

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2015.11.013

论著 · 临床研究

## TIAM1 基因多态性与川崎病及其临床特点的相关性

王娴 朱天娇 周雄飞 万致婷

(咸宁市中心医院儿科, 湖北 咸宁 437100)

**[摘要]** **目的** 探讨 TIAM1 基因多态性与川崎病 (KD) 及其临床特点的相关性。**方法** 采取病例-对照研究方法, 选取 2012 年 3 月至 2014 年 9 月诊断为 KD 的患儿 188 例为 KD 组, 同期选取 197 例健康体检的儿童作为对照组。利用 PCR-RFLP 方法测定 TIAM1 基因 2 个 SNP 位点 rs2833188 和 rs2833195 的多态性分布, 并进行统计分析。**结果** KD 组 SNP 位点 (rs2833188) 的基因型 (AA、AG、GG) 和等位基因分布频率与正常对照组相比差异均无统计学意义 ( $P>0.05$ ); KD 组 SNP 位点 (rs2833195) 基因型 (CC、GC、GG) 分布频率与对照组相比差异有统计学意义 ( $P=0.017$ ), 且 KD 患儿 C 等位基因频率高于对照组 ( $P=0.015$ )。SNP 位点 (rs2833188) 的多态性和 KD 患儿结膜充血的易感性相关 ( $P=0.011$ ); 而 SNP 位点 (rs2833195) 的多态性与 KD 患儿皮疹的易感性相关 ( $P=0.021$ )。**结论** TIAM1 基因的 SNP 位点 rs2833195 的多态性与 KD 的易感性相关; SNP 位点 rs2833188 和 rs2833195 的多态性可能与 KD 患儿的临床特点的发生相关。

[中国当代儿科杂志, 2015, 17(11): 1217-1220]

**[关键词]** 川崎病; TIAM1 基因; 多态性; 临床特点; 儿童

### Association of TIAM1 gene polymorphisms with Kawasaki disease and its clinical characteristics

WANG Xian, ZHU Tian-Jiao, ZHOU Xiong-Fei, WAN Zhi-Ting. Department of Pediatrics, Xianning Central Hospital, Xianning, Hubei 437100, China (Email: Wanzt\_xn@163.com)

**Abstract: Objective** To investigate the association of single nucleotide polymorphisms (SNP) rs2833188 and rs2833195 in TIAM1 gene with the susceptibility to Kawasaki disease (KD) and its clinical characteristic in children. **Methods** A case-control study was performed in this study. One hundred and eighty-eight children with KD and 197 normal children served as controls were enrolled. The genotypes of two SNPs rs2833188 and rs2833195 in TIAM1 gene were detected using PCR-RFLP. **Results** There were no significant differences in the genotype (AA, AG and GG) and allele frequencies of SNP rs2833188 between the KD and control groups. Significant differences in the genotype (CC, GC and GG) frequency of SNP rs2833195 were noted between the KD and control groups ( $P=0.017$ ). The frequency of C allele in the KD group was higher than in the control group ( $P=0.015$ ). The polymorphism of SNP rs2833188 was associated with the occurrence of rash ( $P=0.011$ ), and the polymorphism of SNP rs2833195 was associated with the occurrence of conjunctival hyperemia ( $P=0.021$ ). **Conclusions** The polymorphism of rs2833195 in TIAM1 gene is associated with the susceptibility to KD. The polymorphisms rs2833188 and rs2833195 in TIAM1 gene may be associated with some clinical characteristics in children with KD. [Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(11): 1217-1220]

**Key words:** Kawasaki disease; TIAM1 gene; Polymorphism; Clinical characteristics; Child

川崎病 (Kawasaki disease, KD) 又称为皮肤黏膜淋巴结综合征, 是一种病因不明, 以急性发热、皮肤黏膜病损和淋巴结肿大等为临床表现的全身性血管炎综合征, 好发于 5 岁以下的幼儿<sup>[1]</sup>。该病是一种病因复杂的多因素疾病, 家族聚集现象

显示遗传因素在该疾病的发生过程中起着重要作用<sup>[2]</sup>。T 细胞淋巴瘤侵袭和转移诱导蛋白 1 (T-lymphoma invasion and metastasis, TIAM1) 基因是普遍存在的二磷酸鸟嘌呤核苷酸 (GDP) 和三磷酸鸟嘌呤核苷酸 (GTP) 转换因子<sup>[3]</sup>, 全基因组

