

行政院國家科學委員會補助  
大專學生參與專題研究計畫研究成果報告

\* \*\*\*\*\* \*  
\* 計 畫 \*  
\* : TBX21 基因多形性與兒童氣喘之相對危險性 \*  
\* 名 稱 \*  
\* \*\*\*\*\* \*

執行計畫學生： 衣冠瑀  
學生計畫編號： NSC 98-2815-C-040-027-B  
研究期間： 98年07月01日至99年02月28日止，計8個月  
指導教授： 翁瑞宏

處理方式： 本計畫可公開查詢

執行單位： 中山醫學大學公共衛生學系（所）

中華民國 99年03月30日

行政院國家科學委員會補助

大專學生參與專題研究計畫研究成果報告

\*\*\*\*\*  
\* 計畫 \*  
\* : TBX21 基因多形性與兒童氣喘之發生危險性 \*  
\* 名稱 \*  
\*\*\*\*\*

執行計畫學生：衣冠瑤

學生計畫編號：NSC 98-2815-C-040-027-B

研究期間：99年7月1日至99年2月底止，計8個月

指導教授：翁瑞宏

處理方式(請勾選)：立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權，一年二年後可公開查詢

執行單位：中山醫學大學公共衛生學系(所)

中華民國 99 年 3 月 30 日

## TBX21 基因多形性與兒童氣喘之相對危險性

### 摘要：

第二型輔助 T 淋巴球 (Th2 細胞) 和其他相關的細胞激素，在氣喘 (asthma) 的致病過程中扮演著重要的角色。T-box expressed in T cells (TBX21) 為核轉錄蛋白 T-box 家族的成員，可促進 Th1 之分化與抑制 Th2，並且使極化的 Th2 細胞轉向 Th1 路徑；因此，TBX21 可能參與在氣喘的相關致病過程。然而，TBX21 基因多形性與氣喘易感受性間的相關，並未被探討；我們設計一項病例對照研究來評估 TBX21 基因多形性對於兒童氣喘危險的效應。總計，174 名氣喘病例與 174 名健康對照被納入本研究進行分析。研究對象的個人特徵資料，是經由問卷訪視所收集。過敏原測試是針對台灣常見的過敏原，進行皮膚測試或多重抗原同時測試 (Multiple Antigen Simultaneous Test [MAST])。血清 IgE 濃度和周邊血液中嗜伊紅性白血球的濃度被測量，TBX21 T-1993C 基因型則是以聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction [PCR]) 加以辨識。我們的結果顯示父母親教育程度為大學以上 ( $RR_m = 4.7$ ; 95% C.I. = 2.0-11.2)、氣喘家族史 ( $RR_m = 3.1$ ; 95% C.I. = 1.4-6.6)、家中從事紡織類工作 ( $RR_m = 0.6$ ; 95% C.I. = 0.4-1.1)、以及過敏原測試 ( $RR_m = 2.7$ ; 95% C.I. = 1.1-6.9) 是顯著地相關於兒童氣喘的發生危險。而相較於過敏原測試陰性並且攜帶 TBX21 T-1993C TT 基因型的兒童，過敏原陽性並且攜帶 TBX21 CC/CT 基因型的兒童具有 3.1 倍 (95% C.I. = 1.4-7.0,  $P < 0.01$ ) 的氣喘發生危險、以及顯著增加的血清 IgE 濃度 ( $P < 0.01$ )。因此，TBX21 基因可能為兒童氣喘發生的影響因子。

關鍵詞：兒童氣喘、TBX21、過敏原、血清 IgE、嗜伊紅性白血球。

## 前言：

在兒童族群中，氣喘是種常見的慢性疾病。過去 30 年間，許多流行病學的研究已經指出，氣喘的盛行率在已開發及開發中國家中有增加的趨勢 [1-3]；台灣兒童的氣喘發生率也已增加到 12.2% [4]。氣喘的特徵為呼吸道阻塞 (airway obstruction)、呼吸道過度反應 (airway hyperresponsiveness) 與發炎、以及重塑 (remodeling) [5]。而環境因子的改變，包括生活習慣、飲食、空氣污染、過敏原暴露，以及病毒性的呼吸道感染，是相關於氣喘的發展 [6-8]。因此，清楚地瞭解氣喘的決定因子，以及瞭解這些決定因子與氣喘之遺傳體質的交互作用，將會有助於發展出對於氣喘發生的預防策略。

氣喘的盛行率逐年增加，也導致了衛生假說 (hygiene hypothesis) 的提出 [9, 10]。此假說基本的主軸是新生兒的免疫系統可傾向於 Th2 細胞，並且需要適時且適當的刺激來產生一個平衡的免疫反應。Th1 和 Th2 細胞是主要的 CD4<sup>+</sup> T 輔助細胞 (CD4<sup>+</sup> T helper cell) 亞型，每種亞型各自分泌獨特的細胞激素 (cytokines) [11, 12]。Th1 細胞分泌細胞間白素 (interleukin [IL])-2、干擾素 (interferon [IFN])- $\gamma$ 、以及腫瘤壞死因子 (tumor necrosis factor [TNF])- $\beta$ ；而 Th2 細胞製造 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 及 IL-13。如果免疫反應趨向以 Th2 的表現來對抗環境中無害的抗原，則可能發生如氣喘的過敏性疾病。Th2 細胞激素控制具有發炎性氣喘反應的主要成分，包括免疫球蛋白 E (immunoglobulin [Ig] E) 同質型轉換 (isotype switching)、黏液的製造，以及嗜伊紅性白血球 (eosinophils) 的聚集與活化。在複雜的細胞發育過程中，誘導訊號會促使細胞產生分化，而細胞激素即為輔助型 T 細胞 (T helper cell) 亞型 (Th1 與 Th2) 的調節因子；當「記憶性細胞激素 (cytokine memory)」受到抗原刺激時，會促使未分化的 T 細胞分化成 Th1 和 Th2 [13, 14]。許多研究亦顯示許多因子可以控制 CD4<sup>+</sup> T 輔助細胞的分化，但是對於 Th1/Th2 細胞分泌的機制，仍然尚未被充分地釐清。

