

• 循证医学 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.09.025

乳铁蛋白基因 rs1126478 多态性与龋病易感性的 Meta 分析

周政¹, 刘高成², 杨泽辉², 李琦¹, 徐江^{1△}

(1. 石河子大学医学院第一附属医院口腔科, 新疆石河子 832000;

2. 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐口腔医院修复科, 新疆乌鲁木齐 830002)

[摘要] **目的** 系统评价乳铁蛋白(LTF)基因 rs1126478 多态性与龋病易感性的关系。**方法** 计算机检索 Pubmed, Web of science, Embase, EBSCO, Springerlink, 中国知网(CNKI), 维普(VIP), 万方及中国生物医学文献数据库(CBM), 收集发表的有关 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病发病风险的文献, 以 OR 及其 95% CI 为效应指标, 运用 RevMan 5.2 及 Stata 12.0 软件进行统计学分析, 并进行偏倚评估及敏感性分析。**结果** 共纳入 5 个病例对照研究, 累积病例 720 例, 对照 412 例, Meta 分析结果显示, 4 种模型中 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病发病风险相关性无统计学意义(GG+AG vs. AA; $P=0.75$, $OR=0.93$, $95\%CI=0.59\sim 1.46$; G vs. A; $P=0.88$, $OR=0.97$, $95\%CI=0.68\sim 1.38$; GG vs. AA; $P=0.84$, $OR=1.07$, $95\%CI=0.57\sim 1.99$; GG vs. AG+AA; $P=0.52$, $OR=1.12$, $95\%CI=0.79\sim 1.58$), 按人种进行亚组分析结果显示, 在 Caucasian 及 Asian 人群中 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病发病风险相关性亦无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 乳铁蛋白基因 rs1126478 多态性可能与龋病易感性无关。

[关键词] 龋病; 乳铁蛋白; 基因多态性; Meta 分析

[中图分类号] R781.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)09-1236-04

Meta-analysis on association between lactotransferrin gene rs1126478 polymorphism and caries susceptibility

Zhou Zheng¹, Liu Gaocheng², Yang Zehui², Li Qi¹, Xu Jiang^{1△}

(1. Department of Stomatology, First Affiliated Hospital, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi,

Xinjiang 832000, China; 2. Department of Prosthodontics, Urumqi Stomatological Hospital, Urumqi, Xinjiang 830002, China)

[Abstract] **Objective** To systematically evaluate the association between lactotransferrin(LTF) gene rs1126478 polymorphism and caries susceptibility. **Methods** The published literatures on the association between LTF gene rs1126478 polymorphism and caries susceptibility were retrieved from the electronic databases of Pubmed, Web of science, Embase, EBSCO, Springerlink, CNKI, VIP, Wanfang and CBM by computer. The pooled odds ratios (ORs) and its 95% confidence intervals (95% CIs) were used as the effect indicators. The statistical analysis was performed by using the RevMan 5.2 and Stata 12.0 softwares. The bias evaluation and sensitivity analysis were also performed. **Results** A total of 5 case-control studies involving 720 cases and 412 controls were included. The meta analysis results showed that no statistical significance in the association between LTF gene rs1126478 polymorphism and caries susceptibility was revealed in all four genetic models (GG+AG vs. AA; $P=0.75$, $OR=0.93$, $95\%CI=0.59\sim 1.46$; G vs. A; $P=0.88$, $OR=0.97$, $95\%CI=0.68\sim 1.38$; GG vs. AA; $P=0.84$, $OR=1.07$, $95\%CI=0.57\sim 1.99$; GG vs. AG+AA; $P=0.52$, $OR=1.12$, $95\%CI=0.79\sim 1.58$). Similarly, the subgroup analysis by ethnicity showed no statistical significance in the onset risk between Caucasian and Asian populations as well (both $P>0.05$). **Conclusion** The LTF gene rs1126478 polymorphism may have no relation with the susceptibility to caries.

