

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2204107

论著·临床研究

ADCY9 基因与儿童支气管哮喘的易感性及环境交互作用分析

贾京晶¹ 魏兵² 李令雪² 任梦洋^{1,2} 张世楠² 刘俊² 张宇璇^{1,2}

(1. 锦州医科大学北部战区总医院研究生培养基地, 辽宁沈阳 110016;

2. 中国人民解放军北部战区总医院, 辽宁沈阳 110016)

[摘要] **目的** 研究腺苷酸环化酶 9 (adenylyl cyclase IX, *ADCY9*) 基因 rs1967309、rs2230739、rs2601814、rs2601825、rs2601796 和 rs2283497 位点单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 及基因-环境交互作用与儿童支气管哮喘 (简称哮喘) 的关系。**方法** 选取 2019 年 3 月至 2021 年 9 月就诊的哮喘儿童 123 例作为哮喘组, 其中急性发作为轻中度 84 例 (68.3%), 重度 39 例 (31.7%); 124 例健康体检儿童作为对照组。分析 *ADCY9* 基因 6 个位点 SNPs 及单倍型与儿童哮喘易感性的关系。同时采用广义多因子降维法分析基因-环境交互作用。**结果** 哮喘组和对照组儿童 *ADCY9* 基因 6 个位点存在多态性, 其中 rs1967309 位点基因型及等位基因在哮喘组和对照组间的分布差异有统计学意义 ($P<0.05$)。单倍型 TA、GG 在哮喘组和对照组的分布差异无统计学意义 ($P>0.05$)。广义多因子降维法分析显示, rs1967309 位点与变应原接触间存在交互作用 ($P<0.05$), 该位点与变应原接触的交互作用使哮喘患病风险增加 ($OR=1.585$, $P<0.05$)。**结论** *ADCY9* 基因 rs1967309 位点与儿童哮喘易感性相关, 且该位点和变应原接触具有协同致哮喘的作用。

[中国当代儿科杂志, 2022, 24 (9): 1027-1035]

[关键词] 哮喘; *ADCY9* 基因; 单核苷酸多态性; 交互作用; 儿童

Association of the *ADCY9* gene and gene-environment interaction with the susceptibility to childhood bronchial asthma

JIA Jing-Jing, WEI Bing, LI Ling-Xue, REN Meng-Yang, ZHANG Shi-Nan, LIU Jun, ZHANG Yu-Xuan. General Hospital of Northern Theater of Chinese People's Liberation Army, Shenyang 110016, China (Wei B, Email: weib71@sina.com)

Abstract: Objective To study the association of the single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the adenylyl cyclase IX (*ADCY9*) gene at rs1967309, rs2230739, rs2601814, rs2601825, rs2601796, and rs2283497 loci and gene-environment interaction with childhood bronchial asthma (asthma for short). **Methods** A total of 123 children with asthma who attended the hospital from March 2019 to September 2021 were enrolled as the asthma group, among whom 84 (68.3%) had mild-to-moderate attacks and 39 (31.7%) had severe attacks. A total of 124 healthy children were enrolled as the control group. The association of the SNPs and haplotypes of the *ADCY9* gene at the above 6 loci with the susceptibility to childhood asthma was evaluated. The method of generalized multifactor dimensionality reduction was used to analyze gene-environment interaction. **Results** Polymorphisms were observed for the *ADCY9* gene at the above six loci in both the asthma and control groups, and there were significant differences in genotype and allele frequencies at the rs1967309 locus between the two groups ($P<0.05$). There was no significant difference in the distribution frequency of haplotypes TA and GG between the asthma and control groups ($P>0.05$). The generalized multifactor dimensionality reduction analysis showed interaction between rs1967309 locus and allergen contact ($P<0.05$), which increased the risk of asthma ($OR=1.585$, $P<0.05$). **Conclusions** The rs1967309 locus of the *ADCY9* gene is associated with the susceptibility to childhood asthma, and the locus and allergen contact have a synergistic effect on the

[收稿日期] 2022-04-16; [接受日期] 2022-07-14

[基金项目] 辽宁省民生科技计划 (2021JH2/10300060)。

[作者简介] 贾京晶, 女, 硕士研究生, 住院医师。

[通信作者] 魏兵, 女, 主任医师。Email: weib71@sina.com。

development of asthma.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2022, 24(9): 1027-1035]

Key words: Asthma; *ADCY9* gene; Single nucleotide polymorphism; Interaction; Child

