

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.11.007

IL-17A 启动子基因多态性与冠心病患者 血脂和炎症因子的关联性研究*

张倩辉, 谢悦陶, 党懿, 苑可心, 刘月欣, 李树仁
(河北省人民医院心血管内科, 石家庄 050000)

[摘要] **目的** 探讨白细胞介素(IL)-17A 启动子基因多态性与冠心病患者血脂和炎症因子的关联。**方法** 收集 2013 年 4 月至 2016 年 12 月在该院入院治疗且确诊的冠心病患者 241 例为冠心病组,另取该院同期常规健康体检者 68 例为对照组。检测 IL-17A 基因启动子 rs8193036 基因型、血脂和炎症因子。**结果** 与对照组相比,冠心病组 IL-17A 启动子 rs8193036 位点基因型 CC、CT、TT 分布差异有统计学意义($P < 0.05$),冠心病组 C 等位基因频率显著高于对照组($P < 0.05$)。与冠心病组 CT+TT 基因型比较,冠心病组 CC 基因型的三酰甘油、IL-17A、IL-6、IL-8 和肿瘤坏死因子- α 水平显著升高($P < 0.05$),高密度脂蛋白胆固醇水平显著降低($P < 0.05$),血清总胆固醇和低密度脂蛋白胆固醇水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** IL-17A 基因启动子 rs8193036 多态性与冠心病的发病有相关性,其中 C 等位基因是冠心病重要的遗传标记,IL-17A 基因启动子 rs8193036 多态性可能通过影响血脂及炎症因子水平而参与冠心病的发生。

[关键词] 白细胞介素-17A;冠心病;基因多态性;血脂;炎症因子

[中图分类号] R541.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)11-1457-03

Association of IL-17 A gene promoter polymorphism with blood lipid and inflammatory factors in patients with coronary heart disease*

ZHANG Qianhui, XIE Yuetao, DANG Yi, YUAN Kexin, LIU Yuexin, LI Shuren

(Department of Vasculocardiology, Hebei People's Hospital, Shijiazhuang, Hebei 050000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the association between interleukin-17 A (IL-17 A) gene promoter polymorphism and blood lipid and inflammatory factors in coronary heart disease. **Methods** A total of 241 patients with coronary heart disease who were admitted to hospital from April 2010 to December 2016 were enrolled in this study. 68 cases of healthy subjects were collected. IL-17 gene promoter rs8193036 genotype, blood lipid and inflammatory factors were detected and compared. **Results** Compared with the control group, the genotype CC, CT and TT of the rs8193036 genotype in the coronary heart disease group were significantly different ($P < 0.05$), and the frequency of C allele in the coronary heart disease group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). The levels of triglyceride, low-density lipoprotein cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, interleukin-17a, interleukin-6, interleukin-8 and tumor necrosis factor alpha in CC genotype of tumor necrosis factor alpha group were significantly higher than those in tumor necrosis factor alpha group ($P < 0.05$), high density lipoprotein cholesterol decreased significantly ($P < 0.05$). Total cholesterol and low-density lipoprotein cholesterol had no significant differences ($P > 0.05$). **Conclusion** The rs8193036 polymorphism of IL-17A gene promoter is associated with the pathogenesis of coronary heart disease. The C allele is an important genetic marker of coronary heart disease. The polymorphism of IL-17A promoter rs8193036 might affect coronary heart disease by increasing blood lipids and inflammation factors.

[Key words] interleukin-17A; coronary heart disease; gene polymorphism; lipid; inflammatory factor

冠心病是受到环境因素和遗传因素互相作用的发病机制十分复杂的多基因疾病。近年来,遗传学研究认为不同个体对环境的反应存在差异,这种差异与单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)有关,造成疾病易感性在个体分布存在差异^[1-2]。白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)是主要

由 Th17 细胞分泌的炎症因子,作为强效促炎因子,与受体结合后,通过参与变态反应达到调节组织局部炎症反应,如诱导促炎因子[白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF)及基质金属蛋白酶-3(MMP-3)]等促进组织炎症发生。IL-17 家族包括 IL-17A、IL-17B 和 IL-17C 等 6 个亚型,其中 IL-17A

