

doi:10. 13407/j. cnki. jpp. 1672-108X. 2016. 04. 003

· 论 著 ·

白细胞介素-4 和白细胞介素-13 基因多态性对哮喘患儿 IgE 表达的影响

王红利 (广州市红十字会医院, 广东广州 510220)

[摘要] 目的:探讨白细胞介素-4(IL-4)和白细胞介素-13(IL-13)基因多态性对哮喘患儿 IgE 表达的影响。方法:采用聚合酶链式反应(PCR)检测 173 例哮喘患儿及 56 例健康儿童的 IL-4 和 IL-13 基因限制性长度片段,及不同基因型患儿 IgE 的表达水平。结果:哮喘患儿 IL-4 基因-589 位点基因多态性和等位基因与健康对照儿童比较差异无统计学意义($P>0.05$)。哮喘患儿 IL-13 基因+1923 位点基因多态性和等位基因与健康对照儿童比较差异有统计学意义($P<0.01$)。IL-4 基因-589 和 IL-13 基因+1923 位点 T 等位基因患儿 IgE 水平显著高于 C 等位基因患儿($P<0.01$)。结论:哮喘患儿 IL-13 基因多态性与健康儿童不同,IL-4 基因-589 位点和 IL-13 基因+1923T 等位基因是导致哮喘患儿 IgE 水平升高的可能原因。

[关键词] 儿童;哮喘;白细胞介素 4;白细胞介素 13;基因多态性

[中图分类号] R725.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2016)04-0007-03

The Influence of IL-4 and IL-13 Gene Polymorphism on IgE Level in Children with Asthma

Wang Hongli (The Red Cross Hospital of Guangzhou, Guangdong Guangzhou 510220, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of interleukin-4 (IL-4) and interleukin-13 (IL-13) gene polymorphism on IgE level in asthma children. **Methods:** PCR was applied to detect the restriction fragment length of IL-4 gene and IL-13 gene in 173 asthma children and 56 healthy children and the IgE expression levels of different genotypes. **Results:** The gene polymorphism and alleles of IL-4-589 had no significant difference between two control ($P>0.05$). The gene polymorphism and alleles of IL-13+1923 in asthma children were significantly different between two groups ($P<0.01$). The IgE level in asthma children with T allele of IL-13+1923 gene and IL-4-589 were significantly higher than those in C allele ($P<0.01$). **Conclusion:** The IL-13 gene polymorphism was different from healthy control and the T allele of IL-4-589 and IL-13+1923 may play an important role on the increase of IgE in asthma children.

[Keywords] children; asthma; interleukin-4; interleukin-13; gene polymorphism

哮喘属于一种气道高反应性慢性炎症疾病。流行病学调查显示,哮喘在儿童中的发病率较高,是儿童中最为常见的呼吸道慢性疾病^[1],其中遗传因素在哮喘的发病中具有重要地位。研究表明,多种白细胞介素基因参与了哮喘的发作^[2-5]。白细胞介素-4(IL-4)和白细胞介素-13(IL-13)具有诱导 IgE 发生同型转换的作用^[6]。因此,探讨两者对哮喘患儿的 IgE 表达水平的影响对增加儿童哮喘的认识和改善治疗效果具有重要意义。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取我院门诊收治的符合小儿哮喘诊断标准^[7]的哮喘患儿 173 例,其中,男 89 例,女 84 例,年龄 4~10 (6.8±1.7)岁。另选取健康儿童 56 例,其中,男 31 例,女 25 例,年龄 2~7 (6.6±2.0)岁。两组儿童一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准且儿童家属知情同意。

1.2 方法

1.2.1 基因多态性检测 采用宝生物公司提供的人类基因组 DNA 提取试剂盒提取患儿及健康儿童的基因组 DNA。

1.2.1.1 IL-4 引物 IL-4-For:5'-CACTAAACTTGGGA GAACATGGT-3', IL-4-Rev:5'-CCTCTGGGGAAAGATA GAGTAATA-3'。采用宝生物公司提供的高保真 Taq 酶进行扩展,反应体系 20 μL。取 5 μL PCR 产物,用 Ava II 进行酶切,并在 1.0% 浓度的琼脂糖凝胶电泳中分析 IL-4-589 基因多态性。

