

# IL-23R基因多态性与炎症性肠病的相关性

陆忠凯, 陈志荣, 朱俊义, 徐亚, 华娴

## ■背景资料

炎症性肠病的发病机制尚不完全明确, 其中遗传因素与炎症性肠病的发病密切相关。目前已发现多个与IBD相关的易感基因及易感单核苷酸多态性(SNP)位点, IL-23R即是其中之一。由于IBD发病机制复杂且存在显著种族差异性, 国际上对IL-23R的研究争议颇多, 而我国目前有关IL-23R基因多态性与IBD临床特征相关性尚不明确。

陆忠凯, 陈志荣, 朱俊义, 徐亚, 华娴, 南京医科大学附属苏州市立医院(东区)消化科 江苏省苏州市 215001  
江苏省医学重点学科-江苏省人民医院胃肠病学开放课题基金资助项目, No. KF200936-2

作者贡献分布: 陆忠凯与陈志荣对此文所作贡献均等; 此课题由陆忠凯与陈志荣共同设计; 病例收集由陆忠凯、朱俊义、徐亚及华娴完成; 研究所用试剂与分析工具由陆忠凯与陈志荣提供; 研究过程由陆忠凯、陈志荣、朱俊义、徐亚及华娴操作完成; 数据分析及本论文写作由陆忠凯与陈志荣完成。

通讯作者: 陈志荣, 博士, 主任医师, 215001, 江苏省苏州市, 南京医科大学附属苏州市立医院(东区)消化科. zhklu@126.com  
电话: 0512-62364012

收稿日期: 2011-05-05 修回日期: 2011-06-12

接受日期: 2011-06-21 在线出版日期: 2011-07-08

## Association between IL-23R single nucleotide polymorphisms and inflammatory bowel disease

Zhong-Kai Lu, Zhi-Rong Chen, Jun-Yi Zhu, Ya Xu, Xian Hua

Zhong-Kai Lu, Zhi-Rong Chen, Jun-Yi Zhu, Ya Xu, Xian Hua, Department of Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital (East Area) Affiliated to Nanjing Medical University, Suzhou 215001, Jiangsu Province, China

Supported by: the Gastroenterology Foundation of the People's Hospital of Jiangsu Province (Key Medical Discipline of Jiangsu Province), No. KF200936-2

Correspondence to: Zhi-Rong Chen, Department of Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital (East Area) Affiliated to Nanjing Medical University, Suzhou 215001, Jiangsu Province, China. zhklu@126.com

Received: 2011-05-05 Revised: 2011-06-12

Accepted: 2011-06-21 Published online: 2011-07-08

## Abstract

**AIM:** To detect the association between single nucleotide polymorphism (SNP) of the interleukin-23 receptor (IL-23R) gene and inflammatory bowel disease (IBD) in Chinese patients.

**METHODS:** We examined three nonsynonymous SNPs in the IL-23R gene which lead to amino acid changes (rs11209026, p.Arg381Gln; rs41313262, p.Val362Ile; rs11465797, p.Thr175Asn). The SNPs were genotyped by polymerase chain reaction (PCR) and sequenced in 198 cases of IBD [124 cases of ulcerative colitis (UC) and 74 cases of Crohn's disease (CD)] and 100 healthy controls. The allele frequencies were

calculated and analyzed to examine the relationship between IL-23R SNPs and IBD.

**RESULTS:** The frequency of the A allele in the IL-23R Arg381Gln locus showed no significant difference between CD patients and controls (2.70% vs 6.00%,  $P > 0.05$ ) and between UC patients and controls (5.65% vs 6.00%,  $P > 0.05$ ). The p.Val362Ile variant was present in 2.42% of UC patients, in 2.70% of CD patients, and in 2.00% of controls, with no significant difference among the three groups. The Thr175Asn (rs11465797 c.524 C>A) variant was not detected in all the three groups.

