

· 论 著 ·

## 新疆维吾尔族哮喘患者 IL-13 基因 2100A/G 突变位点多态性研究\*

杨 剑<sup>1</sup>, 哈木拉提·吾甫尔<sup>1</sup>, 李凤森<sup>2△</sup>, 高 振<sup>2</sup>, 苏 军<sup>1</sup>, 马 欢<sup>1</sup>

(1. 新疆医科大学中医学院, 新疆乌鲁木齐 830011; 2. 新疆医科大学附属中医医院呼吸科, 新疆乌鲁木齐 830000)

**摘要:**目的 探讨白细胞介素-13(IL-13)基因 2100A/G 突变位点多态性与新疆维吾尔族支气管哮喘易感性的关系。方法 选择 2010 年 4 月至 2011 年 11 月在新疆医科大学附属中医医院就诊的哮喘患者共 160 例为哮喘组, 根据民族不同分为哮喘维吾尔族组( $n=47$ )和哮喘汉族组( $n=113$ ); 选择同期健康体检者 40 例为对照组, 根据民族不同分为对照维吾尔族组( $n=20$ )和对照汉族组( $n=20$ )。采用聚合酶链反应和限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法, 检测各组受试者的 IL-13 基因 2100A/G 突变位点多态性。**结果** 哮喘组与对照组、哮喘维吾尔族组与对照维吾尔族组比较 IL-13 基因 2100A/G 突变位点基因型频率差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 而等位基因频率差异无统计学意义( $P>0.05$ )。哮喘汉族组与对照汉族组比较、对照维吾尔族组与对照汉族组比较, 基因型及等位基因在分布上均差异无统计学意义( $P>0.05$ )。**结论** IL-13 基因 2100A/G 突变位点多态性可能与新疆维吾尔族支气管哮喘发病有关。

**关键词:**哮喘; 白细胞介素 13; 基因; 多态性; 限制性片段长度

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.14.005

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)14-1575-03

## Polymorphism of IL-13 gene 2100A/G mutation sites of Xinjiang Uygur asthmatic patients\*

Yang Jian<sup>1</sup>, Halmurat·Upur<sup>1</sup>, Li Fengsen<sup>2△</sup>, Gao Zhen<sup>2</sup>, Su Jun<sup>1</sup>, Ma Huan<sup>1</sup>

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Wulumuqi, Xinjiang 830011, China;

2. Department of Respiratory, Affiliated Hospital of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Wulumuqi, Xinjiang 830000, China)

**Abstract:** Objective To investigate the IL-13 gene 2100A/G mutation polymorphism and its relation with Xinjiang Uygur susceptibility to bronchial asthma. **Methods** 160 patients with asthma in the Chinese Medicine Hospital affiliated to the Xinjiang Medical University from April 2010 to November 2011 were selected as the asthma group and divided into the Uighur asthma group ( $n=47$ ) and the Han asthma group ( $n=113$ ) according to different nationalities. Contemporaneous 40 cases of healthy physical examination were selected as the control group and divided into the Uighur control group ( $n=20$ ) and the Han control group ( $n=20$ ) according to different nationalities. Polymerase chain reaction/restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique was used to determine the IL-13 gene 2100A/G mutation sites. **Results** IL-13 gene 2100A/G mutation genotype frequencies had statistical difference between the asthma group and the control group and between the Uighur asthma group and the Uygur control group ( $P<0.05$ ). IL-13 gene 2100A/G mutation allele frequencies were not statistical different among the above groups. IL-13 gene 2100A/G mutation genotype frequencies and allele frequencies were not statistical different between the Han asthmatic group and the Han control group and between the Uighur control group and the Han control group ( $P>0.05$ ). **Conclusion** IL-13 gene 2100A/G mutation polymorphism might be associated with the incidence of Xinjiang Uygur bronchial asthma.

**Key words:** asthma; interleukin-13; genes; polymorphism, restriction fragment length

支气管哮喘(简称哮喘)是由多种细胞(如嗜酸粒细胞、肥大细胞、T细胞、中性粒细胞和气管上皮细胞等)和细胞组分参与的气道慢性炎症性疾病, 表现为可逆性气流阻塞和气道高反应。它是一种异质性疾病, 被证实有很强的遗传基础<sup>[1]</sup>。尽管对哮喘的研究已取得很大的进展, 但其确切的发病机制仍未完全清楚, 目前大多数学者认为哮喘是一种具有多基因遗传倾向的疾病, 是一种复杂的多基因遗传病<sup>[2]</sup>。已有报道白细胞介素系列基因多态性可以增加哮喘的易感性<sup>[2]</sup>。随着对哮喘病因研究的不断深入, 人们发现定位于人染色体 5q31-33 的多种细胞因子都与哮喘的发生有关, 哮喘患者的肺部一般高表达白细胞介素-13(IL-13)<sup>[3]</sup>, 可见其在哮喘的发生中扮演着重要的角