Th1 和 Th2 細胞是由 T 前驅細胞 (T precursor cells) 分化而來 [15, 16]，由於各自所需特定轉錄因子的活性不同，而造成不同的分化。相較於 Th2 的分化，較少瞭解 Th1 分化的分子基礎。T-bet (T-box expressed in T cells)，為核轉錄蛋白 T-box 家族的成員之一，可引起 Th1 之分化與抑制 Th2 之分化 [17, 18]。此家族的成員，主要於 *brachyury* 基因中被發現，在不同的細胞發展過程中扮演著相當關鍵的角色 [19, 20]。T-bet 可轉錄活化 *IFN- $\gamma$*  基因，在逆轉錄病毒轉導的原發性 T 細胞中誘導 *IFN- $\gamma$*  基因的製造，並且再使極化的 Th2 細胞轉向 Th1 路徑 [21]。在 *T-bet* 基因剔除小鼠 (*T-bet*<sup>-/-</sup> knockout mice) 的研究中，發現即使小鼠缺乏過敏原致敏反應，卻仍有大量的嗜伊紅性白血球和淋巴球滲入小鼠支氣管中，並且具有氣管重塑現象的發生 [22]。這些小鼠的支氣管肺泡沖洗液 (bronchoalveolar lavage fluid [BAL]) 也包含了增加的 Th2 細胞所分泌的細胞激素；而且在這些小鼠中，也具有全身性 *IFN- $\gamma$*  缺乏以及整體的 Th2 細胞增加之現象 [21]。Finotto 等人 [22] 也證實，人類氣喘肺部組織相較於正常肺部組織的淋巴球中，T-bet 的表現量具有明顯的減少。這些發現建議著，T-bet 可能藉由誘導 T 細胞分化至 Th1 方向，並且進一步地建立與維持 Th1 的表現型態，來保護防止氣喘的發生。然而，由這些轉錄因子所調控的 Th1/Th2 平衡，是否調節氣喘的發生，仍然是不清楚的。

*T-bet* 基因 (MIM 604895) 也稱為 TBX21 基因和 *TBLYM* 基因，位於 17q21.3 的位置，是 T 細胞特定轉錄因子，可部份調節 T 輔助細胞的分化。缺乏 *T-bet* 的基因剔除小鼠自發性地發展出氣喘相關的組織及生理的表現，包括周邊支氣管和周邊血管的嗜伊紅性白血球和淋巴球發炎、氣管過度反應、以及增加的膠原蛋白 (collagen) 沉降於支氣管上皮基底膜 (epithelium basement membrane) 之下；因此，TBX21 基因可能為氣喘的候選基因。TBX21 基因於啟動子 (promoter) 具有一個 -1993T/C 單一核苷酸多形性 (single nucleotide polymorphism [SNP]) 已經被偵測到 [23]；它也被發現此置換增加了未知核蛋

白 (nuclear protein) 在此區域結合位置的親和力，導致 TBX21 基因的轉錄活性增加。進一步地，一項於日本所執行的世代研究中，發現此啟動子區域的單一核苷酸多形性和阿司匹靈所導致的氣喘具有顯著相關；C 對偶基因具有氣喘增加的危險性 [23]。然而，TBX21 基因多形性於氣喘發展過程中之單獨的角色仍然不清楚。

## 材料與方法：

本研究經由中山醫學大學倫理委員會的認可後執行。年齡介於四至十二歲的研究對象，是從位於中台灣的中山醫學大學附設醫院中選取，此醫院對於來自所有社會經濟階級的病患皆具有可近性。病例從中山醫學大學附設醫院小兒氣喘門診選取，經由小兒科醫生確認，並且是符合美國胸腔協會 (American Thoracic Society) 所制定的可逆性呼吸道疾病標準 (如支氣管氣喘) [24]。此外，兒童先前不具氣喘的診斷、沒有如哮喘和咳嗽等氣喘症狀者，在研究中被定義為對照。本研究之病例與對照之配對比例為 1:1，健康對照是以病例之年齡 ( $\pm 5$  歲) 與性別所配對。所有的對象都必須獲取其個人疾病史與同意書。共計，174 名氣喘病例及 174 名健康對照在此被納入本研究進行分析。

## 問卷訪視

研究對象的個人特徵資料，在獲取所有參與者的家長同意書後，經由面對面的問卷訪視所收集。問卷所涵蓋的問題包括人口學特質、父母親教育程度、生活型態如與兒童共同生活之家戶成員抽菸狀態、室內其它污染狀態如燒香、潮濕度、是否飼養寵物、兒童的臥房是否有蟑螂以及一等親氣喘家族史。研究對象的家戶成員抽菸狀態包括每天抽菸支數及抽菸年數；兒童的室內二手菸暴露量是以每天平均暴露的香菸支數計算，亦即父母親於兒童在家時，抽菸支數的總和。住家的潮濕程度在最近一年內符合以下條件之

