

IL-18的单核苷酸多态性与上海汉族人群溃疡性结肠炎的相关性

董跃滨, 薄挽澜, 冯晓波, 陈国雁

董跃滨, 冯晓波, 陈国雁, 上海市第七人民医院消化科 上海市 200137

薄挽澜, 哈尔滨医科大学附属一院消化科 黑龙江省哈尔滨市 150001

作者贡献分布: 此课题由董跃滨设计并研究操作完成; 分析工具由薄挽澜提供并完成统计学处理; 冯晓波和陈国艳病例收集。

通讯作者: 董跃滨, 200137, 上海市浦东新区大同路358号, 上海市第七人民医院消化科, yuebindong@126.com

电话: 021-58670561-457

收稿日期: 2008-05-21 修回日期: 2008-07-03

接受日期: 2008-07-07 在线出版日期: 2008-08-28

Association between single nucleotide polymorphism of interleukin-18 gene and ulcerative colitis in Han population of Shanghai

Yue-Bin Dong, Wan-Lan Bo, Xiao-Bo Feng, Guo-Yan Chen

Yue-Bin Dong, Xiao-Bo Feng, Guo-Yan Chen, Department of Gastroenterology, the Seventh People's Hospital of Shanghai Municipality, Shanghai 200137, China

Wan-Lan Bo, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Yue-Bin Dong, Department of Gastroenterology, the Seventh People's Hospital of Shanghai, 358 Datong Road, Pudong District, Shanghai 200137, China. yuebindong@126.com

Received: 2008-05-21 Revised: 2008-07-03

Accepted: 2008-07-07 Published online: 2008-08-28

Abstract

AIM: To study the single nucleotide polymorphism (SNP) of interleukin-18 (IL-18) gene in Chinese Han population of Shanghai, and to clarify the significance of IL-18 gene SNP in the development of ulcerative colitis (UC).

METHODS: DNAs were obtained from peripheral blood of 50 UC patients and 128 healthy controls. Genotypes of four IL-18 SNPs (rs187238, rs5744228, rs360718 and rs360717) were identified by polymerase chain reaction (PCR) amplification and direct sequencing.

RESULTS: The frequencies of the C allele in rs187238, rs360718, and the A allele in rs360717

were significantly higher in UC patients than those in the controls ($\chi^2 = 9.26, P < 0.01$). The haplotype estimation suggested that there was also a significant difference between UC patients and controls ($\chi^2 = 7.04, P < 0.01$).

CONCLUSION: Three SNPs and the haplotype of IL-18 gene might be closely related to the etiology of UC.

Key Words: Ulcerative colitis; Interleukin 18; Single nucleotide polymorphism

Dong YB, Bo WL, Feng XB, Chen GY. Association between single nucleotide polymorphism of interleukin-18 gene and ulcerative colitis in Han population of Shanghai. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(24): 2785-2787

摘要

目的: 检测上海市汉族人群UC患者中IL-18基因的单核苷酸多态性(SNPs), 分析其在UC发病中的意义。

方法: 随机采集上海市几个医院就诊的门诊及住院UC患者50例, 为观察组, 上海市健康体检者128例为正常对照组, PCR扩增和直接测序法检测观察组和对照组外周血中IL-18基因的4个SNP(rs187238、rs5744228、rs360718和rs360717)的基因分型。

结果: 在UC患者中, SNP位点rs187238的C、rs360718的C、rs360717的A等位基因频率及他们的基因型频率显著性超过健康对照组($\chi^2 = 9.26, P < 0.01$)。对3个SNPs位点的单倍体型频率分析表明, 其在UC患者和对照组中也均存在显著的差异($\chi^2 = 7.04, P < 0.01$)。

结论: UC的发病与易感基因IL-18的SNP(rs187238、rs360718和rs360717)变异及单倍体型变异有关。

关键词: 溃疡性结肠炎; 白介素18; 单核苷酸多态性

董跃滨, 薄挽澜, 冯晓波, 陈国雁. IL-18的单核苷酸多态性与上海汉族人群溃疡性结肠炎的相关性. *世界华人消化杂志* 2008;

■背景资料

IL-18基因多态性与溃疡性结肠炎等多种疾病相关, 其基因SNP变异与溃疡性结肠炎的关系是炎症性肠病研究的一个重要方面。

■同行评议者

杜群, 副研究员, 广州中医药大学脾胃研究所药理室; 金瑞, 教授, 首都医科大学附属北京佑安医院消化科

■应用要点

本研究为溃疡性结肠炎的诊断提供依据,对将来该疾病的预防和基因治疗有重要的意义。

16(24): 2785-2787

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/2785.asp>

0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是慢性炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)之一。UC病因不明,目前多数学者认为本病的发病既有免疫因素参与也有遗传因素作为背景。其疾病与体内炎症细胞的活化密切相关。遗传因素也是参与发病的一个重要方面。文献报道了多种参与体内免疫反应的基因(CD14、TNF- α 、IL-1 β 和IL-16等)单核苷酸多态性(SNPs)与UC发病的关联性。

