

· 临床研究 ·

[文章编号] 1007-3949(2017)25-09-0904-05

遵义汉族白细胞介素6基因-572C/G多态与 混合型高脂血症的相关性

吕纯莉¹, 张志敏², 耿争光³, 杨昌伟⁴, 肖代敏¹(1.遵义医学院附属医院检验科, 2.遵义医学院医学遗传学教研室,
3.遵义医学院2012级临床医学专业, 4.遵义医学院2010级检验系, 贵州省遵义市563099)

[关键词] 白细胞介素6基因; -572C/G多态; 混合型高脂血症; 遵义汉族

[摘要] 目的 探讨白细胞介素6(IL-6)基因-572C/G多态与遵义汉族混合型高脂血症的相关性。方法 用聚合酶链反应产物直接测序分析100例混合型高脂血症患者和100例正常对照者IL-6基因-572C/G多态性。结果 混合型高脂血症组和正常对照组年龄、性别、血糖差异无统计学意义($P>0.05$), 混合型高脂血症组血脂指标明显高于正常对照组($P<0.05$); IL-6基因-572C/G基因型频率和等位基因频率在混合型高脂血症组与正常对照组间差异无统计学意义($P>0.05$); 总胆固醇(TC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、甘油三酯(TG)/高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和TC/HDL-C值在正常对照组内CC与CG+GG基因型个体间差异具有统计学意义($P<0.05$); 两组内其他血脂指标无统计学差异($P>0.05$)。结论 IL-6基因-572C/G多态与遵义汉族人群混合型高脂血症发病不存在相关性; IL-6基因-572G等位基因不是混合型高脂血症的独立危险因素。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Association of interleukin-6 gene -572C/G polymorphism with combined hyperlipidemia of the Han Nationality in Zunyi

LV Chun-Li¹, ZHANG Zhi-Min², GENG Zheng-Guang³, YANG Chang-Wei⁴, XIAO Dai-Min¹

(1. Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 2. Medical Genetics Department, 3. Grade 2012, Department of Clinical Medicine, 4. Grade 2010, Department of Medical Laboratory, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563099, China)

[KEY WORDS] Interleukin-6 gene; -572C/G polymorphism; Combined hyperlipidemia; Zunyi Han Nationality

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the relativity of interleukin-6 gene-572C/G polymorphism with combined hyperlipidemia in Zunyi Han Nationality. **Methods** -572C/G polymorphism of 100 combined hyperlipidemia patients and 100 healthy individuals were tested by sequencing after polymerase chain reaction. **Results** Age, gender and blood sugar had no statistical differences between patients group and normal group, but blood lipid index of combined hyperlipidemia patients was higher than healthy individuals($P<0.05$). The genotype frequency and allele gene frequency of IL-6 gene -572C/G showed no correlation between patients group and normal groups ($P>0.05$). Total cholesterol (TC), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), triglyceride (TG)/high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and TC/HDL-C were different between CC and CG+GG genotype in the normal group($P<0.05$); others had no differences among the two groups. **Conclusion** There was no relativity between IL-6 gene -572C/G polymorphism and combined hyperlipidemia in Zunyi Han Nationality. The -572G gene was not an independent risk factor for combined hyperlipidemia.

高脂血症(hyperlipidemia)是由遗传因素和环境因素共同作用产生的全身性疾病,临床上根据静脉血

生物化学检验结果进一步分为混合型高脂血症(combined hyperlipidemia)、高甘油三酯血症(hypertriglyc-

[收稿日期] 2017-08-09

[修回日期] 2017-09-06

[基金项目] 贵州省科技厅项目(黔科合J字LKZ[2012]39号);遵义医学院大学生创新创业训练计划项目(院发[2014]5828)

[作者简介] 吕纯莉,主管技师,研究方向为临床分子生物学检验。通讯作者肖代敏,硕士,副教授,研究方向为临床分子生物学检验,E-mail为372422022@qq.com。

eridemia, HTG)、高胆固醇血症(hyper total cholesterol-emia, HTC)及低高密度脂蛋白血症(low high density lipoprotein hyperlipidemia)^[1-2]。其中,混合型高脂血症是指个体血液中甘油三酯(triglyceride, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)均高于正常水平^[3]。已发现很多脂代谢相关基因多态,如白细胞介素 6(interleukin 6, IL-6)等可引起机体血脂异常^[4-7]。其中,IL-6 是在机体防御等过程中发挥重要作用的多效细胞因子。研究表明 IL-6 在脑梗死早期表达增高,是脑梗死的独立损害因子^[8]。IL-6 基因启动子区存在-174G/C、-572C/G、-597G/A、-634C/G 等位点多态,与高血压、冠心病、糖尿病和高脂血症等多种疾病相关^[9-12]。但是-572C/G 位点与贵州省汉族高脂血症人群的相关性研究未见报道。课题组拟探讨 IL-6 基因多态与遵义人群高脂血症各亚型的相关性,本文将探讨 IL-6 基因-572C/G 位点多态与遵义汉族人群混合型高脂血症的关系,为混合型高脂血症的发病机制研究提供科学依据。

