

· 创刊30周年纪念 ·

结核病易感基因研究进展

马麦卷 刘玮 曹务春

【关键词】 结核病; 易感基因; 全基因组关联研究

Host susceptibility genes of tuberculosis MA Mai-juan, LIU Wei, CAO Wu-chun. Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

Corresponding authors: LIU Wei, Email: liuweixzt@yahoo.com; CAO Wu-chun, Email: caowc@nic.

bmi.ac.cn

【Key words】 Tuberculosis; Susceptibility gene; Genome-wide association study

结核病研究虽然长达几个世纪之久,但到目前为止,仍然是由单一病原菌导致死亡人数最多的疾病,并且近年来呈现死灰复燃之势,为此WHO于1993年宣布结核病为新发的全球公共卫生事件。近年来,发达国家通过研制有效的抗菌药和改善社会经济条件以降低结核病发病率和死亡率,但是结核病仍为发展中国家的主要健康威胁之一。根据2009年WHO估计,2007年全球结核病新发病例为927万,其中我国约为130万^[1]。流行病学调查显示,不到10%的结核分枝杆菌感染者会发展成为活动性结核病,而大多数的感染者却能控制或者清除结核分枝杆菌^[2]。感染结核分枝杆菌能否发展成为临床症状的结核病与机体免疫状态相关,而机体的免疫状态很大程度上是由宿主基因决定的,一系列的研究已经证明宿主的遗传因素在结核病发展过程中发挥着重要的作用^[3-6]。

Stead等^[7]研究发现,在25 000名结核分枝杆菌素试验阴性的疗养院人群中,黑人的结核感染率是白人的2倍多,但未发现任何环境危险因素,因为他们的生活环境和生活方式极为相似,从而认为结核遗传易感性在不同人种中的确存在差异。另一方面,双生子研究发现同卵双生子患病一致性远大于异卵双生子,说明即使在同一种族内,遗传因素也对结核病发生起到不可忽视的作用。

在这些重要结果发现以前,人们一直认为肿瘤、心脑血管疾病、糖尿病等慢性疾病具有明显的宿主遗传易感性,而传染病的发生及其所导致的死亡则

是由不良的环境因素所致。然而,结核病易感基因的系列发现颠覆了这种传统观念,并促使该领域的相关研究迅速开展,但到目前为止,关于结核病易感基因的研究,甚至整个传染病领域易感基因的研究依然远远滞后于其他非传染性疾病,这是由于病原体、环境、宿主之间相互作用非常复杂所造成的。结核病等多种传染病的遗传易感性是多因素影响和作用的结果,因此,任何易感基因的研究结论都必须考虑到宿主遗传易感性之外的影响因素。

一、结核病易感基因研究现状

研究结核病遗传易感性,最理想的研究设计是在收集大量病例和对照的基础上,对每个个体的基因组进行测序以获得所有的变异位点进行分析。然而涉及到结核病所有的易感基因不能用单一的研究设计来完成,因为所有的研究设计均存在一定的缺陷。全基因组连锁分析可以确定染色体的某一段区域所包含的未知的潜在候选易感基因;而候选基因关联分析主要是基于预测的基因在动物和人的功能而进行研究,对感兴趣基因的突变或者多态性进行研究,分析基因突变位点或多态性位点频率在病例和对照人群中的分布,进而确定候选基因与疾病的关系。近年来,全基因组关联研究(GWAS)已成为一种新的寻找疾病致病基因的重要手段而应用于复杂疾病的研究,但是到目前为止,有关不同种族人群结核病GWAS仍是凤毛麟角。

1. 连锁分析研究(linkage studies): 连锁研究主要是确定包含易感基因所在染色体位置,发现已有研究未证实的与疾病相关新易感基因及通路相关基因。由于连锁研究能够对感兴趣的基因绘制遗传和物理图谱,因此广泛应用于单基因疾病易感基因的研究中。但是对于复杂疾病情况就有所不同,需要

确定更多的染色体区域、鉴定更多的基因。连锁分析主要分为“以模型或者参数为基础的”和“随机模型或者非参数为基础”的连锁分析,以模型或者参数为基础的连锁分析主要用于分析表型和影响其表达的影响因素之间的关系,进而确定易感基因在染色体上的位置;而随机模型或者非参数连锁分析主要用于表型和基因之间关系不明确的复杂疾病研究。一旦发现连锁,则可以通过绘制基因和物理图谱以缩小其在染色体上的区间,从而可以选择此区间功能已知的基因作为候选基因,或者对未知功能基因所在位置进行克隆。

到目前为止,结核病全基因组连锁分析研究在不同的人群中已经完成。虽然研究发现了预测连锁区域,但是没有任何一项研究结果达到全基因组范围内的意义。Bellamy 等^[8]于 2000 年首次在冈比亚和南非孪生人群中完成了连锁分析,结果显示南非人群中 15q11~13 和冈比亚人群 Xq 包含可能的结核病易感基因。Miller 等^[9]在巴西人群中的研究发现,10q26.13、11q12.3 和 20p12.1 可能包括结核病易感基因;Baghdadi 等^[10]在摩洛哥人群中发现,8q12~13 包含一个主要结核病易感基因,但是至今未在其他人群中得到验证。Cooke 等^[11]在南非和马拉维人群研究发现,6p21~q23 和 20q13.31~33 可能包含结核病易感基因,随后的病例对照关联研究表明,组织蛋白酶 Z(CTS2)和黑皮质素 3 受体(MC3R)与结核病易感性相关^[12]。2008 年 Stein 等^[13]在乌干达人群中研究发现,2q21~24 及 2q25 和 p13~5q22 在结核分枝杆菌素试验持续阴性(PTST)的人群中以及 7p22~21 和 20q13(与 2008 年 Cooke 等^[11]研究一致)在结核病人群中包含易感基因。Mahasirimongkol 等^[14]最近在泰国人群的研究发现,5q23.2~31.3 区段包含大量结核病易感基因如 IL-3、IL-4、IL-5 和 IL-13 等。随后的分析将发病年龄作为协变量,结果发现 17p13.1~13.3 和 20p13~12.3 与结核病初期发病有着很强的关联。最近,Cobat 等^[15]发现了第一个与抵抗结核病感染相关的易感基因位于 5p15 和 11p14。

