

# IL-17A 基因启动子多态性与西北地区汉族人群 冠心病的相关性研究

李万静<sup>1</sup>, 普彦淞<sup>2</sup>, 段宗明<sup>1</sup>, 张明娟<sup>1</sup>

1. 西安交通大学第二附属医院心血管内科, 陕西 西安 710004;

2. 陕西省人民医院, 陕西 西安 710068

**摘要:** **目的** 探讨白细胞介素(IL)-17A 基因启动子区域 rs2275913 和 rs8193036 基因多态性与中国西北地区汉族人群冠状动脉粥样硬化性心脏病(冠心病)的发病易感性。**方法** 选取 2012 年 10 月至 2015 年 8 月收治的 113 例冠心病患者为冠心病组, 36 例健康体检者为对照组。以酶联免疫吸附(Elisa)法检测外周血血浆 IL-17A 浓度。用限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP)检测 IL-17A 基因启动子区域 rs2275913 和 rs8193036 的基因多态性。**结果** 与对照组相比, 冠心病组外周血 IL-17A 浓度显著升高[(39.97 ± 9.09) pg/ml vs (27.88 ± 6.68) pg/ml,  $P < 0.01$ ]; IL-17A 启动子位点 rs2275913 基因型 AA、AG、GG 分布和等位基因频率无明显差异( $P$  均  $> 0.05$ ); 启动子位点 rs8193036 基因型 CC、CT、TT 分布和等位基因频率差异有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ ), 且冠心病组 C 等位基因频率显著高于对照组( $P < 0.05$ )。**结论** IL-17 启动子位点 rs8193036 基因多态性可能与冠状动脉粥样硬化的发生有关, 且 rs8193036 位点 C 等位基因携带者更容易患冠心病。

**关键词:** 冠状动脉粥样硬化性心脏病; 白细胞介素-17A; 启动子; 基因多态性

**中图分类号:** R 541.4 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2016)12-1654-03

冠状动脉粥样硬化性心脏病(coronary atherosclerotic heart disease, 冠心病)是一种常见病和多发病, 也是世界上最常见的死亡原因之一。在欧美国家极为常见, 在美国占人口死亡数的 1/3 ~ 1/2, 占心血管疾病死亡数的 50% ~ 70%<sup>[1-2]</sup>。我国每年死于冠心病的人数超过 100 万<sup>[3]</sup>。冠心病是一种由多因素共同作用引起的慢性炎症性疾病, 冠状动脉粥样硬化是冠心病的主要病理特征之一。动脉粥样硬化的炎症反应表现为炎症细胞浸润、血管内皮功能障碍、血管平滑肌细胞增生及表型改变等。大量证据表明, CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞是参与动脉粥样硬化的主要细胞<sup>[4]</sup>。辅助性 T 淋巴细胞(Th)17 是 CD4<sup>+</sup>T 辅助淋巴细胞(CD4<sup>+</sup>Th 细胞)的亚群, 白细胞介素(IL)-17 是由 Th17 细胞分泌的特征性细胞因子。近年来大量研究发现, 除了经典的 Th1 和 Th2 细胞分泌的细胞因子外, 炎症因子 IL-17A 也参与了动脉粥样硬化的病理进程<sup>[5]</sup>。IL-17 和分泌 IL-17 的 T 细胞在动脉粥样硬化中的作用已经成为近期研究的热点。Eid 等<sup>[6]</sup>在对心脏移植或尸体器官捐赠来源冠状动脉的研究中发现, 与健康对照相比, 冠心病患者的冠状动脉中有大量分泌 IL-17 的 T 淋巴细胞聚集。冠心病

