[J]. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2011, 12(5): 351 - 352.
[3] Fujitaka K, Nakamura S, Sugiura T, *et al*. Combined analysis of multislice computed tomography coronary angiography and stress-rest myocardial perfusion imaging in detecting patients with significant proximal coronary artery stenosis[J]. Nucl Med Commun, 2009, 30(10): 789 - 796.
[4] 王琳琳, 董振东. 开启动态容积时代: Aquilion ONE 320排CT[J]. 医疗卫生装备, 2010, 31(1): 13 - 16.
[5] Mowatt G, Cook J A, Hillis G S, *et al*. 64-Slice computed tomography angiography in the diagnosis and assessment of coronary artery disease: systematic review and meta-analysis[J]. Heart, 2008, 94(11): 1386 - 1393.
[6] Miller J M, Rochitte C E, Dewey M, *et al*. Diagnostic performance of coronary angiography by 64-row CT[J]. N Engl J Med, 2008, 359(22): 2324 - 2336.
[7] 王怡宁, 金征宇, 孔令燕, 等. 64层螺旋CT冠状动脉成像初步研究[J]. 中华放射学杂志, 2006, 40(8): 797 - 801.
[8] 刘品明, 郑海生, 罗年桑, 等. 64层螺旋CT冠状动脉成像对冠心病诊断的应用价值[J]. 中华心血管病杂志, 2010, 38(10): 909 - 913.
[9] 廖火城, 钱孝贤, 等. 320排CT心脏成像的最新进展[J]. 国际内科学杂志, 2009, 36(12): 701 - 704, 709.

(**收稿**:2011-10-10;**修回**:2011-12-05)
(编辑 王 红)

短篇论著

文章编号:1000-5404(2012)06-0572-03

高分辨熔解技术检测类风湿关节炎患者IL-1β和IL-1Ra基因多态性

李菲菲[1],尤崇革[1],王丽萍[2],呼志斌[3],马克君[1],周雅丽[1],施鑫鹤[1],郜莉娜[3] (730030 兰州,兰州大学第二医院:中心实验室[1],风湿科[2],检验科[3])

[**摘要**] **目的** 探讨IL-1β和IL-1Ra基因多态性与类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)易感性及其血清学指标的关系。**方法** 应用高分辨率熔解(high resolution melting, HRM)技术对452例RA患者和360例对照进行IL-1β和IL-1Ra基因多态性的病例-对照研究,并分析IL-1β和IL-1Ra基因多态性与血清学指标的相关性。等位基因频率比较采用SPSS软件,单倍型构建采用在线SHEsis软件。**结果** 成功建立了*IL-1B*-511、-31、+3954和*IL-1RN*(rs4251961)4个位点的PCR-HRM检测方法。结果显示在女性中,*IL-1B*+3954位点等位基因频率在病例组和对照组之间存在有统计学差异($\chi^2=5.0$, $P=0.03$),*IL-1B*-31位点等位基因频率和单倍型*IL-1B*-511 * T/*IL-1B*-31 * C/*IL-1B* + 3954 * C/*IL-1RN* * T(TCCT)在抗-MCV阳性组和阴性组之间存在统计学差异($\chi^2=5.0$, $P=0.02$; $\chi^2=5.3$, $P=0.02$),单倍型*IL-1B*-511 * T/*IL-1B*-31 * C/*IL-1B* + 3954 * C/*IL-1RN* * C(TCCC)在RF、抗CCP和抗MCV 3个指标均为阳性和3指标非全阳性的2组之间存在统计学差异($\chi^2=5.1$, $P=0.02$)。**结论** PCR-HRM技术是一种值得推广的常规化基因分型新方法。*IL-1B* + 3954 * C与女性RA易感性相关,*IL-1B*-31 * C和单倍型TCCT与女性抗MCV阳性相关,单倍型TCCC与女性血清学指标全阳性相关。

[**关键词**] 白细胞介素-1β;白细胞介素-1受体拮抗剂;类风湿关节炎;基因多态性;高分辨率熔解技术
[**中图法分类号**] R392-33;R392.2;R593.22 [**文献标志码**] A

