

· 临床研究 ·

IL-1 基因多态性与幽门螺杆菌相关性胃十二指肠疾病的关系

叶荻庆¹, 向 瑜^{1△}, 张莉萍¹, 陈 瀑¹, 闫 伟²

(1. 重庆医科大学附属第一医院检验科 400016; 2. 重庆市公安局刑警总队技术处 400016)

摘要:目的 探讨人群中 IL-1 基因多态性与幽门螺杆菌(*H. pylori*)相关性胃十二指肠疾病之间的关系。方法 选取 *H. pylori* 阳性的 38 例慢性胃炎患者、30 例十二指肠溃疡患者、39 例胃溃疡患者、35 例胃癌患者共 142 例(疾病组)和 70 例健康者(对照组),采用 PCR-限制性长度片段多态的方法检测该人群中 IL-1B-511 和 IL-1RN 位点多态性。结果 与对照组比较,疾病组 IL-1B-511 和 IL-1RN 各基因型的频率分布差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 IL-1 基因多态性与 *H. pylori* 相关性胃十二指肠疾病的发生无关。

关键词:胃十二指肠疾病;基因多态性;幽门螺杆菌;白细胞介素-1

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.24.032

中图分类号:R573;R574.51

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)24-3375-03

Association between polymorphisms of IL-1 genes and *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal diseases

YE Di-qing¹, XIANG Yu^{1△}, ZHANG Li-ping¹, et al.

(1. Department of Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China; 2. The center of evidence of Chongqing police bureau, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To discuss the polymorphisms of IL-1 genes and their association with *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal diseases in Han people in Chongqing. **Methods** *H. pylori*-positive 142 patients with *H. pylori*-associated gastroduodenal diseases (38 chronic gastritis, 30 duodenal ulcer, 39 gastric ulcer, 35 gastric cancer) and 70 healthy controls with *H. pylori* positive were genotyped for IL-1B-511 and IL-1RN gene polymorphisms by the PCR-RFLP method. **Results** The results indicated that the frequencies of IL-1B-511 and IL-1RN genotypes in case group were not significantly different comparing control group ($P>0.05$). **Conclusion** The results suggest that the polymorphism of IL-1 gene has no association with *Helicobacter pylori*-associated gastroduodenal diseases

Key words: gastroduodenal diseases; gene polymorphisms; *Helicobacter pylori*; interleukin-1

幽门螺杆菌(*helicobacter pylori*, *H. pylori*)是世界上感染率极高的一种病原菌,是引起人类慢性活动性胃炎、消化性溃疡的重要致病因子,并与胃癌和胃黏膜相关淋巴瘤发生密切相关。1994 年国际癌症研究机构已将其归为第 1 类致癌因素^[1]。但大多数人 *H. pylori* 感染后一般不发展成为消化性溃疡和胃癌,大量研究表明此现象与感染菌株的型别、宿主基因型的差异和暴露的环境因素有关。近年的研究表明,宿主遗传因素可能对此起决定性作用^[2]。在人群中,IL-1、TNF- α 等的基因存在多态性,其表达的差异影响 *H. pylori* 感染后的转归。IL-1 的编码基因位于人 2 号染色体 q13-q14,由 7 个外显子和 6 个内含子组成,全长 430 kb。此区域内含有 3 个相关联的基因,即 IL-1A、IL-1B、IL-1RN,它们分别编码 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-1ra。IL-1B 基因在启动子区-511 位点存在多态性,表现为 C/T 的替换。IL-1RN 基因的第 2 号内含子存在串联重复序列可变数目(variable number of tandem repeat, VNTR),其重复序列长约 86 bp,含有 3 个蛋白质结合位点,在人群中不同个体出现的次数以 2~6 次不等^[3]。理论上 5 种等位基因:等位基因 1=410 bp(4 个重复),等位基因 2=240 bp(2 个重复),等位基因 3=500 bp(5 个重复),等位基因 4=325 bp(3 个重复),等位基因 5=595 bp(6 个重复)。本研究的目的是从宿主的角度探

讨 *H. pylori* 感染后 IL-1 基因多态性与 *H. pylori* 相关的胃十二指肠疾病的发生以及胃癌易感性之间的关系,旨在寻找胃癌发生的危险因素,为防治 *H. pylori* 感染所致疾病提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2006~2008 年重庆医科大学附属第一医院健康体检者中 *H. pylori* 感染者 70 例为对照组。男性 42 例(60.0%),女性 28 例(40.0%),年龄 20~62 岁,平均(35.0 \pm 8.9)岁,均无胃、十二指肠疾病史。消化内科住院患者中胃十二指肠疾病及胃癌伴 *H. pylori* 感染患者 142 例为疾病组,其中慢性胃炎 38 例,十二指肠溃疡 30 例,胃溃疡 39 例,胃癌 35 例;男性 84 例(59.2%),女性 58 例(40.8%);年龄 16~86 岁,平均(55.7 \pm 14.8)岁。患者均经胃镜和组织病理学检查确诊。所有入选者均为汉族,且无血缘关系。

