

• 论 著 •

WNT 信号通路中抑制基因 *WIF1* 与 *DKK1* 基因多态性与中国汉族人群结核易感性的相关性研究



刘堂喻亨, 王念, 宋佳佳, 胡雪姣, 赵珍珍, 彭武, 白浩, 吴茜, 应斌武

四川大学华西医院实验医学科(成都 610041)

【摘要】 目的 初步探究 WNT 信号通路中关键抑制基因 *WIF1* 和 *DKK1* 多态性位点与结核易感性、临床特征及实验室指标的相关性。方法 纳入四川大学华西医院 2014 年 12 月–2016 年 11 月期间 475 例结核病患者和 370 例健康对照, 采用高通量基因分型技术对 WNT 信号通路中 *WIF1* 基因 rs58635985 位点和 *DKK1* 基因 rs11001548 位点多态性进行分型检测, 并收集受试者相关临床资料。应用 χ^2 检验、logistic 回归模型等统计学方法分析单核苷酸多态性位点的等位基因、基因型、遗传模型在两组之间的分布差异, 以及其是否影响结核患者临床表征。**结果** *WIF1* rs58635985 位点和 *DKK1* rs11001548 位点的等位基因 ($P=0.275, 0.949$)、基因型 ($P=0.214, 0.659$) 及遗传模型: 加性模型 ($P=0.214, 0.659$)、显性模型 ($P=0.414, 0.827$) 与隐性模型 ($P=0.227, 0.658$) 的频率分布在结核组与健康对照组比较中差异无统计学意义。亚组分析显示: rs58635985 和 rs11001548 等位基因和基因型分布差异无统计学意义(肺结核亚组 vs. 健康对照组: $P>0.05$; 肺结核组 vs. 肺外结核组: $P>0.05$)。rs58635985 位点和 rs11001548 位点在结核病相关临床特征(发热、盗汗、乏力等)以及实验室指标(血常规、红细胞沉降率、TB-DNA 等)分析中差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** 未发现 *WIF1* 基因 rs58635985 位点和 *DKK1* 基因 rs11001548 位点与中国西部地区汉族人群结核病遗传易感性、临床特征及实验室指标有关联, 后续仍需扩大样本量在不同人群中进行验证分析。

【关键词】 结核病; WNT 信号通路; *WIF1* 基因; *DKK1* 基因; 单核苷酸多态性

Correlation between the polymorphisms of inhibition genes *WIF1* and *DKK1* in WNT signaling pathway and the susceptibility to tuberculosis in Chinese Han population

LIU Tangyuheng, WANG Nian, SONG Jiajia, HU Xuejiao, ZHAO Zhenzhen, PENG Wu, BAI Hao, WU Qian, YING Binwu

Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, P. R. China

Corresponding author: YING Binwu, Email: binwuying@126.com

【Abstract】 Objective To explore the relationship between the polymorphisms of inhibitor genes *WIF1* and *DKK1* in WNT signaling pathway and susceptibility to tuberculosis, clinical characteristics and laboratory indexes. **Methods** From December 2014 to November 2016, 475 tuberculosis patients and 370 healthy controls of West China Hospital of Sichuan University were enrolled in the study, and the clinical data of the subjects were collected. High-throughput genotyping technique was used to detect the polymorphism of *WIF1* rs58635985 and *DKK1* rs11001548 in WNT signaling pathway. The allele frequency distribution, genotype, genetic model, clinical features and laboratory indexes of two single nucleotide polymorphisms were analyzed by χ^2 test and logistic regression analysis. **Results** There was no significant difference in the allele frequency distribution ($P=0.275, 0.949$), genotype ($P=0.214, 0.659$) or genetic models: additive model ($P=0.214, 0.659$), dominant model ($P=0.414, 0.827$), recessive model ($P=0.227, 0.658$) of rs58635985 and rs11001548 between the tuberculosis group and the healthy control group. Subgroup analysis showed no

DOI: 10.7507/1002-0179.201807066

基金项目: 国家自然科学基金(81472026, 81672095); 国家科技重大专项艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治项目(2012ZX10004-901); 四川省卫生和计划生育委员会科研课题(16ZD004)

通信作者: 应斌武, Email: binwuying@126.com

significant difference in allele and genotype distribution between rs58635985 and rs11001548 (pulmonary tuberculosis subgroup vs. healthy control group: $P>0.05$; pulmonary tuberculosis subgroup vs. extra-pulmonary tuberculosis: all $P>0.05$). There was no significant difference in the clinical features (fever, night sweat, fatigue, etc.) or laboratory indexes (complete blood count, erythrocyte sedimentation rate, TB-DNA, etc.) ($P>0.05$). **Conclusions** There is no association between rs58635985 of *WIF1* gene or rs11001548 of *DKK1* gene and genetic susceptibility, clinical characteristics and laboratory indexes in Han population in Western China. To expand the sample size for verification and analysis in different populations is necessary.