[Key words] caries; lactotransferrin; polymorphism; Meta-analysis

龋病是一种世界范围内广泛发生的常见口腔慢性疾病, 已被世界卫生组织列为严重影响人类健康的第三大非传染性疾病^[1]。龋病发病机制复杂, 目前学者普遍认为其是一种以细菌为主, 并与宿主、食物及时间四联因素相互作用而导致的一种感染性疾病^[2]。近年来研究表明, 除了已被证实的口腔菌群和饮食习惯外, 宿主的基因遗传因素在龋病的发生和进展中也发挥了重要作用, 并与易感基因的多态性密切相关, 其中乳铁蛋白(lactotransferrin, LTF)基因多态性与龋病易感性的关系日益受到重视^[3]。LTF 是哺乳动物体内的一种多功能铁结合糖蛋白, 主要由嗜酸性中性粒细胞分泌, 广泛存在于各种生物体液中(如唾液、乳液、泪液等), 是人体内重要的非血红素铁结合蛋白, 与龋病的发生发展密切相关^[4-5]。研究发现, LTF 具有抗感染及免疫调节的作用, 可通过降低口腔内铁浓度, 抑制细菌间黏附和菌斑生物膜形成, 从而抑制细菌生长并降低细菌毒

力, 防止龋病的发生^[6-7]。目前国内外已有多篇文献报道了 LTF 基因 rs1126478 多态性(A>G)与龋病发病风险的相关性, 然而其研究结果并不一致^[8-10]。为此, 本研究采用 Meta 分析方法综合评价相关研究, 以期明确 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病发病风险的关联。

1 资料与方法

1.1 文献检索 系统全面检索 Pubmed, Web of science, Embase, EBSCO, Springerlink, 中国知网(CNKI), 维普(VIP), 万方及中国生物医学文献数据库(CBM), 收集发表的有关 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病发病风险的文献, 包括学位论文。中文检索策略:(龋病)AND(乳铁蛋白 OR LF OR LTF)AND(多态性 OR SNP OR 基因多态性); 英文检索策略:(caries)AND(Lactotransferrin OR Lactoferrin OR LTF OR LF)AND(polymorphism OR SNP OR variant)。文种限中、

表 1 纳入研究的基本特征

| 纳入研究 | 时间 | 国家 | 人种 | 基因型 检测方法 | 病例组 | | | 对照组 | | | HWE 检验 P | 文献质量 评价 | | |
|-------------------------|------|----|-----------|-------------|-----|----|-----|-----|-----|----|-------------|------------|------|----|
| | | | | | n | GG | AG | AA | n | GG | | | AG | AA |
| Azevedo ^[10] | 2010 | 巴西 | Caucasian | PCR-SSCP | 62 | 16 | 30 | 16 | 48 | 7 | 22 | 19 | 0.87 | 7 |
| Fine ^[8] | 2013 | 美国 | Caucasian | MALDI-TOF | 12 | 1 | 4 | 7 | 18 | 7 | 8 | 3 | 0.78 | 5 |
| 余占海 ^[14] | 2013 | 中国 | Asian | MALDI-TOF | 85 | 28 | 42 | 15 | 105 | 33 | 55 | 17 | 0.46 | 8 |
| | 2013 | 中国 | Asian | MALDI-TOF | 79 | 17 | 37 | 25 | 86 | 16 | 42 | 28 | 0.97 | 8 |
| Volckova ^[9] | 2014 | 捷克 | Caucasian | PCR-RFLP | 482 | 44 | 150 | 288 | 155 | 13 | 56 | 86 | 0.37 | 9 |

英文,同时追溯纳入文献的参考文献,保证文献检索尽可能全面,无发表年限限制。

1.2 纳入文献的筛选 (1)在初次检索的文献中,根据题目和摘要初步筛选明显不符合的文献;(2)下载全文后,阅读全文,进一步确定文献是否合格;(3)在阅读文献过程中,根据纳入文献的参考文献进一步补充合格的文献。

1.3 纳入和排除标准

1.3.1 纳入标准 (1)涉及 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病发病风险的相关报道;(2)所有研究均为病例对照研究或巢式病例对照研究;(3)各研究的设计和实验方法类似;(4)所有病例均由高年资口腔专业医师按 WHO 标准进行全口龋病检查并诊断;(5)文献数据完整或根据报道结果能推算出分析所需数据;(6)对于重复发表的研究,选择质量最高者或样本量最大且信息最详细者。

1.3.2 排除标准 (1)研究未设立对照组;(2)重复报道的研究,质量较差、信息少及数据无法利用的文献;(3)综述、病例报道、摘要、评论性文章等;(4)用中、英文以外语种发表的文献。

