

# 创伤脓毒症易感基因多态性的研究进展

程少文 陈晓松 彭 磊 袁 伟 吕传柱

**摘 要** 创伤主要见于青壮年人群,是导致 45 岁以下人群死亡的首要原因。脓毒症是创伤患者最严重的并发症之一,也是患者死亡的主要原因。不同感染菌群和环境等因素对脓毒症的发生、发展和预后影响很大,但个体的遗传因素也有极其重要的作用。随着人类基因组时代的到来,大量创伤脓毒症易感基因和位点也被发掘,本文将从炎症因子、细胞表面模式识别受体等方面全面阐述与创伤脓毒症相关的易感基因和位点。

**关键词** 创伤 脓毒症 基因 研究

**中图分类号** R6

**文献标识码** A

**DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.01.042

创伤主要见于青壮年人群,是导致 45 岁以下人群死亡的首要原因,造成的经济和社会损失也居各种疾病之首<sup>[1]</sup>。现代创伤救治技术的日益提高使得创伤直接导致的病死率明显下降,但是,在院内治疗过程中仍面临着各类创伤并发症的威胁,而脓毒症是创伤患者最严重的并发症之一,也是创伤患者死亡的最主要原因之一<sup>[2]</sup>。不同感染菌群和环境等因素对脓毒症的发生、发展和预后影响很大,而研究显示个体遗传因素对脓毒症也有重要的作用,脓毒症的发病高危因素中遗传因素是环境因素致病效应的 2 倍<sup>[3,4]</sup>。

## 一、炎症因子基因多态性与创伤脓毒症易感性

1. 白细胞介素(interleukin, IL)类:白细胞介素类细胞因子是参与脓毒症病理生理过程的重要细胞因子,其中可以分为促炎细胞因子和抗炎细胞因子。Gu 等<sup>[5]</sup>对 308 例严重创伤患者进行基因多态性的检测,发现 IL-1 $\alpha$ -889C/T、IL-1 $\beta$ -1470G/C、IL-1 $\beta$ -511C/T(rs16944)、IL-1 $\beta$ -31C/T、IL-4-589T/C、IL-6-572C/G、IL-8-252T/A、IL-10-819T/C 多态性位点中高反应性基因型的数量越多,则其脓毒症发生率越高。而 Accardo Palumbo 等<sup>[6]</sup>将 71 例严重烧伤患者和 109 例健康人进行了对比研究,检测 IL-6-174C/G、IL-10-819C/T、IL-10-1082A/G 和 IL-17-7488T/C 与脓毒症的关联

性,结果发现 IL-6 和 IL-17 的基因多态性位点与脓毒症的发生没有明显的关联,只有 IL-10-1082A/G 与脓毒症的发生有关。有研究者提取了 69 例严重创伤患者的 DNA,其中 52% 的患者并发脓毒症,选取了 IL-18 的两个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNPs) (-607bp and -137bp) 进行检测, -607 位点 C 和 A 的等位基因频率分别为 59% 和 41%,而 -137 位点 G 和 C 的等位基因频率分别为 79% 和 21%<sup>[7]</sup>。虽然单个 SNPs 与脓毒症的发生没有明显关系,但如果患者同时携带 -607CA 与 -137GC 基因型(CA/GC),则发生脓毒症的概率明显减少。Gupta 等<sup>[8]</sup>最近的研究显示在印度北部人群中 IL-1 $\beta$ -511C/T 和 IL-10-1082G/A 与创伤后脓毒症的发生有密切的联系,而 IL-1 $\beta$ -511C/T 和 IL-1R(pst I 1970 T/T)与创伤患者的病死率有关。