【Key words】 Tuberculosis; WNT signaling pathway; *WIF1* gene; *DKK1* gene; Single nucleotide polymorphism

结核病是由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 引起的一种传染性疾病, 在单一病原体引起死亡的传染性疾病中排名第一。根据世界卫生组织 2017 年的报告, 2016 年约有 1 040 万新发结核病例, 而我国每年有新增病例 100 万例和死亡病例 3.9 万例, 排名世界第三^[1]。不同个体对 MTB 的易感性有很大差异, 宿主遗传背景可影响结核感染的发生、发展和预后^[2]。

许多基因位点与结核病的发展有关, 其中包括 WNT 信号通路、细胞因子和趋化因子等^[3]。WNT 信号通路是一条进化上高度保守的信号转导通路, 参与调控结核感染过程中的免疫炎症反应应答, 在结核发生、发展中发挥重要作用^[4]。WNT 抑制蛋白 1 (WNT inhibitory factor 1, WIF1) 和 Wnt 通路抑制因子 Dickkopf (Dickkopf WNT signaling pathway inhibitor, DKK) 是 WNT 信号通路中重要的拮抗因子, 通过与 WNT 或 WNT 受体结合而抑制 WNT 信号通路, 负调控靶基因表达^[5]。本课题组前期研究发现 WNT 信号通路的抑制基因 *CTNNT1* rs4 135 385 位点和 *SFRP1* rs78 322 767 位点在中国西部汉族人群中与结核易感性相关^[6], 在中国西部地区藏族人群中未发现 *DKK1* rs1 100 155 位点和 *WIF1* rs56 900 803 位点与结核病存在关联^[7]。同时, 研究显示活动性肺结核患者的临床特征及实验室指标的差异与单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 遗传变异存在关联性^[6], 本研究首次在中国西部地区汉族人群中对 WNT 信号通路中两个关键基因 *WIF1* rs58 635 985 位点和 *DKK1* rs11 001 548 位点与结核易感性、临床特征和实验室指标的相关性进行探究, 现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

纳入 2014 年 12 月—2016 年 11 月期间, 于四川大学华西医院就诊的 475 例结核病患者为结核病组。结核病组纳入标准: ① 根据我国结核病诊断

标准, 具有典型的结核病症状和体征, 且至少符合以下几项之一: A. 2 次以上的抗酸染色涂片阳性或 MTB 培养阳性或 MTB 核酸检测 (TB-DNA) 阳性; B. 细菌学证据阴性, 但 CT 等影像学检查显示典型的活动性结核病变表现; C. 病理学诊断支持结核病变; D. 2 次以上的 γ -干扰素释放试验阳性且抗结核感染治疗有效。② 汉族。370 例健康对照来自于同期健康体检人群, 纳入标准: ① 既往无结核病史; ② 痰涂片及 MTB 核酸检测等结核相关检查阴性; ③ 影像学检查无异常; ④ 经健康体检证实健康个体; ⑤ 汉族。两组排除标准: ① 其他呼吸系统疾病如肺部感染和慢性阻塞性肺部疾病等; ② 系统性慢性疾病如高血压、糖尿病等; ③ 肿瘤患者; ④ 自身免疫性疾病; ⑤ 肝炎病毒感染, 人类免疫缺陷病毒感染; ⑥ 使用免疫抑制剂或增强剂的患者。本研究经四川大学华西医院临床伦理委员会审核通过[2014 年审 (198) 号], 并获得所有纳入对象知情同意。

1.2 研究方法

1.2.1 基因分型 使用乙二胺四乙酸抗凝采血管采集所有受试者的外周静脉血 3 ~ 5 mL。按照 QIAamp DNA Blood Midi Kit (德国 Qiagen 公司) 试剂盒说明书, 提取人外周血 DNA。基因型采用 “2x48-Plex SNPscan™ Kit” 高通量基因分型技术 (上海天昊生物技术公司), 以双蒸水为阴性对照, 进行基因分型实验, 提高分型质量。随机选择 10% ~ 15% 的样品进行重复基因分型, 质量控制样本的符合率为 100%。

1.2.2 临床数据收集及实验室指标检测 ① 收集研究对象相关病历信息, 包括年龄、性别、体质量指数 (body mass index, BMI)、治疗情况、基础疾病等。② 实验室检测指标: 全血细胞计数采用全自动血液学分析仪 XE-5000™ (日本 Sysmex 公司), C 反应蛋白浓度检测采用 IMMAGE 800 (美国 Beckman Coulter 公司), 红细胞沉降率 (血沉) 采用全自动血沉分析仪 (意大利 Alifax 公司) 测定。

