

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2016.12.010

论著·临床研究

肿瘤坏死因子- α G-308A 多态性与自发性 早产遗传易感性的关联研究

彭薇¹ 杨晓¹ 朱丽娜¹ 张小爱² 王艳¹

(1. 中国人民解放军陆军总医院附属八一儿童医院, 北京 100700;
2. 军事医学科学院微生物和流行病学研究所病原微生物生物安全重点实验室, 北京 100071)

[摘要] **目的** 探讨肿瘤坏死因子- α (TNF- α) G-308A 多态性和自发性早产 (SPTB) 易感性的关联。**方法** 收集 753 例 SPTB 患儿为病例组, 681 例足月新生儿为对照组, 利用 Sequenom MassARRAY[®] SNP 检测技术对 TNF- α 基因 G-308A 多态性位点进行单核苷酸多态性检测。**结果** 病例组和对照组等位基因 G、A 分布频率之间的差异无统计学意义 ($P=0.35$); GG、GA、AA 基因型构成比之间的差异也无统计学意义 ($P=0.64$)。Logistic 回归分析发现 TNF- α 基因 G-308A 位点与 SPTB 的遗传易感性不相关 ($OR=0.85$, $95\%CI$: $0.61\sim 1.19$, $P=0.35$)。**结论** TNF- α 基因 G-308A 多态性位点与 SPTB 遗传易感性不相关。

[中国当代儿科杂志, 2016, 18(12): 1247-1253]

[关键词] 肿瘤坏死因子- α ; 自发性早产; 单核苷酸多态性; 早产儿

Association between tumor necrosis factor- α G-308A polymorphisms and genetic susceptibility to spontaneous preterm birth

PENG Wei, YANG Xiao, ZHU Li-Na, ZHANG Xiao-Ai, WANG Yan. Bayi Children's Hospital Affiliated to Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100700, China (Wang Y, Email: 001wangyan@sina.com)

Abstract: Objective To study the association between tumor necrosis factor- α (TNF- α) G-308A polymorphisms and genetic susceptibility to spontaneous preterm birth (SPTB). **Methods** The case group enrolled 753 SPTB infants and the control group included 681 term infants. TNF- α G-308A polymorphisms were genotyped using Sequenom MassARRAY[®] SNP. **Results** The frequencies of the allele (G and A) in the case and control groups were not significantly different ($P=0.35$). The frequencies of the genotypes (GG, GA and AA) in the case and control groups were not significantly different ($P=0.64$). The logistic regression analysis found that TNF- α G-308A was not associated with genetic susceptibility to SPTB ($OR=0.85$; $95\%CI$: $0.61\sim 1.19$; $P=0.35$). **Conclusions** There is no association between the polymorphisms of TNF- α G-308A and the genetic susceptibility to SPTB.

[Chin J Contemp Pediatr, 2016, 18(12): 1247-1253]

Key words: Tumor necrosis factor- α ; Spontaneous preterm birth; Single nucleotide polymorphism; Preterm infant

妊娠不满 37 周的分娩称为早产 (preterm birth, PTB), PTB 又分为自发性早产 (spontaneous preterm birth, SPTB) 和治疗性早产 (therapeutic preterm birth, TPTB) 两种, 其中约 70% 的 PTB 为 SPTB, 而 SPTB 中约 50% 是胎膜早破 (premature rupture of membranes, PROM) 导致的^[1]。全球每年

约有 1500 万的早产儿出生, 在美国 PTB 的发生率为 12%~13%^[2], 我国 PTB 的发生率约为 5%~15%^[3], 并且呈逐年增加的趋势。PTB 已成为一个涉及全球范围的临床医学和公众健康难题。目前, SPTB 的病因和发病机制仍不十分明确。SPTB 具有家族聚集性、种族差异性和复发性^[4-5]; 关联研究也显

