

慢性阻塞性肺疾病相关基因研究进展^{*}

胡 娜^{1,2}综述, 崔天益^{2△}审校

(1. 湖北中医药大学医学检验与技术系, 湖北武汉 430065; 2. 武汉市第一医院检验科, 湖北武汉 430022)

关键词:慢性阻塞性肺疾病; 基因; 全基因组关联性研究**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2014.01.025**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2014)01-0060-03

慢性阻塞性肺疾病(COPD)是一种不完全可逆的气流受限性疾病,呈进行性发展。吸烟是 COPD 发病机制中最重要的因素,然而,吸烟者中只有 15%~20% 发展成有症状的 COPD,这表明不同个体对 COPD 的易感性是由基因决定的。通过探讨基因多态性与 COPD 易感性的关系,寻找 COPD 的易感基因,为 COPD 高危人群的筛选、早期预防和治疗提供理论依据。尽管在寻求新的基因方面有些进步,但关于 COPD 的遗传机制还有待进一步发现。考虑到当前研究的局限,该文通过讨论有效的方法和当前的研究成果来阐述和 COPD 相关基因的研究进展作一综述。

1 COPD 基因研究方法

1.1 遗传学研究 遗传学研究方法是对家庭、双胞胎和种族隔离的研究,发现 COPD 有家族聚集现象。后来发展为连锁研究,因缺乏统计功效,较难确定像 COPD 一样有微小基因效应的复杂疾病的基因位点。现在开展得较多的是候选基因的研究,检测云 COPD 发病机制有关的多态性和突变。

1.2 全基因组关联性研究(GWAS) 利用高度密集的单核苷酸多态性(SNP)图谱来进行 GWAS,能识别假设与疾病表现型有关的变异基因。GWAS 比连锁研究更能准确地定位新基因,而且成本也越来越低。GWAS 因样本量小、个体肺功能的遗传差异和缺乏跟踪性研究,会增大假阳性关联识别的错误率。在不久的将来,这些问题将得到解决,并可检测罕见的变异基因。

1.3 动物模型的研究 使用转基因、基因敲除或自然突变的老鼠中过度或低表达的蛋白,在探索 COPD 的发病机制中作用较大。例如 Hautamaki 等^[1]通过研究 MMP-12 基因敲除老鼠,发现可以完全抵御香烟烟雾引起的 COPD,提示 MMP-12 基因与 COPD 有关。

2 慢性阻塞性肺疾病相关基因

2.1 蛋白酶/抗蛋白酶系基因 在 COPD 中,蛋白酶-抗蛋白酶失衡是引起肺间质破坏的最主要的因素之一。当吸入有害气体时导致蛋白酶产生增多或活性增强,同时,氧化应激使抗蛋白酶的活性降低,最终导致蛋白酶-抗蛋白酶失衡。

2.1.1 α 1-抗胰蛋白酶(α 1-AT) α 1-AT 是首先被发现也是唯一确定的与 COPD 有关的基因。 α 1-AT 是由肝细胞和肺泡巨噬细胞合成分泌的急性反应蛋白,抑制中性粒细胞弹性蛋白酶活性。 α 1-AT 缺乏时,中性粒细胞释放的弹性蛋白酶就会分解肺间质连接组织蛋白,导致终末气道扩张而引起 COPD。血清

α 1-AT 含量下降与其基因变异有很大关系,不同的变异体对其影响的程度也不同。如最常见的 α 1-AT 严重缺乏的 PiZZ 型,血清中 α 1-AT 水平约为健康人的 10%~20%,而 PiMZ 型为健康人的 60%~70%。Serres 等^[2]研究发现,PMZ/ PIZZ/ PISZ 与 COPD 有关,但不是所有的 PIZZ 都发展成 COPD。英国^[3]研究发现 α 1-AT 11478G/A 变体和 COPD 的发展及肺功能的下降无关。

