中国临床医学
Chinese Journal of Clinical Medicine
ISSN 1008-6358
CN 31-1794/R

IL-1β基因多态性与儿童紫癜性肾炎易感性的相关性分析

屈凤祥， 常红， 林毅， 王芳， 王加兰

引用本文:
屈凤祥, 常红, 林毅, 等. IL-1β基因多态性与儿童紫癜性肾炎易感性的相关性分析[J]. 中国临床医学, 2021, 28(2): 273-277.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20202661

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

血清类黏蛋白1样蛋白3基因单核苷酸多态性与儿童肺炎支原体感染相关哮喘的相关性

Correlation between single nucleotide polymorphisms of ORMDL3 gene and mycoplasma pneumoniae-associated asthma in children

中国临床医学. 2018, 25(3): 378-382 https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2018.20170964

HBB rs35755129基因多态性与广西红水河流域长寿人群血糖血脂水平的相关性

Correlation between HBB rs 35755129 polymorphism and blood glucose and lipid levels in longevity population in Hongshui River Basin of Guangxi in China

中国临床医学. 2019, 26(6): 834-838 https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20191931

过敏性哮喘患者高迁移率族蛋白1、Th1/Th2细胞亚群及相关细胞因子表达分析

Analysis of high mobility group protein-1, Th1/Th2 cell subsets and the related cytokine expressions in patients with allergic asthma

中国临床医学. 2020, 27(5): 837-840 https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20200318

舌下含服粉尘螨滴剂对不同年龄段过敏性鼻炎患者的临床疗效评估

Clinical efficacy of sublingual dust-mite drops on allergic rhinitis patients of different ages

中国临床医学. 2020, 27(2): 269-273 https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20192093

IL-6/CTRP3对急性脑梗死出血性转化的预测价值

Prediction of hemorrhagic transformation in acute cerebral infarction by IL-6/CTRP3

中国临床医学. 2020, 27(4): 603-607 https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2020.20201494

DOI:10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20202661

·短篇论著·

IL-1β基因多态性与儿童紫癜性肾炎易感性的相关性分析

屈凤祥，常 红*，林 毅，王 芳，王加兰
青岛大学附属医院儿科，青岛 266000

引用本文 屈凤祥，常 红，林 毅，等. IL-1β基因多态性与儿童紫癜性肾炎易感性的相关性分析[J]. 中国临床医学，2021，28(2)：273-277. QU F X, CHANG H, LIN Y, et al. Association between IL-1β gene polymorphism and susceptibility to Henoch-Schönlein purpura nephritis in children[J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2021, 28(2): 273-277.

［摘要］ **目的**：探讨白细胞介素1β(IL-1β)基因单核苷酸多态性与儿童过敏性紫癜及紫癜性肾炎易感性的关系。**方法**：选择过敏性紫癜患儿174例作为病例组，将同期体检的162例健康儿童作为对照组。根据临床症状，将病例组患儿分为单纯型组、关节型组、腹型组、混合型组；根据病例组患儿在随访过程中是否合并肾脏损害分为非紫癜性肾炎组、紫癜性肾炎组。采用M-PCR法靶向捕获IL-1β基因rs1143627位点，通过高通量测序技术对所有样本进行该位点测序，并对测序数据与不同分组进行关联性分析。**结果**：rs1143627基因型及等位基因在各临床症状分组中差异无统计学意义；rs1143627基因型GG及等位基因G在病例组与对照组、非紫癜性肾炎组与紫癜性肾炎组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论**：IL-1β基因rs1143627位点多态性与儿童过敏性紫癜的发生及肾脏受累有关；等位基因G可能是儿童过敏性紫癜的易感基因，且与紫癜性肾炎的发生有关。

［关键词］ 白细胞介素1β；基因多态性；儿童；过敏性紫癜；紫癜性肾炎
［中图分类号］ R 725.5 ［文献标志码］ A

Association between IL-1β gene polymorphism and susceptibility to Henoch-Schönlein purpura nephritis in children

QU Feng-xiang, CHANG Hong*, LIN Yi, WANG Fang, WANG Jia-lan
Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266000, Shandong, China