[收稿日期] 2015-06-19; [接受日期] 2015-08-20  
[作者简介] 王娴, 女, 硕士研究生, 主治医师。

关联分析 (GWAS) 发现该基因与 KD 以及冠状动脉损伤的易感性相关<sup>[4]</sup>, 国内汉族人群未见类似的报道。本研究以我国中部湖北地区汉族 KD 患儿为研究对象, 探讨 TIAM1 基因的两个位点 rs2833188 与 rs2833195 的多态性与 KD 易感性及其临床特点的相关性。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取 2012 年 3 月至 2014 年 9 月在我院儿科住院的 KD 患儿 188 例为 KD 组, 另选取同期行健康体检的儿童 197 例作为对照组, 两组儿童均来自湖北咸宁及周边地区。KD 组的纳入标准:

- (1) 符合日本川崎病研究委员会 2002 年修订的川崎病诊断标准<sup>[2]</sup>, 且均是典型 KD 患儿;
- (2) 排除猩红热、葡萄球菌烫伤样皮肤综合征、药物过敏及幼年性类风湿性关节炎等疾病。

KD 组纳入的 188 例患儿中, 男 128 例, 女 60 例, 平均年龄  $2.9 \pm 2.4$  岁 (年龄范围 4 个月至 8 岁 2 个月); 对照组 197 例儿童中, 男 125 例, 女 72 例, 平均年龄  $3.1 \pm 2.5$  岁 (年龄范围 8 个月至 8 岁)。KD 组和对照组之间年龄和性别比例分布差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。本研究经医院医学伦理委员会批准并得到入组儿童家属的知情同意。

### 1.2 TIAM1 基因多态性分析

抽取住院 KD 患儿及正常对照儿童静脉血 2 mL, 利用基因组提取试剂盒 (Axygen 公司) 提取 DNA。以 DNA 为模版分别扩增含有单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 位点的 DNA 片段。扩增 SNP 位点 (rs2833188) 的引物为 F1: 5'-GATAGCTGCAGACATGCATAGCTG-3', R1: 5'-TCTCTCATGGGAGTGGGTTGAC-3', 片段长度为 177 bp; 扩增 SNP 位点 (rs2833195) 的引物为 F2: 5'-CACTAGATCAGACAGAAAATAAATTGTT-3', R2: 5'-ATTTGACATGTTTAAAGACTTTAA-GACG-3', 片段长度 183 bp。PCR 总反应体系为 25  $\mu$ L, 含有 10 倍 PCR 反应缓冲液 2.5  $\mu$ L, 10 mM dNTP 混合液 1  $\mu$ L, 10  $\mu$ M 上下游引物各 1  $\mu$ L, TAKARA 公司 Taq 酶 1 U, 剩余体积用 ddH<sub>2</sub>O 补

足; PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s, 共 35 个循环。分别取 5  $\mu$ L PCR 扩增的产物利用限制性内切酶 (NEB 公司) PstI (酶切位点 CTGCAG) 以及 HpaI (酶切位点 GTTAAC) 进行酶切, 3% 琼脂糖凝胶上行电泳分析。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行统计学分析。利用 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验 KD 组及对照组是否具有群体代表性。计量资料用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用两独立样本 *t* 检验; 基因型频率分布和等位基因频率分布用百分率 (%) 表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 TIAM1 基因 SNP 位点基因型的确定及频率分布

利用 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验 KD 组和对照组, 均符合该定律 ( $P > 0.05$ ), 说明两组均具有群体代表性。两个 SNP 位点多态性确定如图 1 所示, 其中 SNP rs2833188 位点的 3 种基因型分别为 AA、AG 和 GG, KD 组和对照组相比基因型和等位基因分布频率差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ) (表 1); rs2833195 位点的 3 种基因型分别为 CC、GC 和 GG, 统计结果显示 KD 组中该位点 3 种基因型频率分布与对照组相比差异有统计意义 ( $P < 0.05$ ), 且 KD 组中 C 等位基因频率高于对照组 ( $P = 0.015$ ) (表 1), 说明该位点与 KD 的易感性相关。

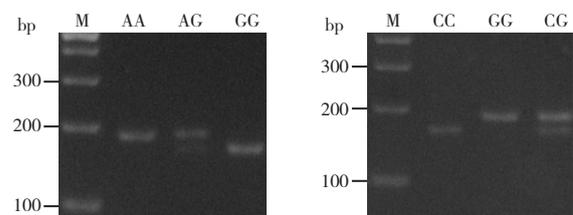


图 1 TIAM1 基因两个 SNP 位点基因型的确定  
左图表示 SNP 位点 rs2833188 的 3 种基因型; 右图表示 SNP 位点 rs2833195 的 3 种基因型, M 表示 Marker。

