

肿瘤坏死因子 α 基因启动子区多态性与乙型肝炎病毒感染相关性的荟萃分析

田国保, 曾 争, 陆海英, 崔建军, 田 地

■背景资料

肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 作为参与非细胞毒性抗病毒机制的一种重要细胞因子, 可以直接通过激活NF- κ B后破坏HBV壳体的完整性而起到抑制HBV复制的作用; TNF- α 表达水平除了与机体本身免疫系统的活化水平等有关外, 宿主本身即TNF- α 启动子区基因多态性也可能通过影响其转录活性而使表达水平不同。

田国保, 崔建军, 田地, 北京大学第一医院感染疾病科病毒研究室 北京市 100034
曾争, 陆海英, 北京大学第一医院感染疾病科 北京市 100034
国家自然科学基金资助项目, No.30671855
田国保, 北京大学第一医院感染疾病科硕士生, 主要从事与乙型肝炎病毒感染相关的易感基因或拮抗基因的研究。
通讯作者: 曾争, 100034, 北京市, 北京大学第一医院感染疾病科, zeng@bjmu.edu.cn
电话: 010-66551799
收稿日期: 2006-11-13 接受日期: 2006-12-08

A meta-analysis on the relationship between tumor necrosis factor- α promoter polymorphisms and chronic hepatitis B virus infection

Guo-Bao Tian, Zheng Zeng, Hai-Ying Lu, Jian-Jun Cui, Di Tian

Guo-Bao Tian, Jian-Jun Cui, Di Tian, Laboratory of Virology, Department of Infectious Diseases, the First Hospital of Peking University, Beijing 100034, China
Zheng Zeng, Hai-Ying Lu, Department of Infectious Diseases, the First Hospital of Peking University, Beijing 100034, China
Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30671855

Correspondence to: Zheng Zeng, Department of Infectious Diseases, the First Hospital of Peking University, Beijing 100034, China. zeng@bjmu.edu.cn
Received: 2006-11-13 Accepted: 2006-12-08

Abstract

AIM: To investigate the relationship between the polymorphisms of tumor necrosis factor- α (TNF- α) gene promoter and hepatitis B virus (HBV) infection.

METHODS: A total of 18 case-control studies were indexed from PubMed, Embase and CNKI database, and meta-analysis and meta-regression analysis were performed to explore the relationship between the polymorphisms of TNF- α gene promoter and HBV infection as well as the differences between each study.

RESULTS: The frequency of genotype (TNF- α -308A/G and A/A) was significantly higher in

spontaneously recovered group (904 controls) as compared with that in persistent HBV infection group (2303 cases) in Asian population (Mongoloid) ($P = 0.001$). In European population (Caucasian), the frequency of genotype (TNF- α -238A/G and A/A) was slightly higher in persistent HBV infection group (256 cases) as compared with that in spontaneously recovered group (195 controls) ($P = 0.07$). The ethnicity, sample size, genotyping procedure and geographical location were the influential factors in the case-control study, and the estimated between-study variance was reduced by 0.236.

CONCLUSION: The presence of the genotype (TNF- α -238A/G and A/A) may be associated with persistent HBV infection, while the genotype (TNF- α -308A/G and A/A) may be associated with HBV clearance. The ethnicity, sample size, genotyping procedure and geographical location are factors influencing the results of case-control study.

Key Words: Tumor necrosis factor- α ; Polymorphism; Hepatitis B virus; Meta-analysis

Tian GB, Zeng Z, Lu HY, Cui JJ, Tian D. A meta-analysis on the relationship between tumor necrosis factor- α promoter polymorphisms and chronic hepatitis B virus infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(6):580-584

摘要

目的: 探讨肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 基因启动子区多态性与乙型肝炎病毒 (HBV) 持续感染或清除的关系。

方法: 通过检索PubMed、Embase以及CNKI共纳入18项病例对照研究, 采用荟萃分析方法研究TNF- α 基因启动子区基因多态性与HBV持续感染或清除的关系, 以及采用荟萃回归分析不同研究之间存在异质性的原因。