2.1.2 基质金属蛋白酶类(MMPs) MMPs 是一类高保守的依赖于 Ca^{2+} 和 Zn^{2+} 的内切蛋白水解酶家族,主要作用是降解细胞外基质(ECM)和基底膜。正常肺组织中 ECM 的合成与降解保持动态平衡,维持肺泡结构。平衡破坏时,将会产生以肺结构改变为特征的肺泡疾病,如 COPD。关于 MMPs 的基因多态性,各国结论不一致。Chen 等^[4]研究发现,MMP-9 -1562C/T SNP 会增加汉族人 COPD 患病风险,而欧洲人认为其与 COPD 无关。土耳其^[5]研究发现 MMP-7 增加 COPD 的患病风险,促进 COPD 的发展。印度学者^[6]发现基质金属蛋白酶-1 组织抑制剂(TIMP-1)基因的 rs6609533 SNP 和 α 1-AT 的 PIM3 等位基因相互作用可能是发展为 COPD 的危险因素。王伟等^[7]研究发现 TIMP-2 基因 +853 位点 G/G 基因型与 COPD 患者肺功能的损害程度有关。

2.2 氧化/抗氧化酶系基因 氧化与抗氧化失衡是 COPD 发病的重要机制。过多的氧化物不仅造成气道、肺组织的损害,而且也会导致呼吸道高反应性、肺功能下降等。

2.2.1 微粒体环氧化物水解酶(mEPHX) mEPHX 是由支气管上皮细胞分泌的具有解毒功能的异物代谢酶,它可代谢香烟烟雾中高反应环氧化物中间产物。对多种内外源性氧化物进行水解,从而保护机体,但是 mEPHX 活性并不稳定,该酶的活性随着基因结构的变异而发生改变。关于其多态性与 COPD 的关系,英国及美国研究显示 mEPHX 139A/G SNP,可能通过影响 mEPHX 蛋白的稳定性而改变酶的活性,与 COPD 的易感性有关。台湾研究发现 mEPHX 113T/C SNP 与 COPD 易感性有关^[8]。韩国、日本、突尼斯、斯洛伐克及澳大利亚均未发现 mEPHX 基因多态性与 COPD 有关。

2.2.2 谷胱甘肽 S 转移酶(GSTs) GSTs 是一个具有生物转化作用的超家族酶系,参与机体的 II 相解毒反应,通过促进谷胱甘肽和各种亲电子物质的结合来解除烟草烟雾中的各种有毒物质。在防御氧化应激从而防止 COPD 的发生、发展过程中起重要作用。GSTs 主要包括 GSTP1、GSTM1、GSTT1 几

^{*} 基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号 81170035)。 作者简介:胡娜,女,硕士在读,主要从事临床免疫学研究。 [△] 通讯作者, E-mail: tianpencui@hotmail.com。

种亚型,目前研究最多的是 GSTP1。GSTP1 是肺脏最重要的抗氧化酶,其有两个多态位点:105Ile/Val 和 114Ala/Val。Lakhdar 等^[9]研究发现突尼斯人 GSTP1 突变会增加患 COPD 的风险。GSTM1 的纯合子突变可造成 GSTs 酶类的失活,导致机体解毒能力下降,与肺癌、肺气肿等发病有关。Xue 等^[10]研究发现 GSTM1、GSTT1 单独突变与 COPD 无关,但是联合突变会增加患 COPD 的风险。GSTT1 能利用被氧化的脂质和 DNA 作为底物进行解毒反应。俄罗斯学者研究发现 GSTT1 能减缓 COPD 的进程^[11]。

2.2.3 细胞色素 P450 酶(CYP450) CYP450 是体内主要的多环芳烃代谢酶,分布于内质网和线粒体中,参与许多内源和外源性物质的生物转化过程。香烟烟雾中大量多环芳烃,经体内酶系统激活成亲电子物质,引起氧化应激反应,CYP450 在 COPD 发病中起重要作用。它们有着非常广泛的基因多态性,目前与 COPD 发生密切相关的基因因素是 CYP1A2、CYP2A6、CYP2D6。Ahmet 等^[12]发现土耳其人 CYP1A2 163C/A SNP 增加 COPD 的患病风险。日本研究发现 CYP2A6 D 等位基因缺失能阻抗 COPD 的发展。其他的还有 CYP1A1、CYP1B1、CYP2E1 等,突变可能影响 CYP450 的活性。

