

## • 临床检验研究论著 •

## ORMDL3 基因多态性与儿童哮喘发病的关系\*

黄 湘<sup>1</sup>, 谭家余<sup>2△</sup>, 袁春雷<sup>3</sup>, 陈健锋<sup>3</sup>, 周 涛<sup>4</sup>, 王冬娥<sup>3</sup>, 罗雅玲<sup>5</sup>(南方医科大学附属中山市博爱医院:1. 产前诊断中心;2. 中心 ICU;3. 检验科;4. 儿科, 广东中山 528403;  
5. 南方医科大学南方医院呼吸内科, 广东广州 510515)

**摘要:**目的 探讨 ORMDL3 基因的单核苷酸多态性(SNPs)与汉族儿童哮喘发病的相关性。方法 选取儿童哮喘患者 168 例和同期健康查体者 188 例为研究对象,利用 MassARRAY-IPLEX 技术和基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱平台(MALDI-TOF-MS)对 ORMDL3 基因的 7 个 SNPs 位点进行基因分型。结果 与对照组相比,哮喘组嗜酸性粒细胞计数( $Z=26.581, P=0.000$ )和 IgE 明显升高( $Z=73.208, P=0.000$ ),CRP 水平差异无统计学意义( $Z=2.938, P=0.066$ ),吸入性过敏原( $\chi^2=44.638, P=0.000$ )和食物过敏原( $\chi^2=14.347, P=0.000$ )检出率明显增高。总的基因型分型成功率为 99.34%。与对照相比,哮喘组 rs4795400 的等位基因分布( $\chi^2=4.166, P=0.041$ )有差异,但基因型分布( $\chi^2=3.732, P=0.155$ )无明显差异。与对照相比,哮喘组 rs2305480 和 rs3859192 的等位基因分布( $\chi^2=5.294, P=0.021; \chi^2=6.804, P=0.009$ )有差异,基因型分布( $\chi^2=5.538, P=0.019; \chi^2=7.618, P=0.022$ )也均具有显著性差异,但进行 Bonferroni 校正后两组间基因型分布均无显著性差异( $P_c=0.114; P_c=0.132$ )。与对照相比,哮喘组 rs7216389、rs8069176 和 rs12603332 的等位基因分布( $\chi^2=13.800, P=0.000; \chi^2=13.066, P=0.000; \chi^2=10.872, P=0.001$ )均具有显著差异,基因型分布( $\chi^2=12.162, P=0.002; \chi^2=11.574, P=0.003; \chi^2=10.500, P=0.005$ )同样均具有显著性差异,进行 Bonferroni 校正后两组间仍均具有显著性差异( $P_c=0.012; P_c=0.018; P_c=0.030$ )。与 CC 基因型相比,rs7216389 的 TT 基因型显著增加哮喘发生的危险性( $P=0.003$ ),OR 值(95%可信区间)为 3.846(1.488~9.939)。与 AA 基因型相比,rs8069176 的 GG 基因型显著增加哮喘发生的危险性( $P=0.008$ ),OR 值(95%可信区间)为 3.453(1.322~9.017)。与 TT+TC 基因型相比,rs12603332 的 CC 基因型显著增加哮喘发生的危险性( $P=0.001$ ),OR 值(95%可信区间)为 2.057(1.316~3.214)。结论 ORMDL3 基因的 rs7216389、rs8069176 和 rs12603332 位点与汉族儿童哮喘的发病有关。

**关键词:**多态性,单核苷酸; 光谱法,质量,基质辅助激光解吸电离; 儿童; 哮喘

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.20.006

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)20-2652-04

## Association of polymorphisms of ORMDL3 gene with children asthma\*

Huang Xiang<sup>1</sup>, Tan Jiayu<sup>2△</sup>, Yuan Chunlei<sup>3</sup>, Chen Jianfeng<sup>3</sup>, Zhou Tao<sup>4</sup>, Wang Donge<sup>3</sup>, Luo Yaling<sup>5</sup>

(1. Prenatal Diagnosis Center; 2. ICU; 3. Department of Clinical Laboratory; 4. Department of Pediatrics, Boai Hospital of Zhongshan City, Affiliated Hospital to Southern Medical University, Zhongshan, Guangdong 528403, China; 5. Department of Respiratory Diseases, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