1.2.1.2 IL-13 引物 IL-13-For:5'-GGCTGAATATCC ATGGTGTGTGTC-3', IL-13-Rev:5'-GGCTGAGGTCCGGCT AGGCTGAAGAC-3'。采用宝生物公司提供的高保真 Taq 酶进行扩展,反应体系 20 μL。取 5 μL PCR 产物,用 BsaA I 进行酶切,并在 1.0% 浓度的琼脂糖凝胶电泳中分析 IL-13+1923 基因多态性。

1.2.2 哮喘患儿血浆 IgE 水平测定 采用德国贝尔公司提供的 ACS-180 全自动化学发光检测仪测定血浆 IgE,测定方法为免疫化学发光法,严格按照说明书进行操作,且所有样品由同一检测员完成操作。

1.3 统计学方法

应用 SPSS20.0 软件,计量资料用均数±标准差($\bar{x}±s$)表示,采用 t 检验,基因多态性及等位基因等计数资料采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 哮喘患儿及健康儿童 IL-4 基因多态性分析

结果见表 1。哮喘患儿 IL-4 基因-589 位点基因多态性和等位基因与健康儿童比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 1 哮喘患儿及健康儿童 IL-4 基因多态性分析

组别	例数	基因型频率(例)			等位基因频率	
		C/C	T/C	T/T	C	T
哮喘患儿	173	0.046 2(8)	0.381 5(66)	0.572 3(99)	0.237 0	0.763 0
健康儿童	56	0.071 4(4)	0.267 9(15)	0.660 7(37)	0.205 4	0.794 6
χ^2		2.641			0.479	
P		>0.05			>0.05	

2.2 哮喘患儿及健康儿童 IL-13 基因多态性分析

结果见表 2。哮喘患儿 IL-13 基因+1923 位点基因多态性和等位基因与健康儿童比较差异有统计学意义 ($P<0.01$)。

表 2 哮喘患儿及健康儿童 IL-13 基因多态性分析

组别	例数	基因型频率(例)			等位基因频率	
		C/C	T/C	T/T	C	T
哮喘患儿	173	0.219 6(38)	0.335 3(58)	0.445 1(77)	0.387 3	0.612 7
健康儿童	56	0.428 6(24)	0.410 7(23)	0.160 7(9)	0.633 9	0.366 1
χ^2		16.611			20.818	
P		<0.01			<0.01	

2.3 不同 IL-4 基因型哮喘患儿及健康儿童血浆 IgE 水平比较

结果见表 3。IL-4 基因-589 位点 T 等位基因患儿 IgE 水平显著高于 C 等位基因患儿 ($P<0.01$)。

表 3 不同 IL-4 基因型哮喘患儿及健康儿童血浆 IgE 水平比较
kU/L

组别	C/C		C/T		T/T	
	例数	IgE 水平	例数	IgE 水平	例数	IgE 水平
哮喘患儿	8	187.3±57.2	66	282.1±70.4	99	337.3±79.8
健康儿童	4	65.4±25.2	15	84.4±21.8	37	98.2±34.1
t		5.116		19.132		24.435
P		<0.01		<0.01		<0.01

2.4 不同 IL-13 基因型哮喘患儿及健康儿童血浆 IgE 水平比较

结果见表 4。IL-13 基因+1923 位点 T 等位基因患儿 IgE 水平显著高于 C 等位基因患儿 ($P<0.01$)。

表 4 不同 IL-13 基因型哮喘患儿及健康对照血浆 IgE 水平比较
kU/L

组别	C/C		C/T		T/T	
	例数	IgE 水平	例数	IgE 水平	例数	IgE 水平
哮喘患儿	38	188.7±80.2	58	292.5±103.4	77	381.5±135.8
健康儿童	24	76.5±24.4	23	92.8±34.2	9	132.3±36.5
t		8.054		13.022		12.682
P		<0.01		<0.01		<0.01