[收稿日期] 2016-07-12; [接受日期] 2016-09-06

[基金项目] 国家自然科学基金 (81300527)。

[作者简介] 彭薇, 女, 硕士, 主管技师。

[通信作者] 王艳, 女, 副主任技师。

示,许多与感染、炎症和先天免疫反应相关的基因多态性是 SPTB 发生的危险因素^[6-7],可见遗传因素在 SPTB 的发生机制中具有重要作用。目前,国内外关于 SPTB 的关联研究一般样本量较小,并且由于基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)存在种族差异,国外的研究结果也不一定适用于中国人群。因此,在中国人群中遗传因素在 SPTB 发生中的作用的的大样本的研究显得尤为重要。

肿瘤坏死因子 α (TNF- α)基因长 12 kb,位于 6p21.3 的主要组织相容性复合体(MHC)Ⅲ类区域,接近 HLA-B 的着丝粒处,其多态性区域包括 6 个微卫星和位于启动子区域的多个 SNP 位点,与多种 PTB 相关的围产期并发症(支气管肺发育不良、脑白质损伤、脑室周围白质软化、脑室周围出血等)的发生风险或严重状态相关联^[8-10],提示它们可能影响启动子的转录活性,这与 TNF- α 的差异表达相关。TNF- α G-308A 位点是启动子区域重要的功能性 SNP 位点之一,与 G 等位基因相比,-308A 具有更强的启动子转录活性(6~7 倍以上),与 TNF- α 表达量的增加有关。多年来,TNF- α 基因启动子区域的 SNP 位点与 SPTB 遗传易感性的关联性研究也主要集中在这一多态性位点上。本研究拟通过病例-对照研究探讨 TNF- α 基因启动子区域的 G-308A 位点与 SPTB 的关联性,为早产的早期预测和临床治疗提供有用的遗传标记。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集 2009 年 1 月至 2011 年 5 月我院早产儿监护病房的 SPTB 新生儿 569 例作为病例组,收集 673 例同期足月儿监护病房的新生儿作为对照组;2014 年 3~9 月间补充收集 184 例病例组样本,8 例对照组样本。共收集病例组样本 753 例,对照组样本 681 例。两组新生儿均为来自北京及其周边地区在遗传学上无关联的汉族人;均排除胎儿畸形、宫内生长受限、胎儿窘迫、先兆子痫、结缔组织病、外伤、出血及任何可能需要进行引产的围产期并发症。

病例组纳入标准:单胎妊娠;胎龄 <37 周。

病例组按照是否合并 PROM,分为有 PROM 组和无 PROM 两个亚组。临床检查孕妇阴道有液体流出,阴道液酸碱度测定 pH>6.5,且显微镜检查阴道液涂于玻片上观察到羊齿状结晶可诊断为 PROM。按照 SPTB 新生儿出生时胎龄的大小,又可分为 3 个亚组:超早产组(胎龄 \leq 28 周)、极早产组(胎龄 \leq 32 周)和轻度早产组(胎龄 33~36 周);超早产组和极早产组合并组成重度早产组(胎龄 \leq 32 周)^[11-12]。

对照组纳入标准:单胎妊娠;胎龄 \geq 37 周;孕妇无 SPTB 和 PROM 病史。

1.2 流行病学资料的收集

通过查阅病历和问卷调查等方法收集研究对象的流行病学资料。

1.3 标本的采集处理和 DNA 的制备

本研究获得中国人民解放军陆军总医院伦理委员会批准,征得研究对象监护人知情同意后,采集每个研究对象外周静脉血 2 mL,加入 EDTA 抗凝管中,应用北京 Tiangen 公司的 TIANamp Blood 血液基因组 DNA 提取试剂盒(目录号:DP318)提取全血基因组 DNA。

