

· 论著 ·

OSA1基因多态性与EV71所致中枢神经系统感染的关系

郭小凤^{1,*} 田斌斌² 王雪芹¹

1. 开封市儿童医院新生儿科 (河南 开封 475000)

2. 开封市儿童医院内科门诊 (河南 开封 475000)

【摘要】目的 分析EV71引起的中枢神经系统感染过程中, 其感染机制是否与OSA1基因多态性存在关系, 为临床预防感染制定相关措施提供参考。**方法** 收集2018年3月至2021年10月在本院就诊的EV71感染者, 以及体检健康儿资料, 使用 SNP scan分析 OAS1 rs2660 和 rs1131454 SNP分型。**结果** 本次研究共收集86名EV71感染患儿纳入至观察组, 另外收集60名健康体检患儿纳入至对照组。rs2660、rs1131454的基因型和等位基因分布之间比较, $P>0.05$ 。在OAS1 rs2660基因SNP方面, 与轻度组进行比较, 受累组与之比较存在显著差异($P<0.05$), 其中受累组AG 基因型频率明显更高, OR为2.27, 95% CI分布范围为1.07~4.85, 受累组GG 基因型频率明显更低, OR为0.27, 95% CI分布范围为0.08~0.97。而受累组OAS1基因SNP与对照组进行对比无显著差异($P>0.05$)。**结论** OAS1基因rs2660 SNP 与 CNS 参与 EV71 感染的易感性。携带 OAS1 的儿童rs2660 AG基因型在EV71感染后存在CNS受累风险性更高。

【关键词】 EV71; OSA1基因多态性; 中枢神经系统; 感染

【中图分类号】 R322.81

【文献标识码】 A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2023.03.006

The Relationship Between OSA1 Gene Polymorphism and EV71 Induced Central Nervous System Infection

GUO Xiao-feng^{1,*}, TIAN Bin-bin², WANG Xue-qin¹.

1. Department of Neonatology, Kaifeng Children's Hospital, Kaifeng 475000, Henan Province, China

2. Internal Medicine Clinic, Kaifeng Children's Hospital, Kaifeng 475000, Henan Province, China

Abstract: Objective To analyze whether there is a relationship between EV71 infection mechanism and OSA1 gene polymorphism in the process of central nervous system infection, and to provide reference for developing relevant measures for clinical infection prevention. **Methods** Data of EV71 patients admitted to our hospital from March 2018 to October 2021 and healthy infants were collected. SNP scan was used to analyze SNP typing of OAS1 rs2660 and rs1131454. **Results** In this study, a total of 86 children with EV71 infection were included in the observation group, and another 60 healthy children with physical examination were included in the control group. Comparison of genotype and allele distribution of rs2660 and rs1131454, $P>0.05$. In terms of SNP of OAS1 rs2660 gene, there was a significant difference between the affected group and the mild group ($P<0.05$). The frequency of AG genotype was significantly higher in the affected group (OR was 2.27, 95%-CI was 1.07-4.85), and the frequency of GG genotype was significantly lower in the affected group. OR was 0.27, and 95% CI ranged from 0.08 to 0.97. There was no significant difference in SNP of OAS1 gene between the affected group and the control group ($P>0.05$). **Conclusion** rs2660 SNP of OAS1 gene is involved in susceptibility of CNS to EV71 infection. Children with rs2660 AG genotypes carrying OAS1 have a higher risk of CNS involvement after EV71 infection.

Keyword: EV71; OSA1 Gene Polymorphism; Central Nervous System; Infected

肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)属于一类小RNA病毒, 来源于婴儿粪便标本中^[1]。目前EV71已被确定为全球儿童手足口病暴发的主要病原体之一^[2]。一项数据称^[3], 自2008至2017年, 我国共报告手足口病病例1380万例, 发病率和重症病例呈上升趋势, 其中约45%与EV71相关, 几乎全部死亡(超过3700例)归因于EV71。EV71感染可产生不同临床表现, 从轻度手足口病的发热和疱疹性咽炎到严重的大脑神经系统(central Nervous System, CNS)受累, 但这些感染大多数是无症状^[4]。部分EV71感染患儿疾病进展迅速, 大部分患儿可能合并无菌性脑膜炎, 严重情况下可能合并多个脏器功能异常, 不利于患儿病情恢复^[5]。目前认为手足口病的发生与病毒、宿主和环境因素等存在关系, 其中宿主因素可影响EV71相关疾病进展^[6]。关于EV71感染发病机制依旧是目前研究方向之一。2,5'-寡核苷酸合成酶1(2,5' -oligo adenylate synthetase, OAS1)属于一类蛋白质, 主要经I型干扰素诱导而来, 主要参与宿主防御病毒感染过程^[7-8]。目前已从OAS1基因鉴定57个SNP, 其中SNP(rs2660 和 rs1131454)证实与抑制丙型肝炎病毒、乙型肝炎病毒、柯萨奇病毒16病毒、流感病毒引起的几种病毒性疾病的复制存在关系^[9-12]。本研究探讨OAS1基因rs2660 和 rs1131454的关系和EV71感染, 以确定易感染EV71的潜在高危儿童。内容如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2018年3月至2021年10月在本院就诊的EV71

