

## 论著·临床研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.12.020

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220311.1741.002.html\(2022-03-14\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220311.1741.002.html(2022-03-14))

## IL-6 表达水平及其基因启动子区多态性 与脓毒症的相关性研究\*

王聪懿<sup>1</sup>, 李刚<sup>1</sup>, 张长喜<sup>1</sup>, 周瑞琴<sup>2</sup>, 吴庆琛<sup>2△</sup>

(1. 重钢总医院胸外科, 重庆 400084; 2. 重庆医科大学附属第一医院心胸外科 400016)

**[摘要]** **目的** 探讨脓毒症患者外周血白细胞介素-6(IL-6)表达水平及脓毒症进展与 IL-6 基因启动子区-174G/C、-572C/G 和-597G/A 位点多态性间的关系。**方法** 选择 2018 年 1 月至 2021 年 1 月重钢总医院收治的脓毒症患者 113 例为观察组, 选取同期该院体检健康人群 132 例作为对照组, 并根据第 3 版脓毒症诊断标准和分型方法, 将 113 例脓毒症患者分为脓毒症组( $n=51$ )和脓毒症休克组( $n=62$ ); 采集各组受试者外周血, 检测血浆中 IL-6 和降钙素原(PCT)表达水平, 采用聚合酶链式反应-限制性内切酶片段长度多态性(PCR-RFLP)技术检测 IL-6 基因启动子区-174G/C、-572C/G、-597G/A 位点多态性位点单核苷酸多态性(SNPs), 分析以上基因多态性与脓毒症易感性及其进展的关系。**结果** 观察组 IL-6 和 PCT 的血浆水平明显高于对照组( $P<0.001$ ), 且脓毒症休克组 IL-6 和 PCT 的血浆水平明显高于脓毒症组( $P<0.001$ )。与对照组比较, 观察组 IL-6 基因多态性位点-572C/G 的基因型 CC 及等位基因 C 频率明显偏低( $P<0.05$ ); 与脓毒症组比较, 脓毒症休克组 IL-6 基因多态性位点-572C/G 的基因型 CC 及等位基因 C 频率明显偏低( $P<0.05$ ), 而-174G/C 和-597G/A 位点比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ); IL-6 基因-572C/G 位点基因型为 CC 的脓毒症患者血浆 IL-6 和 PCT 水平明显低于基因型为 CG/GG 患者( $P<0.001$ )。**结论** IL-6 基因-572C/G 多态性与脓毒症的发病风险具有相关性, CC 基因型为脓毒症的保护基因, GG 基因型为易感基因型, 且其多态性影响 IL-6 表达水平。

**[关键词]** 脓毒症; 基因多态性; 白细胞介素-6; 降钙素原**[中图分类号]** R459.7**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)12-2070-05

## Correlation of IL-6 expression level and its gene promoter polymorphism with sepsis\*

WANG Congyi<sup>1</sup>, LI Gang<sup>1</sup>, ZHANG Changxi<sup>1</sup>, ZHOU Ruiqin<sup>2</sup>, WU Qingchen<sup>2△</sup>

(1. Department of Cardiothoracic Surgery, Chonggang General Hospital, Chongqing 400084, China; 2. Department of Cardiothoracic Surgery, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the correlation of peripheral blood interleukin-6 (IL-6) expression level and septic progress with IL-6 gene promoter regions -174G/C, -572C/G and -597G/A loci polymorphisms. **Methods** A Total of 113 patients with sepsis treated in Chonggang General Hospital from January 2018 to January 2021 were collected as the observation group, and contemporaneous 132 healthy subjects who underwent physical examination in this hospital were selected as the control group. The patients with sepsis were divided into the sepsis group ( $n=51$ ) and septic shock group ( $n=62$ ) according to the third edition of sepsis diagnostic standard and classification method. The peripheral blood of subjects in each group was collected. The expression levels of plasma IL-6 and procalcitonin (PCT) were detected. The single nucleotide polymorphisms (SNPs) of IL-6 gene promoter regions -174G/C, -572C/G and -597G/A loci were detected by the PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The relationship between the above gene polymorphisms and sepsis susceptibility and progression was analyzed. **Results** The plasma IL-6 and PCT levels in the observation were significantly higher than those in the control group ( $P<0.001$ ), moreover the plasma IL-6 and PCT levels in the septic shock group were significantly higher than those in the sepsis group ( $P<0.001$ ).