2. 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF): TNF 也是在脓毒症产生和转归过程中一类重要的细胞因子,如果 TNF 持久大量的释放将引起重症脓毒症,甚至脓毒性休克<sup>[9]</sup>。目前对 TNF 基因多态性的研究主要集中在 -238、-308、-1037 等位点上,其中 -308 位点是研究最多的。Menges 等<sup>[10]</sup>对 159 例严重创伤患者进行 -308 位点的基因多态性研究,创伤后第 1 天检测发现, -308 位点携带等位基因 A 的患者血清中 TNF- $\alpha$  的浓度明显高于携带等位基因 G 的患者,而且严重脓毒症发生率更高。O'Keefe 等<sup>[11]</sup>也发现 TNF- $\alpha$ -308 位点等位基因 A 能够增加创伤后严重脓毒症发生和患者死亡的风险。Teuffel 等<sup>[12]</sup>检索出了 1950 ~ 2008 年间所有关于 TNF-308 多态性与脓毒症关联性的文章,进行系统

基金项目:国家自然科学基金资助项目(71263014);海南省卫生厅基金资助项目(2011-036);海口市重点科技计划项目(2014-61)

作者单位:570102 海口,海南医学院第一附属医院创伤中心(程少文、彭磊、袁伟),急危重症医学部(陈晓松);571199 海口,海南医学院(吕传柱)

通讯作者:吕传柱,教授,主任医师,博士生导师,电子信箱:lu-chuanzhu@emss.cn

综述和 Meta 分析,最后得出的结论是 TNF - 308 位点与脓毒症的发生有密切的相关性,在脓症患者病死率方面却没有明显的影响。在 Gupta 等<sup>[8]</sup>的研究中 TNF -  $\alpha$  - 308 和 TNF -  $\alpha$  - 238 都和创伤后脓毒症的发生相关。

3. 其他炎性因子:(1)干扰素 -  $\gamma$  (interferon -  $\gamma$ , IFN -  $\gamma$ ):2002 年 Stassen 等<sup>[13]</sup>对 IFN -  $\gamma$  基因多态性和创伤后脓毒症的发生进行了研究,结果发现 61 例严重创伤患者中 49% 的人群并发脓毒症,对创伤脓毒症相关的等位基因进行了筛选,其中等位基因 C 和 D 的频率最高,分别为 34% 和 52%。脓症患者中有 62% 的人携带 D 等位基因,而只有 29% 的人携带 C 等位基因。与其他等位基因组合相比,等位基因 D 的纯合子 DD 发生脓毒症的风险最高(65%)。McDaniel 等<sup>[14]</sup>对 68 例严重创伤患者分种族进行了研究,其中 50% 的非裔美国人并发脓毒症,42% 的高加索人发生脓毒症。在非裔美国人脓症患者人群中,IFN -  $\gamma$  - 841T/A (AA) 基因型对创伤脓毒症的发生具有抑制作用,而在高加索人群中这种作用不明显。在 Gu 等<sup>[5]</sup>的研究中,IFN -  $\gamma$  - 874A 与创伤后脓毒症的发生并没有明显的关联性。(2)高迁移率族蛋白 B1 (High - mobility group box 1, HMGB1):HMGB1 是一种重要的晚期致炎因子,内毒素及多种炎性因子均可诱导 HMGB1 的释放,从而参与炎性反应过程。Zeng 等<sup>[15]</sup>对 HMGB1 基因的标签 SNPs 进行筛选,发现 rs2249825 与 LPS 刺激后的 HMGB1 水平有明显关系。rs2249825 位点 G 等位基因携带者的血浆 HMGB1 水平与 C 等位基因携带者相比明显升高,而且 G 等位基因携带者的创伤脓毒症发生率明显高于 C 等位基因携带者,而 rs1412125 和 rs1045411 对严重创伤患者脓毒症的发生没有明显作用。

## 二、模式识别受体基因多态性与创伤脓毒症易感性

1. Toll 样受体 (toll - like receptors, TLRs):TLRs 是参与机体免疫应答的一类重要蛋白质分子,可以识别各种不同的疾病相关分子模式 (PAMP),再激活一些信号通路,从而引起一系列炎性因子的生成,参与炎症过程,因此关于 TLRs 基因多态性与脓毒症基因易感性的关系也有众多研究。Thompson 等<sup>[16]</sup>收集了 1961 例创伤患者样本,其中 46% 的患者并发脓毒症,21% 的患者发生脓毒症休克。并对 TLR1 的 3 个 SNPs (TLR1 - 7202A/G (rs5743551), TLR1 - 1804G/T (Ser602Ile) (rs5743618) 和 TLR1 - 742A/G