1.4 文献质量评价及资料的提取 对每项研究从以下 3 个方面进行质量评估^[11]:(1)研究对象的纳入标准及其基本构成是否明确;(2)基线资料可比性及设计科学性依据是否充分;(3)处理因素、方法是否正确。以上 3 项,每项记 0~3 分。总分大于或等于 5 分者,认为质量可靠;总分大于或等于 7 分者,认为高质量。由 2 名评价者按照统一标准独立进行质量评估,而后交叉核对,如遇分歧则讨论解决或由第 3 位研究者协助解决。资料提取内容包括:第一作者、发表时间、地区、人种、基因型检测方法、样本量、病例组和对照组各基因型数量等。

1.5 统计学处理 合并分析采用 RevMan 5.2 软件进行。合并效应量选用比值比(OR)及 95%CI。采用 Q 检验对纳入研究进行异质性检验,若各研究间无明显异质性(P>0.1)采用固定效应模型进行合并,反之(P<0.1)采用随机效应模型进行合并分析,用 I² 衡量异质性大小程度^[12-13]。应用 Stata 12.0 软件进行 Begg's 及 Egger's test 检验以评价发表偏倚。可根据重要的混杂因素(如人种)进行亚组分析,采用逐一排除的方法进行敏感性分析,检验水准为 α=0.05,整合以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 文献检索结果 根据检索策略,初检出相关文献 24 篇。根据纳入标准及排除标准逐层筛选后,最终纳入文献 4 篇,均为病例对照研究^[8-10,14],包括英文文献 3 篇,中文文献 1 篇,其中余占海等^[14]研究中包含两个针对不同民族的独立研究,视为两项病例对照研究。故本次 Meta 分析一共纳入 5 项病例对

照研究,其中 3 项研究对象为 Caucsain 人种,2 项研究对象为 Asian,累积病例 720 例,对照 412 例。对所有对照组进行 HWE(Hardy-Weinberg equilibrium)检验,结果显示纳入研究的对照组均遵循 HWE 定律。纳入分析的各研究特征和基因型分布见表 1。

2.2 Meta 分析结果 如图 1 和表 2 所示,异质性检验结果显示,在显性模型(GG+AG vs. AA)中各研究间存在统计学异质性(P_h=0.09,I²=50%),故采用随机效应模型进行合并分析,Meta 分析结果显示 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病发病风险无明显相关性(P=0.75,OR=0.93,95%CI=0.59~1.46),同样的,在其他 3 种模型中各研究间均存在显著异质性,采用随机效应模型进行合并分析,Meta 分析结果显示在等位基因 G vs. A 模型、GG vs. AA 模型及隐性模型 GG vs. AG+AA 中均未发现 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病发病风险存在显著相关性(G vs. A:P=0.88,OR=0.97,95%CI=0.68~1.38;GG vs. AA:P=0.84,OR=1.07,95%CI=0.57~1.99;GG vs. AG+AA:P=0.52,OR=1.12,95%CI=0.79~1.58)。按人种进行亚组分析,结果显示,在 Caucsain 及 Asian 人种中均未发现 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病易感性具有显著相关性(P>0.05),具体结果见表 2。

表 2 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病易感性 Meta 分析结果

| 基因型 | OR[95%CI] | P | 异质性 | | 效应模型 |
|--------------|-----------------|------|----------------|----------------|------|
| | | | P _h | I ² | |
| GG+AG vs. AA | 0.93[0.59,1.46] | 0.75 | 0.09 | 50% | R |
| Caucasian | 0.80[0.31,2.07] | 0.64 | 0.02 | 75% | R |
| Asian | 0.98[0.60,1.61] | 0.94 | 0.78 | 0% | F |
| G vs. A | 0.97[0.68,1.38] | 0.88 | 0.03 | 64% | R |
| Caucasian | 0.82[0.38,1.77] | 0.61 | 0.004 | 82% | R |
| Asian | 1.04[0.77,1.40] | 0.81 | 0.80 | 0% | F |
| GG vs. AA | 1.07[0.57,1.99] | 0.84 | 0.09 | 49% | R |
| Caucasian | 0.86[0.21,3.46] | 0.83 | 0.02 | 74% | R |
| Asian | 1.07[0.58,1.97] | 0.83 | 0.73 | 0% | F |
| GG vs. AG+AA | 1.12[0.79,1.58] | 0.52 | 0.32 | 15% | F |
| Caucasian | 1.04[0.40,2.73] | 0.94 | 0.10 | 57% | R |
| Asian | 1.12[0.69,1.81] | 0.64 | 0.82 | 0% | F |