感染者, 以及体检健康儿资料, 如性别、年龄等。

1.2 EV71感染的鉴定 在儿童的粪便样本中, 采用实时定量PCR(Quantitative Real-time PCR, qRT-PCR)检测 EV71 核酸来识别 EV71 感染。上游引物 5'-GCAGCCCAAAAGAACTTCAC-3'和下游引物 5'-ATTTCAGCAGCTTGAGTGC-3', EV71核酸检测试剂盒(大安基因公司, 广州, 中国)。EV71病毒载量为通过荧光定量PCR测定和与标准系统相比。阴性组使用无菌注射用水代替标本, 阳性对照组作模板。

1.3 OAS1基因多态位点的选取 优先考虑外显子、5'非翻译区(5'-untranslated region, UTRs)和3'UTRs等功能区位点。中国人群的次要等位基因频率(minor allele frequency, MAF) ≥ 0.05 , 以往与其他疾病相关的位点 报告也被认为是次要站点。首选具有较大MAF的站点。因此选择OAS1基因的rs2660和rs1131454作为本研究的目标多态性位点。

1.4 SNP基因分型 对于rs2660和rs113454, 分别在62和52℃的退火温度下进行 35 个循环的 PCR。对于rs2660和rs113454, 我们设计了正向模板链(3F)的3'引物, 正向模板链上的A等位基因(Allele Frequency, AF)和正向模板链上的G等位基因(Genetic Fixation, GF), 其序列如下(Ref.seq:NC_000012.11): rs2660: GACGTCAGGACTGGAGAG(3F), GACGAAGGACTGGTCAGG(AF), G A G C A G G A C G A C T T A G G G (G F); r s 1 1 3 4 5 4 : GAGAGACGTGCAGGACTG(3F), GACGGTTGACAACAGGGG(AF),

【第一作者】 郭小凤, 女, 主治医师, 主要研究方向: 儿内科方面。E-mail: guojiajshyei@163.com

【通讯作者】 郭小凤

GAGTTAACGAAGGCCGGG(GF)。

1.5 统计学方法 使用卡方检验检验Hardy-Weinberg平衡。卡方检验分析组间的多态性频率。比较EV71感染儿童和健康对照以估计等位基因和基因型与EV71感染中枢神经系统受累的关系。所有相关性通过计算年龄和性别调整的优势比(odds ratio, OR)和95%置信区间(confidence interval, CI)。加性模型和显性模型拟合OAS1(rs2660和rs1131454)的多态性, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。所有统计分析均使用SPSS25.0软件进行。

2 结果

2.1 一般资料 本次研究共收集86名EV71感染患儿纳入至观察组, 其中男性53名, 女性33名, 年龄范围为6~96月, 平均年龄(20.5 ± 5.9)月, 其中34患儿轻度感染, 52名患儿中枢神经系统受累。另外收集60名健康体检患儿纳入至对照组, 其中男性40名, 女性20名, 年龄范围为6~97月, 平均年龄(20.7 ± 5.7)月。对照组与观察组一般资料比较, $P>0.05$ 。

2.2 OAS1基因等位基因和基因型在EV71手足口病患儿和健康儿童中的分布 rs2660、rs1131454的基因型和等位基因分布之间比较, $P>0.05$, 见表1。

2.3 OAS1基因SNP与EV71手足口病严重程度的关系 OAS1 rs2660基因SNP方面, 与轻度组对比, 受累组与之比较存在显著

差异($P<0.05$), 其中受累组AG频率明显更高, OR为2.27, 95% CI分布范围为1.07~4.85, 受累组GG频率明显更低, OR为0.27, 95% CI分布范围为0.08~0.97, 见表2。

