

IL-10 基因多态性与中国北方人群糖尿病肾病易感性的关系*

马东红,刘云,石岩,许清玉,郭明好

(新乡医学院第一附属医院,河南卫辉 453100)

[摘要] **目的** 探讨白细胞介素(IL)-10-1082G/A、-819T/C 和-592A/C 的遗传变异性与中国北方人群糖尿病肾病易感性之间的关系。**方法** 收集该院 2012 年 6 月到 2015 年 12 月确诊为 2 型糖尿病及糖尿病肾病的患者 224 例为观察组,选取同期在该院进行常规健康检查的健康人 350 名作为对照组。通过聚合酶链反应-限制性片段长度多态性对 IL-10-1082G/A、-819T/C 和-592A/C 基因多态性进行分型。**结果** 与对照组相比,观察组患者 IL-10-1082G/A 中 GG、GA 和 AA 的基因频率差异有统计学意义($\chi^2=7.729, P=0.021$)。非条件 Logistic 回归分析显示 IL-10-1082G/A 的 AA 基因型相比于野生型基因显著增加了糖尿病肾病的易感性($OR=2.147, 95\%CI=1.225\sim 3.762$)。此外,与 G 等位基因相比,A 等位基因增加了罹患糖尿病肾病的风险($OR=1.404, 95\%CI=1.095\sim 1.800$)。IL-10-819T/C 和-592A/C 基因多态性未增加罹患糖尿病肾病的风险。**结论** IL-10-1082G/A 的基因多态性与糖尿病肾病的发生发展有密切的关系。

[关键词] 糖尿病肾病;IL-10-1082G/A;IL-10-819T/C;IL-10-592A/C;多态性,单核苷酸

[中图法分类号] R692.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)26-3390-04

Association between interleukin-10 gene polymorphisms and susceptibility of diabetic nephropathy in northern population of China*

MA Donghong, LIU Yun, SHI Yan, XU Qingyu, GUO Minghao

(First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Xinxiang, Henan 453100, China)

[Abstract] **Objective** To study the association between interleukin-10-1082G/A, -819T/C, -592A/C hereditary variability and susceptibility of diabetic nephropathy in northern population of China. **Methods** A total of 224 cases of type 2 diabetes mellitus (T2DM) and diabetic nephropathy in this hospital from June 2012 to December 2015 were collected as the observation group, and contemporaneous 350 individuals undergoing the routine healthy physical examination were selected as the control group. The IL-10-1082G/A, -819T/C and -592A/C polymorphisms were genotyped by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. **Results** Compared to the control group, the difference in GG, GA, and AA gene frequency of IL-10-1082G/A in observation group had statistical significance ($\chi^2=7.729, P=0.021$). The non-conditional Logistic regression analysis showed that compared to the wild-type genotype, the AA genotype of IL-10-1082G/A significantly increased the susceptibility of diabetic nephropathy, odds ratio (OR) = 2.147, 95% confidence interval (CI) = 1.225 - 3.762. Moreover, the A allele increased the risk suffering from diabetic nephropathy compared to the G allele (OR) = 1.404, 95% CI = 1.095 - 1.800. However, the IL-10-819T/C and -592A/C genetic polymorphisms did not increase the risk suffering from diabetic nephropathy. **Conclusion** The IL-10-1082G/A gene polymorphism has close relationship with the occurrence and development of diabetic nephropathy.

[Key words] diabetic nephropathies; IL-10-1082G/A; IL-10-819T/C; IL-10-592A/C; polymorphism, single nucleotide

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是导致终末期肾功能衰竭的主要原因之一,在美、日和欧洲等发达国家和地区, DN 已成为终末期肾病的首位病因(约占 35%),在我国这一比例也逐渐上升^[1]。但发

病机制至今尚未完全阐明。环境和生活方式因素,如高血压、肥胖、高尿酸血症、高肾小球滤过率、血糖控制等都参与 DN 的发病^[2]。另外,遗传易感性在 DN 的发展和严重程度上也发挥了举足轻重的作用。有