患者血清中 IL-17 的水平也显著高于健康人群。Taleb 等<sup>[7]</sup>发现分泌 IL-17 的 T 细胞在野生型小鼠冠状动脉的中膜和早期斑块附近聚集, 且在巨噬细胞、平滑肌细胞和纤维组织中含量较高。已有大量研究发现, IL-17 基因多态性与炎症性肠病<sup>[8]</sup>、慢性萎缩性胃炎<sup>[9]</sup>、侵袭性牙周炎<sup>[10]</sup>等炎症疾病存在一定的关联, 但 IL-17 基因多态性与冠心病的关系仍不清楚。本研究选取来我院住院治疗的 113 例冠心病患者, 通过设置实验组与对照组, 利用 Elisa 法检测血浆 IL-17A 水平, 通过限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP)检测 IL-17A 基因启动子区域 rs2275913 和 rs8193036 的基因多态性, 观察 IL-17 基因启动子遗传多样性与中国西北地区汉族人群冠心病的相关性, 以期开展有针对性的人群预防及个体化治疗、延缓或防止冠心病的发生发展提供参考。

## 1 资料与方法

**1.1 临床资料** 随机选择 2012 年 10 月至 2015 年 8 月期间西安交通大学第二附属医院收治的冠心病患者 113 例为冠心病组, 其中男性 73 例, 女性 40 例; 年龄 33 ~ 80(58.3 ± 12.0) 岁。诊断符合世界卫生组织(WHO)1999 年的诊断标准, 并经冠状动脉造影检测证实, 以至少有 1 支主要的冠状动脉血管狭窄  $\geq 50\%$  为有意义病变。对照组选取在体检中心进行体检的

健康人群 36 例,其中男性 21 例,女性 15 例;年龄 28~76(54.1 ± 14.6)岁;无冠心病史,无其他急慢性炎症及免疫疾病。所有入选对象均为在我国西北地区居住的汉族。

1.2 方法 用 EDTA-K2 抗凝真空管收集两组对象空腹静脉血 5 ml。吸取 2 ml 抗凝血,2 000 rpm/min 离心 15 min,分离血浆,-70 °C 储存备用。用 Elisa 法检测血浆 IL-17 水平,所用试剂盒购于 eBioscience,根据说明书操作,用 Biotek 酶标仪检测。用全血基因组 DNA 抽提试剂盒(上海生工)提取全血基因组 DNA,-20 °C 储存备用。用 PCR-RFLP 检测 IL-17A 基因启动子 rs2275913 和 rs8193036 位点多态性。rs2275913 引物:上游 5'-GGG GTG ACA CCA TTT TGG TTA-3',下游 5'-ATG AAT TTC TGC CCT TCC CA-3';rs8193036 引物:上游 5'-CGC TAA CTC CTT CTC TCT TTC C-3',下游:5'-CTG CAT GCT ACC AAG CAA CT-3'。参照 Takara 高保真性聚合酶链反应说明书进行 PCR 扩增,扩增产物经酶切后,在 3% 琼脂糖凝胶上电泳分离,EB 染色,用紫外凝胶成像系统判定结果。

1.3 统计学方法 利用统计学软件 SPSS 17.0 进行数据处理和分析。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用 *t* 检验;计数资料用率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 冠心病组与对照组一般资料的对比 经冠状动脉造影结果确诊冠心病患者 113 例,正常对照组 36 例。两组性别、年龄及糖尿病史差异无统计学意义

表 2 IL-17A 启动子 rs2275913 位点的基因型和等位基因频率分布比较 例(%)

分组	例数	基因型			等位基因		OR(95% CI)
		AA	AG	GG	A	G	
冠心病组	113	20(17.7)	56(49.6)	37(32.7)	96(42.5)	130(57.5)	0.872(0.512 ~ 1.488)
对照组	36	9(25.0)	15(41.7)	12(33.3)	33(45.8)	39(54.2)	
<i>P</i> 值		>0.05			>0.05		

表 3 IL-17A 启动子 rs8193036 位点的基因型和等位基因频率分布比较 例(%)

分组	例数	基因型			等位基因		OR(95% CI)
		CC	CT	TT	C	T	
冠心病组	113	65(57.5)	37(32.7)	11(9.8)	167(73.9)	59(26.1)	2.140(1.231 ~ 3.721)
对照组	36	15(41.7)	11(30.5)	10(27.8)	41(56.9)	31(43.1)	
<i>P</i> 值		<0.05			<0.05		