2.3 细胞因子基因 许多细胞因子组成复杂的网络,通过调节细胞功能来参与 COPD 发生、发展过程。

2.3.1 肿瘤坏死因子- α (TNF- α) TNF- α 通过激活核因子和其他转录因子来放大炎症反应,增强微血管通透性,趋化中性粒细胞,增强炎症局部淋巴细胞浸润和增殖,刺激气道平滑肌细胞分泌内皮素-1,收缩气道平滑肌使气道细胞增殖,引起气道重构,TNF- α 在 COPD 发展中起重要作用。目前它与 COPD 的多态性已受到大家的关注。有研究发现 TNF- α + 489G/A SNP 与克罗地亚人 COPD 无关^[13]。日本发现 TNF- α - 308G/A 在 COPD 组和健康对照组间比较差异有统计学意义,但土耳其得出不一致的结论^[14-15]。

2.3.2 转移生长因子- β 1(TGF- β 1) COPD 是与气道重塑有关的一种慢性炎症性疾病,包括成纤维细胞增生、胶原及氨基聚糖沉积、杯状细胞增生及黏液腺增生肥大,而 TGF- β 1 具有调节这些病理过程。在炎性细胞扩增和分化中 TGF- β 1 可抑制 MMPs 对弹性纤维的消化,加速其构建,促进基质蛋白的合成和分泌,帮助修复 COPD 高危人群的肺组织损伤。随着对其研究的深入,发现 TGF- β 1 基因多态性与 COPD 的发生有很大联系。Liu 等^[16]研究 TGF- β 1 869T/C SNP,发现 C 等位基因是导致 COPD 的重要危险因素。荷兰学者研究发现 TGF- β 1-509C/T、10Leu/Pro SNPs 与 COPD 有关^[17]。

2.3.3 干扰素- γ (IFN- γ) IFN- γ 是一种调节细胞功能的小分子多肽。在 COPD 急性加重期,IFN- γ 浓度明显升高,呈过度活化状态,活化的 IFN- γ 可激活中性粒细胞,促进炎症蛋白和炎性介质的释放,从而促进炎性细胞渗出,导致病情加重。加拿大研究发现 IFN- γ rs2069727 SNP 与 COPD 有关^[18]。

2.3.4 集落刺激因子(CSF) 当烟雾中的有害粒子、粉尘、细菌等进入气道刺激上皮细胞产生的 CSF,调节中性粒细胞活化与聚集。中性粒细胞受 CSF 刺激后,表达 L-选择素及 LFA-1 可与血管内皮上的选择素受体、血清细胞间黏附分子结合,从而黏附在血管内皮上,在炎症因子如 IL-6、IL-8 等的作

用下,释放中性粒细胞酶,使胶原组织溶解及弹性组织断裂增加,导致 COPD 的发生。加拿大研究发现 CSF3-1719C/T、-882G/A、2176T/C 不仅与 COPD 导致的肺功能有关,还与 FEV1 有关^[19]。

2.4 肺相关基因

2.4.1 肺表面活性蛋白(SPs) SPs 是肺泡表面活性物质的重要组成部分,起着内在的宿主防御和调节炎症反应的作用。SPs 包括 SPA、SPB 和 SPD 等,起重要作用的是 SPA。Guan 等发现 SPA rs1136451 SNP 与汉族人 COPD 相关。日本研究发现 SPD(rs721917、rs10887199)单体型与 COPD 有关,rs721917 位点上 C 等位基因导致血清 SPD 浓度降低,更易导致 COPD^[20]。

2.4.2 人类 β -防御素-1(hBD-1) hBD-1 是宿主抵御感染的重要的低分子阳离子多肽,其富含半胱氨酸和精氨酸。早期研究发现铜绿假单胞菌能定植、集落于囊性肺纤维化患者的呼吸道黏膜且与 hBD-1 功能失活有关,提示 hBD-1 是呼吸道黏膜抗感染防御机制的重要分子基础。虽然人肺内的 hBD-1 表达强度较低,但从近端的气管到远端的细支气管、肺泡上皮细胞和黏膜下腺体均有表达。中国研究 hBD-1SNP 发现 hBD-1 138Val/Ile 是 COPD 发病的危险因素,突变导致肺的防御功能减弱。孙丽蓉等^[21]研究发现 hBD-1 668 C/G SNP 与汉族人 COPD 易感性有相关性。

2.5 凋亡相关基因 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)属凋亡抑制基因,阻遏细胞凋亡,延长细胞寿命。早期的研究发现,肺气肿与 CD8+CTL 细胞介导有关,且该细胞的数量与吸烟者呼吸道受限呈负相关。Bcl-2 可能通过影响 CD8+CTL 细胞的成活来改变 COPD 患者肺泡结构的减少。日本研究发现 Bcl-2 rs1564483 和 rs3943258 SNPs 与 COPD 患者肺功能下降相关^[22]。

