

论著·临床研究

## 白细胞介素-4受体基因多态性及IgE水平与哮喘预测指数相关性研究

王建荣<sup>1</sup> 冯瑞华<sup>1</sup> 多力坤·木扎帕尔<sup>2</sup>

(1. 新疆医科大学第五附属医院儿科, 新疆 乌鲁木齐 830011;  
2. 新疆医科大学第一附属医院儿科, 新疆 乌鲁木齐 830054)

**[摘要]** **目的** 研究新疆维吾尔自治区儿童白细胞介素-4受体(IL-4R)基因多态性及IgE水平与哮喘预测指数(API)的相关性。**方法** 选取167例API(+)、187例API(-)及203例健康婴幼儿(对照组),应用PCR聚合酶链反应和DNA测序法进行基因分型。同时ELISA法检测三组婴幼儿血清IgE水平。**结果** IL-4R基因Arg551Gln位点各基因型频率分布在API(+)组、API(-)组、对照组三组中差异无统计学意义( $P>0.05$ );API(+)组血清IgE水平明显高于API(-)及对照组( $P<0.01$ );API(+)患儿中<2岁者血清IgE水平明显低于 $\geq 2$ 岁者( $P<0.01$ )。**结论** Arg551Gln位点多态性与API结果无相关性,而API阳性与IgE水平升高存在关联性,年龄 $\geq 2$ 岁是API阳性的儿童IgE水平升高的风险因素。

[中国当代儿科杂志, 2015, 17(12): 1306-1310]

**[关键词]** 哮喘;哮喘预测指数;白细胞介素-4受体;IgE;儿童

### Correlations of IL-4R gene polymorphism and serum IgE levels with asthma predictive index

WANG Jian-Rong, FENG Rui-Hua, Duolikun MUZHAPAER. Department of Pediatrics, Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China (Muzhapaer D, Email: docdlk@tom.com)

**Abstract: Objective** To study the correlations of IL-4R gene polymorphism and serum IgE levels with asthma predictive index (API) in children. **Methods** One hundred and sixty-seven children with positive API, 187 children with negative API and 203 healthy children (control group) were enrolled. PCR and DNA sequencing were used to identify genotypes of the Arg551Gln locus in IL-4R gene. Serum IgE levels were measured using ELISA. **Results** There was no significant difference in the genotype frequencies of the Arg551Gln locus in IL-4R gene among the positive API, negative API and control groups. Serum IgE levels in the positive API group were significantly higher than in the negative API and control groups ( $P<0.01$ ). In the positive API group, the children aged less than 2 years had significantly lower serum IgE levels than those aged over 2 years ( $P<0.01$ ). **Conclusions** There is no correlation between the Arg551Gln polymorphism in IL-4R gene and API results. API positivity is correlated with elevated serum IgE levels. An older age ( $>2$  years) may be a risk factor for increased serum IgE levels in children with positive API.

[Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(12): 1306-1310]

**Key words:** Asthma predictive index; IL-4R; IgE; Child

喘息是婴幼儿的一种常见症状,部分喘息婴幼儿可发展成为典型支气管哮喘。临床上广泛使用哮喘预测指数(asthma predictive index, API)来预测喘息婴幼儿发展为支气管哮喘的危险性<sup>[1]</sup>。

白细胞介素4受体(IL-4R)基因定位于染色体16p12.1-11.2,编码IL-4R $\alpha$ 链,研究发现该基因Arg551Gln位点多态性与支气管哮喘的易感性有关<sup>[2]</sup>,理论上API(+)者容易发展成支气管哮喘,