支气管哮喘（简称哮喘）是儿童时期最常见的慢性呼吸道疾病之一，以慢性气道炎症、气道高反应性和气道重塑为特征的异质性疾病^[1]。近年来，儿童哮喘呈起病年龄逐渐变小，患病率逐渐上升的趋势。我国儿童哮喘患病率已经从1990年的0.91%，上升为2010年的3.02%^[2-3]。哮喘已经成为全球范围内严重的公共卫生问题之一，然而哮喘的发病机制尚未明确，目前认为其是由多种遗传因素和环境因素间复杂的相互作用引起的^[4-5]。腺苷酸环化酶9（adenylyl cyclase IX，*ADCY9*）基因位于染色体16p13.3区，该基因编码一种膜结合酶，分布比较分散，在肺和其他组织中均广泛表达。研究表明*ADCY9*基因可能与哮喘、疟疾和镰状细胞病等具有相关性^[6]。目前国外关于*ADCY9*基因多态性与儿童哮喘的关系仅有1篇研究，结果显示*ADCY9*基因rs2601814和rs2601796位点与巴西儿童哮喘易感性有关^[7]，国内暂无相关研究报道。本研究为国内外首次探讨*ADCY9*基因rs1967309、rs2230739、rs2601814、rs2601825、rs2601796和rs2283497位点单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphisms, SNPs）与中国儿童哮喘易感性及基因-环境交互作用的关系，以探索儿童哮喘的发病机制。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究为病例-对照研究，选取2019年3月至2021年9月就诊于中国人民解放军北部战区总医院的哮喘患儿123例为哮喘组，均符合《儿童支气管哮喘诊断与防治指南（2016年版）》的诊断标准^[1]。根据哮喘急性发作严重程度分为轻中度84例（68.3%），重度39例（31.7%）。对照组儿童选取同期于我院健康体检的儿童124例。所有入组儿童均为东北地区汉族儿童，三代内无血缘关系，无自身免疫疾病和其他病史。哮喘组和对照组儿童性别、入组年龄及体重指数（body mass index, BMI）差异均无统计学意义（ $P>0.05$ ），见表1。本研究经我院伦理委员会批准〔伦理Y（2020）054号〕，所有患儿家属均签署知情同意书。

表1 研究对象基本情况

项目	对照组 (n=124)	哮喘组 (n=123)	$\chi^2/t/Z$ 值	P值
性别(男/女,例)	70/54	82/41	2.722	0.099
入组年龄[M(Q ₁ , Q ₃),岁]	6(4, 9)	7(4, 9)	-0.530	0.597
BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	16.6 ± 1.8	17.2 ± 3.3	-1.647	0.101

注：[BMI] 体重指数。

1.2 *ADCY9*基因SNPs的测定

分别采集2组研究对象外周血3 mL于真空静脉采血管中，采用DNA提取试剂盒（上海天昊科技生物有限公司）提取DNA，应用Primer 3软件设计聚合酶链反应（polymerase chain reaction, PCR）引物（生工生物工程上海股份有限公司），利用引物对*ADCY9*基因6个位点进行扩增，引物信息见表2。PCR反应体系包含10倍PCR反应缓冲液，3.0 mmol/L Mg²⁺，0.3 mmol/L dNTP混合液，1 U Tap酶，1 μL样本DNA和1 μL多重PCR引物；反应条件：95℃ 2 min，94℃ 20 s，65℃ 40 s，72℃ 1.5 min，共35个循环。PCR产物纯化后采用ABI3730XL测序仪进行基因测序，*ADCY9*基因6个位点电泳峰型见图1~6。

1.3 统计学分析

应用SPSS 23.0软件进行统计学分析。符合正态分布的计量资料采用均数 ± 标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，不符合正态分布的计量资料采用中位数（四分位数间距）[M(Q₁, Q₃)]表示，2组间比较采用两样本t检验或Mann-Whitney U检验。计数资料用例数和构成比（%）表示，组间比较采用 χ^2 检验。应用logistic回归分析对*ADCY9*基因与儿童哮喘易感性进行分析，以比值比（odds ratio, OR）及95%置信区间（confidence interval, CI）评估相对风险度。应用广义多因子降维法（generalized multifactor dimensionality reduction, GMDR）分析*ADCY9*基因与环境因素的交互作用，得出最优模型后，应用二元logistic回归分析进行验证。连锁不平衡及单倍型分析采用Haploview软件，当连锁不平衡系数（D'）>0.8时存在强连锁不平衡。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

表 2 引物信息

SNPs	序列 (5'→3')	延伸引物	产物长度 (bp)
rs1967309	F-CGTTTCATGCACCCAGCAGACTA R-TGAGGTCAAGCATTGGAGTGAAAG	AGGGTTGAAAGAAATAAATAGGTTAAAAA	138
rs2230739	F-GTGGCCGCCTCGTACTTCA R-TCTCCATCTGAACTGCGCTCCT	ATGACCTGTGTGGAGCAGGAGT	199
rs2601814	F-CAGATATGATGGACCTCATGGGATG R-AGTGGCAGGTGCCTGTAGTCCT	TCTTTAATAAAAAAGTGCTCAATTCGTTATCTA	328
rs2601825	F-GGTACTACTCCATGCCAGAACATGAAT R-GCTGTGCTGCACTTTGCATCTG	TCCAAGTATAAGAAAAGCCAGACT	146
rs2601796	F-GTGAGGCCTATCAGCTGGTACTAGAAA R-GTGTGAGCCACTGTGCCAGTAAG	GTATTAAGTGGGGTCTTACTGGCACA	167
rs2283497	F-CATATCATAGCACAGGGCTGTTGTG R-TTGTGGGTCCAGTCGCTCACTC	TGAATCAACTCATTTAATCCTCACAACA	143