通过对以上研究结果分析发现,在不同人群所确定的结核病易感基因区域很少或者几乎没有重叠。其主要原因可能有:一是以上研究确定的易感基因区域在不同种族的家系中具有独特性,因此不可能在其他种族家系人群中验证;二是家系人群较少,容易产生假阳性或假阴性;三是对纳入人群表型定义不同也可能导致结果不可重复。

2. 基于候选基因的关联研究:在结核病易感基因研究中,基于候选基因的关联研究是应用最广泛的方法,主要包括以人群为基础的病例对照关联分析和以家系为基础的关联分析。人群为基础的病例对照关联分析,通过对候选基因的单核苷酸多态性(SNP)位点在病例和对照组的等位基因频率进行比较进而确定候选基因与疾病的关系;家系为基础的关联分析是通过研究家系人群,采用传递不平衡实验,评估标记等位基因从杂合子双亲到受累后代的概率。与家系为基础关联研究相比,人群为基础的病例对照关联研究在探究微效基因对疾病的影响和提供合适的样本量方面更具潜力。虽然病例对照关联研究能够探究候选基因对疾病的微弱影响,但是病例对照研究同样也能引起以下的问题:一是特异性的等位基因是否是导致疾病发生的真正原因;等位基因极有可能并不影响疾病进程,而是与疾病相关的真正基因存在连锁不平衡;二是人群的混杂性,因此,在进行病例对照研究时,人群的分层对重复和验证关联研究显得异常重要。

过去的研究发现,结核病易感基因主要包括参与抗原递呈的人类白细胞分化抗原(HLA)基因、参与炎症反应和调节机体免疫应答的细胞因子和趋化因子类基因、调节巨噬细胞微环境的自然抗性相关巨噬细胞蛋白 1(NRAM1)基因、参与巨噬细胞凋亡或者 T 细胞下调作用的核体蛋白 110(SP110)基因、直接杀伤病原的一氧化氮合酶(NOS2A)基因、参与炎症反应和巨噬细胞吞噬作用的甘露糖凝集素(MBL)基因、参与维生素 D 代谢的维生素 D 受体(VDR)基因、识别病原体的 Toll 样受体(TLR)基因以及细胞因子和趋化因子。虽然以上基因与结核病易感性在不同人群中进行了研究,但是由于人群遗传多样性和疾病复杂性,只有部分基因能在不同的人群中得到一致性的结果,而大部分基因只在部分人群中存在关联。

(1) HLA 基因:HLA 基因家族包括约 200 个基因,在不同的人群有着高度的多态性,而这种高度多态性可能主要是由不同的选择压力所导致。在过去的几十年,人们已经对 HLA 基因与结核病易感性进行了研究,其中 HLA-DR2 基因是研究最多也是在不同人群中得出结论最一致的一个基因,在印度、印度尼西亚、泰国和俄罗斯人群中与结核病发病相关^[16-20]。但在中国、埃及、北美等人群中未发现 HLA-DR2 与结核病有关^[21-23]。同时 Goldfeld 等^[24]研究也发现,在柬埔寨人群中 HLA-DQB1*0503 多态

性影响结核病进程;还有研究发现在泰国和南印度人群中 HLA-DQB1*0601 与结核病相关^[23, 24]; Lombard 等^[25]发现 HLA-DRB1*1302 与文达人群结核易感性相关。通过对 HLA 基因多态性与结核病易感性研究的逐步深入研究发现:HLA 各位点复杂的多态性、各位点间的连锁不平衡及其与各种细胞因子间的复杂联系,在不同人种中往往得出不一致结论,而且很难解释它们与疾病是否真正关联。随着越来越多结核易感基因的发现,近年来研究热点逐渐转移到了非 HLA 基因上。

(2)NRAMP1 基因:是第一个通过小鼠模型研究确定为结核分枝杆菌易感基因,其主要作用是调节巨噬细胞内铁离子微环境,而铁离子微环境的改变可能导致早期结核分枝杆菌感染。早在 1997 年 Gruenheid 等^[26]就推测 NRAMP1 基因变异可能会导致其蛋白功能改变,从而影响宿主对疾病的易感性。后来一系列研究证实 NRAMP1 基因多态性在不同人群中与结核病易感性存在关联^[27-29]。已有研究证实启动子区 118 等位基因[(GT)9]能够导致 NRAMP1 基因高表达和人群对结核病的抵抗^[30]。相反,120 等位基因[(GT)10]有着较弱的启动子活性和对结核病易感性^[28]。然而,也有研究分别在西非、亚洲和南非人群中对 NRAMP1 基因 3' 端非翻译区(3' UTR)进行了研究^[28, 29, 31],表明 NRAMP1 3' UTR 变异能够大大地增加肺结核患病风险。Hoal 等^[28]对 NRAMP1 基因 13 个 SNP 在非洲的美国人、美国的高加索人群研究表明,有 2 个 SNP 与高加索人群结核病易感性相关,1 个 SNP 与非洲美国人群结核病易感性相关,而这些 SNP 位点并不出现在 NRAMP1 基因启动子区域的(GT)9 重复序列等位基因、TGTT 缺失及 3' UTR。