色。有研究显示, IL-13+1923 位点基因型 TT 和+2044 位点基因型 GA 与哮喘发生存在相关性, 然而确定中国人群中 IL-13 基因区域存在多个单核苷酸多态性(single-nucleotide polymorphism, SNP)C1923T、G2044A 与哮喘发生相关性的结论仍需谨慎<sup>[4]</sup>。本研究意在观察新疆维吾尔族哮喘患者 IL-13 基因 2100A/G 突变位点多态性, 探讨维吾尔族人群哮喘遗传易感性。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2010 年 4 月至 2011 年 11 月在新疆医科大学附属中医医院就诊的哮喘患者共 160 例为哮喘组, 收集其血样。其中男 62 例, 女 98 例; 平均年龄为 41.36 岁。维吾

尔族 47 例(哮喘维吾尔族组),汉族 113 例(哮喘汉族组);平均病程 6.22 年。选择同期健康体检者 40 例为对照组,其中男 17 例,女 23 例,平均年龄为 40.14 岁,维吾尔族 20 例(对照维吾尔族组),汉族 20 例(对照汉族组),哮喘诊断符合中华医学会呼吸病学分会哮喘学组 2008 年《支气管哮喘防治指南》的诊断标准<sup>[5]</sup>。需排除以下情况:研究对象存在血缘关系;经检查证实为结核、硅沉着病、真菌、肿瘤等因素所致的慢性咳嗽、喘息患者;合并有心血管、肾脏、肝脏病变,糖尿病或造血系统等严重原发性疾病及精神病患者。

**1.2 方法** PCR 反应体系及扩增条件自 0.5% 乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝血标本中,用核酸纯化柱提取基因组 DNA,使用引物(由上海生工生物工程有限公司合成)。引物序列为:5'-GAA ACT TTT TCG CGA GGG ACA-3';5'-GAA ACT TTT TCG CGA GGG ACG-3';5'-ACA GAG GAG GCC CAC CAG G-3'。反应体系为:通用 PCR 反应混合液 43  $\mu$ L[通用 PCR SuperMix 试剂盒由全式金生物技术(北京)有限公司提供],加上、下游引物各 0.5  $\mu$ L 和样本 DNA 5  $\mu$ L,将反应管放入 ABI 7300 全自动荧光定量扩增仪上,按以下程序进行 PCR 扩增:95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min 后,按 95  $^{\circ}$ C 变性 30 s,55  $^{\circ}$ C 退火 45 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min 进行 35 个循环,最后于 72  $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 扩增产物经 2.0% 琼脂糖凝胶电泳,Goldview 染色,在凝胶成像仪上观察结果。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 *t* 检验,计数资料用  $\chi^2$  检验,先统计各组各位点基因型分布频率及等位基因频率,确认其符合 Hardy-Weinberg 平衡。基因型采用直接计数法。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 Hardy-Weinberg 平衡检验** 基因型分布在汉族、维吾尔族和对照组符合 Hardy-Weinberg 平衡,具有群体代表性。

**2.2 哮喘组与对照组 IL-13 基因 2100A/G 突变位点基因分布及等位基因频率比较** 在哮喘汉族组 113 例患者中检测到 37 例野生基因型(GG),占 32.7%,76 例突变基因型(GA+AA),占 67.3%,其中突变基因型中 2 例为突变型纯合子(AA),占 1.8%,74 例为杂合子(GA),占 65.5%;哮喘维吾尔族组 47 例患者中 9 例野生基因型(GG),占 19.1%,38 例突变基因型(GA+AA)占 80.8%,其中突变基因型中 3 例为突变型纯合子(AA),占 6.4%,35 例为杂合子(GA)占 74.5%;对照组 40 例健康人中 3 例野生基因型(GG),占 7.5%,37 例突变基因(GA+AA),占 92.5%,其中没有纯合子(AA)基因型。哮喘组与对照组比较 IL-13 基因 2100A/G 突变位点基因型分布频率差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 哮喘组与对照组 IL-13 基因 2100A/G 突变位点基因分布及等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型(基因型频率)			等位基因频率	
		GG	GA	AA	G	A
哮喘组	160	46(28.8)	109(68.1)	5(3.1)	78(48.8)	82(51.2)
对照组	40	3(7.5)	37(92.5)	0(0.0)	15(37.5)	25(62.5)
$\chi^2$			9.752 4			1.628 0
<i>P</i>			0.007 6			0.202 0