1.4 TNF- α G-308A 位点基因分型

采用 Sequenom 公司的 Genotyping Tools 以及 MassARRAY Assay Design 软件设计 TNF- α G-308A 位点的引物序列,用于 PCR 扩增和进行单碱基延伸。5 μ L PCR 反应体系包括:10 \times PCR Buffer 0.5 μ L,25 mM MgCl₂ 0.4 μ L,25 mM dNTPMix 0.1 μ L,5 U/ μ L HotStar Taq 酶 0.1/ μ L,上下游引物各 0.5 μ L,50 ng/ μ L DNA 模板 1 μ L,其余用去离子水补充。PCR 反应条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min;94 $^{\circ}$ C 变性 20 s,56 $^{\circ}$ C 退火 30 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,重复 45 个循环;72 $^{\circ}$ C 末延伸 3 min;4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物用碱性磷酸酶(shrimp alkaline phosphatase, SAP)对上述 PCR 扩增产物进行处理。SAP 处理反应液(SAP Mix)(2 μ L)的配制包括 10 \times SAP Buffer 0.17 μ L,17 U/ μ L 的 SAP 酶 0.3 μ L,其余用去离子水补充。7 μ L SAP 处理反应体系包括:5 μ L PCR 产物和 2 μ L SAP Mix。SAP 处理条件为:37 $^{\circ}$ C 40 min;85 $^{\circ}$ C 5 min;4 $^{\circ}$ C 保存。随后进行单碱基延伸反应,树脂纯化,芯片点样。最后采用 MALDI-TOF 分析点样后的芯片,用 Sequenom TYPER 4.0 软件对检测结果进行 SNP 分型,输出分型结果。

1.5 统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件包进行统计学分析与处理。采用 Arlequin 软件检验哈 - 温遗传平衡 (Hardy-Weinberg equilibrium), 确定研究对象的群体代表性。检验病例组和对照组研究对象基线资料的同质性时, 计数资料采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率检验进行分析; 呈非正态分布的计量资料用中位数 (四分位间距) [$P_{50}(P_{25}, P_{75})$] 表示, 采用 Mann-Whitney U 检验进行分析。采用 χ^2 检验分析病例组和对照组在单个等位基因、基因型及遗传模式中的分布频率。通过 logistic 回归分析校正母亲年龄和婴儿性别后, 对每个基因的 SNP 位

点与 SPTB 发生的关联性进行风险评估, 用所得的比值比 (OR) 及其 95% 的置信区间 (CI) 表示风险强度。所有的统计检验均为双侧概率, $P < 0.05$ 被认为有统计学意义。

2 结果

2.1 病例组和对照组基本资料的比较

病例组和对照组在母亲年龄、妊娠次数、产次和新生儿性别的比较中差异无统计学意义, 但两组在胎龄、出生体重、1 min 及 5 min Apgar 评分方面的比较差异有统计学意义 (表 1)。

表 1 病例组和对照组基本资料的比较

项目	对照组 (n=681)	病例组 (n=753)	Z(χ^2) 值	P 值
母亲年龄 [$P_{50}(P_{25}, P_{75})$, 岁]	29(26, 31)	29(26, 31)	0.932	0.660
妊娠次数 [$P_{50}(P_{25}, P_{75})$]	1(1, 2)	1(1, 2)	0.670	0.678
产次 [$P_{50}(P_{25}, P_{75})$]	1(1, 1)	1(1, 1)	0.161	0.074
胎龄 [$P_{50}(P_{25}, P_{75})$, 周]	39.0(38.1, 39.6)	33.2(30.5, 35.1)	30.420	<0.001
出生体重 [$P_{50}(P_{25}, P_{75})$, g]	3 350(3 000, 3 635)	1 950(1 520, 2 400)	27.508	<0.001
性别 [n(%)]				
男	380(55.8)	456(60.6)	(0.282)	0.595
女	301(44.2)	297(39.4)		
Apgar 评分 [$P_{50}(P_{25}, P_{75})$]				
1 min	10(10, 10)	10(9, 10)	11.513	<0.001
5 min	10(10, 10)	10(9, 10)	12.837	<0.001
早产 [n(%)]				
超早产	0	64(8.5)	-	-
极早产	0	191(25.4)	-	-
轻度早产	0	498(66.1)	-	-
胎膜早破 [n(%)]	0	219(29.1)	-	-

2.2 两组 TNF- α G-308A 位点等位基因和基因型频率分布比较

除去对照组基因分型失败的 10 个样本和病例组基因分型失败的 26 个样本外, 对照组和病例组的实际样本量分别为 671 例和 727 例。病例组和对照组基因型分布均符合哈 - 温遗传平衡定律 ($P > 0.05$), 具有良好的群体代表性。两组的 TNF- α G-308A 位点等位基因和基因型分布频率见表 2。在所有样本中, 病例组和对照组等位基因 G、