MTB 病原学检测包括涂片镜检、MTB 培养和 TB-DNA 分子检测, 其中涂片镜检采 Ziehl-Neelsen 抗酸染色, MTB 培养用 MGIT 960 系统(美国 Becton Dickinson 公司), 检测 TB-DNA 用实时荧光定量聚合酶链反应试剂盒(德国 Qiagen 公司)。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析。正态分布的连续变量采用均数±标准差表示, 非正态分布的连续变量采用中位数(最小值, 最大值)表示, 分类变量用绝对数或百分数表示。正态分布的计量资料, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析; 非正态分布或不符合参数检验适用条件的计量资料, 两组间比较采用 Mann-Whitney 秩和检验, 多组间比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验; 计数资料组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。应用 Hardy-Weinberg 平衡法(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)进行遗传平衡检验。利用 PLINK V1.09 软件比较两组间 SNP 的等位基因、基因型及遗传模型分布差异。两组之间各基因型、等位基因频率对结核发病风险影响用比值比(odds ratio, OR)及 95% 置信区间(confidence interval, CI)表示。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 研究人群基本特征

结核组 475 例, 其中男 285 例, 女 215 例, 平均年龄(41.66±19.23)岁; 健康对照组 370 例, 其中男 223 例, 女 153 例, 平均年龄(42.30±11.57)岁; 两组性别和年龄差异均无统计学意义($P>0.05$), 且

均以中年男性为主。实验室检查结果中, 红细胞比容、血小板计数、白细胞计数、中性粒细胞绝对值计数、单核细胞绝对值计数在两组间差异有统计学意义($P<0.001$), 结核组均明显高于健康对照组; 而健康对照组的红细胞计数、血红蛋白含量、淋巴细胞绝对值计数明显高于结核组, 差异有统计学意义($P<0.001$)。见表 1。

结核组 TB-DNA 阳性率为 54.92% (162/295), TB-DNA 检测对诊断结核的敏感性高于涂片显微镜[OR=1.876, 95%CI (1.462, 2.466), $P<0.001$]和培养法[OR=3.179, 95%CI (1.884, 5.365), $P<0.001$], 后两者阳性率分别为 29.28% (130/444)和 17.27% (19/110)。结核亚型中肺结核占 78.11% (371/475), 肺外结核占 18.95% (90/475), 肺结核合并肺外结核占 2.95% (14/554)。

2.2 WIF1、DKK1 基因多态性与结核病易感性的关系

475 例结核病患者和 370 例健康对照者均成功进行基因分型。WIF1 基因 rs58635985 位点和 DKK1 基因 rs11001548 位点, 各基因型频率符合 HWE ($P>0.05$)。在结核组和健康对照组中, rs58635985 位点和 rs11001548 位点的等位基因频率和基因型在病例组和对照组之间分布差异无统计学意义($P>0.05$)。3 种遗传模型(加性、显性和隐性)在两组间分布差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2、3。

2.3 WIF1 基因和 DKK1 基因多态性与肺结核易感性的关系

肺结核是最主要的临床亚组, 占 78.11%

表 1 研究对象的临床特征

指标	结核组 (n=475)	健康对照组 (n=370)	检验值	P 值
基本信息				
男性[例 (%)]	285 (60.00)	223 (60.27)	$\chi^2=0.006$	0.937
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	41.66±19.23	42.30±11.57	$t=-0.565$	0.572
BMI (kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	19.86±3.62	-	-	-
实验室指标				
红细胞计数($\times 10^{12}/L$, $\bar{x} \pm s$)	4.21±0.82	4.82±0.48	$t'=-13.464$	0.000
血红蛋白(g/L, $\bar{x} \pm s$)	118.47±24.08	146.47±15.60	$t'=-20.393$	0.000
红细胞比容[L/L, $M(X_{min}, X_{max})$]	0.57 (0.05, 0.63)	0.45 (0.30, 0.54)	$Z=-16.932$	0.000
血小板计数[$\times 10^9/L$, $M(X_{min}, X_{max})$]	250.42 (74.00, 440.00)	164.05 (22.00, 765.00)	$Z=-12.925$	0.000
白细胞计数($\times 10^9/L$, $\bar{x} \pm s$)	7.14±3.49	6.08±1.29	$t'=6.129$	0.000
中性粒细胞绝对值计数($\times 10^9/L$, $\bar{x} \pm s$)	5.26±3.67	3.66±0.98	$t'=9.087$	0.000
淋巴细胞绝对值计数[$\times 10^9/L$, $M(X_{min}, X_{max})$]	1.13 (0.04, 12.56)	1.92 (0.68, 5.29)	$Z=-5.120$	0.000
单核细胞绝对值计数($\times 10^9/L$, $\bar{x} \pm s$)	0.53±0.38	0.37±0.23	$t'=7.491$	0.000
血沉[mm/h, $M(X_{min}, X_{max})$]	49.96 (2.00, 456.00)	-	-	-
C 反应蛋白[mg/L, $M(X_{min}, X_{max})$]	47.36 (1.00, 417.00)	-	-	-

健康对照组未检测 BMI、血沉、C 反应蛋白等数据

表 2 *WIFI* rs58 635 985 C>T 等位基因、基因型及遗传模型在结核组和健康对照组分布情况 [例 (%)]