2.4 OAS1基因SNP与EV71中枢受累的关系 两组OAS1基因SNP比较, $P>0.05$, 见表3。

表1 OAS1基因等位基因和基因型在EV71手足口病患儿和健康儿童中的分布

OAS1	对照组(n=60)	观察组(n=86)	OR(95%CI)	纠正后OR(95%CI)
rs2660				
AA	31	48		
AG	25	31	0.80 (0.53-1.23)	0.76 (0.49-1.17)
GG	4	7	1.43 (0.63-3.27)	1.43 (0.62-3.29)
AG+GG	29	38	0.88 (0.58-1.31)	0.83 (0.55-1.25)
A	87	127		
G	33	45	0.99 (0.72-1.36)	0.97 (0.70-1.34)
rs1131454				
AA	18	24		
AG	30	44	1.12 (0.70-1.79)	1.12 (0.70-1.79)
GG	12	18	1.16 (0.65-2.07)	1.14 (0.64-2.05)
AG+GG	42	62	1.13 (0.73-1.77)	1.13 (0.72-1.76)
A	66	92		
G	54	80	1.08 (0.81-1.44)	1.08 (0.81-1.44)

表2 OAS1基因单核苷酸多态性与EV71手足口病严重程度的关系

OAS1	轻度组(n=34)	中枢神经系统受累组(n=52)	OR(95%CI)	纠正后OR(95%CI)
rs2660				
AA	19	28		
AG	9	22	1.56 (0.81-3.03)	2.27 (1.07-4.85)
GG	5	2	0.25 (0.08-0.85)	0.27 (0.08-0.97)
AG+GG			1.10 (0.60-2.00)	1.43 (0.74-2.77)
A	47	78		
G	19	26	0.79 (0.49-1.27)	0.90 (0.55-1.46)
rs1131454				
AA	9	15		
AG	16	28	0.96 (0.47-1.96)	1.01 (0.51-2.20)
GG	9	9	0.51 (0.21-1.20)	0.52 (0.22-1.26)
AG+GG			0.79 (0.40-1.55)	0.84 (0.43-1.67)
A	34	58		
G	34	46	0.73 (0.48-1.11)	0.76 (0.50-1.17)

表3 OAS1基因SNP与EV71中枢受累的关系

OAS1	对照组(n=60)	中枢神经系统受累组(n=52)	OR(95%CI)	纠正后OR(95%CI)
rs2660				
AA	32	28		
AG	25	22	1.06(0.66-1.72)	1.06(0.65-1.73)
GG	3	2	1.55(0.47-5.07)	1.38(0.75-2.54)
AG+GG			1.23(0.77-1.97)	1.23(0.76-1.98)
A	89	78		
G	31	26	1.12(0.76-1.63)	1.05(0.87-1.28)
rs1131454				
AA	18	15		
AG	30	28	0.90(0.53-1.55)	0.91(0.53-1.56)
GG	12	9	1.17(0.58-2.35)	1.08(0.76-1.54)
AG+GG			0.97(0.58-1.61)	0.96(0.57-1.61)
A	66	58		
G	54	46	1.05(0.75-1.47)	1.02(0.87-1.21)

3 讨论

手足口病是一种主要由EV71和柯萨奇病毒1615引起的急性传染病^[13]。因抗病毒免疫反应存在差异性, 使得EV71感染者预后也存在差异性, 但目前关于其作用机制尚不明确^[14]。OAS1是一种由于干扰素诱导的抗病毒蛋白, 也是细胞信号传导中的重要激酶之一^[15]。因OAS1基因SNP对其蛋白酶抗病毒活性具

有一定程度的影响, 多项研究证实OAS1基因与手足口病疾病进展有关^[16-17]。本次研究主要选取两个功能性OAS1基因(rs2660和rs1131454), 探讨其与EV71病毒感染之间的关系。研究称^[18], 不同基因型EV71感染者机体内血清白细胞、C反应蛋白、血糖水平等也存在显著差异。

(下转第 19 页)

现一系列症状,其中以肢体瘫痪最为常见,约占80%以上,对于此类病人,如果采用常规护理方法很难使其恢复至接近于正常人水平。早期进行正确科学的康复指导有助于提高神经功能缺损的恢复速度和效果。为了帮助患者获得日常生活能力的有效改善,减轻伤残程度,将康复医学理论应用于中风后遗症的康复过程,并结合现代医学手段为该类病人提供系统的全面的支持服务,从而改善他们的预后情况,促进其早日回归社会。康复介入治疗能够有效改善缺血性脑血管病所致的神经障碍状态,促使病情向愈^[12]。偏瘫后遗症导致患者的运动功能障碍,所以患者往往伴随无法生活自理的情况。总体而言,为促使患者能够重拾生活信心,早日康复,必须要从功能锻炼和日常生活能力锻炼抓起。

