DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.02.038
第24卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 2
200 2002年2月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Feb. 2002

文章编号:1000-5404(2002)02-0200-02

论著

中国重庆地区汉族群体白介素-1受体拮抗剂基因多态性分布的初步观察

刘 兴[1],冯 凯[1],蒋建新[1],何家庆[1],冯文莉[2] ([1]第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所第四研究室,重庆 400042;[2]重庆医科大学检验系,重庆 400016)

提 要:目的 从基因水平上了解中国重庆地区汉族人群白细胞介素-1受体拮抗剂(IL-1Ra)基因多态性分布。方法 采用PCR方法对112例重庆地区汉族健康人IL-1Ra基因VNTR多态性进行了观察,并结合文献进行了不同种族间的分析比较。结果 中国重庆地区正常人群以IL-1RaA1等位基因频率最高,IL-1RaA2等位基因次之,与德、美等西欧国家及非洲白人相比,重庆地区汉族人IL-1RaA1等位基因的频率明显要高,IL-1RaA2等位基因频率明显低,而与非洲黑人相近。重庆地区汉族人IL-1RaA1/A1、A1/A2、A2/A2基因型分别为0.83、0.17、0。结论 IL-1Ra基因VNTR基因多态性在不同种族间的分布存在着明显的差异,为进一步研究IL-1Ra基因多态性与疾病的关系奠定了基础。

关键词:白细胞介素-1受体拮抗剂;基因多态性;聚合酶联反应
中图法分类号:R195;R392.2 文献标识码:A

Polymorphisms of IL-1Ra gene in Han population in Chongqing

LIU Xing, FENG Kai, JIANG Jian-xin, HE Jia-qing, FENG Wen-li (Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To study genotype and allele distributions of IL-1Ra VNTR in Han population in Chongqing and make comparason with different races. Methods The VNTR polymorphism of IL-1Ra were examined in 112 controls with polymerase chain reaction methods. Results The A1/A1 genotype was the most frequent one and the A1/A2 the second. Compared with Germany, American and white South African populations, the frequency of IL-1A1 allele in Han population in Chongqing was higher, While IL-A2 allele lower, which was similar with the black South African. In Han population in Chongqing, the frequency of IL-1RaA1/A1、A1/A2、A2/A2 genotype were 0.83、0.17、0, respectively. Conclusions VNTR polymorphism of IL-1Ra gene are different in different ethnic populations, which may be of significance in the studies on relationship between genetics and disease association.

Key words: IL-1Ra; polymorphism; polymerase chain reaction

白细胞介素-1(IL-1)作为一个前炎症细胞因子在调节免疫应答和炎症反应中起非常重要的作用。IL-1受体拮抗剂(Interleukin-1 receptor antagonist, IL-1Ra)能竞争性地与IL-1受体结合,从而阻断IL-1的生物效应,它是调节体内IL-1功能的一个重要因子。人类IL-1Ra基因第2个内含子存在数目可变的串联重复多态性(Variable number of tandem repeat, VNTR),人群中血清IL-1Ra水平的差异,有可能与个体间所携带重复体的数目不同有关。对炎性疾病患者IL-1Ra基因多态性结合临床进行分析,有可能从基因水平了解导致疾病一些临床症侯高度个体化的机制和寻找更有针对性的治疗手段。了解IL-1Ra基因多态性在正常人群中分布特点是开展炎性疾病IL-1Ra基因多态性研究的前题。本研究对我国重庆地区正常汉族人群中IL-1Ra基因多态性的分布进行了观察,并结合国外文献对不同种族间该基因分布特点进行了比较。

1 研究对象和方法

1.1 研究对象

112名重庆地区汉族健康献血员,均符合卫生部制定的"供血者健康检查标准",其中男68人,女性44人,年龄(38±15)岁。

1.2 DNA制备

基因组DNA的提取采用外周采血枸缘酸钠(ACD)抗凝,蛋白酶K消化,酚/氯仿提取法提取[1],-70 ℃保存。

1.3 IL-1Ra基因VNTR多态性分析

引物序列参照文献[2]设计合成:正链5′-CTCAGCAA-CACTCCTAT3′,反义链5′-TCCTGGTCTGCAGGTAA-3′。反应体积:50 μl,含模板DNA 50~150 ng、200 μmol/L dNTP,引物各20 pmol/l,Taq DNA聚合酶1 U,1× buffer,所有试剂均为promega产品。PCR反应条件:95 ℃预变性10 min后,按热循环程序95 ℃ 1 min、55 ℃ 1 min、72 ℃ 1 min,循环35次,再72℃延伸5 min,反应结束后于4 ℃中冷却。取PCR产物10 μl,加2 μl上样缓冲液,于2%琼脂糖凝胶电泳,0.1%溴化乙锭染色,在紫外分析仪上检测PCR扩增产物的特异性,以100 bp DNA Ladder为Marker测PCR产物片段大小。

