文章编号:1000-5404(2012)22-2321-05

论著

人β防御素-1及Toll样受体基因多态性与慢性宫颈炎的相关性研究

张 霓,潘小玲,黄礼燕,蒲 爽,赖曾珍,宋 亮 (610041 成都,四川大学华西第二医院妇产科)

[摘要] **目的** 探讨β防御素-1(β-defensin-1,HBD-1)和Toll样受体基因多态性与慢性宫颈炎关系。**方法** 选取四川大学华西第二医院慢性宫颈炎患者150例作为病例组,100例健康个体作为对照组,提取宫颈上皮细胞DNA,聚合酶链反应-限制性内切酶片断长度多态性(PCR-RFLP)法检测单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism,SNP)。**结果** 慢性宫颈炎组HBD-1外显子-44C/G的CG基因型及G等位基因频率均高于对照组($P<0.05$);HBD-外显子-52G/A、-20G/A的基因型和等位基因频率两组比较差异无统计学意义($P>0.05$);TLR2 Arg753Gln基因多态性在慢性宫颈炎组和对照组的表达差异无统计学意义($P>0.05$);TLR4 Asp299Gly、TLR4 Thr399Ile在研究人群中没有发现多态性表达。**结论** HBD-1 -44C/G位点可能是中国汉族人群慢性宫颈炎的易感位点,携带C/G基因型、等位基因G过多分布的女性可能是慢性宫颈炎的易感人群,HBD-1 -52 G/A、HBD-1 -20G/A、TLR2 Arg753Gln、TLR4 Asp299Gly、TLR4 Thr399Ile基因多态性与慢性宫颈炎无相关性。

[关键词] 慢性宫颈炎;基因多态性;人β防御素-1;Toll样受体
[中图法分类号] R195.4;R394.5;R711.32 [文献标志码] A

Correlation of polymorphism of human β-defensin-1 and toll-like receptor with chronic cervicitis

Zhang Ni, Pan Xiaoling, Huang Liyan, Pu Shuang, Lai Zengzhen, Song Liang (Department of Gynecology and obstetrics, West China Second Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan Province, 610041, China)

[**Abstract**] Objective To investigate the relationship between chronic cervicitis and gene polymorphism of human β-defensin-1 (HBD-1) and toll-like receptor (TLR). Methods Cervical epithelial cells were collected from 150 outpatients with chronic cervicitis (chronic cervicitis group) and 100 normal women (control group) in West China Second Hospital of Sichuan University. After DNA extraction from cervical epithelial cells, single nucleotide polymorphism (SNP) was detected by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Results Both the frequencies of CG genotype and G allele in HBD-1 exon -44C/G were higher in the chronic cervicitis group than in the normal group ($P<0.05$), while the genotypes and allele frequencies in the exons of HBD-1 -52 G/A and -20G/A showed no significant difference between the two groups ($P>0.05$). The gene polymorphism of TLR2 Arg753Gln, TLR4 Asp299Gly and TLR4 Thr399Ile showed no significant difference between the two groups ($P>0.05$). Conclusion Chronic cervicitis is associated with high frequencies of G allele and C/G genotype in -44C/G of β-defensin-1 rather than the gene polymorphism of HBD-1 -52G/A, HBD-1 -20G/A, TLR2 Arg753Gln, TLR4 Asp299Gly and TLR4 Thr399Ile.

[**Key words**] chronic cervicitis; gene polymorphism; human β-defensin-1; toll-like receptor

Supported by the Project of Scientific Research of Sichuan Health Department (110438). Corresponding author Pan Xiaoling, E-mail: panxiaolll@yahoo.com.cn