**CONCLUSION:** IL-23R SNPs might have no association with IBD in Chinese patients.

**Key Words:** Interleukin-23 receptor; Single nucleotide polymorphism; Inflammatory bowel disease

Lu ZK, Chen ZR, Zhu JY, Xu Y, Hua X. Association between IL-23R single nucleotide polymorphisms and inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(19): 2076-2080

## 摘要

**目的:** 研究我国炎症性肠病患者IL-23R基因单核苷酸多态性特征, 探讨其与炎症性肠病(IBD)的相关性。

**方法:** 采用PCR扩增和测序的方法对198例IBD患者和100名健康体检者(对照组)IL-23R基因3个非同义单核苷酸多态性(rs11209026, p.Arg381Gln; rs41313262, p.Val362Ile; rs11465797, p.Thr175Asn)进行分析, 分别计算其等位基因的表现频率, 并结合临床资料评估其多态性与IBD的相关性。

**结果:** (1)IBD中克罗恩病(CD)患者IL-23R Arg-381Gln等位基因A的表现频率为2.70%, 低于对照组(6.00%), 但无统计学差异, 溃疡性结肠炎(UC)患者的表现频率为5.65%, 与对照组无统计学差异; (2)IBD中CD患者IL-23R Val-362Ile等位基因A的表现频率为2.70%, UC组为2.42%, 对照组为2.00%, 3组间无明显统计

## ■同行评议者

邢建峰, 副教授,  
西安交通大学医学院

学差异; (3) IBD及对照组中均无Thr175Asn等位基因A表现, 相应位点均表现为C。

**结论:** 我国IL-23R单核苷酸多态性与IBD无明显相关性, 遗传异质性可能决定了IBD的易感性。

**关键词:** IL-23R; 单核苷酸多态性; 炎症性肠病

陆忠凯, 陈志荣, 朱俊义, 徐亚, 华娴. IL-23R基因多态性与炎症性肠病的相关性. 世界华人消化杂志 2011; 19(19): 2076-2080  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/2076.asp>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是以机体肠道的非特异性炎症反应为特征的自身免疫性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD). IBD的发病机制尚不完全明确, 但遗传因素与IBD的起病密切相关<sup>[1,2]</sup>. 近年来有研究发现IL-23R基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)可能与IBD有关, 但分歧较多. 本研究选择IL-23R 3个非同义SNPs(rs11209026 p.Arg381Gln; rs41313262 p.Val362Ile和rs11465797 p.Thr175Asn)<sup>[3]</sup>作为研究对象, 旨在探讨我国IBD IL-23R SNP的发生情况及与IBD的相关性, 从而进一步探讨IBD的发病机制, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集自2005-01/2010-03来南京医科大学附属苏州市立医院住院或门诊确诊为IBD的汉族患者198例, 其中男95例, 女103例, 中位年龄44(10-89)岁. IBD诊断标准参考中华医学会IBD诊治共识意见, 其中排除合并有其他自身免疫性疾病如哮喘、类风湿性关节炎及系统性红斑狼疮等患者. 本研究取得所有患者的知情同意, 并取得南京医科大学附属苏州市立医院伦理委员会同意。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:** 病例分UC和CD两组, 其中UC 124例, CD 74例, 收集其临床资料及外周血样标本5 mL(EDTA-K2抗凝)以提取DNA. 收集100例健康体检血样标本作为对照组。

**1.2.2 基因组DNA的制备:** 以上外周血标本用DNA抽提试剂盒(Tiagen公司产品)抽提基因组DNA, 根据吸光度确定DNA产物浓度和纯度, 用

去离子水稀释基因组DNA样品至50 mg/L。

**1.2.3 IL-23R基因PCR反应:** 参照GenBank中IL-23R序列(NC\_000001.10)使用Primer 5.0设计引物以包含目的位点. rs11209026和rs41313262的引物: 正义: 5'-GAGCAGAGTAAAGAGA-ATAGTAA-3', 反义: 5'-TGGGCTGAGGACT-TAGCCTCTTTAAGCCTC-3', rs11465797的引物: 正义: 5'-CAAGTAACTGGGATTACAGGCATG-3', 反义: 5'-CTTTACCTATATCATCCAGGTG-3'(上海Sangon公司合成). PCR总体积10  $\mu$ L, 包含模板DNA 1  $\mu$ L, 正反义引物2  $\mu$ L, PCR主要混合物5  $\mu$ L, 水2  $\mu$ L. 反应条件: 95  $^{\circ}$ C预变性1 min, 33个循环(95  $^{\circ}$ C 10 s, 60  $^{\circ}$ C 30 s), 72  $^{\circ}$ C 15 s, 4  $^{\circ}$ C 30 min. 目的基因片段长约461 bp和380 bp。

**1.2.4 测序反应:** PCR测序反应中rs11209026和rs41313262的测序引物为5'-GAGCAGAGTAAAGAGAATAGTAA-3'. rs11465797正向测序中出现T后面峰的滑动, 故进行双向测序. 测序反应条件: 96  $^{\circ}$ C变性2 min后进行PCR循环, PCR循环参数为96  $^{\circ}$ C 10 s, 50  $^{\circ}$ C 5 s, 60  $^{\circ}$ C 4 min, 25个循环, 扩增结束后设置4  $^{\circ}$ C保温. 醋酸钠/乙醇法纯化PCR产物, 电泳, 分析出测序图谱(上海纳欣生物有限公司)。