\* 基金项目: 重庆市科卫联合项目(ZY201902213)。 作者简介: 王聪懿(1987-), 主治医师, 硕士, 主要从事重症医学及外科学方面的研究。 △ 通信作者, E-mail: wqc6@hotmail.com。

Compared with the control group, the IL-6 genotypes CC at -572C/G gene polymorphism loci and the allele C frequency in the observation group were significantly lower ( $P < 0.05$ ), while compared with the sepsis group, the IL-6 genotypes CC at -572C/G and the allele C frequency in the septic shock group were significantly lower ( $P < 0.05$ ). No statistically significant difference was found in -174G/C and -597G/A loci between these groups ( $P > 0.05$ ). The plasma IL-6 and PCT levels in sepsis patients with CC genotype at IL-6 gene -572C/G loci were significantly lower than those in patients with CG/GG genotype ( $P < 0.001$ ). **Conclusion** The IL-6 gene polymorphism at -572C/G loci has the correlation with the onset risk of sepsis, the CC genotype is a protective gene of sepsis, the GG genotype is a susceptible genotype, moreover their polymorphism affects the IL-6 expression level.

**[Key words]** pyemia; gene polymorphism; interleukin-6; procalcitonin

脓毒症 (sepsis) 是常见的临床急危重症, 是宿主对感染的反应失调而致的危及生命的器官功能障碍, 严重时会引起器官功能损害或衰竭, 是诱发患者死亡的主要原因之一<sup>[1-2]</sup>。虽然脓毒症的具体发病机制尚不清晰, 但大量研究表明, 其主要与体内炎症和免疫反应失调相关<sup>[3-5]</sup>。白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 是一种在感染早期淋巴细胞、单核/巨噬细胞等产生的多功能炎性因子, 而 IL-6 又可促进多种炎性因子的释放, 使机体炎性反应产生放大效应<sup>[6-7]</sup>。IL-6 基因启动子区存在 -174G/C、-572C/G、-597G/A 位点等多个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP), 而这些多态性对 IL-6 表达产生影响, 并与多种炎症性疾病的发生、发展密切相关<sup>[8-9]</sup>。相关研究显示, 脓症患者体内 IL-6 水平明显升高, 但 IL-6 基因多态性与脓毒症发生、发展的关系尚不清晰。因此, 本研究旨在通过研究脓毒症患者的临床资料, 探讨 IL-6 基因启动子区多态性与脓毒症发生、发展之间的关系, 以期从基因水平分析其机制, 为脓毒症的预防和治疗提供一定的参考依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择 2018 年 1 月至 2021 年 1 月重钢总医院收治的脓毒血症患者 113 例为观察组, 并选取同期于该院体检健康人群 132 例作为对照组。并根据 2016 年《第三版脓毒症与感染性休克定义国际共识》的诊断标准和分型方法, 将 113 例脓症患者分为脓毒症组 ( $n = 51$ ) 和脓毒症休克组 ( $n = 62$ ); 排除年龄小于 18 岁、患恶性肿瘤、人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV)、慢性肝肾疾病、自身免疫性疾病或入院前 1 个月内接受免疫治疗、抗感染治疗及放疗的患者。本研究通过重钢总医院伦理委员会审查, 所有受试者均签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标本的采集及处理

收集纳入患者的年龄、性别、合并基础病 (高血压、糖尿病、高脂血症) 等一般资料, 采集患者外周血 3 mL 于乙二胺四乙酸二钾 (ethylenediamine tetraacetic

acid dipotassium, EDTA-K2) 真空抗凝管, 混匀, 离心 ( $3\ 000\ \text{r}/\text{min}$ ) 10 min, 分离血浆和细胞,  $-80\ ^\circ\text{C}$  保存备用。