**Abstract: Objective** To investigate the association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) of ORMDL3 and children asthma of Han Nationality in the Southern China. **Methods** A case-control study was performed. MassARRAY-IPLEX technique and MALDI-TOF-MS was used to determine 7 locus of ORMDL3 gene. **Results** There were no significant differences in gender ( $\chi^2=0.012, P=0.914$ ) and age ( $t=1.710, P=0.088$ ) between asthma group and control group, respectively. Compared with control group, eosinophil count ( $Z=26.581, P=0.000$ ) and IgE ( $Z=73.208, P=0.000$ ) in asthma group was significantly increased, no significant difference in CRP level ( $Z=2.938, P=0.066$ ), and while significant difference in Inhalant allergens ( $\chi^2=44.638, P=0.000$ ) and food allergens ( $\chi^2=14.347, P=0.000$ ). 99.34% percent of samples were genotyped. Compared with control group, there were significant differences in allele frequency ( $\chi^2=4.166, P=0.041$ ) and no significant differences in genotype frequency ( $\chi^2=3.732, P=0.155$ ) of rs4795400 in asthma group. Compared with control group, allele frequency ( $\chi^2=5.294, P=0.021; \chi^2=6.804, P=0.009$ ) and genotype frequency ( $\chi^2=5.538, P=0.019; \chi^2=7.618, P=0.022$ ) of rs2305480 and rs3859192 in asthma group were significantly different, respectively, but after Bonferroni correction no significant difference ( $P_c=0.114; P_c=0.132$ ) were showed in genotype frequency between the two groups. Compared with control group, allele frequency ( $\chi^2=13.800, P=0.000; \chi^2=13.066, P=0.000; \chi^2=10.872, P=0.001$ ) and genotype frequency ( $\chi^2=12.162, P=0.002; \chi^2=11.574, P=0.003; \chi^2=10.500, P=0.005$ ) of rs7216389 and rs8069176 and rs12603332 in asthma group were significantly different, respectively, and after Bonferroni correction there were still significant difference ( $P_c=0.012; P_c=0.018; P_c=0.030$ ) in genotype frequency between the two groups. Compared with genotype CC, genotype TT of rs7216389 could significantly increase the risk of asthma, which odds ratio (95% confidence interval) were 3.846(1.488~9.939). Compared with genotype AA, genotype GG of

\* 基金项目:国家自然科学基金项目资助项目(30770936);广东省自然科学基金项目资助(10151401501000001)。 作者简介:黄湘,女,副主任技师,主要从事检验免疫工作。 △ 通讯作者, E-mail:28242174@qq.com。

rs8069176 could significantly increase the risk of asthma, which odds ratio (95% confidence interval) were 3.453(1.322-9.017). Compared with genotype TT+TC, genotype CC of rs12603332 could significantly increase the risk of asthma, which odds ratio (95% confidence interval) were 2.057(1.316-3.214). **Conclusion** These researches suggest that Locus rs7216389 and rs8069176 and rs12603332 of *ORMDL3* gene maybe take part in the pathogenesis of children asthma of Han Nationality.

**Key words:** polymorphism, single nucleotide; spectrometry, mass, matrix-assisted laser desorption-ionization; children; asthma