［**Abstract**］ **Objective**: To investigate the relationship between single nucleotide polymorphism of interleukin-1β (IL-1β) gene and susceptibility to Henoch-Schönlein purpura and Henoch-Schönlein purpura nephritis in children. **Methods**: A total of 174 children with Henoch-Schönlein purpura were selected as the case group, and 162 healthy children who underwent physical examination at the same time were selected as the control group. According to their clinical symptoms, patients were divided into the simple group, joint group, abdominal group, and mixed groups. According to whether complicated with renal damage during the follow-up, patients were divided into non-nephritis group and nephritis group. The rs1143627 locus of the IL-1β gene was targeted and captured by the M-PCR method. All samples were sequenced by the high-throughput sequencing technique, and the correlations of the sequencing data and the different groups were analyzed. **Results**: There was no significant difference in rs1143627 genotype and allele among different clinical symptom groups, but there were significant differences in rs1143627 genotype GG and allele G between the case group and control group, and the non-nephritis group and nephritis group. **Conclusions**: rs1143627 gene polymorphism is associated with Henoch-Schönlein purpura and renal involvement. Allele G may be the susceptible gene of Henoch-Schönlein purpura and is related to the occurrence of Henoch-Schönle purpura nephritis in children.

［**Key Words**］ interleukin-1β; gene polymorphism; children; Henoch-Schönlein purpura; Henoch-Schönlein purpura nephritis

过敏性紫癜(Henoch-Schönlein purpura, HSP)是一种常发生于儿童的小血管炎，可导致各种临床症状，如皮肤紫癜、关节炎和(或)关节痛、腹痛和肾脏受累表现。其中，20%～55%的过敏性紫

［收稿日期］ 2020-12-21 ［接受日期］ 2021-01-14
［基金项目］ 青岛大学附属医院临床医学＋X科研项目(2019＋X017). Supported by Clinical Medicine ＋ X Research Project of Affiliated Hospital of Qingdao University (2019＋X017).
［作者简介］ 屈凤祥，硕士. E-mail:792222814@qq.com
*通信作者(Corresponding author). Tel: 0532-82919565, E-mail:18661802671@yeah.net

癜患儿会发生肾脏损害[1]，部分肾损害可进展为肾功能不全，导致患儿不良远期预后。目前，HSP 的发病率呈逐年升高趋势，但其病因和发病机制仍不清楚。

细胞因子参与维持人体免疫系统促炎和抗炎功能的动态平衡[2]。首先促炎因子促进自身免疫性炎症的启动和扩散，随后抗炎因子促进炎症消退和急性期恢复，并诱导自身抗体聚集[3]。白细胞介素-1(IL-1)是一种典型的促炎细胞因子，其中 IL-Iβ 是内皮细胞以自分泌方式表达 IL-1 的重要刺激因子。T 细胞中的 IL-1β 可诱导显著而持久的一级和二级 CD4 反应[4]。

HSP 具有家族聚集性，即遗传因素可能在其发病过程中起重要作用[5]。B 淋巴细胞多克隆活化为 HSP 特征，而 IL-1β 参与刺激 B 细胞增殖和分化，由此推测 IL-1β 功能异常可能参与 HSP 的发生。rs1143627 可能影响 IL-1β 转录因子转录调节区功能，通过降低细胞因子 IL-1Ra 的拮抗特性而影响 IL-1β 水平[6]。因此，本研究对 IL-1β 基因 rs1143627 位点的单核苷酸多态性与 HSP 及紫癜性肾炎(Henoch-Schönlein purpura nephritis, HSPN)的相关性进行探讨，以期为 HSPN 的个性化治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 1 月至 2019 年 12 月青岛大学附属医院儿科收治的 174 例 HSP 患儿作为病例组。所有患儿均符合 2006 年 EULAR/PReS 制定的儿童血管炎分类标准，至少随访 6 个月。所有参与者均通过临床和实验室检查筛查，排除免疫性血小板减少性紫癜、风湿性关节炎、败血症、其他肾脏疾病和外科急腹症等疾病。本研究方案由青岛大学附属医院伦理委员会批准，并取得家属知情同意。

1.2 诊断标准 HSP 诊断参考 EULAR/PReS 2006 年制定的儿童血管炎分类标准[7]，即可触性(必要条件)皮疹伴以下任意 1 条：(1)弥漫性腹痛；(2)任何部位活检示 IgA 沉积；(3)关节炎或关节痛；(4)肾脏受损表现[血尿和(或)蛋白尿]。HSPN 的诊断及肾脏病理分级参考中华医学会儿科学分会肾脏病学组 2009 年制定的诊治循证指南[8]：在 HSP 6 个月病程内，出现血尿和(或)蛋白尿。