#### 1.2.2 标本测定

应用酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 检测血浆 IL-6、降钙素原 (procalcitonin, PCT) 水平, 严格按照试剂盒 (碧云天生物技术公司) 说明进行操作。

#### 1.2.3 IL-6 基因多态性检测

用人全血基因组 DNA 提取试剂盒 (赛默飞公司) 从白细胞中提取出基因组 DNA, 采用聚合酶链式反应-限制性内切酶片段长度多态性 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) 技术对 IL-6 基因启动子区 -174G/C、-572C/G、-597G/A 位点的基因多态性进行分析。采用同一对引物 (上海生工生物工程股份有限公司), 上游引物为:  $5'$ -AAG TGG GCT GAA GCA GGT GA- $3'$ , 下游引物为  $5'$ -GTT TCC TCT GAC TCC ATC GCA- $3'$ 。PCR 扩增条件:  $95\ ^\circ\text{C}$  预变性 5 min,  $95\ ^\circ\text{C}$  变性 45 s,  $55\ ^\circ\text{C}$  退火 45 s,  $72\ ^\circ\text{C}$  延伸 1 min, 循环 30 次,  $72\ ^\circ\text{C}$  再延伸 5 min。经鉴定纯化后, PCR 扩增产物用对应的限制性酶进行酶切, 酶切产物在 2% 琼脂糖凝胶上电泳, 最后通过凝胶成像系统判断结果并分析。

### 1.3 统计学处理

数据采用 SPSS21.0 软件进行统计学分析, 符合正态分布的计量资料采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组独立样本间比较采用  $t$  检验, 多组样本间比较采用单因素方差分析, 计数资料以率表示, 组间比较采用  $\chi^2$  检验。采用  $\chi^2$  检验分析基因分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡, 采用 logistic 回归模型对其相关性进行统计分析, 计算 OR 值及 95% CI, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 对照组与观察组一般资料比较

对照组与观察组在性别、年龄、合并高血压、高脂血症、糖尿病方面比较, 差异均无统计学意义 ( $P >$

0.05),见表1。

## 2.2 对照组与观察组 IL-6 和 PCT 的表达水平比较

观察组中 IL-6 和 PCT 的血浆水平明显高于对照组 ( $P < 0.05$ ),且脓毒症休克组 IL-6 和 PCT 的血浆水平明显高于脓毒症组 ( $P < 0.05$ ),见表2。

## 2.3 IL-6 基因启动子区 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验及等位基因分布频率比较

IL-6 基因启动子区-174G/C 位点基因型均为 GG,未检测到 GC 和 CC;-597G/A 位点基因型为 GG、GA 和 AA;-572C/G 位点基因型有 CC、CG 和 GG,研究对象 IL-6 基因-597G/A 和-572C/G 位点基因型/等位基因的分布符合 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P > 0.05$ ),见表3。IL-6 基因多态性位点-597G/A

基因型/等位基因分布比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );-572C/G 的基因型及等位基因分布两组间有明显差异 ( $P < 0.05$ )。PCR-RELP 电泳图见图1。

表1 两组对象一般资料比较

项目	对照组 (n=132)	观察组 (n=113)	$\chi^2/t$	P
性别(男/女,n)	72/60	57/56	0.411	0.521
年龄( $\bar{x} \pm s$ ,岁)	56.3 $\pm$ 13.2	58.1 $\pm$ 15.3	-0.935	0.316
高血压[n(%)]	26(19.70)	28(24.78)	0.951	0.339
高脂血症[n(%)]	20(15.15)	21(18.58)	0.515	0.473
糖尿病[n(%)]	17(12.88)	20(17.70)	1.103	0.294