研究发现,在 DN 的发病过程中,肾脏炎症起了至关重要的作用。白细胞介素(IL)-10 主要由辅助性 T 细胞(Th2 细胞)产生,是一个众所周知的免疫调节细胞因子,其主要调节 T 细胞和单核细胞/巨噬细胞^[3]。IL-10 基因位于染色体 1q31-1q32,编码一个相对分子质量为 4.7×10^3 的蛋白质,在其 5' 区域的转录起始点已证实存在 3 个常见的单核苷酸多态性,其对 IL-10 的产生是重要的决定因子。他们分别是-1082 位点 G/A(rs1800896)、-819 位点 T/C(rs1800871)、-592 位点 A/C(rs1800872)^[4]。已有研究报告,IL-10 水平与 DN 患者尿蛋白/肌酐比值呈明显正相关,这表明炎症细胞因子和趋化因子的异常产生是 DN 潜在的免疫病理机制^[5]。另有研究发现,随着 DN 的进展,外周血中炎症细胞因子水平明显增加^[6]。已有研究报道,IL-10-592C/A、-819C/T 和-1082G/A 基因多态性与 DN 易感性的关系,但结果并不一致^[7-11]。因此,本研究主要探讨 IL-10-1082G/A、-819T/C 和-592A/C 基因多态性与中国 DN 易感性的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2012 年 6 月到 2015 年 12 月确诊为 2 型糖尿病(DM)及 DN 的患者 224 例(观察组)。DM 参照 1999 年世界卫生组织制定的标准,根据蛋白尿及肾小球滤过率的水平诊断为 DN。伴有严重难以控制的高血压(160/100 mm Hg)、急性或慢性感染、合并肿瘤等患者除外。DN 患者的平均年龄为(56.85±11.44)岁,男性占 54.91%。选取同期在本院进行常规健康检查的健康人 350 名作为对照组。根据空腹血糖水平、蛋白尿和肾小球滤过率确定对照

组均无 DM 和 DN。对照组平均年龄为(53.43±10.73)岁,男性占 54.57%。观察组和对照组受试者均在入组时由专一护士登记、收集其人口学资料,根据就医记录收集临床数据。所有研究对象在实验前签署知情同意书。该项研究通过本院临床研究伦理委员会的批准。

1.2 基因分型 研究对象晨起空腹采集静脉血 4 mL,-80 °C 保存。全基因组 DNA 通过血液 DNA 提取试剂盒(Qiagen 公司,瓦伦西亚,CA,USA)从全血标本中分离出来。IL-10-1082G/A、-819T/C 和-592A/C 多态性通过聚合酶链反应-限制性片段长度多态性进行分型。IL-10-1082G/A、-819T/C 和-592A/C 的 PCR 引物和限制酶见表 1。PCR 反应条件如下:起始模板变性 94 °C,5 min;其后 30 个循环:94°C 变性 45 s,可变温度退火 30 s,72 °C 延伸 45 s。所得片段经 2% 琼脂糖凝胶用溴化乙锭染色,以确定 2 个多态位点。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验。计数资料用率表示,采用 χ^2 检验。Logistic 回归分析 IL-10 基因多态性与患 DN 风险之间的关联。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 人口学资料 两组对象在年龄、体质量指数(BMI)、高血压、三酰甘油(TG)水平、总胆固醇(CHO)水平、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)水平、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平、血肌酐(SCr)水平等指标差异均有统计学意义;而在性别、吸烟情况、饮酒情况等指标之间差异无统计学意义,见表 2。

表 1 PCR 引物及限制性内切酶

IL-10	正向引物(5'-3')	反向引物(3'-5')	酶切片段长度(bp)	限制性内切酶
-1082G/A	ACT ACT AAG GCT TCT TTG GGA A	CTA CTA AGG CTT CTT TGG GAG	258	MnII
-819T/C	TCA TTC TAT GTG GTG GAC ATG G	TGG GCC AAG TGG GTA AGA GT	209	MsiII
-592A/C	CCT AGG TCA CAG TGA CGT GG	GGT GAG CAC TAC CTG ACT AGC	412	RsaI