最具代表性。研究发现冠心病患者外周血 IL-17A 水平高于健康人,且与血脂代谢及动脉粥样硬化形成密切相关^[3-4]。已有大量研究发现 IL-17A 基因多态性与多种炎症性疾病相关,如炎症性肠病^[5]、类风湿性关节炎^[6]和病毒性细支气管炎^[7],但 IL-17A 基因多态性与冠心病及血脂、炎症因子的相关性研究较少。本研究通过观察 IL-17A rs8193036 位点基因多态性与冠心病患者的血脂和炎症因子的关联,以期开展特定人群疾病的预防及个体化治疗、预防冠心病的发生、发展提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 共纳入 2013 年 4 月至 2016 年 12 月在本院就诊的冠心病患者 241 例为冠心病组,入选标准^[8]:(1)冠状动脉造影检查提示心、外膜主要血管(左冠状动脉主干、右冠状动脉、左前降支、回旋支)中有任意一支直径狭窄程度大于 50%;(2)运动负荷试验提示 ST 段压低大于或等于 1 mm,持续时间超过 2 min;(3)典型心肌梗死症状+心电图变化+心肌损伤标志物升高或既往有心肌梗死病史、接受过血运重建治疗;(4)核素负荷试验提示阳性或者负荷超声心动图提示阳性。冠心病组中男 136 例,女 105 例;年龄 65~73 岁,平均(68.2±3.9)岁;体质量指数(22.6±2.1)kg/m²;高中以下学历 101 例,高中或高中以上学历 140 例;未婚或丧偶 56 例,已婚 185 例;单支血管病变 96 例,2 支血管病变 81 例,3 支及以上血管病变 64 例;急性冠状动脉综合征 76 例,慢性心血管疾病 98 例,冠心病高危人群 67 例;左心室射血分数(EF)≥40% 102 例,EF<40% 139 例。另取本院同期健康体检者 68 例为对照组,其中男 39 例,女 29 例;年龄 67~72 岁,平均(67.9±2.7)岁;体质量指数(23.0±0.9)kg/m²;高中以下学历 30 例,高中或高中以上学历 38 例;未婚或丧偶 15 例,已婚 53 例。两组受试者的性别、年龄、体质量指数、受教育程度及婚姻状况等基线资料差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本课题经本院伦理委员会同意,所有受试者均签署知情同意书。

1.2 排除标准 合并糖尿病、甲状腺疾病、家族性高胆固醇血症、肾脏疾病、肝脏疾病者;合并严重的脑、肝、肺和肾功能障碍者;存在血缘关系者。

1.3 检测指标

1.3.1 IL-17 基因启动子 rs8193036 基因型 收集所有受试者的空腹外周血 5 mL,抗凝、离心分离血浆,用全血基因组 DNA 抽提试剂盒(上海生工生物工程有限公司)提取全血基因组 DNA,用 PCR-RFLP 检测 IL-17A 基因启动子 rs8193036 位点多态性,引物序列上游 5'-CGC TAA CTCCTT CTC TCT TTC C-3',下游 5'-CTG CAT GCT ACCAAG CAA CT-3'。参考 Takara 高保真性 PCR 扩增基因组 DNA,PCR 反应体系:10×缓冲液 5 μL,12.5 mmol/L dNTP 4 μL,引物 20 pmol,模板 DNA 0.2 g,耐热 DNA 聚合酶 4 μL,去离子水加至 50 μL。扩增反应循环参数:94℃预变性 3 min,94℃变性 30 s,60℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,34 个循环,72℃延伸 7 min,4℃保存,采用 DNA 测序仪检测。

1.3.2 血脂 采用酶法和乳胶比浊法检测外周血血清总胆固醇(total cholesterol,TC)、三酰甘油(triglyceride,TG)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol,LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol,HDL-C)。检测仪器为日立 7080 全自动生化分析仪,血脂测定试剂盒由利德曼公司提供。

