clusteps of dendritic cells provide critical survival signals to B cells in bone marrow niches[J]. Nat Immunol, 2008, 9(4): 388-395.

[8] Feuerer M, Beckhove P, Mahnke Y, et al. Bone marrow microenvironment facilitating dendritic cell, CD4 T cell interactions and maintenance of CD4 memory[J]. Int J Oncol, 2004, 25(4): 867-876.

[9] Dogusan Z, Montecino-Rodriguez E, Dorshkind K. Macrophages and stromal cells phagocytose apoptotie bone marrow-derived B lineage cells[J]. J Immunol, 2004, 172(8): 4717-4723.

[10] Opalenik SR, Davidson JM. Fibroblast differentiation of bone marrow derived cells during wound repair[J]. Faseb J, 2005, 19(11): 1561-1563.

[11] 黄艳红，王绮如. 三类骨髓基质细胞条件培养液体外扩增巨核系细胞[J]. 生理学报，2005，57(2)：247-253.

[12] Abe M, Shintani Y, Eto Y, et al. Potent induction of activin A secretion from monoeytes and bone marrow stromal fibroblasts by cognate interaction with activated T cells[J]. J Leukoc Biol, 2002, 72(2): 347-352.

[13] Yao L, Yokota T, Xia L, et al. Bone marrow dysfunction in mice lacking the cytokine receptor gpl30 in endothelial cells[J]. Blood, 2005, 106(13): 4093-4101.

[14] Jacobsen K, Kravitz J, Kineade PW, et al. Adhesion receptors on bone marrow stromal cells: in vivo expression of vascular cell adhesion Molecule-1 by reticular cells and sinusoidal endothelium in normal and Gamma-irradiated mice[J]. Blood, 1996, 87(1): 73-82.

[15] Li K, Yang M, Lam AC, et a l. Effect of Flt-3 ligand in combination with TPO on the expansion of megakaryocytic progenitors [J]. Cell Transplantat, 2000, 9(1): 125-131.

[16] 贲志云，季玉红，傅晋翔. 多种细胞因子对人骨髓基质细胞生长的影响[J]. 交通医学，2006，20(5)：498-500.

[17] Gao L, Chen XH, Feng YM, et al. Human umbilical cord blood-derived stromal cells: multifaceted regulators of megakaryocytopoiesis[J]. Cell Cycle, 2010, 9(7): 1342-1353.

[18] Ren J, Jin P, Sabatino M, et al. Global transcriptome analysis of human bone marrow stromal cells (BMSC) reveals proliferative, mobile and interactive cells that produce abundant extracellular matrix proteins, some of which may affect BMSC potency[J]. Cytotherapy, 2011, 13(6): 661-674.

[19] 马晓伟，马芹颖，王彦永，等. 骨髓间充质干细胞分泌的蛋白及其功能[J]. 中国组织工程研究与临床康复，2009，13(14)：2763-2766.

[20] Wang S, Sasaki Y, Zhou L, et al. Transcriptional regulation of bone sialoprotein gene by interleukin-11[J]. Gene, 2011, 476(1/2): 46-55.

[21] Nagasawa T, Omatsu Y, Sugiyama T. Control of hematopoietic stem cells by the bone marrow stromal niche: the role of reticular cells[J]. Trends Immunol, 2011, 32(7): 315-320.

[22] Slungaard A. Platelet factor 4: a chemokine enigma[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2005, 37(6): 1162-1167.

[23] Maurer AM, Zhou B, Han ZC. Roles of platelet factor 4 in hematopoiesis and angiogenesis[J]. Growth Factors, 2006, 24(4): 242-252.