等位基因/基因型/遗传模型	结核组 (n=475)	健康对照组 (n=370)	OR 值	OR 值的 95%CI	P 值
等位基因					
T	130 (13.68)	88 (11.89)	1.175	(0.879, 1.569)	0.275
C	820 (86.32)	652 (88.11)	(参照)		
基因型					
TT	12 (2.53)	5 (1.36)	1.929	(0.672, 5.540)	0.214
TC	106 (22.36)	78 (21.25)	1.093	(0.785, 1.521)	0.600
CC	357 (75.32)	287 (78.20)	(参照)		
加性模型					
TT	12 (2.53)	5 (1.36)	1.929	(0.672, 5.540)	0.214
CC	357 (75.32)	287 (78.20)	(参照)		
显性模型					
TT+CT	118 (24.84)	83 (23.51)	1.143	(0.829, 1.575)	0.414
CC	357 (75.32)	287 (78.20)	(参照)		
隐性模型					
TT	12 (2.53)	5 (1.36)	1.892	(0.661, 5.419)	0.227
CT+CC	463 (97.47)	365 (98.65)	(参照)		

表 3 *DKKI* rs11 001 548 C>T 等位基因、基因型及遗传模型在结核组和健康对照组分布情况 [例 (%)]

等位基因/基因型/遗传模型	结核组 (n=475)	健康对照组 (n=370)	OR 值	OR 值的 95%CI	P 值
等位基因					
T	83 (8.74)	64 (8.67)	1.011	(0.719, 1.422)	0.949
C	867 (91.26)	676 (91.35)	(参照)		
基因型					
TT	2 (0.42)	3 (0.81)	0.523	(0.087, 3.148)	0.659
TC	79 (16.63)	58 (15.68)	1.068	(0.738, 1.547)	0.727
CC	394 (82.95)	309 (83.51)	(参照)		
加性模型					
TT	2 (0.42)	3 (0.81)	0.523	(0.087, 3.148)	0.659
CC	394 (82.95)	309 (83.51)	(参照)		
显性模型					
TT+CT	81 (17.05)	61 (16.49)	1.041	(0.724, 1.499)	0.827
CC	394 (82.95)	309 (83.51)	(参照)		
隐性模型					
TT	2 (0.42)	3 (0.81)	0.517	(0.086, 3.112)	0.658
CT+CC	473 (99.58)	367 (99.18)	(参照)		

(371/475)。rs58 635 985 位点和 rs11 001 548 位点的等位基因频率和基因型分布在肺结核组和健康对照组之间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。在 3 种遗传模型 (加性、显性和隐性) 中, rs58635985 位点和 rs11001548 位点在两组之间差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 4、5。

对 rs58 635 985 位点和 rs11 001 548 位点的等位基因频率及基因型在肺结核组与肺外结核组间进行亚组分析, 肺结核合并肺外结核样本数量较少, 不作进一步分析。肺结核组 371 例 (78.11%) 和肺外结核组 90 例 (18.95%), rs58 635 985 位点和 rs11 001 548 位点的等位基因频率及基因型在肺结核组和肺外结核组分布差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 6、7。

2.4 结核病患者基因型与临床特征及实验室检测指标的相关性研究

结核病患者 rs58 635 985 位点和 rs11 001 548 位点的基因型分布在临床特征 (发热、体重减轻、盗汗、食欲减低及乏力) 中的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。其基因型在实验室检查指标 (C 反应蛋白、红细胞计数、白细胞计数、TB-DNA 等) 分布差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 8、9。

3 讨论

宿主遗传背景在疾病发生发展和转归中具有重要作用^[2], 世界上约有 1/3 的人口感染了 MTB, 仅 5%~10% 的人会成为活动性结核病^[8], 宿主易感基因在结核病发生、发展中的作用

表 4 *WIFI* rs58 635 985 C>T 等位基因、基因型及遗传模型在肺结核组和健康对照组分布情况 [例 (%)]

等位基因/基因型/遗传模型	肺结核组 (n=371)	健康对照组 (n=370)	OR 值	OR 值的 95%CI	P 值
等位基因					
T	101 (13.61)	88 (11.89)	1.167	(0.160, 0.860)	0.321
C	641 (86.39)	652 (88.11)	(参照)		
基因型					
TT	10 (2.70)	5 (1.36)	2.050	(0.692, 0.860)	0.168
TC	81 (21.83)	78 (21.25)	1.064	(0.749, 1.513)	0.728
CC	280 (75.47)	287 (78.20)	(参照)		
加性模型					
TT	10 (2.70)	5 (1.35)	2.050	(0.692, 6.073)	0.203
CC	280 (75.47)	287 (77.57)	(参照)		
显性模型					
TT+CT	91 (24.53)	83 (22.43)	1.124	(0.800, 1.579)	0.501
CC	280 (75.47)	287 (77.57)	(参照)		
隐性模型					
TT	10 (2.70)	5 (1.35)	2.022	(0.684, 5.974)	0.194
CT+CC	361 (97.30)	365 (98.65)	(参照)		