[收稿日期] 2015-04-01; [接受日期] 2015-05-04

[基金项目] 新疆医科大学科研创新基金资助项目(XJC2013178)。

[作者简介] 王建荣,女,硕士,副主任医师。

[通信作者] 多力坤·木扎帕尔,主任医师,教授。

但 IL-4R 基因多态性与 API (+) 患儿喘息发病相关性研究国内报道较少, API (+) 者哮喘发作前的机制不清。由于支气管哮喘是一种慢性气道炎症性疾病, 主要表现为 IgE 介导的 I 型变态反应, IgE 增高与支气管哮喘的发病有关<sup>[3]</sup>, 而 API (+) 者在支气管哮喘发作前是否存在 IgE 增高还有待进一步验证, 故本研究以 API (+) 和 API (-) 及无喘息的健康婴幼儿为研究对象, 测定 IL-4R 基因多态性及 IgE 水平, 探索 IL-4R 基因多态性及 IgE 水平与 API 的相关性, 为临床上进行早期干预提供依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取新疆医科大学附属第五医院 2012 年 6 月到 2014 年 8 月门诊就诊的 1 个月~3 岁反复喘息婴幼儿 356 例, 其中, 根据《儿童支气管哮喘诊断与防治指南》<sup>[4]</sup> 分为 API (+) 组和 API (-) 组, API (+) 组 167 例, 年龄  $19 \pm 6$  个月, 其中男 96 例 (年龄  $19 \pm 6$  个月), 女 71 例 (年龄  $20 \pm 6$  个月); API (-) 组 189 例, 年龄  $20 \pm 6$  个月, 其中男 110 例 (年龄  $20 \pm 6$  个月), 女 79 例 (年龄  $20 \pm 6$  个月), 另选择同期我院儿保科体检的性别、年龄、民族相匹配的健康儿童 203 例为对照组, 年龄  $20 \pm 5$  个月, 其中男 117 例 (年龄  $19 \pm 5$  个月), 女 86 例 (年龄  $20 \pm 6$  个月)。排除标准: 除外先天性气道疾病、先天性血管环畸形、气管异物、支气管淋巴结核、胃食管反流等疾病。本研究获得医院医学伦理委员会批准及家长书面知情同意。

### 1.2 DNA 提取及 PCR 扩增

取清晨静脉血 2 mL, 乙二胺四乙酸抗凝, 采用非离心柱型 DNA 提取试剂盒 (上海天根生物有限公司) 按照说明书步骤提取外周静脉血白细胞 DNA。引物有上海生物工程公司合成, 上游引物 F: 5'-GTCTCGGCCCCACCACCGGCTATC-3'; 下游引物 R: 5'-ACCCAAGCCCACCACCGCACT-3'。DNA 扩增 PCR 总体积为 20  $\mu$ L。100 ng/ $\mu$ L 上下游引物各 0.5  $\mu$ L, 2  $\times$  Power Taqman master Mix 10  $\mu$ L (北京百泰克生物技术有限公司), 50 ng/ $\mu$ L DNA

2.0  $\mu$ L, ddH<sub>2</sub>O 7.0  $\mu$ L。PCR 扩增条件: 95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94  $^{\circ}$ C 变性 30 S, 55.6  $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 45 s, 循环 35 次, 最后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

### 1.3 直接测序

所有的样品 PCR 产物采用进行直接测序方法检测 IL-4Ra 基因 Arg551Gln 位点多态性, 该步骤由上海生物工程公司完成。

### 1.4 血清总 IgE 水平检测

常规静脉取血 2 mL, 肝素抗凝, 在室温下 20~24  $^{\circ}$ C 条件下静置 30~60 min, 3000 rpm 离心 10 min, 取血清液转移至另一试管, 重复上述离心 1 次, 将血清液置于 -20  $^{\circ}$ C 冰箱保存。按照 ELISA 试剂盒的操作步骤 (瑞士, 罗氏公司) 检测 IgE 浓度。

### 1.5 统计学分析

各组基因型的 Hardy-Weinberg 平衡检验采用在线分析平台 SHEsis (<http://analysis.bio-x.cn/myAnalysis.php>); 统计学分析采用 SPSS 19.0 软件, 计量资料采用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用方差分析, 组间两两比较采用 SNK-*q* 检验; 计数资料以率 (%) 表示, 组间比较采用卡方检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般资料

