文章编号:1000-5404(2007)18-1797-04

论著

白细胞介素-6基因多态性及血清水平与原发性高血压的关系

付海霞[1],张嘉莹[1],赵子牛[2],李庚山[3] (河南省人民医院:[1]心血管内科,[2]心血管外科,郑州 450003;[3]武汉大学人民医院心血管内科,武汉 430060)

提 要:目的 探讨中国汉族人群中白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)基因多态性及血清水平与原发性高血压(essential hypertension, EH)的关系,并初步观察IL-6基因多态性对血清IL-6水平的影响。**方法** 对191例EH患者及197例健康对照人群进行IL-6基因-597 G/A、-572 C/G及-174 G/C多态性及血清水平检测,PCR-RFLP法检测基因多态性,ELISA法测定血清IL-6水平。**结果** 两组人群-597与-174位点均仅发现GG基因型。-572基因型及等位基因频率分布在两组间存在显著差异,EH组CG+GG基因型及G等位基因频率均显著高于对照组($P<0.05$, $P<0.01$);G等位基因携带者患EH的风险是CC基因型的1.68倍(95% *CI*:1.12~2.53, $P<0.05$)。EH组血清IL-6水平显著高于对照组[(15.41±8.09)pg/ml与(4.68±2.90)pg/ml, $P<0.01$],-572 CG+GG基因型患者血清IL-6及收缩压水平均显著高于-572 CC基因型患者($P<0.05$)。**结论** 中国汉族人群中可能不存在IL-6基因-174 G/C与-597 G/A多态性,他们与EH发病无关;-572 C/G多态性可能是中国汉族人群EH发病的遗传危险因素之一,其可能通过对血清IL-6水平表达的影响增加个体EH的发病风险。

关键词:高血压;白细胞介素-6;基因;多态现象(遗传学)
中图法分类号:R392.12;R392.2;R544.1 **文献标识码**:A

Relationship of interleukin-6 gene polymorphisms and its serum level with essential hypertension

FU Hai-xia[1], ZHANG Jia-ying[1], ZHAO Zi-niu[2], LI Geng-Shan[3] ([1]Department of Cardiovascular Diseases, [2] Department of Cardiovascular Surgery, People's Hospital of Henan Province, Zhengzhou 450003; [3]Department of Cardiovascular Diseases, People's Hospital, Wuhan University, Wuhan 430060, China)

Abstract: Objective To explore the relationship of interleukin-6 (IL-6) gene polymorphisms and its serum level with essential hypertension (EH) in Chinese Hans population and investigate the effect of IL-6 gene polymorphisms on serum IL-6 level. **Methods** The polymorphisms of IL-6 gene, -597 G/A, -572 C/G and 174 G/C, were checked in 191 EH patients and 197 control subjects by PCR-RELP. Meanwhile their serum IL-6 level was determined by ELISA. **Results** Only -597 GG genotype and -174 GG genotype of IL-6 gene was found in the test population. There was significant difference in frequencies of -572 genotype and allele between 2 groups. -572 CG + GG genotype and G allele were more frequent in patients than in controls ($P<0.05$, $P<0.01$). Compared to CC genotype, relative risk for hypertension were 1.68 (95% *CI*: 1.12~2.53, $P<0.05$) for -572 CG + GG genotype. EH group showed significantly higher serum level of IL-6 than control group [(15.41±8.09) pg/ml vs (4.68±2.90) pg/ml, $P<0.01$]. Serum IL-6 level of patients with -572 CG +GG genotype was higher than that of -572 CC genotype ($P<0.05$), and so the systolic blood pressure level ($P<0.05$). **Conclusion** No IL-6 gene -597 G/A and -174 G/C polymorphisms is seen in our study. IL-6 gene -572 C/G polymorphism may be one of genetic risk factors for EH and it may increase the risk of EH by enhancing the IL-6 expression.

Key words: hypertension; interleukin-6; gene; polymorphisms

白细胞介素6(interleukin-6, IL-6)是一种具有多种生物学活性的促炎细胞因子,可损伤血管内皮细胞,增加血黏滞度水平,收缩外周阻力血管,促进血管平滑肌细胞增生,影响机体血压水平[1]。人IL-6基因位于

作者简介:付海霞(1973-),女,河南省安阳市人,博士,副主任医师,主要从事心血管疾病的分子生物学方面的研究。电话:(027)65580414, E-mail:fuxiami@163.com
通讯作者:赵子牛,电话:(0371)65580759
收稿日期:2006-09-27;修回日期:2007-01-16

