

MyD88和TICAM1基因多态性及其交互作用 与儿童社区获得性肺炎的关联研究

杨勇¹ 杨绥宇¹ 陈宗波² 刘俐³

(1. 榆林市第一医院/延安大学医学院第二附属医院儿科, 陕西榆林 718000;

2. 青岛大学医学院附属医院儿科, 山东青岛 266003;

3. 西安交通大学第一附属医院新生儿科, 陕西西安 710061)

[摘要] **目的** 探讨髓样分化因子88 (myeloid differentiation factor 88, *MyD88*) 和Toll样受体衔接分子1 (Toll-like receptor adaptor molecule 1, *TICAM1*) 基因的单核苷酸多态性及其交互作用与儿童社区获得性肺炎 (community-acquired pneumonia, CAP) 的相关性。**方法** 前瞻性采用改良多重高温连接酶检测反应技术对2015年8月—2017年9月在延安大学医学院第二附属医院儿科就诊的375例CAP患儿和306例健康体检儿童的*MyD88*和*TICAM1*基因的9个标签位点进行分型, 并采用logistic回归分析评价各位点基因型及其交互作用与儿童CAP的关联。**结果** *TICAM1*基因rs11466711T/C位点多态性与儿童CAP易感性密切相关 ($P<0.05$); rs35747610G/A位点AA基因型可显著降低CAP患儿并发脓毒症的风险 ($P<0.05$); rs6510826G/A位点AA基因型与CAP患儿急性期C反应蛋白水平的增高显著关联 ($P<0.05$)。 *MyD88*基因rs7744A/G位点GG基因型能显著增加患儿发生呼吸衰竭和循环衰竭的风险 (均 $P<0.05$)。 *MyD88*基因rs7744A/G位点与*TICAM1*基因的rs11466711T/C、rs2292151G/A、rs35299700C/T和rs35747610G/A位点之间存在多个与儿童CAP易感性、严重程度及并发脓毒症风险显著关联的相乘交互作用模式 (均 $P<0.05$)。 **结论** *MyD88*和*TICAM1*基因多态性及其交互作用与儿童CAP密切相关, 对儿童CAP的发生及病情发展具有协同作用。
[中国当代儿科杂志, 2023, 25 (8): 791-799]

[关键词] 社区获得性肺炎; *MyD88*基因; *TICAM1*基因; 基因多态性; 儿童

Association of gene polymorphisms of *MyD88* and *TICAM1* and their interactions with community-acquired pneumonia in children

YANG Yong, YANG Sui-Yu, CHEN Zong-Bo, LIU Li. Department of Neonatology, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China (Liu L, Email: liuli918@163.com)

Abstract: Objective To investigate the association of single nucleotide polymorphisms (SNPs) of myeloid differentiation factor 88 (*MyD88*) and Toll-like receptor adaptor molecule 1 (*TICAM1*) and their interactions with community-acquired pneumonia (CAP) in children. **Methods** Improved multiple ligase detection reaction assay was used for detecting the polymorphisms of nine tagging SNPs of the *MyD88* and *TICAM1* genes in 375 children with CAP who attended the Department of Pediatrics of the Second Affiliated Hospital of Yan'an University Medical School from August 2015 to September 2017 and 306 healthy children who underwent physical examination. A logistic regression analysis was used to evaluate the association between the distribution of genotypes and their interactions with CAP in children. **Results** The polymorphism of the *TICAM1* gene at rs11466711T/C locus was closely associated with the susceptibility to CAP in children ($P<0.05$). The AA genotype of rs35747610G/A locus significantly reduced risk of sepsis in children with CAP ($P<0.05$). The AA genotype of rs6510826G/A locus was significantly associated with the increase in C-reactive protein level in children with CAP ($P<0.05$). The GG genotype of the *MyD88* gene at rs7744A/G locus significantly increased the risk of respiratory failure and circulatory failure ($P<0.05$). The multiplicative interactions

[收稿日期] 2023-03-13; **[接受日期]** 2023-07-03

[基金项目] 陕西省榆林市科学技术研究与发展项目 (2014yyws-07)。

[作者简介] 杨勇, 男, 博士, 主任医师。现工作单位为西安市儿童医院。

[通信作者] 刘俐, 女, 教授。Email: liuli918@163.com。

between *MyD88* gene rs7744A/G and *TICAM1* gene rs11466711T/C, rs2292151G/A, rs35299700C/T, and rs35747610G/A loci were significantly associated with the susceptibility to CAP, the severity of CAP, and the risk of sepsis in children ($P<0.05$). **Conclusions** The gene polymorphisms of *MyD88* and *TICAM1* and their interactions are closely associated with CAP in children, with a synergistic effect on the development and progression of CAP in children.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(8): 791-799]

Key words: Community-acquired pneumonia; *MyD88*; *TICAM1*; Gene polymorphism; Child