(3)NOS2A 基因:NO 可以产生于人体内多种细胞。如当体内内毒素或 T 细胞激活巨噬细胞和多形核白细胞时,能产生大量诱导型 NOS 和超氧化物阴离子自由基,从而合成大量 NO 和 H₂O₂,这对于杀伤入侵的细菌、真菌等微生物和肿瘤细胞、有机异物及在炎症损伤方面起着十分重要的作用^[32]。NO 的产生主要依赖于 NOS2A 基因编码的 3 种合酶(神经型、诱导性和内皮型 NOS)^[33],NO 的产生介导结核病或者其他传染病的免疫应答^[32]。虽然 NO 在控制结核病感染特异性的机制不是很明确,但是有可能参与破坏细菌 DNA、蛋白和巨噬细胞凋亡的信号传导以及肉芽肿形成。后来 Jamieson 等^[34]在巴西人群家系研究发现,位于 NOS2A 基因启动子区域的 2 个

功能多态性位点 rs2779249 和 rs2301369 与结核病易感性相关,但是同样位于启动子区域的另外一个多态性位点 rs1800482 在墨西哥人群中与结核病没有任何关联^[35]。Gómez 等^[36]发现 NOS2A 启动子区微卫星多态性与哥伦比亚人群对结核易感性有着极大关联。在南非人群中,启动子区 2 个功能性位点 rs9282799 和 rs8078340 所构成的单倍体与肺结核易感性相关^[37],另外最近研究发现 rs2274894 和 rs7215373 与非洲美国人及非高加索人群肺结核易感性有着很强的关联^[38]。

(4)SP110 基因:通过对小鼠模型的研究,发现一种能调节结核病天然免疫的基因(intracellular pathogen resistance 1, Ipr1),它对结核分枝杆菌感染免疫的调节作用主要是控制结核分枝杆菌在肺部组织的繁殖和巨噬细胞凋亡^[39],以抵抗病原体感染^[40]。在人体中,与 Ipr1 同源的是 SP110 基因,因此推测 SP110 是结核病易感的候选基因。已有研究发现 SP110 基因 3 个 SNP 与西非人群结核病易感性相关^[41],在中国人群也发现 Sp110 基因 rs1135791、rs722555 和 rs11679983 多态性与结核病易感性相关。但是随后在加纳、俄罗斯和南非人群的实验并没有得出同样结果^[42]。值得注意的是,西非人群研究是以家系为基础的研究,而其他研究是以病例对照研究,使得研究人群的年龄在两种研究设计中存在差异,因此得出的结论可能与年龄相关。然而,后来的研究发现年龄与结核病易感之间没有关联^[43]。

(5)MBL 基因:存在于血清中的凝集素,在调节炎症反应和吞噬作用中具有重要作用。推测 MBL 通过一系列复杂调节影响单核细胞细胞因子的释放^[44, 45]。已有研究表明,位于 MBL 基因上的 3 个变异位点等位基因包括外显子 1 密码子 52、54 或 57 位的单碱基突变导致所编码的胶原区氨基酸分别由半胱氨酸(Cys)替代赖氨酸(Lys)、天冬氨酸(Asp)替代甘氨酸(Gly)、谷氨酸(Glu)替代甘氨酸(Gly)。这些替代可导致 MBL 三股螺旋胶原结构裂解,不能多聚化或形成畸变的 MBL 寡聚体,使蛋白极易降解,能够影响其蛋白的稳定性,进而下调血清中 MBL 的水平^[46, 47]。动物实验表明,MBL 缺陷小鼠对结核病易感性增加。人群病例对照关联研究显示,已知的 3 个变异位点多态性均与结核分枝杆菌感染相关,尤其是在南非、丹麦、土耳其的脑结核人群中。

(6)VDR 基因:VDR 介导维生素 D 活性代谢物 1,25-羟基维生素 D3 的活化,活化的 1,25-羟基维生素 D3 通过刺激细胞介导的免疫应答和单核细胞

包括巨噬细胞在内的细胞活化抑制结核分枝杆菌生长^[48,49]。但是关于 VDR 基因多态性与结核病易感性的关联研究在不同人群中结果并不一致, Lewis 等^[50]通过 Meta 分析发现, 以前的研究由于标本量小导致把握度降低以至结果不能令人信服。最新的 Meta 分析表明, VDR 基因 Bsm1 和 Fok1 位点只与亚洲人群结核病易感性相关, 与非洲和南美洲人群结核病易感性无关^[51]。南非结核病人人群中结核分枝杆菌痰涂转阴的时间长短与 VDR 基因 Apa1 位点“AA”基因型和 TaqI 位点包含“T”等位基因的基因型有关^[52], 同时也发现 VDR 基因 Fok1 位点 FF 基因型及 TaqI 位点 Tt 基因型与临床治疗效果有关^[53]。