1 对象和方法

1.1 研究对象

2014 年 3 月至 8 月从遵义医学院附属医院检验科收集遵义籍汉族混合型高脂血症患者 EDTA 血样 100 例(男性 79 例,女性 21 例),年龄 25~81 岁,平均(47.23±11.97)岁[男性(45.09±11.29)岁;女性(55.29±11.23)岁],彼此无血缘关系;遵义籍汉族正常对照人群血样 100 例,为本院同一时期健康体检者,其中男性 75 例,女性 25 例,年龄 23~74 岁,平均 50.12±12.70 岁[男性(49.77±13.17)岁;女性(51.16±11.32)岁],互相无血缘关系,血脂、血糖水平正常,没有心脑血管疾病家族史。混合型高脂血症诊断以《中国成人血脂异常防治指南(2007 年)》(以下简称“指南”)为准^[1]。排除肾脏疾病、糖尿病、甲状腺功能减退、多囊卵巢综合症等,排除服用可引起继发性高脂血症的药物,注明是否激发其他心血管疾病。研究得到医院伦理委员会认可,所有参与研究的对象均签署《高脂血症调查知情同意书》。

1.2 主要试剂

DNA 提取试剂盒, Dream Taq Green PCR Master Mix(2*),北京英俊生物工程公司完成测序。

1.3 血样收集与血脂测定

EDTA 抗凝管采集受试者空腹静脉血 5 mL,在 Abbott 全自动生化分析仪上完成血脂和血糖测定。参照《指南》选出符合实验要求的受试者,并将剩余

血样(≥2 mL)放置于-20℃。

1.4 DNA 提取

用试剂盒完成血液基因组 DNA 提取,-20℃保存备用。

1.5 PCR 扩增

上游引物 5'-GGA GAC GCC TPG AAG TAA CTG C-3'(22 bp),下游引物 5'-GAG TTT CCT CTG ACT CCA TCG CAG-3'(24 bp),扩增产物长 163 bp^[9]。30 μL 反应体系:2×Mix 15 μL,上、下游引物(10 μmol/L)各 1 μL,模板 DNA 2 μL,无菌去离子水补足总体积至 30 μL。反应条件:95℃预变性 5 min,95℃变性 30 s,57℃退火 30 s,72℃延伸 45 s,循环 35 次后 72℃延伸 10 min。2%琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果;北京英俊生物工程公司测序。

1.6 统计学分析

用 SPSS17.0 软件完成。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 Hardy-Weinberg 平衡检验样本群体代表性, χ^2 检验分析组间等位基因频率与基因型频率差异;不同基因型与血脂的关系采用 *t* 检验或 Wilcoxon 秩和检验法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床资料

正常对照组与混合型高脂血症组在年龄、性别、血糖等方面差异无统计学意义($P > 0.05$),混合型高脂血症组的血脂指标[TG、TC、高密度脂蛋白胆固醇(HDLC)、低密度脂蛋白胆固醇(LDLC)、TG/HDLC、TC/HDLC、LDLC/HDLC]明显高于正常对照组($P < 0.05$;表 1)。

表 1. 正常对照组与混合型高脂血症组临床资料比较($\bar{x} \pm s$)
Table 1. Comparison of clinical data between combined hyperlipidemia group and normal group($\bar{x} \pm s$)

分 组	正常对照组 (<i>n</i> = 100)	混合型高脂 血症组(<i>n</i> = 100)	<i>P</i> 值
年龄(岁)	50.12±12.70	47.23±11.97	0.099
男/女(例)	75/25	79/21	0.502
TG(mmol/L)	1.10±0.29	3.56±2.47	<0.001
TC(mmol/L)	4.19±0.54	5.87±0.95	<0.001
HDLC(mmol/L)	1.34±0.48	0.96±0.10	<0.001
LDLC(mmol/L)	2.40±0.57	3.84±0.42	<0.001
空腹血糖(mmol/L)	4.68±0.48	4.66±0.51	0.563
TG/HDLC	0.89±0.30	3.88±3.37	<0.001
TC/HDLC	3.37±0.79	6.21±1.45	<0.001
LDLC/HDLC	2.00±0.67	4.06±0.73	<0.001