A 分布频率之间的差异无统计学意义 ($\chi^2=0.87$, $P=0.35$); GG、GA、AA 基因型构成比之间的差异也无统计学意义 ($\chi^2=0.92$, $P=0.64$)。通过 logistic 回归分析校正母亲年龄和胎儿性别后, 分析共显性 (GA vs GG, AA vs GG)、显性 (GA+AA vs GG)、隐性 (AA vs GG+GA)、超显性 (GA vs GG+AA) 和加性 (A 等位基因递增) 5 种遗传模式, 发现 TNF- α G-308A 位点与 SPTB 的遗传易感性不相关 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 TNF- α G-308A 位点的等位基因和基因型频率 [n (%)]

项目	对照组 (n=671)	病例组 (n=727)	共显性遗传模式		显性遗传模式		隐性遗传模式		超显性遗传模式		加性遗传模式	
			OR(95%CI)	P 值								
基因型												
GG	591(88.1)	652(89.7)										
GA	77(11.5)	72(9.9)	0.85 (0.61~1.20)	0.34								
AA	3(0.4)	3(0.4)	0.86 (0.17~4.30)	0.90	0.85 (0.61~1.19)	0.35	0.88 (0.18~4.37)	0.87	0.85 (0.61~1.20)	0.36	0.86 (0.63~1.18)	0.36
等位基因												
G	1259(93.8)	1376(94.6)										
A	83(6.2)	78(5.4)	0.86 (0.63~1.18)	0.35								

2.3 有无 PROM 病例组与对照组 TNF- α G-308A 位点等位基因和基因型频率分布比较

有无 PROM 病例组与对照组的等位基因 A、G 频率和 GG、GA、AA 基因型构成比之间的差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。无 PROM 组基因分型结果中不含 AA 基因型, 因此, 隐性遗传模式 (AA

vs GG+GA) 未计算。通过 logistic 回归分析校正母亲年龄和胎儿性别后, 分析共显性 (GA vs GG, AA vs GG)、显性 (GA+AA vs GG)、超显性 (GA vs GG+AA)、加性 (A 等位基因递增) 等遗传模式, 发现 TNF- α G-308A 位点与合并和不合并 PROM 的遗传易感性均不相关 (表 3~4)。

表 3 有 PROM 病例组和对照组 TNF- α G-308A 位点的等位基因和基因型频率 [n (%)]

项目	对照组 (n=671)	有 PROM 组 (n=203)	共显性遗传模式		显性遗传模式		隐性遗传模式		超显性遗传模式		加性遗传模式	
			OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值
基因型												
GG	591(88.1)	184(90.6)										
GA	77(11.5)	16(7.9)	0.68 (0.39~1.19)	0.16								
AA	3(0.4)	3(1.5)	2.90 (0.58~14.6)	0.13	0.77 (0.45~1.31)	0.32	3.00 (0.60~15.07)	0.19	0.67 (0.38~1.18)	0.15	0.88 (0.55~1.41)	0.58
等位基因												
G	1259(93.8)	384(94.6)										
A	83(6.2)	22(5.4)	0.87 (0.54~1.41)	0.56								

表 4 无 PROM 病例组和对照组 TNF- α G-308A 位点的等位基因和基因型频率 [n (%)]

项目	对照组 (n=671)	无 PROM 组 (n=524)	共显性遗传模式		显性遗传模式		超显性遗传模式		加性遗传模式	
			OR(95%CI)	P 值						
基因型										
GG	591(88.1)	468(89.3)								
GA	77(11.5)	56(10.7)	0.92(0.64~1.32)	0.16						
AA	3(0.4)	0(0)	未计算	未计算	0.88(0.62~1.27)	0.51	0.92(0.64~1.33)	0.67	0.85(0.60~1.22)	0.38
等位基因										
G	1259(93.8)	992(94.7)								
A	83(6.2)	56(5.3)	0.86(0.60~1.21)	0.38						