**1.2.5 等位基因频率计算:** 使用Chromas软件根据IL-23R目的基因位点正常碱基排列序列寻找目的位点的等位基因, 并计算等位基因的表现频率。

**统计学处理** 计算各组等位基因频率, 确认其是否符合Hardy-Weinberg平衡定律. 多态性等位基因频率比较采用SPSS13.0软件进行卡方检验,  $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 基因组DNA检测及IL-23R基因PCR扩增产物检测** 从外周血提取的人类基因组DNA, 检测 $A_{260}/A_{280}$ 比值在1.7-1.85, 经0.8%琼脂糖凝胶电泳分析表现为>20 kb的规则条带, 无降解现象. IL-23R基因PCR扩增后产物在2%的琼脂糖凝胶电泳后有规则的461 bp和380 bp条带出现. 显示PCR扩增成功(图1, 2)。

**2.2 IL-23R SNP分析** 研究发现, 测序结果都为单峰的是纯合基因型, IL-23R基因rs11209026位点存在单核苷酸多态性G/A(图3), 对照组中p.Arg381Gln(A等位基因)的频率分别为6.00%, IBD中UC和CD患者的频率分别为5.65%和2.70%, CD组等位基因A的表现频率明显低于

### ■ 研发前沿

目前已发现多个IBD易感基因和易感SNP位点, 这也进一步证实了IBD的发病与遗传因素相关. 但目前尚未找到确切的与我国IBD明显相关的基因和SNP位点, 而这也将是今后研究IBD发病机制的热点之一。

## ■ 相关报道

Duerr等报道, IL-23R存在rs11209026, p.Arg381Gln多态性, 且与CD相关。然而患者家族中存在强烈的传递不平衡。IL-23R基因多态性在不同IBD患者种群中的分布及相关性尚不明确。

表 1 对照组及IBD患者IL-23R SNP分析

分组	n	SNP n(%)			UC组 vs 对照组		CD组 vs 对照组	
		rs11209026(Arg381Gln)	rs41313262(Val362Ile)	rs11465797(Thr175Asn)	P值	OR值	P值	OR值
对照组	100	6(6.00)	2(2.00)	0(0.00)	0.910	0.937	0.509	0.435
UC组	124	7(5.65)	3(2.42)	0(0.00)	1.000	1.215	1.000	1.361
CD组	74	2(2.70)	2(2.70)	0(0.00)	—	—	—	—

rs11209026(c.1142G>A, p.Arg381Gln), rs41313262(c.1084G>A, p.Val362Ile), rs11465797(c.524 C>A, p.Thr175Asn)。

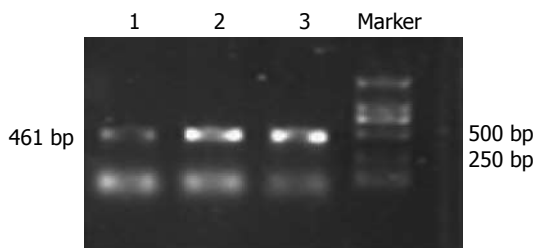


图 1 IL-23R(Arg381Gln/Val362Ile)扩增产物。1: 对照组; 2: UC组; 3: CD组。

UC和正常对照组, 等位基因A可能对CD具有保护作用, 但无统计学差异( $P>0.05$ ,  $OR = 0.435$ ), 而UC的等位基因频率与对照组相似, 无统计学差异。

rs41313262 p.Val362Ile存在SNP G/A(图4), 对照组中p.Val362Ile表现频率为2.00%, IBD中UC和CD患者表现频率分别为2.42%和2.70%。3组间无明显统计学差异( $P>0.05$ ), 而3组IL-23R rs11465797 p.Thr175Asn目的位点均表现为等位基因C, 未发现等位基因A(图5, 表1)。

### 3 讨论

IBD包括UC和CD, 是以肠道非特异性炎症为特征的自身免疫性疾病, 遗传因素在IBD发病中起重要作用<sup>[4]</sup>。当一级亲属中有IBD患者时, IBD患病风险会增高15倍。IBD是一种多基因参与的自身免疫性疾病, 目前已研究出多个IBD易感基因位点, IL-23R就是其中之一。