儿童社区获得性肺炎 (community-acquired pneumonia, CAP) 是威胁儿童健康的常见感染性疾病, 分子流行病学研究证实, CAP是由遗传因素和环境因素共同作用导致的获得性疾病^[1], 相关肺损伤的确切机制十分复杂, 且涉及大量受遗传因子影响的细胞和分子免疫过程^[2-3]。Toll样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 信号通路在炎症免疫调节中发挥重要作用, TLRs 信号通路分为两个途径: 一个是髓样分化因子 88 (myeloid differentiation factor 88, MyD88) 依赖途径, 另一个则是 Toll 样受体衔接分子 1 (Toll-like receptor adaptor molecule 1, TICAM1) 依赖途径, 分别在细菌脂多糖介导的核因子- κ B 活化的早期和晚期发挥重要作用, 是炎症反应激活和放大过程的重要途径, 并对病原体感染的结局起着关键作用^[4]。已有研究表明, TLRs 信号转导通路相关分子单核苷酸基因多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 与肺炎易感性密切相关^[5-6], 但 *MyD88* 和 *TICAM1* 基因多态性与儿童 CAP 的相关性, 以及其介导的相关免疫途径在 CAP 抗感染免疫过程中的作用尚不明确。为此, 本研究选取了 TLRs 信号通路中分别介导 MyD88 依赖途径和 TICAM1 依赖途径的关键衔接分子基因 *MyD88* 和 *TICAM1* 的 9 个标签 SNP (tagging SNPs, TagSNPs) 作为研究位点, 探讨上述基因的多态性及其交互作用与儿童 CAP 遗传易感性及临床特征的相关性, 以期阐述上述基因及其介导的免疫途径在儿童 CAP 炎性损伤过程中的作用, 同时也为儿童 CAP 的临床治疗提供新的策略及潜在的靶点。

1 资料与方法

1.1 研究对象

前瞻性选择 2015 年 8 月—2017 年 9 月在延安大学医学院第二附属医院儿科确诊 CAP 的 375 例住院患儿为研究对象, 其中男 228 例, 女 147 例, 入院时年龄 >28 d 且 ≤ 15 岁, 平均年龄 (38 ± 22) 个月。所有患儿均符合中华医学会儿科学分会呼吸学组修订的儿童社区获得性肺炎管理指南^[7]中的诊断

标准, 并依据该指南中重症肺炎的分级标准, 将 375 例 CAP 组患儿分为重度 CAP 亚组 (233 例) 和轻度 CAP 亚组 (142 例)。依据儿童脓毒症国际诊疗指南^[8]中儿童脓毒症的诊断及分级标准, 将 375 例 CAP 组患儿分为非脓毒症亚组 (175 例)、轻度脓毒症亚组 (163 例) 和重度脓毒症亚组 (37 例, 其中包含脓毒症休克患儿)。375 例 CAP 患儿中并发呼吸衰竭 32 例, 并发循环衰竭 17 例, 呼吸衰竭的诊断标准采用 2013 体外生命支持组织发布的儿童呼吸衰竭指南相关标准^[8], 循环衰竭诊断参考儿童脓毒症国际诊疗指南^[9]中脓毒症休克的相关标准。CAP 组排除标准: (1) 自身免疫性疾病或者获得性免疫缺陷病者; (2) 肿瘤者; (3) 哮喘者; (4) 先天性心肺疾病者; (5) 遗传性、代谢性疾病者; (6) 合并脑性瘫痪、中枢协调障碍者; (7) 医院获得性重症肺炎者。对照组为同期于儿童保健门诊健康体检的 306 例儿童, 其中男 183 例, 女 123 例, 平均年龄 (38 ± 24) 个月。所有对照组儿童血液标本送检前均无肺炎及重症感染性疾病史, 排除标准参考 CAP 组。

两组均为无血缘关系的陕西北部地区汉族人群, 且在性别 ($\chi^2=0.069$, $P=0.792$) 和年龄 ($t=0.402$, $P=0.688$) 方面比较差异无统计学意义。所有 CAP 患儿及对照健康儿童入组均得到家长同意, 并签署知情同意书。本研究项目得到延安大学医学院第二附属医院伦理委员会的批准 (YLYY201505081)。

1.2 候选基因 TagSNPs 的选取

利用 NCBI-SNP (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gen>) 和 1000 Genomes (http://browser.1000genomes.org/Homo_sapiens/UserData/Haploview) 数据库下载中国南方汉族人群和中国北京汉族人群候选基因的位置信息 (GRCh37 版本), 再利用 Haploview 4.2 软件选取 TagSNPs 位点。入选标准是位置信息于启动子上游到基因末尾前后各扩大 2 kb, 连锁不平衡参数 $D'=1$, 连锁不平衡系数 $r^2 \geq 0.8$ 且最小等位基因频率 ≥ 0.1 , 具有代表性的 TagSNPs 位点, 最终 *MyD88* 和 *TICAM1* 基因共入选 9 个 TagSNPs 进行研

究,各位点信息见表1。本研究SNPs分型成功率为99.9%~100%,对照组中9个TagSNPs的基因型频率分布均符合Hardy-Weinberg平衡(均 $P>0.05$),

纳入人群的遗传性能稳定,具有群体代表性,见表1。

表1 各TagSNPs信息、功能预测及对照组Hardy-Weinberg平衡分析

基因/位点	位置区域	预测功能	对照组MAF	基因型频数(11/01/00)	对照组HWE(P值)
<i>TICAM1</i>					
rs2292151G/A	第2外显子	p.=(Asp557Asp)	0.471	71/146/89	0.491
rs7255265C/T	第2外显子	p.=(Thr4Thr)	0.366	42/140/124	0.806
rs61231668T/C	第1内含子	—	0.471	70/148/88	0.646
rs35299700C/T	第1内含子	—	0.108	4/58/244	0.765
rs6510826G/A	第1内含子	—	0.446	64/145/97	0.488
rs11466711T/C	第1内含子	—	0.389	51/136/119	0.279
rs10422141A/T	5'上游基因间区	dist=1 656 bp	0.250	19/115/172	1.000
rs35747610G/A	5'上游基因间区	dist=1 867 bp	0.170	7/90/209	0.547
<i>MyD88</i>					
rs7744A/G	3'非编码区	—	0.364	37/149/120	0.459