## 3 讨论

冠心病是一个复杂的多因素和多基因共同导致的以炎症反应损伤为主要特征的血管性疾病。炎症可导致血管内皮损伤、影响脂质代谢、促进脂质沉积,

( $P$  均  $> 0.05$ );冠心病组体质量指数(BMI)、高血压病史、吸烟史、TC、TG、LDL-C、HDL-C 均明显高于对照组( $P$  均  $< 0.05$ )。如表 1 所示。

2.2 冠心病组与对照组外周血 IL-17A 水平的比较 与对照组相比,冠心病组患者外周血 IL-17A 浓度显著增高[(39.97 ± 9.09) pg/ml vs (27.88 ± 6.68) pg/ml, $P < 0.01$ ]。

2.3 冠心病组与对照组 IL-17 基因启动子多态性的比较 冠心病组与对照组基因型和等位基因频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。IL-17 基因核苷酸多态位点的基因型频率都达到遗传平衡,具有群体代表性。Logistic 回归校正性别、年龄、BMI、高血压、高脂血症、糖尿病等因素后,冠心病组与对照组相比,IL-17A 启动子 rs2275913 位点基因型 AA、AG、GG 分布和等位基因频率无明显差异( $P$  均  $> 0.05$ ),见表 2;rs8193036 位点基因型 CC、CT、TT 分布差异有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ ),且冠心病组 C 等位基因频率显著高于对照组( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 1 冠心病组与对照组基本资料比较

指标	冠心病组( $n=113$ )	对照组( $n=36$ )	<i>P</i> 值
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	58.3 ± 12.0	54.1 ± 14.6	>0.05
男/女(例)	73/40	21/15	>0.05
吸烟史[例(%)]	55(48.6)	14(38.8)	<0.05
高血压[例(%)]	72(63.7)	15(41.6)	<0.05
糖尿病[例(%)]	27(23.8)	8(22.2)	>0.05
BMI(kg/m <sup>2</sup> , $\bar{x} \pm s$ )	27.7 ± 4.5	22.7 ± 4.3	<0.05
TG(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	3.1 ± 2.1	2.1 ± 1.2	<0.05
TC(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	4.5 ± 1.3	4.10 ± 1.1	<0.05
LDL-C(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	2.8 ± 0.1	2.3 ± 0.7	<0.05
HDL-C(mmol/L, $\bar{x} \pm s$ )	1.5 ± 0.4	1.0 ± 0.2	<0.05

血管局部长期的慢性炎症是动脉粥样硬化形成的主要原因。IL-17 是主要由 Th17 细胞分泌的炎症因子。大量研究已证实,冠心病患者外周血 IL-17A 浓度高于正常人,且与冠状动脉粥样硬化形成密切相关<sup>[5,11-12]</sup>。本研究也发现冠心病患者外周血 IL-17A

浓度显著高于正常对照组。IL-17A 能活化巨噬细胞,促进其合成和分泌基质金属蛋白酶,增加粥样斑块的不稳定性,导致斑块破裂。此外,它能促进多种细胞因子的合成和分泌,例如肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、IL-6、IL-8、IL-1 $\beta$ 、细胞间黏附因子、单核细胞趋化因子 1 等,这些炎症因子能招募单核、巨噬细胞到血管部位聚集,参与冠状动脉粥样硬化的病变过程。