1.4 统计学分析

根据正常人群IL-1Ra基因型分布分别计算等位基因A1和A2在总A1+总A2中所占的比例作为各等位基因频率,然后经Hardy-Weinberg遗传平衡定律检验。各基因频率采用χ^2或有关校正法检验。

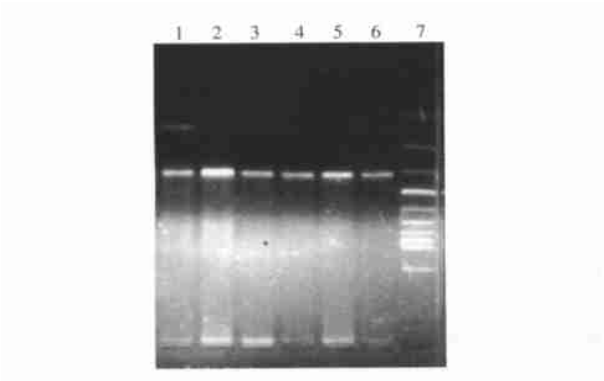
2 结果

2.1 IL-1Ra基因多态性在重庆正常人群中的分布

PCR扩增产物电泳出现2种DNA片段,410 bp的4次重复片段(A1)和240 bp的2次重复片段(A2),构成IL-1Ra基因2种基因型。仅有410 bp带型的为A1/A1型,均有410 bp和240 bp带型的为A1/A2型,未见仅有240 bp带型的A2/A2型,见图1。

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目("973"项目)(G1999054200)
作者简介:刘 兴(1968-),男,重庆市人,硕士研究生,主管检验师,现在重庆市急救医疗中心检验科,重庆 400014。电话:(023)63874000-2207
收稿日期:2001-03-13;修回日期:2001-05-20

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net



Line 1: A1/A2 genotype; Line 2~6: A1/A1 genotype; Line 7: PCR Marker

图 1　VNTR 多态 PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳结果(EB 染色)

Fig 1　Agarose gel electrophoresis results of VNTR polymorphism(EB staining)

正常人群 IL-1Ra 基因型及等位基因频率符合 Hardy-Weinberg 平衡($\chi^2=0.419$, $P>0.05$), 表明基因频率已达遗传平衡, 具有群体代表性。中国重庆地区正常人群以 IL-1RaA1 等位基因频率最高, IL-1RaA2 等位基因次之, IL-1RaA1/A1、A1/A2、A2/A2 基因型分别为 0.83、0.17、0. 见表 1。

表 1　正常人群 **IL-1Ra** 基因型及等位基因频率分布

Tab 1　Genotype and allelic frecquency of IL-1Ra distributions in healthy

	n	Genotypes		Allelic Frequencies	
		A1/A1	A1/A2	A1	A2
Healthy controls	112	0.83(93)	0.17(19)	0.92(205)	0.08(19)

2.2　不同种族间 IL-1Ra 基因多态性分布的比较

与德、美等西欧国家人种及非洲白人相比, 重庆地区汉族人 IL-1RaA1 等位基因频率明显高, IL-1RaA2 等位基因频率明显低, 而与非洲黑人相近[3~5]。重庆地区汉族人 IL-1A1 等位基因频率明显低于日本人, 而 IL-1RaA2 等位基因频率明显高[6], 见表 2。

表 2　不同种族间 **IL-1Ra** 基因不同基因型的比较

Tab 2　Genotype of IL-1Ra gene among the different country

	Genotype	
	A1	A2
Chinese(Han people)	0.92	0.08
American	0.75	0.25
Germany	0.76	0.24
White African	0.74	0.27
Black African	0.90	0.10
Japanese	0.98	0.02