2.4 3个SPTB亚组与对照组TNF-α G-308A位点等位基因和基因型频率分布的比较

不同胎龄的3个亚组(超早产组、极早产组、轻度早产组)分别与对照组比较,各亚组与对照组的等位基因A、G频率和GG、GA、AA基因型构成比之间的差异均无统计学意义($P>0.05$)。各亚组基因分型结果显示不含AA基因型,因此,各

亚组隐性遗传模式(AA vs GG+GA)未计算。通过logistic回归分析校正母亲年龄和胎儿性别后,分析共显性(GA vs GG, AA vs GG)、显性(GA+AA vs GG)、超显性(GA vs GG+AA)和加性(A等位基因递增)遗传模式,发现TNF-α G-308A位点与超早产、极早产和轻度早产的遗传易感性均不相关(表5~7)。

表5 超早产组和对照组TNF-α G-308A位点的等位基因和基因型频率 [n(%)]

项目	对照组 (n=671)	超早产组 (n=61)	共显性遗传模式		显性遗传模式		超显性遗传模式		加性遗传模式	
			OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值
基因型										
GG	591(88.1)	58(95.1)								
GA	77(11.5)	3(4.9)	0.41(0.12~1.34)	0.19						
AA	3(0.4)	0(0)	未计算	未计算	0.39(0.12~1.28)	0.08	0.41(0.13~1.35)	0.10	0.40(0.12~1.27)	0.07
等位基因										
G	1259(93.8)	119(97.5)								
A	83(6.2)	3(2.5)	0.38(0.12~1.23)	0.09						

表6 极早产组和对照组TNF-α G-308A位点的等位基因和基因型频率 [n(%)]

项目	对照组 (n=671)	极早产组 (n=187)	共显性遗传模式		显性遗传模式		超显性遗传模式		加性遗传模式	
			OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值
基因型										
GG	591(88.1)	171(91.4)								
GA	77(11.5)	16(8.6)	0.70(0.40~1.24)	0.22						
AA	3(0.4)	0(0)	未计算	未计算	0.68(0.38~1.19)	0.16	0.70(0.40~1.24)	0.21	0.66(0.38~1.15)	0.13
等位基因										
G	1259(93.8)	358(95.7)								
A	83(6.2)	16(4.3)	0.68(0.39~1.17)	0.16						

表7 轻度早产组和对照组TNF-α G-308A位点的等位基因和基因型频率 [n(%)]

项目	对照组 (n=671)	轻度早产组 (n=479)	共显性遗传模式		显性遗传模式		超显性遗传模式		加性遗传模式	
			OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值	OR(95%CI)	P值
基因型										
GG	591(88.1)	421(87.9)								
GA	77(11.5)	58(12.1)	1.06(0.74~1.52)	0.76						
AA	3(0.4)	0(0)	未计算	未计算	1.02(0.71~1.46)	0.92	0.72(0.41~1.27)	0.26	0.79(0.55~1.22)	0.19
等位基因										
G	1259(93.8)	900(93.9)								
A	83(6.2)	58(6.1)	0.98(0.69~1.38)	0.90						

3 讨论

本研究探讨了中国人人群中TNF-α基因启动子

区域的G-308A多态性位点与SPTB遗传易感性之间的关联性。在所有样本中,病例组和对照组之间TNF-α G-308A位点的A、G等位基因的分布频

率和 GG、GA、AA 基因型的构成比均相似,说明此多态性位点与 SPTB 的患病风险无显著的遗传学关联。并通过是否合并 PROM 将病例组进行分层分析,与对照组进行比较后发现,上述等位基因和基因型在有或无 PROM 病例组和对照组之间的分布频率也相似,说明此多态性位点与是否合并 PROM 的 SPTB 的患病风险均无显著的遗传学关联。进一步根据出生胎龄的不同将病例组分 3 个亚组(超早产、极早产和轻度早产组),发现 3 个亚组与对照组在上述等位基因和基因型的分布频率上均相似,说明此多态性位点与各胎龄早产儿的患病风险均无显著的遗传学关联。