注:[MAF]最小等位基因频率;[HWE]Hardy-Weinberg平衡值;[11/01/00]纯合低频等位基因/杂合/纯合高频等位基因;[dist]距*TICAM1*基因5'UTR的距离。

1.3 血液标本收集及DNA提取

所有患儿入院当天抽取静脉血2 mL,乙二胺四乙酸抗凝,-20℃暂存备用。采用美国Omega公司全血DNA提取试剂盒,提取抗凝全血基因组DNA。采用1%琼脂糖电泳对所获得的DNA样本进行质量检查及浓度检测,然后根据检测的浓度将样本稀释到工作浓度10 ng/μL后置于-20℃冰箱冻存。

1.4 基因多态性检测

采用上海天昊生物科技有限公司开发的改良多重高温连接酶检测反应技术对681个样本共9个TagSNPs位点进行基因分型。根据GenBank提供基因序列,运用Primer 5.0软件对位点引物进行设计,各位点引物由上海生工生物有限公司设计合成。本研究实验所有标本的DNA提取、DNA的聚合酶链反应扩增、连接反应检测及原始数据分析均由上海天昊生物科技有限公司完成,采用ABI 3730XL测序仪(美国ABI公司)测序,采用GeneMapper 4.1软件(美国ABI公司)判读基因型。

1.5 统计学分析

采用plink分析软件完成对照组的Hardy-Weinberg平衡分析。采用SPSS 20.0软件进行统计学分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。符合正态分布的计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,

组间比较采用两样本*t*检验;计数资料用例数表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用logistic回归分析基因型与CAP的关联性,并校正性别、年龄及居住环境等显著混杂因素的影响,分析的遗传模型有显性模型、隐性模型、加性模型和共显性纯合/杂合模型。基因间交互作用采用logistic回归模型进行分析,交互作用的统计模型采用相乘模型,等位基因的模型为加性模型。以基因型作为变量,根据风险等位基因个数对其进行赋值,将两基因SNPs的交互项纳入logistic回归模型并对其回归系数进行假设检验,使用Rothman相乘交互作用评价公式判定交互结果,即logistic回归乘积项95%CI不包含1,表示有相乘交互作用, $OR_{A \times B}=1$ 为无交互作用; $OR_{A \times B}>1$ 为有正交互作用; $OR_{A \times B}<1$ 为有负交互作用。

2 结果

2.1 CAP患儿的一般资料比较

重度CAP亚组和轻度CAP亚组患儿年龄、性别、C反应蛋白水平、儿童危重病例评分,以及呼吸衰竭和循环衰竭比例比较差异均有统计学意义(均 $P<0.05$),见表2。

表2 CAP患儿的一般临床特征

项目	轻度CAP亚组 (n=142)	重度CAP亚组 (n=233)	χ^2 值	P值
性别(男/女,例)	76/66	152/81	5.081	0.024
年龄($\bar{x} \pm s$,月)	24 $\pm$ 21	42 $\pm$ 39	5.182	<0.001
PCIS(极危重/危重/非危重,例)	0/0/142	29/28/176	40.965	<0.001
呼吸衰竭(有/无,例)	0/142	32/201	19.598	<0.001
循环衰竭(有/无,例)	0/142	17/216	9.232	0.002
C反应蛋白($\bar{x} \pm s$,mg/dL)	8 $\pm$ 11	25 $\pm$ 38	5.134	<0.001
白细胞计数($\bar{x} \pm s$, $\times 10^9/L$)	11 $\pm$ 5	12 $\pm$ 7	1.231	0.219

注:[PCIS]儿童危重病例评分;[CAP]社区获得性肺炎。

2.2 各TagSNPs与儿童CAP的易感性及严重程度的关联分析

各位点等位基因在CAP组与对照组、重度CAP亚组与轻度CAP亚组之间的分布差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。TICAM1基因rs11466711T/C位点CC基因型在共显性和隐性遗传模型下,在CAP组的分布频率均低于对照组(均 $P<0.05$, $OR=0.577$ 、

0.568),与CAP易感性显著关联,考虑CC基因型可能为儿童CAP发生的保护基因型;其余各位点基因型分布在CAP组与对照组间差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。各位点基因型分布在重度CAP亚组与轻度CAP亚组间比较差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。见表3。