表1 KD组和对照组两个SNP位点的基因型及等位基因分布 [n(%)]

组别	例数	rs2833188 基因型			rs2833188 等位基因		rs2833195 基因型			rs2833195 等位基因	
		AA	AG	GG	A	G	CC	GC	GG	C	G
对照组	197	88(44.7)	86(43.7)	23(11.6)	262(66.5)	132(33.5)	77(39.1)	92(46.7)	28(14.2)	246(62.7)	148(37.6)
KD组	188	98(52.1)	77(41.0)	13(6.9)	273(72.6)	103(27.4)	89(47.3)	88(46.8)	11(5.9)	266(70.7)	110(29.3)
$\chi^2$ 值		3.604			3.386		8.161			5.961	
P 值		0.165			0.066		0.017			0.015	

## 2.2 TIAM1 基因多态性与KD临床特点的相关性

KD组纳入的KD患儿在初诊时多有结膜充血(165例, 87.8%)、皮疹(122例, 64.9%)、口腔黏膜病变(157例, 83.9%)、淋巴结肿大(142例, 75.5%)、手足水肿(143例, 76.1%)等症状, 其中经超声心动图检查, 存在冠状动脉损伤的患儿45例(23.9%); 此外13例(6.9%)KD患儿初次静脉注射丙种球蛋白(IVIG)无反应。统计结果显示, TIAM1基因SNP位点(rs2833188)不同基因型KD患儿结膜充血的发生率比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )(表2); 而SNP位点(rs2833195)与KD患儿皮疹的发生相关, 不同基因型患儿皮疹的发生率比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )(表3)。

表2 TIAM1 基因 SNP rs2833188 位点多态性与KD临床特点的相关性 [n(%)]

临床特点	例数	rs2833188			$\chi^2$ 值	P 值
		AA	AG	GG		
皮疹	122	61(50.0)	53(43.4)	8(6.6)	0.891	0.641
淋巴结肿大	142	76(53.5)	57(40.1)	9(6.4)	0.591	0.745
结膜充血	165	89(53.9)	68(41.2)	8(4.9)	9.199	0.011
口腔黏膜病变	157	83(52.9)	64(40.8)	10(6.3)	0.518	0.772
手足水肿	143	76(53.1)	60(42.0)	7(4.9)	3.793	0.151
冠状动脉损伤	45	21(46.7)	18(40.0)	6(13.3)	3.876	0.144
IVIG 无反应	13	6(46.2)	5(38.5)	2(15.3)	1.566	0.457

表3 TIAM1 基因 SNP rs2833195 位点多态性与KD临床特点的相关性 [n(%)]

临床特点	例数	rs2833195			$\chi^2$ 值	P 值
		CC	GC	GG		
皮疹	122	62(50.8)	57(46.7)	3(2.5)	7.723	0.021
淋巴结肿大	142	69(48.6)	66(46.5)	7(4.9)	1.048	0.592
结膜充血	165	78(47.3)	79(47.9)	8(4.8)	2.648	0.266
口腔黏膜病变	157	75(47.8)	73(46.5)	9(5.7)	0.173	0.917
手足水肿	143	71(49.7)	66(46.2)	6(4.1)	3.526	0.172
冠状动脉损伤	45	21(46.7)	22(48.8)	2(4.4)	0.262	0.876
IVIG 无反应	13	7(53.8)	4(30.8)	2(15.4)	3.062	0.216

## 3 讨论

KD由日本学者川崎富作于1967年首次报道, 是一种急性、自限性的全身血管炎, 该病在世界范围内均有发生, 但以亚洲地区发病率最高<sup>[5]</sup>, 流行病学调查显示我国KD发病率有上升的趋势<sup>[6]</sup>。约50%的患儿可并发心肌炎、心包炎、心力衰竭等心脏损害, 约15%~25%的患者存在冠状动脉损伤, 研究发现该疾病已取代风湿热成为小儿后天心脏病的主要病因之一<sup>[2]</sup>。

