

哮喘相关基因 ORMDL3 研究进展

金 哲 王金凤 吴奎武 徐东刚

哮喘是一种慢性支气管炎疾病,全球约有 1.55 亿人患病^[1,2]。与其他过敏性疾病相似,哮喘是由基因相互作用紊乱而引起的复杂疾病,同时环境因素也在发病过程中发挥了重要作用。哮喘具有一定的遗传性,推测与哮喘相关的基因数非常可观,但其具体的遗传模式尚不清楚^[3-6]。随着“后基因组时代”的到来,寻找基因与疾病之间的关系已成为新的研究热点。家族关联性分析在确定单基因孟德尔遗传性疾病中已经取得了众多成就^[7-10]。定点克隆技术的兴起和相关分析研究方法的应用为研究各种具有普遍性的复杂疾病带来了新的希望。Moffatt 等首次引入了全基因组相关分析(genome-wide association study, GWAS)对哮喘相关基因进行研究,在英国、德国两组独立的样本中发现染色体 17q21 内 SNPs (single nucleotide polymorphisms) 与儿童哮喘易感性有极强关联,并在两组独立的样本中均得到相同结论。同时使用 EB(epstein-barr)病毒转化的淋巴母细胞进行全基因表达,发现该标记与哮喘发病具有强烈关联,并与 ORMDL3 基因的转录水平相一致^[11]。这些结果提示 ORMDL3 基因是一个新的哮喘相关基因,本文将对 ORMDL3 基因研究进展做一综述。

一、ORMDL3 基因及其编码蛋白

2002 年在对色素性视网膜炎进行基因测序时,发现了一个新基因 ORMDL1,其属于一种新的基因家族,全称是 ORM1-like gene family。该家族在人类中由 3 个成员基因(ORMDL1, ORMDL2 和 ORMDL3)组成,并在酵母、脊椎动物等中均有表达。ORMDL 基因家族非常保守:人类 ORMDL 同系物可以使酵母突变体恢复功能^[12]。

ORMDL3 基因位于染色体 17q12-q21.1。有 3 个外显子,2 个内含子,141~602 位为编码序列,编码一个由 153 个氨基酸组成的位于内质网膜的跨膜蛋

白(NP_644809)。

二、ORMDL3 基因在人体内的表达分布特征

人类 ORMDL3 基因的表达模式是由通过 RT-PCR 和 Northern 印迹分析得到的。通过对 16 名成人和胎儿组织样本进行 RT-PCR 表达分析,发现 ORMDL 基因家族的 3 个基因在人体组织中均表达。ORMDL 基因家族在成人的心脏、大脑、胎盘、肺、肝脏、骨骼肌、肾脏和胰腺等组织中表达。ORMDL3 基因在成人的胰腺、肝脏中表达水平较高,但在肺和胎盘中表达水平相对较低;在胎儿的肺、肝脏、肾脏、脾脏和胸腺中表达水平较高,在大脑、心脏和骨骼肌中表达水平相对较低^[12]。

三、ORMDL3 基因与哮喘的相关性

在人类疾病相关的基因组研究过程中,定义基因或者遗传区域与疾病相关的方法大体可以分为两类:连锁分析和基因相关分析。连锁分析一般适用于具有高度遗传性的家族型疾病。而在分析多个具有较小因素的基因与疾病的关系时,例如心脏病、哮喘和糖尿病时,连锁分析可以得到的结果就相对有限了。基因相关分析更适于这种情况,常常用来发现多个风险因素与复杂疾病之间的关系。全基因组相关分析已经被证明是一种有效的寻找新的疾病相关遗传因子的实验方法。