染色体7p21-p14上，是与调节血压相关的候选基因。有研究报道IL-6基因多态性与糖尿病、心肌梗死、肾移植、脑梗死等多种疾病的发病易感性相关[2-5]，但有关其与原发性高血压(essential hypertension，EH)关系的报道较少。为了探讨IL-6及其基因对EH发病易感性的影响，我们观察了中国汉族人群EH患者IL-6血清水平及基因多态性的分布情况。

1 资料与方法

1.1 对象

来自2004年8月至2005年12月我院及武汉大学人民医院的门诊体检人群。EH组191例，其中男性137例，女性54例，年龄40～85(59.76±11.99)岁。高血压诊断按1999年WHO/ISH标准，并排除继发性高血压及并发有其他心血管疾患或肝肾疾病的患者。对照组为年龄、性别与EH组相匹配的在两家医院门诊同时间段体检的健康人群，共197例，均无高血压史。两组间年龄、性别、体质量指数及血糖水平等差异无统计学意义($P>0.05$)，EH组吸烟者比例、收缩压(systolic blood pressure，SBP)、舒张压(diastolic blood pressure，DBP)、总胆固醇(total cholesterol，TC)及甘油三酯(triglyceride，TG)等水平均显著高于对照组($P<0.05$，$P<0.01$)。

1.2 方法

1.2.1 外周动脉血压的检测 被检者测量前1 h不饮咖啡，测压前15 min不吸烟。在安静环境下休息5～30 min，取坐位，手臂支撑在心脏水平，使用汞柱式血压计测量右上肢肱动脉血压。以非同日3次测量值的均值为所得血压值。

1.2.2 基因型分析 从每位研究对象抽取空腹静脉血2 ml，改良碘化钠法抽提DNA[2]。参照文献[6,7]采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性基因分析方法检测IL-6基因-597 G/A、-572 C/G及-174 G/C多态性。-597 G/A、-572 C/G多态性检测应用同一对引物，正义引物：5′-GGAGACGCCTTGAAGTAACTGC-3′，反义引物：5′-GAGTTTCCTCTGACTCCATCGCAG-3′(大连宝生物工程有限公司合成)，产物片段为163 bp。扩增产物分别应用*Fok* Ⅰ限制性内切酶(大连宝生物工程有限公司)和*Mbi* Ⅰ限制性内切酶(MBI Fermentas公司)消化。-174 G/C多态性检测应用的正义引物：5′-ACTTCGTGCATGAC TTCAGC23′，反义引物：5′-CTGATTGGAACCTTATTAAG-3′(大连宝生物工程有限公司合成)，产物片段为208 bp，使用*Sfa*N Ⅰ限制性内切酶消化(MBI Fermentas公司)。2%琼脂糖凝胶电泳鉴定PCR扩增产物，8%非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳鉴定酶切产物。

1.2.3 血清IL-6水平测定 采集研究对象就诊时晨起空腹外周静脉血2 ml，分离血清，-20 ℃保存，酶联免疫吸附试验法[8]检测血清IL-6水平，试剂由美国Genzyme公司提供。

1.3 统计学处理

应用SPSS 13.0统计软件进行t检验、χ^2检验、Logistic回归分析和秩相关回归分析。

2 结果

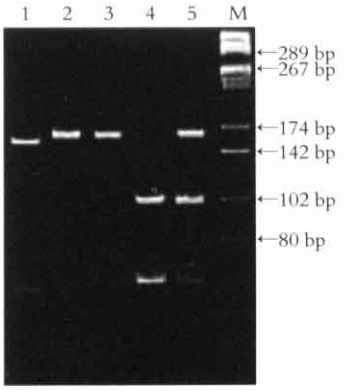
2.1 IL-6基因型判断

用上述引物行PCR扩增反应分别可获得IL-6基因启动子区两段长度为208、163 bp的基因片段，参照文献[6,7]，经相应限制性内切酶消化即可区分出IL-6基因-597 G/A、-572 C/G及-174 G/C 3种多态性的基因型。*Sfa*N Ⅰ酶切后可区分出-174 G/C多态性的3基因型：GG(150、58 bp 2条带)、GC(208、150、58 bp 3条带)及CC基因型(208 bp 1条带)3种。*Fok* Ⅰ酶切后可区分出-597 G/A多态性的3种基因型：GG(163 bp 1条带)、AA(116 bp和47 bp 2条带)及GA基因型(163、116 bp和47 bp 3条带)。*Mbi* Ⅰ酶切后可区分出-572 C/G多态性的3种基因型：CC(163 bp 1条带)、GG(101 bp和62 bp 2条带)及CG基因型(163、101 bp和62 bp 3条带)。

