

• 论 著 •

NCF4 基因 rs4821544T/C 多态性与炎症性肠病关联性 meta 分析*

吴鹏波^{1,2}, 饶倩^{1,2}, 俞媛洁^{1,2}, 柴红^{1,2}, 张国³, 郭一天^{1,2}, 谭诗云^{1,2}

(1. 武汉大学人民医院消化内科, 湖北武汉 430060; 2. 消化系疾病湖北省重点实验室, 湖北武汉 430060;
3. 广西壮族自治区人民医院消化内科, 广西南宁 530000)

摘要:目的 研究高加索人群嗜中性粒细胞胞浆因子 4(NCF4) 基因 rs4821544T/C 多态性与炎症性肠病的相关性。方法 全面检索关于 NCF4 基因 rs4821544T/C 多态性与炎症性肠病关联性的病例对照研究, 纳入符合条件的研究, 并进行数据合并。利用 rs4821544T/C 不同的遗传模型比值比(OR)及其 95%CI 作为效应指标进行分析。结果 共 15 个病例对照研究纳入 22 317 例对象, 其中克罗恩病患者 8 155 例, 溃疡性结肠炎患者 3 257 例, 健康对照 10 905 例。Meta 分析结果表明, rs4821544T/C 多态性与克罗恩病易感性的相关性有统计学意义[CC vs. TT:OR(95%CI)=1.38(1.17~1.51), P=0.000; CC/TC vs. TT:OR(95%CI)=1.11(1.05~1.21), P=0.039; CC vs. TC/TT:OR(95%CI)=1.30(1.13~1.47), P=0.000]。而 rs4821544T/C 多态性与溃疡性结肠炎易感性的相关性无统计学意义[CC vs. TT:OR(95%CI)=1.11(0.90~1.36), P=0.296; TC vs. TT:OR=1.04(0.94~1.14), P=0.441; CC/TC vs. TT:OR(95%CI)=1.04(0.95~1.18), P=0.381; CC vs. TC/TT:OR(95%CI)=1.06(0.90~1.24), P=0.429]。结论 高加索人群克罗恩病易感性与 NCF4 基因 rs4821544T/C 多态性有关, 而溃疡性结肠炎与该基因多态性无关。

关键词:嗜中性粒细胞胞浆因子 4; 基因多态性; 炎症性肠病; meta 分析

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.09.012 **中图法分类号:**R574;R446.1

文章编号:1673-4130(2020)09-1074-04 **文献标识码:**A

Association between neutrophil cytoplasmic factor 4 rs4821544T/C polymorphism and inflammatory bowel disease risk in Caucasian population: a meta-analysis*

WU Pengbo^{1,2}, RAO Qian^{1,2}, YU Yuanjie^{1,2}, CHAI Hong^{1,2}, ZHANG Guo³, GUO Yitian^{1,2}, TAN Shiyun^{1,2}

(1. Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430060, China; 2. Hubei Key Laboratory of Digestive Diseases, Wuhan, Hubei 430060, China;
3. Department of Gastroenterology, People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning, Guangxi 530000, China)

Abstract: Objective To investigate the associations between neutrophil cytoplasmic factor 4 (NCF4) rs4821544T/C polymorphism and inflammatory bowel disease (IBD) risk in Caucasian population. **Methods** Case-control studies on the associations between the NCF4 rs4821544T/C polymorphism and IBD were comprehensively searched. All the related studies were further strictly selected according to the inclusion criteria. odds ratios (OR) with 95%CI were used to assess the associations between rs4821544T/C polymorphism and IBD risk in Caucasian population. **Results** A total of 22 317 subjects were included in 15 case-control studies, including 8 155 patients with Crohn's disease, 3 257 patients with ulcerative colitis and 10 905 healthy controls. The results of meta-analysis showed that rs4821544t/C polymorphism was significantly associated with Crohn's disease susceptibility[CC vs. TT:OR(95%CI)=1.38(1.17-1.51), P=0.000; CC/TC vs. TT:OR(95%CI)=1.11(1.05-1.21), P=0.039; CC vs. TC/TT:OR(95%CI)=1.30(1.13-1.47), P=0.000]. However, rs4821544T/C polymorphism and susceptibility to ulcerative colitis were not statistically significant [CC vs. TT:OR(95%CI)=1.11(0.90-1.36), P=0.296; TC vs. TT:OR=1.04(0.94-1.14), P=0.441; CC/TC vs. TT:OR(95%CI)=1.04(0.95-1.18), P=0.381; CC vs. TC/TT:OR(95%CI)=1.06(0.90-1.24), P=0.429]. **Conclusion** The susceptibility of Crohn's disease in Caucasian population is related to

* 基金项目:湖北省自然科学基金项目(2018CFB236)。

作者简介:吴鹏波,男,主治医师,主要从事消化科常见疾病诊疗和基础研究。

本文引用格式:吴鹏波,饶倩,俞媛洁,等. NCF4 基因 rs4821544T/C 多态性与炎症性肠病关联性 meta 分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(9):1074-1077.