表 2 两组对象的人口统计资料及临床特征

项目	观察组(n=224)	对照组(n=350)	t/ χ^2	P
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	56.85±11.44	53.43±10.73	3.629	0.000
性别(男/女,n/n)	123/101	191/159	0.006	0.937
BMI(kg/m ² , $\bar{x} \pm s$)	24.25±1.46	23.03±2.47	6.699	0.000
高血压(是/否,n/n)	104/120	124/226	6.902	0.009
吸烟(是/否,n/n)	123/101	183/167	0.378	0.539
饮酒(是/否,n/n)	100/124	185/165	3.687	0.055
TG(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	2.61±0.63	2.11±0.54	9.998	0.000
CHO(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	5.13±1.08	4.46±0.90	7.996	0.000
HDL-C(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	2.13±0.53	1.94±0.46	4.354	0.000

续表 2 两组对象的人口统计资料及临床特征

项目	观察组(n=224)	对照组(n=350)	t/ χ^2	P
LDL-C(mmol/L, $\bar{x}\pm s$)	4.62 \pm 1.13	3.49 \pm 1.18	11.458	0.000
SCr(μ mol/L, $\bar{x}\pm s$)	85.93 \pm 26.27	71.89 \pm 16.20	7.920	0.000
DM 病程(年, $\bar{x}\pm s$)	4.27 \pm 1.89	—	—	—

—:无数据

2.2 IL-10-1082G/A、-819T/C、和-592A/C 基因多态性的分布 观察组患者中的 IL-10-1082G/A、-819T/C 和-592A/C 多态性的基因型分布并没有偏离哈迪-温伯格平衡定律(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE), $P=0.82, 0.33, 0.59$ 。对照组 IL-10-1082G/A、-819T/C 和-592A/C 多态性的基因型分布的 $P=0.33, 0.25, 0.31$, 也没有偏离 HWE。 χ^2 比较显示 IL-10-1082G/A 多态性上的 GG、GA 和 AA 基因频率存在一个显著的区别, 在 DN 和对照组之间差异有统计学意义($\chi^2=7.729, P=0.021$), 而 IL-10-819T/C 和-592A/C 多态性上的基因频率, 在观察组和对照组之间差异无统计学意义, 见表 3。

表 3 IL-10-1082G/A、-819T/C 和-592A/C 基因多态性的分布[n(%)]

项目	观察组 (n=224)	对照组 (n=350)	HWE 的 P 值		χ^2	P
			观察组	对照组		
-1082G/A			0.82	0.33	7.729	0.021
GG	83(37.05)	162(46.29)				
GA	108(48.21)	158(45.14)				
AA	33(14.73)	30(8.57)				
-819T/C			0.33	0.25	1.112	0.574
TT	75(33.48)	130(37.14)				
TC	103(45.98)	158(45.14)				
CC	46(20.54)	62(17.71)				
-592A/C			0.59	0.31	1.572	0.456
AA	78(34.82)	139(39.71)				
AC	105(46.88)	156(44.57)				
CC	41(18.30)	55(15.71)				

表 4 IL-10-1082G/A、-819T/C 和-592A/C 基因多态性和患 DN 风险的关联[n(%)]

项目	观察组	对照组	OR(95%CI)	P
-1082G/A				
GG	83(37.05)	162(46.29)	1	
GA	108(48.21)	158(45.14)	1.334(0.930~1.913)	0.117
AA	33(14.73)	30(8.57)	2.147(1.225~3.762)	0.008
等位基因				
G	274(61.16)	482(68.86)	1	
A	174(38.84)	218(31.14)	1.404(1.095~1.800)	0.007

续表 4 IL-10-1082G/A、-819T/C 和-592A/C 基因多态性和患 DN 风险的关联[n(%)]