（收稿日期：2012-01-29）

· 综　　述 ·

支气管哮喘全基因组关联研究进展*

武其文 综述，浦　春 审校

（皖南医学院附属弋矶山医院检验科，安徽芜湖 241001）

关键词：支气管哮喘；　全基因组关联研究；　易感基因；　综述

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2012.08.032　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1673-4130(2012)08-0961-03

全基因组关联研究（GWAS）是一种在全基因组范围内通过测定单核苷酸多态性（SNP），研究确定疾病易感区域和相关基因，寻找疾病的标记物，从而探究复杂疾病遗传机制的方法[1]。GWAS 与传统的候选基因研究策略相比具有明显的优势，不再局限于预先选择的候选基因或者候选染色体区域，而是针对全基因组进行筛查。2005 年，Science 杂志首次报道了有关人类年龄相关黄斑变性的全基因组关联研究。此后，GWAS 在世界范围内发展迅猛，研究者应用 GWAS 对心血管病、糖尿病、皮肤病、支气管哮喘等复杂性遗传疾病进行研究，发现了一系列疾病相关基因或变异，将疾病的基因组研究推向一个新的阶段。

支气管哮喘是一种以气道阻塞、气道炎性和气道高反应性为特征的慢性炎性疾病。近年来，哮喘的发病率和病死率呈逐年上升的趋势。哮喘已经成为全球范围内严重的公共卫生问题之一。哮喘的发病具有家族聚集性特点和明显的遗传倾向，其遗传度可达 60%～80%。哮喘作为一种复杂的多基因遗传病，其发病常由多个基因和环境因素共同作用所决定[2]。从基因水平阐明哮喘发病的遗传学机制，必将加深人们对哮喘发病机制的理解，为哮喘的预防、诊断和治疗提供新思路。现对支气管哮喘的 GWAS 最新进展进行综述。

1　支气管哮喘 GWAS 的起始

2007 年，有科学家在 Nature 上发表了 1 项有关儿童支气管哮喘的 GWAS，被认为是第 1 个真正意义上的哮喘 GWAS 研究[3]。该研究入选了 994 例儿童哮喘患者和 1 243 例无关人群作为对照，利用基因芯片高通量分型方法对全基因组 317 000多个 SNPs 进行了基因分型。分析的结果显示染色体 17q21.1 区域的 SNPs 与儿童哮喘存在很强的关联性。在过去哮喘候选区域关联研究中，染色体 17q21.1 区域从未受到重视，因此，这是一个新的与哮喘相关的染色体区域。重要的是，此阳性关联性结果在多个其他种族人群中得到了重复验证[4-5]。受试人群除了欧美人群外，亚洲日本人群中也得到了阳性关联的验证。有趣的是，该区域只与儿童支气管哮喘相

* **基金项目**：安徽省自然科学基金资助项目（10040606Q68）。

关，而与成人哮喘却没有明显的相关性，这种与年龄相关的阳性关联机制尚需进一步研究。

有科学家应用 EB 病毒转染的儿童淋巴母细胞对 17q21.1 区域 SNPs 与全基因组基因表达水平做了进一步的研究，发现该区域 SNPs 与 ORMDL3 基因表达水平密切相关。日本科学家用 Poly(I:C)模拟病毒感染刺激淋巴细胞表达的研究重复验证了该结果。这些研究表明调控 ORMDL3 基因表达的遗传变异可能是决定儿童是否对哮喘易感的重要因素。关于 ORMDL3 基因编码蛋白质的功能研究尚不清楚，目前已知它属于内质网膜蛋白保守家族中的成员，在许多组织细胞内质网中均有表达，可能参与蛋白质的折叠、内质网应激反应等功能，尚需进一步对 ORMDL3 蛋白功能研究来明确其在儿童哮喘发病中的作用。

2　支气管哮喘 GWAS 的现状

自 2007 年后，基于 GWAS 的支气管哮喘的易感基因的研究在世界各地陆续展开，涉及到高加索人群、墨西哥人群、非洲裔人群和亚洲人群等，一系列新的易感基因位点相继被发现（见表 1）。2009 年，Himes 等[6]进行了第 2 个支气管哮喘全基因组关联研究。他们从美国儿童哮喘管理项目中选出了 359 例患者，同时收集 846 例健康对照作为研究对象，应用人类 Hap550 基因分型芯片对基因组约 500 000 个 SNPs 位点进行分型。发现位于染色体 5q12 区域的 PDE4D 基因作为一个新的哮喘易感基因，该研究结果在另外一个白人人群和一个西班牙人群中得到重复验证。由于 PDE4D 基因表达产物具有调节气道平滑肌收缩的功能，已有研究人员开始研制 PDE4 蛋白抑制剂来治疗哮喘。同年，Hancock 等[7]进行了第 3 个墨西哥人群大规模的哮喘 GWAS，他们使用的是含有 550 000 个 SNPs 的基因芯片对 492 个支气管核心家系（患病儿童及其双亲构成一个核心家系）进行基因分型，结果发现位于染色体 9q21.31 的 TLE4 基因的 rs2378383 位点与哮喘明显相关（$P=7.1\times10^{-6}$），并在一个独立的人群中获得了验证（$P=0.03$）。该研究两个人群的 P 值差异较大，仍需进一步在其他人群中验证。