P_h:异质性检验 P 值;R:随机效应模型;F:固定效应模型。

2.3 发表偏倚分析 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病易感

性 Meta 分析发表偏倚结果见图 2。以显性模型 GG+AG vs. AA 为例,利用 Begg's test 绘制漏斗图,结果显示纳入的 5 项研究完整地出现在图上,且以合并效应量 OR 值为中心散开分布,基本对称,呈倒置漏斗型。进一步采用 Egger's test 进行检验,结果显示 $P=0.718$,表明纳入合并分析的研究无明确的发表偏倚。

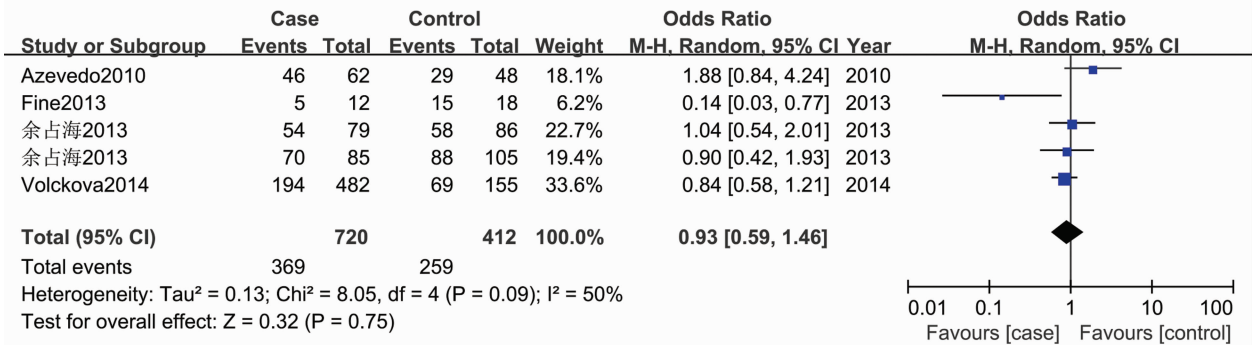


图 1 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病易感性的关系(GG+AG vs. AA)

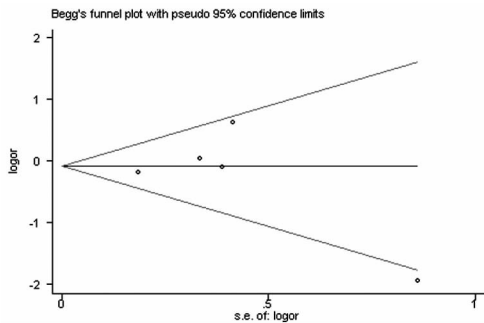


图 2 发表偏倚分析漏斗图(GG+AG vs. AA)

3 讨 论

龋病的发生与环境及基因的交互作用有着密切联系,而唾液是龋病发生最重要的外环境^[15]。在龋病的发生过程中,唾液具有冲洗、缓冲促进再矿化等作用^[16]。唾液中含有种类丰富的抗菌蛋白, Silva 等研究发现唾液中的抗菌蛋白可有效抑制口腔细菌的聚集、黏附,并抑制其代谢和营养,从而抑制细菌生长。乳铁蛋白是人体内重要的铁结合阳离子蛋白,可通过多种途径影响龋病的发生、发展过程,对唾液乳铁蛋白与龋病关系的研究显示,唾液乳铁蛋白浓度与个体患龋风险成显著负相关^[17]。

LTF 基因定位于人 3p21,包含 17 个外显子,约由 700 个氨基酸残基构成,大小约 23~25 kb^[18],其基因编码区序列改变可能造成蛋白结构异常,从而影响其功能。rs1126478 位点位于 LTF 基因 2 号外显子区,其多态性可导致第 29 位赖氨酸转换为精氨酸,由此可能导致其功能发生改变^[10]。Velliya-gounder 等研究发现丧失赖氨酸残基的乳铁蛋白变异体其抗变异链球菌活性明显降低。目前国内外有关乳铁蛋白基因 rs1126478 多态性与龋病易感性的关系已有较多研究,然而其研究结果并不一致。Fine 等^[8]研究发现基因型为 AA 的个体罹患龋病的风险明显降低,且其抗变异链球菌感染能力明显较 GG 基因型个体强。Azevedo 等^[10]研究也发现,rs1126478 多态性与巴西人群龋病易感性有关,携带等位基因 A 的个体

