起的误差。

### 参考文献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis control: surveillance, planning, financing [WHO report]. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2007
- [2] Bellamy R. Susceptibility to mycobacterial infections: the importance of host genetics. *Genes Immun*, 2003, 4(1):4-11
- [3] Liu W, Cao WC, Zhang CY, et al. VDR and NRAMP1 gene polymorphisms in susceptibility to pulmonary tuberculosis among the Chinese Han population: a case-control study. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2004, 8(4):428-434
- [4] Chen XR(陈雪融), Feng YL, Tang XY, et al. The relevance of vitamin D receptor gene polymorphisms to bacteriological yields in Chinese Tibetan patients with pulmonary tuberculosis. *Chinese Journal of Respiratory and Critical Care Medicine(中国呼吸与危重监护杂志)*, 2006, 5(11):42-45
- [5] Liu W, Zhang F, Xin ZT, et al. Sequence variations in the MBL gene and their relationship to pulmonary tuberculosis in the Chinese Han population. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2006, 10(10):1098-1103
- [6] Ates O, Musellim B, Ongen G, et al. Interleukin-10 and tumor necrosis factor-alpha gene polymorphisms in tuberculosis. *J Clin Immunol*, 2008, 28(3):232-236
- [7] Pacheco AG, Cardoso CC, Moraes MO. IFNG +874T/A, IL10 -1082G/A and TNF -308G/A polymorphisms in association with tuberculosis susceptibility: a meta-analysis study. *Hum Genet*, 2008, 123(5):477-484
- [8] Li CM, Campbell SJ, Kumararatne DS, et al. Association of a polymorphism in the P2X7 gene with tuberculosis in a Gambian population. *J Infect Dis*, 2002, 186(10):1458-1462
- [9] Kusner DJ, Barton JA. ATP stimulates human macrophages to kill intracellular virulent mycobacterium tuberculosis via calcium-dependent phagosome-lysosome fusion. *J Immunol*, 2001, 167(6):3308-3315
- [10] Mokrousov I, Sapozhnikova N, Narvskaya O. Mycobacterium tuberculosis co-existence with humans: making an imprint on the macrophage P2X(7) receptor gene? *J Med Microbiol*, 2008, 57(Pt 5):581-584
- [11] Fernando SL, Saunders BM, Slutyer R, et al. A polymorphism in the P2X7 gene increases susceptibility to extrapulmonary tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 175(4):360-366
- [12] Wiley JS, Dao-Ung LP, Li C, et al. An Ile-568 to Asn polymorphism prevents normal trafficking and function of the human P2X7 receptor. *J Biol Chem*, 2003, 278(19):17108-17113
- [13] Lee KH, Park SS, Kim I, et al. P2X7 receptor polymorphism and clinical outcomes in HLA-matched sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Haematologica*, 2007, 92(5):651-657