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种与白细胞介素1β(interleukin-1β, IL-1β)和IL-1受体拮抗剂(IL-1 receptor antagonist, IL-1Ra)密切相关的自身免疫性疾病[1-2]。当前有关IL-1β和IL-1Ra基因多态性与RA易感和血清学指标的相关性研究,由于方法学的原因使先前研究存在检测位点单一、样本量少和结果不易分析的局限性,从而导致研究结论不一致[3-4]。本研究采用国外最新兴起的高通量、低成本、易操作、可常规化均相检测的基因分型新技术——高分辨熔解曲线(high resolution melting, HRM),建立*IL-1B*-511(C > T)、-31(T > C)、+3954(C > T)和*IL-1RN*(rs4251961, T > C)4个单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点的PCR-HRM检测方法;并进一步分析其与RA易感性和血清学指标的相关性,为常规化基因分型IL-1β和IL-1Ra奠定方法学基础。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取兰州大学第二医院住院患者,遵循知情同意原则。①RA组(452例):男性103例,女性349例,年龄(47.5 ± 12.9)岁。②对照组(360例):男性205例,女性155例,年龄(41.5 ± 15.1)岁。血清学指标包括类风湿因子(rheumatoid factor, RF)、抗环瓜氨酸肽抗体(anticyclic citrullinated peptide antibody, 抗CCP)和抗突变型瓜氨酸化波形蛋白抗体(antibodies against modified citrullinated vimentin, 抗MCV),并分为4个平行比较组:RF组、抗CCP组、抗MCV组和3指标组。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取、引物设计和PCR体系 采用全血提取试

[**基金项目**] 甘肃省科技支撑项目(090NKCA094);教育部春晖计划项目(Z2010085)
[**通信作者**] 尤崇革, E-mail: youchg@lzu.edu.cn

剂盒(Fujifilm)提取基因组 DNA，Primer 3 软件设计 *IL-1B*-511、-31、+3954 和 *IL-1RN*(rs4251961)位点，上游引物分别为：5′-CCCAGCCAAGAAAGGTCAAT-3′、5′-TTTCTCAGCCTCCTACTTCTGC-3′、5′-GGCCTGCCCTTCTGATTTTA-3′、5′-CGTGTCATTCATGCTTCCGGTG-3′；下游引物分别为：5′-TGAGGGTGTGGGTCTCTACC-3′、5′-CTTGTGCCTCGAAGAGGTTT-3′、5′-CGTGCACATAAGCCTCGTTA-3′、5′-CCAGGTCTGCAGCCAACCAGTTGTG-3′。10 μl PCR 反应体系包括 1 × EvaGreen Master Mix (Biotium)、0.3 μmol/L 的上下游引物和 1 μl 的 DNA 模板。

1.2.2　PCR 扩增与 HRM 分析　　PCR 扩增和 HRM 分析在 Rotor Gene 6000 荧光定量 PCR 仪(Corbett research)上完成。反应条件为 96 ℃ 3 min；96 ℃ 10 s，56 ℃ 15 s，72 ℃ 10 s，40 个循环；随后进行 HRM 分析，条件为 96 ℃ 30 s，45 ℃ 30 s，熔解曲线数据收集从 72 ~ 90 ℃。依据熔解曲线峰型的改变进行基因分型，并选取不同特征峰各 3 份测序验证。