IL-23R定位于染色体1p32.1-p31.2, 编码区2.9 kb, 由11个外显子组成<sup>[5]</sup>。IL-23通过IL-23/IL-23R/Th17/IL-17途径引起肠黏膜的非特异性炎症反应<sup>[6,7]</sup>。SNP是人类可遗传的变异中最常见的一种, 占有已知多态性的90%以上<sup>[8]</sup>。其中非同义SNP可导致编码的氨基酸发生变化从而影响蛋白质功能, 导致疾病的发生<sup>[9]</sup>。目前国际研究发现IL-23R存在SNP, 其中有3个非同义核苷酸多态性(rs11209026, p.Arg381Gln; rs41313262

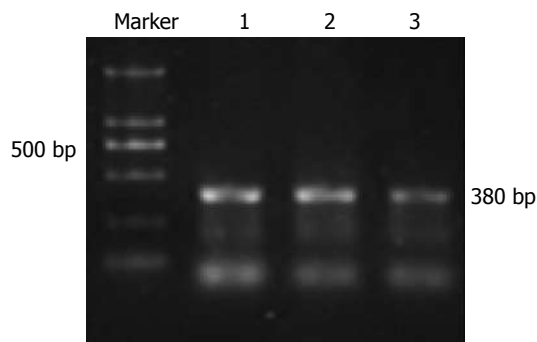


图 2 IL-23R(Thr175Asn)扩增产物。1: 对照组; 2: UC组; 3: CD组。

p.Val362Ile and rs11465797 p.Thr175Asn)可导致精氨酸/谷氨酰胺、缬氨酸/异亮氨酸和苏氨酸/天冬酰胺的转变<sup>[3]</sup>。而我国IL-23R这种SNP与IBD的相关性目前尚不明确。

Duerr等<sup>[9]</sup>曾对CD和对照人群行全基因组扫描, 结果显示IL-23R存在rs11209026, p.Arg381Gln多态性, 且与CD相关。Arg381Gln在患者家族中存在强烈的传递不平衡, 可能是IBD发病的关键。然而国际上对IL-23R p.Arg381Gln与CD的相关性的研究结果不尽相同, Dubinsky等<sup>[10]</sup>肯定了该多态性与非犹太人儿童的CD的相关性。Amre等<sup>[11]</sup>、Borgiani等<sup>[12]</sup>和Tremelling等<sup>[13]</sup>也进一步证实了该基因多态性与加拿大、意大利及北美人群CD的相关性。但Yamazaki等<sup>[14]</sup>、Venegas等<sup>[15]</sup>否认了其于日本及智利CD患者的相关性。这说明IL-23R的作用在不同人群中可能具有遗传异质性。

本研究发现, 我国IL-23R基因rs11209026位点存在SNP(G/A), 我国CD患者p.Arg381Gln的表现频率为2.70%, 对照组6.00%, UC组为5.65%。CD患者p.Arg381Gln的表现频率明显低于正常对照组( $OR = 0.435$ ), 等位基因A可能对CD具有保护作用, 但统计学上均无明显差异( $P>0.05$ )。UC与正常对照组无明显差异。IL-23R p.Arg381Gln这种多态性(c.1142 G>A)使其编码的蛋白质中的一个精氨酸变成谷氨酰胺, 而谷

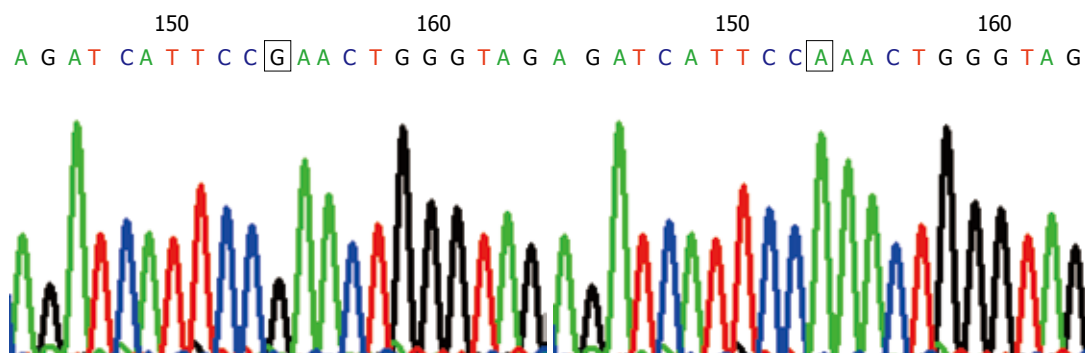


图 3 IL-23R rs11209026 Arg381Gln等位基因G/A测序图. 左图该位点等位基因表现为G, 右图表现为A(方框标出).