Moffatt 等分析了有哮喘史的家庭组及对照组,在 994 例儿童哮喘患者和 1243 个对照中定义了超过 31.7 万个 SNP 位点。而染色体 17q21 上存在多个强烈的、重复性的与儿童哮喘发病相关的标记 SNPs。在 2320 例德国儿童中($P=0.0003$)和 3301 例英国儿童中($P=0.0005$)各自独立进行的重复研究中,同样发现染色体 17q21 表现出与儿童哮喘较强的相关性。在相关的研究中发现与儿童哮喘相关的 SNP rs7216389 始终并且强烈地($P<10^{-22}$)与 ORMDL3 基因的转录水平相关。结果表明遗传变异所调控的 ORMDL3 基因的表达水平是儿童哮喘易感性的因素之一^[11]。由于哮喘发病的复杂性,相关基因的发现与鉴定一直较为艰难^[13,14]。可采用高通量测序来进

基金项目:国家科技支撑计划课题(2006BAI19B05-3)

作者单位:100850 北京,军事医学科学院基础医学研究所

通讯作者:吴奎武,电子信箱:ammswu@sina.com;徐东刚,电子信箱:xudg@nic.bmi.ac.cn

行定点候选基因的克隆,基因单核苷酸多态性(SNP)分型分析和连锁不平衡(LD)基因定位可对候选基因进行更深入的分析,并有可能确定其是否为哮喘相关基因^[15]。

国际儿童哮喘与变异反应的研究(international study of asthma and allergies in childhood, ISAAC)已经进展到第2阶段,即寻找到不同种族间决定致病性的差异性因子^[16]。通过不同种族间的基因分析,将对ORMDL3基因的功能作用有更进一步了解。

四、ORMDL3 基因 SNP 在不同人种中的差异

Tavendale 等在苏格兰青少年中发现 ORMDL3 基因中的 SNP rs7216389 与哮喘易感性及病情恶化相关,Hirota 等在日本人中也发现同样的发现^[17,18]。Galanter 等在墨西哥人、波多黎各人、非裔美国人不同人种进行的研究发现,ORMDL3 基因中的 SNPs (rs4378650, rs12603332) 与哮喘易感性相关^[19]。Wu 等在墨西哥城的进行研究发现 ORMDL3 基因及其邻近基因 GSDML 与儿童哮喘相关^[20]。这些结果表明,染色体 17q21 上的 ORMDL3 及其相邻基因都与儿童哮喘显著相关。基因表达水平在不同地区,不同环境下有所不同,一定条件下地理和环境因素差异将影响基因表达情况^[19]。Leung 等鉴定 SNP rs7216389 及 rs11650680 在中国南方儿童中与哮喘相关^[21]。但其与中国北方儿童哮喘易感性之间的关联依然未知。

由于在世界范围内的哮喘及过敏症的罹患有很大差别,阐明染色体 17q21 上 ORMDL3 及相邻基因对于哮喘发病对不同人群中的影响是至关重要的^[19]。

五、ORMDL3 基因研究趋势

随着基因芯片等分析技术及复杂因素快速分析能力的发展,通过 SNP 分析研究 ORMDL3 基因在不同民族,甚至不同地区人群之间与哮喘的相关性的研究将成为可能。

除了研究 ORMDL3 基因 SNP 及表达水平与哮喘的易感性之外,ORMDL3 基因编码的蛋白的结构和功能研究将成为一个新的研究热点。

哮喘作为一种复杂疾病,机体免疫、遗传及环境因素都在其发病过程中起作用,已有研究证实环境空气污染与肺功能减弱及哮喘发病相关^[22]。今后的研究将注重环境与基因之间的交互作用,而不是仅仅把环境因素作为影响全基因组相关分析结果的“障碍”,而是利用交互分析研究环境因素对哮喘致病性的潜在影响。

在关注大气成分对哮喘致病性作用的同时,我们应更多关注室内的空气质量,这是因为人们在室内活动的时间大大超过室外^[23]。空调的使用、取暖方式、吸烟(包括二手烟)及居室过度装修等对儿童哮喘的发病起到了推波助澜的作用,这也是今后值得关注的研究方向。

