

# 行政院國家科學委員會補助專題研究計畫成果報告

環境與基因對於兒童氣喘的修飾：

環境二手菸暴露與分子防禦基因的效應

計畫類別： 個別型計畫       整合型計畫

計畫編號：NSC 96-2314-B-040-003-

執行期間：2007年 8 月 1 日至2008年 7 月 31 日

計畫主持人：翁瑞宏 副教授

共同主持人：呂克桓 醫師、李鴻森 副教授、郭周彩濃 醫師

計畫參與人員：

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告       完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

赴國外出差或研習心得報告一份

赴大陸地區出差或研習心得報告一份

出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫

及下列情形者外，得立即公開查詢

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

中 華 民 國 97 年 10 月 20 日

## 摘要：

過敏原 (allergen) 與香菸是具有產生反應性氧化產物 (reactive oxygen species [ROS]) 的能力，因此可能貢獻至氣喘的發生上。抗氧化酵素超氧化物歧解酶 (manganese superoxide dismutase [MnSOD]) 可能在發炎防禦機制上擔任要角，可將超氧化自由基 (superoxide radicals) 轉化為過氧化氫 (hydrogen peroxide)；過氧化氫可能接續被骨髓性過氧化酶 (myeloperoxidase [MPO]) 轉變成次氯酸 (hypochlorous acid)，這可以造成上皮細胞的DNA損傷。香菸可引起呼吸道上皮細胞發炎、減少上皮細胞的黏附以及增加分離，而細胞黏附分子上皮細胞黏附蛋白 (E-cadherin) 對於正常結構以及上皮組織的功能之形成與維持，扮演必要的角色；轉化生長因子 (Transforming growth factor [TGF]) ·  $\beta$ 1可藉由對於白血球細胞分化與抑制T淋巴球增生來對於發炎狀態進行調控。因此，超氧化物歧解酶 (MnSOD)、骨髓性過氧化酶 (MPO)、人類上皮細胞黏附蛋白基因 (CDH1) 與TGF- $\beta$ 1基因可能相關於氣喘的發生。在本研究中，我們選取115名氣喘兒童為病例以及230名非氣喘兒童為對照。問卷訪視被執行以獲取人口學資料；兒童的室內二手菸暴露量是以每天暴露香菸支數計算，亦即父母親於兒童在家時抽菸支數的總和。並以皮膚測試或是MAST (Multiple Antigen Simultaneous Test) 檢驗台灣常見空氣過敏原之過敏反應；MnSOD、MPO、CDH1與TGF- $\beta$ 1基因型則是以聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction [PCR]) 判定。我們的結果顯示，MnSOD Ala-Ala/Val-Ala基因型 (RRm = 2.1, 95% C.I. = 1.3-3.5)、CDH1 AA/CA基因型 (RRm = 2.6, 95% C.I. = 1.5-4.5) 與TGF- $\beta$ 1 TT/CT基因型 (RRm = 3.0, 95% C.I. = 1.3-6.5)，是顯著相關於兒童氣喘發生危險。我們以過敏原測試陰性且攜帶MnSOD Val-Val基因型為參考組 (RRm = 1.0)，則過敏原陰性且攜帶MnSOD Ala-Ala/Val-Ala基因型的兒童有3.4倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 1.3-9.3)，過敏原陽性且攜帶MnSOD Val-Val基因型的兒童有6.6倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 3.1-14.3)，過敏原陽性且攜帶MnSOD Ala-Ala/Val-Ala基因型的

兒童也有13.2倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 5.3-32.5)。相較於過敏原測試陰性且攜帶MPO AA基因型的兒童，則過敏原陽性且攜帶MPO GG/GA基因型的兒童具有10.2倍 (95% C.I. = 1.3-82.5) 的氣喘發生危險。而過敏原陽性且攜帶CDH1 AA/CA基因型的兒童相較於過敏原陰性且攜帶CDH1 CC基因型的兒童，具有19.9倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 4.6-87.0)；同樣地相較於過敏原測試陰性且攜帶TGF- $\beta$ 1 CC基因型的兒童，則過敏原陽性且攜帶TGF- $\beta$ 1 TT/CT基因型的兒童具有30.4倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 3.8-243.4)。此外，在過敏原測試陰性的兒童中，每天暴露香菸支數5支以上並且攜帶MnSOD Ala-Ala/Val-Ala基因型的兒童，相較於每天暴露香菸支數0-5支並且攜帶MnSOD Val-Val基因型者具有7.1倍 (95% C.I. = 0.9-55.6, P = 0.06) 的氣喘發生危險。而每天暴露香菸支數5支以上並且攜帶CDH1 AA/CA基因型的過敏原測試陰性的兒童，則較每天暴露香菸支數0-5支並且攜帶CDH1 CC基因型的兒童具有8.5倍 (95% C.I. = 0.9-85.4, P = 0.07) 的氣喘發生危險。而每天暴露香菸支數5支以上並且為TGF- $\beta$ 1 TT/CT基因型的過敏原測試陰性的兒童，也被觀察到具有10.0倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 0.9-118.3, P = 0.07)，相較於每天暴露香菸支數0-5支並且攜帶TGF- $\beta$ 1 CC基因型的過敏原測試陰性之兒童。因此，MnSOD、MPO、CDH1與TGF- $\beta$ 1易感受性基因型對於過敏原與室內二手菸暴露所導致的兒童氣喘發生，可能具有修飾作用。

關鍵詞：含錳超氧化物歧解酶基因、骨髓性過氧化酶基因、人類上皮細胞黏附蛋白基因、轉化生長因子beta 1、室內二手菸暴露、過敏原、兒童氣喘。

## Abstract:

Allergen and cigarette smoke could generate reactive oxygen species (ROS), and might contribute to asthma. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) involves inflammatory defense and converts superoxide radicals into hydrogen peroxides. Hydrogen peroxide was subsequently converted by myeloperoxidase (MPO) into hypochlorous acid and generalizes DNA damages in epithelial cells. Cigarette smoke could cause respiratory epithelium inflammation, decrease epithelial-cell adherence, increase detachment. E-cadherin is responsible for the formation and maintenance of normal architecture and function of epithelial tissues. Transforming growth factor [TGF]- $\beta$ 1 regulates inflammatory states by promoting leucocytes differentiation and inhibiting T lymphocyte proliferation. Therefore, MnSOD, MPO, CDH1, and TGF- $\beta$ 1 gene might be associated with the occurrence of asthma. In our study, we included 115 pediatric asthmatic children as cases and 230 non-asthmatic children as controls. Questionnaires were administered to obtain demographic data. Environmental tobacco smoke (ETS) exposure indicated number of cigarettes smoked daily from subject's parents at home. Allergen test was performed by intracutaneous skin test or Multiple Antigen Simultaneous Test with Taiwan common aeroallergens. Polymerase chain reactions were conducted for MnSOD, MPO, CDH1 and TGF- $\beta$ 1 genetic polymorphisms. Our results showed that MnSOD Ala-Ala/Val-Ala genotypes (matched relative risk [RR<sub>m</sub>] = 2.1, 95% C.I. = 1.3-3.5), CDH1 AA/CA genotypes (RR<sub>m</sub> = 2.6, 95% C.I. = 1.5-4.5), and TGF- $\beta$ 1 TT/CT genotypes (RR<sub>m</sub> = 3.0, 95% C.I. = 1.3-6.5) were significantly associated with the risk of childhood asthma. We selected allergen test-negative children with MnSOD Val/Val genotype as reference (RR<sub>m</sub> = 1.0), allergen test-negative children possessing MnSOD Ala-Ala/Val-Ala genotypes had a 3.4-fold risk of asthma (95% C.I. = 1.3-9.3). For allergen test-positive children, those with MnSOD Val/Val genotype had a 6.6-folds risk (95% C.I. = 3.1-14.3), whereas children carrying MnSOD Ala-Ala/Val-Ala genotypes had a 13.2-fold risk of asthma (95% C.I. = 5.3-32.5). Compared to

allergen test-negative children who carrying MPO AA genotype, allergen test-positive children who carrying MPO GG/GA genotypes had a 10.2-folds risk of asthma (95% C.I. = 1.3-82.5). Allergen-test positive children who carrying CDH1 AA/CA genotypes compared to allergen-test negative children who carrying CDH1 CC genotype, had a 19.9 folds of asthma risk (95% C.I. = 4.6-87.0). Similarly, compared to allergen-test negative children who carrying TGF- $\beta$ 1 CC genotype, allergen-test positive children who carrying TGF- $\beta$ 1 TT/CT genotypes had a 30.4-folds of asthma risk (95% C.I. = 3.8-243.4). In addition, among allergen test-negative children, those exposed to more than 5 cigarettes daily and carrying MnSOD Ala-Ala/Val-Ala genotypes, compared to those exposed to less than 5 cigarettes daily and carrying MnSOD Val-Val genotype, had a 7.1-folds of asthma risk (95% C.I. = 0.9-55.6, P = 0.06). Allergen test-negative children who exposed to more than 5 cigarettes daily and carrying CDH1 AA/CA genotypes, compared to those exposed to less than 5 cigarettes daily and carrying CDH1 CC genotype, had an 8.5-folds of asthma risk (95% C.I. = 0.9-85.4, P = 0.07). Allergen test-negative children who exposed to more than 5 cigarettes daily and carrying TGF- $\beta$ 1 TT/CT genotypes, also had a 10.0-folds of asthma risk (95% C.I. = 0.9-118.3, P = 0.07), compared to those exposed to less than 5 cigarettes daily and carrying TGF- $\beta$ 1 CC genotype. Therefore, MnSOD, MPO, CDH1 and TGF- $\beta$ 1 susceptible genotypes may moderate the occurrences of childhood asthma induced by allergen and environmental tobacco smoke exposure.