注: [SNPs] 单核苷酸多态性。F 为上游引物; R 为下游引物。

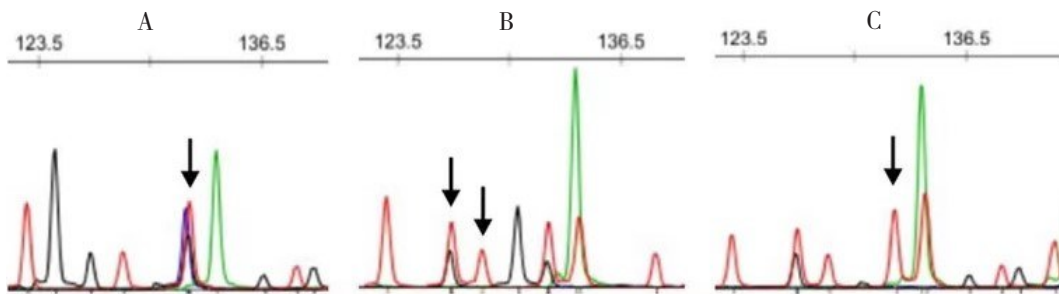


图 1 rs1967309 位点电泳峰型图 A 为 GG 基因型, B 为 GA 基因型, C 为 AA 基因型。箭头为等位基因所在位置。

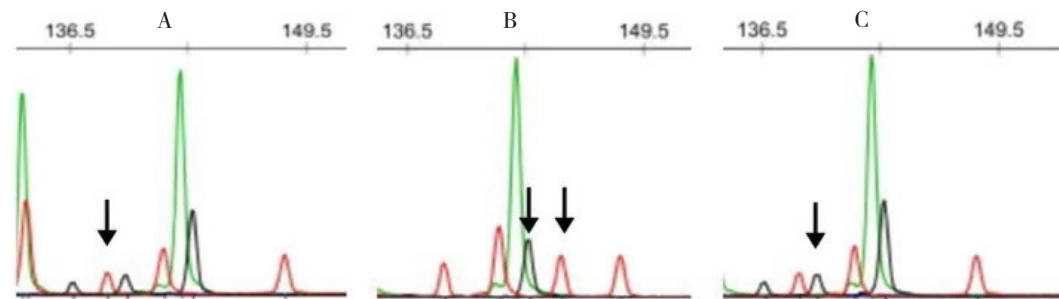


图 2 rs2230739 位点电泳峰型图 A 为 TT 基因型, B 为 TC 基因型, C 为 CC 基因型。箭头为等位基因所在位置。

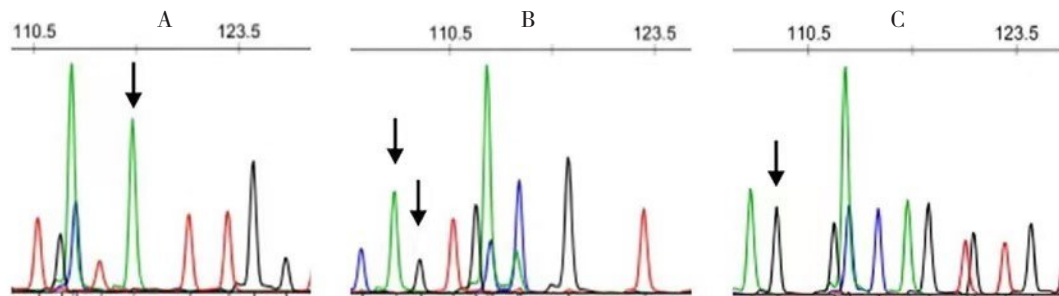


图 3 rs2601814 位点电泳峰型图 A 为 TT 基因型, B 为 TG 基因型, C 为 GG 基因型。箭头为等位基因所在位置。

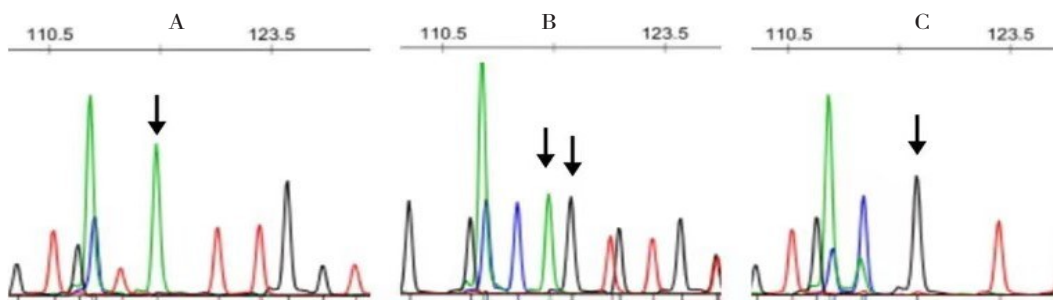


图 4 rs2601825 位点电泳峰型图 A 为 TT 基因型, B 为 TC 基因型, C 为 CC 基因型。箭头为等位基因所在位置。

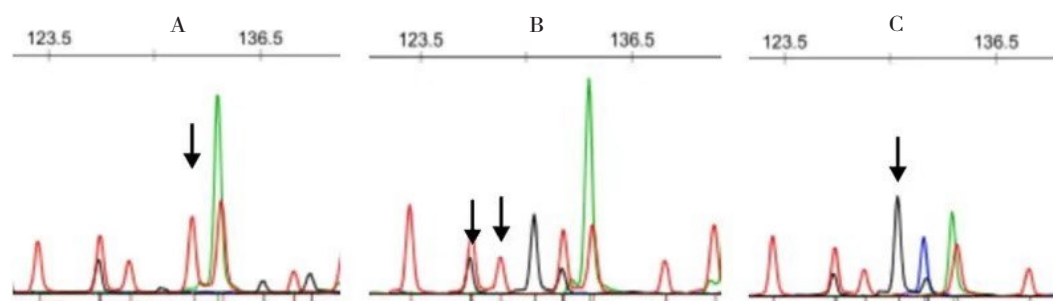


图 5 rs2601796 位点电泳峰型图 A 为 AA 基因型, B 为 AG 基因型, C 为 GG 基因型。箭头为等位基因所在位置。

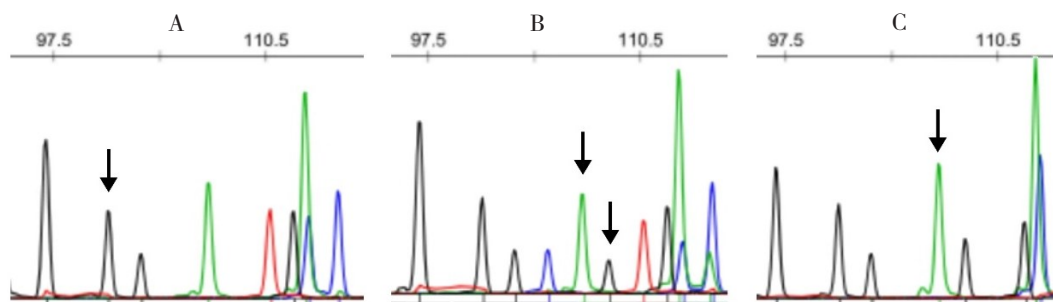


图 6 rs2283497 位点电泳峰型图 A 为 GG 基因型, B 为 GT 基因型, C 为 TT 基因型。箭头为等位基因所在位置。

2 结果

2.1 ADCY9 基因 6 个位点基因型及等位基因在哮喘组和对照组的分布

应用 Hardy-Weinberg 平衡检验 *ADCY9* 基因 6 个位点分布情况, 结果显示哮喘组及对照组符合遗传平衡定律 (均 $P>0.05$), 说明研究对象具有良好的代表性。rs1967039 位点基因型和等位基因在哮喘组和对照组的分布差异有统计学意义 ($P<0.05$)。

经 logistic 回归分析显示 rs1967039 位点中 GA 和 AA 基因型儿童哮喘患病风险分别为 GG 基因型儿童的 0.493、0.395 倍, 携带 A 等位基因儿童患哮喘的风险是携带 G 等位基因儿童的 1.755 倍 ($P<0.05$)。rs2230739、rs2601814、rs2601825、rs2601796 和 rs2283497 位点基因型及等位基因在哮喘组和对照组的分布差异均无统计学意义 (均 $P>0.05$)。见表 3。

表 3 哮喘组和对照组的 ADCY9 基因 6 个位点基因型及等位基因比较 [n (%)]

基因型及等位基因	对照组 (n=124)	哮喘组 (n=123)	χ^2	P^a	OR [#] (95%CI)	P^b
rs1967309						
GG	41(33.1)	64(52.0)			1.000 (参照)	-
GA	62(50.0)	46(37.4)	9.287	0.010	0.493(0.281~0.865)	0.014