对照组、API (+) 组、API (-) 组的年龄分别为  $20 \pm 5$  个月、 $19 \pm 6$  个月、 $20 \pm 6$  个月, 三组间差异无统计学意义 ( $F=0.79$ ,  $P=0.46$ )。

### 2.2 Hardy-Weinberg 平衡检验

IL-4Ra 基因 Arg551Gln 位点腺嘌呤 (A) 突变鸟嘌呤 (G), 导致第 551 位谷氨酰胺 (Gln) 被精氨酸 (Arg) 取代, 该位点基因型分布在对照组、API (+) 组、API (-) 组、分别为 1.35、0.49、0.40 ( $P>0.05$ ), 符合 Hardy-Weinberg 平衡, 具有群体代表性。

### 2.3 基因多态性分析

IL-4Ra 基因 Arg551Gln 位点测序分型共发现 3 种基因型, 即 AA、AG、GG 型, 见图 1。

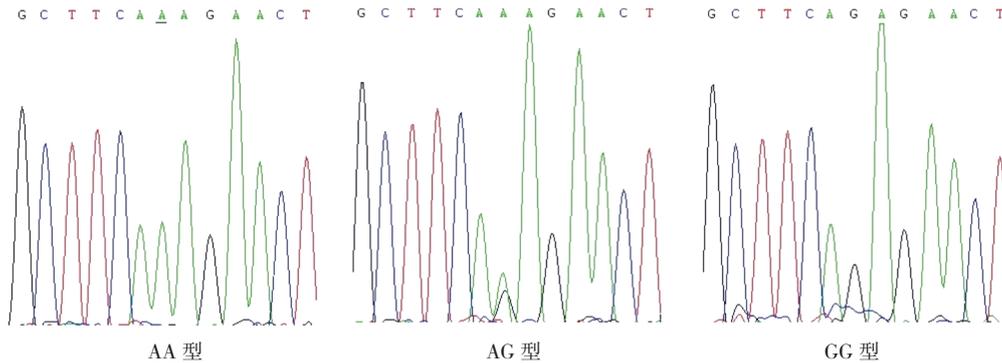


图 1 IL-4Ra 基因 Arg51Gln 位点测序图

**2.4 Arg51Gln 位点基因型和等位基因频率分布**  
三组中 AA 基因型和 A 等位基因均最常见，但 AA 基因型在三组的差异均无统计学意义 ( $\chi^2$  分

别为 2.16、0.77、4.11,  $P>0.05$ ) ; A 等位基因在三组的差异均无统计学意义 ( $\chi^2$  分别为 0.48、0.71、2.58,  $P>0.05$ ) , 见表 1。

表 1 各组 Arg51Gln 位点基因型和等位基因比较 [例 (%)]

组别	例数	基因型频率			等位基因		OR(95%CI)
		AA	AG	GG	A	G	
对照组	203	152(74.9)	45(22.2)	6(3.0)	349(86.0)	57(14.0)	0.73(0.50~1.07)
API(+) 组	167	117(70.1)	47(28.1)	3(1.8)	281(84.1)	53(15.9)	0.87(0.58~1.30)
API(-) 组	189	125(66.1)	59(31.2)	5(2.6)	309(81.7)	69(18.3)	1.18(0.80~1.75)

AA 基因型及 A 等位基因分布在 API (+) 组、API (-) 组以及对照组的男性儿童中的差异均无统计学意义 ( $\chi^2$  分别为 1.57、0.37、0.18、0.16、2.22、1.02,  $P>0.05$ ) ; 同样 AA 基因型及 A 等位基因分布在 API (+) 组、API (-) 组以及对照组的儿童中的差异也无统计学意义 ( $\chi^2$  分别为 0.60、0.13、0.74、0.69、1.97、1.54,  $P>0.05$ ) 。