1.3 分组 根据临床症状将病例组分为单纯型组(仅表现为皮肤紫癜)、关节型组(皮肤紫癜合并关节症状)、腹型组(皮肤紫癜合并消化道症状)、混合型组(皮肤紫癜合并关节症状，同时伴有消化道症状)；根据随访过程中是否发生 HSPN 分为非 HSPN 组、HSPN 组。另选择 162 名于我院体检的年龄匹配的健康儿童作为对照组。

1.4 IL-1β 基因 rs1143627 位点检测及测序

1.4.1 标本收集及 DNA 提取 清晨抽取患者空腹外周静脉血 2 mL，置于 EDTA 抗凝管中，于 −80℃冰箱保存备用。使用天根生化科技(北京)有限公司的血液基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA。

1.4.2 引物设计与合成 应用 Primer 3 软件针对目的基因全长进行特异性多重引物设计(表 1)。引物合成委托生工生物工程(上海)股份有限公司完成。

表 1 rs1143627 引物序列表

正/反链	引物序列(5'-3')	片段大小
F	TCA TAC TTG AGC AAT GAA GAT TGG	393 bp
R	GAA GCT TCC ACC AAT ACT CTT TTC	607 bp
R 反义链	GAA AAG AGT ATT GGT GGA AGC TTC	417 bp

1.4.3 多重 PCR 扩增目的基因及测序 PCR 反应扩增条件：94 ℃预变性 3 min；95 ℃变性 30 s，58 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 90 s，72 ℃延伸 5 min，共 30 个循环。将 PCR 产物进行电泳检测，采用 3%琼脂糖凝胶，PCR 产物上样 5 μL(图 1)，根据多重 PCR 重数确定稀释小试样本数，进行 qPCR 检测(图 2)。通过双端 barcode 原理区分不同样本并混样建库后，在 Illumina X-10 平台测序。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 22.0 进行统计，用 Sequencer 4.9 软件对测序结果进行分析。定量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示，连续变量资料采用 t 检验。两组间定性资料的比较采用 χ^2 检验。采用 95%置信区间(95%CI)和优势比(OR)评价 rs1143627 与各组间的相关性。