结果: 亚洲人群 (蒙古人种) 中自然痊愈组 (904例) -308G/A位点的基因型 (GA+AA) 频率显著高于持续HBV感染组 (2303例) ($P = 0.001$), 而

■研发前沿

TNF- α 与乙型肝炎病毒 (HBV) 感染宿主易感性方面近些年来一直是研究的热点, 其中主要研究位点为启动子区5个典型的单核苷酸多态性 (SNPs) 位点, 分别是-238G/A、-308G/A、-857C/T、-863C/A和-1031T/C。

欧洲人(高加索人种)中持续HBV感染组(256例)-238G/A位点的基因型(GA+AA)频率略高于自然痊愈组(195例)($P = 0.07$), 样本量、种族、地区以及研究方法均为影响不同研究之间异质性的因素($P < 0.05$), 使研究之间总变异效应降低了约0.236。

结论: TNF- α -308G/A位点多态性可能与感染HBV后的清除有关, 而-238G/A位点多态性可能与HBV的持续感染有关, 并且样本量、种族、地区以及研究方法因素均可能影响病例对照研究的结果。

关键词: 肿瘤坏死因子 α ; 基因多态性; 乙型肝炎病毒; 荟萃分析

田国保, 曾争, 陆海英, 崔建军, 田地. 肿瘤坏死因子 α 基因启动子区多态性与乙型肝炎病毒感染相关性的荟萃分析. 世界华人消化杂志 2007;15(6):580-584
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/580.asp>

0 引言

肿瘤坏死因子 α (TNF- α)作为参与非细胞毒性抗病毒机制中的一种细胞因子, 具有介导多向性炎症反应和免疫调节等生物学作用. 其基因位于白细胞相关抗原(HLA)III类基因簇内, 在其启动子区存在5个典型的单核苷酸多态性(SNPs)位点, 分别是-238G/A、-308G/A、-857C/T、-863C/A和-1031T/C, 关于TNF- α 基因多态性与乙型肝炎病毒(HBV)感染宿主易感性方面近些年来一直是研究的热点, 然而可能由于选择的人群(种族)和样本量等的原因, 研究的结论不尽一致甚至相反^[1-2], 本文运用荟萃分析(meta-analysis)的方法针对-238G/A和-308G/A两个位点(其他位点研究结果很少), 对以往的资料进行初步分析, 为以后进一步的研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 病例组即慢性HBV感染组(chronic HBV infection)包括携带者、慢性乙型肝炎、肝硬化以及肝癌, 其诊断标准符合国内《乙型肝炎防治指南》(2000年西安会议)或国际标准(亚太肝病会和欧洲肝病会制订标准); 根据文献进行再分组, 对照组分为感染后自然痊愈组(spontaneously recovered, SR: HBsAb阳性)和正常健康人组(healthy group, HBsAb可能阳性或阴性); 研究为病例-对照研究(case-control), 包括前瞻性研究和回顾性研究, 研究位点至少包括启动子区-238G/A和-308G/A位点中的一个. 病例

组的入选要排除合并HAV、HCV、HIV等病毒的感染以及其他肝胆系统疾病, 病例组样本要能够排除急性感染病例。

检索关于TNF- α 基因启动子区多态性与HBV感染相关的所有病例-对照研究, 两位评价者单独检索并交叉核对. 检索PubMed及Embase(1990/2006-10): 检索词为“tumor necrosis factor”、“hepatitis B virus”和“polymorphism”. 检索中国期刊全文数据库(CNKI, 1994/2006-10): 检索词为“肿瘤坏死因子 α ”和“乙型肝炎病毒”或“多态性”. 仔细查阅所有检出文献的参考文献作为补充, 并与部分作者联系, 以进一步取得全文及更完整的资料, 共有18项研究纳入本研究. 排除的研究包括综述性文章2篇、非病例-对照研究1篇, 重复性的文章2篇, 统计时有不同的文章重复样本的研究时注意排除重复数据等。

1.2 方法 用统一的表格提取所选研究的资料, 包括文章的作者及发表年代、所选择人群(国别和地区分布)、对照组和病例组(所选对象、平均年龄、性别比例及样本量)、基因型检测方法及频数以及发表的杂志. 纳入本荟萃分析研究的人口学统计资料见表1。