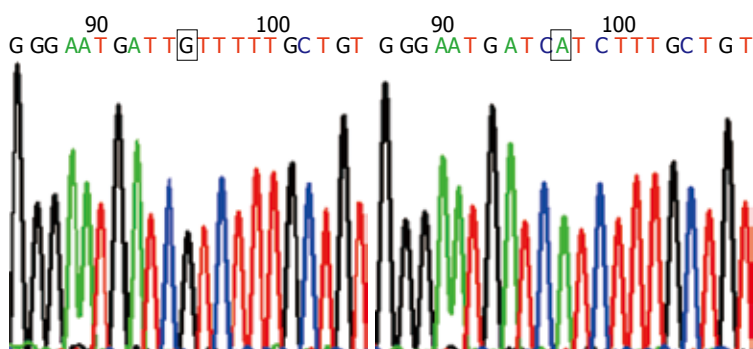


图 4 IL-23R rs41313262(Val362Ile)等位基因G/A测序图. 左图该位点等位基因表现为G, 右图表现为A(方框标出).

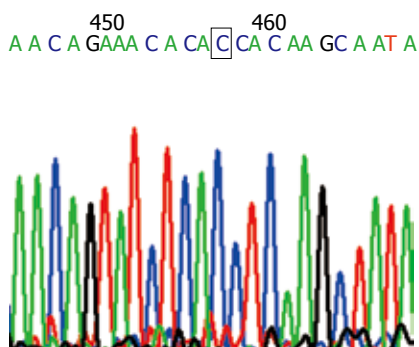


图 5 IL-23R rs11465797(Thr175Asn)C等位基因测序图(方框标出). 未发现等位基因A.

氨基酸是肠道黏膜生长代谢的重要营养物质, 同时具有重要的免疫调节作用, 他在维持肠黏膜屏障结构及功能中起重要作用<sup>[16]</sup>, 故等位基因A可能对CD具有保护作用, 而其低表现频率可能CD发病有关. 本研究中尽管我国CD患者IL-23R p.Arg381Gln频率低于对照组, 但无统计学差异, 表明我国IL-23R Arg381Gln多态性与IBD无明显相关性, 他存在遗传异质性. 由于样本量有限, 还需更大样本进一步研究.

IL-23R另外2个非同义的SNP(rs41313262 p.Val362Ile c.1084 G>A和rs11465797 p.Thr175Asn c.524 C>A), 他可分别导致缬氨酸和苏氨酸向异亮氨酸和天冬酰胺的转变. 本研究中rs41313262 p.Val362Ile存在SNP(G/A), 对

对照组中p.Val362Ile的表现频率为2.00%, IBD中UC的频率为2.42%, CD患者为2.70%. 与对照组相比, UC和CD组OR值分别为1.215和1.361, 提示其多态性对IBD可能是一种危险因素, 但3组间无明显统计学差异( $P>0.05$ ), 提示其多态性与IBD发病无明显相关性. 而IL-23R rs11465797 p.Thr175Asn目的位点均表现为等位基因C, 未发现等位基因A, 表明我国IL-23R无相关多态性表现. 缬氨酸/异亮氨酸和苏氨酸/天冬酰胺可能并不参与IBD的发病, 在肠黏膜的代谢修复中可能存在可替代性.

总之, 我国的IL-23R存在SNP, 但其多态性可能与IBD无明显相关性, 遗传异质性决定了IBD的易感性. 由于样本量有限, IL-23R SNP与我国IBD确切的相关性还需进一步研究.

#### 4 参考文献

- 1 Binder V. Genetic epidemiology in inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 1998; 16: 351-355
- 2 Cooney R, Jewell D. The genetic basis of inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2009; 27: 428-442
- 3 Takaku T, Calado RT, Kajigaya S, Young NS. Interleukin-23 receptor (IL-23R) gene polymorphisms in acquired aplastic anemia. *Ann Hematol* 2009; 88: 653-657
- 4 Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet* 2007; 369: 1627-1640
- 5 Parham C, Chirica M, Timans J, Vaisberg E, Travis M, Cheung J, Pflanz S, Zhang R, Singh KP, Vega

#### ■创新盘点

本研究首次对我国IBD患者IL-23R 3个非同义SNP进行研究, 探讨了其等位基因的表现频率分布, 了解了我国IBD患者的IL-23R基因多态性与IBD的关系.