参考文献

- 1 Asher MI, Keil U, Anderson HR, *et al.* International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC): rationale and methods. *Eur Respir J*, 1995, 8(3): 483 - 491
- 2 Beasley R. The burden of asthma with specific reference to the United States. *J Allergy Clin Immunol*, 2002, 109(5): S482 - 489
- 3 Duffy DL, Martin NG, Battistutta D, *et al.* Genetics of asthma and hay fever in Australian twins. *Am Rev Respir Dis*, 1990, 142(6pt1): 1351 - 1358
- 4 Nieminen MM, Kaprio J, Koskenvuo M. A population - based study of bronchial asthma in adult twin pairs. *Chest*, 1991, 100(1): 70 - 75
- 5 Hopp RJ, Bewtra AK, Watt GD, *et al.* Genetic analysis of allergic disease in twins. *J Allergy Clin Immunol*, 1984, 73(2): 265 - 270
- 6 C Ober and S Hoffjan. Asthma genetics 2006: the long and winding road to gene discovery. *Genes and Immunity*, 2006, 7(2): 95 - 100
- 7 Watson JD, Cook - Deegan RM. The human genome project and international health. *JAMA*, 1990, 263(24): 3322 - 3324
- 8 Friedmann T. The human genome project - some implications of extensive 'reverse genetic' medicine. *Am J Hum Genet*, 1990, 46(3): 407 - 414
- 9 Collins FS. The Genome Project and human health. *FASEB J*, 1991, 5(1): 77
- 10 Collins FS. Positional cloning moves from perditiional to traditional. *Nature Genet*, 1995, 9(11): 347 - 350
- 11 Moffatt MF, Kabesch M, Liang L, *et al.* Genetic variants regulating ORMDL3 expression contribute to the risk of childhood asthma. *Nature*, 2007, 448(7152): 470 - 473
- 12 Lars H, Miquel T, Gemma M, *et al.* ORMDL proteins are a conserved new family of endoplasmic reticulum membrane proteins. *Genome Biology*, 2002, 3(6): 0027.1 - 0027.16
- 13 Collins F S, Guyer MS, Chakravarti A. Variations on a theme: Cataloging human DNA sequence variation. *Science*, 1997, 278(5343): 1580 - 1581
- 14 Malho T A K, Goldman D. Benefits and pitfalls encountered in psychiatric genetic association studies. *Biological Psychiatry*, 1999, 45(5): 544 - 550
- 15 Blakey JD, Sayers I, Ring SM, *et al.* Positionally cloned susceptibility genes in allergy and asthma[J]. *Thorax*, 2009, 64(5): 381 - 387
- 16 Weland, S K, *et al.* Phase II of the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC II): rationale and methods[J]. *Curr Opin Immunol*, 2004, 16(6): 689 - 694
- 17 Tavendale R, Macgregor DF, Mukhopadhyay S, *et al.* A polymorphism controlling ORMDL3 expression is associated with asthma that is poorly controlled by current medications. *J Allergy Clin Immunol*,

- 2008,121(4):860-863
- 18 Hirota T, Harada M, Sakashita M, *et al.* Genetic polymorphism regulating ORM1-like3 (*Saccharomyces cerevisiae*) expression is associated with childhood atopic asthma Japanese population. *J Allergy Clin Immunol*, 2008,121(4):860-863
- 19 Galanter J, Choudhry S, Eng C, *et al.* ORMDL3 gene is associated with asthma in three ethnically diverse populations. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008,177(11):1194-1200
- 20 Wu H, Romieu I, Sienna-Monge JJ, *et al.* Genetic variation in ORM1-like 3 (*ORMDL3*) and gasdermin-like (*GSDML*) and childhood asthma [J]. *Am Respir Crit Care Med*, 2008,177(11):1194-1200
- 21 Leung, T F, H Y Sy, *et al.* "Asthma and atopy are associated with chromosome 17q21 markers in Chinese children." *Allergy*, 2009,64(4):621-628
- 22 von Mutius E. Gene-environment interactions in asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 2008,123(1):3-11
- 23 Diette GB, Hansel NN, Buckley TJ, *et al.* Home indoor pollutant exposures among inner-city children with and without asthma. *Environ Health Perspect*, 2007,115(11):1665-1669
- (收稿:2010-03-03)
(修回:2010-04-20)