NCF4 rs4821544T/C polymorphism, while ulcerative colitis is not related to this gene polymorphism.

Key words: neutrophil cytoplasmic factor 4; gene polymorphism; inflammatory bowel disease; meta-analysis

炎症性肠病是一种肠道非特异炎症疾病,其发病主要与环境、遗传、心理因素及肠道菌群失调等因素有关^[1]。近年来国内外学者逐渐认识到基因多态性在炎症性肠病发生、发展过程中发挥着重要作用^[2]。有研究表明,过多的活性氧会导致氧化应激进而在炎症性肠病中发挥重要作用^[3]。嗜中性粒细胞胞浆因子 4(NCF4)为还原型辅酶 II(NADPH)氧化酶系统的主要酶之一。国外不同地区学者对 NCF4 基因 rs4821544T/C 多态性与高加索人群炎症性肠病风险关联性进行了研究,但鲜见针对其他人群的研究。各地研究结果存在一定程度的分歧,为解决这些分歧,本文进行 meta 分析以全面评估高加索人群 NCF4 基因 rs4821544T/C 多态性与炎症性肠病易感性之间关系。

1 资料与方法

1.1 文献纳入、排除标准 纳入标准:(1)病例均为经确诊炎症性肠病患者,其诊断符合相关诊断指南标准或临床表现、影像学、病理检查及内镜联合诊断^[4-5]。(2)涉及 NCF4 基因 rs4821544T/C 多态性与炎症性肠病风险研究。(3)所有病例对照研究均正式发表。(4)纳入研究有足够的信息提供统计指标比值比(OR)及 95%CI。(5)研究对象限定为高加索人群。排除标准:(1)非病例对照研究。(2)无足够的数以计算 OR 值。(3)其他位点的研究。(4)相关综述及评论。(5)其他人种研究。

1.2 检索策略 检索 PubMed、Web of Science、中国知网、万方医学网。检索时间为建库至 2019 年 1 月。英文检索式为“NCF4 or rs4821544T/C or NADPH” and “mutation or variant or polymorphism or SNP” and “Crohn’s disease or ulcerative colitis or inflammatory bowel disease or IBD”;中文检索式为“NCF4 或 rs4821544T/C”和“基因多态性或突变”和“溃疡性结肠炎或克罗恩病或炎症性肠病”。同时,手动检索纳入文献的相关参考文献,数据不完整时联系作者获取数据。所有纳入研究的研究对象限高加索人群。

1.3 数据提取 由 2 位评价者对检索文献进行独立筛选,若存在分歧,则通过第 3 位评价者进行定论。2 位评价者对原始文献中记录的数据进行独立收集,提取以下所有研究信息:作者姓名、研究年份、省份、病例组与对照组样本量、最小等位基因频率(MAF)、对照组基因分布是否符合哈迪-温伯格(HWE)平衡。

1.4 质量评价 根据纽卡斯尔-渥太华量表(NOS)评估纳入文献的质量^[6]。主要评估以下 3 方面:(1)纳入的样本来源;(2)病例组及对照组基线资料匹配情况,即组间可比性;(3)暴露和结果的确定性,即病

例组诊断明确。总分 9 分,其中总分 ≥ 5 分者判定为质量可靠。

1.5 统计学处理 本研究采用 Stata11.0 软件分析,采用 χ^2 检验来检验各研究之间结果是否存在异质性;异质性检结果采取 Phet 表示,若 $Phet < 0.05$ 则判定有异质性,而 I^2 衡量异质性大小,若无异质性则采用固定效应模型计算总效应 OR;反之则采用随机效应模型。若研究间存在异质性则可根据纳入研究的某些特征进行分层后再分析,最终确定异质性来源。按依次剔除单个研究后进行敏感性分析以判断结果的稳定性。运用 Egger’s 检验来确定 meta 分析结果是否存在发表偏倚, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 文献检索结果 根据中英文检索式初检文献 40 篇,经初步阅读题目及摘要,剔除 6 篇与 NCF4 无关研究及 15 篇与炎症性肠病无关研究。对初步符合要求的 19 篇论文,通读全文进行第 2 次精细筛选,排除 3 篇综述及 7 篇非病例对照研究。最终纳入 10 项研究包含有 15 个病例对照研究^[7-16],见表 1。