目前普遍认为哮喘具有明显的遗传倾向,呈家族聚集性,且为遗传易感性与环境暴露相互作用的结果。近年来,应用基因定位技术确认了一些哮喘易感基因:如 ADAM33<sup>[1]</sup>, ZPBP2, IKZF3 和 GSDML<sup>[2-3]</sup>, 本课题前期研究也发现 C3<sup>[4]</sup> 和 MD-1<sup>[5]</sup> 的单核苷酸多态性(SNPs)与华南汉族的成人哮喘的发生有关。2007 年 nature 杂志首次报道 *ORMDL3* 基因 SNPs 控制的遗传变异与哮喘发作高度相关<sup>[6]</sup>,携带该基因遗传变异的儿童患哮喘的风险增加 60%~70%。此后,日本等国也相继进行了相关的流行病学调查,但目前国内相关报道较少<sup>[7]</sup>。我国人群无论从遗传背景或环境因素等方面都与国外相差甚远,不同地区和不同种族也可能存在差异。故本课题通过对汉族儿童哮喘患者进行病例对照研究;采用 MassARRAY-IPLEX 技术和基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱平台对 *ORMDL3* 基因的 SNPs 进行检测,从分子流行病学等方面寻找该基因多态性与哮喘的关系,为寻找防治哮喘的有效途径提供靶标和新线索。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2010 年 1 月至 2012 年 2 月确诊的儿童哮喘患者为研究对象,纳入标准:按照中华医学会呼吸病分会哮喘学组制定的哮喘诊断标准<sup>[8]</sup>,年龄小于 14 岁,所有受检者相互间无血缘关系;排除标准:无其他遗传性疾病和慢性疾病史。对照组选自同期健康体检者,均无哮喘和过敏性鼻炎、个人及家族过敏史。所有研究对象均签署知情同意书,填写一般资料调查表,并采集空腹外周血 2 mL。研究方案得到医院临床医学试验伦理委员会批准。

**1.2 仪器与试剂** DNA 提取试剂盒(天根生物技术有限公司);自动点样仪(Nanodispenser RS1000 v1.2.1, 美国 Sequenom 公司);SpectroCHIP 芯片(美国 Sequenom 公司);基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪(MALDI-TOF MS, 美国 Sequenom 公司)。

**1.3 基因组 DNA 提取** 用全血基因组 DNA 提取试剂盒(TIANamp Genomic DNA Kit, 北京, 天根生化科技有限公司)提取外周血 DNA,按说明书操作, DNA 保存于-70℃备用。

**1.4 位点选择和引物设计** 选取 *ORMDL3* 基因的 7 个 SNP 位点为研究靶点。采用美国 Sequenom 公司的软件 Assay Design 3.1 进行引物设计并由上海英骏生物公司(invitrogen)合成。

**1.5 SNP 检测** 利用 Sequenom MassARRAY SNP 分型技术对 *ORMDL3* 基因位点进行基因型分型。(1)PCR 扩增位点所在的 DNA 片段:提取纯化后的基因组 DNA 样品定量稀释,按设计顺序加 1 μL DNA 样品于 384 孔板上,然后添加 4 μL PCR 扩增体系,使反应物的终浓度如下:1 U 的 Taq 聚合酶, 10 ng 基因组 DNA, 各 0.1 μmol/L 的 PCR 引物, 500 μmol/L dNTP。PCR 反应条件:95℃ 2 min, 95℃ 30 s, 56℃ 30 s, 72℃ 60 s 进行 45 个循环, 72℃ 5 min。(2)虾碱性磷酸酶(SAP)反应:添加 0.5 U 的 SAP 去除未反应完的 dNTP, 反应

条件:37℃ 40 min, 85℃ 5 min。(3)单碱基延伸反应(SBE):向 SAP 反应产物里加 0.11 μmol/L 延伸引物, 500 μmol/L 双脱氧核苷酸(ddNTP), 0.5 U 的热测序 DNA 聚合酶。为了保持 DNA 聚合酶的活性,反应条件为 94℃ 2 min, 40 个循环的 94℃ 5 s, (52℃ 5 s, 80℃ 5 s)×5 个循环, 72℃ ×3 min。(4)将所得反应产物用树脂脱盐后经自动点样仪(Nanodispenser RS1000 v1.2.1)点样于 SpectroCHIP 芯片上,点制后的芯片用基质辅助的激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF MS)检测,根据单碱基延伸的等位基因的相对分子质量不同进行基因分型。

**1.6 统计学处理** 分别统计哮喘组 and 对照组基因型分布频率,经 Hardy-Weinberg 平衡检验后,用 SPSS13.0 软件进行分析,计数资料间的比较采用  $\chi^2$  检验,计量资料两组间比较采用独立样本 *t* 检验或 Kruskal Wallis 检验。