表3 各TagSNPs多态性与儿童CAP易感性及严重程度的相关性分析

基因/位点	遗传模型	基因型	易感性				严重程度			
			CAP组 (例)	对照组 (例)	OR*(95%CI)	P值*	重度 CAP 亚组 (例)	轻度 CAP 亚组 (例)	OR*(95%CI)	P值*
TICAM1										
rs2292151G/A	共显性模型	G/G	105	89	—	—	67	38	—	—
		G/A	204	146	1.234(0.851~1.790)	0.267	124	80	0.905(0.547~1.495)	0.696
		A/A	66	71	0.783(0.495~1.241)	0.298	42	24	0.913(0.473~1.762)	0.786
	显性模型	G/G	105	89	—	—	67	38	—	—
		G/A-A/A	270	217	1.084(0.763~1.539)	0.653	166	104	0.907(0.561~1.467)	0.689
	隐性模型	G/G-G/A	309	235	—	—	191	118	—	—
		A/A	66	71	0.685(0.462~1.017)	0.061	42	24	0.975(0.552~1.721)	0.929
	加性模型	—	—	—	0.911(0.725~1.146)	0.428	—	—	0.949(0.687~1.310)	0.749
		等位基因	G	414	324	—	—	258	156	—
rs7255265C/T	共显性模型	A	336	288	0.913(0.737~1.131)	0.405	208	128	0.983(0.7301~.322)	0.907
		C/C	134	124	—	—	82	52	—	—
		C/T	187	140	1.297(0.919~1.832)	0.139	117	70	1.198(0.745~1.926)	0.457
	显性模型	T/T	54	42	1.239(0.754~2.035)	0.397	34	20	1.149(0.585~2.258)	0.687
		C/C	134	124	—	—	82	52	—	—
		C/T-T/T	241	182	1.284(0.926~1.780)	0.135	151	90	1.186(0.755~1.864)	0.458
	隐性模型	C/C-C/T	321	264	—	—	199	122	—	—
		T/T	54	42	1.072(0.678~1.695)	0.765	34	20	1.035(0.558~1.916)	0.914
		加性模型	—	—	—	1.157(0.915~1.462)	0.223	—	—	1.100(0.797~1.519)
	等位基因	C	455	388	—	—	281	174	—	—
		T	295	224	1.123(0.901~1.400)	0.302	185	110	1.041(0.769~1.409)	0.793
rs61231668T/C	共显性模型	T/T	91	88	—	—	57	34	—	—
		T/C	202	148	1.265(0.866~1.850)	0.225	123	79	1.075(0.633~1.825)	0.789
		C/C	82	70	1.138(0.722~1.795)	0.577	53	29	1.182(0.625~2.237)	0.607
	显性模型	T/T	91	88	—	—	57	34	—	—

表 3 (续)

基因/位点	遗传模型	基因型	易感性				严重程度				
			CAP 组 (例)	对照组 (例)	OR*(95%CI)	P值*	重度 CAP 亚组 (例)	轻度 CAP 亚组 (例)	OR*(95%CI)	P值*	
rs35299700C/T	隐性模型	T/C-C/C	284	218	1.225(0.856~1.755)	0.268	176	108	1.105(0.667~1.831)	0.697	
		T/T-T/C	293	236	—	—	180	113	—	—	
		C/C	82	70	0.975(0.666~1.428)	0.897	53	29	1.125(0.666~1.900)	0.659	
	加性模型	—	—	—	1.075(0.856~1.351)	0.533	—	—	1.087(0.791~1.494)	0.607	
		等位基因	T	384	324	—	—	237	147	—	—
			C	366	288	1.072(0.866~1.328)	0.522	229	137	1.037(0.772~1.393)	0.811
	共显性模型		C/C	288	244	—	—	183	105	—	—
		C/T	81	58	1.200(0.806~1.785)	0.369	46	35	0.777(0.463~1.302)	0.337	
		T/T	6	4	1.584(0.420~5.980)	0.497	4	2	0.920(0.161~5.253)	0.925	
	显性模型	C/C	288	244	—	—	183	105	—	—	
		C/T-T/T	87	62	1.223(0.831~1.800)	0.308	50	37	0.785(0.475~1.299)	0.347	
		隐性模型	C/C-C/T	369	302	—	—	229	140	—	—
T/T	6		4	1.526(0.405~5.746)	0.532	4	2	0.974(0.171~5.538)	0.976		
加性模型	—		—	—	1.214(0.856~1.722)	0.277	—	—	0.819(0.520~1.290)	0.390	
	等位基因	C	657	546	—	—	412	245	—	—	
		T	93	66	1.171(0.838~1.637)	0.356	54	39	0.823(0.529~1.280)	0.387	
rs6510826G/A		共显性模型	G/G	97	97	—	—	55	42	—	—
	G/A		190	145	1.337(0.921~1.940)	0.127	121	69	1.315(0.787~2.198)	0.296	
	A/A		87	64	1.360(0.869~2.129)	0.179	56	31	1.426(0.773~2.629)	0.256	
显性模型	G/G	97	97	—	—	55	42	—	—		
	G/A-A/A	277	209	1.344(0.947~1.906)	0.098	177	100	1.349(0.832~2.189)	0.225		
	隐性模型	G/G-G/A	287	242	—	—	176	111	—	—	
A/A		87	64	1.135(0.773~1.665)	0.518	56	31	1.194(0.714~1.997)	0.500		
加性模型		—	—	—	1.178(0.941~1.473)	0.152	—	—	1.200(0.883~1.630)	0.245	
	等位基因	G	384	339	—	—	231	153	—	—	
		A	364	273	1.177(0.950~1.459)	0.136	233	131	1.178(0.876~1.584)	0.278	
rs11466711T/C		共显性模型	T/T	153	119	—	—	95	58	—	—
	T/C		181	136	1.030(0.730~1.453)	0.868	110	71	0.898(0.569~1.416)	0.642	
	C/C		41	51	0.577(0.351~0.949)	0.030	28	13	1.247(0.588~2.643)	0.565	
显性模型	T/T	153	119	—	—	95	58	—	—		
	T/C-C/C	222	187	0.901(0.652~1.247)	0.531	138	84	0.952(0.615~1.474)	0.826		
	隐性模型	T/T-T/C	334	255	—	—	205	129	—	—	
C/C		41	51	0.568(0.358~0.902)	0.016	28	13	1.322(0.651~2.686)	0.440		
加性模型		—	—	—	0.821(0.650~1.036)	0.097	—	—	1.035(0.746~1.436)	0.838	
	等位基因	T	487	374	—	—	300	187	—	—	
		C	263	238	0.849(0.680~1.059)	0.146	166	97	1.067(0.782~1.454)	0.683	
rs10422141A/T		共显性模型	A/A	207	172	—	—	136	71	—	—
	A/T		147	115	1.115(0.797~1.559)	0.525	85	62	0.730(0.465~1.146)	0.171	
	T/T		21	19	0.843(0.428~1.661)	0.622	12	9	0.666(0.259~1.708)	0.398	
显性模型	A/A	207	172	—	—	136	71	—	—		
	A/T-T/T	168	134	1.073(0.778~1.480)	0.666	97	71	0.721(0.467~1.115)	0.141		
	隐性模型	A/A-A/T	354	287	—	—	221	133	—	—	
T/T		21	19	0.806(0.415~1.565)	0.524	12	9	0.763(0.304~1.916)	0.565		
加性模型		—	—	—	1.014(0.779~1.318)	0.919	—	—	0.770(0.538~1.100)	0.151	