2.2 IL-6 基因 PCR 扩增

扩增产物位于人 IL-6 基因启动子区,长163 bp。电泳检测扩增结果良好(图 1)。

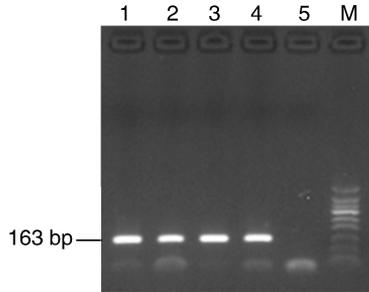


图 1. IL-6 基因启动子区 PCR 产物电泳图 M 为 DNA Marker,1、2、3、4 为 PCR 产物,5 为阴性对照。

Figure 1. Electrophoretic results of PCR product about promoter region in IL-6 gene

2.3 IL-6 基因-572C/G 位点测序

IL-6 基因-572C/G 位点为 CGC→CCC 点突变,CC 基因型正向测序结果为 GGG;CG 基因型正向测序结果为 GGG/GCG;GG 基因型正向测序结果为 GCG(图 2)。

2.4 混合型高脂血症组和正常对照组-572C/G 基因型和等位基因频率分布

Hardy-Weinberg 平衡检验显示-572C/G 位点基因型和等位基因的分布在混合型高脂血症组和正常对照组的 χ^2 值分别为 0.690 ($P=0.708$) 和 0.624 ($P=0.732$),均符合遗传平衡($P>0.05$),具有本地区代表性。

两组中-572C/G 位点基因型频率($\chi^2 = 2.172, P=0.338$)和等位基因频率($\chi^2 = 0.890, P=0.345$)的分布差异无统计学意义(表 2)。

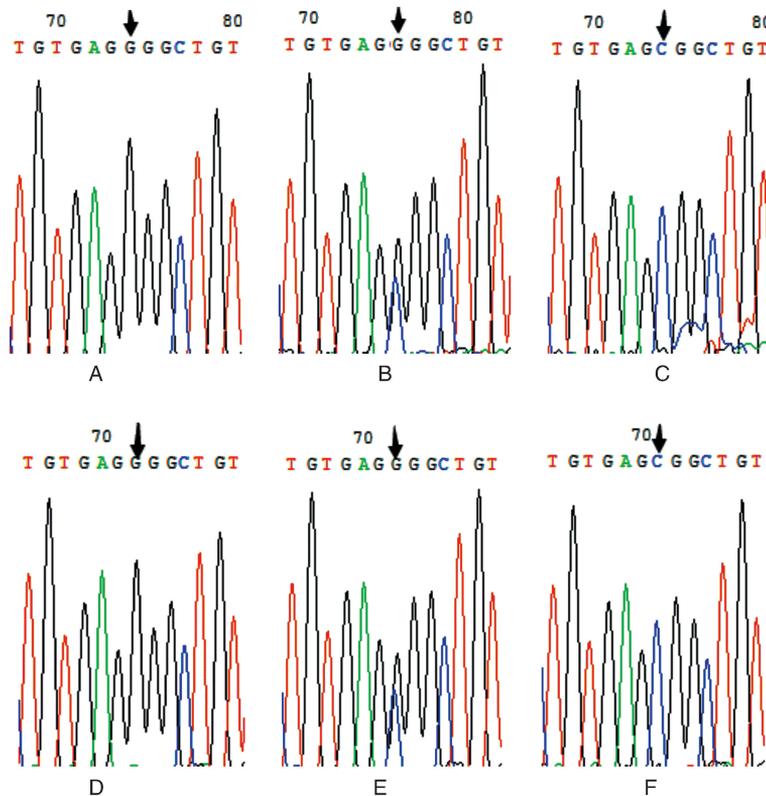


图 2. IL-6 基因-572C/G 位点测序图 A 为混合型高脂血症组 G3-01 正向测序结果示显性纯合子(CC),B 为混合型高脂血症组 G3-65 正向测序结果示杂合子(CG),C 为混合型高脂血症组 G3-78 正向测序结果示隐性纯合子(GG),D 为正常对照组 Z-02 正向测序结果示显性纯合子(CC),E 为正常对照组 Z-21 正向测序结果示杂合子(CG),F 为正常对照组 Z-116 正向测序结果示隐性纯合子(GG)。