### 2 结果

**2.1 一般资料比较** 哮喘患者和同期健康查体者主要来自广东珠三角儿童,均为汉族。入选哮喘患者 168 例,其中男 109 例,女 59 例,年龄为(48.6±43.2)月。对照组共 188 例,其中男 123 例,女 65 例,年龄为(40.9±41.5)月。两组间性别( $\chi^2=0.012, P=0.914$ )和年龄( $t=1.710, P=0.088$ )比较差异无统计学意义。与对照组相比,哮喘组嗜酸性粒细胞计数( $Z=26.581, P=0.000$ )和 IgE( $Z=73.208, P=0.000$ )明显升高,CRP 水平差异无统计学意义( $Z=2.938, P=0.066$ )。与对照组相比,哮喘组吸入性过敏原( $\chi^2=44.638, P=0.000$ )和食物过敏原( $\chi^2=14.347, P=0.000$ )检出率明显增高。

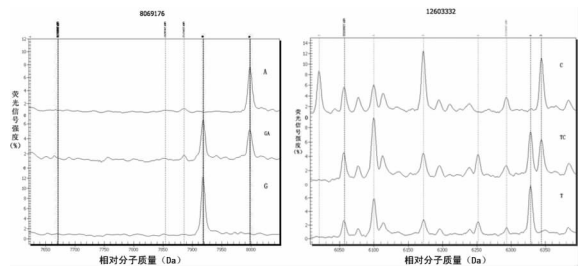


图 1 *ORMDL3* 基因 rs8069176 和 rs12603332 位点的基因型特征质谱

**2.2 基因型特征质谱图** 如图 1, rs8069176 的 GA 基因型在 G 和 A 等位基因处均有峰, GG, AA 基因型分别在 G, A 等位基因处都有峰。rs12603332 的 TC 基因型在 T 和 C 等位基因处均有峰, TT 基因型在 T 等位基因处有峰, CC 基因型在 C 等位基因处有峰。rs2305480, rs3859192 和 rs4795400 的等位基因与 rs7216389 的等位基因相同,特征质谱图类似,只是 rs2305480 未检测到 TT 基因型,此处特征质谱图均省略。rs4065275 的基因型分型成功率只有 73.6%, Haploview4.1 软件分析结果显示 rs4065275 的 SNP 在哮喘组(24/4/104) and 对照组(6/4/120)均不符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律( $P<0.05$ ),主要原因是 rs4065275 的 RefSNP 等位基因为 A/G/T,

而本课题未检测等位基因 T, 而导致一些标本无法分型所致, 因此 rs4065275 不参与统计分析。除外 rs4065275 后, 其余 6 个 SNP 在哮喘组和对照组均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律 ( $P > 0.05$ ), 它们总的基因型分型成功率为 99.34%。

**2.3 ORMDL3 基因的 SNPs 与哮喘易感性** 如表 1, 与对照相比, 哮喘组 rs4795400 的等位基因分布 ( $\chi^2 = 4.166, P = 0.041$ ) 有差异, 但基因型分布 ( $\chi^2 = 3.732, P = 0.155$ ) 无明显差异。与对照相比, 哮喘组 rs2305480 和 rs3859192 的等位基因分布 ( $\chi^2 = 5.294, P = 0.021; \chi^2 = 6.804, P = 0.009$ ) 差异有

统计学意义, 基因型分布 ( $\chi^2 = 5.538, P = 0.019; \chi^2 = 7.618, P = 0.022$ ) 差异有统计学意义, 但进行 Bonferroni 校正后两组间基因型分布均无明显差异 ( $P_c = 0.114; P_c = 0.132$ )。与对照相比, 哮喘组 rs7216389, rs8069176 和 rs12603332 的等位基因分布 ( $\chi^2 = 13.800, P = 0.000; \chi^2 = 13.066, P = 0.000; \chi^2 = 10.872, P = 0.001$ ) 差异有统计学意义, 基因型分布 ( $\chi^2 = 12.162, P = 0.002; \chi^2 = 11.574, P = 0.003; \chi^2 = 10.500, P = 0.005$ ) 差异有统计学意义, 进行 Bonferroni 校正后两组间差异有统计学意义 ( $P_c = 0.012; P_c = 0.018; P_c = 0.030$ )。