TNF- α 是一种主要由活化的单核细胞、巨噬细胞和淋巴细胞分泌的,具有多种生物学效应的炎症细胞因子。炎症介质学说在 PTB 特别是感染所致 PTB 发病机制的研究中占据重要地位。感染及随后发生的宿主炎症性反应可导致羊膜、蜕膜和子宫肌层释放大量的 TNF- α 。同革兰阴性菌的内毒素一样, TNF- α 可使蜕膜、羊膜和绒毛膜合成和分泌前列腺素 E、内皮素、促肾上腺皮质激素释放激素,引起子宫收缩;还可以诱导绒毛膜和宫颈细胞分泌金属蛋白酶-8,降解子宫下段细胞外基质中的胶原,促进宫颈成熟和胎膜破裂^[13]。另外,即使没有明显的感染发生,PTB 孕妇孕中期的羊水中, TNF- α 的表达量就已经显著升高。同时, TNF- α 作为 Th1 细胞因子家族的成员之一,当孕妇外周血淋巴细胞、羊水、胎盘、绒毛膜、蜕膜组织中的 TNF- α 表达量显著升高时,可发生 Th1 细胞因子偏移现象,使母亲-胎儿之间的免疫耐受解除。也就是说 TNF- α 的过度表达可提前启动分娩,因而, TNF- α 在 SPTB 及 PROM 的发病机制中可能具有重要作用^[14]。

多年来, TNF- α 基因启动子区域的 SNP 位点与 SPTB 遗传易感性的关联性研究也主要集中在 TNF- α G-308A 这一多态性位点上,但研究结果却出现了明显的不一致。2001 年, Aidoo 等^[15] 分析了 1048 名西肯尼亚新生儿 TNF- α G-308A 位点的等位基因和基因型分布频率,发现携带 -308A 等位基因的新生儿发生 SPTB 的风险显著升高。与之相反, Yilmaz 等^[16] 的研究显示,在土耳其人群中, -308A 等位基因在足月分娩的母亲和足月新生儿中的分布频率显著增高,提示 -308A 与足月

分娩相关。但是,当携带 -308GA 基因型的母亲怀有 -308GG 基因型的胎儿时,发生 PTB 的风险会显著升高。另外, Macones 等^[17] 在病例-对照研究(包括 125 名 SPTB 或 PROM 孕妇和 250 名足月生产孕妇)中发现, -308A 等位基因携带者发生 SPTB 的风险升高,而且, TNF- α 对于细菌感染性阴道炎具有高反应性,患有细菌性阴道炎并携带 -308A 等位基因的妇女,发生 SPTB 的风险更高。2003 年,陈大方等^[18] 首次在中国人群中分析了来自安徽省安庆市的 54 个早产家系和 79 个足月分娩家系 TNF- α G-308A 多态性与 PTB 的关联性,指出 TNF- α G-308A 等位基因与 PTB 相关。本研究结果显示 TNF- α G-308A 位点与 SPTB 的患病风险无显著的遗传学关联,与陈大方等^[18] 的研究结果不一致。分析可能的原因是:(1)研究对象纳入范围及地域不同:本研究纳入了胎龄 \leq 28 周的超早产儿,且为来自北京及其周边地区的汉族人群;(2)样本量不同:本研究样本量是陈大方等^[18] 研究的 10 倍。

本研究显示 TNF- α G-308A 位点与 SPTB 的患病风险无显著的遗传学关联,可能的原因有以下几点:首先,此 SNP 位点在不同种族人群中等位基因和基因型的分布频率不同,本研究的研究对象是中国人,与其他相关研究中的人群存在种族上的明显差异;其次,母亲-胎儿作为双向互动的整体,两者基因的 SNP 均会影响 SPTB 的患病风险,而本研究没有考虑母亲基因的 SNP 对 SPTB 的患病风险的影响;再次, SPTB 属于多基因调控的具有复杂性状的疾病, TNF- α 基因启动子区域内含有多个功能性 SNP 位点,这些位点之间的相互作用也可以影响个体发生 SPTB 的风险;最后,已经证明环境因素与此位点之间具有协同作用,同样可以影响个体对 SPTB 的易感性。因此,两者之间缺乏关联是可以解释的。