IL-18是体内的一种重要的前炎症性细胞因子。已经有多篇文献报道IL-18在IBD患者血液和局部组织中升高^[1-2],并且其增高程度还与疾病的病情轻重相关^[3]。人IL-18基因位于染色体11q22.2-q22.3。其基因SNP位点与IBD的关系是目前IBD研究的一个重要方面,在日本人群中发现IL-18基因5'端的SNP位点与IBD的发病密切相关^[4]。本文选取IL-18基因5'端的四个SNP位点(rs187238 G/C、rs5744228 G/A、rs360718 A/C、rs360717 G/A)为研究对象,探讨其与UC的相关性。

1 材料和方法

1.1 材料 正常对照组128例,男56例,平均年龄43岁,女70例,平均年龄40岁,均系上海市健康体检者,没有血缘关系。观察组随机采集上海市几个医院就诊的门诊及住院UC患者50例,男28例,平均年龄55岁,女22例,平均年龄57岁,没有血缘关系。其中轻型16例,中型23例,重型11例。UC的诊断标准以2000年中华医学会消化分会在成都修订的《溃疡性结肠炎诊断标准》为准。

1.2 方法 用EDTA-K₂抗凝采集患者和正常人外周血存入-80℃冰箱备用。以Axygen公司的血液基因组抽提试剂盒抽提外周血细胞基因组DNA。以TaKaRa公司的TaKaRa Ex Taq[®] Hot Start Version试剂盒进行PCR反应。引物序列如下: forward 5'-AAGAGGTACAGGTTTTGGAAGGCA-3', reverse 5'-TCCCGAAGCTGTGTAGACTGCA-3', PCR反应条件是94℃ 2 min; 94℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 35 s, 共40个循环; 72℃ 5 min。采用琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物。PCR产物经凝胶电泳纯化试剂盒纯化后,以ABI3730XL自动测序仪测定产物序列。测序引物是: 5'-AAGAGGTACAGGTTTTGGAAGGCA-3'。

■名词解释

连锁不平衡: 在某一群体内,不同座位上某两个等位基因出现在同一条单元型上的频率与预期的随机频率之间存在明显差异的现象,称连锁不平衡。

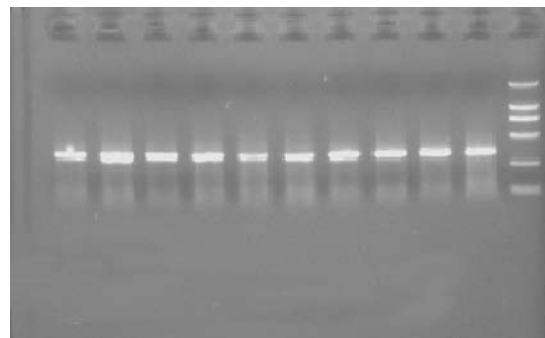


图1 PCR扩增片段电泳图。

表1 IL-18的SNP等位基因型及其频率

SNP	对照(n = 128)	UC(n = 50)	P
rs187238			
G/G	119	41	0.002
C/C	1	3	
G/C	8	6	
rs360718			
A/A	119	41	0.002
C/C	1	3	
A/C	8	6	
rs360717			
G/G	119	41	0.002
A/A	1	3	
G/A	8	6	

统计学处理 计算各个等位基因的频率。采用 χ^2 检验比较等位基因频率在UC和对照患者中的意义。用Fisher's精确检验比较小样本(<5)。以上分析均用SPSS11.5统计软件完成。以Hardy-Weinberg平衡(HWE)检验确认研究样本的群体代表性。用Arlequin程序计算单倍型频率。

2 结果

2.1 基因DNA PCR扩增结果 经琼脂糖凝胶电泳证实PCR成功扩增出一个350 bp的产物(图1)。

2.2 IL-18基因的SNP单个位点与UC的关联性 在所有检测的178例人群中未发现rs5744228 G/A位点,该位点在我们检测的上海汉族人群中位点是G。其余3个位点均存在。对照组的HWE χ^2 检验表明: rs187238 G/C、rs360718 A/C、rs360717 G/A三个位点的分布符合HWE($\chi^2 = 3.59, P = 0.058117$)。

rs187238的C、rs360718的C、rs360717的A位点在UC患者中要显著高于对照组($\chi^2 = 9.26, P = 0.002$, 表1)。

2.3 IL-18基因SNP单倍体型与UC的关联性 经软

件计算发现3个位点存在明显的连锁不平衡. 基因型只有3种(表2). 单倍体型CCA在UC组中的频率要高于对照组($\chi^2 = 7.04, P = 0.008$).