慢性宫颈炎是一种常见的生殖道感染,也是妇科最常见的疾病之一。60%~80%的生育期妇女曾患过此病[1],严重影响患者的生活质量,且与宫颈癌的发生有密切关系[2-3]。慢性宫颈炎是一种慢性感染性疾病,多由急性宫颈炎转化而来,研究证实慢性宫颈炎的发病与多种病原体感染密切相关。人β-防御素(human β-Defensin, HBD)是一种重要的抗菌肽分子,具有重要的抗感染功能,广泛存在于皮肤和黏膜上皮组织中。β-防御素对多种细菌、真菌和病毒具有抑制作用,其功能的失活与病源微生物定植、集落于皮肤和黏膜上皮而导致严重的感染关系密切。目前发现的β防御素有6种。研究[4-7]发现HBD-1基因多态性与多种呼吸系统、消化系统、皮肤黏膜的感染性疾病和少部分泌尿系统肿瘤密切相关。Wallace等[8]应用原位杂交技术发现女性阴道、宫颈、子宫内膜和输卵管上皮组织中均有HBD-1 mRNA表达。但目前尚缺乏HBD-1基因多态性与慢性宫颈炎的相关性研究。Toll样受体

[基金项目] 四川卫生厅科研课题(110438)
[通信作者] 潘小玲,E-mail:panxiaolll@yahoo.com.cn

(toll like receptor,TLR)能够识别多种外源性和内源性病原体,在机体抗感染的过程中发挥了重要的屏障作用。Toll样受体广泛分布于女性生殖道,其中宫颈上皮中以TLR2和TLR4表达为多。本研究旨在了解HBD-1及Toll样受体基因多态性与慢性宫颈炎发病风险的相关性,选用HBD-1常见SNP位点(-52G/A、-44C/G、-20G/A)以及TLR2 Arg753Gln和TLR4 Asp299Gly/Thr399Ile作为遗传标记进行研究,以确定其基因多态性与慢性宫颈炎的关系,为探讨慢性宫颈炎的遗传易感性提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 标本获取

2011年3-6月于四川大学华西第二医院妇科门诊的慢性宫颈炎患者150例和同期正常妇女100例(对照组),年龄20~50岁,汉族,所有对象无血缘关系、未行宫颈治疗、无肿瘤病史。所有研究对象签署知情同意书。本试验已获四川大学华西第二医院伦理委员会审批通过。2组临床资料见表1。

表1 2组研究对象临床资料比较

组别	n	年龄(岁)	HPV感染(%)	合并其他妇科疾病(%)
慢性宫颈炎组	150	35±9	34.4	10.2
对照组	100	34±11	15.7	9.6
P		>0.05	<0.05	>0.05

窥阴器扩开阴道暴露宫颈,用无菌棉签沾生理盐水擦拭宫颈表面,用2根棉拭子于宫颈管内1 cm处旋转7~8圈取宫颈的单层柱状上皮细胞,放入容器内,编号,登记,风干,-20 ℃保存。

1.2 实验方法

Chelex-100法提取标本DNA。

PCR基本体系(μl):ddH_2O 14.4, dNTP 3.0, Buffer 2.5, 上游引物0.2, 下游引物0.2, Mg^{2+} 1.5, *Taq*酶0.2, 模板DNA 3.0;反应条件:95 ℃预变性4 min→[95 ℃ 30 s→65 ℃ 30 s→72 ℃ 30 s]×33个循环→72 ℃延伸10 min。

限制性内切酶反反应体系(μl):Buffer 1.0, ddH_2O 7.7, 酶0.3, DNA 1.0;放入37 ℃温水浴孵育过夜(12~16 h)。

非变性聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳,设置阴性对照和DNA Marker阳性对照,银染法显色,凝胶成像仪拍照。

β防御素位于8号染色体短臂上,8P21-23.1。在β防御素基因序列选取位于外显子1的可引起编码氨基酸改变的多态性基因座3个,利用Primer Premier 5.0软件设计特异性引物。TLR采用错配引物,利用突变型基因设计错配引物,使基因突变后可引入酶切位点(TLR2 Arg753Gln位点是在突变前引入酶切位点),通过凝胶电泳区分野生型基因和突变型基因。见表2。