Keyword: Manganese superoxide dismutase, myeloperoxidase, E-cadherin, transforming growth factor, environmental tobacco smoke, allergen, childhood asthma

前言：

### 兒童氣喘

氣喘是種與呼吸道阻塞相關的支氣管失調，明顯地伴隨著反覆性突發的呼吸困難 (dyspnea)，以及因為支氣管痙攣收縮所導致的哮喘 (wheeze) [1]。重要的是，台灣兒童在 2002 年的氣喘盛行率已經增加到 12.2% [2]；而兒童是較成人容易產生氣喘，這根源於基因及環境因素的共同作用。傾向發展成氣喘的個體，是因為基因與環境因子決定其易感受性。有許多種誘因會導致氣喘發作的開始或惡化，包括暴露於過敏原 [3, 4]、病毒性呼吸道感染 [5, 6]、以及呼吸道刺激物，例如香菸 [7, 8]、與特定的環境污染物 [9, 10]。

### 室內香菸暴露

人們大多數的時間是在室內；因此，近年來對於室內空氣污染為氣喘之一項危險因子的考量也逐漸提升。室內污染物是眾多的；通常的來源，像是香菸、塵蹣、潮濕、以及寵物。少數的研究已經建議易感受性的個體於室內暴露到環境二手菸 (environmental tobacco smoke [ETS])，與其氣喘症狀相關 [7, 8]；尤其是，環境二手菸暴露被發現與孩童氣喘之發展相關。然而，二手菸影響孩童氣喘的途徑仍然是個謎題；因此，對於環境二手菸誘發孩童氣喘之機制的瞭解是必需的。

### 含錳超氧化物歧解酶與骨髓性過氧化酶

雖然氣喘的病理機制仍舊未被完全釐清，而發炎細胞在病患的肺臟中所增加的數量以及活性則是一項關鍵的觀察 [11, 12]。這些發炎細胞包含了肺泡巨嗜細胞 (alveolar macrophages)、嗜中性白血球 (neutrophils)、嗜伊紅性白血球 (eosinophils)、淋巴細胞 (lymphocytes) 和肥大細胞 (mast cells)、以及在呼吸道內層的上皮細胞，皆有能力可產生

反應性氧化產物 (reactive oxygen species [ROS]) [13-15]。

超氧化物歧解酶 (superoxide dismutase [SOD]) 是防禦的第一線，藉由清除自由基 (free radicals) 所造成的氧化傷害來保護細胞。超氧化物歧解酶已知具有三種型態：分別為細胞質含銅/鋅超氧化物歧解酶 (cytosolic copper/zinc SOD)、細胞外含銅/鋅超氧化物歧解酶 (extracellular copper/zinc SOD) 和粒線體含錳超氧化物歧解酶 (mitochondrial manganese superoxide dismutase; superoxide dismutase 2 [SOD2])。在細胞中，粒線體是反應性氧化產物的主要來源，可經由氧化磷酸化 (oxidative phosphorylation) 路徑而產生其能量的毒性副產物。MnSOD 在細胞質中被合成並且進行後轉錄修飾以運送至粒線體內 [16, 17]。在粒線體中，MnSOD 催化兩個超氧化自由基 (superoxide radicals) 的歧解 (dismutation)，而產生過氧化氫與氧 [18]。MnSOD 也被證實可被自由基暴露 [19] 和香煙所誘導 [20]；在一些研究中，MnSOD 酵素活性也被報告在氣喘病患的上皮組織和紅血球中，是較健康對照為低 [21, 22]。

而 MnSOD 的確實角色並未被完全地瞭解，因為超氧化自由基 (superoxide radicals) 是可被 MnSOD 轉化為過氧化氫 (hydrogen peroxide)，接續可能被釋放到環境中而造成細胞傷害。而過氧化氫然後被骨髓性過氧化酶 (myeloperoxidase [MPO]) 轉變成次氯酸 (hypochlorous acid)，這可以造成鄰近上皮細胞的普遍性 DNA 損傷 [23]。骨髓性過氧化酶是一個從發炎細胞 (主要是嗜中性白血球和巨嗜細胞) 的活化第一級嗜天青顆粒 (azurophilic granules) 所釋放出來的溶酶體血蛋白 (lysosomal hemoprotein)，而且是宿主防禦系統的一部份，來對微生物活性作用以對抗廣泛的有機體。然而，在發炎時的細胞質骨髓性過氧化酶的釋放可能產生次鹵酸 (hypohalous acid) 對宿主 DNA 所導致的氧化傷害。更進一步地，在發炎組織中相較於非無發炎組織，較高的含細胞質骨髓性過氧化酶之嗜中性白血球濃度也被觀察到 [24]。

## MnSOD與MPO基因

人類MnSOD基因是位於染色體 6q25 的位置 [25]，並且MnSOD的基因變異已經被辨識出 [17]；在粒線體標的序列 (mitochondrial targeting sequence) 上的一個鹼基對的置換 (T→C)，被發現可改變訊息胜肽在氨基酸密碼子-9 位置從valine成為alaine。如此氨基酸的改變也改變了蛋白質的二級構造，從 $\alpha$ 螺旋構造成為 $\beta$ -摺頁結構 [17]，並且可能影響酵素的細胞分派以及進入粒線體的MnSOD 粒線體傳輸。MnSOD的無效標的可能會離開粒線體，而使得他們沒有足夠的防禦去對抗超氧化自由基。因為MnSOD是反應性氧化產物 (ROS) 的一個主要清除者，我們因此假設MnSOD A對偶基因因為其減少氧化壓力的能力已經改變，而可能是相關於氣喘的危險。

MPO 基因位於染色體 17q23 上的啟始者區域-463 位置上的 G 至 A 的單一鹼基置換已經被辨識出 [26]；並且是相關於減少的轉錄活性，因為在其 Alu 元素的 SP1 結合位置被崩解 [27]。在 A 對偶基因攜帶者中，此基因相關的較低 MPO 活性可能呈現為一項保護的宿主因子。對偶基因的頻率具有種族上的變異，15%的非裔美洲人 [28]，3-7%的高加索人 [29, 30]，以及 2-3%的日裔太平洋群島居民呈現具有 AA 基因型 [31]。而部分的研究在肉芽腫 (granulomatous disease) [32]、惡性腫瘤 (例如肺) [28, 31] 和咽喉癌 (pharyngeal cancer) [30]、以及阿茲海默症 (Alzheimer's disease) [29] 上，顯示此 MPO 基因的多形性具有病理上的效應。在我們的知識中，MnSOD 和 MPO 在氣喘的發展的分子角色之訊息是有限的；並且，具有 MnSOD 和 MPO 遺傳變異基因型且二手菸暴露的兒童可能有氣喘的增加危險。

## 上皮細胞黏附蛋白



每口氣態的香菸中包含  $10^{20}$  個氧化分子 [33]，並且能夠導致呼吸道上皮的發炎 [34]。因此，氧化/抗氧化的不平衡對於暴露到香菸的個體其上皮細胞的通透性之增加上可能具有一定的角色 [35]；並且香菸也被顯示可減少上皮細胞的黏附以及增加分離 [36]。

氣喘是種呼吸道發炎疾病，而上皮細胞間葉單位顯然在氣喘的機制上是重要的 [37]；氣喘病人的支氣管上皮細胞相較於對照組對象的細胞，其發育較差也較脆弱 [38]。此外，依鈣性的細胞黏附分子上皮細胞黏附蛋白 (E-cadherin) 對於正常結構以及上皮組織的功能之形成與維持，扮演一個必要的角色 [39, 40]；而上皮細胞黏附蛋白減弱的表現，也被視為是項參與在細胞與細胞黏附系統之功用喪失的分子現象，因而加速疾病的發展。

人類上皮細胞黏附蛋白基因 (CDH1) 位於染色體 16q22.1 的位置 [41]。Becker 等人 [42] 首先提出 E-cadherin 突變促使胃癌的組織病理學上之表現，可觀察到同型細胞與細胞間的交互作用減少；可能的機制被認為是 CDH1 突變、或是對偶基因之遺失，可能會影響上皮細胞黏附蛋白的功能。然而，CDH1 之分子角色在氣喘的發展仍然不清楚。更進一步地，Li 等人 [43] 辨識到 CDH1 啟動子在轉譯開始之-160 位置上有 C→A 的單一核苷酸多形性現象；在 *in vitro* 的研究建議這種多形性與前列腺細胞癌 (prostatic carcinoma) 細胞株的基因轉譯之減少具有相關 [43]。除此之外，CDH1 之 DNA 序列變異與胃癌之間的一項相關研究也在台灣人中已被證實 [44]，並且結果顯示病患相較於對照組，在於 CDH1 啟動子-160 位置上之 C→A 多形性，具有較低頻率的 AA 基因型。雖然這種變異已被推測為癌症的可能基因標記，但是具有易感受性 CDH1 的個體與氣喘增加危險的相關性是不清楚的。

## 轉化生長因子beta-1

轉化生長因子 (Transforming growth factor [TGF]) ·  $\beta_1$  是種多功能的細胞激素，參與細胞的調控與增生 [45]。TGF- $\beta_1$  表現在呼吸道上皮細胞 (airway epithelial cells)、嗜伊紅性白血球 (eosinophils)、幫手T第二型淋巴球 (helper T type 2 lymphocytes)、巨噬細胞 (macrophages) 和纖維母細胞 (fibroblasts)，並可能被限制及儲存在呼吸道上皮下方的細胞外基質 [46]。此細胞激素促進白血球細胞的分化，但是在T淋巴球細胞的增生和巨噬細胞的活化上則為抑制的作用，建議在發炎狀態中具有著調控的角色 [47]。TGF- $\beta_1$ 在鼻黏膜發炎反應以及過敏性鼻炎中被呈現出高度地表現，可是並未在正常的鼻黏膜中表現 [48]；TGF- $\beta_1$ 也可能貢獻於鼻腔息肉組織的嗜伊紅性白血球發炎 [49, 50]。TGF- $\beta_1$ 之mRNA濃度在重度氣喘者之嗜伊紅性白血球中相較輕度氣喘者是增加的 [51, 52]；也在氣喘病患相較無氣喘病患之支氣管肺泡灌洗液中有較高的TGF- $\beta_1$ 表現，並且進一步地亦呈現出對過敏原測試更為敏感 [53]。呼吸道重塑主要特徵之一為上皮下方的組織纖維化，且在重度氣喘患者中有增加的趨勢 [51]。TGF- $\beta_1$ 是相關於纖維化的許多特徵，包括細胞外基質 (extracellular matrix [ECM]) 蛋白如膠原蛋白與纖維連接蛋白 (fibronectin) 的沉澱 [54-56]；因此，TGF- $\beta_1$ 對於氣喘的發展是一個極具可能性的候選基因。