一者即定義為潮濕：可以看見家戶內部表面具有黴菌滋生、家戶內積水、或漏水。氣喘家族病史則是以受測者之一等親家族具有氣喘來加以定義。

#### 過敏原、血清 IgE 與嗜伊紅性白血球測試

如同 Lee 等人 [25] 原先所建議，過敏原測試是針對台灣常見的過敏原，包括家中灰塵 (House Dust)、美洲蟑螂 (American Cockroach)、以及家塵蹣 (Mite, *Housedust Dermatophagoides farinae* [D.F.] 與 *Housedust Dermatophagoides pteronyssinus* [D.P.])，進行皮膚測試或多重抗原同時測試 (Multiple Antigen Simultaneous Test [MAST])。如果最大的紅斑直徑超過 3 mm 時，陽性皮膚測試則被考慮存在。血清 IgE 濃度則是利用是螢光酵素免疫法 (AutoCAP System; Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala, Sweden) 測量，周邊血液中嗜伊紅性白血球的計數則是以自動血液細胞計數器測量。

#### TBX21 基因多形性分析

TBX21 基因多形性的分析，是依照 Akahoshi 等人 [23] 所使用的方法來修飾。所有研究對象的靜脈血液被收集在含有肝素的採血管中，然後進一步地萃取 DNA。對於 TBX21 基因分析，簡單的說，一段包含在 TBX21 基因 T-1993C 多形性位置的 155-bp 片段，是先以聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction [PCR]) 增幅後，再以限制片段長度多形性 (restriction fragment length polymorphism [RFLP]) 分析來偵測。用以增幅 TBX21 基因的引發子序列為 5'-TCA ACA ACC ACC TGT TGT GG-3' 以及 5'-TCA CCT CAA CGA TAT GCA GC-3'。0.5  $\mu$ l 的 DNA 模版被加入至包含有 12.5 pmol 的引發子、3.9 mM  $MgCl_2$ 、1.25 mM 之去氧核苷三磷酸 (dNTPs)、0.5 U 的聚合酶酵素 (Taq polymerase)，最終體積以蒸餾水調成 50  $\mu$ l。PCR 循環參數組成為 95°C 二分鐘的先前培養，接續 37 回合的循環，包括變

性：94°C三十秒，重鍊：58°C三十秒，以及延展：72°C三分鐘；反應於最後的72°C七分  
鐘的延展後終止。PCR產物再由*HhaI*進行消化；消化後的產物在4.0%的瓊膠中進行電泳  
後，以ethidium bromide染色進行判讀。同型TT基因型的個體表現出一段155-bp的產物片  
段；同型CC基因型的個體顯示出一段136-bp及一段19-bp的產物片段，而異型CT基因型  
的個體則有155-bp、136-bp以及19-bp三段產物片段。

### 統計分析

TBX21 基因型、父母親教育程度、二手菸暴露狀況、燒香、室內潮濕程度、是否飼  
養寵物、孩童的臥房是否有蟑螂、氣喘家族史以及過敏原測試等對於兒童氣喘發生的配  
對相對危險性 ( $RR_m$ ) 與相對應的 95%信賴區間 (95% confidence interval [C.I.]) 是以條  
件式對數迴歸模式 (conditional logistic regression model) 加以評估。此外，過敏原測試結  
果與 TBX21 基因型對於氣喘發展之合併效應也被分析，並且利用多變項線性迴歸模式觀  
察氣喘危險因子與嗜伊紅性白血球及血清 IgE 濃度之相關性。所有的  $P$  值皆以雙尾檢定  
呈現。

### 結果：

總計，348 名兒童 (174 名病例與 174 名健康對照) 參與本研究，其年齡範圍從四至  
十二歲 (平均 9.5 歲)。研究對象之基本特徵及 TBX21 基因型分布頻率被呈現於表一，健  
康對照之 TBX21 基因分佈符合哈溫平衡定律 ( $\chi^2 = 1.32; P = 0.25$ )。87.9%之研究對象的  
父母其教育程度達高中以上；並且父母的教育程度為大學以上 ( $RR_m = 5.4; 95\% C.I. =$   
 $2.5-11.6, P < 0.01$ ) 或高中以上 ( $RR_m = 2.2; 95\% C.I. = 1.0-4.6, P = 0.04$ ) 之兒童相較於父  
母的教育程度為高中以下之兒童，具有較高的氣喘發生危險性。相較於對照，在我們的



病例中發現其氣喘家族史具有顯著較高的比例 (19.5%)，並且具有較高的氣喘發生危險性 ( $RR_m = 3.0$ ; 95% C.I. = 1.5-6.0,  $P < 0.01$ )。於研究對象中，TBX21 T-1993C基因型之 C 對偶基因比例為 10.1%，T 對偶基因比例則為 89.9%；但是 TBX21 T-1993C 基因型並未被觀察到與兒童氣喘具有統計顯著相關。