2.4 敏感性分析 采用逐一剔除的方法进行敏感性分析。在 GG+AG vs. AA, G vs. A, GG vs. AA 及 GG vs. AG+AA 4 种模型中分别进行逐一剔除分析,剔除任一项研究后,结果发现 4 种模型中 Meta 分析总效应量在剔除前后均未发生明显改变。

DMFT 指数明显减低,提示等位基因 A 可能是龋病发病的保护因素。然而 Volckova 等^[9]及余占海等^[14]研究结果显示 LTF 基因 rs1126478 多态性与捷克及中国人群龋病易感性无明显关联。

本研究应用 Meta 分析方法分析了 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病易感性的关系,以基因型 GG 或等位基因 G 为暴露因素,结果显示二者之间无明显相关性。由于基因多态性与种族及地域关系关系密切,因此笔者根据人种进行了亚组分析,同样的,结果显示在 Caucasian 及 Asian 人群中均未发现 LTF 基因 rs1126478 多态性与龋病发病风险存在显著关联,以上结果均提示 rs1126478 多态性可能与龋病发病风险无关。本次 Meta 分析结果与之前的单项研究结果的不一致可能是由于样本差异造成的,单项研究的样本量往往较小且可能存在地域差异,使其可信度受限,本次 Meta 分析对多项独立研究进行了合并分析,累积病例 720 例,对照 412 例,一定程度上克服了单个研究样本量小、地域局限的不足,使研究结果更为可靠。本次 Meta 分析利用漏斗图和 Egger's 检验对发表偏倚进行了定性和定量评价,结果未发现明确的发表偏倚,敏感性分析亦未发现总效应量发生明显改变,以上均提示研究结果比较可靠。

本研究虽然系统科学地设计了研究方案,但仍存在一定的局限性:(1)本组研究纳入的对照组由于原始研究设计的差异存在一定的不一致性,可能影响结果的可靠性;(2)本研究纳入文献限定在中、英文报告文献,统计学分析虽然未发现明显的发表偏倚,仍不能排除发表偏倚存在的可能;(3)龋病是一种多基因、多因素共同参与的慢性疾病,由于原始数据的缺乏,未能分析年龄、饮食习惯及其他基因的相互作用,在未来的研究中应加以考虑。

综上所述,LTF 基因 rs1126478 多态性可能与龋病易感性无关。然而由于纳入研究的数量有限,今后期待开展更多的大样本、高质量、同质性好、包含不同种族的病例对照研究,更科学准确地评价 rs1126478 多态性与龋病易感性的关系,为基础研究及临床防治提供更可信的证据。