AA 基因型及 A 等位基因分布在 API (+) 组、API (-) 组以及对照组中 <2 岁的儿童中的差异均无统计学意义 ( $\chi^2$  分别为 2.07、0.23、1.68、1.58、4.45、3.41,  $P>0.05$ ) ; 同样 AA 基因型及 A 等位基因分布在 API (+) 组、API (-) 组以及对照组中  $\geq 2$  岁的儿童中的差异也均无统计学意义 ( $\chi^2$  分别为 1.88、1.42、1.62、0.16、1.18、0.75,  $P>0.05$ ) 。

**2.5 三组儿童血清 IgE 水平的比较**

API (+) 组血清 IgE 水平 ( $93 \pm 41$  U/mL) 明显高于 API (-) 组 ( $54 \pm 23$  U/mL) 及对照组 ( $49 \pm 21$  U/mL) , 差异有统计学意义 ( $F=123.81$ ,  $P<0.01$ ) , 但 API (-) 组与对照组间 IgE 水平差异无统计学意义。

**2.6 三组中不同基因型儿童血清 IgE 水平比较**

按照基因型分层比较显示, 同一基因型条件下, API (+) 组患儿的血清 IgE 水平显著高于 API (-) 组及对照组 ( $P<0.01$ ) , 但 API (-) 组与对照组比较, 差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ) ; 而 API (+) 组、API (-) 组以及对照组中, 不同基因型患儿的血清 IgE 水平差异无统计学意义 ( $P>0.05$ ) 。见表 2。

表 2 三组中不同基因型儿童血清 IgE 水平比较

( $\bar{x} \pm s$ , U/mL)

组别	例数	AA	AG	GG	F 值	P 值
对照组	203	$50 \pm 22$	$47 \pm 20$	$48 \pm 11$	0.31	0.74
API(+) 组	167	$95 \pm 42^a$	$89 \pm 38^a$	$111 \pm 23^a$	0.65	0.53
API(-) 组	189	$55 \pm 23^b$	$52 \pm 21^b$	$59 \pm 29^b$	0.56	0.57
F 值	-	84.64	33.40	15.08	-	-
P 值	-	<0.001	<0.001	0.001	-	-

注: a 示与对照组比较,  $P<0.01$ ; b 示与 API (+) 组比较,  $P<0.01$ 。

### 2.7 三组不同性别儿童的 IgE 水平比较

不同性别的 API (+) 组儿童血清 IgE 水平显著高于 API (-) 组及对照组 ( $P < 0.01$ ), 但 API (-) 组与对照组的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。而 API (+) 组、API (-) 组以及对照组中男性与女性的 IgE 水平差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 3 三组中不同性别儿童 IgE 水平的比较  
( $\bar{x} \pm s$ , U/mL)

组别	例数	男性	女性	t 值	P 值
对照组	203	49 ± 21	48 ± 22	0.22	0.83
API(+) 组	167	89 ± 39 <sup>a</sup>	99 ± 43 <sup>a</sup>	-1.60	0.11
API(-) 组	189	54 ± 22 <sup>b</sup>	55 ± 24 <sup>b</sup>	-0.33	0.74
F 值		63.85	60.29		
P 值		<0.001	<0.001		

注: a 示与对照组比较,  $P < 0.01$ ; b 示与 API (+) 组比较,  $P < 0.01$ 。

### 2.8 三组不同年龄儿童的 IgE 水平比较

将研究对象分为 <2 岁组和 ≥ 2 岁组, 发现不同年龄组儿童中 API (+) 组的血清 IgE 水平均明显高于 API (-) 及对照组 ( $P < 0.01$ ), 但 API (-) 与对照组的差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); API (+) 组内 <2 岁儿童的 IgE 水平明显低于 ≥ 2 岁组, 差异有统计学意义 ( $t = -9.25$ ,  $P < 0.01$ ), 而 API (-) 组和对照组中 <2 岁儿童与 ≥ 2 岁儿童的 IgE 水平差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。见表 4。

表 4 三组不同年龄儿童血清 IgE 水平比较  
( $\bar{x} \pm s$ , U/mL)