1.2 材料 胃 *H. pylori* 抗体检测试剂盒购自上海天呈科技有限公司,快速检测试纸购自广州贝思奇诊断试剂有限公司。IL-1B-511、IL-1RN 引物由上海英骏生物技术有限公司合成。Premix Taq、限制性内切酶 *Ava* I 购自大连宝生物公司。

1.3 *H. pylori* 感染的检测 血清 *H. pylori* 抗体检测采用金标免疫斑点法,快速检测试纸为尿素酶试纸片,均严格按照说

△ 通讯作者, E-mail:8051226@163.com。

说明书操作,以上两项均为阳性者为 *H. pylori* 感染。

1.4 细胞因子基因多态性检测

1.4.1 模板 DNA 的制备 采集所有研究对象静脉血 2 mL, 用 EDTA-K2 抗凝,参照改良碘化钠法^[4],提取白细胞基因组 DNA, -20 °C 保存。

1.4.2 引物的设计 根据文献^[5]设计 IL-1B-511 和 IL-1RN 的引物。引物序列如下:IL-1B-511 为 5'-TGG CAT TGA TCT GGT TCA TC-3' 和 5'-GTT TAG GAA TCT TCC CAC TT-3';IL-1RN 为 5'-CTC AGC AAC ACT CCT AT-3' 和 5'-TCC TGG TCT GCA GGT AA-3'。

1.4.3 PCR 反应条件 PCR 反应体系包括 10 μ L Premix Taq, 4 μ L 模板 DNA, 引物各 5 pmol, 加去离子水补齐体积至 20 μ L。IL-1B-511 PCR 条件:94 °C 5 min, 94 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 1 min, 35 个循环。IL-1RN PCR 条件:95 °C 5 min, 95 °C 1 min, 55 °C 1 min, 72 °C 2 min, 35 个循环。

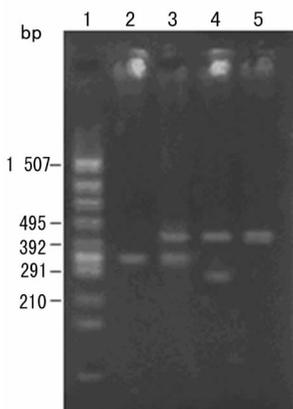
1.4.4 酶切产物的检测及分析 PCR 扩增产物由限制性内切酶于 37 °C 水浴箱进行酶切,酶切产物用 3% 琼脂糖凝胶电泳分离。

1.5 统计学处理 应用 SPSS11.5 统计软件进行数据分析,频数计数法计算各基因型及等位基因频率,然后经 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验。 χ^2 检验比较各基因型频率,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。logistic 回归模型计算 OR 值。所有统计检验均为双侧概率检验。

2 结果

2.1 PCR 扩增产物 经 3% 琼脂糖凝胶电泳后观察到 IL-1B-511 扩增产物为 304 bp, IL-1RN 扩增产物:等位基因 1=410 bp, 等位基因 2=240 bp, 等位基因 4=325 bp(图 1)。

2.2 基因多态性检测结果 IL-1B-511 PCR 产物经限制性内切酶 *Ava* I 酶切后电泳分型,基因型为:C/C 型 190 bp 和 114 bp, C/T 型 304 bp, 190 bp 和 114 bp, T/T 型 304 bp(图 2)。



1: Marker(ϕ x174-Hinc II digest DNA); 2: IL-1RN4/4 基因型; 3: IL-1RN1/4 基因型; 4: IL-1RN1/2 基因型; 5: IL-1RN1/1 基因型。

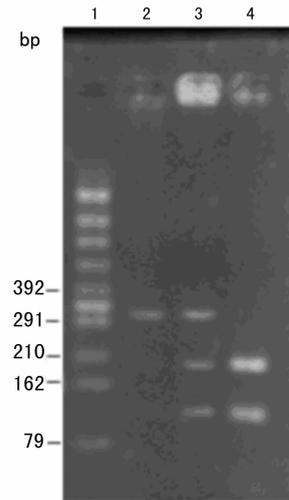
图 1 IL-1RN 多态性

2.3 统计学分析结果

2.3.1 基因型分布频率 两组中 IL-1B-511 和 IL-1RN 的各基因型频率的分布比较差异无统计学意义,见表 1。

2.3.2 各基因型发生胃十二指肠疾病及胃癌的危险性分析 由于 IL-1RN 基因型分布呈偏态,只能进行单因素分析,无法进行 logistic 回归模型分析。logistic 回归模型分析 IL-1B-511