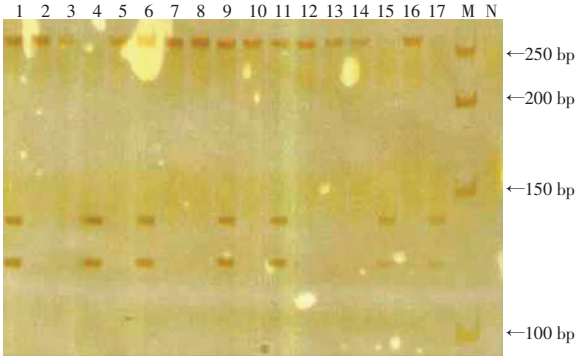
1.3 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件,基因型和等位基因频率采用基因直接计数法,各组间基因型及等位基因频率比较采用单因素方差分析,两组间比较采用χ^2检验。

2 结果

2.1 HBD-1基因-44C/G位点分型结果

PCR产物酶切后电泳图谱见图1。基因型及等位基因频率见表3。慢性宫颈炎组CG基因型频率明显高于对照组(P=0.015)、G等位基因频率明显高于对照组(P=0.006),提示CG基因型和G等位基因可能为慢性宫颈炎的危险因素。



M:DNA标准;N:对照组;1、6、9、11:突变杂合子;2、3、5、7、8、10、12、13、14、16:野生型;4、15、17:突变纯合子

图1 2组HBD-1(-44C/G) PCR产物酶切后电泳结果

HBD-1(-44C/G)位点基因多态性与宫颈糜烂分度无相关性(表4)。

表2 PCR引物及酶切

位点	引物	内切酶	酶切位点	片段大小
HBD-1 -52 G/A	上游:5′-GTGGCACCTCCCTTCAGTTCCG-3′ 下游:5′-CAGCCCTGGGGATGGGAAACTC-3′	BspLI	5′...GGN↓NCC...3′	GG: 123 bp,103 bp, 30 bp,5 bp AA: 226 bp, 30 bp,5 bp GA: 226 bp,123 bp,103 bp,30 bp, 5 bp
HBD-1 -44C/G	上游:5′-GTGGCACCTCCCTTCAGTTCCG-3′ 下游:5′-CAGCCCTGGGGATGGGAAACTC-3′	Alw26I	5′...GTCTC(N)$_{1}$↓...3′	CC: 261 bp GG:141 bp,120 bp CG: 261 bp,141 bp,120 bp
HBD-1 -20G/A	上游:5′-GTGGCACCTCCCTTCAGTTCCG-3′ 下游:5′-CAGCCCTGGGGATGGGAAACTC-3′	Bme1390I	5′...CC↓NGG...3′	GG: 136 bp,118 bp,7 bp AA: 254 bp,7 bp AG: 254 bp,136 bp,118 bp,7 bp
TLR2 Arg753Gln	上游:5′-CATTCCCCAGCGCTTCTGCAAGCTCC-3′ 下游:5′-GGAACCTAGGACTTTATCGCAGCTC-3′	*Msp* I	5′...C↓CGG... 3′	GG:104 bp,25 bp AA:129 bp GA:129 bp,104 bp,25 bp
TLR4 Asp299Gly	上游:5′-GATTAGCATACTTAGACTACTACCTCCATG-3′ 下游:5′-GAGAGATTTGAGTTTCAATGTGGG-3′	*Nco* I	5′...C↓CATGG...3′	AA:194 bp GG:168 bp,26 bp AG:194 bp,168 bp,26 bp
TLR4 Thr399Ile	上游:5′-GGTTGCTGTTCTCAAAGTGATTTTGGGAGAA-3′ 下游:5′-GGAAATCCAGATGTTCTAGTTGTTCTAAGCC-3′	*Hinf* I	5′...G↓ANTC...3′	CC:124 bp TT: 98 bp,26 bp CT:124 bp,98 bp,26 bp

表 3　2 组 HBD-1(－44C/G)基因型和等位基因频率比较

基因型和等位基因		组别[例(%)] 宫颈炎组	对照组	χ^2	P	OR (95%CI)
基因型	CC	86(57.3)	74(74.0)	7.235[a]	0.027[a]	-
	CG	49(32.7)	20(20.0)		0.015[b]	2.108(1.150～3.864)
	GG	15(10.0)	6(6.0)		0.125[cd]	2.151(0.794～5.827)
等位基因	C	221(73.7)	168(84.0)	7.419[d]	0.006[d]	1.877(1.188～2.964)
	G	79(26.3)	32(16.0)			