Figure 2. The sequencing results of -572C/G in IL-6 gene

2.5 不同基因型与血脂水平的关系

对混合型高脂血症组和正常对照组内-572C/G 位点不同基因型血脂水平进行比较,发现正常对照组内 CC 与 CG+GG 基因型个体 TC、LDLC、TG/

HDLC 和 TC/HDLC 水平差异有统计学意义($P < 0.05$);正常对照组内其他血脂指标及混合型高脂血症组内各项血脂指标差异均无统计学意义($P > 0.05$;表 3)。

表 2. 混合型高脂血症组与正常对照组 IL-6 基因-572C/G 位点多态情况

Table 2. Comparison of polymorphism about -572C/G in IL-6 gene of combined hyperlipidemia group and normal group

分 组	n	基因型[例(%)]			等位基因频率	
		CC	CG	GG	C	G
正常对照组	100	54(54)	41(41)	5(5)	0.745	0.255
混合型高脂血症组	100	63(63)	31(31)	6(6)	0.785	0.215
χ^2			2.172		0.890	
P 值			0.338		0.345	

表 3. 混合型高脂血症组和正常对照组-572C/G 不同基因型间血脂水平比较($\bar{x}\pm s$)Table 3. Comparison of blood lipid level of different genotype about -572C/G in combined hyperlipidemia group and normal group($\bar{x}\pm s$)

血脂指标	正常对照组(n=100)			混合型高脂血症组(n=100)		
	CC 基因型	CG+GG 基因型	P	CC 基因型	CG+GG 基因型	P
TG(mmol/L)	1.06±0.28	1.15±0.30	0.139	3.69±2.72	3.35±2.01	0.762
TC(mmol/L)	4.08±0.56	4.33±0.49	0.008	5.92±1.13	5.78±0.51	0.960
LDLC(mmol/L)	2.29±0.59	2.52±0.53	0.030	3.86±0.44	3.82±0.40	0.997
HDLC(mmol/L)	1.39±0.57	1.27±0.34	0.763	0.95±0.11	0.98±0.09	0.518
TG/HDLC	0.83±0.27	0.96±0.31	0.031	4.11±3.90	3.47±2.19	0.915
TC/HDLC	3.22±0.83	3.55±0.70	0.041	6.36±1.72	5.95±0.75	0.436
LDLC/HDLC	1.90±0.72	2.12±0.60	0.116	4.13±0.80	3.93±0.57	0.424

近年有研究提出单项血脂指标(TC、TG、HDLC 和 LDLC)受饮食影响波动较大,但 TC/HDLC 比值和 LDLC/HDLC 比值受饮食中胆固醇含量的影响较小,比单相血脂检测更具临床意义^[17-20]。本文对 100 例混合型高脂血症患者及 100 例正常对照者的 IL-6 基因-572C/G 多态研究发现,两组中 IL-6 基因-572C/G 基因型和等位基因频率的分布差异无统计学意义($P=0.338$ 和 $P=0.345$)。正常对照组内 CC 基因型的 TC、LDLC、TG/HDLC 和 TC/HDLC 水平均低于 CG+GG 基因型个体,差异具有统计学意义($P<0.05$),其中 CG+GG 基因型个体的 TC 值与 CC 纯合子个体相比具有极显著差异($P<0.01$),其余各指标在两组中 CG+GG 基因型个体均高于 CC 纯合子个体,但差异无统计学意义($P>0.05$),可能与人种、地区差异或该基因位点存在强烈的连锁不平衡等因素有关。

本研究初步显示,在遵义汉族中 IL-6 基因-572C/G 多态与混合型高脂血症之间不存在相关性;但是正常人群中-572G 等位基因携带者的 TC、LDLC、TG/HDLC 和 TC/HDLC 水平明显高于 CC 基因型个体;-572G 等位基因可能可以引起个体血脂水平异常。

检测各基因位点有助于了解高脂血症的病因

3 讨 论

一些脂类代谢相关基因多态是影响机体血脂水平的重要因素,如 IL-6 基因、ApoA5 基因、LDLR 基因等^[4-7]。IL-6 是炎症反应中的一种重要细胞因子^[9,13]。近年来很多研究表明 IL-6 基因启动子区的多态与多种疾病相关^[8-12],其中启动子区的-572C/G 多态与巴基斯坦人寻常性痤疮^[14]、阿尔茨海默氏症^[15]和手足口病^[16]等有相关性。

学特征,为心脑血管疾病的防治给予一定的思路和指导,虽然该位点多态性与遵义人群混合型高脂血症无相关性,但是该位点存在种族或地域差异,需要更大样本及跨种族跨地域的调查与研究来证实。