各種環境因子對於氣喘發生之配對後相對危險性，呈現於表二。父母親具有抽菸習慣的兒童相較父母親沒有抽菸習慣的兒童，呈現較低的氣喘發生危險 ( $RR_m = 0.7$ ; 95% C.I. = 0.4-1.1)；但是並未達到統計顯著性。同樣地，反向的相關也在家中燒香與兒童氣喘發生間被發現 ( $RR_m = 0.3$ ; 95% C.I. = 0.2-0.5,  $P < 0.01$ )。家中有從事紡織類工作之兒童則相較於家中沒有從事紡織類工作的兒童，呈現較高的氣喘發生危險性 ( $RR_m = 2.3$ ; 95% C.I. = 1.0-5.2,  $P = 0.05$ )。而相較於過敏原測試為陰性者，兒童氣喘的增加危險也是相關於過敏原測試陽性 ( $RR_m = 4.5$ ; 95% C.I. = 2.9-7.1,  $P < 0.01$ )。然而，二手菸暴露、飼養寵物、寢室是否有蟑螂、家中潮溼狀況與孩童氣喘發展之間並未發現顯著的相關。在兒童氣喘發生危險性之多變項對數迴歸模式中 (表三)，父母親教育程度、氣喘家族史、家中從事紡織類工作、以及過敏原測試陽性者依舊維持著與兒童氣喘發生危險之相關性。

隨後，我們探討過敏原測試結果與 TBX21 基因型對於兒童氣喘發生的合併效應，結果呈現於表四。在調整父母親教育程度、氣喘家族史、家中燒香、家中從事紡織類工作等變項之效應後，我們以過敏原測試陰性且攜帶 TBX21 TT 基因型為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，當 TBX21 CC 與 CT 基因型被合併計算時，過敏原測試陰性且攜帶 TBX21 CC/CT 基因型的兒童具有 2.2 倍 (95% C.I. = 0.9-5.7) 的氣喘發生危險，過敏原測試陽性且攜帶 TBX21 TT 基因型的兒童具有 5.3 倍 (95% C.I. = 3.1-9.1,  $P < 0.01$ ) 的氣喘發生危險，而過敏原測試陽性且攜帶 TBX21 CC/CT 基因型的兒童則具有 3.1 倍 (95% C.I. = 1.4-7.0,  $P < 0.01$ ) 的氣喘發生危險。

進一步地，我們以多變項線性迴歸模式分析氣喘兒童的嗜伊紅性白血球以及血清 IgE 濃度之可能相關因子，結果呈現於表五。調整年齡、性別、父母親教育程度、氣喘家族史、家中從事紡織類工作等變項之效應後，以過敏原測試陰性並且攜帶 TBX21 TT 基因型之氣喘兒童為參考組；過敏原測試陰性並且攜帶 TBX21 CC/CT 基因型的氣喘兒童，並未具有增加的嗜伊紅性白血球表現；而過敏原測試陽性並且攜帶 TBX21 TT 基因型之氣喘兒童與攜帶 CC/CT 基因型之氣喘兒童，其嗜伊紅性白血球濃度分別增加  $171.1 \text{ mm}^3$  ( $P = 0.02$ ) 以及  $189.0 \text{ mm}^3$  ( $P = 0.06$ )。而相較於過敏原測試陰性並且攜帶 TBX21 TT 基因型的氣喘兒童，過敏原陰性並且攜帶 TBX21 CC/CT 基因型的氣喘兒童也未具有增加的血清 IgE 濃度；然而，過敏原測試陽性並且攜帶 TBX21 TT 基因型的氣喘兒童其血清 IgE 濃度增加了  $283.1 \text{ IU/ml}$  ( $P = 0.01$ )，而過敏原測試陽性並且攜帶 TBX21 CC/CT 基因型的兒童其血清 IgE 濃度更顯著地增加了  $406.1 \text{ IU/ml}$  ( $P < 0.01$ )。

#### 討論：

氣喘為多因子 (multifactorial) 影響的疾病，許多危險因子會導致氣喘發生或惡化，包括暴露於過敏原 [26, 27]。過敏原試驗已常被用來檢驗是否個體具有異位性疾病 [25, 26]，在我們的研究中，台灣常見的過敏原 [25]，包括家中的灰塵、家塵蟎與美洲蟑螂則被用來加以評估。過敏原是氣喘發生的重要危險因子之一 [26-28]，在我們現今的研究中，74.1%的氣喘兒童呈現具有至少一種過敏原的致敏反應；過敏性呼吸道的發炎反應可能是藉由第二型 T 輔助細胞 (Th2) 產生的細胞激素所造成，並形成氣喘 [29]；因此，過敏原暴露在我們的研究中呈現出對於兒童氣喘發生的明顯作用。

一般認為氣喘是由第二型 T 輔助細胞所主導，因此可在一些過敏性氣喘病患的支氣管切片 (bronchial biopsies) 或是支氣管肺泡沖洗液中，觀察到 Th2 細胞和其細胞激素比