表 1　2007 年 1 月至 2011 年 10 月 GWAS 发现的部分哮喘关联基因

年度	染色体区域	关联基因	强关联等位基因	P	OR 值和 95%可信区间	风险位点频率
2007	17q12	ORMDL3	rs7216389	9×10^{-11}	1.45(1.17～1.81)	0.52
2009	5q12.1	PDE4D	rs1588265	3×10^{-8}	1.18(1.08～1.30)	0.29
2009	9q21.31	TLE4	rs2378383	7.1×10^{-6}	0.63(0.41～0.96)	—
2010	1q31.3	DENND1B、CRB1	rs2786098	2×10^{-13}	1.18(1.08～1.30)	0.85
2010	5q31.1	RAD50	rs2244012	3×10^{-7}	1.64(1.36～1.97)	0.21
	15q21.2	SCG3	rs17525472	2×10^{-6}	—	—
	20p13	KIAA1271	rs4815617	8×10^{-6}	—	—
2010	6p21.32	HLA-DQ	rs9273349	7×10^{-14}	1.18(1.13～1.24)	0.58
	9p24.1	IL33	rs1342326	9×10^{-10}	1.20(1.13～1.28)	0.16
	2q12.1	IL18R1	rs3771166	3×10^{-9}	1.15(1.10～1.20)	0.62
	15q22.33	SMAD3	rs744910	4×10^{-9}	1.12(1.09～1.16)	0.49
	17q21.1	GSDMA	rs3894194	5×10^{-9}	1.17(1.11～1.23)	0.45
	22q12.3	IL2RB	rs2284033	1×10^{-8}	1.12(1.08～1.16)	0.56
	15q22.2	RORA	rs11071559	1×10^{-7}	1.18(1.11～1.25)	0.86
	17q12	GSDMB	rs2305480	1×10^{-7}	1.18(1.11～1.23)	0.55
	5q31.1	IL13	rs1295686	1×10^{-7}	1.15(1.09～1.20)	0.2
	5q31.1	SLC22A5	rs2073643	2×10^{-7}	1.11(1.06～1.15)	0.45
2011	1q21	IL-6R	rs4129267	2.4×10^{-8}	1.09	0.32

—：未报道。

2010 年，Mathias 等[8]对两个独立的非洲裔人群进行了支气管哮喘 GWAS，其中一个是包含 935 例患者的非洲裔美国人群病例对照研究设计，另一个是含 163 个例非洲患病家系人群设计，共检测了 640 000 个 SNPs。结果发现了 3 个哮喘潜在的易感基因，分别是位于染色体 5q33 区的 ADRA1 基因、20p12 区的 PRNP 基因和 2q12 区的 DPP10 基因。但是，这些关联的结果在 2 个白人种族中未能得到重复。Sleiman 等[9]对 793 例欧洲裔的北美儿童进行了 GWAS 研究，这些儿童均患有持续性哮喘并且每日吸入糖皮质激素进行治疗。研究结果发现了一个新的哮喘易感区域 1q31，该染色体区域包含 2 个易感基因 CRB1 和 DENND1B。CRB1 编码的是一种跨膜蛋白，在视网膜上皮的维持和形成中发挥一定的作用。DENND1B 蛋白主要在树突状细胞表达激活 T 细胞，其具体的功能尚不清楚。值得一提的是，中国人群中也有 17q21 位点与哮喘相关的报道[10]。Li 等[11]针对严重哮喘和难治性哮喘进行了一项 GWAS，他们分析了 292 443 个 SNPs，利用基因组连锁不平衡的原理，最终发现 5q31.1 的 RAD50-IL13 区和 6p21.3上的 HLA-DR-DQ 区为 2 个哮喘相易感区域。他们的研究表明 Th2 型细胞因子以及抗原提呈相关基因在哮喘发病中可能起重要功能。另外，Kim 等[12]对职业性哮喘进行了一项小规模的 GWAS，研究对象为 84 例甲苯双异氰酸盐导致的职业性哮喘患者，结果发现 CTNNA3 基因 rs10762058 位点与该种类型的哮喘明显相关（$P=5.84\times10^{-6}$）。