TGF- $\beta_1$ 的表現受到TGF- $\beta_1$ 基因多形性所影響。TGF- $\beta_1$ 基因位於染色體 19q13.1-19q13.2的位置 [57]，並且於TGF- $\beta_1$ 基因編碼內的部分基因多形性已經被辨識；特別的是，位於鹼基對-509位置的促進子多形性改變了Yin Yang 1 (YY1) 轉錄因子合理鍵結位置 (-CCATCTC/TG-)，並且也相關於在血漿中TGF- $\beta_1$ 較高的循環濃度 [58]。T對偶基因可增強在TGF- $\beta_1$ 促進子上之YY1 鍵結位置，並且進而增加TGF- $\beta_1$ 的轉錄已經被提出假設 [59]；雖然，如此假說尚未被證實。

## 研究假說

因此，我們執行一個以醫院為基礎之病例對照研究來探討以下假說：

1. 氣喘兒童相較於非氣喘兒童，可能具有較高的 MnSOD 基因多形性之 Ala-Ala 與 Val-Ala 基因型的比例。
2. 氣喘兒童相較於非氣喘兒童，是較可能在 MPO 基因之啟始者區域的-463 G 至 A 的多形性上具有較低的 AA 基因型比例。
3. 氣喘兒童相較於非氣喘兒童，在上皮細胞黏附蛋白啟動子區域 -160 位置之 C→A 多形性，可能具有較高比率的易感受性基因型。
4. 氣喘兒童相較於非氣喘兒童，在 TGF-β1 啟動子區域-509 位置之 C→T 多形性，可能具有較高比率的 T 對偶基因。
5. 過敏原暴露、環境二手菸暴露與 MnSOD、MPO、CDH1 以及和 TGF-β1 基因對於氣喘的產生可能具有交互作用存在。

## 材料與方法：

### 病例與對照之確認

本研究經由中山醫學大學倫理委員會的認可後執行。年齡為 4-12 歲的研究對象從中台灣的中山醫學大學附設醫院被選取，此醫院對於來自所有社會經濟階級的病患皆具有可近性。病例是從中山醫學大學附設醫院的小兒科門診選取，經由小兒科醫生確診，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) [60]。此外，兒童先前不具氣喘的診斷，沒有醫師確認的過敏性疾病病史，例如哮喘和咳嗽等氣喘症狀者，在本研究中被定義為對照。在本研究中，一項 1:2 之病例與對照配對比例被使用；對照個別地與病例的年齡 (±5 歲) 及性別進行配對。所有的

對象必須能夠獲取其疾病史以及同意書。總計，共有 115 名病例與 230 名對照被納入本研究分析中。

### 面談

對於家長所進行的單獨訪視是由我們受過良好訓練的研究人員使用半結構式臨床問卷所進行，問卷所涵蓋的問題包括：人口學特質、生活型態如與兒童共同生活之家戶成員抽菸狀態、家戶燒香狀態、在家是否做紡織類的工作、是否飼養寵物、家戶潮濕程度、過去是否在臥房內觀察到蟑螂、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兒童暴露於環境二手菸之期間；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。

### 過敏原測試

如同Lee等人 [61] 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*)、以及家塵蟎 (*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 5 mm時，陽性皮膚測試則被考慮存在。

### 基因多形性分析

所有研究對象的靜脈血液被收集在含有肝素的採血管中，然後進一步地從分離出血漿、buffy coat以及紅血球；這些樣本必須在當天處理並且儲存在-70°C 下，基因型是以從周邊血液buffy coat所萃取出來的基因組來進行。MnSOD Ala-9Val 基因型的決定，是根

據Ambrosone等人 [62] 於 1999 年所描述的方法所執行。簡單地說，對於MnSOD基因的分析，是先進行聚合酶鏈鎖反應 (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*Ng*oMIV作用點的差異。用以增幅MnSOD基因的引發子序列為 5'-ACC AGC AGG CAG CTG GCG CCG G-3' 以及 5'-GCG TTG ATG TGA GGT TCC AG-3' 5'-GCA CAG CAG CAT CTT CAA ACA TG-3'。0.5- $\mu$ L的DNA模版被加入至包含有 200 ng的引發子、1.5 mM MgCl<sub>2</sub>、0.2 mM 之去氧核苷三磷酸 (dNTPs)、50 mM KCl、10 mM Tris-HCl pH 8.3、以及 0.1%的胎牛血清白蛋白 (BSA)，最終體積以蒸餾水調成 50  $\mu$ l。PCR循環參數組成為 94°C四分鐘的先前培養，接續 35 回合的循環，在 94°C一分鐘 (變性)，61°C一分鐘 (重鍊)，以及 72°C一分鐘 (延展)；反應於最後的 72°C五分鐘的延展後終止。PCR的產物將再進行*Ng*oMIV限制酶消化，消化後產物以 3.0%瓊膠中進行電泳後，再以ethidium bromide染色判讀。同型Val/Val基因型的個體表現出一段 107 bp的產物片段，而同型Ala/Ala基因型的個體顯示出一段 89 bp及一段 18 bp的產物片斷，而異型Val/Ala基因型的個體則具有所有三段產物片段。

相似於MnSOD基因分析，根據London等人 [28] 於 1997 年所描述的方法，以PCR為基礎的RFLP被執行來偵測MPO基因之啟始者區域的Aci I作用點的差異。用以增幅MPO基因的引發子序列為 5'-CGG TAT AGG CAC ACA ATG GTG AG-3'以及 5'-GCA ATG GTT CAA GCG ATT CTT C-3'。在 94°C五分鐘的先前變性後，循環條件如下，35 回合循環在 94°C一分鐘，56°C一分鐘，72°C一分鐘，以及最終於 72°C七分鐘的延展。而PCR的產物然後 37°C下以Aci隔夜消化，並且在 2.5%的瓊膠中分離。同型GG基因型的個體表現出 168、121、以及 61 bp三個產物片斷，而同型AA基因型的個體顯現出一段 289 bp以及一段 61 bp片斷，而異型GA基因型的個體則有全部四個片斷。61 bp片段被使用來當做

內部對照，以確保對於所有三個基因型的合適消化。

對於CDH1 基因之分析所使用的方法是根據 2002 年由Verhage等人 [63] 所描述之研究，來進行聚合酶鏈鎖反應增幅後，接續執行限制片段長度多形性分析，用以偵測在 BstE II 限制酵素辨識點之差異。用以增幅上皮細胞黏附蛋白基因的引發子序列為 5'-TCC CAG GTC TTA GTG AGC CA-3' 及 5'-ACG ACT AAC CGA CAC CGG-3'。在以下的條件執行基因增幅：變性：94°C 1 分鐘，重鍊：57°C 40 秒，延展：72°C 40 秒。PCR 的反應產物再以 BstE II 限制酶消化；攜帶同型合子 AA 基因型的個體呈現出一段 190 bp 之產物片段，攜帶同型合子 CC 基因型的個體有 111 bp 以及 79 bp 兩段產物片段；而攜帶異型合子 CA 基因型的個體則有全部三段產物片段。

相似於 CDH1 基因分析，根據 De Ruyck 等人 [64] 於 2006 年所描述的方法，以 PCR 為基礎的 RFLP 被執行來偵測 TGF- $\beta$ 1 基因之啟始者區域的 Bsu 36I 作用點的差異。用以增幅 TGF- $\beta$ 1 基因的引發子序列為 5'-GCA GTT GGC GAG AAC AGT TG -3' 以及 5'-TGG GTC ACC AGA GAA AGA GG -3'。以下列條件執行 DNA 的增幅：首先在 95°C 執行五分鐘，接續在 95°C 一分鐘進行變性、在 62°C 一分鐘進行重鍊、在 72°C 一分鐘進行延展，總共進行 35 回合。而 PCR 的產物然後 37°C 下以 Bsu 36I 隔夜消化，並且在 2.5% 的瓊膠中分離。同型 TT 基因型的個體表現出 681 bp 一個產物片斷，同型 CC 基因型的個體顯現出一段 193 bp 以及一段 488 bp 片斷，而異型 CT 基因型的個體則有全部三個片斷。

### 統計分析

對於 MnSOD 基因型、MPO 基因型、CDH1 基因型、TGF- $\beta$ 1 基因型、氣喘家族史、室內二手菸暴露狀態、室內燒香狀態、在家是否做紡織類的工作、過去是否在臥房內觀察到蟑螂、寵物飼養、家戶潮濕狀態、以及過敏原測試等對於兒童氣喘發生的配對之相

對危險性 (matched relative risk [RR<sub>m</sub>]) 以及相對應的 95%信賴區間 (95% confidence interval [CI]) 是使用條件式對數迴歸模式 (conditional logistic regression model) 來進行評估。此外，過敏原暴露、二手菸暴露狀態與易感受性MnSOD、MPO、CDH1、TGF-β1 也一起以多變項條件式對數迴歸模式來決定其與氣喘發展的相關。所有的P值將是以用雙尾檢定來判定。

### 結果：

總計，345 名兒童 (228 名男生與 117 名女生) 參與本研究，其年齡範圍從四至十二歲 (平均 9.7 歲)。研究對象之基本特徵及MnSOD、MPO、CDH1 及TGF-β1 基因型分布頻率被呈現於表一。84.1%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<sub>m</sub> = 4.3; 95% C.I. = 2.0-9.4, *P* < 0.01) 或高中 (RR<sub>m</sub> = 1.7; 95% C.I. = 0.8-3.6) 之兒童相較於父母的教育程度為高中以下之兒童，分別具有較高的氣喘發生危險性。相較於對照，顯著較高比例的氣喘家族史在我們的病例中被發現 (RR<sub>m</sub> = 3.3; 95% C.I. = 1.7-6.6, *P* < 0.01)。而攜帶MnSOD Val-Ala基因型的兒童相較於攜帶MnSOD Val-Val基因型的兒童，有 2.3 倍之氣喘發生危險性 (95% C.I. = 1.4-3.8, *P* < 0.01); 而攜帶MPO GA基因型的兒童相較於攜帶MPO AA基因型的兒童，也呈現 2.3 倍之氣喘發生危險性 (95% C.I. = 1.0-5.2, *P* = 0.05)。此外，攜帶CDH1 AA基因型或CA基因型的兒童相較於攜帶CDH1 CC基因型的兒童，分別呈現 2.4 倍 (95% C.I. = 1.1-5.5, *P* = 0.03) 與 2.6 倍 (95% C.I. = 1.5-4.6, *P* < 0.01) 之氣喘發生危險性；同樣地，攜帶TGF-β1 TT與CT基因型的兒童相較於攜帶TGF-β1 CC基因型的兒童，也分別有 2.1 倍 (95% C.I. = 0.9-5.0) 及 3.5 倍 (95% C.I. = 1.5-7.7, *P* < 0.01) 之氣喘發生危險性。將MnSOD Ala-Ala與Val-Ala基因型合併考慮，則攜帶MnSOD Ala-Ala/Val-Ala基因型的兒童相較於攜帶MnSOD Val-Val基因型的兒童，仍然