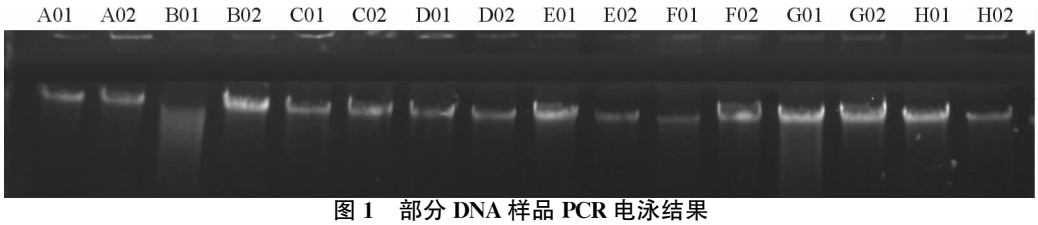

图 1　部分 DNA 样品 PCR 电泳结果

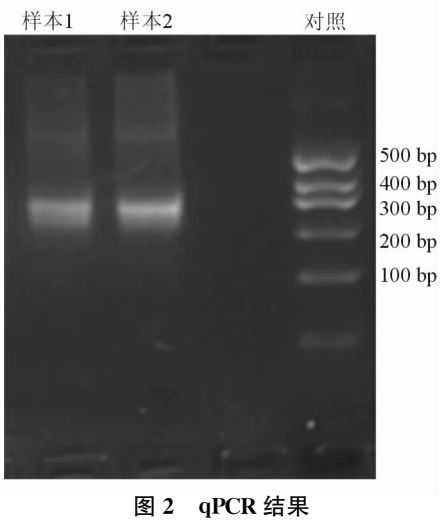

图 2　qPCR 结果

2　结　果

2.1　HSP 患儿临床病理特点　174 例 HSP 患儿中，单纯型 40 例、关节型 77 例、腹型 24 例、混合型 33 例，均在门诊接受了至少 6 个月的随访，平均随访(9.1±2.7)个月。随访结果显示 104 例 HSP 患儿完全缓解(尿检无异常，非 HSPN 组)，70 例患儿表现为持续肾脏损伤(HSPN 组)。HSPN 组 70 例患儿中孤立性血尿 28 例(40.0%)、孤立性蛋白尿 22 例(31.4%)、血尿合并蛋白尿 20 例(28.6%)。HSPN 组 70 例患儿中 12 例行肾脏穿刺活检，病理分级：Ⅰ级 2 例，Ⅱa 级 2 例，Ⅲa 级 3 例，Ⅲb 级 3 例，Ⅳa 级 1 例，Ⅳb 级 1 例。病例组与对照组、非 HSPN 组与 HSPN 组间研究对象年龄、性别差异均无统计学意义(表 2)。

表 2　病例组与对照组研究对象年龄性别比较

组别	n	平均年龄/岁	性别(男/女)
对照组	162	6.9±2.5	90/72
病例组	174	6.7±2.2	89/85
非 HSPN 组	104	6.7±3.2	58/46
HSPN 组	70	7.1±2.3	31/39

2.2　病例组与对照组 rs1143627 基因型和等位基因频率的比较　rs1143627 基因型频率与等位基因在病例组与对照组差异有统计学意义($P<0.05$，表 3)。等位基因 G(OR＝0.671，95%CI 0.494～0.911)可能是 HSP 发病的危险因素

表 3　病例组与对照组中 rs1143627 基因型和等位基因比较

n(%)

rs1143627	病例组 (n＝174)	对照组 (n＝162)	χ^2 值	P 值
基因型			8.2293	0.016
AA	38(21.9)	58(35.8)		
AG	97(55.8)	77(47.5)		
GG	39(22.4)	27(16.7)		
等位基因			6.5709	0.010
A	173(49.7)	193(59.6)		
G	175(50.3)	131(40.4)		

2.3　病例组中各临床症状亚组 rs1143627 基因型和等位基因频率比较　rs1143627 基因型频率与等位基因在 HSP 不同临床症状分组间差异无统计学意义(表 4)。

2.4　病例组中非 HSPN 组与 HSPN 组基因型和等位基因频率的比较　rs1143627 基因型与等位基因在非 HSPN 组与 HSPN 组中差异均有统计学意义($P<0.05$，表 5)。等位基因 G(OR＝1.731，95%CI 1.123～2.669)可能是 HSPN 发病的危险因素。

2.5　Hardy-Weinberg 平衡定律检测　Hardy-Weinberg 平衡检验结果显示：rs1143627 基因座的基因型与 HSPN 表型具有相关性(χ^2＝0.028，P＝0.866)，表明该位点具有 HSPN 群体代表性。

3　讨　论

HSP 是儿童最常见的系统性血管炎，在 4～6 岁儿童中发生率最高[9]。HSP 患儿多可自行缓解，预后佳。然而，部分患儿可累及肾脏，并发展为慢性肾脏病。目前 HSP 的病因与发生机制尚不明确。在 HSP 急性期，血清 IgA 浓度升高，IL-2、IL-6、IL-8和肿瘤坏死因子 α (TNF-α)异常表达[5,10]，提示该病为免疫介导性疾病。基因异常会影响细胞因子的表达，单核苷酸多态性改变可能影响对应细胞因子的功能。

表 4 病例组各临床症状亚组中 rs1143627 基因型和等位基因比较

n(%)

rs1143627	单纯型组(n=40)	关节型组(n=77)	腹型组(n=24)	混合型组(n=33)	χ^2 值	P 值
基因型					4.9893	0.545
AA	5(12.5)	21(27.3)	5(20.8)	7(21.2)		
AG	26(65.0)	42(54.5)	12(50.0)	17(51.5)		
GG	9(22.5)	14(18.2)	7(29.2)	9(27.3)		
等位基因					2.6371	0.451
A	36(45.0)	84(54.5)	22(45.8)	31(47.0)		
G	44(55.0)	70(45.5)	26(54.2)	35(53.0)		