(7) TLR 基因: TLR 是 I 型跨膜蛋白质, 识别侵入体内的微生物进而激活免疫细胞的应答, 在先天性免疫系统中起关键作用, 同时 TLR 是模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRR) 的一类, 能够识别与宿主不同的病原体分子^[54]。TLR 作为一种 PRR 通过识别结核分枝杆菌感染表面相关分子, 激活机体适应性免疫应答控制结核分枝杆菌的感染^[55]。rs4833095 (N248S) 和 rs5743618 (I602S) 多态性位点位于 TLR1 蛋白的跨膜区而影响受体的信号转导和功能, 美国黑人群研究发现 2 个 SNP 与结核病易感性相关^[56], 但是与中国汉族人群结核病易感性无关^[57]。对 TLR2 基因多态性与结核病易感性的研究主要集中在 Arg677Trp 和 Arg753Gln 位点上, 但是 2 个位点在中国人群中没有多态性^[57]。Ogus 等^[58]发现 TLR2 Arg753Gln 功能性位点可能对土耳其人群结核病发展起到一定的影响。但是在该研究中该位点基因型在对照人群并不符合 HW 平衡。Yim 等^[59]发现位于内含子一个微卫星位点的 GT 重复序列在结核病患者中更多, 同时表现出较弱的启动子活性并能诱导 TLR2 和 CD14⁺ 的外周血单核细胞表达。由于 TLR4 基因 2 个错义突变 SNP (Asp299Gly 和 Thr399Ile) 不但能够影响 TLR4 蛋白胞外结构域, 而且导致 TLR4 对脂多糖的低反应, 使得结核分枝杆菌更容易逃避机体的监视^[60]。随后的研究发现 Asp299Gly 位点不会影响 TLR4 对脂多糖的低反应和冈比亚人群结核病易感性^[61], 而 Thr399Ile 位点在冈比亚人群中无多态性^[62]。TLR7 和 TLR8 基因位于 X 性染色体上, 推测其基因多态性可能会影响男性结核病易感性。Davila 等^[63]发现 TLR8 基因 rs3764880 位点与印度尼西亚男性结核病人易感性相关, 该结果在俄罗斯男性人群中得到验证, 随后的功能分析表明急性期肺结核病患者 TLR8 表达

上调, 而且结核分枝杆菌 BCG 感染的巨噬细胞中 TLR8 蛋白质表达会升高。最近有关 TLR 基因多态性与西非、美国高加索人群和黑人人群结核病易感性研究表明^[63], TLR2 基因-196 至-174 插入/缺失位点的多态性与西非及美国高加索人群结核病易感性相关, 而 TLR9 基因 rs352143 和 rs5743836 SNP 与美国高加索人群和黑人人群结核病易感性相关。

(8) 细胞因子和趋化因子: 通过对小鼠模型的研究表明, IL-12/IL-23/IFN- γ 信号通路和其他细胞因子共调节在结核分枝杆菌免疫应答过程中发挥重要作用。尤其是 IFN- γ 在控制结核分枝杆菌感染中发挥着重要作用。IFN- γ 基因内含子 +874A/T 是研究最多的多态性位点之一, 已有研究表明 IFN- γ 基因 +874A/T 多态性与非洲和其他人群结核病易感性相关^[64,65], 并与日本病例痰液中结核分枝杆菌转阴有关。IFN- γ 基因 +874 A/T 位点对结核病易感性的影响主要是 A 等位基因干扰 NF- κ B 的结合从而影响 IFN- γ 的表达。IL-10 是辅助性 T2 细胞的主要细胞因子, 同时是结核病慢性感染阶段免疫应答不可或缺的细胞因子。然而, 结核病关联研究最终没有确定 IL-10 基因多态性位点与肺结核的关系^[57,65-67], 但是, IL-10 单倍型与 TST 表型应答相关在一些研究中得到证实^[67]。TNF- α 介导的免疫应答在结核分枝杆菌感染过程中起到很重要的作用^[68]。针对 TNF- α 基因-308G/A、-857C/T、-1031T/A 多态性与结核病的关联研究在不同人群得到的结果不一致^[65]。鉴于 TNF- α 家族成员及其受体在机体免疫应答调节中发挥的重要作用, 后来研究人员对 TNF 受体超家族成员 1B 基因的 SNP 进行了研究, 结果发现其与女性抗结核分枝杆菌感染相关^[69]。

趋化因子是一组具有趋化作用的细胞因子, 能吸引免疫细胞到免疫应答局部, 参与免疫调节和免疫病理反应, 在抵抗结核分枝杆菌感染过程中发挥着重要的作用。C-C 趋化因子配体 2 基因 (CCL2) 所编码的单核细胞吸附蛋白 1 (MCP-1) 是结核分枝杆菌感染部位单核细胞 T 淋巴和细胞自然杀伤细胞招募必需分子, 同时也参与肉芽肿的形成过程^[70,71], 使得结核分枝杆菌更容易进入到机体的肺部。动物模型研究表明, 敲除 CCL2 基因的小鼠更容易感染结核分枝杆菌^[72]。Flores-Villanueva 等^[35]发现, 在墨西哥和韩国人群中, CCL2-2258G 等位基因 (rs1024611) 能够增加人群对肺结核的易感性, 然而小样本量的巴西和大样本量的南非人群中并没有发现任何关联^[34,37]。与 Flores-Villanueva 等^[35] 的研