3 讨论

哮喘发病过程与机体免疫功能、环境因素和遗传因素有关。近年来,白细胞介素基因多态性在哮喘发生和发展中的作用已受到越来越多的关注,但其报道结果却不同。Th1/Th2 失衡是哮喘患者炎症因子失调的重要原因。白细胞介素-4(IL-4)、白细胞介素-13(IL-13)均是由 Th2 细胞产生的特征性细胞因子,可以抑制 Th1 类细胞因子的产生并促进 B 细胞的活化和 IgE 的分泌。

IL-4 是目前已知的生物效应最高的 IgE 调节因子,在哮喘的发病过程中扮演重要角色^[8]。Zhu S 等^[9]的研究结果显示,IL-4 基因-589 位点的 T 等位基因在致死性哮喘患者中比例显著增加。Kamali-Sarvestani E 等^[10]报道显示,哮喘患儿 IL-4 基因-589 位 C/T 基因型比例显著高于健康儿童,且其肺功能指标更差。本研究结果提示,哮喘患儿的 IL-4 基因-589 位基因多态性和等位基因频率与健康儿童比较差异无统计学意义,与已有报道^[9-10]结果相悖,但与张嘉琳等^[11]研究结果类似,提示可能由于人种差异导致了 IL-4 基因-589 基因多态性的差异。而比较组间和组内不同基因型患儿 IgE 水平差异发现,TT 基因型患儿 IgE 水平显著高于对照组和其他基因型,CT 基因型患儿 IgE 水平显著高于对照组和 CC 基因型,提示 IL-4 基因-589 位的基因多态性确实有可能影响哮喘患儿的病情,但却可能不是中国患儿哮喘发作的主要影响因素。

IL-13 基因在 IL-4 基因上游约 25 kb 处,有 5 个完全连锁的不平衡 SNP 位点^[12]。濮海平等^[13]发现,在汉族儿童中哮喘患儿 IL-13 基因+1923 位点基因型和等位基因频率与对照组比较差异均有统计学意义,且 T 等位基因携带者哮喘发生率显著增加,IgE 水平显著升高。在本研究中,哮喘患儿 IL-13 基因+1923 位点基因型与健康儿童比较差异有统计学意义,且 T 等位基因频率为健康儿童的 2 倍。与 IL-4 基因-589 位点基因多态性类似,IL-13 基因+1923 位点的 T 等位基因携带患儿的 IgE 水平显著高于 C 等位基因携带患儿,且 TT 基因型水平最高。

综上所述,哮喘患儿 IL-13 基因多态性与健康儿童不同,IL-4 基因-589 位点和 IL-13 基因+1923 位点的 T 等位基因是导致哮喘患儿 IgE 水平升高的可能原因。由于本研究样本量较小,今后仍需进行大样本量研究进一步证实本研究结果。

参考文献:

- [1] SONNENSCHNEIN-VAN DER VOORT A M, ARENDS L R, DE JONGSTE J C, et al. Preterm birth, infant weight gain, and childhood asthma risk: a meta-analysis of 147,000 European children [J]. J Allergy Clin Immunol, 2014, 133(5): 1317-1329.
- [2] SORDILLO J E, KELLY R, BUNYAVANICH S, et al. Genome-wide expression profiles identify potential targets for gene-environment interactions in asthma severity [J]. J Allergy Clin Immunol, 2015, pii: S0091-6749 (15) 00341-3.