表 5 *DKK1* rs11 001 548 C>T 等位基因、基因型及遗传模型在肺结核组和健康对照组分布情况 [例 (%)]

等位基因/基因型/遗传模型	肺结核组 (n=371)	健康对照组 (n=370)	OR 值	OR 值的 95%CI	P 值
等位基因					
T	65 (8.76)	64 (11.89)	1.014	(0.707, 0.455)	0.939
C	677 (91.24)	676 (88.11)	(参照)		
基因型					
TT	1 (0.27)	3 (0.81)	0.336	(0.035, 3.243)	0.624
TC	63 (16.98)	58 (15.68)	1.093	(0.740, 1.615)	0.654
CC	307 (82.75)	309 (83.51)	(参照)		
加性模型					
TT	1 (0.27)	3 (0.81)	1.201	(0.611, 1.412)	0.940
CC	307 (82.75)	309 (83.51)	(参照)		
显性模型					
TT+CT	64 (17.25)	61 (16.49)	1.056	(0.718, 1.551)	0.781
CC	307 (82.75)	309 (83.51)	(参照)		
隐性模型					
TT	1 (0.27)	3 (0.81)	0.398	(0.041, 3.850)	0.630
CT+CC	370 (82.75)	367 (99.19)	(参照)		

表 6 *WIFI* rs58 635 985 C>T 等位基因、基因型及遗传模型在肺结核组和肺外结核组分布情况 [例 (%)]

等位基因/基因型/遗传模型	肺结核组 (n=371)	肺外结核组 (n=90)	OR 值	OR 值的 95%CI	P 值
等位基因					
T	101 (13.61)	27 (15.00)	0.893	(0.564, 1.414)	0.629
C	641 (86.39)	153 (85.00)	(参照)		
基因型					
TT	10 (2.7)	2 (2.22)	1.161	(0.248, 5.425)	1.000
TC	81 (21.83)	23 (25.56)	0.818	(0.478, 1.397)	0.461
CC	280 (75.47)	65 (72.22)	(参照)		
加性模型					
TT	10 (2.7)	2 (2.22)	1.161	(0.248, 5.425)	1.000
CC	280 (75.47)	65 (72.22)	(参照)		
显性模型					
TT+CT	91 (24.53)	25 (27.78)	0.845	(0.503, 1.419)	0.524
CC	280 (75.47)	65 (72.22)	(参照)		
隐性模型					
TT	10 (2.7)	2 (2.22)	1.219	(0.262, 5.662)	0.575
CT+CC	361 (97.3)	88 (97.78)	(参照)		

表 7 DKK1 rs11 001 548 C>T 等位基因、基因型及遗传模型在肺结核组和肺外结核组分布情况 [例 (%)]

等位基因/基因型/遗传模型	肺结核组 (n=371)	肺外结核组 (n=90)	OR 值	OR 值的 95%CI	P 值
等位基因					
T	65 (8.76)	17 (9.44)	0.921	(0.526, 1.613)	0.772
C	677 (91.24)	163 (90.56)	(参照)		
基因型					
TT	1 (0.27)	1 (1.11)	0.241	(0.015, 3.899)	0.354
TC	63 (16.98)	15 (16.67)	1.012	(0.546, 1.878)	0.969
CC	307 (82.75)	74 (82.22)	(参照)		
加性模型					
TT	1 (0.27)	1 (1.11)	0.241	(0.015, 3.899)	0.354
CC	307 (82.75)	74 (82.22)	(参照)		
显性模型					
TT+CT	64 (17.25)	16 (17.78)	0.964	(0.527, 1.763)	0.906
CC	307 (82.75)	74 (82.22)	(参照)		
隐性模型					
TT	1 (0.27)	1 (1.11)	0.241	(0.015, 3.883)	0.353
CT+CC	370 (99.73)	89 (98.89)	(参照)		