正常人有增加的趨勢，並且與氣喘的嚴重度成正比 [30, 31]。在個體的適應性免疫系統中，當遇到抗原時，T 輔助細胞經由 T 細胞接受器 (T-cell receptor) 的辨識 [15, 32]，而產生一個平衡的免疫反應；未分化 (naive) 的 CD4<sup>+</sup> T 輔助細胞受到不同細胞激素影響，會分化成 Th1 和 Th2 兩種亞型 [33]。T-bet 是 Th1 特定的轉錄因子，可以使 CD4<sup>+</sup> T 輔助細胞趨向 Th1 之分化與抑制 Th2 之分化 [17, 18]。先前研究發現，即使在 Th2 極化的情況下，T-bet 可以具體地增加 IFN- $\gamma$  和 IL-12 接受體  $\beta$  (IL-12 receptor  $\beta$ ) 的表現量 [21, 34]；並且在 *T-bet* 基因剔除小鼠 (*T-bet*<sup>-/-</sup> knockout mice) 的研究中，發現即使小鼠缺乏過敏原致敏反應，卻仍有大量的嗜伊紅性白血球和淋巴球滲入小鼠支氣管中，並且具有氣管重塑現象的發生 [22]。Park 等人 [35] 在缺少 *T-bet* 基因的小鼠身上注射卵蛋白 (ovalbumin) 後，發現 T 細胞中 *T-bet* 基因會選擇性的過度表現，能同時預防呼吸道發炎和抑制正在進行的慢性發炎；若定時誘發 T-bet 的表現量，則可以在急性或慢性的過敏性呼吸道發炎上，減少呼吸道過度反應、嗜伊紅性白血球性發炎、呼吸道上皮的杯狀細胞增生 (goblet cell hyperplasia) 和肺部的膠原沉積 (collagen deposition) 現象。進一步地，在一項以家庭為基礎的世代研究中觀察到，T-bet 的單一核苷酸變異和呼吸道過度反應可能具有相關性存在 [36]；並且免疫球蛋白 (immunoglobulins) 的濃度和過敏性氣喘之間的相關，特別是總量 IgE 和 IgG2a 的濃度可能經由 T-bet 的過度表現而減少 [37]。因此，在我們研究中，過敏原測試陽性並且攜帶 TBX21 易感受性基因型的兒童具有較高的氣喘發生危險，其可能的解釋為當個體暴露過敏原時，呼吸道致敏可能維持於 Th2 細胞激素之反應；而個體本身具有 TBX21 基因結構變異，其體內免疫之 Th1/Th2 不平衡狀態，可能更趨向於 Th2 免疫反應，進而表現在氣喘的發生。此外，我們也觀察到在過敏原陰性的兒童中，TBX21 CC/CT 基因型的兒童相較於 TT 基因型的兒童具有較高的氣喘發生危險，雖然並未達到統計顯著性。這可能的原因是分組中的樣本數較小，導致統計的檢定力不足。未

來的研究仍然需要納入更多的研究對象，以釐清 TBX21 基因與兒童氣喘發生危險的相關。

我們也觀察到相較於攜帶 TBX21 T-1993C TT 基因型並且過敏原測試呈現陰性之氣喘兒童，攜帶 TBX21 T-1993C TT 基因型並且過敏原測試呈現陽性之氣喘兒童其血清 IgE 濃度具有顯著地增加；而在過敏原測試陽性的兒童中，相較於攜帶 TBX21 TT 基因型之氣喘兒童，攜帶 TBX21 CC/CT 基因型之氣喘兒童其血清 IgE 濃度更增加了 43%。這個結果也支持著我們的發現，攜帶 TBX21 T-1993C 基因變異可能使氣喘兒童更傾向於 IgE 所相關的 Th2 免疫表現。在過敏原陽性的兒童中，其 IgE 濃度是顯著地較基礎值增加，不論是攜帶 TBX21 T-1993C TT 基因型或是攜帶 CC/CT 基因型之氣喘兒童，雖然在不同的 TBX21 基因型間並未達到顯著的差異；同樣的結果也在嗜伊紅性白血球表現中被觀察到。這可能是過敏原陽性之氣喘兒童，其本身的短期嗜伊紅性白血球及血清 IgE 濃度即達到很高的數值，甚至達到數值高原期；即使是個體的 TBX21 基因變異，在致敏的氣喘兒童並不易觀察到 TBX21 基因對於如此短期的氣喘生化指標效應之顯著差異。

在本研究中，我們也觀察到父母親教育程度與兒童氣喘發生具有顯著的相關性。Martinez 等人 [38] 指出隨著個體成長而逐漸遭受外來物的暴露，可使抗原呈現細胞漸漸成熟；當成熟的抗原呈現細胞持續受到刺激時，則可使 CD4<sup>+</sup>T<sub>H</sub> 朝 Th1 分化 [39, 40]。因此，高教育程度的父母一旦過度保護自己的子女，減少與環境的接觸，將可能影響幼兒時期 Th1 及 Th2 分化的重要因素；這也可能是兒童氣喘發生的貢獻因素。氣喘家族聚集性已被證實 [41]，而這也建議著具有氣喘家族史之兒童具有較高的氣喘發生危險性，如同我們的結果所顯示；這可能是基因因素或環境因素共同所導致之結果。兒童大部分的時間都待在室內，因此考慮兒童因暴露到室內污染物而導致氣喘的發生之影響是重要的。我們的研究發現家中從事紡織類工作的兒童，有較高的氣喘發生危險；這可能是因

為室內過敏原可附著於棉屑，而使兒童在吸入這些過敏原後產生氣喘 [42]。並且在家中潮濕狀況與兒童氣喘之間，也發現有較高的氣喘發生危險，原因可能為室內的過敏原會隨著相對溼度的升高而濃度提升 [42]，導致兒童接觸到較多的過敏原而較易引發氣喘。其他被認為與氣喘相關之環境危險因子，如家中燒香行為等變項，發現有較低的氣喘發生相對危險性。在本研究中，這些指標是倚賴自我報告，因此是主觀的，可能造成暴露的錯誤分組並且減弱被觀察的相關。最後，也必須考量到在我們研究中較少的樣本數，限制了統計檢定力以偵測較小的增加危險。