3 讨论

以往的研究表明IL-18是一种重要的前炎症细胞因子, 其基因多态性与多种疾病相关. Tsai *et al* 研究表明, 携带IL-18 +781T基因型的人容易导致老年性黄斑变性^[5]. 我国人群中-105C/C纯合子易发哮喘^[6]. 另一个中国人群的研究报道发现-607 C/C纯合子等位基因与系统性红斑狼疮相关^[7]. 在韩国人群中发现T-T-C单倍体型和异位性皮炎相关^[8]. 在IBD中以日本人的研究最为具体, 其+127和+113的基因型与UC和克隆氏病有统计学的相关性, 而-137G/C与UC和克隆氏病没有统计学关联^[4]. 而另外一篇日本人群的研究结果表明IL-18-137G/C位点和UC的疾病程度相关^[9]. 德国的一份研究也表明-137G/C位点和UC没有相关性. 中国人群中UC与IL-18 SNP的相关性还未见报道.

我们的研究结果表明在我国上海汉族人群中-137G/C、+113A/C和127G/A存在明显的连锁不平衡, 三者都是处于完全连锁遗传, 所以其等位基因的频率一致. 并且在UC人群中其等位基因-137C、+113C、+127A和单倍体型CCA的频率显著高于对照人群. 说明在上海汉族人群中IL-18的发病与UC有一定的相关性. 与日本人群的研究结果比较, +113C、+127A在中国汉族和日本人中均与UC的发病有一定的相关性. 由于我们的研究发现-137G/C和+113A/C、127G/A存在连锁不平衡, 所以只发现两种单倍体型, 即: GAG和CCA. 而在日本人群中存在三种单倍体型, 即GAG、CCA、CAG. 我们没有发现CAG这种单倍体型可能与本研究的样本较小有关, 另外一种可能就是我国上海市汉族人群中确实不存在这样一种单倍体型.

-137G/C位于启动子的GATA3区域. +113C、+127A位于5'UTR(不转录区). 这些区域可能和IL-18的表达水平相关. 我们的研究结果表明CCA单倍体型在UC患者中要显著高于对照组, 因此, 比较不同的单倍体型患者外周血或者局部肠道病变部位的IL-18水平有助于阐明IL-18的表达水平和基因型的关系. 有助于进一步阐明IL-18在UC发病中的作用.

表 2 IL-18的单倍体型及其频率

rs187238	rs360718	rs360717	对照 (n = 128)	UC (n = 50)	P
G	A	G	127	47	0.008
C	C	A	10	12	

本研究结果初步表明IL-18的-137C、+113C、+127A和单倍体型CCA与UC的发病有相关性. 提示UC的发病与易感基因IL-18的SNP(rs187238、rs360718、rs360717)和单倍体型变异有关.

4 参考文献

- 1 Leach ST, Messina I, Lemberg DA, Novick D, Rubenstein M, Day AS. Local and systemic interleukin-18 and interleukin-18-binding protein in children with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14: 68-74
- 2 Naftali T, Novick D, Gabay G, Rubinstein M, Novis B. Interleukin-18 and its binding protein in patients with inflammatory bowel disease during remission and exacerbation. *Isr Med Assoc J* 2007; 9: 504-508
- 3 Wiercinska-Drapalo A, Flisiak R, Jaroszewicz J, Prokopowicz D. Plasma interleukin-18 reflects severity of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 605-608
- 4 Aizawa Y, Sutoh S, Matsuoka M, Negishi M, Torii A, Miyakawa Y, Sugisaka H, Nakamura M, Toda G. Association of interleukin-18 gene single-nucleotide polymorphisms with susceptibility to inflammatory bowel disease. *Tissue Antigens* 2005; 65: 88-92
- 5 Tsai YY, Lin JM, Wan L, Lin HJ, Tsai Y, Lee CC, Tsai CH, Tsai FJ, Tseng SH. Interleukin gene polymorphisms in age-related macular degeneration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2008; 49: 693-698
- 6 Lee CC, Lin WY, Wan L, Tsai Y, Tsai CH, Huang CM, Chen CP, Tsai FJ. Association of interleukin-18 gene polymorphism with asthma in Chinese patients. *J Clin Lab Anal* 2008; 22: 39-44
- 7 Xu Q, Tin SK, Sivalingam SP, Thumboo J, Koh DR, Fong KY. Interleukin-18 promoter gene polymorphisms in Chinese patients with systemic lupus erythematosus: association with CC genotype at position -607. *Ann Acad Med Singapore* 2007; 36: 91-95
- 8 Kim E, Lee JE, Namkung JH, Park JH, Kim S, Shin ES, Cho EY, Yang JM. Association of the single-nucleotide polymorphism and haplotype of the interleukin 18 gene with atopic dermatitis in Koreans. *Clin Exp Allergy* 2007; 37: 865-871
- 9 Takagawa T, Tamura K, Takeda N, Tomita T, Ohda Y, Fukunaga K, Hida N, Ohnishi K, Hori K, Kosaka T, Fukuda Y, Ikeuchi H, Yamamura T, Miwa H, Matsumoto T. Association between IL-18 gene promoter polymorphisms and inflammatory bowel disease in a Japanese population. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 1038-1043

■同行评价

本研究方法先进, 结果可靠, 结论有独到见解, 类似的研究国外近年来均有相应的报道, 但国内目前上缺乏高水平的研究论文.

编辑 李军亮 电编 何基才