究相反,CCL2-2258G等位基因与加纳人群对结核病的抵抗相关^[73]。随后的研究发现CCL2-2518和-362多态性位点连锁不平衡可能导致CCL2-2258G在加纳结核病人群中的保护作用^[73],然而该显著性关联并未在其他人群中得到验证。

3. GWAS:指在全基因组层面上开展多中心、大样本、反复验证的基因与疾病关联的研究,通过对大规模群体DNA样本进行全基因组高密度遗传标记(如SNP或CNV等)分型,从而寻找与复杂疾病相关遗传因素的研究方法,全面揭示疾病发生、发展与治疗相关的遗传基因。这一研究方法的引入,使对遗传流行病的发病预测不再停留在传统的年龄、家族史等“环境性”因素分析,而是通过对人体全基因组分析,找出可能导致发病的基因,并结合“环境性”因素,预测包括癌症在内的多种疾病发病率。2010年英国牛津大学威廉信托基金会病例控制协会(Wellcome Trust Case Control Consortium, WTCCC)研究中心和德国汉堡伯恩哈德-诺赫特热带医学研究所合作,首次对结核病例进行GWAS,利用3699例肺结核病例和7726例对照人群,发现位于18号染色体上的rs4331426位点与肺结核易感性相关。然而,由于rs4331426位点位于“基因沙漠”上(一个大多数情况下沉默的区域,通常称之为“垃圾DNA”),表明该变异本身并不是一个基因,但是可能参与基因调控。而周围的区域看起来似乎高度保守,换句话说,相对地在一些物种中这些区域几乎没有变化。研究结果表明,该变异区域可能在机体功能调节方面发挥着重要的作用。

4. 基因与病原体相互作用的研究:由于免疫系统的复杂性和复杂疾病的多基因性,使得基因与基因相互作用在研究个体对复杂性疾病易感性中发挥更加重要的作用。到目前为止,有关基因与基因的相互作用对结核病影响的研究很少,Velez等^[38]发现NOS2A SNP可能与TLR4和IFNGR1相互作用影响疾病进程,同时发现NRAMP1和NOS2A在高加索人群以及NRAMP1和TLR2在非洲美国人群中的交互作用对疾病的影响要大于单一基因对疾病的影响^[74]。

当然,宿主对结核病易感性除了与宿主基因型相关之外,宿主基因型和细菌菌株之间相互作用也与疾病进程相关。已有研究表明,结核分枝杆菌不同亚型在不同地区和不同人群分布不同。关于宿主基因型与细菌菌株之间相互作用的研究很少,Caws等^[75]首次开展了这方面的研究,并且发现TLR2

597T/C SNP与菌株基因型相关。

二、展望

1. GWAS:虽然GWAS已经揭示了结核病和基因组特定区域之间的关联,但是由于非洲人群多样性以及该研究所用的SNP分析芯片在非洲人群中覆盖率较低,致使该研究结果未取得令人信服的与肺结核易感性相关的基因。因此对结核病的GWAS还需要更大努力,除了发现与结核病相关的易感基因之外,更应该揭示隐藏在这些关联背后的生物化学机制,如解释基因、UTR如何影响与它们有关的疾病发生。

2. 混合作图:在寻找导致疾病的变异时,常用的方法有连锁分析和关联分析。连锁分析限于单基因疾病;而关联分析需要对成千上万的标记进行分析,需要大量经费支持。混合作图则是近年来一个比较有效的介于连锁分析和关联研究之间的一种发现致病基因的新方法,该方法包含 ≥ 2 个不同母系遗传背景的人群,根据某种疾病发病率,推断导致不同人群疾病的危险基因变异。目前,该方法已广泛应用于复杂性疾病研究,包括在非洲人群中糖尿病、肥胖症、高血压、多发性硬化症、前列腺癌和哮喘等复杂性疾病研究,并取得了较好结果。同时来自于墨西哥、西班牙和拉丁美洲的混合人群,中国维吾尔族人群的混合作图正在进行。目前有关结核病混合作图研究还没有相关的报道。除了环境因素和社会经济地位的不同对疾病发病率的影响之外,结核病发病率的不同在很大程度上是由遗传背景的差异所导致。基于混合作图在发现致病基因方面表现出的优点,使其可以作为一种好方法完成初始基因组扫描、定位致病基因等工作。因此,通过不同种族人群的混合作图,很有可能发现与结核病易感性相关的新基因。

3. 基因组拷贝数变异(CNV):CNV包括基因组内从1 kb至几个Mb不等的序列缺失、插入和重复。基因组内存在大约1500个CNV区域,覆盖约12%(约360 Mb)的人类基因组范围,比任何一个最大染色体包含的遗传信息还要多。基于HapMap计划的研究样本,人类第一代基因组CNV图谱已经构建完成。CNV的大小和普遍性提示了它在决定人类复杂疾病、多基因疾病如心血管疾病遗传易感性中的重要作用,原因十分简单:某个CNV所在的位置和范围可以涵盖许多基因。然而要想验证这个研究假设,需要大样本研究和良好表型资料,以及综合地、通过多种方法来根据CNV状态将研究对象正确分组,这对于复杂性疾病易感基因的验证尤为不易。