各基因型发生 *H. pylori* 相关性胃十二指肠疾病和胃癌的危险性。与携带 IL-1B-511 T/T 患者比较,携带 IL-1B-511C/C 患者发生慢性胃炎的危险性为 $OR=0.53(95\%CI:0.15\sim1.85)$, 发生胃溃疡的危险性为 $OR=0.68(95\%CI:0.19\sim2.44)$, 发生十二指肠溃疡的危险性为 $OR=0.93(95\%CI:0.26\sim3.32)$, 发生胃癌的危险性为 $OR=0.91(95\%CI:0.28\sim2.90)$ 。



1: Marker(ϕ x174-Hinc II digest DNA); 2: IL-1B-511T/T 基因型; 3: IL-1B-511C/T 基因型; 4: IL-1B-511C/C 基因型。

图 2 IL-1B-511 多态性

表 1 IL-1B 和 IL-1RN 的基因型在慢性胃炎、十二指肠溃疡、胃溃疡、胃癌和对照组中的分布情况

基因型	对照组 (n=70)	疾病组			
		慢性胃炎 (n=38)	十二指肠 溃疡(n=30)	胃溃疡 n=39	胃癌 (n=35)
IL-1B-511					
C/C	18(0.26)	6(0.16)	7(0.23)	9(0.22)	9(0.26)
C/T	27(0.38)	12(0.31)	10(0.33)	15(0.39)	15(0.43)
T/T	25(0.36)	20(0.53)	13(0.43)	15(0.39)	11(0.31)
IL-1RN					
1/1	68(0.98)	37(0.97)	29(0.97)	38(0.97)	34(0.97)
1/2	0	0	1(0.03)	0	1(0.03)
1/4	1(0.01)	1(0.03)	0	1(0.03)	0
4/4	1(0.01)	0	0	0	0

3 讨论

H. pylori 能诱导胃黏膜的炎性细胞产生多种细胞因子,加重胃十二指肠的炎症反应,导致胃黏膜的损伤与胃酸分泌的异常。在 *H. pylori* 感染导致胃十二指肠疾病发生的过程中,宿主的遗传因素也发挥了十分重要的作用。宿主的生理特征,包括基因多态性及 HLA 基因型、血型、胃酸等可影响 *H. pylori* 相关性胃十二指肠疾病的易感性。近年来,细胞因子基因多态性对 *H. pylori* 感染转归的影响已成为研究的热点之一。IL-1、TNF- α 是参与炎症反应的重要细胞因子,能抑制胃酸分泌,利于 *H. pylori* 在胃内定植,从而导致胃十二指肠疾病的发生。

IL-1 基因多态性与 *H. pylori* 相关性胃十二指肠疾病的关

系尚未完全明确。Lee 等^[6]研究显示 IL-1B 和 IL-1RN 的基因多态性均与十二指肠溃疡发生无关。Chang 等^[7]的一项研究也显示 IL-1B 和 IL-1RN 基因多态性与胃溃疡的易感性无关。Gatti 等^[8]研究巴西北部人群发现 IL-1B-511 和 IL-1B-31 的基因多态性均与胃癌(包括肠型和弥漫型)无关。Chang 等^[9]研究发现在胃癌组 and 对照组中 IL-1B-511 和 IL-1B-31 的基因型频率分布差异无统计学意义。本研究中 IL-1B-511 的各基因型频率在疾病组和对照组中分布差异无统计学意义;logistic 回归模型分析证明 IL-1B-511 与 H. pylori 相关性胃十二指肠疾病的发生无关,与胃癌易感性也无关。此结果与上述报道结果相符。

刘兴等^[10]报道 IL-1RN 基因多态性在中国人和西欧及非洲的白人中的分布存在明显的差异,在中国人群中 IL-1RN 1/1 基因型的发生频率高于西欧国家及非洲的白人,而 IL-1RN 2/2 基因型频率明显要低。在本研究中,IL-1RN2/2 基因型未出现,可解释 IL-1RN 与 H. pylori 相关性胃十二指肠疾病的发生无关。本研究结果与这些研究之间的差异可能是由于地域和人种的遗传背景等因素的不同造成的。在今后的研究中,需要加大样本量和范围来论证,以尽早明确 IL-1 基因多态性在 H. pylori 感染诱发胃十二指肠疾病过程中的确切作用。