诸多研究表明 IL-17 基因启动子多态性与类风湿性关节炎、炎症性肠病、胃癌等疾病的发生密切相关<sup>[13]</sup>。Vargas-Alarcón 等<sup>[14]</sup>发现 IL-17A 基因启动子多态性与墨西哥人冠心病的发生密切相关。本研究结果显示,来自中国西北地区汉族人群冠心病组与对照组相比 IL-17 位点 rs8193036 基因型 CC、CT、TT 分布差异有统计学意义,且 C 等位基因携带者患冠心病的风险更高;而 rs2275913 基因型 AA、AG、GG 分布频率差异无统计学意义。提示 IL-17 启动子 rs8193036 基因多态性可能与冠状动脉粥样硬化形成有关。有研究发现,IL-17 基因启动子 rs8193036 位点多态性与向心性肥胖、代谢综合征、高甘油三酯血症有关<sup>[12]</sup>。但其与中国西北地区汉族人群动脉粥样硬化形成的关系和具体机制仍不十分清楚。通过本实验可以推测 IL-17 基因启动子 rs8193036 的碱基发生突变,可能位于 IL-17 基因启动子的最保守区域,影响转录因子与 IL-17 基因启动子区的结合,影响 IL-17 的转录,进而使 IL-17A 蛋白在体内的表达发生改变,影响冠状动脉粥样硬化的形成。

总之,本研究发现中国西部地区人群 IL-17 启动子 rs8193036 基因型多态性与冠状动脉粥样硬化的发生存在一定关系。然而,冠心病是一种非常复杂的多因素诱发性疾病,此疾病的发生与患者生存环境、身体素质、遗传因素等多方面原因有关。不同地区和人群的遗传特征也存在一定差异,因此 IL-17 基因启动子遗传多态性能否作为中国西北部地区冠心病发生的分子遗传学标志,还有待进一步实施更大样本的研究来证实。

## 参考文献

[1] Global Burden of Disease Study 2013 Collaborators. Global, region-

al, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013; a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 [J]. *Lancet*, 2015, 386(9995):743–800.

- [2] Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010; a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. *Lancet*, 2012, 380(9859):2095–2128.
- [3] 陈伟伟,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2014》概要 [J]. *中国循环杂志*, 2015, 30(7):617–622.
- [4] Li N. CD4<sup>+</sup> T cells in atherosclerosis; regulation by platelets [J]. *Thromb Haemost*, 2013, 109(6):980–990.
- [5] Taleb S, Tedgui A, Mallat Z. IL-17 and Th17 cells in atherosclerosis; subtle and contextual roles [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(2):258–264.
- [6] Eid RE, Rao DA, Zhou J, et al. Interleukin-17 and interferon-gamma are produced concomitantly by human coronary artery-infiltrating T cells and act synergistically on vascular smooth muscle cells [J]. *Circulation*, 2009, 119(10):1424–1432.
- [7] Taleb S, Romain M, Ramkhalawon B, et al. Loss of SOCS3 expression in T cells reveals a regulatory role for interleukin-17 in atherosclerosis [J]. *J Exp Med*, 2009, 206(10):2067–2077.
- [8] Zhang X, Yu P, Wang Y, et al. Genetic polymorphisms of interleukin 17A and interleukin 17F and their association with inflammatory bowel disease in a Chinese Han population [J]. *Inflamm Res*, 2013, 62(8):743–750.
- [9] 罗媛,郭红,边巍,等. IL-17 多态性与慢性萎缩性胃炎的相关性研究 [J]. *第三军医大学学报*, 2010, 32(6):525–528.
- [10] 夏鑫钰,耿莹,叶宇,等. 白细胞介素-17 基因多态性与侵袭性牙周炎的相关性研究 [J]. *口腔医学*, 2015, 35(6):417–420.
- [11] von Vietinghoff S, Ley K. Interleukin 17 in vascular inflammation [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2010, 21(6):463–469.
- [12] Yu XH, Jiang N, Zheng XL, et al. Interleukin-17A in lipid metabolism and atherosclerosis [J]. *Clin Chim Acta*, 2014, 431(3):33–39.
- [13] 李甫罡,杨满,张晓燕,等. IL-17 和 IL-17 基因多态性研究进展 [J]. *西部医学*, 2012, 24(5):1015–1018.
- [14] Vargas-Alarcón G, Angeles-Martínez J, Villarreal-Molina T, et al. Interleukin-17A gene haplotypes are associated with risk of premature coronary artery disease in Mexican patients from the Genetics of Atherosclerotic Disease (GEA) study [J]. *PLoS One*, 2015, 10(1):e0114943.

收稿日期:2016-06-27 编辑:王国品