2.2 纳入研究基本特征 15 个病例对照研究共纳入 22 317 例对象,其中克罗恩病患者 8 155 例,溃疡性结肠炎患者 3 257 例,健康对照 10 905 例。所有研究中对对照组均遵守 HWE 平衡,纳入的研究时间为 2007—2018 年。纳入研究的基本特征见表 1。

2.3 纳入研究质量评价 NOS 评估纳入文献质量,每篇纳入文献研究均 ≥ 5 分;平均 NOS 评分 7 分,提示纳入文献质量较高。见表 1。

2.4 Meta 分析结果 NCF4 基因 rs4821544T/C 多态性与炎症性肠病易感性关系 meta 分析结果显示,高加索人群克罗恩病与 rs4821544T/C 多态性在 4 个基因模型存在相关性[CC vs. TT:OR (95%CI) = 1.38(1.17~1.51), $P = 0.000$;CC/TC vs. TT:OR (95%CI) = 1.11(1.05~1.21), $P = 0.039$;CC vs. TC/TT:OR (95%CI) = 1.30(1.13~1.47), $P = 0.000$]。而在 CC vs. TT 模型中发现无明显相关性[OR (95%CI) = 1.12(0.97~1.18), $P = 0.055$]。高加索人群溃疡性结肠炎与 rs4821544T/C 多态性在以下所有基因模型无相关性[CC vs. TT:OR (95%CI) = 1.11(0.90~1.36), $P = 0.296$;TC vs. TT:OR = 1.04(0.94~1.14), $P = 0.441$;CC/TC vs. TT:OR (95%CI) = 1.04(0.95~1.18), $P = 0.381$;CC vs. TC/TT:OR (95%CI) = 1.06(0.90~1.24), $P = 0.429$]。见表 2。

2.5 发表偏倚分析 采用 Egger 回归检验各个基因模型发表偏倚,结果显示 P 值均大于 0.05,表明无明

显发表偏倚。见表 2。

2.6 敏感性分析 依次剔除单个研究后进行敏感性分析以判断结果的稳定性。分析提示,剔除单个研究后各模型分析结果未改变,表明 meta 分析结果稳定。

表 1 高加索人群 rs4821544T/C 多态性与炎症性肠病相关研究一般情况

作者	年份 (年)	疾病	国家	样本量(<i>n</i>)		MAF		HWE	NOS(分)
				病例	对照	病例	对照		
YADAV 等 ^[7]	2018	克罗恩病	美国	714	2490	0.374	0.341	0.901	7
RIOUX 等 ^[8]	2007	克罗恩病	美国	353	207	0.374	0.339	0.997	7
ROBERTS 等 ^[9]	2008	克罗恩病	新西兰	496	525	0.303	0.275	0.139	6
FRANKE 等 ^[10]	2008	克罗恩病	德国	1 811	1 747	0.333	0.309	0.630	8
GLAS 等 ^[11]	2009	克罗恩病	欧洲	854	1 503	0.332	0.322	0.987	7
EGLINTON 等 ^[12]	2011	克罗恩病	新西兰	715	600	0.297	0.275	0.971	8
AMRE 等 ^[13]	2012	克罗恩病	加拿大	392	416	0.350	0.350	0.994	6
JUNG 等 ^[14]	2012	克罗恩病	法国	798	960	0.380	0.330	0.988	8
MUISE 等 ^[15]	2012	克罗恩病	加拿大	656	849	0.374	0.322	0.987	7
NASIR 等 ^[16]	2013	克罗恩病	澳大利	174	333	0.319	0.264	0.339	6
YADAV 等 ^[7]	2018	克罗恩病	美国	692	2490	0.365	0.341	0.901	7
ROBERTS 等 ^[9]	2008	溃疡性结肠炎	新西兰	471	525	0.301	0.275	0.138	6
FRANKE 等 ^[10]	2008	溃疡性结肠炎	德国	1 078	1 747	0.328	0.309	0.630	8
GLAS 等 ^[11]	2009	溃疡性结肠炎	欧洲	756	1 503	0.331	0.322	0.987	7
MUISE 等 ^[15]	2012	溃疡性结肠炎	加拿大	544	849	0.314	0.322	0.987	7