總體而言，TBX21 基因可能為兒童氣喘發生的影響因子。

#### 致謝：

本研究感謝行政院國家科學委員會的補助 (NSC 98-2815-C-040-027-B)，和呂克桓醫師以及研究室全體同學的幫助。

#### 參考文獻：

1. Leung R. Wong G. Lau J. Ho A. Chan JK. Choy D. Douglass C. Lai CK. Prevalence of asthma and allergy in Hong Kong schoolchildren: an ISAAC study. *European Respiratory Journal*. 10(2):354-60, 1997.
2. Downs SH. Marks GB. Sporik R. Belosouva EG. Car NG. Peat JK. Continued increase in the prevalence of asthma and atopy. *Archives of Disease in Childhood*. 84(1):20-23, 2001.
3. Burney P. The changing prevalence of asthma?. *Thorax*. 57 Suppl 2:II36-II39, 2002.
4. Kao CC. Huang JL. Ou LS. See LC. The prevalence, severity and seasonal variations of asthma, rhinitis and eczema in Taiwanese schoolchildren. *Pediatric Allergy and Immunology*. 16(5):408-15, 2005.

5. Braunwald E. Fauci AS. Kasper DL. Hauser SL. Longo DL. Jameson JL. Harrison's Principles of Internal Medicine, 15th ed. New York: McGraw-Hill Medical Publishing; p.1456-63, 2001.
6. Strachan DP. Lifestyle and atopy. *Lancet*. 353(9163):1457-8, 1999.
7. Strachan DP. The epidemiology of childhood asthma. *Allergy*. 54 Suppl 49:7-11, 1999.
8. Hopkin JM. Mechanisms of enhanced prevalence of asthma and atopy in developed countries. *Current Opinion in Immunology*. 9(6):788-92, 1997.
9. Strachan DP. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ*. 299(6710):1259-60, 1989.
10. Mattes J. Karmaus W. The use of antibiotics in the first year of life and development of asthma: which comes first?. *Clinical and Experimental Allergy*. 29(6):729-32, 1999.
11. Rengarajan J. Szabo SJ. Glimcher LH. Transcriptional regulation of Th1/Th2 polarization. *Immunology Today*. 21(10):479-83, 2000.
12. Murphy KM. Ouyang W. Farrar JD. Yang J. Ranganath S. Asnagli H. Afkarian M. Murphy TL. Signaling and transcription in T helper development. *Annual Review of Immunology*. 18:451-94, 2000.
13. Glimcher LH. Murphy KM. Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up. *Genes and Development*. 14(14):1693-711, 2000.
14. Lohning M. Richter A. Radbruch A. Cytokine memory of T helper lymphocytes. *Advances in Immunology*. 80:115-81, 2002.
15. Abbas AK. Murphy KM. Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*. 383(6603):787-93, 1996.
16. Liblau RS. Singer SM. McDevitt HO. Th1 and Th2 CD4+ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunology Today*. 16(1):34-8, 1995.

17. Mullen AC. High FA. Hutchins AS. Lee HW. Villarino AV. Livingston DM. Kung AL. Cereb N. Yao TP. Yang SY. Reiner SL. Role of T-bet in commitment of TH1 cells before IL-12-dependent selection. *Science*. 292(5523):1907-10, 2001.
18. Szabo SJ. Sullivan BM. Stemmann C. Satoskar AR. Sleckman BP. Glimcher LH. Distinct effects of T-bet in TH1 lineage commitment and IFN-gamma production in CD4 and CD8 T cells. *Science*. 295(5553):338-42, 2002.
19. Papaioannou VE. T-box family reunion. *Trends in Genetics*. 13(6):212-3, 1997.
20. Smith J. Brachyury and the T-box genes. *Current Opinion in Genetics and Development*. 7(4):474-80, 1997.
21. Szabo SJ. Kim ST. Costa GL. Zhang X. Fathman CG. Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell*. 100(6):655-69, 2000.
22. Finotto S. Neurath MF. Glickman JN. Qin S. Lehr HA. Green FH. Ackerman K. Haley K. Galle PR. Szabo SJ. Drazen JM. De Sanctis GT. Glimcher LH. Development of spontaneous airway changes consistent with human asthma in mice lacking T-bet. *Science*. 295(5553):336-8, 2002.
23. Akahoshi M. Obara K. Hirota T. Matsuda A. Hasegawa K. Takahashi N. Shimizu M. Nakashima K. Cheng L. Doi S. Fujiwara H. Miyatake A. Fujita K. Higashi N. Taniguchi M. Enomoto T. Mao XQ. Nakashima H. Adra CN. Nakamura Y. Tamari M. Shirakawa T. Functional promoter polymorphism in the TBX21 gene associated with aspirin-induced asthma. *Human Genetics*. 117(1):16-26, 2005.
24. Anonymous. Global strategy for asthma management and prevention NHLBI/WHO workshop report. Global initiative for asthma. Washington, DC: NHLBI, 1994.
25. Lee CS. Tang RB. Chung RL. The evaluation of allergens and allergic diseases in children. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 33(4):227-32, 2000.
26. Custovic A. Taggart SC. Francis HC. Chapman MD. Woodcock A. Exposure to house