目前尚未见 CNV 与结核病易感之间关联研究,随着更多小 CNV 和更普遍的与疾病相关 CNV 的发现,其与复杂性疾病的关联研究有望取得突破性进展。

三、结论

结核病不仅受到细菌本身影响,而且还受到遗传和环境因素的影响;而且单一的药物治疗也不能预防和治愈结核病。研究基因多态性与结核病易感性,是从机体的分子水平探讨宿主遗传因素对结核病发病的影响。从目前的研究结果来看,人类结核病易感性与基因多态性有一定的关联性,但这种关联在不同种族间存在差异。何种基因与结核病易感性相关还需要进一步在不同的人群中进行验证。对于结核病这样的复杂疾病,尽管其遗传易感性研究在相当长的时间中充满挑战,但有理由相信其前景是乐观的。

参 考 文 献

- [1] WHO. Report 2009: Global tuberculosis control, epidemiology, strategy, financing. World Health Organization, Geneva: Switzerland, 2009.
- [2] Bloom BR, Small PM. The evolving relation between humans and *Mycobacterium tuberculosis*. *N Engl J Med*, 1998, 338(10): 677-678.
- [3] Comstock G. Tuberculosis in twins: a re-analysis of the Prophit survey. *Am Rev Respir Dis*, 1978, 117(4): 621.
- [4] Jepson A, Fowler A, Banya W, et al. Genetic regulation of acquired immune responses to antigens of *Mycobacterium tuberculosis*: a study of twins in West Africa. *Infect Immun*, 2001, 69(6): 3989.
- [5] Newport M, Goetghebuer T, Weiss H, et al. Genetic regulation of immune responses to vaccines in early life. *Genes Immun*, 2004, 5(2): 122-129.
- [6] Kimman TG, Janssen R, Hoebee B. Future prospects in respiratory syncytial virus genetics. *Future Virol*, 2006, 1(4): 483-492.
- [7] Stead WW, Senner JW, Reddick WT, et al. Racial differences in susceptibility to infection by *Mycobacterium tuberculosis*. *N Engl J Med*, 1990, 322(7): 422-427.
- [8] Bellamy R, Beyers N, McAdam KP, et al. Genetic susceptibility to tuberculosis in Africans: a genome-wide scan. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(14): 8005-8009.
- [9] Miller EN, Jamieson SE, Joberty C, et al. Genome-wide scans for leprosy and tuberculosis susceptibility genes in Brazilians. *Genes Immun*, 2004, 5(1): 63-67.
- [10] Baghdadi JE, Orlova M, Alter A, et al. An autosomal dominant major gene confers predisposition to pulmonary tuberculosis in adults. *J Exp Med*, 2006, 203(7): 1679-1684.
- [11] Cooke GS, Campbell SJ, Bennett S, et al. Mapping of a novel susceptibility locus suggests a role for MC3R and CTSZ in human tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 178(2): 203-207.
- [12] Adams LA, Möller M, Nebel A, et al. Polymorphisms in MC3R promoter and CTSZ 3' UTR are associated with tuberculosis susceptibility. *Eur J Hum Genet*, 2011 Feb 2. [Epub ahead of print]
- [13] Stein CM, Zalwango S, Malone LL, et al. Genome scan of *M. tuberculosis* infection and disease in Ugandans. *PLoS One*, 2008, 3(12): e4094.
- [14] Mahasirimongkol S, Yanai H, Nishida N, et al. Genome-wide SNP-based linkage analysis of tuberculosis in Thais. *Genes Immun*, 2009, 10(1): 77-83.
- [15] Cobat A, Gallant CJ, Simkin L, et al. Two loci control tuberculin skin test reactivity in an area hyperendemic for tuberculosis. *J Exp Med*, 2009, 206(12): 2583-2591.
- [16] Meyer CG, May J, Stark K. Human leukocyte antigens in tuberculosis and leprosy. *Trends Microbiol*, 1998, 6(4): 148-154.
- [17] Ravikumar M, Dheenadhayalan V, Rajaram K, et al. Associations of HLA-DRB1, DQB1 and DPB1 alleles with pulmonary tuberculosis in south India. *Tuber Lung Dis*, 1999, 79(5): 309-317.
- [18] Vejbaesya S, Chierakul N, Luangtrakool K, et al. Associations of HLA class II alleles with pulmonary tuberculosis in Thais. *Eur J Immunogenet*, 2002, 29(5): 431-434.