1.3　统计学分析

采用 SPSS 17.0 进行等位基因频率的比较和计量资料分析，Hardy-Weinberg 平衡检验以及单倍型构建采用 SHEsis 分析。

2　结果

2.1　基因分型结果及测序验证

高分辨熔解曲线的基因分型结果与测序结果完全一致(图 1)。

2.2　统计学分析结果

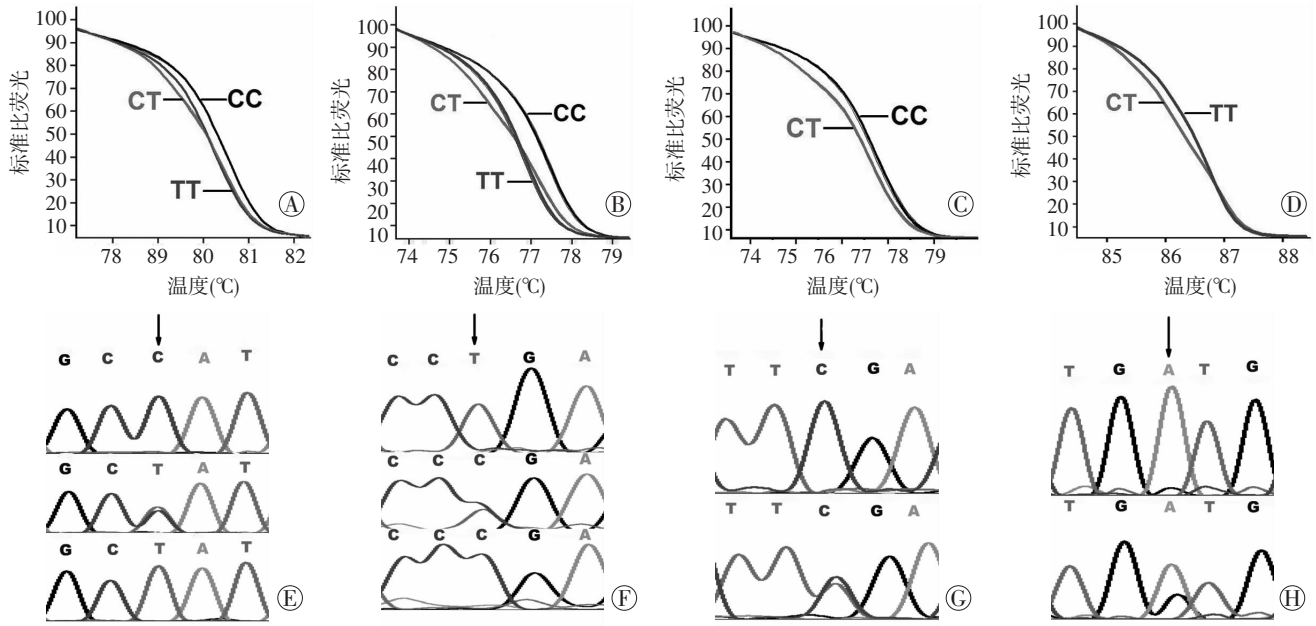
IL-1B-511、-31、+3954 和 *IL-1RN* 4 个位点的等位基因频率在病例组和对照组间分布均无统计学差异，但性别分层后发现 *IL-1B* +3954 位点等位基因频率在女性的病例组与对照组之间存在统计学差异(χ^2 = 5.0，*P* = 0.03，*OR* = 1.87，95% *CI* = [1.07 ~ 3.25])。*IL-1B*-31 位点的等位基因频率在抗 MCV 阳性组与阴性组之间有统计学差异(χ^2 = 4.4，*P* = 0.04，*OR* = 1.5，95% *CI* = [1.03 ~ 2.23])；经性别校正后这种差异仍存在于女性(χ^2 = 5.0，*P* = 0.02，*OR* = 1.6，95% *CI* = [1.06 ~ 2.53])；男性因例数较少(2 组总例数 < 100)未分析，其余各血清组均未发现统计学差异。

对 RA 组按血清学指标分组进行 4 个位点单倍型分析发现：单倍型 *IL-1B*-511 * T/*IL-1B*-31 * C/*IL-1B* + 3954 * C/*IL-1RN* * T 在抗 MCV 阳性组与阴性组之间存在统计学差异(χ^2 = 4.6，*P* = 0.03，*OR* = 1.6，95% *CI* = [1.04 ~ 2.35])；经性别校正后这种差异仍存在于女性(χ^2 = 5.3，*P* = 0.02，*OR* = 1.7，95% *CI* = [1.08 ~ 2.68])。此外，单倍型 *IL-1B*-511 * T/*IL-1B*-31 * C/*IL-1B* + 3954 * C/*IL-1RN* * C 只存在女性 RA 组，比较发现其在 RF、抗 CCP、抗 MCV 3 指标阳性组与 3 指标非全阳性组之间存在统计学差异(χ^2 = 5.1，*P* = 0.02，*OR* = 3.3，95% *CI* = [1.1 ~ 9.7])。

3　讨论

HRM 技术是国外近年发展起来的基因分型新技术[5]，本研究应用 HRM 技术成功地建立了 *IL-1B*-511、-31、+3954 和 *IL-1RN* 4 个 SNP 的检测方法并通过测序验证了其可靠性。通过检测临床 RA 标本进行病例-对照研究，发现 *IL-1B* + 3954 位点与女性 RA 易感相关，从而验证了以前的研究[6]。有研究认为雌激素与 RA 的发病相关[7]，这可能是只在女性患者中存在 RA 易感性的原因。因此 *IL-1B* + 3954 位点有望成为女性 RA 预警的指标之一。

抗 MCV 反映 RA 的疾病活动情况，是早期诊断 RA 的一个重要指标[8]。*IL-1B*-31 位点在抗 MCV 阳性组与阴性组之间存在统计学差异，提示 *IL-1B*-31 位点



A ~ D：分别为 *IL-1B*-511、-31、+3954 和 *IL-1RN* 基因分型结果；E ~ H：分别为 *IL-1B*-511、-31、+3954 和 *IL-1RN* 测序结果；除 *IL-1RN* 位点为反向测序结果外，其余位点为正向测序结果

图 1　高分辨率熔解曲线基因分型结果和测序结果

有可能成为RA活动度和预后的分子指标。

IL-1B-511位点和*IL-1RN*位点在本研究中未发现与RA存在相关性,但是通过单倍型分析发现单倍型*IL-1B*-511 * T/*IL-1B*-31 * C/*IL-1B* + 3954 * C/*IL-1RN* * T和*IL-1B*-511 * T/*IL-1B*-31 * C/*IL-1B* + 3954 * C/*IL-1RN* * C均与RA血清学指标相关。由于复杂疾病易感基因的微效性,使单倍型分析能提供比单个等位基因更多的遗传信息。

总之,本研究建立了一种高效、价廉、值得推广的均相检测IL-1β和IL-1Ra基因多态性的PCR-HRM方法,并验证了*IL-1B* + 3954位点的女性RA易感性,同时发现*IL-1B*-31位点、单倍型TCCT和TCCC与RA活动度、预后相关。

参考文献:

[1] 王志中, 王勇, 牟方祥, 等. 血小板、TNF-α及Il-1β与活动期类风湿关节炎的相关性研究[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(5): 469 - 472.