(Asn248Ser) (rs4833095)) 进行了检测,结果发现 TLR1 - 7202G (rs5743551) 和 TLR1 - 742A/G (Asn248Ser) (rs4833095) 增加了创伤患者脓毒症的发生率和病死率。Chen 等<sup>[17]</sup>从我国汉族人群中选出了 5 个 TLR4 的 SNPs (2381A/G、2242T/C、1892G/A、1837A/G 和 1418T/C),其中 TLR4 - 2242T/C、TLR4 - 1892G/A 和 TLR4 - 1837A/G 多态性位点在转录因子结合点上,只有 TLR4 - 2242T/C 明显增强了 TLR4 的转录活性。而后对 303 例严重创伤患者进行了 TLR4 基因多态性的临床关联性研究,发现 C 等位基因能够促进 TNF -  $\alpha$  和 IL - 6 的产生,TLR4 - 2242T/C 明显增加了创伤脓毒症的发生率。但是,在 Bronkhorst 等<sup>[18,19]</sup>的研究中,TLR2 (T - 16934A 和 R753Q)、TLR4 (D299G 和 T399I) 及 TLR9 (T - 1486C 和 T - 1237C) 只是增加了严重创伤患者感染革兰阳性菌的风险,并没有增加发生脓毒症的风险。

2. 分化抗原簇 14 (cluster of differentiation 14, CD14):CD14 是脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 受体复合体的主要成分之一,LPS 激活靶细胞,CD14 也参与此过程,然后诱导多种炎性细胞因子释放,导致各类炎症和感染性疾病的产生<sup>[20]</sup>。CD14 基因存在多个基因多态性位点,而 -159C/T 是目前研究的最多的。顾玮等<sup>[21]</sup>通过对我国汉族严重创伤患者进行 CD14 基因多态性检测,发现 CD14 - 1145A 和 CD14 - 159C 是两个最高频多态性位点,发生频率分别为 39% 和 42.6%,且严重创伤患者若携带 CD14 - 1145A 或 -159C 等位基因,则发生脓毒症的概率更大。但也有一些研究认为 CD14 基因多态性对创伤后脓毒症的发生没有影响<sup>[22,23]</sup>。

3. 髓样分化蛋白 2 (myeloid differentiation - 2, MD - 2):MD - 2 和 CD14 分子可以协同作用,使 TLR4 分子将 LPS 信号转导入细胞内,激活一系列信号通路,引起各类细胞因子反应,致使全身炎症反应综合征 (systemic inflammatory response syndrome, SIRS) 的形成。中国汉族严重创伤患者中 MD - 2 - 1625C 等位基因的频率为 77.6%,G 等位基因的频率为 22.4%,G 等位基因携带者创伤后并发创伤脓毒症的风险性较 C 等位基因携带者明显升高,因此,MD - 2 - 1625G 是严重创伤后并发脓毒症的高风险因素<sup>[24]</sup>。

4. 其他受体:(1)糖基化终末产物受体 (receptor for advanced glycation end products, RAGE):RAGE 是 Toll 样受体一样,是个非常重要的受体分子,可以将

胞外信号传递至胞内,激活天然免疫反应。Zeng 等<sup>[25]</sup>发现 RAGE - 429T/C (rs1800625) 是一个功能位点,它会改变转录因子的结合,而携带 T 等位基因的创伤患者更容易发生脓毒症;(2) NOD 样受体(nucleotide - binding oligomerization domain - like receptors, NLRs): Nod 样受体蛋白 3 (NLRP3) 是细胞内模式识别受体 NLRs 的重要成员,可以在内外源性刺激下启动机体的免疫炎症反应,介导一些炎性介质的分泌。Zhang 在 718 例重庆地区严重创伤人群中发现两个 SNPs (rs2027432 - 1017G/A、rs12048215 + 5134A/G) 与创伤脓毒症的发生密切相关, - 1017A 等位基因能够明显增强 NLRP3 的活性,且 A 等位基因携带者在创伤后发生脓毒症的风险性更高。(3) 糖皮质激素受体 (glucocorticoid receptor, GR): GR 与糖皮质激素形成复合物产生效应是机体内部最重要的抗炎机制,GR 在严重创伤早期及全身性炎症反应中具有重要作用。但是 Duan 在 95 例严重创伤患者身上检测发现 GR 的基因与创伤后脓毒症的发生没有相关性。