2.2 IL-6基因多态性在两组间的分布与比较

2.2.1 -597 G/A、-174 G/C多态性在两组间的分布与比较

两组研究对象中-597位点与-174位点均仅发现GG基因型，未见其他基因型，见图1。



1：-174 GG基因型；2：-597 GG基因型；3：-572 CC基因型；4：-572 GG基因型；5：-572 CG基因型；M：pGEM-3Zf(+)/Hae Ⅲ标准

图1 IL-6基因-597G/A、-572C/G及-174G/C多态性电泳图

2.2.2 -572 C/G多态性在两组间的分布与比较 两组人群中-572位点均存在3种基因型(图1)。EH组与对照组CC、CG、GG 3种基因型频率分别为51.31%、41.88%、6.81%及63.96%、34.52%、1.52%。可见两组人群均以CC基因型为主，CG基因型次之，GG基因型最少，基因型频率分布均符合Hardy-Weinberg平衡($P>0.05$)，表明各基因型已达到遗传平衡，具有群体代表性。EH组基因型、等位基因频率分布与对照组相比差异显著，CG+GG基因型、G等位基因频率高于对照组，而CC基因型、C等位基因频率低于对照组($P<0.05$，$P<0.01$)。基因型和等位基因频率的相对风险分析显示，CG+GG基因型患EH的风险是CC基因型的1.68倍(95% CI：1.12～2.53，$P<0.05$)，G等位基因携带者患EH的风险是C等位基因的1.66倍(95% CI：1.19～2.33，$P<0.01$)。

2.3 血清IL-6水平在两组间及IL-6基因-572基因型间的比较

EH组血清IL-6水平[(15.41±8.09)pg/ml]显著高于对

照组[(4.68 ±2.90)pg/ml](P<0.01),EH 组血清 IL-6 水平与收缩压水平呈正相关($r=0.64$,$P<0.01$)。对照组 -572 CG +GG基因型与 CC 基因型人群间血清 IL-6 水平无差异[(5.10 ±3.22)pg/ml 与(4.44 ±2.14)pg/ml](P>0.05),而 EH 组 -572 CG +GG 基因型患者血清 IL-6 水平[(18.13 ±9.52)pg/ml]显著高于 -572 CC 基因型患者[(12.83 ±7.20)pg/ml](P<0.05)。

2.4　EH 组 IL-6 各基因型间血压水平比较

EH 组 IL-6 基因 -572 CG +GG 基因型人群 SBP 水平显著高于 CC 基因型人群[(160.63 ±19.75) mmHg 与(155.21 ±17.91) mmHg, P < 0.05],而 DBP 水平无差异[(97.46 ±12.41)mmHg 与(96.76 ±13.95) mmHg,P>0.05]。

3　讨论

EH 发病机制尚未完全阐明,可能是遗传与环境因素共同作用的结果。晚近流行病学研究表明,慢性炎症反应在其发生、发展过程中起重要作用,活化的免疫细胞分泌的多种细胞因子参与了 EH 的发生发展。IL-6 是一种参与免疫和炎症反应的多功能促炎细胞因子,体内单核/巨噬细胞、内皮细胞等均可分泌 IL-6,其可通过以下机制影响高血压的发生发展:①升高血管平滑肌细胞内 Ca^{2+} 浓度,引起血管收缩;②使白细胞流变学特性发生改变,易黏附于血管内皮细胞,增加血管阻力;③从多种途径促进血管平滑肌细胞增生、增殖导致血管重构;④升高血管紧张素Ⅱ及其受体水平,收缩外周阻力血管,引起血压升高;⑤损伤血管内皮;⑥IL-6 除可直接影响血压外,还与性别、肥胖、糖尿病、血儿茶酚胺等多种高血压危险因素有关,它们可协同促进高血压的发生和发展[1]。研究表明高血压患者 IL-6 水平明显升高[1]。本研究也显示,EH 组患者IL-6 水平明显高于对照组(P<0.01),血清 IL-6 水平与收缩压水平呈正相关($r=0.64$,$P<0.01$),提示 EH 患者存在全身炎症反应和细胞免疫功能紊乱, IL-6 参与了高血压的病理过程。