参考文献:

- [1] Pounder RE, Ng D. The prevalence of Helicobacter Pylori infection in different countries[J]. Aliment Pharmacol Ther, 1995, 9(2): 33.
- [2] Hamajima N. Persistent Helicobacter pylori infection and genetic polymorphisms of the host[J]. Nagoya J Med Sci, 2003, 66(3-4): 103.
- [3] Perez-Perez GI, Garza-Gonzalez E, Porlal C, et al. Role of cytokine polymorphisms in the risk of distal gastric cancer development[J]. Cancer epidemiol biomarkers Prev, 2005,

14(8):1869.

- [4] 李艳, 黄宪章, 张平安, 等. 雌激素受体基因多态性与急性心肌梗死的关系的研究[J]. 中华医学杂志, 2001, 81(7): 389.
- [5] Chun L, Wei X, Zheng-Guo H, et al. Association of interleukin-1 gene polymorphisms and Helicobacter pylori infection in gastric carcinogenesis in a Chinese population [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2007, 22(2): 234.
- [6] Lee SG, Kim B, Choi W, et al. Lack of association between pro-inflammatory genotypes of the interleukin-1 (IL-1B-31C/+ and IL-1RN * 2/ * 2) and gastric cancer/duodenal ulcer in Korean population [J]. Cytokine, 2003, 21(4): 167.
- [7] Chang YT, Wu Ms, Shun CT, et al. Association of polymorphisms of interleukin 1 beta gene and Helicobacter pylori infection with the risk of gas-triculer [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2002, 49(47): 1474.
- [8] Gatti LL, Burbano RR, De Assumpcao PP, et al. Interleukin-1 beta polymorphisms, Helicobacter pylori infection in individuals from Northern Brazil with gastric adenocarcinoma [J]. Clin Exp Med, 2004, 4(2): 93.
- [9] Chang Yw, Jang JY, Kim NH, et al. Interleukin-1B(IL-1B) polymorphisms and gastric mucosal levels of IL-1 beta cytokine in Korean patients with gastric cancer [J]. Int J Cancer, 2005, 114(3): 465.
- [10] 刘兴, 冯凯, 蒋建新, 等. 中国重庆汉族群体 IL-1 受体拮抗剂基因多态性分布的初步观察 [J]. 第三军医大学学报, 2003, 24(2): 200.

(收稿日期: 2010-05-13 修回日期: 2010-07-11)

(上接第 3374 页)

建筑物等倒塌砸中头部均易造成严重后果, 对头部的防护工作甚为重要, 应加强卫生宣教, 使大众掌握基本的逃生和自救技术^[10]; 其次重视颅脑损伤的救治也是提高救治率和防止并发症的关键。

参考文献:

- [1] Gerhart KA, Mellick DC, Weintraub AH. Violence related traumatic brain injury population-based study [J]. J Trauma, 2003, 55(6): 1045.
- [2] 杜晓东. 关于颅脑损伤的治疗及体会 [J]. 中外医疗, 2009, 28(6): 86.
- [3] 李盛华, 张彦军, 周明旺. 汶川地震陇南灾区伤情调查与分析 [J]. 中国骨伤, 2008, 10: 744.
- [4] 任印斌, 刘明峰, 程雷鸣, 等. 淮北市颅脑损伤住院伤员流行病学调查 [J]. 安徽医药, 2008, 12(8): 715.

- [5] Clement CM, Stiell IG, Schull MJ, et al. Clinical features of head injury patients presenting with a Glasgow Coma Score of 15 and who require neurosurgical intervention [J]. Ann Emerg Med, 2006, 48(3): 245.
- [6] 匡永勤, 贺伟旗, 顾建文, 等. 地震所致颅脑损伤的诊治特点 [J]. 西部医学, 2008, 20(5): 945.
- [7] 白祥军. 汶川创伤伤员震后救治情况分析 [J]. 重庆医学, 2008, 37(24): 2766.
- [8] 陈广鑫. 外科学与野战外科学: 上册 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2007: 899.
- [9] 李锦山. 56 例重症颅脑损伤伤员死亡的相关因素 [J]. 中外医疗, 2009, 28(28): 68.
- [10] 黄全, 黄健聪, 杨建茹. 高处坠落致重型颅脑损伤的救治体会 [J]. 海南医学, 2009, 20(11): 262.

(收稿日期: 2010-05-11 修回日期: 2010-06-31)