### 三、其他基因多态性与创伤脓毒症易感性

随着创伤脓毒症基因易感性研究的不断扩展与深入,创伤脓毒症的其他易感基因型也不断被挖掘出来,如过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator - activated receptor  $\gamma$ , PPAR $\gamma$ ), microRNA, 基质金属蛋白酶 8 (matrix metalloproteinase - 8, MMP8), 脂多糖结合蛋白 (lipopolysaccharide - binding protein, LBP) 等都与创伤脓毒症的发生、发展密切相关,而这些不同基因或位点都可以作为创伤脓毒症预警中的分子标志。

近年来,国内外关于创伤脓毒症易感基因多态性的研究日益增多,但是,目前这方面研究也存在一定的局限性,如样本量小、研究的地区及人群种族有限、研究方法单一及如何实现临床指导意义等。但随着此类研究的不断扩展与深入,与创伤脓毒症相关的遗传信息将会被进一步挖掘,这对于疾病的早发现和早治疗有着重要作用,能为创伤患者实现精准化救治提供良好的理论依据。

### 参考文献

- 1 Cothren CC, Moore EE, Hedegaard HB, *et al.* Epidemiology of urban trauma deaths: A comprehensive reassessment 10 years later [J]. *World J Surg*, 2007, 31(7):1507 - 1511
- 2 Deitch EA, Dayal SD. Intensive care unit management of the trauma patient [J]. *Crit Care Med*, 2006, 34(9):2294 - 2301
- 3 Cooke GS, Hill AV. Genetics of susceptibility to human infectious

- disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2001, 2(12):967 - 977
- 4 Rish NJ. Searching for genetic determinants in the new millennium [J]. *Nature*, 2000, 405(6788):847 - 856
- 5 Gu W, Zeng L, Zhou J, *et al.* Clinical relevance of 13 cytokine gene polymorphisms in Chinese major trauma patients [J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36(7):1261 - 1265
- 6 Accardo Palumbo A, Forte GI, Pileri D, *et al.* Analysis of IL - 6, IL - 10 and IL - 17 genetic polymorphisms as risk factors for sepsis development in burned patients [J]. *Burns*, 2012, 38(2):208 - 213
- 7 Stassen NA, Breit CM, Norfleet LA, *et al.* IL - 18 promoter polymorphisms correlate with the development of post - injury sepsis [J]. *Surgery*, 2003, 134(2):351 - 356
- 8 Gupta DL, Nagar PK, Kamal VK, *et al.* Clinical relevance of single nucleotide polymorphisms within the 13 cytokine genes in North Indian trauma hemorrhagic shock patients [J]. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*, 2015, 23(96):1 - 13
- 9 Bayley JP, Ottenhoff TH, Verweij CL. Is there a future for TNF promoter polymorphisms? [J] *Genes Immun*, 2004, 5(5):315 - 329
- 10 Menges T, König IR, Hossain H, *et al.* Sepsis syndrome and death in trauma patients are associated with variation in the gene encoding tumor necrosis factor [J]. *Crit Care Med*, 2008, 36(5):1456 - 1462
- 11 O'Keefe GE, Hybki DL, Munford RS. The G - > A single nucleotide polymorphism at the - 308 position in the tumor necrosis factor - alpha promoter increases the risk for severe sepsis after trauma [J]. *J Trauma*, 2002, 52(5):817 - 825
- 12 Teuffel O, Ethier MC, Beyene J, *et al.* Association between tumor necrosis factor - alpha promoter - 308 A/G polymorphism and susceptibility to sepsis and sepsis mortality: a systematic review and meta - analysis [J]. *Crit Care Med*, 2010, 38(1):276 - 282
- 13 Stassen NA, Leslie - Norfleet LA, Robertson AM, *et al.* Interferon - gamma gene polymorphisms and the development of sepsis in patients with trauma [J]. *Surgery*, 2002, 132(2):289 - 292
- 14 McDaniel DO, Hamilton J, Brock M, *et al.* Molecular analysis of inflammatory markers in trauma patients at risk of postinjury complications [J]. *J Trauma*, 2007, 63(1):147 - 157
- 15 Zeng L, Zhang AQ, Gu W, *et al.* Clinical relevance of single nucleotide polymorphisms of the high mobility group box 1 protein gene in patients with major trauma in Southwest China [J]. *Surgery*, 2012, 151(3):427 - 436
- 16 Thompson CM, Holden TD, Rona G, *et al.* Toll - like receptor 1 polymorphisms and associated outcomes in sepsis after traumatic injury: a candidate gene association study [J]. *Ann Surg*, 2014, 259(1):179 - 185
- 17 Chen K, Wang YT, Gu W, *et al.* Functional significance of the Toll - like receptor 4 promoter gene polymorphisms in the Chinese Han population [J]. *Crit Care Med*, 2010, 38(5):1292 - 1299
- 18 Bronkhorst MW, Boye ND, Lomax MAZ, *et al.* Single - nucleotide polymorphisms in the Toll - like receptor pathway increase susceptibility to infections in severely injured trauma patients [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2013, 74(3):862 - 870