- [19] Selvaraj P, Uma H, Reetha AM, et al. HLA antigen profile in pulmonary tuberculosis patients & their spouses. *Indian J Med Res*, 1998, 107: 155-158.
- [20] Khomenko AG, Litvinov VI, Chukanova VP, et al. Tuberculosis in patients with various HLA phenotypes. *Tubercle*, 1990, 71(3): 187-192.
- [21] Hawkins BR, Higgins DA, Chan SL, et al. HLA typing in the Hong Kong Chest Service/British Medical Research Council study of factors associated with the breakdown to active tuberculosis of inactive pulmonary lesions. *Am Rev Respir Dis*, 1988, 138(6): 1616-1621.
- [22] Hafez M, el-Salab S, el-Shennawy F, et al. HLA-antigens and tuberculosis in the Egyptian population. *Tubercle*, 1985, 66(1): 35-40.
- [23] Hwang CH, Khan S, Ende N, et al. The HLA-A, -B, and -DR phenotypes and tuberculosis. *Am Rev Respir Dis*, 1985, 132(2): 382-385.
- [24] Goldfeld AE, Delgado JC, Thim S, et al. Association of an HLA-DQ allele with clinical tuberculosis. *JAMA*, 1998, 279(3): 226-228.
- [25] Lombard Z, Brune AE, Hoal EG, et al. HLA class II disease associations in southern Africa. *Tissue Antigens*, 2006, 67(2): 97-110.
- [26] Gruenheid S, Pinner E, Desjardins M, et al. Natural resistance to infection with intracellular pathogens: the Nramp1 protein is recruited to the membrane of the phagosome. *J Exp Med*, 1997, 185(4): 717-730.
- [27] Li HT, Zhang TT, Zhou YQ, et al. SLC11A1 (formerly NRAMP1) gene polymorphisms and tuberculosis susceptibility: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2006, 10(1): 3-12.
- [28] Hoal EG, Lewis LA, Jamieson SE, et al. SLC11A1 (NRAMP1) but not SLC11A2 (NRAMP2) polymorphisms are associated with susceptibility to tuberculosis in a high-incidence community in South Africa. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2004, 8(12): 1464-1471.
- [29] Bellamy R, Ruwende C, Corrah T, et al. Variations in the NRAMP1 gene and susceptibility to tuberculosis in West Africans. *N Engl J Med*, 1998, 338(10): 640-644.
- [30] Awomoyi AA, Marchant A, Howson JM, et al. Interleukin-10, polymorphism in SLC11A1 (formerly NRAMP1), and susceptibility to tuberculosis. *J Infect Dis*, 2002, 186(12): 1808-1814.
- [31] Ryu S, Park YK, Bai GH, et al. 3' UTR polymorphisms in the NRAMP1 gene are associated with susceptibility to tuberculosis in Koreans. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2000, 4(6): 577-580.
- [32] MacMicking J, Xie QW, Nathan C. Nitric oxide and macrophage function. *Annu Rev Immunol*, 1997, 15: 323-350.
- [33] Levesque MC, Hobbs MR, Anstey NM, et al. Nitric oxide synthase type 2 promoter polymorphisms, nitric oxide production, and disease severity in Tanzanian children with malaria. *J Infect Dis*, 1999, 180(6): 1994-2002.
- [34] Jamieson SE, Miller EN, Black GF, et al. Evidence for a cluster of genes on chromosome 17q11-Cq21 controlling susceptibility to tuberculosis and leprosy in Brazilians. *Genes Immun*, 2004, 5(1): 46-57.
- [35] Flores-Villanueva PO, Ruiz-Morales JA, Song CH, et al. A functional promoter polymorphism in monocyte chemoattractant protein-1 is associated with increased susceptibility to pulmonary tuberculosis. *J Exp Med*, 2005, 202(12): 1649-1658.
- [36] Gómez LM, Anaya JM, Vilchez JR, et al. A polymorphism in the