慢性痛的发生与损伤神经元膜糖基化增加的关系

李晨旭 张秀琳 谢益宽

发生在人类或动物神经损伤,诱发的神经病性慢性痛是最为常见和缺少有效治疗手段的疾病。探索慢性痛的发生机制是当前国际的重要研究课题,大量的研究已经证明外周神经的损伤触发胞体发生明显的功能改变和生物化学的改变,胞体大量合成各类离子通道蛋白和受体蛋白,这些蛋白经过糖基化后安插在神经膜上,含有大量负电性的唾液酸残基的多糖基朝向神经元膜的外侧。损伤神经元膜外增加的负电性减弱神经元的极化电位,提高神经元的兴奋性,使神经元在频繁产生阈下膜电位震荡的背景下产生自发的异位传入电活动,构成慢性痛发生的基础。

一、神经损伤区和背根节(DRG)神经元是传入异位电活动的发源地

外周神经的损伤,不论是类似截肢时神经轴突横断后形成的神经瘤或者是由于各种因素诱发的神经纤维的损伤,特别是神经纤维的髓鞘膜脱落等,都引起难以治愈的慢性痛^[1~3]。近几十年来对外周神经损伤性的慢性痛的基础性研究已经揭示,外周神经损伤后,大量的传入电活动起源于损伤区的神经瘤,神经髓鞘脱落区及相应的背根神经节细胞等部

位,而不是来自神经末梢,即所谓“异位放电”^[4~6]。在神经瘤模型中,损伤部位的近心端神经会封闭形成终末肿胀区称终末球,或再生长出“神经芽”。神经髓鞘的脱落是常见的轴突损伤,也是产生异位电活动的发源地。这些终末球、神经芽及髓鞘脱落区成为各种离子通道和受体蛋白大量积聚的场所,具有代偿感受器的功能,成为一个异位放电的起搏点^[3]。正常情况下,感觉神经元胞体只是为轴突末梢产生和传导动作电位提供代谢支持,来自末梢的传入电活动并不引起胞体放电。其轴突损伤后,胞体膜发生重塑,兴奋性升高,产生异位放电,这就是某些幻肢痛患者在以局麻药阻断断肢末端神经瘤异位放电后,并不能完全消除疼痛症状的可能原因。在离背根神经节较远的部位如坐骨神经损伤后,异位放电主要来自神经损伤区如神经瘤,而脊神经这种离背根神经节较近的部位损伤后,异位放电主要来自背根节本身^[7]。事实上,外周神经损伤诱发的异位放电可以同时来自神经损伤区和背根节神经元。传入性的异位电活动是构成痛觉和其他感觉异常的神经理生理学基础。

二、神经损伤区和胞体离子通道和受体蛋白堆积和异位传入电活动

正常的生理条件下,这些功能蛋白的合成,安插的位置,代谢更新都受到精密的控制,所以神经元的兴奋性也被调节在一个合适的水平。损伤神经元膜上的离子通道和受体蛋白的异常密集堆积,改变膜的兴奋特性,增加了膜的电导性^[3]。外周神经损伤后,相应的感觉神经元为了恢复其正常功能,其代谢、基

基金项目:国家自然科学基金资助(398330150)

作者单位:037009 山西省大同大学医学院脑科学研究所(李晨旭);100005 北京,中国医学科学院/北京协和医学院基础医学研究所(张秀琳、谢益宽)

通讯作者:谢益宽,电子信箱:xieyk1938@yahoo.com.cn