表 8 rs58 635 985 多态性与结核病患者临床特征及实验室检测指标的关系

项目	TT (n=12)	CT (n=106)	CC (n=357)	检验值	P 值
基本信息					
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	42.33±18.13	45.02±16.32	40.59±16.48	F=1.951	0.143
男性[例 (%)]	7 (58.33)	69 (65.09)	209 (58.54)	$\chi^2=1.476$	0.478
吸烟[例 (%)]	3 (25.00)	34 (32.08)	86 (24.09)	$\chi^2=2.721$	0.256
饮酒[例 (%)]	2 (16.67)	23 (21.70)	63 (17.65)	$\chi^2=0.917$	0.632
临床表现[例 (%)]					
发热	4 (33.33)	55 (51.89)	172 (48.18)	$\chi^2=1.570$	0.456
体重减轻	6 (50.00)	67 (63.21)	248 (69.47)	$\chi^2=3.198$	0.202
盗汗	7 (58.33)	79 (74.53)	258 (72.27)	$\chi^2=1.432$	0.489
食欲不振	7 (58.33)	69 (65.09)	239 (66.95)	$\chi^2=0.477$	0.788
乏力	6 (50.00)	85 (80.19)	272 (76.19)	$\chi^2=5.494$	0.064
实验室检查指标					
C 反应蛋白[mg/L, $M(X_{min}, X_{max})$]	59.39 (1.13, 279.00)	47.32 (1.09, 279.00)	45.83 (1.00, 417.00)	$\chi^2=1.161$	0.560
红细胞计数($\times 10^{12}/L, \bar{x} \pm s$)	4.08±0.57	4.22±0.61	4.21±0.65	F=0.176	0.839
血红蛋白(g/L, $\bar{x} \pm s$)	119.17±18.61	119.93±18.36	118.01±19.80	F=0.311	0.733
红细胞比容[L/L, $M(X_{min}, X_{max})$]	0.35 (0.23, 0.44)	0.37 (0.22, 0.60)	0.63 (0.30, 0.54)	$\chi^2=0.507$	0.776
血小板计数($\times 10^9/L, M(X_{min}, X_{max})$]	219.92 (91.00, 334.00)	262.54 (73.00, 729.00)	247.84 (74.00, 440.00)	$\chi^2=1.854$	0.396
白细胞计数($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	8.05±4.00	7.27±2.32	7.08±2.51	F=0.499	0.607
中性分叶核粒细胞绝对值($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	6.25±3.86	5.40±2.21	5.19±2.27	F=0.548	0.578
淋巴细胞绝对值($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	1.10±0.52	1.22±0.49	1.42±0.72	F=0.494	0.611
单核细胞绝对值($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	0.57±0.31	0.52±0.23	0.53±0.24	F=0.119	0.887
血沉[mm/h, $M(X_{min}, X_{max})$]	31.15 (3.00, 71.00)	54.89 (2.00, 456.00)	49.08 (2.00, 120.00)	$\chi^2=3.418$	0.181
TB-DNA 阳性[例 (%)]*	4 (57.14)	41 (60.29)	117 (53.18)	$\chi^2=1.125$	0.549
抗酸染色阳性[例 (%)]#	7 (63.64)	28 (28.57)	95 (28.36)	$\chi^2=5.844$	0.053

*TT、CT、CC 组检测例数(即分母)分别为 7、68、220 例; # TT、CT、CC 组检测例数(即分母)分别为 11、98、335 例

成为近年研究热点。Sveinbjornsson 等^[9]的一项大型全基因组关联分析研究表明,人类白细胞抗原 II 类抗原(rs557011、rs9271378 和 rs9272785)可能通过减少向 T 细胞呈递保护性 MTB 抗原而导致结核病易感性遗传风险。大量研究提示,WNT 信号通路参与调节 MTB 感染的发病机制,在结核病的进程中发挥重要作用^[4-5]。Fan 等^[10]发现 WNT 信号通路

与 MTB 感染后 T 细胞增殖及结核病严重程度密切相关,WNT 信号通路上的拮抗基因在抗 MTB 感染过程中参与免疫调控过程,保护机体免受过度免疫反应损伤^[11],其中重要拮抗基因 WIF1 和 DKK1,在肿瘤疾病如胶质母细胞瘤^[12]、非小细胞肺癌^[13]、肝癌^[14]等中有较多报道,也有 WIF1 和 DKK1 与感染性疾病相关性的研究^[7]。西部地区是中国结核病负