- [ 14 ]Diagnostic Standards and Classification of Tuberculosis in Adults and Children. This official statement of the American Thoracic Society and the Centers for Disease Control and Prevention was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This statement was endorsed by the Council of the Infectious Disease Society of America, September 1999. *Am J Res Crit Med J*, 2000, 161 ( 4 Pt 1 ):1376-1395
- [ 15 ]Pediatric Chapter of Chinese Medical Association. Clinical diagnostic criteria and therapeutic scheme of pediatric pulmonary tuberculosis. *Chin J Pediatr(中华儿科杂志)*,2006,4( 44 ): 249-251
- [ 16 ]Niño-Moreno P, Portales-Pérez D, Hernández-Castro B, et al. P2X7 and NRAMPI/SLC11 A1 gene polymorphisms in Mexican mestizo patients with pulmonary tuberculosis. *Clin Exp Immunol*,2007,148( 3 ): 469-477
- [ 17 ]Rassendren F, Buell GN, Virginio C, et al. The permeabilizing ATP receptor, P2X7: cloning and expression of a human cDNA. *J Biol Chem*,1997,272( 9 ):5482-5486
- [ 18 ]Hickman SE, el Khoury J, Greenberg S, et al. P2Z adenosine triphosphate receptor activity in cultured human monocytederived macrophages. *Blood*, 1994, 84( 8 ):2452-2456
- [ 19 ]Falzoni S, Munerati M, Ferrari D, et al. The purinergic P2Z receptor of human macrophage cell: characterization and possible physiological role. *J Clin Invest*, 1995, 95( 3 ):1207-1216
- [ 20 ]Gu BJ, Zhang W, Worthington RA, et al. A Glu2496 to Ala polymorphism leads to loss of function of the human P2X7 receptor. *J Biol Chem*,2001, 276( 14 ):11135-11142
- [ 21 ]Georgiou JG, Skarratt KK, Fuller SJ, et al. Human epidermal and monocyte-derived Langerhans cells express functional P2X receptors. *J Invest Dermatol*,2005,125( 3 ):482-490
- [ 22 ]Sluyter R, Shemon AN, Wiley JS. Glu496 to Ala polymorphism in the P2X7 receptor impairs ATP-induced IL-1 beta release from human monocytes. *J Immunol*,2004,172( 6 ):3399-3405
- [ 23 ]Gu BJ, Wiley JS. Rapid ATP-induced release of matrix metalloproteinase 9 is mediated by the P2X7 receptor. *Blood*, 2006,107( 12 ):4946-4953
- [ 24 ]Sluyter R, Dalitz JG, Wiley JS. P2X7 receptor polymorphism impairs extracellular adenosine 5'-triphosphate-induced interleukin-18 release from human monocytes. *Genes Immun*, 2004,5( 7 ):588-591
- [ 25 ]Saunders BM, Fernando SL, Sluyter R, et al. A loss-of-function polymorphism in the human P2X7 receptor abolishes ATP-mediated killing of mycobacteria. *J Immunol*, 2003, 171 ( 10 ): 5442-5446
- [ 26 ]Shemon AN, Sluyter R, Fernando SL, et al. A Thr357 to Ser polymorphism in homozygous and compound heterozygous subjects causes absent or reduced P2X7 function and impairs ATP-induced mycobacterial killing by macrophages. *J Biol Chem*,2006, 281( 4 ): 2079-2086
- [ 27 ]Lammas DA, Stober C, Harvey CJ, et al. ATP-induced killing of mycobacteria by human macrophages is mediated by purinergic P2Z( P2X7 ) receptors. *Immunity*,1997,7( 3 ):433-444

( 收稿日期: 2008-10-30 修回日期: 2008-11-09 )  
( 本文编辑:张崇凡 )

### 广州市儿童医院举办全国小儿免疫性疾病学习班通知

2008年12月13~18日在广州市五羊城酒店举办全国小儿免疫性疾病学习班。将邀请重庆医科大学附属儿童医院杨锡强教授、北京儿童医院何晓琥教授等知名专家授课,内容包括:儿科免疫缺陷病、过敏性变态反应性疾病、自身免疫性疾病及感染与免疫4个方面。主要内容有:原发性免疫缺陷病的诊断及治疗;儿童免疫功能的评价;过敏性鼻炎、哮喘的诊断及脱敏治疗、儿童免疫相关性胃肠病、儿童皮肤过敏性疾病、儿童药物及食物过敏;过敏性紫癜、川崎病、幼年特发性关节炎及巨噬细胞活化综合征、系统性红斑狼疮等疾病的诊断及治疗;儿童常见病毒感染、反复呼吸道感染及全身性感染的免疫机制及治疗;免疫吸附、血液净化、干细胞移植等实用先进技术在儿科免疫性疾病的临床应用;过敏原测定及自身免疫性疾病的实验室检查等。学习班将紧密结合临床,兼顾科研,还将邀请资深编辑就儿科医学论文书写进行讲座,学习班授 I 类学分 9 分。有意参加学习班的医生请与广州市儿童医院免疫科孙广超医生联系,通信地址:广州市人民中路 318 号 ( 510120 ),E-mail:sungch001@21cn.com,手机:13512792272。

### 《现代小儿胸心外科学》出版

由张善通、陈张根和贾兵主编的《现代小儿胸心外科学》于 2007 年 3 月由上海科学技术文献出版社出版发行。

本书以复旦大学附属儿科医院 30 年来累积的经验和手术病例为基础,并邀请我国内地和香港地区专家参加编写,系统地介绍儿童胸心外科疾病的最新诊治方法和技术,包括麻醉、体外循环和围术期处理、手术适应证、手术方法、介入治疗、内外科镶嵌治疗和术后并发症等的处理,以及微创外伤、内镜外科和组织工程等。编写中还参考国外近年来公开发表的著作,反映了学科的最新发展趋势。本书内容丰富全面,图文并茂,可供儿童胸心外科、成人胸心外科、心内科、麻醉科、体外循环、心超诊断、心内和心外科监护室医生、技师、护士以及研究生、本科生阅读。本书共 57 章,约 100 万字。定价 200 元。