(下转第 174 页)

- microparticles[J]. *Cell Res*, 2016, 26(6):713–727
- 7 Pfankuchen DB, Stölting DP, Schlesinger M, *et al.* Low molecular weight heparin tinzaparin antagonizes cisplatin resistance of ovarian cancer cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 97(2):147–157
  - 8 Oommen D, Yiannakis D, Jha AN. BRCA1 deficiency increases the sensitivity of ovarian cancer cells to auranofin[J]. *Mutat Res*, 2016, 784–785:8–15
  - 9 Wang W, Kryczek I, Dostál L, *et al.* Effector T cells abrogate stroma-mediated chemoresistance in ovarian cancer[J]. *Cell*, 2016, 165(5):1092–1105
  - 10 石占荣, 黄冬梅, 邓克红, 等. 干扰素- $\gamma$ 维持治疗对中晚期卵巢癌无进展生存期及生存率的影响[J]. *中国妇幼保健*, 2015, 30(33):5895–5897
  - 11 Rodrik – Outmezguine VS, Okaniwa M, Yao Z, *et al.* Overcoming mTOR resistance mutations with a new – generation mTOR inhibitor [J]. *Nature*, 2016, 534(7606):272–276
  - 12 Jenner ZB, Sood AK, Coleman RL. Evaluation of rucaparib and companion diagnostics in the PARP inhibitor landscape for recurrent ovarian cancer therapy[J]. *Future Oncol*, 2016, 12(12):1439–1456
  - 13 Mohell N, Alfredsson J, Fransson A, *et al.* APR – 246 overcomes resistance to cisplatin and doxorubicin in ovarian cancer cells[J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6:e1794
  - 14 Fransson A, Glaessgen D, Alfredsson J, *et al.* Strong synergy with APR – 246 and DNA – damaging drugs in primary cancer cells from patients with TP53 mutant High – Grade Serous ovarian cancer[J]. *J Ovarian Res*, 2016, 9(1):27
  - 15 Zhang Y, Fox JT, Park YU, *et al.* A Novel Chemotherapeutic Agent to Treat Tumors with DNA Mismatch Repair Deficiencies [J]. *Cancer Res*, 2016, 76(14):4183–4191
  - 16 Pan Q, Xue M, Xiao SS, *et al.* A Combination therapy with baicalein and taxol promotes mitochondria – mediated cell apoptosis: involving in Akt/ $\beta$  – catenin signaling pathway[J]. *DNA Cell Biol*, 2016, 35(11):646–656
  - 17 常世杰, 李硕, 李艳秋, 等. 大黄素对人卵巢癌紫杉醇耐药细胞株 SKOV3/TAX 耐药的逆转作用[J]. *解剖科学进展*, 2015, 21(3):241–244
  - 18 曲红光, 高磊, 贺丹, 等. 灵芝多糖逆转卵巢癌细胞顺铂耐药的作用及其机制[J]. *吉林大学学报:医学版*, 2011, 37(2):250–254
  - 19 Bordoloi D, Roy NK, Monisha J, *et al.* Multi – targeted agents in cancer cell chemosensitization: what we learnt from curcumin thus far[J]. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 2016, 11(1):67–97
  - 20 Gronowicz G, Secor ER Jr, Flynn JR, *et al.* Human biofield therapy does not affect tumor size but modulates immune responses in a mouse model for breast cancer[J]. *J Integr Med*, 2016, 14(5):389–399
  - 21 Dons'koi BV, Chernyshov VP, Osypchuk DV, *et al.* Repeated cupping manipulation temporary decreases natural killer lymphocyte frequency, activity and cytotoxicity[J]. *J Integr Med*, 2016, 14(3):197–202
  - 22 Fox BA, Sanders KL, Rommereim LM, *et al.* Secretion of rhoGTPase and dense granule effector proteins by nonreplicating *Toxoplasma gondii* uracil auxotrophs controls the development of antitumor immunity[J]. *PLoS Genet*, 2016, 12(7):e1006189
  - 23 Lizotte PH, Wen AM, Sheen MR, *et al.* In situ vaccination with cowpea mosaic virus nanoparticles suppresses metastatic cancer[J]. *Nat Nanotechnol*, 2016, 11(3):295–303
  - 24 Pantelidou C, Cherubini G, Lemoine NR, *et al.* The E1B19K – deleted oncolytic adenovirus mutant Ad $\Delta$ 19K sensitizes pancreatic cancer cells to drug – induced DNA – damage by down – regulating Claspins and Mre11[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(13):15703–15724
  - 25 Uusi – Kerttula H, Davies J, Coughlan L, *et al.* Pseudotyped  $\alpha\beta 6$  integrin – targeted adenovirus vectors for ovarian cancer therapies[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19):27926–27937