表 3 (续)

基因/位点	遗传模型	基因型	易感性				严重程度			
			CAP 组 (例)	对照组 (例)	OR* (95%CI)	P 值*	重度 CAP 亚组 (例)	轻度 CAP 亚组 (例)	OR* (95%CI)	P 值*
rs35747610G/A	等位基因	A	561	459	—	—	357	204	—	—
		T	189	153	1.011(0.790~1.293)	0.933	109	80	0.779(0.556~1.089)	0.144
	共显性模型	G/G	243	209	—	—	153	90	—	—
		G/A	119	90	1.138(0.803~1.611)	0.466	73	46	0.938(0.588~1.495)	0.787
		A/A	13	7	1.808(0.678~4.820)	0.236	7	6	0.632(0.199~1.997)	0.434
	显性模型	G/G	243	209	—	—	153	90	—	—
		G/A-A/A	132	97	1.184(0.845~1.659)	0.327	80	52	0.901(0.575~1.412)	0.648
	隐性模型	G/G-G/A	362	299	—	—	226	136	—	—
		A/A	13	7	1.734(0.655~4.594)	0.268	7	6	0.645(0.206~2.019)	0.452
MyD88 rs7744A/G	加性模型	—	—	—	1.201(0.893~1.615)	0.226	—	—	0.881(0.599~1.296)	0.520
	等位基因	G	605	508	—	—	379	226	—	—
		A	145	104	1.171(0.887~1.546)	0.266	87	58	0.895(0.617~1.296)	0.555
	共显性模型	A/A	174	120	—	—	106	68	—	—
		A/G	164	149	0.764(0.545~1.071)	0.118	104	60	1.020(0.646~1.610)	0.933
		G/G	37	37	0.767(0.449~1.321)	0.343	23	14	1.001(0.472~2.124)	0.997
	显性模型	A/A	174	120	—	—	106	68	—	—
		A/G-G/G	201	186	0.765(0.555~1.056)	0.103	127	74	1.016(0.659~1.568)	0.942
	隐性模型	A/A-A/G	338	269	—	—	210	128	—	—
		G/G	37	37	0.886(0.532~1.475)	0.641	23	14	0.992(0.483~2.038)	0.983
	加性模型	—	—	—	0.837(0.658~1.066)	0.149	—	—	1.008(0.725~1.400)	0.964
	等位基因	A	512	389	—	—	316	196	—	—
		G	238	223	0.811(0.647~1.016)	0.068	150	88	1.057(0.769~1.453)	0.731

注：*组间等位基因进行 χ^2 检验分析，组间基因型进行logistic回归分析，并使用性别、年龄等显著环境因子校正后的逻辑回归分析值。
[CAP] 社区获得性肺炎。

2.3 各 TagSNPs 与儿童 CAP 临床特征的关联分析

MyD88 基因 rs7744A/G 位点 GG 基因型在隐性和共显性纯合遗传模型下与 CAP 患儿呼吸衰竭、循环衰竭关联，能显著增加患儿发生呼吸衰竭及循环衰竭的风险（均 $P<0.05$ ）；TICAM1 基因 rs6510826G/A 位点 AA 基因型在隐性、加性和共显性/纯合遗传模型下与患儿 C 反应蛋白水平密切相关（均 $P<0.05$ ），携带该基因型的患儿 C 反应蛋白水平增高更为显著；TICAM1 基因 rs35747610G/A 位点 AA 基因型在隐性和共显性纯合遗传模型下均与 CAP 患儿并发脓毒症的风险密切相关（均 $P<0.05$ ），携带该基因型可显著降低 CAP 患儿并发脓毒症的风险。见表 4。

2.4 MyD88 和 TICAM1 基因间交互作用与儿童 CAP 的关联分析

MyD88 基因 rs7744A/G 与 TICAM1 基因 rs11466711T/C 位点之间存在与 CAP 易感性显著关联的正相乘模型交互作用（ $P<0.05$ ， $OR=1.420$ ），即当上述两交互位点（rs7744-rs11466711）的基因型均为纯合风险基因型（GG-CC）时，CAP 的发生风险比基因型均为纯合野生基因型（AA-TT）显著增加；MyD88 基因 rs7744A/G 分别与 TICAM1 基因 rs35299700C/T 及 rs35747610G/A 位点之间存在与 CAP 严重程度相关联的正相乘模型交互作用（均 $P<0.05$ ， $OR=2.508$ 、 2.551 ），即当上述交互的两位点均变异为纯合风险基因型（GG-TT、GG-AA）时，CAP 患儿发生重症肺炎的风险比两位点同时