- dust mite allergens and the clinical activity of asthma. *Journal of Allergy & Clinical Immunology*. 98(1):64-72, 1996.
27. Leaderer BP. Belanger K. Triche E. Holford T. Gold DR. Kim Y. Jankun T. Ren P. McSharry JE. Platts-Mills TA. Chapman MD. Bracken MB. Dust mite, cockroach, cat, and dog allergen concentrations in homes of asthmatic children in the northeastern United States: impact of socioeconomic factors and population density. *Environmental Health Perspectives*. 110(4):419-25, 2002.
  28. Salo PM. Arbes SJ Jr. Crockett PW. Thorne PS. Cohn RD. Zeldin DC. Exposure to multiple indoor allergens in US homes and its relationship to asthma. *Journal of Allergy & Clinical Immunology*. 121(3):678-684, 2008.
  29. Nakajima H. Takatsu K. Role of cytokines in allergic airway inflammation. *International Archives of Allergy & Immunology*. 142(4):265-73, 2007.
  30. Hamelmann E. Cieslewicz G. Schwarze J. Ishizuka T. Joetham A. Heusser C. Gelfand EW. Anti-interleukin 5 but not anti-IgE prevents airway inflammation and airway hyperresponsiveness. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*. 160(3):934-41, 1999.
  31. Robinson D. Hamid Q. Bentley A. Ying S. Kay AB. Durham SR. Activation of CD4+ T cells, increased TH2-type cytokine mRNA expression, and eosinophil recruitment in bronchoalveolar lavage after allergen inhalation challenge in patients with atopic asthma. *Journal of Allergy & Clinical Immunology*. 92(2):313-24, 1993.
  32. Ho IC. Glimcher LH. Transcription: tantalizing times for T cells. *Cell*. 109 Suppl:S109-20, 2002.
  33. Afkarian M. Sedy JR. Yang J. Jacobson NG. Cereb N. Yang SY. Murphy TL. Murphy KM. T-bet is a STAT1-induced regulator of IL-12R expression in naive CD4+ T cells. *Nature Immunology*. 3(6):549-57, 2002.



34. Murphy KM. Reiner SL. The lineage decisions of helper T cells. *Nature Reviews Immunology*. 2(12):933-44, 2002.
35. Park JW. Min HJ. Sohn JH. Kim JY. Hong JH. Sigrist KS. Glimcher LH. Hwang ES. Restoration of T-box-containing protein expressed in T cells protects against allergen-induced asthma. *Journal of Allergy & Clinical Immunology*. 123(2):479-85, 2009.
36. Raby BA. Hwang ES. Van Steen K. Tantisira K. Peng S. Litonjua A. Lazarus R. Giallourakis C. Rioux JD. Sparrow D. Silverman EK. Glimcher LH. Weiss ST. T-bet polymorphisms are associated with asthma and airway hyperresponsiveness. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*. 173(1):64-70, 2006.
37. Kiwamoto T. Ishii Y. Morishima Y. Yoh K. Maeda A. Ishizaki K. Iizuka T. Hegab AE. Matsuno Y. Homma S. Nomura A. Sakamoto T. Takahashi S. Sekizawa K. Transcription factors T-bet and GATA-3 regulate development of airway remodeling. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*. 174(2):142-51, 2006.
38. Martinez FD. Maturation of immune responses at the beginning of asthma. *Journal of Allergy & Clinical Immunology*. 103(3 Pt 1):355-61, 1999.
39. Macatonia SE. Hosken NA. Litton M. Vieira P. Hsieh CS. Culpepper JA. Wyszocka M. Trinchieri G. Murphy KM. O'Garra A. Dendritic cells produce IL-12 and direct the development of Th1 cells from naive CD4+ T cells. *Journal of Immunology*. 154(10):5071-9, 1995.
40. Frischer T. Kuehr J. Meinert R. Karmaus W. Urbanek R. Risk factors for childhood asthma and recurrent wheezy bronchitis. *European Journal of Pediatrics*. 152(9):771-5, 1993.
41. Burke W. Fesinmeyer M. Reed K. Hampson L. Carlsten C. Family history as a predictor of asthma risk. *American Journal of Preventive Medicine*. 24(2):160-9, 2003.

42. Christiani DC. Ye TT. Zhang S. Wegman DH. Eisen EA. Ryan LA. Olenchock SA. Pothier L. Dai HL. Cotton dust and endotoxin exposure and long-term decline in lung function: results of a longitudinal study. *American Journal of Industrial Medicine*. 35(4):321-31, 1999.

表一：兒童氣喘病例相較於配對對照之基本特徵與 TBX21 基因型頻率的配對相對危險性  
與 95%信賴區間

變項	病例組	對照組	配對之相對危險性 <sup>a</sup>	
	n = 174	n = 174	RR <sub>m</sub>	95% C.I.
性別				
男生	118 (67.8%)	118 (67.8%)	1.0	0.6-1.6
女生	56 (32.2%)	56 (32.2%)	1.0	
父母教育程度				
大學以上	88 (50.6%)	46 (26.4%)	5.4	2.5-11.6 <sup>**</sup>
高中	75 (43.1%)	97 (55.8%)	2.2	1.0-4.6 <sup>*</sup>
高中以下	11 (6.3%)	31 (17.8%)	1.0	
氣喘家族史				
有	34 (19.5%)	13 (7.5%)	3.0	1.5-6.0 <sup>**</sup>
無	140 (80.5%)	161 (92.5%)	1.0	
TBX21 基因型				
CC	2 (1.2%)	3 (1.7%)	0.7	0.1-4.1
CT	31 (17.8%)	28 (16.1%)	1.1	0.6-2.0
TT	141 (81.0%)	143 (82.2%)	1.0	
TBX21 對偶基因				
C	33 (9.5%)	37 (10.6%)	0.9	0.5-1.4
T	315 (90.5%)	311 (89.4%)	1.0	