1.3.3 炎症因子 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法检测 IL-17、IL-6 和 TNF-α,IL-17A 试剂盒购于 Santa Cruz 公司,其余试剂盒购于南京森贝伽生物科技有限公司,严格根据说明书要求操作,采用 BIOBASE-EL10A 酶标仪检测(山东博科)。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组内比较采用配对 t 检验或 χ^2 检验;多态位点与冠心病发生风险之间的关联度采用 Logistic 回归分析,用校正性别、年龄状况后的优势比(odds ratio,OR)和 95% 置信区间(confidence interval,CI)表示,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-17A 启动子 rs8193036 位点的基因型与等位基因频率分布 与对照组相比,冠心病组 IL-17A 启动子 rs8193036 位点基因型 CC、CT 和 TT 分布差异有统计学意义($P<0.05$),冠心病组 C 等位基因频率显著高于对照组($P<0.05$),见表 1。

表 1 IL-17A 启动子 rs8193036 位点的基因型与等位基因频率分布[n(%)]

组别	n	基因型			等位基因		OR(95%CI)
		CC	CT	TT	C	T	
对照组	68	19(27.94)	24(35.29)	25(36.76)	62(45.59)	74(54.41)	2.315(1.067~3.478)
冠心病组	241	107(44.40)	75(31.12)	59(24.48)	289(59.96)	193(40.04)	
χ^2			6.755			8.927	
P			0.034			0.003	0.000

表 2 冠心病组 IL-17 各基因型间血脂水平的比较($\bar{x}\pm s$,mmol/L)

基因型	n	TC	TG	LDL-C	HDL-C
CC	107	5.80±1.15	1.98±0.79	3.29±0.86	1.26±0.36
CT+TT	134	5.50±1.24	1.76±0.73	3.09±0.84	1.36±0.39
t		1.927	2.241	1.817	2.046
P		0.056	0.027	0.071	0.043

表 3 冠心病组 IL-17 各基因型间炎症因子水平的比较($\bar{x}\pm s$)

基因型	n	IL-17A	IL-6(ng/mL)	IL-8(ng/L)	TNF-α(pg/L)
CC	107	161.06±69.54	241.12±36.95	487.19±102.34	423.10±103.32
CT+TT	134	142.69±70.21	230.98±35.18	458.71±110.36	395.84±105.68
t		2.027	2.174	2.055	2.009
P		0.045	0.031	0.042	0.047

2.2 冠心病组 IL-17 各基因型间血脂水平的比较

与冠心病组的 CT+TT 基因型比,冠心病组 CC 基因型的 TG 水平显著增高($P<0.05$),HDL-C 水平显著降低($P<0.05$),TC 和 LDL-C 水平差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

2.3 冠心病组 IL-17 各基因型间炎症因子水平的比较 与冠心病组 CT+TT 基因型比较,冠心病组 CC 基因型的 IL-17A、IL-6、IL-8 和 TNF-α 水平显著升高($P<0.05$),见表 3。

3 讨论

冠心病是由多种因素和多个基因共同作用,以炎症反应损伤为主要特征的血管性疾病。除了年龄、吸烟、高血压、血脂异常等冠心病危险因素外,基因多态性在冠心病的发生和发展中的作用开始受到关注。本研究结果显示,对照组和冠心病组均存在 3 种 IL-17A 基因启动子 rs8193036 位点的基因型,即 CC、CT 和 TT,但与对照组比较,冠心病组的上述 3 个基因型分布存在差异,C 等位基因携带者发生冠心病的概率约为普通人的 2.315 倍。本文结果与国内外相关研究结果一致,提示 IL-17 启动子 rs8193036 基因多态性可能与冠状动脉粥样硬化形成相关^[9-10],但其与动脉粥样硬化形成的具体机制仍不清楚。

血管内皮损伤和炎症反应在冠心病的发生、发展中起着重要作用。炎症可导致血管内皮损伤、影响脂质代谢、促进脂质沉积,血管局部长期的慢性炎症是动脉粥样硬化形成的主要原因。CC 基因型冠心病患者血清 IL-17A 的水平显著高于 CT+TT 基因型,同时伴随 TG 水平升高及 HDL-C 水平降低,IL-6、IL-8 和 TNF-α 等促炎因子水平升高,该结果进一步验证了前文提到的 IL-17 具有调节或诱导组织局部炎症反应,参与促进动脉粥样硬化的发生和发展的作用。既往研究发现 IL-17A 可通过核因子-κB(NF-κB)和 p38/ERK MAPK 信号通路上调脂肪酸结合蛋白 aP2,进而促进动脉粥样硬化的进展^[11]。以上结果进