表 5 非 HSPN 组与 HSPN 组中 rs1143627 位点基因型和等位基因比较

n(%)

rs1143627	非 HSPN 组(n=104)	HSPN 组(n=70)	χ^2 值	P 值
基因型			7.4521	0.024
AA	16(15.4)	22(31.4)		
AG	60(57.7)	37(52.9)		
GG	28(26.9)	11(15.7)		
等位基因			6.2151	0.013
A	92(44.2)	81(57.9)		
G	116(55.8)	59(42.1)		

IL-1β 是 IL-1 的主要分泌形式，具有强促炎性和多效性，主要由单核细胞、巨噬细胞、树突状细胞、NK 细胞和 B 细胞产生。成熟的 IL-1β 通过刺激炎症和免疫相关基因的表达来介导炎症反应[11]；还参与刺激 B 细胞增殖和分化、共刺激 T 细胞和激活 NK 细胞。而 B 淋巴细胞多克隆活化为 HSP 特征。患儿 T 淋巴细胞和单核细胞 CD40 配体(CD40L)也过度表达，促进 B 淋巴细胞分泌大量 IgA 和 IgE。

系统性血管炎性疾病(如 HSP)患者各器官组织的慢性炎症反应常由 TNF-α、IL-6 和 IL-1β 等多种细胞因子异常高表达引发。类风湿性关节炎(RA)、2 型糖尿病、川崎病等炎症性疾病[12-15]的易感性与 IL-1β 基因多态性的关系得到了证明。此外，一项研究在 IL-1β 缺陷小鼠模型(IL-1$\beta^{-/-}$ 和 IL-1$\alpha/\beta^{-/-}$)中发现，IL-1β 介导的免疫刺激和炎症反应在系统性红斑狼疮发病中发挥作用[16]。本研究结果显示，与对照组相比，病例组 IL-1β rs1143627 位点 GG 基因型频率增加(P=0.016)，且等位基因 G 频率增加(P=0.010)，故推测等位基因 G 可能是 HSP 易感的危险因素。

成熟的 IL-1β 基因能刺激环氧合酶 2 和诱导型一氧化氮合酶基因(NOS2A)等(炎症和免疫相关基因的表达)[11]。NOS2A 能诱导内皮细胞活化，进而释放一氧化氮(NO)和大量细胞因子，影响白细胞游走、迁移以及黏附，并能影响黏附因子的活性，最终损伤血管壁、肾脏等组织。Martin 等[17]发现，HSP 患者和对照组 NOS2A 启动子等位基因和基因型频率差异明显，表明该基因在 HSP 易感性和肾炎发展中具有潜在作用。本研究显示，非 HSPN 组 rs1143627 位点 GG 基因型频率高于 HSPN 组(P=0.024)，且两组等位基因 G 差异有统计学意义(P=0.013)，进一步说明 rs1143627 位点基因型 GG 与等位基因 G 可能是 HSP 的易感基因，且与 HSPN 的发生有关。

另外，一项检测炎症对脂质代谢影响的研究[18]发现，IL-1β 可导致肾小球系膜细胞中胆固醇酯积累，从而导致活性氧产生和内质网应激。活性氧代谢产物可引起多种病理破坏，包括系统性血管炎和肾脏疾病。HSP 患者氧化应激水平升高，脂质过氧化可能在 HSP 发病和肾损伤的发生发展中发挥重要作用[19]。

本研究中，rs1143627 位点基因型和等位基因在病例组临床症状分型中差异无统计学意义。该结果可能与各分型样本量较少有关，后期会通过加大样本量继续证实。同时，尚需在多中心、多地区、多民族人群中验证本研究结果。

综上所述，IL-1β 作为参与免疫反应的重要因子，其基因多态性与 HSP 及肾损害密切相关，其 rs1143627 位点等位基因 G 可能是儿童 HSP 及肾

脏损伤的危险因素。该位点基因多态性可能通过影响基因调控导致患者血清细胞因子水平改变而致病。建立基因型与其表型之间的功能相关性模型是决定基因多态性临床意义的关键,并能为患儿的个体化治疗提供依据。

参考文献

[1] JAUHOLA O, RONKAINEN J, KOSKIMIES O, et al. Renal manifestations of Henoch-Schonlein purpura in a 6-month prospective study of 223 children[J]. Arch Dis Child, 2010,95(11): 877-882.