表 2 高加索人群 rs4821544T/C 多态性与炎症性肠病相关性 meta 分析结果

疾病	基因模型	关联性研究		异质性检验		Egger's(<i>P</i>)
		OR(95%CI)	<i>P</i>	χ^2	<i>I</i> ² (%)	
克罗恩病	CC <i>vs.</i> TT	1.38(1.17~1.51)	0.000	7.01	0.0	0.645
克罗恩病	TC <i>vs.</i> TT	1.12(0.97~1.18)	0.055	3.26	0.0	0.951
克罗恩病	TC/CC <i>vs.</i> TT	1.11(1.05~1.21)	0.039	3.11	0.0	0.966
克罗恩病	CC <i>vs.</i> TT/TC	1.30(1.13~1.47)	0.000	7.50	0.0	0.578
溃疡性结肠炎	CC <i>vs.</i> TT	1.11(0.90~1.36)	0.296	1.47	0.0	0.681
溃疡性结肠炎	TC <i>vs.</i> TT	1.04(0.94~1.14)	0.441	0.51	0.0	0.914
溃疡性结肠炎	TC/CC <i>vs.</i> TT	1.04(0.95~1.18)	0.381	0.61	0.0	0.897
溃疡性结肠炎	CC <i>vs.</i> TT/TC	1.06(0.90~1.24)	0.429	1.32	0.0	0.720

3 讨 论

本文 meta 分析纳入 22 317 例对象,其中克罗恩病患者 8 155 例,溃疡性结肠炎患者 3 257 例,健康对照 10 905 例。研究结果表明,高加索人群克罗恩病易感性与 NCF4 基因 rs4821544T/C 多态性有关,而溃疡性结肠炎与该基因多态性无关,出现这样结果的原因如下:二者基因易感性虽然呈现出一定交叉,但也存在一定的差异;研究样本有限,导致检验效能降低;存在环境等混杂因素。

炎症性肠病迄今为止发病机制尚未明了,目前,国内外学者一致认为肠道细菌感染是炎症性肠病发病的重要机制^[1]。基因 NCF4 可编码 NADPH 氧化酶复合体的亚单位 p40-phox。NCF4 基因多态性影

响血浆中 NADPH 氧化酶活性,NADPH 活性改变通过影响活性氧(ROS)的产生起到杀死病菌的作用。最新一项研究表明,与炎症性肠病极其类似的慢性肉芽肿性疾病患者 NADPH 复合体出现突变继而血清 ROS 水平降低^[17]。有研究发现,白细胞敲除编码 NADPH 复合体的亚单位 p40-phox 基因 NCF4 后会 导致其杀菌能力大大削弱^[18]。最近研究发现,NCF4 基因多态性可影响中性粒细胞产生氧自由基的能力,进而通过影响肠道细菌感染导致炎性肠疾病易感^[19]。

Meta 分析是一种解决多个相同或者类似的研究结果存在分歧的统计学方法,不仅可以提高统计结果检验效能,解决众多类似研究结果不一致的问题,而且克服了各个研究样本量小这一不足^[19]。本文通过

敏感性分析显示, meta 分析结果相对稳定; 发表偏倚是影响 meta 分析结果可靠性的重要因素, 本文运用 Egger's 回归检验发现分析中未存在明显偏倚, 提示结果可靠。而较高质量的纳入文献为本文研究提供了可靠的原始资料。综上所述, meta 分析结果具有科学性、稳定性和可靠性。然而本文存在一定的不足: (1) 本文研究人群仅来自少数几个白种人国家, 人群样本代表性欠佳, 同时, 也未将年龄、性别, 甚至婚姻状态等因素纳入研究之中; (2) 生活方式及社会心理环境是影响炎症性肠病罹患风险的重要因素, 而本研究纳入各项病例对照研究未考虑这一因素。

4 结 论

高加索人群克罗恩病易感性与 NCF4 基因 rs4821544T/C 多态性有关, 而溃疡性结肠炎与该基因多态性无关。然而, 高加索人群 NCF4 基因 rs4821544T/C 多态性与炎症性肠病风险相关性需要更多高质量、大样本量、考虑多因素的研究进一步论证。