项目	观察组	对照组	OR(95%CI)	P
-819T/C				
TT	75(33.48)	130(37.14)	1	
TC	103(45.98)	158(45.14)	1.130(0.775~1.648)	0.526
CC	46(20.54)	62(17.71)	1.286(0.799~2.069)	0.300
等位基因				
T	253(56.47)	418(59.71)	1	
C	195(43.53)	282(40.29)	1.142(0.899~1.453)	0.277
-592A/C				
AA	78(34.82)	139(39.71)	1	
AC	105(46.88)	156(44.57)	1.199(0.827~1.739)	0.337
CC	41(18.30)	55(15.71)	1.328(0.814~2.169)	0.256
等位基因				
A	261(58.26)	434(62.00)	1	
C	187(41.74)	266(38.00)	1.169(0.918~1.489)	0.206

2.3 IL-10-1082G/A、-819T/C 和-592A/C 基因多态性和罹患 DN 风险的关联 Logistic 回归分析显示, 和野生型基因相比, IL-10-1082G/A 的 AA 基因型明显增加了 DN 的易感性 ($OR=2.147, 95\% CI=1.225\sim 3.762$)。此外, 与 G 等位基因相比, A 等位基因增加了罹患 DN 的风险 ($OR=1.404, 95\% CI=1.095\sim 1.800$)。然而, IL-10-819T/C 和-592A/C 基因多态性的 Logistic 回归分析显示他们的基因型和等位基因与 DN 的易感性不相关, 见表 4。

3 讨论

DN 的病程发展受很多环境因素的影响, 例如肾小球高滤过、高血压、严格的血糖控制以及种族差异^[12]。然而, 即使暴露于完全相同的危险因素下, 并非所有的患者均发生 DN, 这说明 DN 的发生有遗传因素参与, 即不同种族间 DN 的发病率存在显著差异。

长期以来, DN 一直被认为是代谢性疾病。然而, 最新研究发现, 在 DN 的发病过程中, 肾脏局部炎症起了至关重要的作用。IL-10 是抗炎细胞因子, 可抑制巨噬细胞合成 IL-6、IL-1 β 、IL-1 α 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 抑制 T 细胞产生干扰素- γ (IFN- γ)。IL-10 主要由 Th2 细胞、调节性 T 细胞、单核/巨噬细胞产

生,在免疫系统调节中起重要作用。IL-10 具有抗炎和免疫抑制双重特性,且 IL-10 的活性和 DN 的临床预后密切相关。有研究发现, DN 患者中外周血 IL-10 水平明显升高。另有研究发现, IL-10 水平和 DN 肾脏损害程度密切相关。因此,本研究观察 IL-10-1082G/A、-819T/C、-592A/C 的基因多态性与 DN 发生发展的关系。结果提示, IL-10-1082G/A 多态性在中国人口中与野生型相比罹患 DN 的风险明显增加。

越来越多的研究报道 IL 基因的改变和糖尿病之间的关系^[13]。例如,有研究报道在自身免疫性糖尿病小鼠中 IL-10 表达的升高起到保护作用^[14]。也有报道 IL-10 基因转移可使促炎症细胞因子表达下调,减弱胰腺的胰岛炎症,以及抑制胰腺 β 细胞凋亡,从而降低雌性非肥胖糖尿病小鼠糖尿病的发病率^[15]。这些研究表明, IL-10 的高表达可提高糖尿病的易感性。

DN 是糖尿病的常见并发症之一,有研究探讨了 IL-10 基因多态性在 DN 发展中的作用。然而,这些研究的结果并不一致。有研究报道了在德国人中, IL-10-1082G/A 的 GG 基因型多态性可增加罹患罹患终末期肾脏病的风险^[16]。同样,在突尼斯人口中 IL-10-819T/C 上的 T 等位基因和 DM 之间存在关联^[11]。

而在中国人中, IL-10 基因多态性与 DN 的易感性关系如何,目前此方面研究较少。因此,本研究发现 IL-10-1082G/A 基因多态性与罹患 DN 的风险有显著的相关性,即 AA 基因型明显增加了 DN 的易感性。