表9 rs11 001 548 多态性与结核病患者临床特征及实验室检测指标的关系

项目	TT (n=2)	CT (n=79)	CC (n=394)	检验值	P 值
基本信息					
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	37.5±14.5	41.10±17.58	41.75±16.25	F=0.084	0.919
男性[例(%)]	1 (50.00)	48 (60.76)	236 (59.90)	$\chi^2=0.104$	0.949
吸烟[例(%)]	0 (0.00)	23 (29.11)	102 (25.89)	$\chi^2=1.758$	0.376
饮酒[例(%)]	0 (0.00)	15 (18.99)	73 (18.53)	$\chi^2=0.224$	1.000
临床表现[例(%)]					
发热	2 (100.00)	41 (62.12)	188 (50.81)	$\chi^2=2.214$	0.318
体重减轻	2 (100.00)	56 (73.68)	266 (68.73)	$\chi^2=0.851$	0.679
盗汗	1 (50.00)	65 (85.53)	279 (71.91)	$\chi^2=5.362$	0.052
食欲不振	1 (50.00)	55 (73.33)	260 (67.01)	$\chi^2=0.949$	0.646
乏力	1 (50.00)	61 (81.33)	305 (78.81)	$\chi^2=1.312$	0.585
实验室检查指标					
C 反应蛋白[mg/L, $M(X_{min}, X_{max})$]	11.07 (3.24, 18.90)	44.58 (1.21, 268.00)	47.11 (1.00, 417.00)	$\chi^2=2.645$	0.266
红细胞计数($\times 10^{12}/L, \bar{x} \pm s$)	4.99±0.02	4.07±0.67	4.23±0.63	$\chi^2=5.253$	0.072
血红蛋白(g/L, $\bar{x} \pm s$)	125.50±22.50	116.27±19.72	118.87±19.37	F=0.470	0.625
红细胞比容[L/L, $M(X_{min}, X_{max})$]	0.38 (0.31, 0.46)	0.35 (0.05, 0.47)	0.61 (0.17, 0.63)	F=0.117	0.890
血小板计数($\times 10^9/L, M(X_{min}, X_{max})$]	224.50 (154.00, 295.00)	249.80 (75.00, 729.00)	250.67 (22.00, 765.00)	$\chi^2=0.213$	0.899
白细胞计数($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	6.57±0.07	7.53±0.02	7.07±2.41	$\chi^2=0.302$	0.990
中性分叶核粒细胞绝对值($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	4.70±0.22	5.18±2.43	5.28±2.28	$\chi^2=0.498$	0.780
淋巴细胞绝对值($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	1.25±0.18	1.44±0.76	1.35±0.64	$\chi^2=0.340$	0.844
单核细胞绝对值($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	0.51±0.08	0.52±0.26	0.53±0.23	F=0.002	0.998
血沉[mm/h, $M(X_{min}, X_{max})$]	40.50 (10.00, 71.00)	53.53 (3.00, 456.00)	49.35 (2.00, 120.00)	$\chi^2=0.260$	0.878
TB-DNA 阳性[例(%)] [*]	1 (50.00)	27 (60.00)	134 (54.03)	$\chi^2=0.807$	0.760
抗酸染色阳性[例(%)] [#]	1 (50.00)	28 (36.84)	101 (27.60)	$\chi^2=3.441$	0.186

*TT、CT、CC 组检测例数(即分母)分别为 2、45、248 例; # TT、CT、CC 组检测例数(即分母)分别为 2、76、366 例

担较高的地区之一,本研究采用高通量基因分型技术首次对 *WIFI1* 基因 rs58 635 985 位点和 *DKK1* 基因 rs11 001 548 位点进行分析,未发现 SNP (rs58 635 985、rs11 001 548) 在中国西部汉族人群中与结核易感性、临床特征及实验室指标有关联性。

WIFI1 基因编码的 WNT 抑制因子 1 (*WIFI1*) 是 WNT 信号通路的抑制剂,它通过直接与 WNT 配体结合和阻止配体与细胞表面受体结合,从而对 WNT 信号传导产生抑制作用^[15]。目前对 *WIFI1* 研究主要集中在肿瘤方面, Hu 等^[14]发现 *WIFI1* 能显著抑制人微血管内皮细胞和小鼠内皮祖细胞的形成和迁移,抑制肝癌血管生成和肿瘤生长,也有部分研究 *WIFI1* 与慢性气道炎症反应的相关性,在 560 例中国汉族哮喘儿童中 *WIFI1* 基因的 rs6581612 位点与第 1 秒用力呼气末容积的差异无关^[16], *WIFI1* 基因 SNP 与结核病相关性鲜有报道,本课题组前期研究中未发现 *WIFI1* 基因的 rs56 900 803 位点在中国西部藏族人群中与结核病存在关联。

DKK 基因编码分泌性糖蛋白 *DKK1*, 基因全长 1 815 kb, 位于第 10 号染色体 10q11 上。*DKK1* 是 WNT 信号通路抑制剂, 是重要的负反馈调节因子, *DKK1* 通过结合细胞表面受体, 在 WNT 信号通

路中起负调控作用^[17]。有较多关于 *DKK1* 基因多态性与疾病的研究, Liu 等^[18]发现 *DKK1* 基因的 rs156 919 位点和 rs11 001 560 位点可能与中国汉族女性人群中髌关节发育异常相关, *DKK1* 基因 rs1 569 198 位点与多囊卵巢综合征中雄激素增多及内分泌代谢紊乱相关^[19], 未发现中国汉族人群 rs2241529 位点与胃癌发病危险因素相关^[20], 而 *DKK1* 基因多态性与结核易感性的相关研究少见报道。课题组前期研究未发现 *DKK1* rs11 001 553 位点在中国西部藏族人群中与结核易感性相关。

本研究存在一定的局限性: 首先, 此次研究纳入的样本数量可能不足以发现两个 SNP 与结核易感性的关系。其次, 选择的这两个位点可能确实与结核病易感性之间不存在联系, 但选择的位点不一定能代表基因; 并且由于本研究的研究对象为活动性肺结核患者, 未纳入结核潜伏感染患者, 无法确定两个位点是否与结核潜伏感染相关。