一步提示 IL-17A 启动子 rs8193036 位点改变对冠心病事件发生可能存在预测价值,因为既往研究^[12]显示外源性 IL-17A 的干预导致斑块脂质含量增加、坏死核心占斑块面积增加;此外血脂水平异常及炎症因子增高均可通过影响斑块的不稳定性,从而影响冠心病的发生、发展及预后。

冠心病是复杂的多基因遗传疾病,其发生和发展是基因之间及基因环境之间的合力结果。不同区域、种族人群的遗传特征可能也存在差异。如本课题纳入的病例均为本省常住居民,IL-17A(rs2275913)基因多态性不能肯定地作为冠心病的分子遗传学标志,如 BAO 等^[13]开展的 Meta 分析未得到 IL-17A 基因启动子 rs8193036 基因多态性与亚洲冠心病人群的易感关系,因此仍有必要扩大样本进行验证。IL-17A 既然与冠心病的关系非常紧密,某些功能区域如启动子区、编码区、5'非翻译区(5'UTR)和 3'非翻译区(3'UTR)等如果存在多态位点,都可影响基因结构,改变基因表达及功能^[14],因此 IL-17A(rs2275913)的研究仅是 IL-17A 基因多态性与冠心病关联的冰山一角,进一步的研究将分析 IL-17A 更多位点。

综上所述,IL-17A 基因启动子 rs8193036 多态性与冠心病的发病有相关性,其中 C 等位基因是冠心病重要的遗传标记,IL-17A 基因启动子 rs8193036 多态性可能通过影响血脂及炎症因子水平而影响冠心病的发生和发展。

参考文献

[1] LI M P, HU X L, YANG Y L, et al. Basigin rs8259 polymorphism confers decreased risk of chronic heart failure in a Chinese population [J]. Int J Environ Res Public Health, 2017, 14(2):E211.
 [2] BARZI S A, GHADERIAN S M, NOORMOHAMMADI Z. A molecular case-control study of association of HNF1A gene polymorphisms (rs2259816 (下转第 1464 页)

- [2] SAKETKOO L A, MATTESON E L, BROWN K K, et al. Developing disease activity and response criteria in connective tissue disease-related interstitial lung disease [J]. *J Rheumatol*, 2011, 38(7):1514-1518.
- [3] HOCHBERG M C. Updating the American college of rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(9):1725.
- [4] TRAVIS W D, COSTABEL U, HANSELL D M, et al. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: Update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188(6):733-748.
- [5] 黄文群, 陈顺乐. 100 例系统性红斑狼疮患者的肺间质病变初探[J]. *上海医学*, 1994, 23(5):51-52.
- [6] WALSH S L, HANSELL D M. High-resolution CT of interstitial lung disease: a continuous evolution[J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2014, 35(1):129-144.
- [7] HUNNINGHAKE G W, LYNCH D A, GALVIN J R, et al. Radiologic findings are strongly associated with a pathologic diagnosis of usual interstitial pneumonia[J]. *Chest*, 2003, 124(4):1215-1223.
- [8] 张德平, 康健. 结缔组织病相关性间质性肺炎与特发性间质性肺炎的鉴别[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2009, 32(7):532-534.
- [9] POVYSIL C. Histopathological classification of idiopathic interstitial pneumonias[J]. *Cesk Patol*, 2010, 46(1):3-7.
- [10] 杜兴贵, 王勤. 实验性家兔肺动脉粥样硬化的病理组织学观察[J]. *湖北医药学院学报*, 1997, 16(3):121-123.
- [11] STRAWN W B, FERRARIO C M. Mechanisms linking angiotensin II and atherogenesis [J]. *Curr Opin Lipidol*, 2002, 13(5):505-512.
- [12] COOK S. Coronary artery disease, nitric oxide and oxidative stress: the "Yin-Yang" effect—a Chinese concept for a worldwide pandemic[J]. *Swiss Medical Weekly*, 2006, 136(7/8):103-113.
- [13] 周建红. 脂质异常家兔抗氧化能力与血管细胞黏附因子-1 的变化以及血脂康对其影响[J]. *天津药学*, 2010, 22(1):1-3.
- [14] 刘和亮, 赵金垣. 氧化应激和肺损伤[J]. *中国职业医学*, 2002, 29(5):49-51.
- [15] 刘晓华, 成守珍, 张瑞芳. 健康体检人群高脂血症相关知识调查分析[J]. *中华护理杂志*, 2006, 41(9):852-854.
- [16] 朱一堂. 脂肪肝发生与高脂血症的相关性调查[J]. *检验医学*, 2006, 21(4):352-354.
- [17] 陈秀华. 心脑血管疾病的一级二级预防[J]. *基层医学论坛*, 2009, 13(29):943-944.
- [18] 林俊, 刘湘源, 黄次波, 等. 伴雷诺现象的系统性红斑狼疮 42 例分析[J]. *中华皮肤科杂志*, 2001, 34(1):12-14.
- [19] 李结华, 叶冬青, 杨世贵, 等. Sm 抗体阳性系统性红斑狼疮临床特征分析[J]. *实用医学杂志*, 2004, 20(1):20-22.