a:各组基因型比较;b:基因型 CG 与 CC 比较;c:基因型 GG 与 CC 比较;d:等位基因 G 与 C 比较

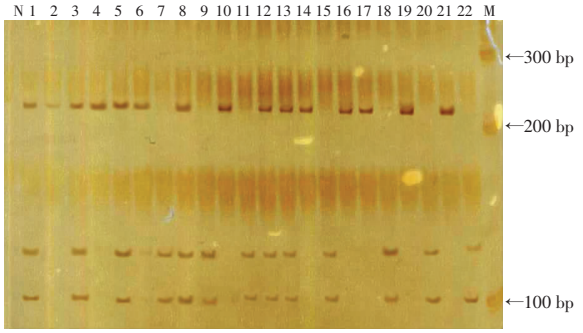
表 4　HBD-1(-44C/G)多态性与宫颈糜烂分度的关系(例)

宫颈糜烂分度	CC	CC /CG	合计	P
轻度	24	19	43	>0.05
中度	44	35	79	
重度	7	6	13	

CC:野生型代表基因型;GG:变异型代表基因型(纯合子突变);CG:杂合子突变

2.2　HBD-1 基因－52G/A 位点分型结果

PCR 产物酶切后电泳图谱见图 2。基因型及等位基因频率(表 5):慢性宫颈炎和对照组－52G/A 3 个基因型(GG、AA、GA)中,均以 GA 基因型出现频率最高,而 AA 基因型出现频率最低,慢性宫颈炎和对照组－52G/A 均以 G 等位基因频率最高,但差异均无统计学意义($P>0.05$),提示－52G/A 多态性与慢性宫颈炎的遗传易感性无相关性。



M:DNA 标准;N:对照组;1、3、5、8、12、13:突变杂合子;2、4、6、10、14、16、17、19、21:突变纯合子;7、9、11、18、20、22:野生型

图 2　2 组 HBD-1(－52 G/A) PCR 产物酶切后电泳结果

表 5　2 组 HBD-1(－52 G/A)基因型和等位基因频率比较

基因型和等位基因		组别[例(%)] 宫颈炎组	对照组	χ^2	P	OR (95%CI)
基因型	GG	59(39.3)	37(37.0)	0.139[a]	0.933[a]	-
	GA	71(49.3)	49(49.0)		0.732[b]	0.909 (0.525～1.573)
	AA	20(13.3)	14(14.0)		0.787[c]	0.896 (0.404～1.988)
等位基因	G	189(63.0)	123(61.5)	0.115[d]	0.734[d]	0.938 (0.649～1.357)
	A	111(37.0)	77(38.5)			

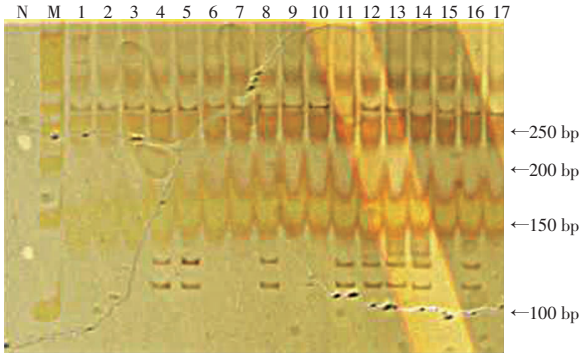
a:各组基因型比较;b:基因型 GA 与 GG 比较;c:基因型 AA 与 GG 比较;d:等位基因 A 与 G 比较

2.3　HBD-1 基因-20G/A 位点分型结果

PCR 产物酶切后电泳图谱见图 3。基因型及等位基因频率(表 6):慢性宫颈炎和对照组 HBD-1(－20G/A)位点均以 GA 基因型频率最高、GG 基因型频率最低、A 等位基因频率最高,但差异无统计学意义($P>0.05$),提示－20G/A 位点多态性与慢性宫颈炎的遗传易感性无相关性。