携带纯合野生基因型 (AA-CC、AA-GG) 显著增加; 同样, *MyD88* 基因 rs7744A/G 分别与 *TICAM1* 基因 rs2292151G/A 及 rs35747610G/A 位点之间存在与 CAP 并发脓毒症风险相关联的正相乘模型交互作用 (均 $P<0.05$, $OR=1.451$ 、 2.318), 即当 rs7744

与 rs2292151 和 rs35747610 的交互基因型均为纯合风险基因型组合 (GG-AA) 时, 患儿并发脓毒症的风险较均为纯合野生基因型组合 (AA-GG) 显著增加。见表 5。

表 4 临床特征关联分析中具有显著统计学意义的关联位点

临床特征	位点	遗传模型	基因型	<i>Beta</i> [*]	<i>SE</i>	95% <i>CI</i> 下限	95% <i>CI</i> 上限	<i>STAT</i> 值	<i>P</i> 值 [*]
<i>TICAM1</i>									
C反应蛋白	rs6510826G/A	隐性模型	GG-GA/AA	8.060	3.900	0.417	15.700	2.067	0.039
		共显性纯合模型	GG/AA	10.620	4.688	1.431	19.810	2.265	0.024
		加性模型	—	5.266	2.339	0.682	9.850	2.251	0.025
脓毒症	rs35747610G/A	隐性模型	GG-GA/AA	−0.429	0.183	−0.787	−0.071	−2.350	0.019
		共显性纯合模型	GG/AA	−0.427	0.184	−0.788	−0.066	−2.318	0.021
<i>MyD88</i>									
呼吸衰竭	rs7744A/G	隐性模型	AA-AG/GG	0.322	0.474	0.127	0.816	−2.389	0.017
		共显性纯合模型	AA/GG	0.305	0.520	0.110	0.844	−2.286	0.022
循环衰竭	rs7744A/G	隐性模型	AA-AG/GG	0.238	0.568	0.078	0.724	−2.529	0.011
		共显性纯合模型	AA/GG	0.233	0.640	0.066	0.816	−2.277	0.023

注: *连续型变量使用线性回归进行分析, 分类变量使用逻辑回归进行分析, 并使用性别、年龄等显著环境因子校正。

表 5 *MyD88* 与 *TICAM1* 基因交互作用与 CAP 的关联分析

交互作用变量	基因型	CAP		重度 CAP		脓毒症	
		$OR(95\%CI)$	P	$OR(95\%CI)$	P	$OR(95\%CI)$	P
<i>MyD88</i> × <i>TICAM1</i>							
rs7744 × rs10422141	AA-AA/GG-TT	1.279(0.878~1.864)	0.199	0.991(0.582~1.688)	0.974	1.294(0.762~2.198)	0.340
rs7744 × rs11466711	AA-TT/GG-CC	1.420(1.017~1.983)	0.039	1.430(0.865~2.364)	0.163	1.035(0.641~1.672)	0.888
rs7744 × rs2292151	AA-GG/GG-AA	0.937(0.669~1.312)	0.705	1.142(0.694~1.878)	0.600	1.451(1.008~2.089)	0.045
rs7744 × rs35299700	AA-CC/GG-TT	1.270(0.773~2.085)	0.345	2.508(1.273~4.941)	0.008	1.338(0.662~2.705)	0.417
rs7744 × rs35747610	AA-GG/GG-AA	1.393(0.911~2.129)	0.126	2.551(1.184~5.496)	0.017	2.318(1.205~4.460)	0.012
rs7744 × rs61231668	AA-TT/GG-CC	0.950(0.682~1.324)	0.763	0.941(0.577~1.535)	0.808	0.997(0.617~1.609)	0.990
rs7744 × rs6510826	AA-GG/GG-AA	1.029(0.744~1.422)	0.863	0.678(0.465~1.081)	0.102	0.797(0.506~1.253)	0.325
rs7744 × rs7255265	AA-CC/GG-TT	0.863(0.609~1.220)	0.403	0.885(0.536~1.461)	0.633	1.035(0.641~1.672)	0.888

注: [CAP] 社区获得性肺炎。

3 讨论

MyD88 是 TLRs 信号通路中 *MyD88* 依赖途径的关键衔接蛋白, 阻断 *MyD88* 表达可以减轻脓毒症的炎性因子分泌, 对脓毒症诱导的心肌损伤具有强大的保护作用^[10]。Kohl 等^[11]发现, *Myd88*^{-/-}小鼠可以显著降低病原诱导的炎性细胞因子和干扰素- γ 诱导基因的表达水平。*MyD88* 基因 rs7744 位点位于 3'UTR 非编码区, 该区域与 mRNA 的稳定性和蛋白表达相关。孙丹丹等^[12]发现, rs7744 多态性与冠心病的发病风险及严重程度密切关联。

Jiménez-Sousa 等^[13]发现, rs7744 位点 GG 基因型与败血症休克患者的死亡风险相关。本研究发现, *MyD88* 基因 rs7744 位点 GG 基因型与 CAP 患儿并发呼吸衰竭和循环衰竭的风险显著关联, 推测该关联可能与 *MyD88* 基因 rs7744 多态性影响 *MyD88*-NF- κ B 通路活性及下游的炎性基因表达有关, 至于该位点的多态性与 CAP 重症指标呼吸衰竭和循环衰竭相关, 却与儿童 CAP 严重程度无关的原因, 还需要进一步探讨。