呈現 2.1 倍之氣喘發生危險性 (95% C.I. = 1.3-3.5,  $P < 0.01$ )。當我們將MPO GG與GA基因型合併考慮，則攜帶MPO GG/GA基因型的兒童相較於攜帶MPO AA基因型的兒童，也有 1.6 倍之氣喘發生危險性 (95% C.I. = 0.8-3.4)。當我們將CDH1 AA與CA基因型合併考慮，則攜帶CDH1 AA/CA基因型的兒童相較於攜帶CDH1 CC基因型的兒童，仍有 2.6 倍之氣喘發生危險性 (95% C.I. = 1.5-4.6,  $P < 0.01$ )。同樣地，將TGF- $\beta$ 1 TT與CT基因型合併考慮，則攜帶TGF- $\beta$ 1 TT/CT基因型的兒童相較於攜帶TGF- $\beta$ 1 CC基因型的兒童，也呈現 3.0 倍之氣喘發生危險性 (95% C.I. = 1.3-6.5,  $P < 0.01$ )。

進一步地，各種環境因子對於氣喘發生之配對後相對危險性被呈現於表二。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，具有較低的氣喘發生危險 ( $RR_m = 0.8$ ; 95% C.I. = 0.5-1.4)。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家中沒有從事紡織類工作的兒童，有顯著較高的氣喘發生危險性 ( $RR_m = 2.7$ ; 95% C.I. = 1.2-6.0,  $P < 0.01$ )。而兒童氣喘增加危險也是相關於過敏原測試陽性，相較於過敏原測試為陰性者 ( $RR_m = 5.8$ ; 95% C.I. = 3.4-10.0,  $P < 0.01$ )。然而，並無顯著相關於父母親抽菸狀況、二手菸暴露、飼養寵物、寢室是否有蟑螂及家中潮溼度與孩童氣喘發展間被發現。

兒童氣喘之相對危險性被計算以探討過敏原測試結果與易感受性基因型之合併效應，結果呈現於表三。在調整氣喘家族史、父母親教育程度、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MnSOD Val-Val基因型的兒童為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，發現過敏原陽性之兒童攜帶MnSOD Ala-Ala基因型 ( $RR_m = 6.2$ ; 95% C.I. = 0.2-62.1,  $P = 0.12$ )、Val-Ala基因型 ( $RR_m = 12.9$ ; 95% C.I. = 5.2-32.1,  $P < 0.01$ ) 以及 Val-Val基因型 ( $RR_m = 6.6$ ; 95% C.I. = 3.1-14.2,  $P < 0.01$ ) 的兒童皆有明顯較高的氣喘發生危險。當我們將MnSOD Ala-Ala與Val-Ala基因型合併考慮，同樣以過敏原測試陰性且



攜帶MnSOD Val-Val基因型的兒童為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，則過敏原陰性且攜帶MnSOD Ala-Ala/Val-Ala基因型的兒童有 3.4 倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 1.3-9.3,  $P = 0.02$ )，過敏原陽性且攜帶MnSOD Val-Val基因型的兒童有 6.6 倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 3.1-14.3,  $P < 0.01$ )，過敏原陽性且攜帶MnSOD Ala-Ala/Val-Ala基因型的兒童也有 13.2 倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 5.3-32.5,  $P < 0.01$ )。當MnSOD基因型於統計分析中被MPO 基因型所取代時，同樣以過敏原測試陰性且攜帶MPO AA基因型的兒童為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，發現過敏原陽性且攜帶MPO GG基因型或GA基因型的兒童分別有 9.4 倍 (95% C.I. = 1.2-76.5,  $P = 0.04$ ) 與 14.3 倍 (95% C.I. = 1.6-126.6,  $P = 0.02$ ) 的氣喘發生危險。當MPO GG與GA基因型被合併計算時，同樣以過敏原測試陰性且攜帶MPO AA基因型為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，則過敏原陰性且攜帶MPO GG/GA基因型的兒童具有 1.9 倍 (95% C.I. = 0.2-15.7) 的氣喘發生危險，過敏原陽性且攜帶MPO AA基因型的兒童具有 4.4 倍 (95% C.I. = 0.5-40.8) 的氣喘發生危險，而過敏原陽性且攜帶MPO易感受性GG/GA基因型的兒童則具有最高的 10.2 倍 (95% C.I. = 1.3-82.5,  $P = 0.03$ ) 的氣喘發生危險。

而以過敏原測試陰性且攜帶CDH1 CC基因型的兒童為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，發現過敏原陽性之兒童攜帶CDH1 AA基因型 ( $RR_m = 18.2$ ; 95% C.I. = 3.4-95.6,  $P < 0.01$ )、CA基因型 ( $RR_m = 20.3$ ; 95% C.I. = 4.6-89.6,  $P < 0.01$ ) 以及CC基因型 ( $RR_m = 8.3$ ; 95% C.I. = 1.7-39.1,  $P < 0.01$ ) 的兒童皆有明顯較高的氣喘發生危險。當我們將CDH1 AA與CA基因型合併考慮，同樣以過敏原測試陰性且攜帶CDH1 CC基因型的兒童為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，則過敏原陰性且攜帶CDH1 AA/CA基因型的兒童有 3.9 倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 0.9-17.9)，過敏原陽性且攜帶CDH1 CC基因型的兒童有 8.3 倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 1.7-39.0,  $P < 0.01$ )，過敏原陽性且攜帶CDH1 AA/CA基因型的兒童則有 19.9 倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 4.6-87.0,  $P < 0.01$ )。在CDH1 基因型於統計分析中被TGF- $\beta$ 1 基因型

所取代時，同樣以過敏原測試陰性且攜帶TGF- $\beta$ 1 CC基因型的兒童為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，發現過敏原陰性且攜帶TGF- $\beta$ 1 CT基因型的兒童有 9.3 倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 1.1-79.0,  $P = 0.04$ )，而過敏原陽性且攜帶TGF- $\beta$ 1 TT基因型、CT基因型或CC基因型的兒童分別有 19.9 倍 (95% C.I. = 2.4-168.3,  $P < 0.01$ )、39.2 倍 (95% C.I. = 4.6-320.9,  $P < 0.01$ ) 與 24.3 倍 (95% C.I. = 2.4-242.6,  $P < 0.01$ ) 的氣喘發生危險。當TGF- $\beta$ 1 TT與CT基因型被合併計算時，同樣以過敏原測試陰性且攜帶TGF- $\beta$ 1 CC基因型的兒童為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，則過敏原陰性且攜帶TGF- $\beta$ 1 TT/CT基因型的兒童具有 7.2 倍 (95% C.I. = 0.9-59.3,  $P = 0.07$ ) 的氣喘發生危險，過敏原陽性且攜帶TGF- $\beta$ 1 CC基因型的兒童具有 24.3 倍 (95% C.I. = 2.4-242.6,  $P < 0.01$ ) 的氣喘發生危險，而過敏原陽性且攜帶TGF- $\beta$ 1 易感受性TT/CT基因型的兒童則具有最高的 30.4 倍 (95% C.I. = 3.8-243.4,  $P < 0.01$ ) 的氣喘發生危險。

隨後，在具有不同過敏原反應的兒童中，評估室內二手菸暴露與MnSOD、MPO、CDH1及TGF- $\beta$ 1 基因型對於氣喘發生之合併危險，結果如表四。在過敏原測試陽性的兒童中，以每天暴露香菸支數 0-5 支並且攜帶MnSOD Val-Val基因型者為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，每天暴露香菸支數 0-5 支並且為MnSOD Ala-Ala/Val-Ala基因型者，有顯著較高的 2.2 倍兒童氣喘發生之危險 (95% C.I. = 1.0-4.9,  $P = 0.04$ )；而每天暴露香菸支數大於 5 支的兒童，其MnSOD基因不論是Val-Val基因型 ( $RR_m = 1.5$ ; 95% C.I. = 0.4-5.4) 或Ala-Ala/Val-Ala基因型 ( $RR_m = 1.7$ ; 95% C.I. = 0.7-4.2)，也被觀察到有較高兒童氣喘發生之危險，但是並未達到統計顯著性。在過敏原測試陰性的兒童中，同樣以每天暴露香菸支數 0-5 支並且攜帶MnSOD Val-Val基因型者為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，每天暴露香菸支數大於 5 支並且攜帶MnSOD Val-Val基因型以及每天暴露香菸支數 0-5 支並且攜帶MnSOD Ala-Ala/Val-Ala基因型的兒童分別有 3.0 倍 (95% C.I. = 0.7-13.4) 以及 4.5 倍 (95% C.I. = 1.3-15.7,  $P = 0.02$ )

的氣喘發生危險。而每天暴露香菸支數 5 支以上並且攜帶MnSOD Ala-Ala/Val-Ala基因型的兒童，則有最高的 7.1 倍 (95% C.I. = 0.9-55.6,  $P = 0.06$ ) 的氣喘發生危險。當MnSOD基因型於統計分析中被MPO基因型所取代時，同樣地在過敏原測試陽性之兒童中，以每天暴露香菸支數 0-5 支並且攜帶MPO AA基因型者為參考族群 ( $RR_m = 1.0$ )，則每天暴露香菸支數 0-5 支並且為MPO GG/GA基因型者，被觀察到具有 2.5 倍的兒童氣喘發生之危險 (95% C.I. = 0.9-6.9,  $P = 0.08$ )；而每天暴露香菸支數 5 支以上並且為MPO GG/GA基因型的兒童，也被觀察到具有 3.1 倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 0.9-10.2,  $P = 0.06$ )。然而，MPO基因型與室內二手菸暴露對於兒童氣喘發生之關係並未有任何統計顯著相關，在過敏原測試陰性的兒童中被觀察到。