2.4　TLR2 Arg753Gln 位点分型结果

PCR 产物酶切后电泳图谱(图 4):宫颈炎组野生型占 93.33%、突变型仅占 6.67%,对照组野生型占 98.00%、突变型占 2.00%。



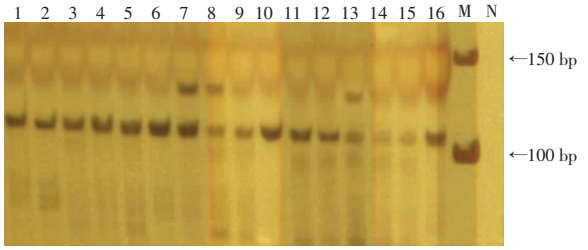
M:为 DNA 标准;N:对照组;1～3、6、7、9、10、15、17:突变纯合子;4、5、8、11～13、16:突变杂合子;14:野生型

图 3　2 组 HBD-1(-20G/A) PCR 产物酶切后电泳结果

表 6　2 组 HBD-1(-20G/A)基因型和等位基因频率比较

基因型和等位基因		组别[例(%)] 宫颈炎组	对照组	χ^2	P	OR (95%CI)
基因型	GG	20(13.3)	16(16.0)	0.566[a]	0.461[a]	
	GA	81(58.0)	55(55.0)		0.638[b]	0.87, (0.492～1.546)
	AA	49(32.7)	29(29.0)		0.754[c]	0.74, (0.332～1.650)
等位基因	G	121(40.3)	87(43.5)	0.495[d]	0.482[d]	0.87, (0.611～1.262)
	A	179(59.7)	113(56.5)			

a:各组基因型比较;b:基因型 GA 与 GG 比较;c:基因型 AA 与 GG 比较;d:等位基因 G 与 A 比较



M:DNA 标准;N:对照组;1～6,9,10～12,14～16:野生型;7、8、13:突变型

图 4　2 组 TLR2 Arg753Gln PCR 产物酶切后电泳结果

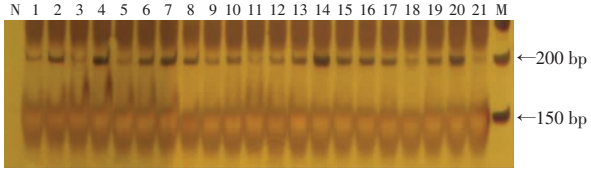
宫颈炎组 TLR2 Arg753Gln 基因突变率大于对照组(6.67% *vs* 2.00%),但差异无统计学意义($P>0.05$),提示 TLR2Arg753Gln 基因多态性与慢性宫颈炎无相关性(表 7)。

表 7　2 组 TLR2 Arg753Gln 基因型比较

组别	野生型(例)	突变型(例)	合计(例)	突变率(%)	P 值
宫颈炎组	140	10	150	6.67%	>0.05
对照组	98	2	100	2.00%	
合计	238	12	250	4.80%	-

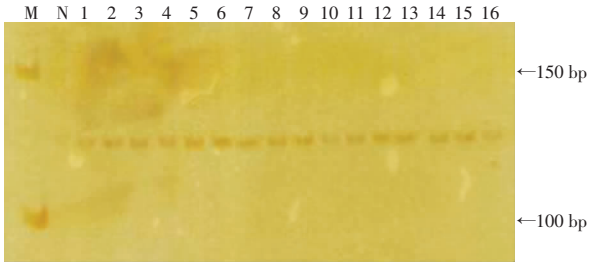
2.5　TLR4 Asp299Gly/Thr399Ile 的分型结果

PCR 产物酶切后电泳图谱(图 5、6):宫颈炎组和对照组均只出现野生型条带,未发现 TLR4 Thr399Ile 基因多态性表达。



M:DNA 标准;N:对照组;1～15:宫颈炎组;16～21:对照组

图 5　2 组 TLR4 Asp299Gly PCR 产物酶切后电泳结果



M:DNA 标准;N:对照组; 1~10:宫颈炎组;11~16:对照组

图6 2组 TLR4 Thr399Ile PCR 产物酶切后电泳结果

3 讨论

作为天然免疫的重要组成之一,防御素在感染性疾病中的作用已有大量的研究,它是一类富含半胱氨酸的小分子阳离子多肽,表现出广谱的抗菌效能,对革兰阳性菌和革兰阴性菌、真菌以及病毒都有抑制作用[9-10]。HBD-1 是最早发现的β防御素,抗菌机制与其他阳离子抗菌多肽相似,主要通过形成微生物细胞膜通道和电荷吸附作用灭活微生物,研究[11-12]表明 HBD-1 在血液、肾脏、阴道、乳腺上皮细胞、唾液腺导管、胰腺腺泡等上皮细胞及齿龈、腮腺、口腔黏膜和舌中都有表达。