- [3] BARLOW J L, PEEL S, FOX J, et al. IL-33 is more potent than IL-25 in provoking IL-13-producing nuocytes (type 2 innate lymphoid cells) and airway contraction [J]. J Allergy Clin Immunol, 2013, 132(4): 933-941.
- [4] AL-MUHSEN S, VAZQUEZ-TELLO A, ALZAABI A, et al. IL-4 receptor alpha single-nucleotide polymorphisms rs1805010 and rs1801275 are associated with increased risk of asthma in a Saudi Arabian population [J]. Ann Thorac Med, 2014, 9(2): 81-86.
- [5] FAHY J V. Type 2 inflammation in asthma-present in most, absent in many [J]. Nat Rev Immunol, 2015, 15(1): 57-65.
- [6] KASAIAN M T, MARQUETTE K, FISH S, et al. An IL-4/IL-13 dual antagonist reduces lung inflammation, airway hyperresponsiveness, and IgE production in mice [J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2013, 49(1): 37-46.
- [7] 杨慧, 向平超. 支气管哮喘全球策略 (2012 更新版) [J]. 中国医学前沿杂志 (电子版), 2013, 5(8): 25-30.
- [8] WENZEL S, MING J, HAMILTON J, et al. Therapeutic blockade of IL-4 and 13 signaling with dupilumab (SAR231893/REGN668) inhibits key biomarkers in asthma [J]. European Respiratory Journal, 2013, 42(Suppl 57): 3539.
- [9] ZHU S, CHAN-YEUNG M, BECKER A B, et al. Polymorphisms of the IL-4, TNF- α , and Fc α RI β Genes and the Risk of Allergic Disorders in At-risk Infants [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 161(5): 1655-1659.
- [10] KAMALI- SARVESTANI E, GHAYOMI M A, NEKOEE A. Association of TNF-alpha - 308 G/A and IL-4 - 589 C/T gene promoter polymorphisms with asthma susceptibility in the south of Iran [J]. J Investig Allergol Clin Immunol, 2007, 17(6): 361-366.
- [11] 张嘉琳, 陈虹, 胡良平, 等. 白细胞介素 4 和 10 基因多态性与儿童哮喘的相关性及对细胞因子表达的影响 [J]. 中华医学杂志, 2005, 82(2): 114-118.
- [12] 周广花, 徐佩茹. 白细胞介素 13 基因多态性与支气管哮喘的关系 [J]. 中华临床医师杂志 (电子版), 2015, 9(1): 130-133.
- [13] 濮海平, 刘华, 吕振华, 等. 白介素-13 基因多态性与哮喘的相关性研究 [J]. 实用医药杂志, 2013, 30(4): 289-292.

(编辑:王乐乐)

(收稿日期:2015-05-05 修回日期:2015-05-26)

doi:10. 13407/j. cnki. jpp. 1672-108X. 2016. 04. 004

· 论 著 ·

我院儿童药物临床试验情况及存在问题

张艳菊, 王晓玲 (首都医科大学附属北京儿童医院, 北京 100045)

[摘要] 首都医科大学附属北京儿童医院药物临床试验机构是第一个获批具有儿童药物临床试验资格的机构, 同时是目前我国具有儿童药物临床试验资格专业数量最多的机构。截止 2015 年 5 月, 共承担了 110 项儿童药物临床试验。在工作中积累了丰富的儿童药物临床试验管理经验, 但也存在诸多问题: 承接药物临床试验项目数量在各专业分布不均; 药物临床试验项目类别分布不均以及不同专业间药物临床试验完成质量差别大。本文从我院药物临床试验现状入手, 分析存在的问题及提出改进和发展的方向, 以期儿童药物临床试验工作提供参考。

[关键词] 儿童; 机构; 药物临床试验

[中图分类号] R95

[文献标识码] A

[文章编号] 1672-108X(2016)04-0009-04

The Current Situation and Existing Problems of Drug Clinical Trials for Children in Our Hospital

Zhang Yanju, Wang Xiaoling (Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China)

[Abstract] Objective: The drug clinical trial institution of Beijing Children's Hospital is the first one approved the qualifications of drug clinical trials of children, with the maximum number of drug clinical trials of children at present. As of May 2015, a total of 110 items we have undertaken. We have accumulated rich experience, but also have many problems; the number, categories and the completed quality of trials between various departments were different. Based on the current situation of drug clinical trials, we analyzed the existing problems and put forward the improvement and development direction, so as to provide reference for drug clinical trials of children.

[Keywords] children; institution; drug clinical trial

目前我国儿童药物临床治疗资料匮乏^[1], 儿科医师用药常处在两难的处境。近年来, 我国政府对儿童用药

问题非常重视。2011 年, 国务院发布的《中国儿童发展纲要(2011-2020 年)》中明确提出“鼓励儿童专用药品

基金项目: 国家卫生和计划生育委员会 2014 年委托课题——儿童临床用药综合评价体系试点研究。

作者简介: 张艳菊(1984.02~), 女, 硕士, 药师, 主要从事药物临床试验和中药临床药学研究, E-mail: daisyreyes@sina.com。