表2 各组对象 IL-6 和 PCT 表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

指标	对照组 (n=132)	观察组 (n=113)	t	P	脓毒症组 (n=51)	脓毒症休克组 (n=62)	t	P
IL-6(ng/L)	21.50 $\pm$ 5.30	48.60 $\pm$ 12.50	-20.477	<0.05	34.80 $\pm$ 4.70	58.60 $\pm$ 7.20	-28.542	<0.05
PCT(ng/mL)	0.15 $\pm$ 0.07	32.56 $\pm$ 3.52	-52.141	<0.05	21.07 $\pm$ 4.42	46.76 $\pm$ 7.75	-32.462	<0.05

表3 对照组与观察组基因 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验及布频率比较

组别	n	-597G/A 基因[观察值(理论值)]			$\chi_a^2/P_a$	等位基因	
		GG	GA	AA		C	A
对照组	132	43(37.65)	55(65.69)	34(28.65)	3.497/0.614	141	123
观察组	113	37(34.02)	50(55.96)	26(23.02)	1.283/0.257	124	102
$\chi_b^2/P_b$		0.283/0.868				0.104/0.747	

组别	n	-572C/G 基因[观察值(理论值)]			$\chi_a^2/P_a$	等位基因	
		CC	CG	GG		C	G
对照组	132	45(40.93)	57(65.18)	30(25.93)	2.061/0.157	147	117
观察组	113	24(19.13)	45(54.73)	44(39.14)	3.572/0.059	93	133
$\chi_b^2/P_b$		9.033/0.011				10.289/0.001	

$\chi_a^2/P_a$ :Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验; $\chi_b^2/P_b$ :组间基因型或等位基因频率比较。

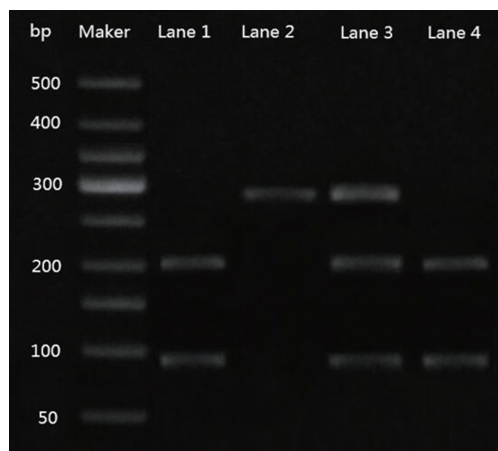


Figure 1 Lane1, Lane4: GG 基因型(202, 94 bp); Lane2: CC 基因型(296 bp); Lane3: CG 基因型(296, 202, 94 bp)。

图1 IL-6 基因-572C/G 位点 PCR-RFLP 电泳图谱

## 2.4 不同脓毒症患者 IL-6 基因位点基因型及等位基因频率分布情况比较

脓毒症休克组与脓毒症组患者中的 IL-6 基因-174G/C 和-597G/A 位点比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );而脓毒症休克组患者 IL-6 基因-572C/G 位点基因型 CC 及等位基因 C 频率明显低于脓毒症组,两组患者 IL-6 基因-572C/G 位点基因型 CC 及等位基因 C 频率比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见表4。

## 2.5 IL-6 基因-572C/G 单倍体基因型频率与脓毒症的相关性

Logistic 回归分析结果显示,GG 基因型是 CC 基因型患病风险的 2.427 倍 ( $OR = 2.427, P < 0.05$ ),显性模型中,CG+GG 基因型是 CC 型患病风险 1.775

倍;隐性模型中,GG 基因型是 CC+CG 型患病风险的 2.078 倍,见表 5。

表 4 不同脓毒症患者 IL-6 基因型及等位基因频率分布比较 (n)

基因分布	脓毒症组 (n=51)	脓毒症休克组 (n=62)	$\chi^2$	P
基因型			7.669	0.022
CC	16	8		
CG	20	25		
GG	15	29		
等位基因			8.702	0.003
C	52	41		
G	50	83		

### 2.6 IL-6 基因-572C/G 位点多态性对脓毒症患者炎症因子表达水平的影响

表 6 IL-6 基因-572G/C 位点多态性对脓毒症组炎症因子表达量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