2.6 COPD 其他基因

2.6.1 热休克蛋白(Hsp) Hsp 是一类进化上高度保守的蛋白质,它们在高温、缺血、缺氧、感染、吸烟和环境污染等许多应激因素作用下可诱导高表达,从而保护细胞免受环境有害因素的损害。克罗地亚学者研究发现 hsp70-2(+1267A/G)与 COPD 有相关性,hsp70-hom(+2437T/C)与 COPD 无关^[13]。

2.6.2 内皮型一氧化氮合酶(eNOS) 在 eNOS 作用下,由 L-精氨酸转化为 L-瓜氨酸而产生的 NO,对维持正常的肺血管阻力有重要作用。eNOS 基因突变可能导致 eNOS 的 mRNA 表达减少,而使血管局部的 eNOS 活性及含量下降,导致 NO 合成减少最终使内皮细胞功能失调,在缺氧状态下促进肺动脉高压的发生与发展,从而引发 COPD。Sun 等^[23]研究发现汉族人 eNOS 894G/T SNP 与 COPD 有关。印度学者研究发现 eNOS -786T/C、-922A/G 和 894G/T SNPs 与 COPD 有关^[24]。

2.6.3 β 2-肾上腺素能受体(ADRB2) ADRB2 主要分布于气管平滑肌、支气管上皮黏膜下腺肺动脉、内皮肺动脉平滑肌、肺泡壁以及许多免疫细胞表面,具有 7 个跨膜结构的 G 蛋白偶联受体,可与内源性儿茶酚胺以及外源性受体激动剂、拮抗剂结合,将信号传导到细胞内调节气道反应性。台湾研究发现 ADRB2+46A/G SNP 与 COPD 易感性有关,ADRB2+79C/G SNP 影响 COPD 疾病的严重性,北美认为 ADRB2+79C/G SNP 能减缓吸烟者肺功能的下降。Thomsen 等^[25]研究发现

ADRB2 164Thr/Ile 会增加丹麦人 COPD 的患病风险。

3 展 望

为了更好的识别 COPD 的变异基因,了解 COPD 的易感性,这就需要研究者进行 GWAS 和疾病机制研究。随着 GWAS 成本的降低,对于患者来说 GWAS 是很实际的。一旦变异基因被识别,研究者要从分子方向上了解疾病的发病机制,研究一些通过修复治疗的方法来抑制导致疾病的路径。了解 COPD 易感基因同时也利于发展个体化医药治疗。期望在不久的将来,基因信息能成为关注患者的常规部分,这些基因信息可以告诉内科医生患者的易感性、疾病进程、潜在的并发症和联合病变,以利于得到更好的治疗,最终减轻 COPD 患者的身体痛苦和经济负担。