统计学处理 参考Ye *et al*^[3]研究基因组多态性荟萃分析的方法, 以类似遗传共显性模型为标准, 针对-238G/A和-308G/A两个位点(G/A+AA为效应变量), 对于病例-对照组之间的差异比(odds ratio, OR)根据研究之间有无异质性分别采用随机效应模型或固定效应模型(RevMan4.2软件)分析, OR以95%置信区间(confidence interval, CI)表示, 以 χ^2 检验分析研究间的异质性, $P < 0.05$ 表示异质性有显著统计学意义; 同时以log OR值为效应变量, 以总样本量, 研究方法, 对照组来源(正常健康或者自然痊愈组对照), 种族(蒙古人以及高加索人)以及地区(东南亚以及欧洲)为协同变量(由于样本年龄以及性别比不是单个研究对象资料, 故无法统计), 采用State8.0软件中荟萃回归分析, 对异质性的原因进行初步分析。

2 结果

以对照组(自然痊愈组或正常健康组)的不同进行分组, 同时以种族(蒙古人种或高加索人种)的不同进行亚组分析, 结果如下:

2.1 慢性HBV感染组与自然痊愈组比较 TNF- α -238G/A位点: 纳入本荟萃分析共6项研究, 异

■相关报道

由于选择的人群(种族)和样本量等的原因, 研究的结论不尽一致甚至相反, 如早先德国学者研究发现-238G/A和-308G/A两个位点的基因组多态性与HBV感染后清除有关, 而近来日本学者的研究提示两者之间并无相关。

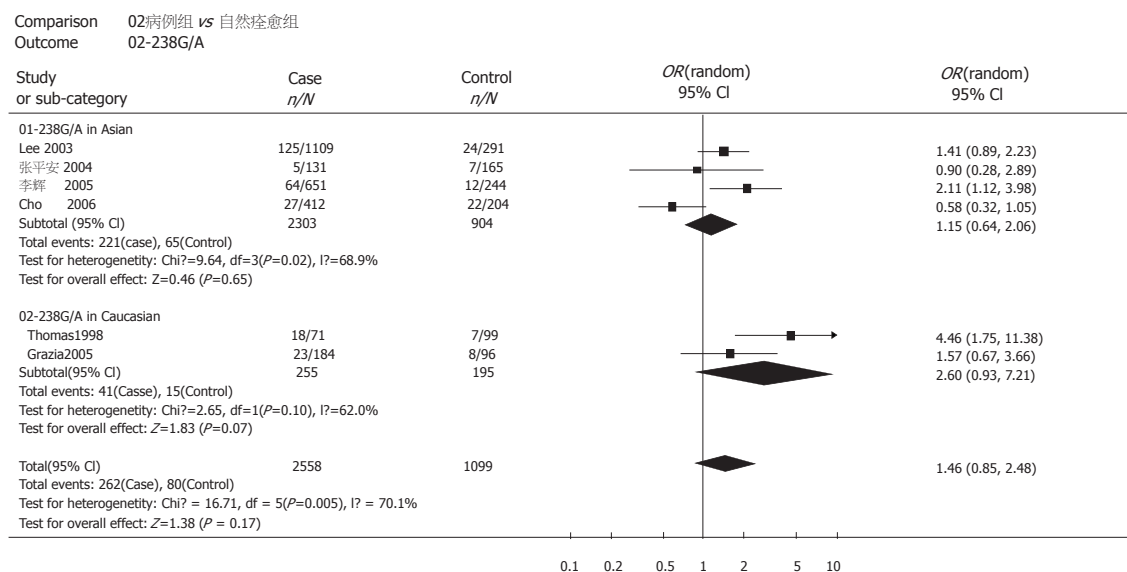
■创新盘点

本文运用荟萃分析的方法针对-238G/A和-308G/A两个位点(其他位点研究结果很少),对以往的资料进行初步分析后,结果提示亚洲人群(蒙古人种)中自然痊愈组(904例)-308G/A位点的基因型(GA+AA)频率显著高于持续HBV感染组(2303例)($P = 0.001$),而欧洲人(高加索人种)中持续HBV感染组(256例)-238G/A位点的基因型(GA+AA)频率略高于自然痊愈组(195例)($P = 0.07$),且样本量、种族、地区以及研究方法均为影响不同研究之间异质性的因素。