TIAM1基因位于21号染色体q22.1区域, 编码含有1591个氨基酸的蛋白, 该基因是一种原癌基因, 其编码的蛋白N端切除以后可激活其致瘤活性<sup>[7]</sup>。研究发现TIAM1基因在不同组织来源的肿瘤细胞中大量表达, 且该基因在TIAM1-Rac信号通路中发挥重要作用, TIAM1不仅可以激活Rac-GTPase, 还参与选择Rac效应器, 参与细胞骨架的活性调节, 在细胞的迁移及肿瘤细胞侵袭过程中起重要作用<sup>[8]</sup>。

有研究发现TIAM1蛋白在诱导T细胞迁移过程中发挥重要作用, 缺少TIAM1蛋白, T细胞就从旁细胞迁移途径(paracellular transmigration)转变为跨细胞迁移(transcellular migration), 即直接通过单个内皮细胞<sup>[9]</sup>, 推测该基因参与免疫系统疾病。

本研究中的SNP位点(rs2833188)位于TIAM1基因的下游非编码区域, 研究结果显示该位点多态性与KD的易感性不相关, 推测该位点可能不影响TIAM1基因的表达水平; 但统计分析发现该位点的多态性与KD患儿结膜充血相关, 该现象需要大样本验证, 具体的机理需要进一步的研究分析。本研究发现SNP位点(rs2833195)与KD的易感性相关, C等位基因为风险因子, 推测该多态性可能影响TIAM1基因的表达水平, 且该

位点与皮疹的易感性相关，具体的机理亦需要在细胞水平进一步研究。

KD最严重的并发症为冠状动脉损伤，可导致冠状动脉狭窄、动脉瘤破裂等；组织病理学研究发现：在KD的急性期存在淋巴细胞渗透动脉血管壁的现象<sup>[10]</sup>，该现象可能是TIAM1蛋白表达量变化或者功能的改变导致细胞跨细胞迁移所致，进而导致动脉损伤。但本研究未见两个SNP位点多态性与CAL相关，该结果与台湾学者的结论不同<sup>[4]</sup>，可能的原因是纳入的病例数较少或者是由于地区以及人群的差异。

总之，本研究发现TIAM1基因的SNP位点(rs2833195)的多态性与KD的易感性相关，C等位基因为风险因子，且该位点与皮疹的发生存在相关性，该结果为更好的认识KD的发病机理提供了一定的帮助。但该研究仍存在一定的缺陷：标本量较少，并且是单中心研究；今后应加强地区间合作，收集更多的标本，进一步探讨该基因与KD以及临床特点的相关性。

#### [参 考 文 献]

- [1] Bayers S, Shulman ST, Paller AS. Kawasaki disease: part I. Diagnosis, clinical features, and pathogenesis[J]. *J Am Acad Dermatol*, 2013, 69(4): 501.e1-11.
- [2] 彭茜, 陈昌辉, 吴青, 等. CAPS3 基因单核苷酸多态性与中国儿童川崎病的相关性研究[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2013, 30(2): 180-184.
- [3] Boissier P, Huynh-Do U. The guanine nucleotide exchange factor Tiam1: a Janus-faced molecule in cellular signaling[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(3): 483-491.
- [4] Lin MT, Hsu CL, Chen PL, et al. A genome-wide association analysis identifies novel susceptibility loci for coronary arterial lesions in patients with Kawasaki disease[J]. *Transl Res*, 2013, 161(6): 513-515.
- [5] 黄麟, 杨作成. 川崎病发病机制的研究进展[J]. *中华儿科杂志*, 2009, 47(4): 265-267.
- [6] Huang GY, Ma XJ, Huang M, et al. Epidemiologic pictures of Kawasaki disease in Shanghai from 1998 through 2002[J]. *J Epidemiol*, 2006, 16(1): 9-14.
- [7] Liu Y, Ding Y, Huang J, et al. MiR-141 suppresses the migration and invasion of HCC cells by targeting Tiam1[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88393.
- [8] Stankiewicz TR, Ramaswami SA, Bouchard RJ, et al. Neuronal apoptosis induced by selective inhibition of Rac GTPase versus global suppression of Rho family GTPases is mediated by alterations in distinct mitogen-activated protein kinase signaling cascades[J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(15): 9363-9376.
- [9] Gerard A, Vander Kammen RA, Janssen H, et al. The Rac activator Tiam1 controls efficient T-cell trafficking and route of transendothelial migration[J]. *Blood*, 2009, 113(24): 6138-6147.
- [10] Orenstein JM, Shulman ST, Fox LM, et al. Three linked vasculopathic processes characterize Kawasaki disease: a light and transmission electron microscopic study[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e38998.

( 本文编辑: 万静 )