本研究结果显示,治疗前,两组无论是运动功能评分,还是日常生活能力评分,均差异较小($P>0.05$),而治疗14d与1个月后,观察组运动功能评分分别为(57.92±9.52)分和(82.55±12.15)分,以及日常生活能力评分分别为(60.92±3.20)分和(87.52±3.84)分,均相比于对照组的(43.88±7.23)分和(65.92±10.11)分,以及(43.88±3.11)分和(66.25±3.52)分显著更高($P<0.05$)。观察组治疗总满意度(96.00%)明显高于对照组(80.00%)($P<0.05$)。这说明康复介入治疗实际应用效果显著。另外,康复介入治疗还能够促进患者肌力水平的改善。但由于本次研究时间比较仓促,加上笔者的学术研究能力有限,所以文中难免存在一些不足之处,有待进一步的商榷,希望各位专家和学者能够积极指正。

综上所述,康复介入治疗不仅可以大幅度提升患者运动功能,也可以大幅度改善患者日常生活能力,从而可以在此基础上显著提升患者的临床治疗总体满意度,具有较高的临床推广和应用价值。

参考文献

- [1] 曹芳芳,张蕊,陈伟晴,等. VitalStim治疗仪联合吞咽康复训练早期介入对脑梗死后吞咽障碍恢复预后及日常自理能力的影响[J]. 贵州医药, 2021, 45(3): 409-410.
- [2] 王新伟,张虎,丁潇,等. “手足十二针”对脑梗死恢复期气虚血瘀证偏瘫患者生活质量的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2020, 15(9): 1684-1687.
- [3] 黄幼平,林吕,陈伟标,等. Nustep-T4运动训练配合常规康复治疗对脑梗死偏瘫病人生活质量及自理能力的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2020, 18(2): 325-327.
- [4] 丁绍梅,张卉,胡燕,等. 健肢主动运动对脑梗死介入术后患者跌倒恐惧和运动功能的影响[J]. 中国实用护理杂志, 2020, 36(5): 342-346.
- [5] 赵醇,刘莉,高润,等. 具身认知视角下运动想象疗法对初发脑梗死偏瘫患者上肢运动功能障碍的治疗效果[J]. 中国康复医学杂志, 2020, 35(9): 1049-1054.
- [6] 胡静,万柯希. 早期中医康复介入对脑出血患者功能及生活能力恢复的影响分析[J]. 反射疗法与康复医学, 2021, 2(8): 10-13.
- [7] 许为勇,乔红,陈艳,等. 醒脑活血汤治疗急性脑梗死后偏瘫临床疗效及对血液流变学和肢体功能恢复的影响[J]. 四川中医, 2022(7): 40.
- [8] 王雪. 焦点解决团体心理辅导对青年脑梗死患者社会功能、二级预防依从性影响[J]. 罕少疾病杂志, 2020, 27(4): 7-8, 39.
- [9] 谢小红,阳优,曹丽琼,等. 早期康复配合电针疗法对脑梗死急性期偏瘫患者运动功能、日常生活能力及认知功能的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2022, 17(4): 802-805.
- [10] 杨银涛,付磊,谭健伟. 疏辛酸联合甲钴胺治疗急性脑梗死疗效及对患者NHSS评分、氧化应激水平的影响[J]. 罕少疾病杂志, 2019, 26(2): 27-29.
- [11] 朱大敏,王应君,张京敏. 强化康复护理对脑梗死患者运动功能、日常生活能力及负性情绪的影响[J]. 贵州医药, 2020, 44(8): 1340-1342.
- [12] 徐冬,胡小波. 通窍活血汤联合康复训练对脑梗死后吞咽障碍患者神经功能及日常生活能力的影响[J]. 中国医师杂志, 2022, 24(1): 112-115.