表 1 纳入本荟萃分析研究的基本统计资料

作者	方法	地区	病例		对照		期刊
			样本	<i>n</i>	样本	<i>n</i>	
LI HUI	RFLP	中国北京	CHB	196	SR	143	Journal of Viral Hepatitis 2006
Cho	引物延伸方法	韩国	慢性感染	412	SR	204	Journal of Gastroenterology and Hepatology 2006
Zali	RFLP	伊朗	慢性感染	100	Healthy SR	89 91	Indian Journal of Gastroenterol 2006
LI HUI	RFLP	中国北京	CHB	443	SR	244	Biomedical and Environmental Science 2006
Sarin	RFLP	印度	慢性感染	214	Healthy	408	Journal of Hepatology 2006
王小众	SSP	中国福建	慢性感染	122	Healthy	63	Hepatology Research 2006
Grazia	测序	意大利	慢性感染	184	SR	96	Liver International 2005
LI HUI	RFLP	中国北京	慢性感染	651	SR	244	World Journal of Gastroenterology 2005
王福生	RFLP	中国北京	慢性感染	232	Healthy	103	世界华人消化杂志 2005
鲁猛厚	RFLP	中国湖南	慢性感染		Healthy	90	Clinical Microbiology and Infection 2005
陈红	RFLP	中国甘肃	CHB	156	Healthy	80	临床消化病杂志 2005
张平安	RFLP	中国湖北	CHB	131	Healthy	126	微循环学 2005
张平安	RFLP	中国湖北	CHB	131	SR	165	世界华人消化杂志 2004
LI HUI	RFLP	中国北京	CHB	207	SR	148	World Journal of Gastroenterology 2004
Lee	单碱基延伸	韩国	慢性感染	1109	SR	291	Human Molecular Genetics 2003
Eguchi	RFLP	日本	慢性感染	213	Healthy	52	the American Journal of Gastroenterology 2002
林菊生	RFLP	中国湖北	LC	106	Healthy	108	中华内科杂志 2002
Thomas	杂交	德国	CHB	71	Healthy SR	99 32	Clinical and Experimental Immunology 1998

(CHB: chronic hepatitis B; LC: liver cirrhosis; RFLP: 限制片段长度多态性; 慢性感染: 包括无症状携带、慢性乙型肝炎、肝硬化以及肝细胞癌)。