AA	21(16.9)	13(10.6)			0.395(0.177~0.881)	0.023
G*	144(58.1)	174(70.7)	8.640	0.003	1.000 (参照)	-
A*	104(41.9)	72(29.3)			1.755(1.201~2.563)	0.004
rs2230739						
TT	43(34.7)	44(35.8)			1.000 (参照)	-
TC	52(41.9)	55(44.7)	0.563	0.755	0.945(0.530~1.684)	0.847
CC	29(23.4)	24(19.5)			0.822(0.411~1.644)	0.579
T*	138(55.6)	143(58.1)	0.311	0.577	1.000 (参照)	-
C*	110(44.4)	103(41.9)			1.131(0.788~1.625)	0.504
rs2601814						
TT	97(78.2)	94(76.4)			1.000 (参照)	-
TG	26(21.0)	29(23.6)	1.207	0.547	1.077(0.584~1.986)	0.811
GG	1(0.8)	0(0)			-	-
T*	220(88.7)	217(88.2)	0.030	0.862	1.000 (参照)	-
G*	28(11.3)	29(11.8)			0.894(0.510~1.565)	0.694
rs2601825						
TT	47(37.9)	43(35.0)			1.000 (参照)	-
TC	53(42.7)	57(46.3)	0.340	0.843	0.922(0.448~1.896)	0.825
CC	24(19.4)	23(18.7)			1.109(0.552~2.228)	0.770
T*	147(59.3)	143(58.1)	0.067	0.796	1.000 (参照)	-
C*	101(40.7)	103(41.9)			0.971(0.675~1.398)	0.874
rs2601796						
AA	97(78.2)	92(74.8)			1.000 (参照)	-
AG	26(21.0)	31(25.2)	1.567	0.457	1.213(0.663~2.218)	0.531
GG	1(0.8)	0(0)			-	-
A*	220(88.7)	215(87.4)	0.202	0.653	1.000 (参照)	-
G*	28(11.3)	31(12.6)			0.827(0.476~1.437)	0.500
rs2283497						
GG	75(60.5)	81(65.9)			1.000 (参照)	-
GT	45(36.3)	39(31.7)	0.798	0.671	0.801(0.467~1.375)	0.421
TT	4(3.2)	3(2.4)			0.648(0.134~3.129)	0.589
G*	195(78.6)	201(81.7)	0.736	0.391	1.000 (参照)	-
T*	53(21.4)	45(18.3)			1.210(0.772~1.898)	0.406