综上所述, 本研究未发现 *WIFI1* rs58 635 985 位点和 *DKK1*rs11 001 548 与结核易感性、临床特征和实验室指标之间存在相关性, 后续将扩大样本量和其他人群中进一步验证 *WIFI1* 和 *DKK1* 与结核易感性的关系。WNT 信号通路的基因多态性如何影响

结核病发病机制, 未来仍需深入研究。

参考文献

- 1 World Health Organization. Global tuberculosis report 2016: WHO/HTM/TB/2016.13. Geneva: World Health Organization, 2016. <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s23098en/s23098en.pdf>.
- 2 Cobat A, Barrera LF, Henao H, *et al*. Tuberculin skin test reactivity is dependent on host genetic background in Colombian tuberculosis household contacts. *Clin Infect Dis*, 2012, 54(7): 968-971.
- 3 Ma MJ, Xie LP, Wu SC, *et al*. Toll-like receptors, tumor necrosis factor- α , and interleukin-10 gene polymorphisms in risk of pulmonary tuberculosis and disease severity. *Hum Immunol*, 2010, 71(10): 1005-1010.
- 4 Villaseñor T, Madrid-Paulino E, Maldonado-Bravo R, *et al*. Activation of the Wnt pathway by mycobacterium tuberculosis: a Wnt-Wnt situation. *Front Immunol*, 2017, 8(50): 50.
- 5 Zhang B, Ma JX. Wnt pathway antagonists and angiogenesis. *Protein Cell*, 2010, 1(10): 898-906.
- 6 Hu X, Zhou J, Chen X, *et al*. Pathway analyses identify novel variants in the WNT signaling pathway associated with tuberculosis in Chinese population. *Sci Rep*, 2016, 6: 28530.
- 7 周汶静, 胡雪姣, 张晶雅, 等. Wnt 信号通路基因单核苷酸多态性与中国西部藏族人群结核易感性研究. *四川大学学报: 医学版*, 2016, 47(6): 920-925.
- 8 Frieden TR, Sterling TR, Munsiff SS, *et al*. Tuberculosis. *Lancet*, 2003, 362(9387): 887-899.
- 9 Sveinbjornsson G, Gudbjartsson DF, Halldorsson BV, *et al*. HLA class II sequence variants influence tuberculosis risk in populations of European ancestry. *Nat Genet*, 2016, 48(3): 318-322.
- 10 Fan L, Xiao H, Mai G, *et al*. Impaired *M. tuberculosis* antigen-specific IFN- γ response without IL-17 enhancement in patients with severe cavitary pulmonary tuberculosis. *PLoS One*. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0127087.
- 11 石娟, 杨佳丽, 马凌洁, 等. 经典 Wnt 信号途径在肺脏上皮细胞抗结核分枝杆菌感染中的作用. *中国生物工程杂志*, 2013, 33(12): 9-14.
- 12 Lambiv WL, Vassallo I, Delorenzi M, *et al*. The Wnt inhibitory factor 1(WIF1) is targeted in glioblastoma and has a tumor suppressing function potentially by induction of senescence. *Neuro Oncol*, 2011, 13(7): 736-747.
- 13 Zhang J, Zhang X, Zhao X, *et al*. DKK1 promotes migration and invasion of non-small cell lung cancer via β -catenin signaling pathway. *Tumour Biol*, 2017, 39(7): 1010428317703820.
- 14 Hu J, Dong A, Fernandez-Ruiz V, *et al*. Blockade of Wnt signaling inhibits angiogenesis and tumor growth in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res*, 2009, 69(17): 6951-6959.
- 15 Ko YB, Kim BR, Yoon K, *et al*. WIF1 can effectively co-regulate pro-apoptotic activity through the combination with DKK1. *Cell Signal*, 2014, 26(11): 2562-2572.
- 16 Wang SH, Xu F, Dang HX, *et al*. Genetic variations in the Wnt signaling pathway affect lung function in asthma patients. *Genet Mol Res*, 2013, 12(2): 1829-1833.
- 17 Feng ZY, Xu XH, Cen DZ, *et al*. miR-590-3p promotes colon cancer cell proliferation via Wnt/ β -catenin signaling pathway by inhibiting WIF1 and DKK1. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(21): 4844-4852.
- 18 Liu S, Tian W, Wang J, *et al*. Two single-nucleotide polymorphisms in the *DKK1* gene are associated with developmental dysplasia of the hip in the Chinese Han female population. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2014, 18(8): 557-561.
- 19 Jones MR, Chua A, Chen YD, *et al*. Harnessing expression data to identify novel candidate genes in polycystic ovary syndrome. *PLoS One*, 2011, 6(5): e20120.
- 20 Wu J, Zhang J, Zhen Z, *et al*. Genetic variations of DICKKOPF family genes might not be associated with gastric cancer susceptibility. *BMC Gastroenterol*, 2016, 16(1): 78.

收稿日期: 2018-07-13 修回日期: 2018-08-02

本文编辑: 孙艳梅