[参 考 文 献]

- [1] Damus K. Prevention of preterm birth: a renewed national priority[J]. *Curr Opin Obstet Gynecol*, 2008, 20(6): 590-596.
- [2] Winkvist A, Mogren I, Hogberg U. Familial patterns in birth characteristics: impact on individual and population risks[J]. *Int J Epidemiol*, 1998, 27(2): 248-254.
- [3] 张建平. 异常妊娠[M]// 谢幸, 苟文丽. 妇产科学. 第 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 47-63.

- [4] Di Renzo GC, Giardina I, Rosati A, et al. Maternal risk factors for preterm birth: a country-based population analysis[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2011, 159(2): 342-346.
- [5] Hamilton BE, Martin JA, Ventura SJ. Births: preliminary data for 2012[J]. *Natl Vital Stat Rep*, 2013, 62(3): 1-20.
- [6] Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, et al. Epidemiology and causes of preterm birth[J]. *Lancet*, 2008, 371(9606): 75-84.
- [7] Weissenbacher T, Laubender RP, Witkin SS, et al. Diagnostic biomarkers of pro-inflammatory immune-mediated preterm birth[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2013, 287(4): 673-685.
- [8] Nelson KB, Dambrosia JM, Iovannisci DM, et al. Genetic polymorphisms and cerebral palsy in very preterm infants[J]. *Pediatr Res*, 2005, 57(4): 494-499.
- [9] Strassberg SS, Cristea IA, Qian D, et al. Single nucleotide polymorphisms of tumor necrosis factor-alpha and the susceptibility to bronchopulmonary dysplasia[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2007, 42(1): 29-36.
- [10] Nuk M, Orendi K, Rosenberger S, et al. Genetic variations in fetal and maternal tumor necrosis factor-alpha and interleukin 10: is there an association with preterm birth or periventricular leucomalacia?[J]. *J Perinatol*, 2012, 32(1): 27-32.
- [11] Wang Y, Zhang XA, Yang X, et al. A MCP-1 promoter polymorphism at G-2518A is associated with spontaneous preterm birth[J]. *Mol Genet Genomics*, 2015, 290(1): 289-296.
- [12] Wang Y, Yang X, Zheng Y, et al. The SEPS1 G-105A polymorphism is associated with risk of spontaneous preterm birth in a Chinese population[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e65657.
- [13] Bowen JM, Chamley L, Keelan JA, et al. Cytokines of the placenta and extra-placental membranes: roles and regulation during human pregnancy and parturition[J]. *Placenta*, 2002, 23(4): 257-273.
- [14] Romero R, Espinoza J, Kusanovic JP, et al. The preterm parturition syndrome[J]. *BJOG*, 2006, 113 (Suppl 3): 17-42.
- [15] Aidoo M, McElroy PD, Kolczak MS, et al. Tumor necrosis factor-alpha promoter variant 2 (TNF2) is associated with preterm delivery, infant mortality, and malaria morbidity in western Kenya: Asembo Bay Cohort Project IX[J]. *Genet Epidemiol*, 2001, 21(3): 201-211.
- [16] Yilmaz Y, Verdi H, Taneri A, et al. Maternal-fetal proinflammatory cytokine gene polymorphism and preterm birth[J]. *DNA Cell Biol*, 2012, 31(1): 92-97.
- [17] Macones GA, Parry S, Elkousy M, et al. A polymorphism in the promoter region of TNF and bacterial vaginosis: preliminary evidence of gene-environment interaction in the etiology of spontaneous preterm birth[J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2004, 190(6): 1504-1508.
- [18] 陈大方, 胡永华, 吴白燕, 等. 肿瘤坏死因子 α /G308A 多态性与早产的关联性研究 [J]. *北京大学学报 (医学版)*, 2003, 35(4): 377-381.

(本文编辑: 邓芳明)