表 1 ORMDL3 基因的 SNPs 与哮喘易感性的关系

SNP ID	Allele 1/2	Non-asthma 1/2	Asthma 1/2	$\chi^2$	P	Non-asthma 11/12/22	Asthma 11/12/22	$\chi^2$	P
rs2305480	C/T	354/22	328/8	5.294	0.021	166/22/0	160/8/0	5.538	0.019
rs3859192	C/T	200/176	144/188	6.804	0.009	50/100/38	32/80/54	7.618	0.022
rs4795400	C/T	280/84	276/56	4.166	0.041	112/56/14	118/40/8	3.732	0.155
rs7216389	T/C	272/104	282/54	13.800	0.000	104/64/20	120/42/6	12.162	0.002
rs8069176	G/A	276/100	284/52	13.066	0.000	106/64/18	122/40/6	11.574	0.003
rs12603332	T/C	96/276	52/280	10.872	0.001	14/68/104	6/40/120	10.500	0.005

采用  $\chi^2$  检验。

**2.4 ORMDL3 基因的 rs7216389、rs8069176、rs12603332 与发生哮喘风险的关联分析** 与 CC 基因型相比, rs7216389 的 TT 基因型显著增加哮喘发生的危险性 ( $P = 0.003$ ), OR 值 (95% 可信区间) 为 3.846 (1.488~9.939)。与 AA 基因型相比, rs8069176 的 GG 基因型显著增加哮喘发生的危险性 ( $P = 0.008$ ), OR 值 (95% 可信区间) 为 3.453 (1.322~9.017)。与 TT+TC 基因型相比, rs12603332 的 CC 基因型显著增加哮喘发生的危险性 ( $P = 0.001$ ), OR 值 (95% 可信区间) 为 2.057 (1.316~3.214)。

### 3 讨论

ORMDL3 基因编码一个锚定于内质网的跨膜蛋白, 广泛分布于机体多种组织, 特别是肝脏和外周血淋巴细胞。近期研究提示该基因可能在病毒性呼吸道感染中发挥作用<sup>[9]</sup>, 但其确切功能尚不清楚。2007 年美、英、法、德等国科学家在 nature 杂志上报道: 采用全基因组扫描技术, 在对 DNA 中的 317,000 多个 SNPs 进行系统分析后, 发现位于 17q21 的 ORMDL3 基因 SNPs 控制的遗传变异与儿童哮喘发作高度相关, 携带该基因遗传变异的儿童患哮喘的风险增加 60%~70%<sup>[6]</sup>。研究者们称, 这是迄今为止发现的有关哮喘发病机制的最强有力的基因证据, 并期望在更全面的研究后, 以此为基础开发研究出治疗哮喘的靶向药物。

此后, 国外相继出现了多个研究 ORMDL3 基因 SNPs 与哮喘发病相关性的流行病学调查。如 Hirota 等<sup>[9]</sup> 报道在日本遗传多态性调节的 ORMDL3 的表达与儿童期变应性哮喘有关; Galanter 等<sup>[10]</sup> 的结果证实 ORMDL3 基因是墨西哥、波多黎各人及美国黑人等三种不同人群哮喘的危险因素, 同时指出当 IgE 水平升高达 100 IU/mL 以上时, 在墨西哥人与波多黎各人的哮喘患者受试者中, 这种相关性显得更加明显。Tavendale 等<sup>[11]</sup> 在苏格兰哮喘患者的研究中发现, ORMDL3 基因表达的遗传变异性提高了哮喘的易感性, 并与儿童及青年期病情的不易控制有关。Sleiman 等<sup>[12]</sup> 则发现南美和欧

洲人群中 ORMDL3 的遗传变异也与哮喘易感性有关。国内也有少量报道, 比如金哲等<sup>[13]</sup> 报道, 在北京地区 ORMDL3 基因 SNPs (rs7216389, rs7216558) 与儿童哮喘非显著相关。而孙婧等<sup>[14]</sup> 却认为 rs7216389 位点与儿童哮喘有一定相关性。丁毅鹏等<sup>[15]</sup> 也支持同样的观点, 同时也发现 rs11650680 可能也与黎族哮喘患者发病有一定的相关性。