参考文献

- [1] Motta LJ, Bortoletto CC, Marques AJ, et al. Association between respiratory problems and dental caries in children with bruxism[J]. *Indian J Dent Res*, 2014, 25(1): 9-13.
- [2] Reich E, Lussi A, Newbrun E. Caries-risk assessment[J]. *Int Dent J*, 1999, 49(1): 15-26.
- [3] 胡晓潘, 余占海, 李志强, 等. 龋病易感基因的研究进展[J]. *口腔医学研究*, 2013, 29(2): 188-190.
- [4] 刘学敏, 金明光, 张莉, 等. 乳铁蛋白在口腔医学研究中的应用进展[J]. *口腔医学研究*, 2013, 29(4): 386-388.
- [5] Sargent PJ, Farnaud S, Evans RW. Structure/function overview of proteins involved in iron storage and transport[J]. *Curr Med Chem*, 2005, 12(23): 2683-2693.
- [6] Caraher EM, Gumulapurapu K, Taggart CC, et al. The effect of recombinant human lactoferrin on growth and the antibiotic susceptibility of the cystic fibrosis pathogen *Burkholderia cepacia* complex when cultured planktonically or as biofilms[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 60(3): 546-554.
- [7] Ochoa TJ, Clearly TG. Lactoferrin disruption of bacterial type III secretion systems[J]. *Biometals*, 2004, 17(3): 257-260.
- [8] Fine DH, Toruner GA, Vellyyagounder KA, et al. A lactotransferrin single nucleotide polymorphism demonstrates biological activity that can reduce susceptibility to caries[J]. *Infect Immun*, 2013, 81(5): 1596-1605.
- [9] Volckova M, Linhartova PB, Trefna T, et al. Lack of association between lactotransferrin polymorphism and dental caries[J]. *Caries Res*, 2014, 48(1): 39-44.
- [10] Azevedo LF, Peckhark GD, Brancher JA, et al. Analysis of the association between lactotransferrin (LTF) gene polymorphism and dental caries[J]. *J Appl Oral Sci*, 2010, 18(2): 166-170.
- [11] Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses[J]. *Eur J Epidemiol*, 2010, 25(9): 603-605.
- [12] Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis[J]. *Stat Med*, 2002, 21(11): 1539-1558.
- [13] Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, et al. Measuring inconsistency in meta-analyses[J]. *BMJ*, 2003, 327(7414): 557-560.
- [14] 余占海, 苏琳涵, 张轩, 等. 乳铁蛋白基因多态性与甘肃汉族及裕固族人群龋病易感性的初步研究[J]. *牙体牙髓牙周病学杂志*, 2013, 23(10): 644-647, 639.
- [15] 陈亚刚, 胡德渝. 唾液检测用于龋病风险性评估的研究进展[J/CD]. *中华口腔医学研究杂志: 电子版*, 2008, 2(1): 75-78.
- [16] 王国珍, 罗云纲, 魏洪涛. 儿童龋病的研究进展[J]. *中国实验诊断学*, 2013, 17(8): 1545-1548.
- (收稿日期: 2015-09-08 修回日期: 2015-12-18)
-
- (上接第 1135 页)
- [8] Notarnicola A, Moretti L, Martucci AA, et al. Comparative efficacy of different doses of fibrin sealant to reduce bleeding after total knee arthroplasty[J]. *Blood Coagulat Fibrinol*, 2012, 23(4): 278-284.
- [9] Sabatini L, Trecci A, Imarisio D, et al. Fibrin tissue adhesive reduces postoperative blood loss in total knee arthroplasty[J]. *J Orthop Traumatol*, 2012, 13(3): 145-151.
- [10] Molloy DO, Archbold H, Ogonda L, et al. Comparison of topical fibrin spray and tranexamic acid on blood loss after total knee replacement: a prospective, randomised controlled trial[J]. *J Bone Joint Surg*, 2007, 89B(3): 306-309.
- [11] Mcconnell JS, Shewale S, Munro NA, et al. Reducing blood loss in primary knee arthroplasty: a prospective randomised controlled trial of tranexamic acid and fibrin spray[J]. *Knee*, 2012, 19(4): 295-298.
- [12] Aguilera X, Martinez-Zapata MJ, Bosch A, et al. Efficacy and safety of fibrin glue and tranexamic acid to prevent postoperative blood loss in total knee arthroplasty: a randomized controlled clinical trial[J]. *J Bone Joint Surg Am*, 2013, 95(22): 2001-2007.
- [13] Sabatini L, Atzori F, Revello S, et al. Intravenous use of tranexamic acid reduces postoperative blood loss in total knee arthroplasty[J]. *Arch Orthop Trauma Surg*, 2014, 134(11): 1609-1614.
- [14] Xu QT, Yang Y, Shi P, et al. Repeated doses of intravenous tranexamic acid are effective and safe at reducing perioperative blood loss in total knee arthroplasty[J]. *Biosci Trends*, 2014, 8(3): 169-175.
- [15] Mcconnell JS, Shewale S, Munro NA, et al. Reduction of blood loss in primary hip arthroplasty with tranexamic acid or fibrin spray[J]. *Acta Orthop*, 2011, 82(6): 660-663.
- [16] Benoni G, Lethagen S, Fredin H. The effect of tranexamic acid on local and plasma fibrinolysis during total knee arthroplasty[J]. *Thromb Res*, 1997, 85(3): 195-206.
- [17] Gross JB. Estimating allowable blood loss; corrected for dilution[J]. *Anesthesiology*, 1983, 58(3): 277-280.
- (收稿日期: 2015-09-21 修回日期: 2015-12-21)