3　讨论

IL-1 生物学活性十分广泛, 参与介导炎症反应、免疫调节、调节机体代谢。由于 IL-1Ra 在结构上与 IL-1α、IL-1β 相似, 可与 IL-1 分子竞争细胞表面 IL-1 受体, 作为一种炎症的内源性调节因子在许多 IL-1 介导的疾病中起关键性作用。有报道认为, 血浆 IL-1Ra 浓度降低时, 其对前炎症介质的拮抗作用下降, 相对地引起组织中和循环中前炎症介质活性增高, 从而改变了疾病的易感性[7,8]。

虽然有报道认为 IL-1Ra 基因 VNTR 多态性存在 5 种不同的重复组合, 但是, 在我们所观察的人群中仅表现出两种, 其中以 IL-1RaA1 等位基因频率最高, IL-1RaA2 等位基因次之, 表明其它等位基因在正常人群中的发生频率较低。与国外比较发现, IL-1Ra 基因多态性在中国人和德、美等西欧国家正常人群及非洲白人中的分布存在着明显的差异, 而与非洲黑人的相似。我们的结果表明, 中国人 IL-1RaA1 等位基因及 IL-1RaA1 纯合子基因型的发生频率均明显高于西欧国家及非洲白人, 而 IL-1RaA2 则明显要低。与日本比较, 该现象正好相反。这种差异会对 IL-1Ra 在一些疾病发生发展中的作用造成一定的影响。Tarlow 等研究发现, 构成 IL-1Ra VNTR 多态性的 86bp 重复单位含有转录因子结合序列, 该重复序列有 3 种蛋白结合位点: 一个 IFN-α 沉默子 A, 一个 IFN-β 沉默子 B 及一个急性时相反应元件。进一步研究发现, 基因增强子活性与该序列的重复次数有关。病毒感染的小鼠模型证实, 该 IFN 反应基因还可影响其它细胞因子的产生。Danis 等[9] 用 GM-CSF 刺激不同遗传型的单核细胞发现, IL-1RaA2 型的单核细胞 IL-1Ra 产生较多。由于很多疾病的发病率在不同种族间存在着明显的差异, 因此, 在对一些致病基因多态性进行研究时, 首先了解其在人群中的分布特点是正确分析和阐述基因多态性研究结果的关键。上述结果为从基因水平上研究 IL-1Ra 基因多态性与疾病的关系奠定了基础。

参考文献:

[1] 金冬雁 译. 分子克隆实验指南[M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 1999. 463—465.

[2] Bioque G, Crusius J B A, Koutroubakis I, *et al*. Allelic polymorphism in IL-β and IL-1 receptor antagonist(IL-1Ra) genes in inflammatory bowel disease[J]. Clin Exp Immunol, 1995, 102(2): 379—383.

[3] Cuddlhy R M, Bahn R S. Lack of an association between alleles of interleukin-1 alpha and interleukin-1 receptor antagonist genes and Graves' disease in a North American Caucasian population[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1996, 81(12): 4 476—4 478.

[4] Fang X M, Schroder S, Hoeft A, *et al*. Comparison of two polymorphisms of the interliukin-1 gene family: Interleukin—1 receptor antagonist polymorphism contributes to susceptibility to severe sepsis[J]. Crit Care Med, 1999, 27(7): 1 330—1 334.

[5] Pillay V, Caillard M C, Halkas A, *et al*. Differences in the genotypes and plasma concentrations of the INTERLEUKIN-1 receptor antagonist in black and white South African asthmatics and control subjects[J]. Cytokine, 2000, 12(6): 819—821.

[6] Takamatsn M, Yamanchi M, Maezawa Y, *et al*. Correlation of a polymorphism in the interleukin-1 receptor antagonist gene with hepatic fibrosis in Japanese alcoholics[J]. Alcohol Clin Exp Res, 1998, 22(3 Suppl 1): 141S—144S.

[7] Arend W P, Malyak M, Guthridge C J, *et al*. Interleukin 1 receptor antagonst: role in biology[J]. Annu Rev Immunol, 1998, 16(1): 27—55.

[8] Son K, Tomita Y, Shimizu T, *et al*. Abnormal IL-1 receptor antagonist production in patients with polymyositis and dermatomyositis[J]. Intern Med, 2000, 39(2): 128—135.

[9] Danis V A, Millington M, Hyland V J, *et al*. Cytokine production by normal human moncytes: inter-subject variation and relationship to an IL-1 receptor antagonist (IL-1Ra) gene polymorphism[J]. Clin Exp Immunol, 1995, 99(2): 303—10.

(编辑　汪勤俭)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net