在 HBD-1 基因多态性与疾病相关性研究中,-52G/A、-44C/G、-20G/A 是报道最多的3个位点。-44C/G 的上下游基因序列分别比邻 CCAAT/增强子结合蛋白 B 同质的基序(motif)和 NF-κB 结合位点[13],前者被认为是急相蛋白 IL-6、IL-8、IL-12 和一氧化氮酶基因的功能调节区,而 NF-κB 则是可诱导性防御素的诱导因子结合区,因此 -44C/G 可能影响 HBD-1 基因的转录。SNP -20G/A 的位置处于 NF-κB 的结合区域,以往研究[8]认为 HBD-1 是组成型表达的,而 Fang 等[13]的研究提示脂多糖和热灭活绿脓杆菌能诱导人外周血细胞 HBD-1 的表达,Zhu 等[12]发现灭活结核杆菌(BCG)可诱导离体肺上皮 SPC-A-1 细胞株 HBD1 mRNA 的转录,故-20G/A 可能对基因转录产生影响。Wallace[8]研究中国汉族人群后表明,668G/C(-44C/G)与 COPD 易感性有关,而且,668G 等位基因代表了相对低的 COPD 易感性;而在日本人群中做的研究提示 44/668(C→G)与 COPD 的易感性无关系,同样高加索吸烟人群中的肺功能损伤与其相关性研究亦得到阴性结果[6,8,14];Leung 等[15]采用 RFLP,免疫测定 HBD-1 5′未翻译区3个 SNP 与中国儿童哮喘表型之间的关系,结果发现携带 -20A、-52G 的患儿特应性及血清总 IgE 高于其他患儿; Kocsis 等[5]发现 HBD-1 的 G-20A、C-44G 分别与克罗恩病定位在结肠、回结肠显著有关。定位在结肠的克罗恩病患者显示出高频率的 GA(G-20A)单体型,而作为保护单体型的 GG(C-44G)在对照组中的频率明显低于病例组。2003 年 Jurevic 等[16]分析了糖尿病患者口腔念珠菌携带与 SNP 的关系,发现5′非翻译区的 C-44G 与口腔念珠菌的携带有明显的关联。在意大利和巴西东北人群中的两项研究均提示 SNP(C-44G),等位基因 G 较之 C 对儿童感染 HIV 有更强的保护力[17-18]。

另有研究[19]表明,被认为控制着天然免疫向获得性免疫转变的 Toll 样受体(TLR)也广泛分布于女性生殖道,而宫颈上皮中以 TLR2 和 TLR4 表达为多。TLR 的多态性可能与慢性宫颈炎发病相关。目前在人类已发现 TLR 家族存在 11 个成员[20],其中 TLR4 主要识别革兰阴性细菌的细胞壁成分脂多糖(LPS),是近年来发现的 LPS 的最重要的模式识别受体,它是将 LPS 的刺激信号直接传入细胞内的一种跨膜信号受体,在介导革兰阴性细菌及其 LPS 的宿主反应中发挥重要作用[21]。TLR2 作为细胞表面的天然受体蛋白,参与病原微生物的识别及炎症信号转导,介导天然抗感染免疫。Schroder 等[21]研究表明,TLR2 基因多态性是增加对感染性疾病易感性的危险因素之一,其中 TLR2 1个位于保守 C 端的 SNP 位点,Arg753Gln(G2408A,SNP ID: rs573708)可降低巨噬细胞对细菌多肽的反应能力。因此,不同的 TLR2 基因型有可能影响不同个体的 TLR2 表达水平和功能差异,进而影响到宿主免疫反应性的下降。最近研究[22]表明:TLR4 第4外显子的错义突变 TLR4(A896G),导致氨基酸的替换(天冬氨酸替换为甘氨酸),影响天然免疫系统识别入侵微生物的功能,Beutler 等[23]研究发现人 TLR4 基因 Asp299Gly 和 Thr399Ile 多态性与吸入 LPS 后低应答相关,在这些人中,上皮细胞对 LPS 的刺激免疫应答能力减弱。进一步研究发现 Asp299Gl y 和 Thr399Ile 更能影响 TLR4 的功能。