在過敏原測試陽性的兒童中，以每天暴露香菸支數 0-5 支並且攜帶CDH1 CC基因型者為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，每天暴露香菸支數 0-5 支並且為CDH1 AA/CA基因型者，有 1.9 倍兒童氣喘發生之危險 (95% C.I. = 0.9-4.2,  $P = 0.10$ )；而每天暴露香菸支數大於 5 支的兒童，其CDH1 基因攜帶AA/CA基因型者被觀察到具有較高兒童氣喘發生之危險 ( $RR_m = 3.1$ ; 95% C.I. = 1.1-8.5,  $P = 0.03$ )。在過敏原測試陰性的兒童中，同樣以每天暴露香菸支數 0-5 支並且攜帶CDH1 CC基因型者為參考組 ( $RR_m = 1.0$ )，每天暴露香菸支數大於 5 支並且攜帶CDH1 CC基因型、以及每天暴露香菸支數 0-5 支並且攜帶CDH1 AA/CA基因型的兒童分別有 3.3 倍 (95% C.I. = 0.2-60.8,  $P = 0.42$ ) 以及 5.0 倍 (95% C.I. = 0.6-41.0,  $P = 0.13$ ) 的氣喘發生危險；而每天暴露香菸支數 5 支以上並且攜帶CDH1 AA/CA基因型的兒童，則有最高的 8.5 倍 (95% C.I. = 0.9-85.4,  $P = 0.07$ ) 的氣喘發生危險。當CDH1 基因型於統計分析中被TGF- $\beta$ 1 基因型所取代時，在過敏原測試陰性之兒童中，以每天暴露香菸支數 0-5 支並且攜帶TGF- $\beta$ 1 CC基因型者為參考族群 ( $RR_m = 1.0$ )，則每天暴露香菸支數 0-5 支並且為TGF- $\beta$ 1 TT/CT基因型者，被觀察到具有 5.7 倍的兒童氣喘發生之危險 (95%

C.I. = 0.6-56.0,  $P = 0.13$ ); 而每天暴露香菸支數 5 支以上並且為 TGF- $\beta$ 1 TT/CT 基因型的兒童, 更被觀察到具有 10.0 倍的氣喘發生危險 (95% C.I. = 0.9-118.3,  $P = 0.07$ )。然而 TGF- $\beta$ 1 基因型與室內二手菸暴露對於兒童氣喘發生之關係並未有任何統計顯著相關, 在過敏原測試陽性的兒童中被觀察到。

## 討論：

在我們的研究中, 兒童氣喘發生顯著危險是相關於個體過敏原測試之結果。並且, 分別相較於過敏原陰性且攜帶 MnSOD Val/Val 或 MPO AA 基因型和 CDH1 CC 或 TGF- $\beta$ 1 CC 基因型的兒童, 攜帶 MnSOD Ala-Ala/Val-Ala 基因型或 MPO GG/GA 基因型和攜帶 CDH1 AA/CA 基因型或 TGF- $\beta$ 1 TT/CT 基因型的兒童也有顯著較高的氣喘發生危險。進一步地, 每天於室內暴露香菸支數大於 5 支並且攜帶 CDH1 AA/CA 基因型者, 相較於每天於室內暴露香菸支數小於 5 支並且攜帶 CDH1 CC 基因型者, 具有較高的兒童氣喘發生之危險。

氣喘是多因子的症狀, 許多種誘因會導致氣喘發作的開始或惡化, 包括暴露於過敏原 [3, 4] 以及香菸 [7, 8]。過敏原試驗已常被用來檢驗是否個體具有異位性疾病 [3, 61], 在我們的研究中, 台灣常見過敏原 [61], 包括家中的灰塵、家塵蟎與美洲蟑螂則被用來加以評估。過敏原致敏是氣喘發生的重要危險因子之一 [3, 4], 在我們現今的研究中, 81.5% 的氣喘兒童病例呈現具有至少一種過敏原致敏反應。具異位性疾病的個體中, 致敏的現象是直接相關於其體內免疫對於過敏原的改變反應; 並且傾向於免疫球蛋白 IgE 的產生 [65]。因為組織的傷害與發炎可導致氧化壓力的增加, 因此良好的抗氧化狀態可能減輕過敏性疾病的症狀。

MnSOD 可催化兩個超氧化自由基的歧解, 而產生過氧化氫與氧 [18]。在一些研究

中，MnSOD酵素活性也被報告在氣喘病患的上皮組織和紅血球中，是較健康對照為低 [21, 22]。而人類MnSOD在粒線體標的序列 (mitochondrial targeting sequence) 上的一個鹼基對的置換 (T→C)，被發現可改變訊息胜肽在氨基酸密碼子-9 位置從valine成為alaine [17]，並且可能影響酵素的細胞分派以及進入粒線體的MnSOD 粒線體傳輸。MnSOD的無效標的可能會離開粒線體，而使得他們沒有足夠的防禦能力去對抗超氧化自由基。進一步地，IgE相關的機制可能會直接促使嗜中性白血球釋放MPO [66]，而過氧化氫然後被MPO轉變成為次氯酸 (hypochlorous acid)，這可以造成鄰近上皮細胞的普遍性DNA損傷 [23]。原先的研究也觀察到，在發炎組織中相較於非無發炎組織，具有較高的含細胞質骨髓性過氧化酶之嗜中性白血球濃度 [24]。MPO基因位於染色體 17q23 上的啟始者區域-463 位置上的G至A的單一鹼基置換是相對於減少的轉錄活性，因為在其Alu元素的SP1 結合位置被崩解 [27]。在G對偶基因攜帶者中，此基因相關的較高MPO活性可能呈現為一項危險的宿主因子。而在我們的研究中，分別相較於過敏原陰性且攜帶MnSOD Val/Val或MPO AA基因型的兒童，攜帶MnSOD Ala-Ala/Val-Ala基因型或MPO GG/GA基因型的兒童具有顯著較高的氣喘發生危險。這可能是具致敏的個體傾向於免疫球蛋白IgE的產生 [65]；進而導致氧化壓力的增加，但是一旦個體攜帶MnSOD或MPO易感受性基因，就可能缺乏減少氧化壓力的防禦能力，而使致敏的兒童容易發展成氣喘。

在我們過敏原陽性的兒童中，也被觀察到每天暴露香菸支數 0-5 支並且為 MnSOD Ala-Ala/Val-Ala 基因型者，有顯著較高的氣喘發生之危險；而每天暴露香菸支數大於 5 支的兒童，其 MnSOD 基因不論是 Val-Val 或 Ala-Ala/Val-Ala 基因型，也具有較高之氣喘發生危險，但是並未達到統計顯著性。有趣的是，在過敏原測試陰性的兒童中，每天暴露香菸支數 5 支以上並且攜帶 MnSOD Ala-Ala/Val-Ala 基因型的兒童，則有最高的 7.1 倍的氣喘發生危險。此結果的可能解釋是 MnSOD 負責催化超氧化自由基的歧解，所以當

僅暴露過敏原或香煙時，個體若攜帶 MnSOD 易感受性基因型，則容易導致細胞氧化傷害的發生；然而個體同時暴露過敏原與香煙時，可能誘導出較多 MnSOD 酵素活性以清除氧化傷害，因此並無法在同時為過敏原陽性且室內二手菸暴露較多量的兒童中，觀察到具有較高的氣喘發生危險。此外，我們也觀察到在過敏原陰性的兒童中，每天暴露香菸支數 0-5 支並且攜帶 MnSOD Ala-Ala/Val-Ala 基因型的兒童具有 4.5 倍的氣喘發生危險。一個解釋的原因是這些兒童可能暴露到本研究所測試之過敏原或香煙之外的致病原所導致之氧化傷害的結果；而這些推論都需要未來研究加以驗證。此外，我們也觀察到在過敏原陽性的兒童中，每天暴露香菸支數 0-5 支並且為 MPO GG/GA 基因型者與每天暴露香菸支數 5 支以上並且為 MPO GG/GA 基因型的兒童，分別具有 2.5 倍與 3.1 倍的兒童氣喘發生危險；然而如此相關在過敏原測試陰性的兒童中被未被觀察到。這結果可能是過敏兒童的 IgE 相關機制促使嗜中性白血球釋放 MPO [66]，而將過氧化氫轉變成次氯酸，造成呼吸道上皮細胞的損傷 [23]，因而導致氣喘。而在非過敏的兒童中，可能並無較高的 IgE 產生，以促使嗜中性白血球釋放出更多的 MPO 酵素。

過敏原的暴露可能會增加呼吸道上皮細胞的增生及發炎 [67]，而過敏性呼吸道的發炎反應可能是藉由 Type 2 T 輔助細胞產生的細胞激素所造成，進一步形成氣喘 [68]。在我們的研究中，我們也觀察到 CDH1 基因型與兒童氣喘之發生是具有相關性。依鈣性的細胞黏附分子上皮細胞黏附蛋白 (E-cadherin) 對於正常結構以及上皮組織的功能之形成與維持，扮演一個必要的角色 [39, 40]。此外，氣喘病人的支氣管上皮細胞相較於對照組對象的細胞，其發育較差也較脆弱 [38]；而先前的研究也指出 CDH1 A 對偶基因具有較少的基因轉譯 [43]，較缺乏轉譯因子結合強度，因此可能相較於 C 對偶基因是較無法表現上皮細胞黏附蛋白的功能。

先前研究已經證實室內二手菸的暴露與氣喘間的關連性 [7, 8]，但是室內二手菸暴

露對於兒童氣喘發生的致病機轉，至今仍不清楚。氣態的香菸中包含氧化分子，並且能夠導致呼吸道上皮的發炎 [33, 34]；進一步地促使上皮細胞產生損害並且需要進行結構重塑 (remodeling)。而香菸也被顯示可減少上皮細胞的黏附以及增加分離 [36]。在我們的研究中，相較於攜帶 CDH1 CC 基因型的兒童，攜帶 CDH1 AA/CA 基因型的兒童具有顯著較高的氣喘發生危險；特別是暴露於室內二手菸支數較多的兒童。重要的是，我們的過敏原陽性的兒童也被觀察到，每天暴露香菸支數 0-5 支並且為 CDH1 AA/CA 基因型者，有較高的氣喘發生之危險；而每天暴露香菸支數大於 5 支的兒童，其攜帶 CDH1 AA/CA 基因型者，更具有 3.1 倍之氣喘發生危險，並達到統計上顯著性。這可能是兒童暴露於過敏原及香菸所導致的發炎，並且無法維持呼吸道上皮組織結構的共同後果。