总之, 国外研究均显示 ORMDL3 基因 SNPs 与不同种族患者哮喘的易感性、病情的发展及对药物的敏感性等有不同程度相关性。从国内罕有的几篇报道中, 尽管也提示 ORMDL3 基因 SNPs 与儿童哮喘有关, 但结论不尽相同, 特别是检测的 SNPs 位点较少, 标本样也不大。为了证实 ORMDL3 基因是否为汉族儿童哮喘的易感基因, 本研究采用 Sequenom MassARRAY-IPLEX SNP 检测系统来检测 ORMDL3 基因的 SNPs, 其基本原理为基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 (MALDI-TOF MS) 技术, 本课题组在前期使用其检测 MD-1 和 C3 基因的 SNPs 时, 取得了较好的效果。本研究中 ORMDL3 总的基因型分型成功率达到 99.34%。

本研究发现, 尽管哮喘组 rs4795400 的等位基因分布有差异, 但基因型分布无明显差异。而 rs2305480 和 rs3859192 的等位基因和基因型分布均具有显著性差异, 但进行 Bonferroni 校正后未显示出差异。rs7216389、rs8069176 和 rs12603332 的等位基因和基因型分布均具有显著性差异, 进行 Bonferroni 校正后仍均具有显著性差异。进一步研究发现 rs7216389 的 TT 基因型、rs8069176 的 GG 基因型和 rs12603332 的 CC 基因型均能显著增加哮喘发生的危险性。

本研究选择检测的 SNPs 位点均是国外报道可能与哮喘发生有关的, 但作者并没有发现所有位点均与汉族儿童哮喘有关, 在所检测的 7 个位点中, 有一个因为没有完全分型而放弃, 在 6 个统计的位点中, 也只有 rs7216389、rs8069176 和 rs12603332 可能与儿童哮喘有关。与国内仅有的几篇报道相比, 本研究尽管检测的位点相对较多, 但是仍存在样本量较少

的缺憾,可能会因此影响结果的准确性。为了明确 *ORMDL3* 与儿童哮喘的关系,研究者正在进一步扩大收集儿童哮喘资料和样本量。另外,本课题组正在通过免疫组化检测肺组织中 *ORMDL3* 的表达,同时构建干扰质粒并转染正常支气管上皮细胞,为 *ORMDL3* 在哮喘中的作用机制研究奠定基础。

参考文献

[1] Van Eerdewegh P, Little RD, Dupuis J, et al. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyperresponsiveness [J]. *Nature*, 2002, 418(25): 426-430.  
 [2] Bouzigon E, Eve C, Hugues A, et al. Effect of 17q21 variants and smoking exposure in early-onset asthma [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(19): 1985-1994.  
 [3] John W. Holloway, Gerard H. 17q21 Variants and Asthma-Questions and Answers [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(19): 2043-2045.  
 [4] 谭家余, 罗雅玲, 黄湘, 等. MD-1 基因单核苷酸多态性与华南汉族成人支气管哮喘发病的相关性研究 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2011, 34(2): 104-107.  
 [5] 谭家余, 李粉霞, 吴东, 等. C3 基因单核苷酸多态性与成人哮喘易感性的相关性研究 [J]. *中华医学遗传学杂志*, 2011, 28(2): 204-207.  
 [6] 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.  
 [7] Galanter J, Choudhry S, Eng C, et al. *ORMDL3* gene is associated with asthma in three ethnically diverse populations [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 177(11): 1194-1200.

[8] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(支气管哮喘的定义、诊断、治疗和管理方案) [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2008, 31(3): 3-13.  
 [9] Hirota T, Harada M, Sakashita M, et al. Genetic polymorphism regulating *ORM1-like 3* (*Saccharomyces cerevisiae*) expression is associated with childhood atopic asthma in a Japanese population [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 121: 769-770.  
 [10] Galanter J, Choudhry S, Eng C, et al. *ORMDL3* gene is associated with asthma in three ethnically diverse populations [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 177(11): 1194-1200.  
 [11] Tavendale R, Macgregor DF, Mukhopadhyay SA, et al. Polymorphism controlling *ORMDL3* expression is associated with asthma that is poorly controlled by current medications [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 121(4): 860-863.  
 [12] Sleiman PM, Annaiah K, Imielinski M, et al. *ORMDL3* variants associated with asthma susceptibility in North Americans of European ancestry [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 122(6): 1225-1227.  
 [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] 孙婧, 李乔俊, 徐飞, 等. 儿童哮喘与 *ORMDL3* 基因多态性关系的研究 [J]. *中国康复理论与实践*, 2010, 16(4): 361-363.  
 [15] 丁毅鹏, 何海武, 石慧芳, 等. 海南黎族哮喘 *ORMDL3* 基因多态性研究 [J]. *海南医学*, 2012, 23(11): 1-2.