HBD-1 和 TLR 多态性在妇科炎症方面的研究报道较少,故本研究选取了 HBD-1 研究最多的3个 SNP 位点(-52 G/A、-44C/G、-20G/A)和 Toll 样受体中研究最多的3个 SNP 位点[TLR2 Arg753Gln (G2408A)、TLR4 Thr399Ile、TLR4 Asp299gly],从 HBD-1、TLR2 和 TLR4 的单核苷酸多态性与慢性宫颈炎症发病的相关性方面探讨慢性宫颈炎症的遗传易感性。

本研究结果发现 HBD-1(-44C/G)中 CG 基因型在慢性宫颈炎组出现49例,频率为32.7%,远高于正常组的20.0%($P<0.05$),说明 HBD-1 -44C/G 基因型的构成在两组间存在差异,CG 基因型可能在基因水平上与慢性宫颈炎的发生、发展相关;HBD-1 -44C/G

等位基因G在慢性宫颈炎组中频率为26.2%,而在对照组中仅为16.0%,$P<0.05$,说明G等位基因频率在两组中有差异,提示HBD-1 -44C/G的G等位基因可能在慢性宫颈炎的发生、发展中起到一定的作用。

本研究中没有发现HBD-1基因-52G/A、-20G/A两位点的基因型和等位基因频率与慢性宫颈炎遗传易感性相关。分析原因,有两种可能性:一是样本量不足,影响结果的统计学分析;二是-52G/A、-20G/A位点基因多态性与慢性宫颈炎的遗传易感性的确无关。

TLR2 Arg753Gln在150例病例组中发现有10例基因型为G/A,占6.67%,剩余的140例基因型为A/A型,在100例对照组中,G/A基因型2例,占2%,剩余的98例为A/A型,此位点变异在病例组中的发生几率(6.67%)大于对照组(2%),但是经统计学处理,差异不具有统计学意义($P>0.05$)。

TLR4 Asp299gly在150例病例组和100例对照组中均只有A/A 1种基因型;TLR4 Thr399Ile在150例病例组和100例对照组中也均只有C/C 1种基因型。说明TLR4基因多态性与慢性宫颈炎没有关系。

本研究结果提示:在中国成都汉族女性人群中,HBD-1基因-44C/G位点基因型和C/G等位基因分布与慢性宫颈炎的发病相关联,等位基因G过多分布,提示-44C/G位点可能是慢性宫颈炎的易感位点,携带C/G基因型的女性可能是慢性宫颈炎的易感人群;HBD-1基因-20G/A、-52G/A位点的基因型和等位基因频率与慢性宫颈炎的发病无关联;TLR4 Thr399Ile和TLR4 Asp299gly在中国成都汉族女性中可能没有基因多态性表达,TLR2 Arg753Gln基因多态性与慢性宫颈炎的遗传易感性可能无关。进一步阐明HBD-1及TLR2、TLR4基因多态性在慢性宫颈炎的病因中所扮演的角色,需要更大的样本量以及相关的家系调查者进行群体遗传学分析,为慢性宫颈炎的基因水平的预防及诊治提供新的思路。

参考文献:

[1] 狄文, 戴岚. 慢性宫颈炎的最新诊治策略[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2008, 24(1): 6-8.

[2] 石一复, 李娟清. 宫颈炎症的诊治和随访[J]. 中国计划生育学杂志, 2005, 13(8): 507-509.

[3] 郝敏, 王静芳. 宫颈癌流行病学研究与调查[J]. 国外医学: 妇幼保健分册, 2005, 16(6): 404-406.