混合型高脂血症的病因十分复杂,本次研究仅对 IL-6 基因-572C/G 位点多态性与混合型高脂血症的关系进行探讨,期待能够对遵义地区汉族人群 IL-6 基因-572C/G 位点基因型与混合型高脂血症的关系有一个初步了解和认识,并且为日后检测和预防混合型高脂血症的发生提供新思路 and 理论依据。

[参考文献]

- [1] 中国成人血脂异常防治指南制订联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南[J]. 中华心血管病杂志, 2007, 35(5): 390-419.
- [2] 张沛然, 郭改会. 高脂血症的发病机制及分类[J]. 中国临床医生杂志, 2012, 40(3): 18-20.
- [3] 郭艺芳. 2014 年中国胆固醇教育计划血脂异常防治专家建议[J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(3): 3-5.
- [4] 何美霞, 张明明, 刘琼, 等. 白细胞介素-6 基因多态性与高脂血症的相关性[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(1): 23-25.
- [5] Yan D, Zhu M A, Zhi X W, et al. Associations of poly-

- morphisms in the apolipoprotein APOA1-C3-A5 gene cluster with acute coronary syndrome [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012(1): 1-5.
- [6] 肖代敏, 耿争光, 杨昌伟, 等. 遵义汉族人群载脂蛋白 A5 基因多态性与高胆固醇血症的关系 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(5): 485-489.
- [7] Xu Jiao-xia, Xiang Hui, Xiong Wen, et al. The study on the correlation of the low density lipoprotein receptor gene polymorphism with essential hypertension [J]. *Guide Chin Med*, 2013, 32: 5-6.
- [8] 刘东芳, 张宝琴, 张振宇, 等. 唐山地区汉族人群急性脑梗死患者 IL-6 基因-174G/C 和-572C/G 多态性 [J]. *中国老年学杂志*, 2012, 32(23): 125-126.
- [9] 梁振洋, 张笑林, 孙莹, 等. 北方汉族人群白细胞介素-6 基因-572C/G 单核苷酸多态性与冠心病的相关性研究 [J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(24): 675-678.
- [10] 陈丹, 张葵, 魏红霞, 等. IL-6 基因-572C/G 多态性与江苏宿迁地区汉族人群冠心病的关系 [J]. *临床检验杂志*, 2016, 34(5): 366-370.
- [11] 赵卫新, 苏国生. 白细胞介素 6 在心脑血管疾病中的临床应用新进展 [J]. *中国实用医药*, 2012, 7(15): 244-245.
- [12] 张玉领, 陈培, 王季茹, 等. 白介素 6 基因多态性与 2 型糖尿病相关性的 Meta 分析 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2014, 22(1): 16-20.
- [13] 何美霞, 张明明, 刘琼, 等. 白细胞介素-6 基因多态性与高脂血症的相关性 [J]. *中国老年学杂志*, 2011, 31(1): 23-25.
- [14] Younis S, Javed Q. The interleukin-6 and interleukin-1A gene promoter polymorphism is associated with the pathogenesis of acne vulgaris [J]. *Arch Dermatol Res*, 2015, 307: 365-370.
- [15] Wang M, Jia J. The interleukin-6 gene -572C/G promoter polymorphism modifies Alzheimer's risk in APOE ϵ 4 carriers [J]. *Neuroscience Letters*, 2010, 482(3): 260-263.
- [16] Yuan A, Li J, Liu P, et al. Association of interleukin-6 -572C/G gene polymorphism and serum or cerebrospinal fluid interleukin-6 level with enterovirus 71 encephalitis in Chinese Han patients with hand, foot, and mouth disease [J]. *Inflammation*, 2015, 38(2): 728-735.
- [17] Greene C M, Zern T L, Wood R J, et al. Maintenance of the LDL cholesterol: HDL cholesterol ratio in an elderly population given a dietary cholesterol challenge [J]. *J Nutr*, 2005, 135(12): 793-798.
- [18] Elshazly MB, Quispe R, Michos ED, et al. Patient-level discordance in population percentiles of the TC/HDL-C ratio compared with LDL-C and Non-HDL-C; the Very Large Database of Lipids Study (VLDL-2B) [J]. *Circulation*, 2015, 132(8): 667-676.
- [19] 李莹, 陈志红, 周北凡, 等. 我国中年人群血清 TC/HDL-C 比值与缺血性和出血性卒中发病危险性 [J]. *中华神经科杂志*, 2005, 38(5): 305-308.
- [20] 李明春, 初少莉, 左君丽, 等. LDL-C/HDL-C 与冠状动脉病变程度的相关性研究 [J]. *第二军医大学学报*, 2014, 35(3): 270-273.
- (此文编辑 许雪梅)