(收稿日期: 2013-05-25)

(上接第 2651 页)

耐药菌的菌体表面形态观察, 研究耐药菌的部分耐药机制, 可以明显看到鲍曼不动杆菌多重耐药菌株的形态变化明显, 其表面粗糙度增加, 有很多突起与凹陷, 这与多耐药菌的耐药机制的形成有关。临床常用的大多数抗菌药物作用于细菌的细胞壁, 干扰细胞壁肽聚糖合成而导致细菌死亡, 多重耐药鲍曼不动杆菌通过改变细菌细胞膜通透性(如孔蛋白减少、生物膜的形成)<sup>[6-11]</sup>, 使抗菌药物不易或无法进入细胞内, 达不到有效杀菌浓度, 这使得存活耐药菌细胞膜表面发生相应的形态的变化, 正如 AFM 观察到的变化一样, 耐药菌的形态发生了明显变化。

通过研究发现, 人体内鲍曼不动杆菌在临床用药的情况下, 耐药菌株发生了明显的形态变化。微生物室应加强细菌耐药监测工作, 并多与临床沟通开展一些相关的耐药机制的研究工作, 制定正确、合理的抗菌剂使用方案, 有效避免耐药菌株的产生与播散<sup>[9]</sup>。

参考文献

[1] Doktycz MJ, Sullivan CJ, Hoyt PR. AFM imaging of bacteria in liquid media immobilized on gelatin coated mica surfaces [J]. *Ultramicroscopy*, 2003, 97(1/4): 209-216.  
 [2] 王长嫻, 王蓓, 王宁, 等. 江苏省淋病奈瑟菌对抗菌药物的敏感性分析 [J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(10): 1025-1026.  
 [3] 闫钢凤, 曹云, 翟涤, 等. 新生儿重症监护病房多重耐药鲍曼不动

杆菌  $\beta$ -内酰胺酶的基因型 [J]. *中华围产医学杂志*, 2011, 14(5): 257-258.

[4] 孙谦, 周宏伟, 胡燕燕, 等. 多重耐药鲍曼不动杆菌对替加环素耐药状况分析 [J]. *中华检验医学杂志*, 2011, 34(4): 358-359.  
 [5] Me'ndez-Vilas AM, Gallardo-Moreno ML. Surface characterisation of two strains of *Staphylococcus epidermidis* with different slime-production by AFM [J]. *App Sur Sci*, 2004, 238(1/4): 18-23.  
 [6] Salerno MB, Logan BE, Velego ID. Importance of molecular tails in predicting bacterial adhesion to hydrophobic surfaces [J]. *Langmuir*, 2004, 20(24): 106252-106259.  
 [7] Duf rène YF. Using nanotechniques to explore microbial surfaces [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2(6): 451-460.  
 [8] 何旭瑛. 细菌耐药性产生的机制与最新研究进展 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2009, 8(11): 117-118.  
 [9] 李娟, 冯锴, 李艳, 等. 血培养菌种分布和耐药性分析 [J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 1(33): 79-81.  
 [10] 熊劲芝, 黄强, 王红卫, 等. 鲍曼不动杆菌感染分布及耐药性分析 [J]. *中国感染控制杂志*, 2009, 3(8): 120-121.  
 [11] 曹守春, 张丽萍, 李加, 等. 狂犬病病毒 CTN-1 v 株原子力显微镜观察结果的初步分析 [J]. *中华微生物和免疫学杂志*, 2011, 1(31): 34-36.

(收稿日期: 2013-04-05)