[2] Buchs N, di-Giovine F S, Silvestri T, *et al*. IL-1B and IL-1Ra gene polymorphisms and disease severity in rheumatoid arthritis: interaction with their plasma levels[J]. Genes Immun, 2001, 2(4): 222 - 228.

[3] Lubbe S, Tikly M, van-der-Merwe L, *et al*. Interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphisms are associated with disease severity in Black South Africans with rheumatoid arthritis[J]. Joint Bone Spine, 2008, 75(4): 422 - 425.

[4] Johnsen A K, Plenge R M, Butty V, *et al*. A broad analysis of IL1 polymorphism and rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Rheum, 2008, 58(7): 1947 - 1957.

[5] Erali M, Voelkerding K V, Wittwer C T. High resolution melting applications for clinical laboratory medicine[J]. Exp Mol Pathol, 2008, 85(1): 50 - 58.

[6] Chaudhary A G. IL-1B gene polymorphism and susceptibility to rheumatoid arthritis in ethnic Saudi patients[J]. World Appl Sci J, 2008, 5(4): 449 - 454.

[7] Furuya T. Bone and calcium metabolism in patients with rheumatoid arthritis[J]. Clin Calcium, 2011, 21(9): 1369 - 1375.

[8] Mansour H E, Metwaly K M, Hassan I A, *et al*. Antibodies to mutated citrullinated vimentin in rheumatoid arthritis: diagnostic value, association with radiological damage and axial skeleton affection[J]. Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord, 2010, 3: 33 - 42.

(**收稿**:2011-09-22;**修回**:2011-11-21)

(编辑 邓强庭)

短篇论著

文章编号:1000-5404(2012)06-0574-02

不同肥胖指标对老年高尿酸血症的影响

胡 藁 (401220 重庆,重庆市长寿区人民医院内一科)

[**摘要**] **目的** 探索不同肥胖指标与老年高尿酸血症的关系。**方法** 纳入949例住院患者,年龄(65.4 ± 4.6)岁,其中男性402例,女性547例,测定其血尿酸及各项肥胖指标(腰围、体质指数、腰臀比)、代谢指标。**结果** 本组老年患者高尿酸血症检出率为16.6%,男性(27.6%)显著高于女性(8.6%)。以腰围或体质指数为肥胖指标,不管男性还是女性肥胖组血尿酸水平均显著高于非肥胖组($P < 0.05$),以腰臀比为指标,仅男性肥胖组血尿酸显著高于非肥胖组($P = 0.006$)。血甘油三酯[*OR*:1.539(1.247,1.900)]和血肌酐水平[*OR*:1.022(1.003,1.042)]是女性患高尿酸血症的独立危险因素,而腰围[*OR*:1.044(1.013,1.076)]、血甘油三酯[*OR*:1.376(1.117,1.695)]和血肌酐[*OR*:1.028(1.013,1.043)]是男性患高尿酸血症的独立危险因素。**结论** 不同肥胖指标对老年高尿酸血症的影响存在明显性别差异;腰围是老年男性高尿酸血症的独立危险因素。

[**关键词**] 肥胖;高尿酸血症;老年

[**中图法分类号**] R339.34;R589.2;R589.7

[**文献标志码**] A

高尿酸血症(hyperuricemia)与体内核酸代谢异常和肾脏排泄减少相关,是心血管疾病的独立危险因素[1],其高发人群为中老年男性和绝经后女性。国内外研究表明,肥胖是高尿酸血症的重要危险因素[2-4]。国内研究较多采用体质指数(BMI)作为肥胖指标[5-6],较少采用反映中心性肥胖的腰围[7]或腰臀比[8]指标探索其与高尿酸血症的关系。本研究拟对不同肥胖指标与老年高尿酸血症的关系进行初步探讨。

[**通信作者**] 胡 藁,E-mail:39565523@qq.com

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2008年1月至2010年12月在我院心内科住院的患者资料,排除感染、严重心功能不全(心功能Ⅲ~Ⅳ级)、肾功能不全、使用利尿剂及影响尿酸生成或排泄药物者,纳入949例患者作为研究对象,年龄(65.4 ± 4.6)岁,其中男性402例,女性547例。

1.2 诊断标准

高尿酸血症参照中华医学会风湿病学分会原发性痛风诊治指南诊断标准:男性和绝经后女性用尿酸酶法测得的血清尿