**2.3 各亚组 IL-13 基因 2100A/G 突变位点基因分布及等位基因频率比较** 哮喘维吾尔族组与对照维吾尔族组比较,IL-13 基因 2100A/G 突变位点基因型分布频率差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),其余各组基因型及等位基因频率比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2~5。

表 2 维吾尔族 IL-13 基因 2100A/G 突变位点基因分布及等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型(基因型频率)			等位基因频率	
		GG	GA	AA	G	A
哮喘维吾尔族组	47	9(19.1)	35(74.5)	3(6.4)	26(55.3)	21(44.7)
对照维吾尔族组	20	0(0.0)	20(100.0)	0(0.0)	10(50.0)	10(50.0)
$\chi^2$			6.220 5			0.159 7
<i>P</i>			0.044 6			0.689 5

表 3 汉族 IL-13 基因 2100A/G 突变位点基因分布及等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型(基因型频率)			等位基因频率	
		GG	GA	AA	G	A
哮喘汉族组	113	37(32.7)	74(65.5)	2(1.8)	74(65.5)	39(34.5)
对照汉族组	20	3(15.0)	17(85.0)	0(0.0)	11(55.0)	9(45.0)
$\chi^2$			3.078 4			0.810 2
<i>P</i>			0.214 6			0.368 1

表 4 对照汉族与维吾尔族组 IL-13 基因 2100A/G 突变位点基因分布及等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型(基因型频率)			等位基因频率	
		GG	GA	AA	G	A
对照维吾尔族组	20	0(0.0)	20(100.0)	0(0.0)	10(50.0)	10(50.0)
对照汉族组	20	3(15.0)	17(85.0)	0(0.0)	11(55.0)	9(45.0)
$\chi^2$			3.243 2			0.100 3
<i>P</i>			0.071 7			0.751 5

表 5 哮喘维吾尔族与汉族组 IL-13 基因 2100A/G 突变位点基因分布及等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型(基因型频率)			等位基因频率	
		GG	GA	AA	G	A
哮喘维吾尔族组	47	9(19.1)	35(74.5)	3(6.4)	26(55.3)	21(44.7)
哮喘汉族组	113	37(32.7)	74(65.5)	2(1.8)	74(65.5)	39(34.5)
$\chi^2$			4.787 2			1.464 1
<i>P</i>			0.091 3			0.226 3

## 3 讨 论

IL-13 作为 Th2 型细胞因子,它可诱导单核细胞分化增强其 MHC 类分子表达,抑制 Lps 诱导的单核因子分泌,控制炎症反应;同时还可以促进 CD40 激活人的 B 细胞活性和直接诱导特异性患者体内 B 细胞增殖合成过多 IgE,发挥其生物学效应<sup>[6]</sup>。在哮喘患者气道发现的 IL-13 被认为介导哮喘的以

下几个特征:气道高反应、炎症、黏膜上皮化生及激活气道成纤维细胞增殖而形成气道重构<sup>[3,7]</sup>。Esnault 等<sup>[8]</sup>证实无论哮喘或健康人,外周血单核细胞自发的 IL-13 表达在不同的个体间存在差异。

由于人类基因组中 SNP 分布广泛并且相对稳定,是人类个体差异主要的分子标记,因此,常用于反应个体表型差异以及不同个体对疾病易感性的研究<sup>[9-11]</sup>。Park 等<sup>[12]</sup>的研究显示了 IL-13R130Q 位点与韩国人群哮喘患者降低的肺功能(表现在降低的 FEV1%值和较低的 FEV1/FVC 比值)显著相关。最近又有研究显示,一个与 IL-13 或高 Th2 表型密切相关的哮喘亚型已经被发现<sup>[13]</sup>。因而从 IL-13 基因区域存在多个 SNP 揭示哮喘的易感性有重要意义。

本研究结果显示,在 160 例哮喘患者中检测到 46 例野生基因型(GG),占 28.8%,突变基因型中 5 例为突变型纯合子(AA),占 3.1%,109 例为杂合子(GA),占 68.1%;维吾尔族 47 例哮喘患者中 9 例野生基因型(GG),占 19.1%,突变基因型中 3 例为突变型纯合子(AA),占 6.4%,35 例为杂合子(GA)占 74.5%;汉族 113 例哮喘患者中 37 例野生基因型(GG),占 32.7%,突变基因型中 2 例为突变型纯合子(AA),占 1.8%,74 例为杂合子(GA),占 65.5%;在汉族 20 例健康者中检测到 3 例野生基因型(GG),占 15.0%,17 例为突变基因型杂合子(GA),占 85%;在维吾尔族 20 例健康者中没有野生基因型(GG),突变基因型中 20 例均为杂合子(GA)。