[4] Valore E V, Park C H, Quayle A J, *et al*. Human beta-defensin-1: an antimicrobial peptide of urogenital tissues[J]. J Clin Invest, 1998, 101(8): 1633-1642.

[5] Kocsis A K, Lakatos PL, Somogyvari F, *et al*. Association of beta-defensin 1 single nucleotide polymorphisms with Crohn´s disease[J]. Scand J Gastroenterol, 2008, 43(3): 299-307.

[6] Hu R C, Xu Y J, Zhang Z X, *et al*. Correlation of HDEFB1 polymorphism and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease in Chinese Han population[J]. Chin Med J (Engl), 2004, 117(11): 1637-1641.

[7] Hoffmann J A, Kafatos F C, Janeway C A, *et al*. Phylogenetic perspectives in innate immunity[J]. Science, 1999, 284(5418): 1313-1318.

[8] Wallace A M, He J Q, Burkett K M, *et al*. Contribution of alpha- and beta-defensins to lung function decline and infection in smokers: an association study[J]. Respir Res, 2006, 7: 76.

[9] Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity[J]. Nat Rev Immunol, 2003, 3(9): 710-720.

[10] Dale B A. Fascination with epithelia: architecture, proteins, and functions[J]. J Dent Res, 2003, 82(11): 866-869.

[11] 石卓, 舒强, 方向明. β防御素在机体免疫应答中的作用[J]. 国外医学: 免疫学分册, 2004, 27(5): 256-259.

[12] Zhu B D, Feng Y, Huang N, *et al*. Mycobacterium bovis bacille Calmette-Guerin (BCG) enhances human beta-defensin-1 gene transcription in human pulmonary gland epithelial cells[J]. Acta Pharmacol Sin, 2003, 24(9): 907-912.

[13] Fang X M, Shu Q, Chen Q X, *et al*. Differential expression of alpha- and beta-defensins in human peripheral blood[J]. Eur J Clin Invest, 2003, 32(1): 82-87.

[14] Matsushita I, Hasegawa K, Nakata K, *et al*. Genetic variants of human beta-defensin-1 and chronic obstructive pulmonary disease[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002, 291(1): 17-22.

[15] Leung T F, Li C Y, Liu E K, *et al*. Asthma and atopy are associated with DEFB1 polymorphisms in Chinese children[J]. Genes Immun, 2006, 7(1): 59-64.

[16] Jurevic R J, Bai M, Chadwick R B, *et al*. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in human beta-defensin 1: High-throughput SNP assays and association with candida carriage in type I diabetics and nondiabetic controls[J]. J Clin Microbiol, 2003, 41(1): 90-96.

[17] Braida L, Boniotto M, Pontillo A, *et al*. A single-nucleotide polymorphism in the human beta-defensin 1 gene is associated with HIV-1 infection in Italian children[J]. AIDS, 2004, 18(11): 1598-1600.

[18] Milanese M, Segat L, Pontillo A, *et al*. DEFB1 gene polymorphisms and increased risk of HIV-1 infection in Brazilian children[J]. AIDS, 2006, 20(12): 1673-1675.

[19] Means T K, Golenbock D T, Fenton M J. The biology of Toll-like receptors[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2000, 11(3): 219-232.

[20] Smirnova I, Hamblin M T, McBride C, *et al*. Excess of rare amino acid polymorphisms in the Toll-like receptor 4 in humans[J]. Genetics, 2001, 158(4): 1657-1664.

[21] Schroder N W, Hermann C, Hamann L, *et al*. High frequency of polymorphism Arg753Gln of the Toll-like receptor-2 gene detected by a novel allele-specific PCR[J]. J Mol Med, 2003, 81(6): 368-372.

[22] Andonegui G, Bonder C S, Green F, *et al*. Endothelium-derived Toll-like receptor-4 is the key molecule in LPS-induced neutrophil sequestration into lungs[J]. J Clin Invest, 2003, 111(7): 1011-1020.

[23] Beutler B. TLR4: central component of the sole mammalian LPS sensor[J]. Curr Opin Immun, 2000, 12(1): 20-26.

(**收稿**:2012-05-02;**修回**:2012-07-16)

(编辑 吴培红)