- inducible nitric oxide synthase gene is associated with tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, 2007, 87(4):288-294.
- [37] Möller M, Nebel A, Valentonyte R, et al. Investigation of chromosome 17 candidate genes in susceptibility to TB in a South African population. *Tuberculosis (Edinb)*, 2009, 89(2):189-194.
- [38] Velez DR, Hulme WF, Myers JL, et al. NOS2A, TLR4, and IFNGR1 interactions influence pulmonary tuberculosis susceptibility in African-Americans. *Hum Genet*, 2009, 126(5):643-653.
- [39] Kramnik I. Genetic dissection of host resistance to *Mycobacterium tuberculosis*: the sst1 locus and the Ipr1 gene. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2008, 321:123-148.
- [40] Pan H, Yan BS, Rojas M, et al. Ipr1 gene mediates innate immunity to tuberculosis. *Nature*, 2005, 434(7034):767-772.
- [41] Tosh K, Campbell SJ, Fielding K, et al. Variants in the SP110 gene are associated with genetic susceptibility to tuberculosis in West Africa. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(27):10364-10368.
- [42] Babb C, Keet EH, van Helden PD, et al. SP110 polymorphisms are not associated with pulmonary tuberculosis in a South African population. *Hum Genet*, 2007, 121(3-4):521-522.
- [43] Szeszko JS, Healy B, Stevens H, et al. Resequencing and association analysis of the SP110 gene in adult pulmonary tuberculosis. *Hum Genet*, 2007, 121(2):155-160.
- [44] Holmskov U, Thiel S, Jensenius JC. Collectins and ficolins: humoral lectins of the innate immune defense. *Ann Rev Immunol*, 2003, 21:547-578.
- [45] Dommett RM, Klein N, Turner MW. Mannose-binding lectin in innate immunity: past, present and future. *Tissue Antigens*, 2006, 68(3):193-209.
- [46] Sumiya M, Super M, Tabona P, et al. Molecular basis of opsonic defect in immunodeficient children. *Lancet*, 1991, 337(8757):1569-1570.
- [47] Madsen HO, Garred P, Kurtzhals JA, et al. A new frequent allele is the missing link in the structural polymorphism of the human mannan-binding protein. *Immunogenetics*, 1994, 40(1):37-44.
- [48] Rockett KA, Brookes R, Udalovala I, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 induces nitric oxide synthase and suppresses growth of *Mycobacterium tuberculosis* in a human macrophage-like cell line. *Infect Immun*, 1998, 66(11):5314-5321.
- [49] Rook GA, Steele J, Fraher L, et al. Vitamin D3, gamma interferon, and control of proliferation of *Mycobacterium tuberculosis* by human monocytes. *Immunology*, 1986, 57(1):159-163.
- [50] Lewis SJ, Baker I, Davey SG. Meta-analysis of vitamin D receptor polymorphisms and pulmonary tuberculosis risk Short Communication. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2005, 9(10):1174-1177.
- [51] Gao L, Tao Y, Zhang L, et al. Vitamin D receptor genetic polymorphisms and tuberculosis: updated systematic review and meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2010, 14(1):15-23.
- [52] Babb C, van der Merwe L, Beyers N, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and sputum conversion time in pulmonary tuberculosis patients. *Tuberculosis (Edinb)*, 2007, 87(4):295-302.
- [53] Roth DE, Soto G, Arenas F, et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and response to treatment of pulmonary tuberculosis. *J Infect Dis*, 2004, 190(5):920-927.
- [54] Akira S, Takeda K. Toll-like receptor signalling. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(7):499-511.
- [55] Ferwerda G, Girardin SE, Kullberg BJ, et al. NOD2 and toll-like receptors are nonredundant recognition systems of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog*, 2005, 1(3):279-285.
- [56] Ma X, Liu Y, Gowen BB, et al. Full-exon resequencing reveals toll-like receptor variants contribute to human susceptibility to tuberculosis disease. *PLoS One*, 2007, 2(12):e1318.
- [57] Ma MJ, Xie LP, Wu SC, et al. TLR, Toll-like receptors, tumor necrosis factor- α , and interleukin-10 gene polymorphisms in risk of pulmonary tuberculosis and disease severity. *Hum Immunol*, 2010, 71(10):1005-1010.
- [58] Ogun AC, Yoldas B, Ozdemir T, et al. The Arg753Gln polymorphism of the human toll-like receptor 2 gene in tuberculosis disease. *Eur Respir J*, 2004, 23(2):219-223.
- [59] Yim JJ, Lee HW, Lee HS, et al. The association between microsatellite polymorphisms in intron II of the human Toll-like receptor 2 gene and tuberculosis among Koreans. *Genes Immun*, 2006, 7(2):150-155.
- [60] Arbour NC, Lorenz E, Schutte BC, et al. TLR4 mutations are associated with endotoxin hyporesponsiveness in humans. *Nat Genet*, 2000, 25(2):187-191.
- [61] Newport MJ, Allen A, Awomoyi AA, et al. The toll-like receptor 4 Asp299Gly variant: no influence on LPS responsiveness or susceptibility to pulmonary tuberculosis in the Gambia. *Tuberculosis (Edinb)*, 2004, 84(6):347-352.
- [62] Allen A, Obaro S, Bojang K, et al. Variation in Toll-like receptor 4 and susceptibility to group A meningococcal meningitis in Gambian children. *Pediatr Infect Dis J*, 2003, 22(11):1018-1019.
- [63] Davila S, Hibberd DL, Hari Dass R, et al. Genetic association and expression studies indicate a role of toll-like receptor 8 in pulmonary tuberculosis. *PLoS Genet*, 2008, 4(10):e1000218.
- [64] Velez DR, Wejse C, Stryjewski ME, et al. Variants in toll-like receptors 2 and 9 influence susceptibility to pulmonary tuberculosis in Caucasians, African-Americans, and West Africans. *Hum Genet*, 2010, 127(1):65-73.
- [65] Ossouw M, Nel HJ, Cooke GS, et al. Association between tuberculosis and a polymorphic NF kappaB binding site in the interferon gamma gene. *Lancet*, 2003, 361(9372):1871-1872.
- [66] 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.
- [67] Möller M, Hoal EG. Current findings, challenges and novel approaches in human genetic susceptibility to tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, 2010, 90(2):71-83.
- [68] Davignon JL, Boyer JF, Jamar B, et al. Maintenance of cytomegalovirus-specific CD4 pos T-cell response in rheumatoid arthritis patients receiving anti-tumor necrosis factor treatments. *Arthritis Res Ther*, 2010, 12(4):R142.
- [69] Möller M, Flachsbart F, Till A, et al. A Functional Haplotype in the 3' UTR of TNFRSF1B is Associated with TB in Two African Populations. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 181(4):388-393.
- [70] Hasan Z, Zaidi I, Jamil B, et al. Elevated ex vivo monocyte chemotactic protein-1 (CCL 2) in pulmonary as compared with extra-pulmonary tuberculosis. *BMC Immunol*, 2005, 6:14.
- [71] Allavena P, Bianchi G, Zhou D, et al. Induction of natural killer cell migration by monocyte chemotactic protein-1, -2 and -3. *Eur J Immunol*, 1994, 24(12):3233-3236.
- [72] Kipnis A, Basaraba RJ, Orme IM, et al. Role of chemokine ligand 2 in the protective response to early murine pulmonary tuberculosis. *Immunology*, 2003, 109(4):547-551.
- [73] Thye T, Nejentsev S, Intemann CD, et al. MCP-1 promoter variant -362C associated with protection from pulmonary tuberculosis in Ghana, West Africa. *Hum Mol Genet*, 2009, 18(2):381-388.
- [74] Velez DR, Hulme WF, Myers JL, et al. Association of SLC11A1 with tuberculosis interactions with NOS2A and TLR2 in African-Americans and Caucasians. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2009, 13(9):1068-1076.
- [75] Caws M, Thwaites G, Dunstan S, et al. The influence of host and bacterial genotype on the development of disseminated disease with *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS Pathog*, 2008, 4(3):e1000034.

(收稿日期:2011-04-18)

(本文编辑:万玉立)