<sup>a</sup> 健康對照是以病例之性別及年齡所配對。

<sup>\*\*</sup>  $P < 0.01$  , <sup>\*</sup>  $0.01 < P < 0.05$  。

表二：兒童氣喘病例相較於配對對照之環境因子的配對相對危險性與 95%信賴區間

變項	病例組	對照組	配對的相對危險性 <sup>a</sup>	
	n = 174	n = 174	RR <sub>m</sub>	95% C.I.
父母親抽菸狀況				
有	44 (25.3%)	50 (28.7%)	0.7	0.4-1.1
不在家中抽菸	30 (17.2%)	45 (25.9%)	0.5	0.3-0.9
無	100 (57.5%)	79 (45.4%)	1.0	
二手菸暴露狀況				
> 5 支/天	36 (20.7%)	39 (22.4%)	0.9	0.5-1.5
1-5 支/天	6 (3.5%)	10 (5.8%)	0.6	0.2-1.6
0 支/天	132 (75.8%)	125 (71.8%)	1.0	
家中燒香				
有	55 (31.6%)	105 (60.3%)	0.3	0.2-0.5**
無	119 (68.4%)	69 (39.7%)	1.0	
在家中從事紡織類工作				
有	19 (10.9%)	9 (5.2%)	2.3	1.0-5.2*
無	155 (89.1%)	165 (94.8%)	1.0	
飼養寵物				
有	33 (19.0%)	35 (20.1%)	0.9	0.5-1.6
無	141 (81.0%)	139 (79.9%)	1.0	
家中潮溼狀況				
有	28 (16.1%)	16 (9.2%)	1.9	1.0-3.6
無	146 (83.9%)	158 (90.8%)	1.0	
寢室有無蟑螂				
有	84 (48.3%)	71 (40.8%)	1.4	0.9-2.1
無	90 (51.7%)	103 (59.2%)	1.0	
過敏原測試				
陽性	129 (74.1%)	68 (39.1%)	4.5	2.9-7.1**
陰性	45 (25.9%)	106 (60.9%)	1.0	

<sup>a</sup> 健康對照是以病例之性別及年齡所配對。

\*  $P = 0.05$  , \*\*  $P < 0.01$  。

表三：兒童氣喘發生危險性之多變項對數迴歸模式

變項	氣喘		
	RR <sub>m</sub>	95% C.I.	P 值
父母教育程度			
大學以上 vs. 高中以下	4.7	2.0-11.2	< 0.001
高中 vs. 高中以下	1.8	0.8-4.2	0.151
氣喘家族史：有 vs. 無	3.1	1.4-6.6	0.004
家中燒香：有 vs. 無	0.6	0.4-1.1	0.075
家中從事紡織類工作：有 vs. 無	2.7	1.1-6.9	0.034
過敏原測試：陽性 vs. 陰性	4.1	2.5-6.7	< 0.001
TBX21 基因型：			
CT/CC vs. TT	0.1	0.03-1.6	0.204

表四：過敏原測試與 TBX21 基因型於調整後之氣喘發生危險合併效應

變項	過敏原測試陽性			過敏原測試陰性		
	病例組 n = 129	對照組 n = 68	調整後之 RR <sub>m</sub> 值 (95% C.I.) <sup>a</sup>	病例組 n = 45	對照組 n = 106	調整後之 RR <sub>m</sub> 值 (95% C.I.) <sup>a</sup>
TBX21 基因型						
CC/CT	23	16	3.1 (1.4-7.0) **	10	15	2.2 (0.9-5.7)
TT	106	52	5.3 (3.1-9.1) **	35	91	1.0

<sup>a</sup> 相對危險性是調整父母親教育程度、氣喘家族史、家中從事紡織類工作等變項；並且對照是以病例之性別及年齡所配對。

\*\*  $P < 0.01$ 。

表五：於氣喘兒童中，影響嗜伊紅性白血球 (mm<sup>3</sup>) 及血清 IgE (IU/ml) 濃度之可能相關因子

變項	嗜伊紅性白血球			血清 IgE		
	迴歸係數	標準誤	P 值	迴歸係數	標準誤	P 值
截距	268.4	176.6	0.130	20.1	268.2	0.940
年齡：每增加一歲	-4.2	135.3	0.975	27.9	18.7	0.138
性別：男 vs. 女	55.2	62.5	0.379	-33.9	95.0	0.722
父母教育程度						
大學以上 vs. 高中以下	169.9	123.5	0.171	156.6	187.6	0.404
高中 vs. 高中以下	152.3	122.8	0.212	98.6	186.3	0.598
氣喘家族史：有 vs. 無	-21.0	72.4	0.772	171.2	110.0	0.122
在家中從事紡織類工作：有 vs. 無	-60.0	94.3	0.526	-89.2	143.1	0.533
過敏原與 TBX21 基因交互作用						
過敏原陽性且 CC/CT 基因型 vs. 過敏原陰性且 TT 基因型	189.0	101.0	0.063	406.1	153.2	0.009
過敏原陽性且 TT 基因型 vs. 過敏原陰性且 TT 基因型	171.8	73.9	0.021	283.1	112.3	0.012
過敏原陰性且 CC/CT 基因型 vs. 過敏原陰性且 TT 基因型	-4.2	135.3	0.975	-108.1	205.4	0.599