(收稿日期:2017-09-16 修回日期:2017-11-22)

(上接第 1459 页)

- and rs7310409) with risk of coronary artery disease in Iranian patients[J]. *Hum Antibodies*, 2017, 25(1/2):65-70.
- [3] TALEB S, TEDGUI A, MALLAT Z. IL-17 and Th17 cells in atherosclerosis: subtle and contextual roles[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(2):258-264.
- [4] YU X H, JIANG N, ZHENG X L, et al. Interleukin-17A in lipid metabolism and atherosclerosis[J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 431(3):33-39.
- [5] ZHANG X, YU P, WANG Y, et al. Genetic polymorphisms of interleukin 17A and interleukin 17F and their association with inflammatory bowel disease in a Chinese Han population [J]. *Inflamm Res*, 2013, 62(8):743-750.
- [6] LEE Y H, BAE S C. Associations between circulating IL-17 levels and rheumatoid arthritis and between IL-17 gene polymorphisms and disease susceptibility: a meta-analysis [J]. *Postgrad Med J*, 2017, 93(102):2016.
- [7] PINTO L A, AZEREDO L A, MOCELLIN M, et al. IL-8/IL-17 gene variations and the susceptibility to severe viral bronchiolitis[J]. *Epidemiol Infect*, 2017, 145(4):642-646.
- [8] 卫生部医疗服务标准委员会. 冠状动脉粥样硬化性心脏病诊断标准[M]. 北京:中国标准出版社, 2010.
- [9] VARGAS-ALARCON G, ANGELES-MARTINEZ J, VILLARREAL-MOLINA T, et al. Interleukin-17A gene haplotypes are associated with risk of premature coronary artery disease in Mexican patients from the Genetics of Atherosclerotic Disease (GEA) study[J]. *PLoS One*, 2015, 10(1):e0114943.
- [10] 李万静, 普彦淞, 段宗明, 等. IL-17A 基因启动子多态性与西北地区汉族人群冠心病的相关性研究[J]. *中国临床研究*, 2016, 29(12):1654-1656.
- [11] 高琦. Th17 细胞及效应分子 IL-17A 在动脉粥样硬化发生过程中的作用及机制研究[D]. 济南:山东大学, 2012.
- [12] 王晓丹, 韩荣旗, 王玉慧, 等. IL-17 与动脉粥样硬化的研究进展[J]. *世界临床药物*, 2015, 36(6):414-417.
- [13] BAO M H, LUO H Q, XIANG J. Meta-analysis for the association between polymorphisms in interleukin-17A and risk of coronary artery disease[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2016, 13(7):E660.
- [14] 张效林, 韩雅玲, 裴芳, 等. IL-17A 基因-121G/A 多态性与中国北方汉族人群早发冠心病的关系[J]. *山东医药*, 2010, 50(33):1-3.

(收稿日期:2017-09-22 修回日期:2017-12-16)