参考文献

- [1] SHIM J O. Recent advance in very early onset inflammatory bowel disease[J]. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*, 2019, 22(1): 41-49.
- [2] MCGOVERN D P, VAN HEEL D A, AHMAD T, et al. NOD2 (CARD15), the first susceptibility gene for Crohn's disease[J]. *Gut*, 2001, 49(6): 752-754.
- [3] MATHIEU E, BERNARD A S, DELSUC N, et al. A Cell-Penetrant manganese superoxide dismutase (MnSOD) mimic is able to complement MnSOD and exerts an anti-inflammatory effect on cellular and animal models of inflammatory bowel diseases[J]. *Inorg Chem*, 2017, 56(5): 2545-2555.
- [4] TEICH N, KLUGMANN T. Inflammatory bowel diseases-diagnosis and therapy in practice [J]. *Dtsch Med Wochenschr*, 2018, 113(13): 945-952.
- [5] PADOAN A, D'INC R, SCAPELLATO M L, et al. Improving IBD diagnosis and monitoring by understanding preanalytical, analytical and biological fecal calprotectin variability[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2018, 56(11): 1926-1935.
- [6] HARTLING L, MILNE A, HAMM M P, et al. Testing the newcastle ottawa scale showed low reliability between individual reviewers[J]. *J Clin Epidemiol*, 2013, 66(9): 982-993.
- [7] YADAV P, ELLINGHAUS D, RÁMY G, et al. Genetic factors interact with tobacco smoke to modify risk for inflammatory bowel disease in humans and mice[J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(2): 550-565.
- [8] RIOUX J D, XAVIER R J, TAYLOR K D, et al. Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for

Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis[J]. *Nat Genet*, 2007, 39(5): 596-604.

- [9] ROBERTS R L, HOLLIS-MOFFATT J E, GEARRY R B, et al. Confirmation of association of IRGM and NCF4 with ileal Crohn's disease in a population-based cohort [J]. *Genes Immun*, 2008, 9(6): 561-565.
- [10] FRANKE A, BALSCHUN T, KARLSEN TH, et al. Replication of signals from recent studies of Crohn's disease identifies previously unknown disease loci for ulcerative colitis[J]. *Nat Genet*, 2008, 40(6): 713-715.
- [11] GLAS J, SEIDERER J, PASCIUTO G, et al. rs224136 on chromosome 10q21. 1 and variants in PHOX2B, NCF4, and FAM92B are not major genetic risk factors for susceptibility to Crohn's disease in the German population [J]. *Am J Gastroenterol*, 2009, 104(3): 665-672.
- [12] EGLINTON T W, ROBERTS R, PEARSON J, et al. Clinical and genetic risk factors for perianal crohn's disease in a population-based cohort[J]. *Am J Gastroenterol*, 2012, 107(4): 596-603.
- [13] AMRE D K, MACK D R, ISRAEL D, et al. NELL1, NCF4, and FAM92B genes are not major susceptibility genes for Crohn's disease in Canadian children and young adults [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2012, 18(3): 529-535.
- [14] JUNG C, COLOMBEL J F, LEMANN M A, et al. Genotype/phenotype analyses for 53 crohn's disease associated genetic polymorphisms [J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52223.
- [15] MUISE A M, XU W, GUO C H, et al. NADPH oxidase complex and IBD candidate gene studies: identification of a rare variant in NCF2 that results in reduced binding to RAC2[J]. *Gut*, 2012, 61(7): 1028-1035.
- [16] NASIR B F, GRIFFITHS L R, NASIR A, et al. An envirogenomic signature is associated with risk of IBD-Related surgery in a population-based crohn's disease cohort [J]. *J Gastroint Surg*, 2013, 17(9): 1643-1650.
- [17] ELLSON C D, DAVIDSON K, FERGUSON G J, et al. Neutrophils from p40phox^{-/-} mice exhibit severe defects in NADPH oxidase regulation and oxidant-dependent bacterial killing[J]. *J Exp Med*, 2006, 203(8): 1927-1937.
- [18] RYAN B M, ZANETTI K A, ROBLES A I, et al. Germ-line variation in NCF4, an innate immunity gene is associated with an increased risk of colorectal cancer[J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(6): 1399-1407.
- [19] OLSSON L M, LINDQVIST A K, KALLBERG H, et al. A case-control study of rheumatoid arthritis identifies an associated single nucleotide polymorphism in the NCF4 gene, supporting a role for the NADPH-oxidase complex in autoimmunity [J]. *Arthritis Res Ther*, 2007, 9(5): R98.