图 1 TNF- α -238G/A位点病例组与自然痊愈组比较的荟萃分析。

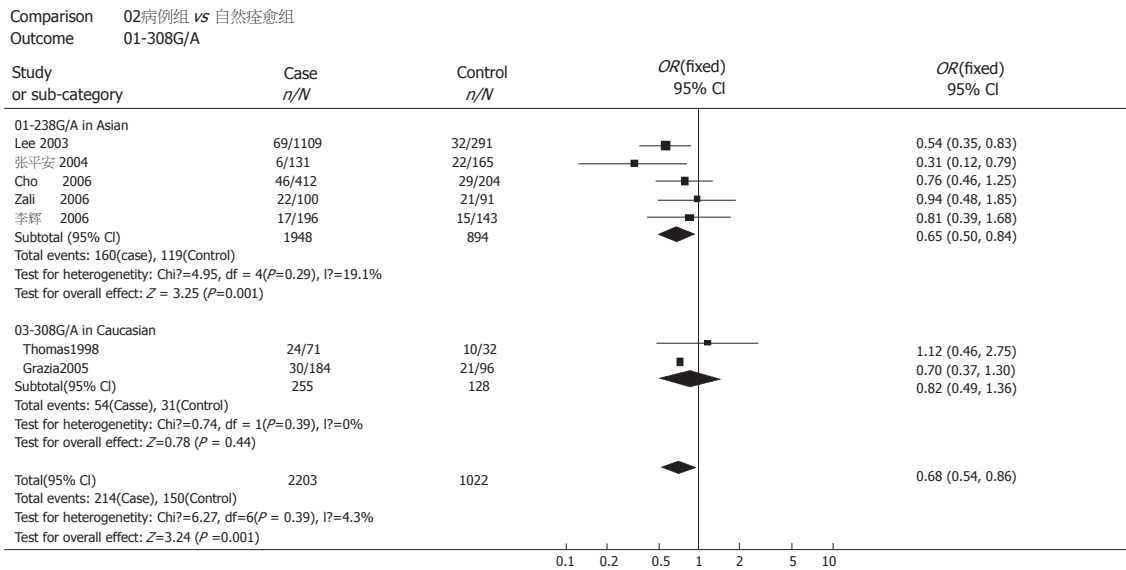
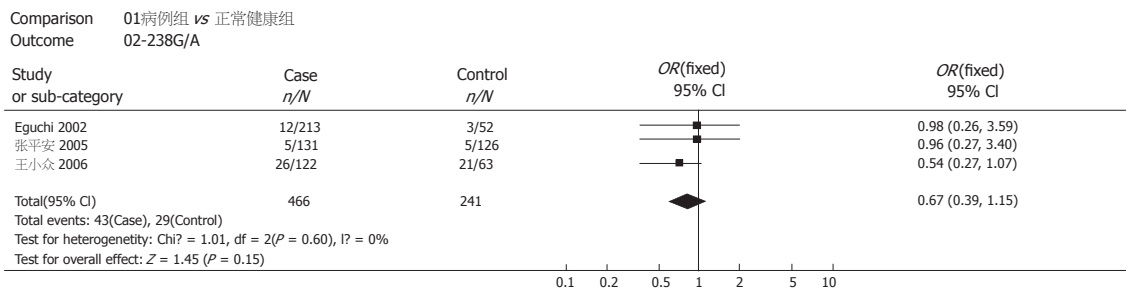
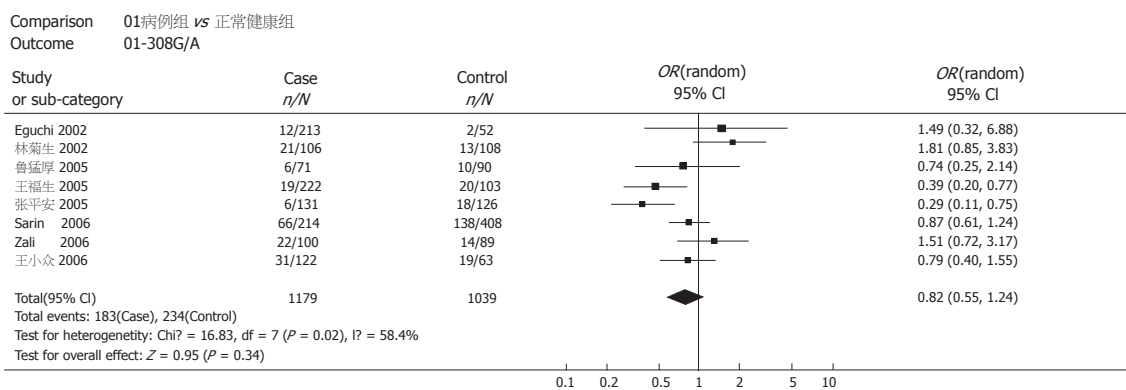
质性检验有统计学意义($\chi^2 = 16.71$, $P < 0.05$), 随机效应模型分析在慢性HBV携带组与自然痊愈组之间, -238G/A位点的基因型(GA+AA)频率差异无统计学意义(总效应方差 $Z = 1.38$, $P = 0.17 > 0.05$, 图1)。荟萃亚组和回归分析后提示, 样本量、种族、地区、以及研究方法均为为影响研究之间异质性的因素($P < 0.05$), 使组间总变异效应降低约0.236。

TNF- α -308G/A位点: 纳入本荟萃分析共

7项研究, 异质性检验无统计学意义($\chi^2 = 6.27$, $P = 0.39 > 0.05$), 亚组分析采用固定效应模型(研究之间无异质性)结果提示, 亚洲人群(蒙古人种)中自然痊愈组-308G/A位点的基因型(GA+AA)频率显著高于慢性HBV携带组, 差异有统计学意义(总效应方差 $Z = 3.25$, $P = 0.001 < 0.05$); 而欧洲人群(高加索人种)中两组之间差异无统计学意义(总效应方差 $Z = 0.78$, $P = 0.44 > 0.05$)(图2)。