指标	CC	GC	GG	F	P
IL-6 (ng/L)	25.30 ± 5.20	40.50 ± 6.20	54.80 ± 7.30	-14.275	<0.05
PCT (ng/mL)	18.25 ± 5.31	31.56 ± 5.25	47.32 ± 7.23	-25.354	<0.05

### 3 讨 论

脓毒症是常见的临床急危重症,严重威胁患者的健康和生命,每年导致大量患者死亡,流行病学资料显示,脓毒症发病率呈逐年上升态势,近年来尽管在脓毒症的临床治疗方面取得了一定的进步,但其病死率仍较高,且其诊治费用高昂,对患者的健康和社会经济发展产生了较大影响,因此,脓毒症一直是临床研究的重点课题。已有研究表明,脓毒症患者因感染引起的全身炎症反应时,机体释放大量炎症介质,引发炎症的瀑布样反应,最终可能导致脓毒性休克,甚至引起多器官功能障碍综合征 (MODS)<sup>[6,10-12]</sup>。PCT 是降钙素的前肽,是炎症活动和脓毒症诊断的可靠指标,美国传染病协会和美国危重病学会联合推荐 PCT 作为区别脓毒血症和非感染性的全身炎症反应的辅助诊断标记物<sup>[13]</sup>,由于其准确性高灵敏度好现已作为医院感染患者常规检测项目。IL-6 由活化的单核细胞、成纤维细胞等分泌,正常情况下水平较低,在感染患者中水平明显升高,是炎症应答中重要的炎症介质,与严重全身感染密切相关,其表达水平受转录和转录后水平的严格调控。有研究表明,IL-6 基因启动子区单核苷酸突变对 IL-6 的表达水平产生影响。有研究显示,血清 IL-6 等炎症因子水平变化与脓毒症的发生、发展密切相关,可作为脓毒症的检测指标之一<sup>[14-17]</sup>。但 IL-6 基因启动子区多态性与脓毒症的相

IL-6 基因-572G/C 位点基因型为 CC 脓毒症患者的血浆 IL-6 和 PCT 水平低于基因型为 CG/GG 脓毒症患者 ( $P < 0.05$ ),见表 6。

表 5 Logistic 回归分析单倍体基因型频率与脓毒症的关系 (n)

遗传模型	对照组 (n=132)	观察组 (n=113)	OR (95%CI)	P
加性模型				0.022
CC	45	24	1.000	
CG	57	45	1.353 (0.732, 2.502)	
GG	30	44	2.427 (1.282, 4.595)	
显性模型				0.037
CC	45	24	1.000	
CG+GG	87	89	1.775 (1.034, 3.046)	
隐性模型				0.009
CC+CG	102	69	1.000	
GG	30	44	2.078 (1.196, 3.609)	

关性尚不清楚。因此,本研究通过探讨脓毒症发生、发展与 IL-6 基因启动子区多态性之间的关系,以期对脓毒症的临床防治提供指导。

本研究结果发现,脓毒症患者 PCT 和炎症因子 IL-6 血浆水平明显高于对照组,并且随着脓毒症病情程度的加重而增高,且 IL-6 和 PCT 的变化趋势高度一致,表明可通过关注脓毒症患者血浆 PCT 和炎症因子 IL-6 的水平变化,来评估脓毒症的进展情况。本研究进一步分析 IL-6 基因多态性位点-572C/G 的基因型及等位基因 C 频率的分布,发现两组之间存在明显的统计学差异,与脓毒症组比较,基因型 CC 及等位基因 C 频率在脓毒症休克组明显偏低,提示 IL-6 启动子区基因多态性位点-572C/G 在脓毒症的进展过程中发挥重要作用。进一步通过 logistic 回归分析发现,GG 基因型是 CC 基因型患病风险的 2.427 倍,表明 GG 基因型是脓毒症的易感基因型,CC 基因型是保护基因型。IL-6 基因-572G/C 位点基因型为 CC 脓毒症患者的血浆 IL-6 和 PCT 水平低于基因型为 CG/GG 脓毒症患者 ( $P < 0.001$ ),说明其多态性影响 PCT 和促炎性因子 IL-6 的水平,抑制其表达,可减轻炎症反应。因此,可对脓毒症患者进行早期 IL-6 基因-572C/G 多态性检测,及早采取有效干预措施,抑制病情的进展。