TICAM1 是 TLRs 信号通路中 *TICAM1* 依赖途径的关键衔接蛋白, 其基因多态性与多种疾病密切

相关^[14-15]。本研究发现, *TICAM1* 基因 rs11466711 位点多态性与儿童CAP易感性有关, 该位点CC基因型可能为儿童CAP发生的保护基因型, 并且该基因 rs6510826 位点多态性与患儿C反应蛋白水平相关联, 该位点携带AA基因型的患儿肺部炎症反应更为强烈。*TICAM1* 基因 rs11466711 和 rs6510826 是位于第1内含子区域上的2个非编码SNPs, 并不会直接参与蛋白的合成, 但是内含子的变异可产生剪切变异并影响基因的转录, 上述两位点多态性对CAP患儿病情发展产生的影响并不相同, 考虑与转录过程中可能存在的选择性剪切有关。研究表明, TLRs 通路相关基因多态性与脓毒症的发生、发展及预后密切相关^[16]。本研究发现, *TICAM1* 基因 rs35747610 位点AA基因型可显著降低CAP患儿并发脓毒症的风险。该位点是处于基因间区域5'UTR上游20 kb范围内的1个位点, 有研究^[17]认为, 该区域范围内的SNPs可能会影响靶基因miRNA的表达水平, 并参与了脓毒症的病理生理机制, 与脓毒症患者的临床表现和炎症反应密切相关, 故推测, 该关联可能与*TICAM1* 基因 rs35747610 位点多态性影响*TICAM1* 基因miRNA的表达及相关免疫通路的活性有关。

TICAM1 基因 rs2292151 和 rs7255265 位点是2个位于第2外显子上的功能位点, 均为同义SNPs, 虽然同义SNP不改变编码的氨基酸, 但却会改变剪切体的亲和性从而影响剪切。Wang等^[18]发现, *TICAM1* 基因 rs2292151 多态性改变了*TICAM1* 的作用, 并参与了肿瘤坏死因子和I型干扰素合成的调控及先天免疫信号的转导和激活过程。Cheng等^[14]分析显示, 与*TICAM1* 基因 rs7255265 位点高度连锁(均 $r^2=0.919$)的rs4807000和rs6510827位点参与*TICAM1* 基因的表达调控, 并与中国汉族人群白癜风风险显著相关。Sahiner等^[19]研究显示, rs4807000位点多态性影响内毒素对体外IgE合成的调控, 与哮喘患儿气道高反应性及喘息密切相关。但本研究分析结果却并未发现这2个外显子位点与CAP病情发展相关联。对于这种分析结果, 多认为可能与所研究人群的地域、种族及疾病种类不同有关, 但是这种解释似乎并不完全。

目前已经发现的遗传因素尚不足以完全解释疾病的遗传度, 研究认为, 基因交互作用和微效基因与这些“丢失的遗传度”有关^[20]。众多研究也证实, 基因交互作用与疾病风险显著相关^[21-22]。本研究发现, *MyD88* 和 *TICAM1* 基因之间存在着多

个与CAP易感性、严重程度及并发脓毒症显著关联的相乘交互作用模式。那些在SNPs关联分析中未被发现但实际存在的微效基因位点, 由于其单个位点变异不足以影响机体整个炎症反应强度, 故而无法在SNPs关联分析中发现, 但这些微效位点却在交互作用中表现出强大的协同作用。上述结果同时表明, *MyD88* 和 *TICAM1* 基因均参与了儿童CAP的免疫炎症调控, 并协同影响CAP的病情进展。

综上所述, *MyD88* 和 *TICAM1* 基因存在多个与儿童CAP相关的功能性变异, 并且这些变异对儿童CAP的病情发展具有协同作用。这些研究为今后开展CAP患儿个体化治疗和重症CAP的预防提供了潜在的靶点, 在儿童CAP的临床诊疗实践中, 如何通过沉默或拮抗来调控*MyD88* 和 *TICAM1* 基因的表达, 协调TLRs信号通路内不同信号途径的平衡, 均是今后研究有待解决的问题和面临的挑战。

利益冲突声明: 所有作者均声明不存在任何利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Emam AA, Shehab MMM, Allah MAN, et al. Interleukin-4 -590C/T gene polymorphism in Egyptian children with acute lower respiratory infection: a multicenter study[J]. *Pediatr Pulmonol*, 2019, 54(3): 297-302. PMID: 30614212. DOI: 10.1002/ppul.24235.
- [2] Kutty PK, Jain S, Taylor TH, et al. *Mycoplasma pneumoniae* among children hospitalized with community-acquired pneumonia[J]. *Clin Infect Dis*, 2019, 68(1): 5-12. PMID: 29788037. PMCID: PMC6552676. DOI: 10.1093/cid/ciy419.
- [3] Rijkers GT, Holzer L, Dusselier T. Genetics in community-acquired pneumonia[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2019, 25(3): 323-329. PMID: 30920458. DOI: 10.1097/MCP.0000000000000580.
- [4] Mukherjee S, Huda S, Sinha Babu SP. Toll-like receptor polymorphism in host immune response to infectious diseases: a review[J]. *Scand J Immunol*, 2019, 90(1): e12771. PMID: 31054156. DOI: 10.1111/sji.12771.
- [5] Karnaushkina MA, Guryev AS, Mironov KO, et al. Associations of Toll-like receptor gene polymorphisms with NETosis activity as prognostic criteria for the severity of pneumonia[J]. *Sovrem Tekhnologii Med*, 2021, 13(3): 47-53. PMID: 34603755. PMCID: PMC8482823. DOI: 10.17691/stm2021.13.3.06.
- [6] 宋振举, 童朝阳, 孙湛, 等. TLR4基因多态性与重症社区获得性肺炎易感性和预后的关联[J]. *中华急诊医学杂志*, 2009, 18(9): 956-959. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2009.09.014.
- [7] 中华医学会儿科学分会呼吸学组, 《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童社区获得性肺炎管理指南(2013修订)(上)[J]. 中