注: P^a 为 χ^2 检验的 P 值; $^{\#}OR$ 为按照年龄、性别和BMI校正的 OR 值; P^b 为logistic回归分析的 P 值; *等位基因分析中, 哮喘组 $n=246$, 对照组 $n=248$ 。

2.2 ADCY9 基因 6 个位点基因型及等位基因与儿童哮喘急性发作严重程度的关系

ADCY9 基因 6 个位点基因型及等位基因在轻

中度儿童和重度儿童的分布差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 4。

表 4 ADCY9 基因 SNPs 与不同哮喘急性发作严重程度的关系 [n (%)]

基因型及等位基因	轻中度组 (n=84)	重度组 (n=39)	χ^2 值	P 值
rs1967039				
GG	42(50.0)	22(56.4)	0.468	0.791
GA	33(39.3)	13(3.3)		
AA	9(10.7)	4(10.3)		
G*	117(69.6)	57(73.1)		
A*	51(30.4)	21(26.9)		
rs2230739				
TT	29(34.5)	15(38.5)	0.987	0.611
TC	40(47.6)	15(38.5)		
CC	15(17.9)	9(23.1)		
T*	98(58.3)	45(57.7)		
C*	70(41.7)	33(42.3)		
rs2601814				
TT	61(72.6)	33(84.6)	2.127	0.145
TG	23(27.4)	6(15.4)		
GG	0(0)	0(0)		
T*	145(86.3)	72(92.3)		
G*	23(13.7)	6(7.7)		
rs2601825				
TT	31(36.9)	12(30.8)	1.316	0.518
TC	36(42.9)	21(53.8)		
CC	17(20.2)	6(15.4)		
T*	98(58.3)	45(57.7)		
C*	70(41.7)	33(42.3)		
rs2601796				
AA	61(72.6)	31(79.5)	0.666	0.414
AG	23(27.4)	8(20.5)		
GG	0(0)	0(0)		
A*	145(86.3)	70(89.7)		
G*	23(13.7)	8(10.3)		
rs2283497				
GG	54(64.3)	27(69.2)	1.508	0.471
GT	27(32.1)	12(30.8)		
TT	3(3.6)	0(0)		
G*	135(80.4)	66(84.6)		
T*	33(19.6)	12(15.4)		

注：*等位基因分析中，轻中度组 n=168，重度组 n=78。

2.3 ADCY9 基因 6 个位点连锁不平衡及单倍型分析

ADCY9 基因 rs2601796 和 rs2601814 位点 D' 为

0.98，表明 2 位点间存在强连锁不平衡，构成 TA 和 GG 2 种单倍型。单倍型 TA 和 GG 在哮喘组和对照组的分布差异无统计学意义 ($P>0.05$)。单倍型 TA 和 GG 在不同哮喘急性发作严重程度中的分布差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 5~6。

表 5 哮喘组和对照组单倍型 TA 和 GG 分布频率比较

组别	例数	TA	GG	χ^2 值	P 值
对照组	246	219(89.0)	27(11.0)	0.100	0.195
哮喘组	244	215(88.1)	29(11.9)		

表 6 不同哮喘急性发作严重程度单倍型 TA 和 GG 分布频率比较 [n (%)]

组别	例数	TA	GG	χ^2 值	P 值
轻中度	168	145(86.3)	23(13.7)	0.752	0.201
重度	76	70(92.1)	6(7.9)		

2.4 ADCY9 基因 6 个位点间的交互作用分析

应用 GMDR 分析 rs1967309、rs2230739、rs2601814、rs2601825、rs2601796 和 rs2283497 位点之间的交互作用，结果显示 rs1967309、rs2230739、rs2601814、rs2601825、rs2601796 和 rs2283497 位点交叉一致性为 100%，为最佳模型，但 6 个位点间显著性检验差异无统计学意义 (均 $P>0.05$)。见表 7。