■名词解释

荟萃分析: 是一个科学的临床研究活动, 指全面收集所有相关研究并逐个进行严格评价和分析, 再用定量合成的方法对资料进行统计学处理得出综合结论的整个过程; 本质上是一种观察性研究, 应结合研究背景和实际意义进行结果讨论, 必要时也可以比较大样本的单独研究和meta分析结果的一致性。

图 2 TNF- α -308G/A位点病例组与自然痊愈组比较的荟萃分析.图 3 TNF- α -238G/A位点病例组与正常健康组比较的荟萃分析.图 4 TNF- α -308G/A位点病例组与正常健康组比较的荟萃分析.

2.2 慢性HBV感染组与正常健康组比较 TNF- α -238G/A位点: 纳入本荟萃分析共3项研究, 异质性检验无统计学意义($\chi^2=1.01$, $P>0.05$), 亚组分析采用固定效应模型结果提示, 亚洲人群(蒙古人种)中慢性HBV携带组与正常健康组之间-238G/A位点的基因型(GA+AA)频率差异无统计学意义(总效应方差 $Z=1.45$, $P=0.15>0.05$)(图3).

TNF- α -308G/A位点: 纳入本荟萃分析共8项研究, 异质性检验有统计学意义($\chi^2=16.83$, $P<0.05$), 亚组分析采用随机效应模型结果提示, 亚洲人群(蒙古人种)中慢性HBV携带组与正常健康组之间-308G/A位点的基因型(GA+AA)频率差异无统计学意义(总效应方差 $Z=0.95$, $P=0.34>0.05$, 图4). 荟萃回归分析后提示, 样本量并不是影响该组研究之间异质性的因素($P>0.05$),

■同行评价

不同个体对HBV易感性的差异以及感染的过程与一些免疫分子的应答有重要关系,尤其是肿瘤坏死因子、干扰素等细胞因子,研究其中的机制对于指导临床治疗有重要意义,本文就TNF- α 基因启动子区多态性与HBV感染相关性进行了大样本的科学分析,克服了以往研究中的不足,得到了一些有意义的结果.研究涉及的样本量大,对照合理,分析科学,结论可靠,结果有意义.

可能跟对照组选择本身有关系.

3 讨论

TNF- α 是一种主要有单核/巨噬细胞系分泌的、能够介导多种炎症反应和免疫调节反应的细胞因子,体内适量水平的TNF- α 在维持机体内环境的稳定以及抵抗外来微生物入侵中发挥重要作用,其中TNF- α 可以直接通过激活NF- κ B后破坏HBV壳体的完整性而起到抑制HBV复制的作用.

研究表明TNF- α 表达水平除了与机体本身免疫系统的活化水平等有关外,宿主本身即TNF- α 启动子区基因多态性也可能通过影响其转录活性而使表达水平不同.其中, Gonzalez *et al*^[4]研究表明TNF- α 启动子区-308位核苷酸G被A替换后, TNF- α 基因转录效率显著提高,并且Louis *et al*^[5],发现TNF- α -308A等位基因携带者TNF- α 全血中的表达水平比G等位基因纯合子高,其原因一方面可能与转录因子复合物更易与TNF- α -308A等位基因结合有关(尽管G等位基因和A等位基因均可与转录因子复合物结合)^[6];另一方面可能与激活蛋白2(Activating protein2, AP-2)和TNF- α -308G等位基因的结合(而不与A等位基因结合)后抑制其启动子活性有关^[7].