呼吸道重塑主要特徵之一為上皮下方的組織纖維化，且在重度氣喘患者中有增加的趨勢 [51]。TGF- $\beta$ 1 是相關於纖維化的許多特徵，包括細胞外基質蛋白的沉澱 [54-56]。TGF- $\beta$ 1 基因-509 位置的促進子多形性改變了 Yin Yang 1 (YY1) 轉錄因子合理鍵結位置 (-CCATCTC/TG-)，並且也相關於在血漿中 TGF- $\beta$ 1 較高的循環濃度 [58]。T 對偶基因可增強在 TGF- $\beta$ 1 促進子上之 YY1 鍵結位置，並且進而增加 TGF- $\beta$ 1 的轉錄已經被提出假設 [59]。在本研究中，我們則觀察到攜帶 TGF- $\beta$ 1-509 T 對偶基因的兒童具有較高的氣喘發生危險。進一步地，過敏原也可能藉由 activin A 誘導 TGF- $\beta$ 1 而產生呼吸道的重塑 [69]。在我們的研究中，相較於過敏原陰性且攜帶 TGF- $\beta$ 1 CC 基因型的兒童，攜帶 TGF- $\beta$ 1 TT/CT 基因型的兒童具有顯著較高的氣喘發生危險，特別是過敏原陽性的兒童。這可能的解釋是一旦致敏的兒童體內產生較高的 TGF- $\beta$ 1 濃度，則較易產生呼吸道上皮細胞下方纖維化，進而造成呼吸道的重塑 [70]，使致敏的兒童容易發展成氣喘。此外，在過敏原陰性的兒童中，二手菸暴露較多之 TGF- $\beta$ 1 TT/CT 基因型的兒童具有較高的氣喘發生危險，但此結果在過敏原陽性的兒童中，並未被觀察到。一個可能的推論是兒童若為過敏體質，

室內二手菸暴露對於過敏原陽性兒童所造成的氣喘發生危險則較不容易顯現，而室內二手菸暴露對於過敏原陰性的兒童所產生的影響而相對較為明顯。

有趣的是，我們也觀察到父母親高教育程度與兒童氣喘發生具有顯著的相關性。Martinez等人 [71] 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 (antigen-presenting cell [APC]) 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+T<sub>H</sub>朝T<sub>H1</sub>分化 [72, 73]。因此，高教育程度的父母親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T<sub>H1</sub>及T<sub>H2</sub>分化的重要因素；這也可能是兒童氣喘的貢獻因素。氣喘家族聚集性已被證實 [74]，而這也建議著具有氣喘家族史之兒童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共同環境因素所導致之結果。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源而導致氣喘的發生之影響是重要的。然而，我們也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在棉屑上，而使兒童在吸入這些過敏原後產生氣喘 [75]。其他被認為與氣喘有相關之環境危險因子，如飼養寵物及寢室中有蟑螂等變項，發現相似之較低的氣喘發生相對危險性。而相似的現象也被觀察到，於家中燒香行為與氣喘危險之間具有一個相反的相關。此外，在我們的研究中，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。在本研究中，健康對照之MnSOD Ala對偶基因 (12.0%) 與MPO A對偶基因的比例 (24.3%) 的比例則是接近於原先以日本人所進行的研究結果 (MnSOD Ala對偶基因, 14.0%; MPO A對偶基因, 16.9%) [31, 76]；CDH1 A對偶基因 (38.0%) 與TGF-β1 T對偶基因的比例 (56.3%) 則是接近於原先以台灣人及香港華人所進行的研究結果 (CDH1 A對偶基因, 33.7%; TGF-β1 T對偶基因, 58.3%) [44, 77]；而這些結果可以確定我們對於基因型的偵



測技術是可信的。

總體而言，我們的結果顯示攜帶 MnSOD、MPO、CDH1 或 TGF- $\beta$ 1 基因型可能增加台灣兒童氣喘的發生，特別是過敏原測試為陽性且具有室內二手菸暴露之 MnSOD、MPO、CDH1 和 TGF- $\beta$ 1 易感受性基因型的兒童，可能需要更密集的醫療篩檢，特別是針對氣喘。

#### 參考文獻：

1. 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. pp1456-63, 2001.
2. 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.
3. 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 and Clinical Immunology*. 98(1):64-72, 1996.
4. Leaderer BP. Belanger K. Triche E. Holford T. Gold DR. Kim Y. Jankun T. Ren P. McSharry Je 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.
5. Oddy WH. de Klerk NH. Sly PD. Holt PG. The effects of respiratory infections, atopy, and breastfeeding on childhood asthma. *European Respiratory Journal*. 19(5):899-905, 2002.
6. Jacoby DB. Virus-induced asthma attacks. *JAMA*. 287(6):755-61, 2002.

7. Zheng T. Niu S. Lu B. Fan X. Sun F. Wang J. Zhang Y. Zhang B. Owens P. Hao L. Li Y. Leaderer B. Childhood asthma in Beijing, China: a population-based case-control study. *American Journal of Epidemiology*. 156(10):977-83, 2002.
8. Gilliland FD. Li YF. Dubeau L. Berhane K. Avol E. McConnell R. Gauderman WJ. Peters JM. Effects of glutathione S-transferase M1, maternal smoking during pregnancy, and environmental tobacco smoke on asthma and wheezing in children. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 166(4):457-63, 2002.
9. von Klot S. Wolke G. Tuch T. Heinrich J. Dockery DW. Schwartz J. Kreyling WG. Wichmann HE. Peters A. Increased asthma medication use in association with ambient fine and ultrafine particles. *European Respiratory Journal*. 20(3):691-702, 2002.
10. Ostro B. Lipsett M. Mann J. Braxton-Owens H. White M. Air pollution and exacerbation of asthma in African-American children in Los Angeles. *Epidemiology*. 12(2):200-8, 2001.
11. Chung KF. Role of inflammation in the hyperreactivity of the airways in asthma. *Thorax*. 41(9):657-62, 1986.
12. Barnes PJ. New concepts in the pathogenesis of bronchial hyperresponsiveness and asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 83(6):1013-26, 1989.
13. Calhoun WJ. Reed HE. Moest DR. Stevens CA. Enhanced superoxide production by alveolar macrophages and air-space cells, airway inflammation, and alveolar macrophage density changes after segmental antigen bronchoprovocation in allergic subjects. *American Review of Respiratory Disease*. 145(2 Pt 1):317-25, 1992.
14. Vachier I. Damon M. Le Doucen C. de Paulet AC. Chanez P. Michel FB. Godard P. Increased oxygen species generation in blood monocytes of asthmatic patients. *American Review of Respiratory Disease*. 146(5 Pt 1):1161-6, 1992.
15. Jarjour NN. Calhoun WJ. Enhanced production of oxygen radicals in asthma. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*. 123(1):131-6, 1994.

16. Wispe JR. Clark JC. Burhans MS. Kropp KE. Korfhagen TR. Whitsett JA. Synthesis and processing of the precursor for human manganese-superoxide dismutase. *Biochimica et Biophysica Acta*. 994(1):30-6, 1989.
17. Shimoda-Matsubayashi S. Matsumine H. Kobayashi T. Nakagawa-Hattori Y. Shimizu Y. Mizuno Y. Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene. A predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in Parkinson's disease. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 226(2):561-5, 1996.
18. Robinson BH. The role of manganese superoxide dismutase in health and disease. *Journal Inherited Metabolic Disease*. 21(5):598-603, 1998.
19. Rohrdanz E. Kahl R. Alterations of antioxidant enzyme expression in response to hydrogen peroxide. *Free Radical Biology and Medicine*. 24(1):27-38, 1998.
20. Gilks CB. Price K. Wright JL. Churg A. Antioxidant gene expression in rat lung after exposure to cigarette smoke. *American Journal of Pathology*. 152(1):269-78, 1998.
21. Fenech AG. Ellul-Micallef R. Selenium, glutathione peroxidase and superoxide dismutase in maltese asthmatic patients: effect of glucocorticoid administration. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics*. 11(4):301-8, 1998.
22. De Raeve HR. Thunnissen FB. Kaneko FT. Guo FH. Lewis M. Kavuru MS. Secic M. Thomassen MJ. Erzurum SC. Decreased Cu,Zn-SOD activity in asthmatic airway epithelium: correction by inhaled corticosteroid in vivo. *American Journal of Physiology*. 272(1 Pt 1):L148-54, 1997.
23. Prutz WA. Interactions of hypochlorous acid with pyrimidine nucleotides, and secondary reactions of chlorinated pyrimidines with GSH, NADH, and other substrates. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 349(1):183-91, 1998.
24. Bundred NJ. Dover MS. Aluwihare N. Faragher EB. Morrison JM. Smoking and periductal