这项研究有一定的局限性。(1)研究受试者是从单一的区域(豫北地区)招募的,而中国南北地区季节、生活习惯等差异较大,不能准确地代表整个中国人群;(2)本研究的样本量相对较小,这可能影响到群体之间的统计学存在显著差异。需要进一步的扩大样本量以验证本研究结果。总之,本研究结果显示 IL-10-1082 G/A 多态性与 DN 的发生、发展密切相关。

参考文献

[1] DIEZ-SAMPEDRO A, LENZ O, FORNONI A. Podocytopathy in diabetes: a metabolic and endocrine disorder[J]. *Am J Kidney Dis*, 2011, 58(4): 637-646.

[2] LEWIS G, MAXWELL A P. Risk factor control is key in diabetic nephropathy[J]. *Practitioner*, 2014, 258(1768): 13-17.

[3] RUTZ S, OUYANG W. Regulation of interleukin-10 expression[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2016, 941: 89-116.

[4] TRIFUNOVIC J, MILLER L, DEBELJAK Ž, et al. Pathologic patterns of interleukin 10 expression—a review [J]. *Biochem Med (Zagreb)*, 2015, 25(1): 36-48.

[5] WU C C, CHEN J S, LU K C, et al. Aberrant cytokines/chemokines production correlate with proteinuria in patients with overt diabetic nephropathy[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(9-10): 700-704.

[6] KONENKOV V I, KLIMONTOV V V, MIAKINA N E, et al. Increased serum concentrations of inflammatory cytokines in type 2 diabetic patients with chronic kidney disease[J]. *Ter Arkh*, 2015, 87(6): 45-49.

[7] PENG X, XU J Y, WANG P P, et al. Interleukin-10-1082A/G polymorphism and diabetic nephropathy: a Meta-Analysis[J]. *Med Sci Monit*, 2015, 21: 890-894.

[8] RODRIGUES K F, PIETRANI N T, SANDRIM V C, et al. Association of a large panel of cytokine gene polymorphisms with complications and comorbidities in type 2 diabetes patients[J]. *J Diabetes Res*, 2015, 2015: 605965.

[9] HUA Y Y I, SHEN J, SONG Y X, et al. Interleukin-10-592C/A, -819C/T and 1082A/G polymorphisms with risk of type 2 diabetes mellitus: a HuGE review and meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e66568.

[10] ERDOGAN M, CETINKALP S, OZGEN A G, et al. Interleukin-10 (-1082G/A) gene polymorphism in patients with type 2 diabetes with and without nephropathy[J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2012, 16(2): 91-94.

[11] ARABABADI M K, REZA MIRZAEI M, ALI SAJADI S M, et al. Interleukin (IL)-10 gene polymorphisms are associated with type 2 diabetes with and without nephropathy: a study of patients from the southeast region of Iran [J]. *Inflammation*, 2012, 35(3): 797-802.

[12] LIANG S, CAI G Y, CHEN X M. Clinical and pathological factors associated with progression of diabetic nephropathy[J]. *Nephrology (Carlton)*, 2017, 2 Suppl 4: S14-19.

[13] RODRIGUES K F, PIETRANI N T, SANDRIM V C, et al. Association of a large panel of cytokine gene polymorphisms with complications and comorbidities in type 2 diabetes patients[J]. *J Diabetes Res*, 2015: 605965.

[14] MANDKE R, SINGH J. Cationic nanomicelles for delivery of plasmids encoding interleukin-4 and interleukin-10 for prevention of autoimmune diabetes in mice [J]. *Pharm Res*, 2012, 29(3): 883-897.

[15] XU A J, ZHU W, LI T, et al. Interleukin-10 gene transfer into insulin-producing β cells protects against diabetes in non-obesediabetic mice[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(3): 3881-3889.

[16] BABEL N, GABDRAKHMANOVA L, HAMMER M H, et al. Predictive value of cytokine gene polymorphisms for the development of end-stage renal disease[J]. *J Nephrol*, 2006(6): 802-807.