正因为 IL-6 在高血压发生中的作用,IL-6 基因被认为是 EH 发病的重要候选基因之一。1998 年 Fishman 等[7]发现 IL-6 基因启动子区存在 -174 G/C 多态性,其可以影响 IL-6 基因的转录与血清水平。随后多项研究表明其与多种心血管疾病有关。Humphries 等[6]发现该多态性与英国健康中年男性血压水平相关, -174 C 等位基因携带者患冠心病的风险为 GG 基因型人群的 1.54 倍(95% *CI*:1.0 ~2.23,$P=0.048$)。Rundek 等[9]发现 -174 G/C 多态性可以影响美国高加索人群颈动脉内膜厚度($P=0.03$)。Georges[10]与 Kelberman 等[3]发现 -174 C/G 多态性是欧美人群 MI 发生的遗传危险因素。 -597 G/A 多态性与 -174 G/C 多态性处于连等锁不平衡,它也可影响欧美人群 MI 发生的易感性[10]。但我们研究却发现中国汉族人群中不存在 -174 C/G 与 -597 G/A 多态性,它们与本研究人群 EH 发病无关。Lim 等[11]及 Chung 等[12]曾分别报道该多态性存在民族、种族差异,韩国、日本等东亚人种中不存在 -174 C/G 多态性,支持本研究结果。

-572 C/G 多态性是 IL-6 基因启动子区另一研究较多的单核苷酸多态性[13]。美国学者 Ferrari 等[14]报道美国高加索人群中 CRP 水平受 -572 C/G 多态性影响,C 等位基因携带者 CRP 水平较 GG 基因型人群高 37%。日本学者 Kitamura 等[15]发现日本人群中 -572 C/G 多态性与糖尿病肾病的进展程度有关,GG 基因型人群尿蛋白含量明显增加。本研究运用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析方法检测了中国汉族人群中 EH 患者 IL-6 基因多态性的分布情况,结果显示,中国汉族人群 EH 患者 IL-6 基因 -572 C/G 多态性分布和血压正常人群相比较差异显著($P<0.05$, $P<0.01$),携带 -572 G 等位基因个体患 EH 的风险约是 CC 基因型的 1.68 倍,G 等位基因可能是中国汉族人群 EH 发生的遗传危险因素之一。同时我们在研究中发现 IL-6 基因 -572 C/G 多态性与 EH 患者血清 IL-6 水平及 SBP 水平相关,携带 G 等位基因的 EH 患者血清 IL-6 水平及 SBP 水平均显著高于不携带者($P<0.05$)。提示在一定的病理条件下, 携带 G 等位基因的个体可能通过促进 IL-6 的高度表达升高个体收缩压水平进而增加个体 EH 的发病风险。Tanaka 等[16]发现 -572 C/G 多态性与日本人群 SBP 水平相关,该多态性与 IL-6 基因 1691C/G 多态性可协同作用影响 EH 的发生,同本研究结果相似。

综上,我们认为 EH 是多因素参与的疾病,除不良生活习惯外,遗传因素在其发病中也起重要作用。通过我们的研究可以发现, 中国汉族人群中可能不存在 -174 G/C 与 -597 G/A 多态性, -572 C/ G 多态性与 EH 的发生存在明显的相关性,该位点 CG + GG 基因型可能是汉族人群 EH 发病的易感基因之一,其可能通过对 IL-6 的表达的影响增加个体 EH 的发病风险。但由于高血压病是一种多基因遗传性疾病,对 IL-6 基因在 EH 发病中的具体作用及机制,还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Hirano T. Interleukin 6 and its receptor: ten years later[J]. Int Rev Immunol, 1998, 16(3-4): 249 -284.

[2] Hamid Y H, Rose C S, Urhammer S A, *et al*. Variations of the interleukin-6 promoter are associated with features of the metabolic syndrome in Caucasian Danes[J]. Diabetologia, 2005, 48(2): 251 - 260.

[3] Kelberman D, Hawe E, Luong L A, *et al*. Effect of Interleukin-6 promoter polymorphisms in survivors of myocardial infarction and matched controls in the North and South of Europe. The HIFMECH Study[J]. Thromb Haemost, 2004, 92(5): 1122 - 1128.

[4] Muller-Steinhardt M, Fricke L, Muller B, *et al*. Cooperative influence of the interleukin-6 promoter polymorphisms -597, -572 and -174 on long-term kidney allograft survival[J]. Am J Transplant, 2004, 4(3): 402 - 406.

[5] Revilla M, Obach V, Cercera A, *et al*. A -174G/C polymorphism of the interleukin-6 gene in patients with lacunar infarction[J]. Neurosci Lett, 2002, 324(1): 29 - 32.

[6] Humphries S E, Luong L A, Ogg M S, *et al*. The interleukin-6 -174 G/C promoter polymorphism is associated with risk of coronary heart disease and systolic blood pressure in healthy men[J]. Eur Heart J, 2001, 22(24): 2243 - 2252.