2.5 ADCY9 基因与环境交互作用分析

采用 GMDR 分析母乳喂养、变应原接触、环境烟草烟雾 (environmental tobacco smoke, ETS) 接触、宠物接触及城市居住地与 rs1967309 位点的交互作用。由表 8 可以看出，二阶模型及六阶模型交叉一致性均为 10/10，但二阶模型检验样本准确性 (0.661) 高于六阶模型 (0.600)，故选择二阶模型为最佳模型 (图 7)。二阶模型交互作用显著性检验差异有统计学意义 ($P<0.05$)，即 rs1967309 位点与变应原接触的交互作用有统计学意义。对 ADCY9 基因各位点间及其与环境交互作用交叉一致性为 100% 的模型进行 logistic 回归分析验证，结果显示 rs1967309 位点与变应原接触的交互作用使哮喘的患病风险增加 ($OR=1.585$, $P<0.05$)。见表 9。

表 7 ADCY9 基因各位点间的交互作用 GMDR 分析结果

模型	训练样本准确性	检验样本准确性	交叉验证一致性	P 值
rs1967309/rs2230739	0.602	0.489	4/10	0.945
rs1967309/rs2230739/rs2601825	0.642	0.512	4/10	0.377
rs1967309/rs2230739/rs2601825/rs2601796	0.693	0.525	6/10	0.377
rs1967309/rs2230739/rs2601825/rs2601796/rs2283497	0.738	0.519	8/10	0.377
rs1967309/rs2230739/rs2601814/rs2601825/rs2601796/rs2283497	0.741	0.532	10/10	0.377

表 8 ADCY9 基因 rs1967309 位点与环境交互作用 GMDR 分析结果

模型	训练样本准确性	检验样本准确性	交叉验证一致性	P 值
rs1967309/变应原接触	0.672	0.661	10/10	0.010
母乳喂养/变应原接触/ETS 接触	0.690	0.645	9/10	0.010
rs1967309/母乳喂养/变应原接触/ETS 接触	0.712	0.619	9/10	0.010
rs1967309/母乳喂养/变应原接触/ETS 接触/宠物接触	0.736	0.565	7/10	0.055
rs1967309/母乳喂养/变应原接触/ETS 接触/宠物接触/城区居住地	0.774	0.600	10/10	0.172

注: [ETS] 环境烟草烟雾。

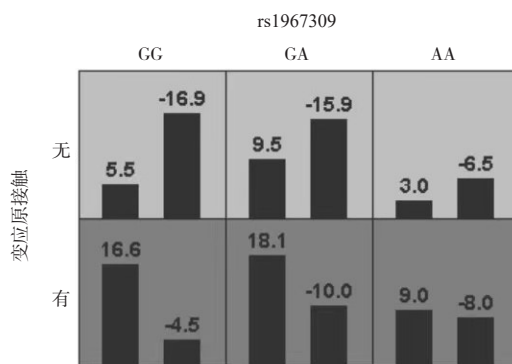


图 7 ADCY9 基因 rs1967309 位点与环境交互作用的 GMDR 分析结果最佳模型 每一个单元格代表一种交互组合; 单元格颜色越深示组合风险越高; 单元格中正向得分越高代表组合患哮喘的风险越高。

表 9 交叉一致性为 100% 的模型 logistic 回归分析

模型	B	SE	Wald χ^2	P	OR(95% CI)
rs1967309/rs2230739/rs2601814/rs2601825/rs2601796/rs2283497	-0.011	0.007	2.257	0.133	0.989(0.976~1.003)
rs1967309/变应原接触	0.461	0.134	11.763	0.001	1.585(1.218~2.065)
rs1967309/母乳喂养/变应原接触/ETS 接触/宠物接触/城区居住地	0.299	0.281	1.129	0.288	1.348(0.777~2.338)

注: [ETS] 环境烟草烟雾。

3 讨论

近二三十年来, 在全球范围内儿童哮喘的发生率迅速升高, 尤其是经济发达的国家和地区^[8], 严重影响了人们的身心健康。早期哮喘风险的评估对高风险儿童至关重要, 若能进行有效的早期评估, 采取早期预防能很大程度降低高风险儿童哮喘的发病率。哮喘是多基因控制的呼吸系统慢性疾病, 其发病受遗传、环境等因素影响。

ADCY9 基因受 G 蛋白耦合受体、蛋白激酶和钙家族的调节, 催化三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 转化为第二信使环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP), ADCY9 基因表达的减少导致 cAMP 生成减少, 进而引起免疫调节失衡^[9]。此外, β_2 肾上腺素能受体在 ADCY9 基因的介导下可被激活, 该通道对平滑肌及肺功能调节起着重要作用^[10-11]。