哮喘患者与健康者对照、哮喘维吾尔族组患者与对照维吾尔族组比较均显示:IL-13 基因 2100A/G 突变位点基因型频率有差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而等位基因频率差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),原因可能是某个核苷酸突变单独存在时并不起作用,只有它处于纯合或者杂合状态时才与疾病相关。由此可见,IL-13 基因 2100A/G 突变位点多态性可能与新疆维吾尔族支气管哮喘发病有关。

#### 参考文献:

- [1] Barnes KC. Genetic studies of the etiology of asthma[J]. Proc Am Thorac Soc, 2011, 8(2):143-148.
- [2] 侍杏华,周建平. IL-13 基因和  $\beta 2$ -AR 基因多态性与哮喘的关系[J]. 山东医药, 2008, 48(32):118-120.
- [3] Saha SK, Berry MA, Parker D, et al. Increased sputum and bronchial biopsy IL-13 expression in severe asthma

[J]. J Allergy Clin Immunol, 2008, 121(3):685-691.

- [4] 汤兆明,王琳,胡丽华. 中国人群白细胞介素-13 基因多态性与哮喘易感性关系的 Meta 分析[J]. 循证医学, 2011, 11(3):154-159.
- [5] 中华医学会呼吸病学会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南[J]. 中华结核和呼吸病杂志, 2008, 31(3):177-185.
- [6] Giubergia V, Gravina LP, Castanos C, et al. Influence of beta2-adrenoceptor polymorphisms on the response to chronic use of albuterol in asthmatic children[J]. Pediatr Pulmonol, 2008, 43(5):421-425.
- [7] Ingram JL, Huggins MJ, Church TD, et al. Airway fibroblasts in asthma manifest an invasive phenotype[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 183(12):1625-1632.
- [8] Esnault S, Benbernou N, Lavaud F, et al. Differential spontaneous expression of mRNA for IL-4, IL-10, IL-13, IL-2 and interferon-gamma (IFN-gamma) in peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from atopic patients[J]. Clin Exp Immunol, 1996, 103(1):111-118.
- [9] Levy S, Sutton G, Ng PC, et al. The diploid genome sequence of an individual human[J]. PLoS Biol, 2007, 5(10):e254.
- [10] Wheeler DA, Srinivasan M, Egholm M, et al. The complete genome of an individual by massively parallel DNA sequencing[J]. Nature, 2008, 452(7189):872-876.
- [11] Venter JC, Adams MD, Myers EW, et al. The sequence of the human genome[J]. Science, 2001, 291(5507):1304-1351.
- [12] Park HW, Lee JE, Kim SH, et al. Genetic variation of IL13 as a risk factor of reduced lung function in children and adolescents: a cross-sectional population-based study in Korea[J]. Respir Med, 2009, 103(2):284-288.
- [13] Woodruff PG, Modrek B, Choy DF, et al. T-helper type 2-driven inflammation defines major subphenotypes of asthma[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 180(5):388-395.

(收稿日期:2012-12-08 修回日期:2013-02-18)

(上接第 1574 页)

- Ther, 2009, 9(7):831-840.
- [13] Takayama T, Sekine T, Makuuchi M, et al. Adoptive immunotherapy to lower postsurgical recurrence rates of hepatocellular carcinoma: a randomised trial[J]. Lancet, 2000, 356(9232):802-807.
- [14] Peng B, Liang L, Chen Z, et al. Autologous tumor vaccine lowering postsurgical recurrent rate of hepatocellular carcinoma[J]. Hepatogastroenterology, 2006, 53(69):409-414.
- [15] Hui D, Qiang L, Jian W, et al. A randomized, controlled trial of postoperative adjuvant cytokine-induced killer cells immunotherapy after radical resection of hepatocel-

lular carcinoma[J]. Dig Liver Dis, 2009, 41(1):36-41.

- [16] Shi M, Zhang B, Tang ZR, et al. Autologous cytokine-induced killer cell therapy in clinical trial phase I is safe in patients with primary hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(8):1146-1151.
- [17] 李建旺,彭大为,黄春珍,等. 自体 CIK 细胞及 DC 细胞联合索拉非尼治疗晚期肝癌的临床观察[J]. 实用癌症杂志, 2011, 26(5):459-461.
- [18] 韩照予,周宜强. 介入治疗联合 DC+CIK 细胞疗法治疗肝癌疗效观察[J]. 中国中医药现代远程教育, 2010, 8(20):112-113.

(收稿日期:2012-10-08 修回日期:2013-01-22)