(收稿日期:2017-02-13)

(修回日期:2017-02-27)

(上接第170页)

- 19 Bronkhorst MW, Patka P, Lieshout EM. Multiple infectious complications in a severely injured patient with single nucleotide polymorphisms in important innate immune response genes[J]. *Open Orthop J*, 2015, 31(9):367–371
- 20 Triantafilou M, Triantafilou K. The dynamics of LPS recognition: complex orchestration of multiple receptors[J]. *J Endotoxin Res*, 2005, 11(1):5–11
- 21 Gu W, Dong H, Jiang DP, *et al.* Functional significance of CD14 promoter polymorphisms and their clinical relevance in a Chinese Han population[J]. *Crit Care Med*, 2008, 36(8):2274–2280
- 22 Nakada TA, Hirasawa H, Oda S, *et al.* Influence of toll – like receptor 4, CD14, tumor necrosis factor, and interleukine – 10 gene polymorphisms on clinical outcome in Japanese critically ill patients[J]. *J Surg Res*, 2005, 129(2):322–328
- 23 Heesen M, Bloemeke B, Schade U, *et al.* The – 260 C – > T promoter polymorphism of the lipopolysaccharide receptor CD14 and severe sepsis in trauma patients[J]. *Intensive Care Med*, 2002, 28(8):1161–1163
- 24 顾玮, 单佑安, 刘庆, 等. 汉族人髓样分化蛋白2基因启动子区多态性与严重创伤后并发症易感性的关系[J]. *中国医学科学院学报*, 2007, 29(4):484–487
- 25 Zeng L, Zhang AQ, Gu W, *et al.* Identification of haplotype tag single nucleotide polymorphisms within the receptor for advanced glycation end products gene and their clinical relevance in patients with major trauma[J]. *Crit Care*, 2012, 16(4):1–11

(收稿日期:2016-11-01)

(修回日期:2016-11-21)