本研究对 ADCY9 基因 6 个位点的 SNPs 与儿童

哮喘易感性进行分析,结果显示rs1967309位点检测出GG、GA和AA 3种基因型,与Kim等^[12]分析韩国轻中度哮喘患者*ADCY9*基因多态性相同,基因型及等位基因在哮喘组和对照组的分布差异存在统计学意义,表明该位点是儿童哮喘的易感位点,其中AA基因型在哮喘组中的分布频率低于对照组,次等位基因A降低了儿童患哮喘的风险,提示其是儿童哮喘的保护因素。我们推测可能次等位基因A参与了蛋白激酶A的正向调控,cAMP生成增多,使*ADCY9*活性增加。Teixeira等^[7]研究了*ADCY9*基因多态性与1309例巴西儿童哮喘和过敏的相关性,发现rs2601814和rs2601796位点的SNPs增加了哮喘儿童的患病风险,rs2283497位点与儿童过敏有关。本研究未发现rs2601814、rs2601796和rs2283497位点与儿童哮喘患病风险增加存在关联,考虑可能受到地域、种族和样本量的影响。此前有研究证实rs2230739位点与疟疾的患病有关^[13-14],目前暂无该位点与儿童哮喘的相关性研究,我们发现rs2230739位点与儿童哮喘易感性无关。本研究中rs2601825位点检测出TT、TC和CC基因型,经分析发现该位点不是儿童哮喘的易感位点。*ADCY9*基因位于 β_2 肾上腺素能受体下游^[9], β_2 肾上腺素能受体与哮喘急性发作密切相关^[15],因此我们对*ADCY9*基因与哮喘急性发作严重程度进行研究,结果显示*ADCY9*基因6个位点的SNPs与哮喘急性发作严重程度无关。

连锁不平衡指的是不同遗传标记间存在着的非随机组合^[16],单倍型是共同出现在单条染色体上的遗传变异位点的组合^[17]。目前越来越多的学者致力于单倍型与复杂性疾病的研究^[18-19]。我们是国内外首次对*ADCY9*基因单倍型与儿童哮喘的关系进行研究,结果显示rs2601796和rs2601814位点共构成TA和GG 2种单倍型,TA和GG单倍型在哮喘组和对照组中及在不同哮喘急性发作严重程度中的分布差异均无统计学意义,提示这2种单倍型与儿童哮喘的发病及急性发作严重程度无关。

哮喘是由基因-基因、基因-环境交互作用引起复杂性疾病^[20],了解其交互作用,筛选出哮喘易感人群,避免环境触发因素,能够对儿童哮喘进行早期诊断及有效干预。有研究表明变应原接触、宠物接触、ETS接触、城区居住地及非母乳喂养均是儿童哮喘发生的危险因素^[21-24]。本研究首次探讨*ADCY9*基因与环境交互作用的关系,结果提示rs1967309、rs2230739、rs2601814、rs2601825、

rs2601796和rs2283497位点不存在交互作用。对*ADCY9*基因易感位点rs1967309与环境因素进行交互作用分析,结果提示rs1967309位点与变应原接触间存在交互作用,经logistic回归分析显示该交互作用增加了哮喘发生的风险,提示rs1967309位点与变应原接触产生了协同作用。

综上,*ADCY9*基因rs1967309是儿童哮喘的易感位点,该位点和变应原接触的交互具有协同致哮喘的作用。rs2230739、rs2601814、rs2601825、rs2601796和rs2283497位点并非儿童哮喘的易感位点。由于不同地区、种族差异和样本量大小问题导致同一疾病的发病的易感基因不同,并不能完全阐述*ADCY9*基因多态性与儿童哮喘的关系,需进一步深入研究。

利益冲突声明:所有作者声明无利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] 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. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南(2016年版)[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(3): 167-181. PMID: 26957061. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2016.03.003.
- [2] 全国儿童哮喘防治协作组. 中国城区儿童哮喘患病率调查[J]. 中华儿科杂志, 2003, 41(2): 123-127. PMID: 14759318. DOI: 10.3760/j.issn:0578-1310.2003.02.014.
- [3] 全国儿科哮喘协作组, 中国疾病预防控制中心环境与健康相关产品安全所. 第三次中国城市儿童哮喘流行病学调查[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(10): 729-735. PMID: 24406223. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2013.10.003.
- [4] Lang DM. Severe asthma: epidemiology, burden of illness, and heterogeneity[J]. Allergy Asthma Proc, 2015, 36(6): 418-424. PMID: 26534747. DOI: 10.2500/aap.2015.36.3908.
- [5] Mirabelli MC, Hsu J, Gower WA. Comorbidities of asthma in U.S. children[J]. Respir Med, 2016, 116: 34-40. PMID: 27296818. PMID: PMC4910635. DOI: 10.1016/j.rmed.2016.05.008.
- [6] Lee YS, Marmorstein LY, Marmorstein AD. Soluble adenylyl cyclase in the eye[J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1842(12 Pt B): 2579-2583. PMID: 25108282. PMID: PMC4262638. DOI: 10.1016/j.bbdis.2014.07.032.
- [7] Teixeira HM, Alcantara-Neves NM, Barreto M, et al. Adenylyl cyclase type 9 gene polymorphisms are associated with asthma and allergy in Brazilian children[J]. Mol Immunol, 2017, 82: 137-145. PMID: 28076799. DOI: 10.1016/j.molimm.2017.01.001.
- [8] 鲍一笑, 华丽. 哮喘基因研究进展[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(16): 1201-1203. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-428X.2013.16.001.
- [9] 杨琰茗, 杨雅清, 宋杲. 腺苷酸环化酶的研究进展[J]. 临床与病理杂志, 2019, 39(2): 390-394. DOI: 10.3978/j.issn.2095-6959.2019.02.026.