[7] Fishman D, Faulds G, Jeffery R, *et al*. The effect of novel polymorphisms in the interleukin-6(IL-6) gene on IL-6 transcription and plasma IL-6 levels, and an association with systemic-onset juvenile chronic arthritis[J]. J Clin Invest, 1998, 102(7): 1369 - 1376.

[8] Rauramaa R, Vaisanen S B, Luong L A, *et al*. Stromelysin-1 and interleukin-6 gene promoter polymorphisms are determinants of asymptomatic carotid artery atherosclerosis[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20(12): 2657 - 2662.

[9] Rundek T, Elkind M S, Pittman J, *et al*. Carotid intima-media thickness is associated with allelic variants of stromelysin-1, interleukin-6, and hepatic lipase genes: the Northern Manhattan Prospective Cohort Study[J]. Stroke, 2002, 33(5): 1420 - 1423.

[10] Georges J L, Loukaci V, Poirier O, *et al*. Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction: the ECTIM study. Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde[J]. J Mol Med, 2001, 79(5-6): 300 - 305.

[11] Lim C S, Zheng S, Kim Y S, *et al*. The -174 G to C polymorphism of interleukin-6 gene is very rare in koreans[J]. Cytokine, 2002, 19(1): 52 - 54.

[12] Chung H W, Seo J S, Hur S E, *et al*. Association of interleukin-6 promoter variant with bone mineral density in pre-menopausal women[J]. J Hum Genet, 2003, 48(5): 243 - 248.

[13] 欧光红, 连亚军, 张宏伟, 等. 托吡酯对戊巴比妥钠点燃大鼠海马结构白细胞介素-6表达的影响[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2007, 42(2): 270 - 273.

[14] Ferrari S L, Ahn-Luong L, Garnero P, *et al*. Two promoter polymorphisms regulating interleukin-6 gene expression are associated with circulating levels of C-reactive protein and markers of bone resorption in postmenopausal women[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2003, 88(1): 255 - 259.

[15] Kitamura A, Hasegawa G, Obayashi H, *et al*. Interleukin-6 polymorphism (-634 C/G) in the promotor region and the progression of diabetic nephropathy in type 2 diabetes[J]. Diabet Med, 2002, 19(12): 1000 - 1005.

[16] Tanaka C, Mannami T, Kamide K, *et al*. Single nucleotide polymorphisms in the interleukin-6 gene associated with blood pressure and atherosclerosis in a Japanese general population[J]. Hypertens Res, 2005, 28(1): 35 - 41.

(编辑 陈聪连)

《现代美容整形外科学》征订启事

由军内外著名美容整形外科专家、第三军医大学西南医院教授领衔主编，国内外数十名经验丰富的美容整形外科专家和学者编撰，系统阐述了以普通经典手术为主的各类美容整形外科手术的基本原则及操作技术等最新知识的专著《现代美容整形外科学》于2006年4月由人民军医出版社出版，全国发行。本书特点：(1)70余位美容整形专家鼎力奉献，中特13位著名权威专家主编、审定。(2)系统介绍了头颅、颜面、面颈、牙颌、五官、胸壁、乳房、四肢、会阴、生殖器等各部位的美容整形手术的适应证、禁忌证、术前准备、麻醉与体位、手术步骤、术中注意要点、术后注意事项、术后处理以及并发症等，详细有大量精细的局部解剖和手术操作示意图或照片。全面阐述了美容整形、显微外科、创伤美容、麻醉、皮肤色素及体表肿瘤、皮肤软组织扩张、吸脂减肥、组织移植、生物材料、组织工程、瘢痕的预防和治疗的最新知识和动态，文刺、计算机、内镜、超声、电子、纳米、激光等技术在美容整形外科的应用。根据当今美容整形外科的发展特点，还特别加入了人体美学、心理学、康复医学以及医学美容法规及医疗纠纷的防范等内容。(3)全书共计1848页，插图1160余幅，其中彩色插图80余幅。正16开，80g双面铜版纸彩色印刷。豪华精装加封面套盒。定价：680元/册

本书作者在参阅国内外大量最新文献的基础上，较全面地反映了美容整形外科学的发展水平，《现代美容整形外科学》是一部系统、全面介绍美容整形外科技术的专著，是从事美容整形外科的工作人员案头必备参考书，也是各级各类美容整形医疗单位、医学院校师生、图书馆、资料室重点收藏图书

地 址：重庆市沙坪坝区高滩岩第三军医大学学报编辑部 邮 编：400038

联系人：王 红 电 话：(023)68752782，68752189-84