近日，Lancet 杂志发表了一项澳大利亚人的支气管哮喘 GWAS，该研究包含 2 669 例哮喘患者和 4 528 例对照者，并在多个人群中进行了重复，结果发现 IL-6R 基因与澳洲人的哮喘明显相关[13]。在亚洲，日本科学家进行的 2 项哮喘 GWAS，也发现了多个基因或染色体区域与亚洲日本人群支气管哮喘相

关，如 HLA-DP、USP38-GAB1、10p14、12q13 等[14-15]。

大样本量是确保 GWAS 研究具有足够的统计效能的基础。多机构、多中心的合作研究对于复杂疾病的 GWAS 研究来说意义深刻。Moffatt 等[16]进行了一项多中心协作的一项大规模人群的支气管哮喘 GWAS，包含了 10 365 例患者和 16 110 例对照者，研究结果共发现了 6 个支气管哮喘候选基因，为 IL1RL1/IL18R1、HLA-DQ、IL33、SMAD3、ORMDL3/GSDMB 和 IL2RB。IL1RL1 和 IL33 均为 Th2 细胞分化重要的因子，该研究表明激活气道炎性的相关基因通路可能是哮喘重要的易感基因。

3　支气管哮喘 GWAS 存在的问题

尽管 GWAS 显示了其作为哮喘遗传学研究的一种强大的工具，但是其本身仍存在一些缺陷。首先，当前 GWAS 研究采用的基因芯片覆盖的 SNPs 主要是人类基因组中的一些常见突变（次要等位基因频率大于 5%），大部分次要等位基因频率小于 5%稀有突变常被忽视。近年来许多研究证据表明，稀有变异在疾病的发生和发展中发挥与常见变异相似甚至更重要的作用[17]。这也可能是目前 GWAS 识别的变异仅能解释小部分常见疾病的遗传风险的原因[18]。其次，GWAS 研究采用的基因芯片对于一些传统哮喘感兴趣的候选基因甚至没有覆盖到。如 IL-4 基因作为哮喘易感基因已在 17 个独立的人群中重复获得阳性关联，而在当前哮喘 GWAS 的基因芯片却没有一个 SNPs 被覆盖到[19]。再次，由于目前大多数 GWAS 用来检测常见突变，即使这些突变对疾病异常变异起很小的效应，但在群体水平其效应巨大。因此，从 GWAS 获得的阳性关联基因多态性，即使其有很高的统计学 P 值，其对个体疾病的易感性可能很小。综上所述，目前从哮喘领域 GWAS 获得的结果，在不同种族人群中结果不一，尚未完全得到重复验证，对阳性关联的多态性的功能研究更是不足。因此，当前的哮喘 GWAS 尚未能立即转化成诊断或治疗的工具。

4　支气管哮喘 GWAS 展望

支气管哮喘是一种具有高度临床异质性的复杂疾病，既往的关联研究常采用小样本及针对单一基因研究模式，结果重复性差、争议大。GWAS 是在全基因组范围内分析常见 SNPs，其结果稳定可靠。随着哮喘遗传学研究进入 GWAS 时代，人们定会从中获益。未来，哮喘的 GWAS 仍需从以下几个方面做出努力：首先，哮喘 GWAS 基因芯片的设计要充分考虑到种族差异以及人类基因组中约占 60%频率小于 5%的稀有位点，尤其是位于基因启动子和外显子区的一些稀有突变。随着下一代高通量测序技术的应用，对疾病基因组的重测序或外显子深度测序，更多的罕见突变将会被人类发现。未来进行下一代支气管哮喘的 GWAS 时，要充分考虑到这些稀有突变发挥的作用。其次，哮喘是一种复杂性疾病，其发病常由许多基因错综复杂的交互作用以及环境因素共同引起。未来哮喘 GWAS 还需深入研究基因-基因交互作用、基因-环境相互作用等因素。由于哮喘的异质性，未来尚需区别哮喘不同的表型或对哮喘亚型分类后进行研究。最后，通过多中心、多机构的协作，扩大样本量，对多个不同的人群进行重复验证的哮喘 GWAS 是未来哮喘 GWAS 的趋势，尤其对 GWAS 发现的阳性 SNPs 功能研究更不容忽视。