参考文献

- [1] Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, et al. Requirement for macrophage elastase for cigarette smoke-induced emphysema in mice[J]. Science, 2007, 288(5334): 2002-2004.
- [2] Serres FJ, Blanco I, Fernandez-Bustillo E. Estimating the risk for alpha-1 antitrypsin deficiency among COPD patients: evidence supporting targeted screening[J]. COPD, 2006, 3(1): 133-139.
- [3] Quint JK, Donaldson GC, Kumari M, et al. SERPINA1 11478G/A variant, serum α 1-antitrypsin, exacerbation frequency and FEV1 decline in COPD[J]. Thorax, 2011, 66(5): 418-424.
- [4] Chen L, Wang T, Liu L, et al. Matrix metalloproteinase-9 -1562C/T promoter polymorphism confers risk for COPD: a meta-analysis [J]. PloS One, 2013, 8(3): e60523.
- [5] Mogulkoc U, Coskunpinar E, Aynaci E, et al. Is MMP-7 gene polymorphism a possible risk factor for chronic obstructive pulmonary disease in Turkish patients[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2012, 16(6): 519-523.
- [6] Kumar M, Bhadoria DP, Dutta K, et al. Combinatorial effect of TIMP-1 and α 1AT gene polymorphisms on development of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Clin Biochem, 2011, 44(13): 1067-1073.
- [7] 王伟, 徐敏, 胡克, 等. 基质金属蛋白酶-2 组织抑制剂基因多态性与慢性阻塞性肺病患者肺功能关系 [J]. 中国老年医学杂志, 2010, 30(23): 3477-3478.
- [8] Chen CZ, Wang RH, Lee CH, et al. Polymorphism of microsomal epoxide Hydrolase is associated with chronic obstructive pulmonary disease and bronchodilator response[J]. J Formos Med Assoc, 2011, 110(11): 685-689.
- [9] Lakhdar R, Denden S, Knani J, et al. Association of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease in a Tunisian population[J]. Biochem Genet, 2010, 48(7/8): 647-657.
- [10] Xue H, Su J, Sun K, et al. Glutathione S-transferase M1 and T1 gene polymorphism and COPD risk in smokers: an updated analysis[J]. Mol Biol REP, 2012, 39(4): 5033-5042.
- [11] Nevzorova VA, Vakhrusheva SE, Tilik TV, et al. Polymorphism of GSTT1 and GSNM1 glutathione transferase genes in smokers and patients at the early stages of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Klin Med(Mosk), 2012, 90(7): 42-46.
- [12] Uslu A, Ogus C, Ozdemir T, et al. The effect of CYP1A2 gene polymorphisms on theophylline metabolism and chronic obstructive pulmonary disease in Turkish patients[J]. BMB Rep, 2010, 43(8): 530-534.
- [13] Matokanovi M, Rumora L, et al. Association of hsp70-2 (+1267A/G), hsp70-hom(+2437T/C), HMOX-1 (number of GT repeats) and TNF-alpha(+489G/A) polymorphisms with COPD in Croatian population[J]. Clin Biochem, 2012, 45(10/11): 770-774.
- [14] Sakao S, Tatsumi K, Igari H, et al. Association of tumor necrosis alpha gene promoter polymorphism with the presents of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163(2): 420-422.
- [15] Melek K, Ulubay G, Sarinc Ulasli S, et al. Associations between TGF- β 1 G/A and TNF- α 308 G/A gene polymorphisms with airway resistance in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Tuberk Toraks, 2013, 61(1): 8-11.
- [16] Liu DS, Li XO, Ying BW, et al. Effects of single nucleotide polymorphisms 869 T/C and 915 G/C in the exon 1 locus of transforming growth factor-beta1 gene on chronic obstructive pulmonary disease susceptibility in Chinese[J]. Chin Med J(Engl), 2010, 123(4): 390-394.
- [17] Van Diemen CC, Postma DS, Aulchenko YS, et al. Novel strategy to identify genetic risk factors for COPD severity: a genetic isolate [J]. Eur Respir J, 2010, 35(4): 768-775.
- [18] Hackett TL, Stefanowicz D, Aminuddin F, et al. Effect of gene environment interactions on lung function and cardiovascular disease in COPD. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis[J]. Eur Res Pir J, 2011, 6: 277-287.
- [19] He JQ, Shumansky K, Connett JE, et al. Association of genetic variations in the CSF2 and CSF3 genes with lung function in smoking-induced COPD[J]. Eur Respir J, 2008, 32(1): 25-34.
- [20] Ishii T, Hagiwara K, Kamio K, et al. Involvement of surfactant protein D in emphysema revealed by genetic association study[J]. Eur J Hum Genet, 2012, 20(2): 230-235.
- [21] 孙丽蓉, 张敏, 李冬梅, 等. 人类 β -防御素-1 基因多态性与慢性阻塞性肺疾病关系的研究[J]. 医学研究杂志, 2010, 39(2): 81-84.
- [22] Sata M, Takabatake N, Inoue S, et al. Intronic single-nucleotide polymorphisms in Bcl-2 are associated with chronic obstructive pulmonary disease severity[J]. Respirology, 2007, 12(1): 34-41.
- [23] Sun LR, Wang C, Wu AQ, et al. Gene polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase enzyme and pulmonary hypertension in patient with chronic obstructive pulmonary disease[J]. Zhonghua Jie He Hu Xi Za Zhi, 2008, 31(5): 335-340.
- [24] Arif E, Ahsan A, Vibhuti A, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene variants contribute to oxidative stress in COPD[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 361(1): 182-188.
- [25] Thomsen M, Nordestgaard BG, Sethi AA, et al. β 2-adrenergic receptor polymorphisms, asthma and COPD: two large population-based studies[J]. Eur Respir J, 2012, 39(3): 558-566.

(收稿日期: 2013-09-04)