(收稿日期: 2022-10-26)

(校对编辑: 谢诗婷)

(上接第 14 页)

本次研究结果发现, rs1131454的基因型或等位基因分布,在EV71感染儿童与健康对照儿童,或者中枢神经系统受累儿童与EV71轻度感染儿童之间比较,差异无统计学意义。另外本研究还发现,中枢神经系统受累儿童的OAS1 rs2660 AG基因型频率明显高于EV71轻度感染儿童, GG基因型频率低于EV71轻度感染儿童,此项研究结果说明OAS1基因多态性与对EV71的易感性没有明显相关性。一般情况下, rs2660 AA 基因型可促进疾病易感性,但GG基因型提供保护作用,分析其原因,可能由于AA基因型最低, AG基因型是中间型, GG基因型最高。并进一步说明rs2660 AG基因型可能不会增加EV71感染风险,但可能与感染后中枢神经受累增加存在关系。

综上所述, OAS1 基因rs2660 SNP 与 CNS 参与 EV71 感染易感性。即携带 OAS1 的儿童rs2660 AG基因型在EV71感染后更可能有CNS受累。但本次研究也存在一些局限性,本次研究并没有分析患者外周血或脑脊液中OAS1的水平,且所有样本来源比较单一,地理覆盖范围有限,尚不清楚 OAS1/rs1131454是否影响EV71 感染儿童中OAS1的表达。

参考文献

- [1] 罗文英,杨拉维,潘庆军,等. 肠道病毒71型能诱导THP-1巨噬细胞的自噬和凋亡[J]. 南方医科大学学报, 2020, 40(6): 828-836.
- [2] 陈瑞玲,许烨. 短视频联合情景模拟健康宣教对肠道病毒71型感染的手足口病患儿家属照护能力的影响[J]. 河南医学研究, 2022, 31(14): 2656-2659.
- [3] 张兴国,李晨光,张智丽,等. 吉林省长春市手足口病患者流行病学特征及肠道病毒71型VP1基因特征分析[J]. 吉林大学学报(医学版), 2022, 48(1): 234-240.
- [4] 李亚萍,瞿嵩,王文俊,等. OAS1基因多态性与儿童肠道病毒71型感染合并中枢神经系统受累相关[J]. 南方医科大学学报, 2019, 39(4): 381-386.

- [5] 苏凌旋,方磊,姚文武,等. 肠道病毒D68型和A71型感染及相关中枢神经系统性疾病[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2021, 35(3): 328-334.
- [6] 黎绍球,殷思纯. EV71感染手足口病患儿外周血STAT3、IL-22表达水平及临床意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2022, 29(6): 953-957.
- [7] 吴柳松,徐洪波,何英,等. OAS1基因SNP对儿童手足口病易感性和疾病严重性的影响及临床意义[J]. 遵义医科大学学报, 2021, 44(2): 194-200.
- [8] 骆亚丽,蔡艳艳,李伟,等. 苏州地区柯萨奇病毒A16手足口病流行病学、临床特征及OAS1基因多态性研究[J]. 临床儿科杂志, 2016, 34(6): 434-438.
- [9] 赵观. 利用HRM-PCR方法研究OAS1基因SNP与丙型肝炎易感性之间的相关性[D]. 辽宁: 中国医科大学, 2012.
- [10] 蒙明瑜,黄仁彬,梁红. 剑叶耳草多糖对乙型肝炎病毒的抑制作用及其机制研究[J]. 中药药理与临床, 2019, 35(4): 38-43.
- [11] 蔡艳艳. OAS1基因位点多态性与手足口病严重性及易感性的相关研究[D]. 江苏: 苏州大学, 2015.
- [12] 石立北,孙艺学,唐雨博,等. H9N2亚型流感病毒NS1蛋白位点突变对IFN-β及其诱导基因转录活性的影响[J]. 中国兽医学报, 2020, 40(5): 897-901, 915.
- [13] 邹容. IFNAR1基因SNP与EV71手足口病的易感性相关[D]. 湖南: 南华大学, 2016.
- [14] 朱苏月,沈勇,周永英,等. EV71型手足口病的肠道菌群结构特征分析[J]. 徐州医科大学学报, 2022, 42(5): 353-357.
- [15] 张云鹏,张琪,刘庆雨,等. 松辽黑猪OAS1基因多态性及其性状关联分析[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(8): 2910-2919.
- [16] 刘叶丹. OAS3 S381R位点基因多态性与儿童肠道病毒71型感染的相关性研究[D]. 山东: 青岛大学, 2018.
- [17] 黄明元,林锦玲,范颖,等. 肠道病毒71型感染相关遗传易感基因研究现状[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2017, 9(3): 201-205.
- [18] 张艳,厉青,黄丽. 硫酸镁对EV71感染所致重症手足口病患儿炎症反应的影响及脑保护作用研究[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(15): 2825-2828.

(收稿日期: 2022-10-17)

(校对编辑: 谢诗婷)