- 华儿科杂志, 2013, 51(10): 745-752.
DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2013.10.006.
- [8] Extracorporeal Life Support Organization. Extracorporeal Life Support Organization (ELSO) guidelines for pediatric respiratory failure[EB/OL]. [2023-02-13]. <https://www.else.org/portals/0/igd/archive/filemanager/6f129b235acusersshyerdocumentselsoguidelinesforpediatricrespiratoryfailure1.3.pdf>.
- [9] Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012[J]. Intensive Care Med, 2013, 39(2): 165-228. PMID: 23361625. PMCID: PMC7095153. DOI: 10.1007/s00134-012-2769-8.
- [10] Ouyang MZ, Zhou D, Zhu Y, et al. The inhibition of *MyD88* and TRIF signaling serve equivalent roles in attenuating myocardial deterioration due to acute severe inflammation[J]. Int J Mol Med, 2018, 41(1): 399-408. PMID: 29115392. DOI: 10.3892/ijmm.2017.3239.
- [11] Kohl L, Hayek I, Daniel C, et al. *MyD88* is required for efficient control of *Coxiella burnetii* infection and dissemination[J]. Front Immunol, 2019, 10: 165. PMID: 30800124. PMCID: PMC6376249. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00165.
- [12] 孙丹丹, 吴玉鹏, 刘文, 等. 髓样分化因子 88 基因 rs7744 多态性与冠状动脉粥样硬化性心脏病易感性及严重程度的关系[J]. 中国医科大学学报, 2017, 46(6): 519-523. DOI: 10.12007/j.issn.025874646.2017.06.009.
- [13] Jiménez-Sousa MÁ, Fadrique A, Liu P, et al. *TNFAIP3*, *TNIP1*, and *MyD88* polymorphisms predict septic-shock-related death in patients who underwent major surgery[J]. J Clin Med, 2019, 8(3): 283. PMID: 30813592. PMCID: PMC6463255. DOI: 10.3390/jcm8030283.
- [14] Cheng L, Liang B, Tang XF, et al. Validation of susceptibility loci for vitiligo identified by GWAS in the Chinese Han population[J]. Front Genet, 2020, 11: 542275. PMID: 33343616. PMCID: PMC7744663. DOI: 10.3389/fgene.2020.542275.
- [15] Sigurdson AJ, Brenner AV, Roach JA, et al. Selected single-nucleotide polymorphisms in *FOXO1*, *SERPINA5*, *FTO*, *EVPL*, *TICAM1* and *SCARB1* are associated with papillary and follicular thyroid cancer risk: replication study in a German population[J]. Carcinogenesis, 2016, 37(7): 677-684. PMID: 27207655. PMCID: PMC4936384. DOI: 10.1093/carcin/bgw047.
- [16] Jiang S, Ma J, Ye S, et al. Associations among disseminated intravascular coagulation, thrombocytopenia cytokines/chemokines and genetic polymorphisms of Toll-like receptor 2/4 in Chinese patients with sepsis[J]. J Inflamm Res, 2022, 15: 1-15. PMID: 35018107. PMCID: PMC8742598. DOI: 10.2147/JIR.S337559.
- [17] Zhou J, Chaudhry H, Zhong Y, et al. Dysregulation in microRNA expression in peripheral blood mononuclear cells of sepsis patients is associated with immunopathology[J]. Cytokine, 2015, 71(1): 89-100. PMID: 25265569. PMCID: PMC4252591. DOI: 10.1016/j.cyto.2014.09.003.
- [18] Wang T, Yang J, Ji X, et al. Pathway analysis for a genome-wide association study of pneumoconiosis[J]. Toxicol Lett, 2015, 232(1): 284-292. PMID: 25445010. DOI: 10.1016/j.toxlet.2014.10.028.
- [19] Sahiner UM, Semic-Jusufagic A, Curtin JA, et al. Polymorphisms of endotoxin pathway and endotoxin exposure: *in vitro* IgE synthesis and replication in a birth cohort[J]. Allergy, 2014, 69(12): 1648-1658. PMID: 25102764. DOI: 10.1111/all.12504.
- [20] Manolio TA, Collins FS, Cox NJ, et al. Finding the missing heritability of complex diseases[J]. Nature, 2009, 461(7265): 747-753. PMID: 19812666. PMCID: PMC2831613. DOI: 10.1038/nature08494.
- [21] Chen B, Du Z, Dong X, et al. Association of variant interactions in *RANK*, *RANKL*, *OPG*, *TRAF6*, and *NFATC1* genes with the development of osteonecrosis of the femoral head[J]. DNA Cell Biol, 2019, 38(7): 734-746. PMID: 31149839. DOI: 10.1089/dna.2019.4710.
- [22] Dutta D, Nagappa M, Sreekumaran Nair BV, et al. Variations within Toll-like receptor (TLR) and TLR signaling pathway-related genes and their synergistic effects on the risk of Guillain-Barré syndrome[J]. J Peripher Nerv Syst, 2022, 27(2): 131-143. PMID: 35138004. DOI: 10.1111/jns.12484.

(本文编辑: 王颖)

(版权所有©2023 中国当代儿科杂志)