综上所述,IL-6 基因-572C/G 多态性与脓毒症的

发病风险具有相关性,且与脓毒症的进展明显相关,其多态性可影响 PCT 和炎性因子 IL-6 表达水平,但其机制还有待进一步研究。

## 参考文献

- [1] 曹钰,柴艳芬,邓颖,等.中国脓毒症/脓毒性休克急诊治疗指南(2018)[J].临床急诊杂志,2018,19(9):567-588.
- [2] SALOMÃO R, FERREIRA B L, SALOMÃO M C, et al. Sepsis: evolving concepts and challenges[J]. Braz J Med Biol Res, 2019, 52(4): e8595.
- [3] 吴健锋,栾樱译,柯路.脓毒症免疫抑制诊治专家共识[J].中华危重病急救医学,2020,32(11):1281-1289.
- [4] NAPOLITANO L M. Sepsis 2018: definitions and guideline changes[J]. Surg Infect (Larchmt), 2018, 19(2): 117-125.
- [5] CHOUSTERMAN B G, SWIRSKI F K, WEBER G F. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis[J]. Semin Immunopathol, 2017, 39(5): 517-528.
- [6] WU X, YANG J, YU L, et al. Plasma miRNA-223 correlates with risk, inflammatory markers as well as prognosis in sepsis patients[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(27): e11352.
- [7] TANAKA T, NARAZAKI M, KISHIMOTO T. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm [J]. Immunotherapy, 2016, 8(8): 959-970.
- [8] 赵乙汜,张苜,余应喜.血清白细胞介素联合监测脓毒症严重程度及预后评估中的作用研究[J].重庆医科大学学报,2020,45(8):1198-1203.
- [9] FOU DA E, ELRAZEK M A, ELLABAN R, et al. The diagnostic and prognostic role of MiRNA 15b and MiRNA 378a in neonatal sepsis [J]. Biochem Biophys Rep, 2021, 26: 100988.
- [10] ZHAO D N, LI S L, JIE C, et al. Plasma miR-125a and miR-125b in sepsis: Correlation with disease risk, inflammation, severity, and prognosis[J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(2): e23036.
- [11] CHEN Y, HU Y, SONG Z. The association between interleukin-6 gene -174G/C single nucleotide polymorphism and sepsis: an updated meta-analysis with trial sequential analysis [J]. BMC Med Genet, 2019, 20(1): 35.
- [12] WU Q, XU X, REN J, et al. Association between the -159C/T polymorphism in the promoter region of the CD14 gene and sepsis: a meta-analysis [J]. BMC Anesthesiol, 2017, 17(1): 11.
- [13] 戚韵雯,刘茜.老年脓毒症早期诊断的生物标志物研究进展[J].重庆医学,2020,49(4):665-668.
- [14] QIU X, ZHANG L, TONG Y, et al. Interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis with premature rupture of the membranes: a meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(47): e13146.
- [15] HU P, CHEN Y, PANG J, et al. Association between IL-6 polymorphisms and sepsis [J]. Innate Immun, 2019, 25(8): 465-472.
- [16] 张静,何发明,钮柏琳.降钙素原在非肺部感染性脓毒症早期筛查诊断中的效能分析[J].重庆医学,2021,50(1):44-48.
- [17] BAKER A H, MONUTEAUX M C, EISENBERG M, et al. Pediatric sepsis survival in pediatric and general emergency departments [J]. Am J Emerg Med, 2022, 51: 53-57.

(收稿日期:2021-08-23 修回日期:2022-03-15)