- [10] Tantisira KG, Small KM, Litonjua AA, et al. Molecular properties and pharmacogenetics of a polymorphism of adenylyl cyclase type 9 in asthma: interaction between beta-agonist and corticosteroid pathways[J]. *Hum Mol Genet*, 2005, 14(12): 1671-1677. PMID: 15879435. DOI: [10.1093/hmg/ddi175](https://doi.org/10.1093/hmg/ddi175).
- [11] Ortega VE, Meyers DA, Bleecker ER. Asthma pharmacogenetics and the development of genetic profiles for personalized medicine[J]. *Pharmgenomics Pers Med*, 2015, 8: 9-22. PMID: 25691813. PMCID: PMC4325626. DOI: [10.2147/PGPM.S52846](https://doi.org/10.2147/PGPM.S52846).
- [12] Kim SH, Ye YM, Lee HY, et al. Combined pharmacogenetic effect of *ADCY9* and *ADRB2* gene polymorphisms on the bronchodilator response to inhaled combination therapy[J]. *J Clin Pharm Ther*, 2011, 36(3): 399-405. PMID: 21545619. DOI: [10.1111/j.1365-2710.2010.01196.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2710.2010.01196.x).
- [13] Apinjoh TO, Anchang-Kimbi JK, Njua-Yafi C, et al. Association of candidate gene polymorphisms and TGF-beta/IL-10 levels with malaria in three regions of Cameroon: a case-control study[J]. *Malar J*, 2014, 13: 236. PMID: 24934404. PMCID: PMC4077225. DOI: [10.1186/1475-2875-13-236](https://doi.org/10.1186/1475-2875-13-236).
- [14] Manjurano A, Clark TG, Nadjm B, et al. Candidate human genetic polymorphisms and severe malaria in a Tanzanian population[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47463. PMID: 23144702. PMCID: PMC3483265. DOI: [10.1371/journal.pone.0047463](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047463).
- [15] Akparova A, Aripova A, Abishev M, et al. An investigation of the association between *ADRB2* gene polymorphisms and asthma in Kazakh population[J]. *Clin Respir J*, 2020, 14(6): 514-520. PMID: 32034992. DOI: [10.1111/crj.13160](https://doi.org/10.1111/crj.13160).
- [16] Hui TY, Burt A. Estimating linkage disequilibrium from genotypes under Hardy-Weinberg equilibrium[J]. *BMC Genet*, 2020, 21(1): 21. PMID: 32102657. PMCID: PMC7045472. DOI: [10.1186/s12863-020-0818-9](https://doi.org/10.1186/s12863-020-0818-9).
- [17] Snyder MW, Adey A, Kitzman JO, et al. Haplotype-resolved genome sequencing: experimental methods and applications[J]. *Nat Rev Genet*, 2015, 16(6): 344-358. PMID: 25948246. DOI: [10.1038/nrg3903](https://doi.org/10.1038/nrg3903).
- [18] Vishweswaraiah S, Ramachandra NB, Jayaraj BS, et al. Haplotype analysis of *ADAM33* polymorphisms in asthma: a pilot study[J]. *Indian J Med Res*, 2019, 150(3): 272-281. PMID: 31719298. PMCID: PMC6886134. DOI: [10.4103/ijmr.IJMR_698_17](https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_698_17).
- [19] Sio YY, Anantharaman R, Lee SQE, et al. The asthma-associated PER1-like domain-containing protein 1 (PERLD1) haplotype influences soluble glycosylphosphatidylinositol anchor protein (sGPI-AP) levels in serum and immune cell proliferation[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 715. PMID: 31959860. PMCID: PMC6970992. DOI: [10.1038/s41598-020-57592-9](https://doi.org/10.1038/s41598-020-57592-9).
- [20] 陈海霞, 单玉霞, 崔振泽, 等. 儿童哮喘发病机制中基因与环境相互作用新进展[J]. *中国中西医结合儿科学*, 2021, 13(1): 5-10. DOI: [10.3969/j.issn.1674-3865.2021.01.002](https://doi.org/10.3969/j.issn.1674-3865.2021.01.002).
- [21] Mendy A, Wilkerson J, Salo PM, et al. Endotoxin clustering with allergens in house dust and asthma outcomes in a U.S. national study[J]. *Environ Health*, 2020, 19(1): 35. PMID: 32178682. PMCID: PMC7077112. DOI: [10.1186/s12940-020-00585-y](https://doi.org/10.1186/s12940-020-00585-y).
- [22] AlShatti KA, Ziyab AH. Pet-Keeping in relation to asthma, rhinitis, and eczema symptoms among adolescents in Kuwait: a cross-sectional study[J]. *Front Pediatr*, 2020, 8: 331. PMID: 32656169. PMCID: PMC7324793. DOI: [10.3389/fped.2020.00331](https://doi.org/10.3389/fped.2020.00331).
- [23] Deng Q, Deng L, Lu C, et al. Parental stress and air pollution increase childhood asthma in China[J]. *Environ Res*, 2018, 165: 23-31. PMID: 29655040. DOI: [10.1016/j.envres.2018.04.003](https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.04.003).
- [24] Raby BA. Asthma severity, nature or nurture: genetic determinants[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2019, 31(3): 340-348. PMID: 31090575. DOI: [10.1097/MOP.0000000000000758](https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000758).

(本文编辑: 王颖)