- mastitis. *BMJ*. 307(6907):772-3, 1993.
25. Wan XS. Devalaraja MN. St Clair DK. Molecular structure and organization of the human manganese superoxide dismutase gene. *DNA Cell Biology*. 13(11):1127-36, 1994.
  26. Austin GE. Lam L. Zaki SR. Chan WC. Hodge T. Hou J. Swan D. Zhang W. Racine M. Whitsett C. Brown T. Sequence comparison of putative regulatory DNA of the 5' flanking region of the myeloperoxidase gene in normal and leukemic bone marrow cells. *Leukemia*. 7(9):1445-50, 1993.
  27. Piedrafita FJ. Molander RB. Vansant G. Orlova EA. Pfahl M. Reynolds WF. An Alu element in the myeloperoxidase promoter contains a composite SP1-thyroid hormone-retinoic acid response element. *Journal of Biological Chemistry*. 271(24):14412-20, 1996.
  28. London SJ. Lehman TA. Taylor JA. Myeloperoxidase genetic polymorphism and lung cancer risk. *Cancer Research*. 57(22):5001-3, 1997.
  29. Reynolds WF. Rhees J. Maciejewski D. Paladino T. Sieburg H. Maki RA. Masliah E. Myeloperoxidase polymorphism is associated with gender specific risk for Alzheimer's disease. *Experimental Neurology*. 155(1):31-41, 1999.
  30. Cascorbi I. Henning S. Brockmoller J. Gephart J. Meisel C. Muller JM. Loddenkemper R. Roots I. Substantially reduced risk of cancer of the aerodigestive tract in subjects with variant--463A of the myeloperoxidase gene. *Cancer Research*. 60(3):644-9, 2000.
  31. Le Marchand L. Seifried A. Lum A. Wilkens LR. Association of the myeloperoxidase -463G-->a polymorphism with lung cancer risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*. 9(2):181-4, 2000.
  32. Foster CB. Lehrnbecher T. Mol F. Steinberg SM. Venzon DJ. Walsh TJ. Noack D. Rae J. Winkelstein JA. Curnutte JT. Chanock SJ. Host defense molecule polymorphisms influence the risk for immune-mediated complications in chronic granulomatous disease. *Journal of*

- Clinical Investigation. 102(12):2146-55, 1998.
33. Pryor WA. Stone K. Oxidants in cigarette smoke. Radicals, hydrogen peroxide, peroxyxynitrate, and peroxyxynitrite. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 686:12-27, 1993.
  34. Rahman I. Skwarska E. MacNee W. Attenuation of oxidant/antioxidant imbalance during treatment of exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease. *Thorax*. 52(6):565-8, 1997.
  35. Lannan S. Donaldson K. Brown D. MacNee W. Effect of cigarette smoke and its condensates on alveolar epithelial cell injury in vitro. *American Journal of Physiology*. 266(1 Pt 1):L92-100, 1994.
  36. Jeffery PK. Remodeling in asthma and chronic obstructive lung disease. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 164(10 Pt 2):S28-38, 2001.
  37. Holgate ST. Davies DE. Lackie PM. Wilson SJ. Puddicombe SM. Lordan JL. Epithelial-mesenchymal interactions in the pathogenesis of asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 105(2 Pt 1):193-204, 2000.
  38. Campbell A. Vignola A. Chanez P. Couret I. Michel FB. Bousquet J. Godard PH. Functional assessment of viability of epithelial cells. Comparison of viability and mediator release in healthy subjects and asthmatics. *Chest*. 101(3 Suppl):25S-27S, 1992.
  39. Takeichi M. Morphogenetic roles of classic cadherins. *Current Opinion in Cell Biology*. 7(5):619-27, 1995.
  40. Huber O. Korn R. McLaughlin J. Ohsugi M. Herrmann BG. Kemler R. Nuclear localization of beta-catenin by interaction with transcription factor LEF-1. *Mechanisms of Development*. 59(1):3-10, 1996.
  41. Berx G. Staes K. van Hengel J. Molemans F. Bussemakers MJ. van Bokhoven A. van Roy F. Cloning and characterization of the human invasion suppressor gene E-cadherin (CDH1).

- Genomics. 26(2):281-9, 1995.
42. Becker KF. Atkinson MJ. Reich U. Becker I. Nekarda H. Siewert JR. Hofler H. E-cadherin gene mutations provide clues to diffuse type gastric carcinomas. *Cancer Research*. 54(14):3845-52, 1994.
  43. Li LC. Chui RM. Sasaki M. Nakajima K. Perinchery G. Au HC. Nojima D. Carroll P. Dahiya R. A single nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter alters transcriptional activities. *Cancer Research*. 60(4):873-6, 2000.
  44. Wu MS. Huang SP. Chang YT. Lin MT. Shun CT. Chang MC. Wang HP. Chen CJ. Lin JT. Association of the -160 C --> a promoter polymorphism of E-cadherin gene with gastric carcinoma risk. *Cancer*. 94(5):1443-8, 2002.
  45. Moses HL. Yang EY. Pietenpol JA. TGF-beta stimulation and inhibition of cell proliferation: new mechanistic insights. *Cell*. 63(2):245-7, 1990.
  46. Redington AE. Roche WR. Holgate ST. Howarth PH. Co-localization of immunoreactive transforming growth factor-beta 1 and decorin in bronchial biopsies from asthmatic and normal subjects. 186(4):410-5, 1998.
  47. Blobel GC. Schiemann WP. Lodish HF. Role of transforming growth factor beta in human disease. *New England Journal of Medicine*. 342(18):1350-8, 2000.
  48. Elovic A. Wong DT. Weller PF. Matossian K. Galli SJ. Expression of transforming growth factors-alpha and beta 1 messenger RNA and product by eosinophils in nasal polyps. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 93(5):864-9, 1994.
  49. Watelet JB. Claeys C. Perez-Novo C. Gevaert P. Van Cauwenberge P. Bachert C. Transforming growth factor beta1 in nasal remodeling: differences between chronic rhinosinusitis and nasal polyposis. *American Journal of Rhinology*. 18(5):267-72, 2004.
  50. Suh YJ. Yoon SH. Sampson AP. Kim HJ. Kim SH. Nahm DH. Suh CH. Park HS. Specific immunoglobulin E for staphylococcal enterotoxins in nasal polyps from patients with

- aspirin-intolerant asthma. *Clinical and Experimental Allergy*. 34(8):1270-5, 2004.
51. Minshall EM. Leung DY. Martin RJ. Song YL. Cameron L. Ernst P. Hamid Q. Eosinophil-associated TGF-beta1 mRNA expression and airways fibrosis in bronchial asthma. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 17(3):326-33, 1997.
52. Ohno I. Nitta Y. Yamauchi K. Hoshi H. Honma M. Woolley K. O'Byrne P. Tamura G. Jordana M. Shirato K. Transforming growth factor beta 1 (TGF beta 1) gene expression by eosinophils in asthmatic airway inflammation. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 15(3):404-9, 1996.
53. Redington AE. Roche WR. Madden J. Frew AJ. Djukanovic R. Holgate ST. Howarth PH. Basic fibroblast growth factor in asthma: measurement in bronchoalveolar lavage fluid basally and following allergen challenge. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 107(2):384-7, 2001.
54. Roche WR. Beasley R. Williams JH. Holgate ST. Subepithelial fibrosis in the bronchi of asthmatics. *Lancet*. 1(8637):520-4, 1989.
55. Sime PJ. Xing Z. Graham FL. Csaky KG. Gauldie J. Adenovector-mediated gene transfer of active transforming growth factor-beta1 induces prolonged severe fibrosis in rat lung. *Journal of Clinical Investigation*. 100(4):768-76, 1997.
56. Ignatz RA. Massague J. Transforming growth factor-beta stimulates the expression of fibronectin and collagen and their incorporation into the extracellular matrix. *Journal of Biological Chemistry*. 261(9):4337-45, 1986.
57. Fujii D. Brissenden JE. Derynck R. Francke U. Transforming growth factor beta gene maps to human chromosome 19 long arm and to mouse chromosome 7. *Somatic Cell and Molecular Genetics*. 12(3):281-8, 1986.
58. Grainger DJ. Heathcote K. Chiano M. Snieder H. Kemp PR. Metcalfe JC. Carter ND. Spector TD. Genetic control of the circulating concentration of transforming growth factor

- type beta1. *Human Molecular Genetics*. 8(1):93-7, 1999.
59. Hobbs K. Negri J. Klinnert M. Rosenwasser LJ. Borish L. Interleukin-10 and transforming growth factor-beta promoter polymorphisms in allergies and asthma. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 158(6):1958-62, 1998.
60. Anonymous. Global strategy for asthma management and prevention NHLBI/WHO workshop report. Global initiative for asthma. Washington, DC: NHLBI, 1994.
61. 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.
62. Ambrosone CB. Freudenheim JL. Thompson PA. Bowman E. Vena JE. Marshall JR. Graham S. Laughlin R. Nemoto T. Shields PG. Manganese superoxide dismutase (MnSOD) genetic polymorphisms, dietary antioxidants, and risk of breast cancer. *Cancer Research*. 59(3):602-6, 1999.
63. Verhage BA. van Houwelingen K. Ruijter TE. Kiemeneij LA. Schalken JA. Single-nucleotide polymorphism in the E-cadherin gene promoter modifies the risk of prostate cancer. *International Journal of Cancer*. 100(6):683-5, 2002.
64. De Ruyck K. Van Eijkeren M. Claes K. Bacher K. Vral A. De Neve W. Thierens H. TGFbeta1 polymorphisms and late clinical radiosensitivity in patients treated for gynecologic tumors. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*. 65(4):1240-8, 2006.
65. Mates JM. Perez-Gomez C. Blanca M. Chemical and biological activity of free radical 'scavengers' in allergic diseases. *Clinica Chimica Acta*. 296(1-2):1-15, 2000.
66. Monteseirin J. Bonilla I. Camacho MJ. Conde J. Sobrino F. IgE-dependent release of myeloperoxidase by neutrophils from allergic patients. *Clinical and Experimental Allergy*. 31(6):889-92, 2001.
67. Ricciardolo FL. Di Stefano A. van Krieken JH. Sont JK. van Schadewijk A. Rabe KF.



- Donner CF. Hiemstra PS. Sterk PJ. Mauad T. Proliferation and inflammation in bronchial epithelium after allergen in atopic asthmatics. *Clinical and Experimental Allergy*. 33(7):905-11, 2003.
68. Nakajima H. Takatsu K. Role of cytokines in allergic airway inflammation. *International Archives of Allergy & Immunology*. 142(4):265-73, 2007.
69. Karagiannidis C. Hense G. Martin C. Epstein M. Ruckert B. Mantel PY. Menz G. Uhlig S. Blaser K. Schmidt-Weber CB. Activin A is an acute allergen-responsive cytokine and provides a link to TGF-beta-mediated airway remodeling in asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 117(1):111-8, 2006.
70. Leigh R. Ellis R. Wattie J. Southam DS. De Hoogh M. Gauldie J. O'Byrne PM. Inman MD. Dysfunction and remodeling of the mouse airway persist after resolution of acute allergen-induced airway inflammation. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 27(5):526-35, 2002.
71. Martinez FD. Maturation of immune responses at the beginning of asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 103(3 Pt 1):355-61, 1999.
72. 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.
73. 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.
74. 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.
75. 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.