参考文献

[1] Pearson TA, Manolio TA. How to interpret a genome-wide association study[J]. JAMA, 2008, 299(11): 1335-1344.

[2] Mutius E. Gene-environment interactions in asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 123(1): 3-11.

[3] Moffatt MF, Kabesch M, Liang L, et al. Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma[J]. Nature, 2007, 448(7152): 470-473.

[4] Bisgaard H, Bnnelykke K, Sleiman PM, et al. Chromosome 17q21 gene variants are associated with asthma and exacerbations but not atopy in early childhood[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 179(3): 179-185.

[5] Bouzigon E, Corda E, Aschard H, et al. Effect of 17q21 variants and smoking exposure in early-onset asthma[J]. N Engl J Med, 2008, 359(19): 1985-1994.

[6] Himes BE, Hunninghake GM, Baurley JW, et al. Genome-wide association analysis identifies PDE4D as an asthma susceptibility gene[J]. Am J Hum Genet, 2009, 84(5): 581-593.

[7] Hancock DB, Romieu I, Shi M, et al. Genome-wide association study implicates chromosome 9q21.31 as a susceptibility locus for asthma in Mexican children [J]. PLoS Genet, 2009, 5(8): 623-630.

[8] Mathias RA, Grant AV, Rafaels N, et al. A genome-wide association study on African-ancestry populations for asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 125(2): 336-346.

[9] Sleiman PM, Flory J, Imielinski M, et al. Variants of DENND1B associated with asthma in children[J]. N Engl J Med, 2010, 362(1): 36-44.

[10] 李佳，周娟，王娟，等. DENND1B 基因多态性与儿童哮喘关系的研究[J]. 国际检验医学杂志，2011，32(7)：723-725.

[11] Li X, Howard TD, Zheng SL, et al. Genome-wide association study of asthma identifies RAD50-IL13 and HLA-DR-DQ regions[J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 125(2): 328-335.

[12] Kim SH, Cho BY, Park CS, et al. Alpha-T-catenin (CTNNA3) gene was identified as a risk variant for toluene diisocyanate-induced asthma by genome-wide association analysis[J]. Clin Exp Allergy, 2009, 39(2): 203-212.

[13] Ferreira MA, Matheson MC, Duffy DL, et al. Identification of IL6R and chromosome 11q13.5 as risk loci for asthma[J]. Lancet, 2011, 378(9795): 1006-1014.

[14] Noguchi E, Sakamoto H, Hirota T, et al. Genome-wide association study identifies HLA-DP as a susceptibility gene for pediatric asthma in Asian populations[J]. PLoS Genet, 2011, 7(7): 2170-2175.

[15] Hirota T, Takahashi A, Kubo M, et al. Genome-wide association study identifies three new susceptibility loci for adult asthma in the Japanese population[J]. Nat Genet, 2011, 43(9): 893-896.

[16] Moffatt MF, Gut IG, Demenais F, et al. A large-scale, consortium-based genomewide association study of asthma[J]. N Engl J Med, 2010, 363(13): 1211-1221.

[17] Clellan J, King MC. Genetic heterogeneity in human disease[J]. Cell, 2010, 141(2): 210-217.

[18] Eichler EE, Flint J, Gibson G, et al. Missing heritability and strategies for finding the underlying causes of complex disease[J]. Nat Rev Genet, 2010, 11(6): 446-450.

[19] Kabesch M. Novel asthma-associated genes from genome-wide association studies: what is their significance[J]. Chest, 2010, 137(4): 909-915.

（收稿日期：2012-01-11）