TNF- α 基因启动子区多态性与慢性HBV感染相关的研究一直是个热点. 早先,德国学者 Hohler *et al*^[8]研究发现, -238G/A和-308G/A两个位点的基因组多态性与HBV感染后清除有关,而近来日本学者Miyazoe *et al*^[9]的研究提示两者之间并无相关;但是可能由于两者之间选择的人群以及对对照组等并不一致所致,通过对以往研究按对照组不同以及人种不同亚组荟萃分析后,结果表明仅亚洲人群(蒙古人种)中自然痊愈组-308G/A位点的基因型(GA+AA)频率显著高于慢性HBV携带组,从而提示TNF- α -308G/A位点多态性可能与感染HBV后的清除有关,而仅欧洲人(高加索人种)中慢性HBV携带组-238G/A位点的基因型(GA+AA)频率略高于自然痊愈组($P = 0.07$),提示-238G/A位点多态性可能与HBV的持续感染有关,亚组分析和荟萃回归分析结果提示样本量、种族、地区以及研究方法均为影响不同研究之间异质性的因素.同时病例组与正常健康组的分析结果提示各研究之间异质性较大,并且以上所述因素均不能很好解释不同研究之间存在异质性的原因,其中主要是与样本量大小、对照组选择相关,从而提示以正常健康组作

为对照,研究遗传因素对HBV感染后的结局的影响不但因为是否接触过病原(如HBV)是感染性疾病遗传相关分析的一个重要前提,而且正常健康组人群分层并不严格,会受到混杂因素的影响(如种族,民族,是否有过HBV感染等).

总之,除了环境因素、病原体(基因型、亚型和准种等)以及感染时宿主的年龄等外,复杂的遗传因素(包括种族、民族等)也是影响HBV感染后结局的重要因素,因此,我们应该在尽可能控制以上所述的混杂因素后,进行病例对照的前瞻性研究,收集大样本、数据以及病历资料,系统研究TNF- α 以及其他可能相关基因多态性与慢性HBV感染的关系,为进一步的疾病易感诊断、早期预防和个体化治疗打下基础.

4 参考文献

- 1 晏泽辉, 邓国宏, 王宇明. 乙型肝炎的宿主遗传易感性的研究进展及前景. 世界华人消化杂志 2005; 13: 1002-1007
- 2 曾争. 与乙型肝炎病毒感染相关的易感或拮抗基因的研究进展及研究体会. 中华医学杂志 2005; 85: 1163-1165
- 3 Ye Z, Liu EH, Higgins JP, Keavney BD, Lowe GD, Collins R, Danesh J. Seven haemostatic gene polymorphisms in coronary disease: meta-analysis of 66,155 cases and 91,307 controls. *Lancet* 2006; 367: 651-658
- 4 Gonzalez S, Rodrigo L, Martinez-Borra J, Lopez-Vazquez A, Fuentes D, Nino P, Cadahia V, Saro C, Dieguez MA, Lopez-Larrea C. TNF-alpha -308A promoter polymorphism is associated with enhanced TNF-alpha production and inflammatory activity in Crohn's patients with fistulizing disease. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1101-1106
- 5 Louis E, Franchimont D, Piron A, Gevaert Y, Schaaf-Lafontaine N, Roland S, Mahieu P, Malaise M, De Groote D, Louis R, Belaiche J. Tumour necrosis factor (TNF) gene polymorphism influences TNF-alpha production in lipopolysaccharide (LPS)-stimulated whole blood cell culture in healthy humans. *Clin Exp Immunol* 1998; 113: 401-406
- 6 Kroeger KM, Carville KS, Abraham LJ. The -308 tumor necrosis factor-alpha promoter polymorphism effects transcription. *Mol Immunol* 1997; 34: 391-399
- 7 Kroeger KM, Abraham LJ. Identification of an AP-2 element in the -323 to -285 region of the TNF-alpha gene. *Biochem Mol Biol Int* 1996; 40: 43-51
- 8 Hohler T, Kruger A, Gerken G, Schneider PM, Meyer zum Buschenefelde KH, Rittner C. A tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) promoter polymorphism is associated with chronic hepatitis B infection. *Clin Exp Immunol* 1998; 111: 579-582
- 9 Miyazoe S, Hamasaki K, Nakata K, Kajiya Y, Kitajima K, Nakao K, Daikoku M, Yatsushashi H, Koga M, Yano M, Eguchi K. Influence of interleukin-10 gene promoter polymorphisms on disease progression in patients chronically infected with hepatitis B virus. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2086-2092