76. Hiroi S. Harada H. Nishi H. Satoh M. Nagai R. Kimura A. Polymorphisms in the SOD2 and HLA-DRB1 genes are associated with nonfamilial idiopathic dilated cardiomyopathy in Japanese. *Biochemical Biophysical Research Communications*. 261(2):332-9, 1999.

77. Mak JC. Leung HC. Ho SP. Law BK. Ho AS. Lam WK. Ip MS. Chan-Yeung MM. Analysis of TGF-beta(1) gene polymorphisms in Hong Kong Chinese patients with asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 117(1):92-6, 2006.

表一：兒童氣喘病例及配對對照之基本特徵與 MnSOD、MPO、CDH1、TGF-β1 基因型頻率

變項	病例組	對照組	配對之相對危險性 <sup>a</sup>	
	n = 115	n = 230	RR <sub>m</sub>	95% C.I.
性別				
男生	76 (66.1%)	152 (65.9%)	1.0	0.6-1.6
女生	39 (33.9%)	78 (34.1%)	1.0	
父母教育程度				
大學以上	58 (50.4%)	60 (26.1%)	4.3	2.0-9.4**
高中	47 (40.9%)	125 (54.3%)	1.7	0.8-3.6
高中以下	10 (8.7%)	45 (19.6%)	1.0	
氣喘家族史				
有	23 (20.0%)	16 (7.0%)	3.3	1.7-6.6**
無	92 (80.0%)	214 (93.0%)	1.0	
MnSOD 基因型				
Ala-Ala	2 (1.7%)	5 (2.2%)	1.0	0.2-5.2
Val-Ala	41 (35.7%)	45 (19.6%)	2.3	1.4-3.8**
Val-Val	72 (62.6%)	180 (78.2%)	1.0	
Ala-Ala/Val-Ala	43 (37.4%)	50 (21.8%)	2.1	1.3-3.5*
Val-Val	72 (62.6%)	180 (78.2%)	1.0	
MPO 基因型				
GG	72 (62.6%)	152 (66.1%)	1.5	0.7-3.1
GA	32 (27.8%)	44 (19.1%)	2.3	1.0-5.2 <sup>†</sup>
AA	11 (9.6%)	34 (14.8%)	1.0	
GG/GA	104 (90.4%)	196 (85.2%)	1.6	0.8-3.4
AA	11 (9.6%)	34 (14.8%)	1.0	
CDH1 基因型				
AA	15 (12.6%)	24 (10.5%)	2.4	1.1-5.5*
CA	81 (70.6%)	127(55.0%)	2.6	1.5-4.6**
CC	19 (16.8%)	79 (34.5%)	1.0	
AA/CA	96 (83.2%)	151 (65.6%)	2.6	1.5-4.5**
CC	19 (16.8%)	79 (34.5%)	1.0	
TGF-β1 基因型				
TT	28 (24.4%)	72 (30.3%)	2.1	0.9-5.0
CT	79 (68.9%)	120 (52.1%)	3.5	1.5-7.7**
CC	8 (6.7%)	40 (17.6%)	1.0	
TT/CT	107 (93.3%)	190 (82.4%)	3.0	1.3-6.5**
CC	8 (6.7%)	40 (17.6%)	1.0	

<sup>a</sup>健康對照是以病例之性別及年齡所配對。

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

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 = 115	n = 230	RR <sub>m</sub>	95% C.I.
父母親抽菸狀況				
有	32 (27.8%)	68 (29.6%)	0.8	0.5-1.4
不在家中抽菸	23 (20.0%)	57 (24.8%)	0.7	0.4-1.3
無	60 (52.2%)	105 (45.7%)	1.0	
二手菸暴露狀況 <sup>b</sup>				
> 5 支/天	29 (25.2%)	51 (22.2%)	1.1	0.7-1.9
1-5 支/天	3 (2.6%)	17 (7.4%)	0.3	0.1-1.2
0 支/天	83 (72.2%)	162 (70.4%)	1.0	
家中燒香				
有	39 (33.9%)	143 (62.2%)	0.3	0.2-0.5**
無	76 (66.1%)	87 (37.8%)	1.0	
在家中從事紡織類工作				
有	15 (13.0%)	12 (5.2%)	2.7	1.2-6.0**
無	100 (87.0%)	218 (94.8%)	1.0	
飼養寵物				
有	19 (16.5%)	43 (18.7%)	0.9	0.5-1.6
無	96 (83.5%)	187 (81.3%)	1.0	
家中潮溼度				
有	16 (13.9%)	21 (9.1%)	1.6	0.8-3.2
無	99 (86.1%)	209 (90.9%)	1.0	
寢室有無蟑螂				
有	51 (44.3%)	100 (43.5%)	1.0	0.7-1.6
無	64 (55.7%)	130 (56.5%)	1.0	
過敏原測試				
陽性	94 (81.7%)	101 (43.9%)	5.8	3.4-10.0**
陰性	21 (18.3%)	129 (56.1%)	1.0	

<sup>a</sup>健康對照是以病例之性別及年齡所配對。

<sup>b</sup>數據遺漏值 = 2。

\*\* $P < 0.01$ 。

表三：兒童氣喘病例相較於配對對照，其過敏原測試、MnSOD、MPO、CDH1 及 TGF-β1 基因型的調整後之相對危險性與 95% 信賴區間

變項	過敏原測試陽性			過敏原測試陰性		
	病例組 n = 94	對照組 n = 100	調整後之 RR 值 (95% C.I.) <sup>a</sup>	病例組 n = 21	對照組 n = 129	調整後之 RR 值 (95% C.I.) <sup>a</sup>
<b>MnSOD 基因型</b>						
Ala-Ala	2	2	6.2 (0.6-62.1)	0	3	--
Val-Ala	30	20	12.9 (5.2-32.1)**	11	25	3.8 (1.4-10.4)**
Val-Val	62	79	6.6 (3.1-14.2)**	10	101	1.0
Ala-Ala/Val-Ala	32	22	13.2 (5.3-32.5)**	11	28	3.4 (1.3-9.3)*
Val-Val	62	79	6.6 (3.1-14.3)**	10	101	1.0
<b>MPO 基因型</b>						
GG	58	64	9.4 (1.2-76.5)*	14	88	1.7 (0.2-14.8)
GA	26	17	14.3 (1.6-126.6)*	6	27	2.7 (0.3-25.9)
AA	10	20	4.5 (0.5-42.0)	1	14	1.0
GG/GA	84	81	10.2 (1.3-82.5)*	20	115	1.9 (0.2-15.7)
AA	10	20	4.4 (0.5-40.8)	1	14	1.0
<b>CDH1 基因型</b>						
AA	12	13	18.2 (3.4-95.6)**	2	11	3.7 (0.4-30.3)
CA	64	49	20.3 (4.6-89.6)**	17	76	4.0 (0.9-18.2)
CC	18	38	8.3 (1.7-39.1)**	2	42	1.0
AA/CA	76	62	19.9 (4.6-87.0)**	19	88	3.9 (0.9-17.9)
CC	18	38	8.3 (1.7-39.0)**	2	41	1.0

TGF-β1 基因型

TT	24	34	19.9 (2.4-168.3)**	4	36	3.9 (0.4-39.6)
CT	63	53	39.2 (4.6-320.9)**	16	66	9.3 (1.1-79.0)*
CC	7	13	24.3 (2.4-242.6)**	1	27	1.0
TT/CT	87	87	30.4 (3.8-243.4)**	20	102	7.2 (0.9-59.3)
CC	7	13	24.3 (2.4-242.6)**	1	27	1.0

<sup>a</sup> 相對危險性是調整氣喘家族史、父母親教育程度、家中燒香、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。

\*\* $P < 0.01$  , \* $0.01 < P < 0.05$  。

表四：具不同過敏原反應的兒童其室內二手菸暴露程度與 MnSOD、MPO、CDH1 及 TGF-β1 基因型對於氣喘發生之危險對比值

變項	過敏原測試陽性						過敏原測試陰性					
	暴露香菸支數 0-5 支/天			暴露香菸支數 >5 支/天			暴露香菸支數 0-5 支/天			暴露香菸支數 >5 支/天		
	病例	對照	RR <sub>m</sub> (95% C.I.) <sup>a</sup>	病例	對照	RR <sub>m</sub> (95% C.I.) <sup>a</sup>	病例	對照	RR <sub>m</sub> (95% C.I.) <sup>a</sup>	病例	對照	RR <sub>m</sub> (95% C.I.) <sup>a</sup>
<b>MnSOD 基因型</b>												
Ala-Ala/Val-Ala	25	17	2.2 (1.0-4.9)*	7	5	1.5 (0.4-5.4)	9	23	4.5 (1.3-15.7)*	2	5	7.1 (0.9-55.6)
Val-Val	46	62	1.0	16	16	1.7 (0.7-4.2)	6	75	1.0	4	25	3.0 (0.7-13.4)
<b>MPO 基因型</b>												
GG/GA	63	62	2.5 (0.9-6.9)	21	18	3.1 (0.9-10.2)	14	87	1.4 (0.2-13.5)	6	27	3.1 (0.3-31.0)
AA	8	17	1.0	2	3	1.6 (0.2-13.2)	1	11	1.0	0	3	--
<b>CDH1 基因型</b>												
AA/CA	56	50	1.9 (0.9-4.2)	20	13	3.1 (1.1-8.5)*	15	68	5.0 (0.6-41.0)	5	19	8.5 (0.9-85.4)
CC	15	29	1.0	3	9	0.6 (0.1-2.8)	1	30	1.0	1	11	3.3 (0.2-60.8)
<b>TGF-β1 基因型</b>												
TT/CT	65	70	1.1 (0.3-3.7)	21	18	1.5 (0.4-5.9)	15	76	5.7 (0.6-56.0)	6	24	10.0 (0.9-118.3)
CC	5	9	1.0	2	4	0.7 (0.1-5.8)	1	22	1.0	0	6	--

<sup>a</sup>相對危險性是調整氣喘家族史、父母親教育程度、家中燒香、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。

\*\* $P < 0.01$ ，\*  $0.01 < P < 0.05$ 。