[2] OVERWIJK W W, SCHLUNS K S. Functions of γC cytokines in immune homeostasis: current and potential clinical applications [J]. Clin Immunol, 2009, 132 (2): 153-165.

[3] KAIKO G E, HORVAT J C, BEAGLEY K W, et al. Immunological decision-making: how does the immune system decide to mount a helper T-cell response [J]. Immunology,2008,123(3): 326-338.

[4] BEN-SASSON S Z, HU-LI J, QUIEL J, et al. IL-1 acts directly on CD4 T cells to enhance their antigen-driven expansion and differentiation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009,106(17): 7119-7124.

[5] YANG Y H, CHUANG Y H, WANG L C, et al. The immunobiology of Henoch-Schönlein purpura [J]. Autoimmun Rev,2008, 7(3): 179-184.

[6] KRISHNA PRIYA E K, SRINIVAS L, RAJESH S, et al. Pro-inflammatory cytokine response pre-dominates immuno-genetic pathway in development of rheumatoid arthritis[J]. Mol Biol Rep,2020,47(11): 8669-8677.

[7] 中华医学会儿科学分会免疫学组,《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童过敏性紫癜循证诊治建议[J]. 中华儿科杂志,2013, 51(7): 502-507. Immunology Group of Chinese Medical Association Pediatric Society, Editorial Committee of Chinese Journal of Pediatrics. Suggestions on diagnosis and treatment of Henoch-Schonlein purpura in children[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2013,51(7): 502-507.

[8] 中华医学会儿科学分会肾脏病学组. 儿童常见肾脏疾病诊治循证指南(二):紫癜性肾炎的诊治循证指南(试行)[J]. 中华儿科杂志, 2009, 47(12): 911-913. Nephrology Group of Chinese Medical Association Pediatric Society. Evidence-based guidelines on diagnosis and treatment of childhood common renal diseases (Ⅱ): evidence-based guideline on diagnosis and treatment of Henoch-Schonlein purpura nephritis[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2009,47(12):911-913.

[9] GARDNER-MEDWIN J M M, DOLEZALOVA P, CUMMINS C, et al. Incidence of Henoch-Schönlein purpura, Kawasaki disease, and rare vasculitides in children of different ethnic origins [J]. Lancet, 2002, 360 (9341): 1197-1202.

[10] KIMURA S, TAKEUCHI S, SOMA Y, et al. Raised serum levels of interleukins 6 and 8 and antiphospholipid antibodies in an adult patient with Henoch-Schönlein purpura[J]. Clin Exp Dermatol,2013,38(7): 730-736.

[11] DINARELLO C A. The IL-1 family and inflammatory diseases[J]. Clin Exp Rheumatol, 2002, 20(5 Suppl 27): S1-S13.

[12] 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.

[13] DINARELLO C A, DONATH M Y, MANDRUP-POULSEN T. Role of IL-1beta in type 2 diabetes[J]. Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes,2010,17(4): 314-321.

[14] FU L Y, QIU X, DENG Q L, et al. The IL-1B gene polymorphisms rs16944 and rs1143627 contribute to an increased risk of coronary artery lesions in southern Chinese children with Kawasaki disease[J]. J Immunol Res, 2019, 2019: 4730507.

[15] LOPALCO G, CANTARINI L, VITALE A, et al. Interleukin-1 as a common denominator from autoinflammatory to autoimmune disorders: premises, perils, and perspectives [J]. Mediators Inflamm,2015,2015: 194864.

[16] VORONOV E, DAYAN M, ZINGER H, et al. IL-1 beta-deficient mice are resistant to induction of experimental SLE [J]. Eur Cytokine Netw,2006,17(2): 109-116.

[17] MARTIN J, PACO L, RUIZ M P, et al. Inducible nitric oxide synthase polymorphism is associated with susceptibility to Henoch-Schönlein purpura in northwestern Spain[J]. J Rheumatol,2005,32(6): 1081-1085.

[18] ZHONG S, ZHAO L, LI Q, et al. Inflammatory stress exacerbated mesangial foam cell formation and renal injury via disrupting cellular cholesterol homeostasis[J]. Inflammation, 2015,38(3): 959-971.

[19] CHEN J Y, MAO J H. Henoch-Schönlein purpura nephritis in children: incidence, pathogenesis and management [J]. World J Pediatr,2015,11(1): 29-34.

[本文编辑] 姬静芳