## ■同行评价

本文选题新颖,对炎症性肠病的发病机制的探讨有重要的现实意义。

- F, To W, Wagner J, O'Farrell AM, McClanahan T, Zurawski S, Hannum C, Gorman D, Rennick DM, Kastelein RA, de Waal Malefyt R, Moore KW. A receptor for the heterodimeric cytokine IL-23 is composed of IL-12Rbeta1 and a novel cytokine receptor subunit, IL-23R. *J Immunol* 2002; 168: 5699-5708
- 6 Kolls JK, Lindén A. Interleukin-17 family members and inflammation. *Immunity* 2004; 21: 467-476
- 7 Afzali B, Lombardi G, Lechler RI, Lord GM. The role of T helper 17 (Th17) and regulatory T cells (Treg) in human organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Exp Immunol* 2007; 148: 32-46
- 8 Collins FS, Brooks LD, Chakravarti A. A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation. *Genome Res* 1998; 8: 1229-1231
- 9 Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, Rioux JD, Silverberg MS, Daly MJ, Steinhart AH, Abraham C, Regueiro M, Griffiths A, Dassopoulos T, Bitton A, Yang H, Targan S, Datta LW, Kistner EO, Schumm LP, Lee AT, Gregersen PK, Barmada MM, Rotter JL, Nicolae DL, Cho JH. A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006; 314: 1461-1463
- 10 Dubinsky MC, Wang D, Picornell Y, Wrobel I, Katzir L, Quiros A, Dutridge D, Wahbeh G, Silber G, Bahar R, Mengesha E, Targan SR, Taylor KD, Rotter JL. IL-23 receptor (IL-23R) gene protects against pediatric Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 511-515
- 11 Amre DK, Mack D, Israel D, Morgan K, Lambrette P, Law L, Grimard G, Deslandres C, Krupoves A, Bucionis V, Costea I, Bissonauth V, Feguery H, D'Souza S, Levy E, Seidman EG. Association between genetic variants in the IL-23R gene and early-onset Crohn's disease: results from a case-control and family-based study among Canadian children. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 615-620
- 12 Borgiani P, Perricone C, Ciccacci C, Romano S, Novelli G, Biancone L, Petruzzello C, Pallone F. Interleukin-23R Arg381Gln is associated with susceptibility to Crohn's disease but not with phenotype in an Italian population. *Gastroenterology* 2007; 133: 1049-1051; author reply 1049-1051
- 13 Tremelling M, Cummings F, Fisher SA, Mansfield J, Gwilliam R, Keniry A, Nimmo ER, Drummond H, Onnie CM, Prescott NJ, Sanderson J, Bredin F, Berzuini C, Forbes A, Lewis CM, Cardon L, Deloukas P, Jewell D, Mathew CG, Parkes M, Satsangi J. IL23R variation determines susceptibility but not disease phenotype in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2007; 132: 1657-1664
- 14 Yamazaki K, Onouchi Y, Takazoe M, Kubo M, Nakamura Y, Hata A. Association analysis of genetic variants in IL23R, ATG16L1 and 5p13.1 loci with Crohn's disease in Japanese patients. *J Hum Genet* 2007; 52: 575-583
- 15 Venegas M, Beltrán CJ, Alvarez L, Castro A, Torres T, Leal AD, Lahsen FM, Hermoso MA, Quera R. IL-23R Arg381Gln polymorphism in Chilean patients with inflammatory bowel disease. *Eur Cytokine Netw* 2008; 19: 190-195
- 16 dos Santos RG, Viana ML, Generoso SV, Arantes RE, Davisson Correia MI, Cardoso VN. Glutamine supplementation decreases intestinal permeability and preserves gut mucosa integrity in an experimental mouse model. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2010; 34: 408-413

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## WJG 总被引频次排名位于第 174 名

本刊讯 World Journal of Gastroenterology (WJG)被Science Citation Index Expanded (SCIE)和MEDLINE等国际重要检索系统收录,在国际上享有较高声誉和影响力。WJG在PubMed Central (PMC)统计,单月独立IP地址访问58 257次,全文网络版(HTML Full Text)下载94 888次,全文PDF下载59 694次。另外根据基本科学指标库(essential science indicators)统计,2000-01-01/2010-12-31, SCIE检索的临床医学(clinical medicine)期刊有1 105种,总被引频次排名, WJG位于第174名。(2011-05-14 马连生 董事长/总编辑)