组别	例数	<2 岁	≥ 2 岁	t 值	P 值
对照组	203	47 ± 18	48 ± 21	-0.85	0.40
API(+) 组	167	79 ± 26 <sup>a</sup>	132 ± 48 <sup>a</sup>	-9.25	<0.01
API(-) 组	189	53 ± 16 <sup>b</sup>	55 ± 21 <sup>b</sup>	-0.67	0.51
F 值		57.47	100.72		
P 值		<0.001	<0.001		

注: a 示与对照组比较,  $P < 0.01$ ; b 示与 API (+) 组比较,  $P < 0.01$ 。

## 3 讨论

目前临床上广泛使用 API 来预测喘息婴幼

儿发展为支气管哮喘的危险性并予以相应预防措施<sup>[5-6]</sup>。本研究以喘息儿童为研究对象, 发现 IL-4R 基因 Arg551Gln 位点三种基因型中, AA 基因型最常见, 但是在喘息患儿和对照组儿童中, 该基因型的分布差异均无统计学意义, 提示该基因位点的多态性可能与患儿喘息的发生无关。为进一步分析该位点与 API 的关系, 本研究按照性别与年龄分层分析比较, 发现该位点多态性增加 API (+) 风险与喘息婴幼儿的年龄和性别无关, 与 Tanaka 等<sup>[7]</sup>的研究相一致, 提示该位点遗传的多样性不会影响患儿 API 评测结果。但本研究与 Lee 等<sup>[8]</sup>的研究结果不同, 可能与不同人种间遗传差异性及相关因素各异有关, 因此该位点多态性是否会增加 API (+) 风险还有待于进一步研究。

既往研究表明 IgE 产生及气道重塑等与哮喘发生过程存在密切相关<sup>[9-10]</sup>, 因此, 为进一步研究喘息婴幼儿 API 结果是否与 IgE 水平有关, 本研究分析了 API (+) 与 API (-) 及对照组三组的血清 IgE 水平, 结果显示 API (+) IgE 水平显著高于 API (-) 组和对照组, API (-) 与对照组间 IgE 水平差异无统计学意义, 本结果与 Sunyer 等<sup>[11]</sup>研究结果一致, 表明血清中 IgE 水平升高是增加 API (+) 风险的因素之一, 提示 API (+) 儿童较 API (-) 及健康儿童后期更易发展为支气管哮喘的机制可能与 IgE 水平升高有关。另外, 本研究发现同一基因型或同种性别的儿童中, API (+) 组患儿 IgE 水平显著高于 API (-) 及对照组, 同时, API (+) 组内 <2 岁的 IgE 水平显著低于年龄 ≥ 2 岁者, 这可能与随着年龄的增加, API (+) 者体内免疫系统不断被激活, B 细胞合成 IgE 增加有关, 而高水平 IgE 继续与肥大细胞表面受体结合, 导致肥大细胞活化脱颗粒, 释放组织胺、白三烯等炎性物质<sup>[12]</sup>。此外, 随着 API (+) 患儿年龄的增加, 吸入或者食用变应原的时间和剂量也持续增加, 可能进一步导致该组患儿血清内 IgE 水平的增加, 这可能与 API (+) 组内的儿童后期发展为支气管哮喘的机制有关<sup>[13]</sup>, 但本研究并未对 API 各项危险因素与 IgE 水平的差异作分层比较, 故今后仍需进一步扩大样品探索 IgE 水平与 API 各项危险因素的相关性, 为临床上运用 API 预测支气管哮喘的危险性提供理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] 方年新, 黄俊伟, 何小兵, 等. 支气管反应活性指数在气道高反应者哮喘的诊断价值 [J]. 中山大学学报医学科学版, 2010, 31(3): 428-431.
- [2] Stavric K, Peova S, Trajkov D, et al. Gene polymorphisms of 22 cytokines in Macedonian children with atopic dermatitis[J]. Iran J Allergy Asthma Immunol, 2012, 11(1): 37-50.
- [3] Busse WW, Morgan WJ, Gergen PJ, et al. Randomized trial of omalizumab (anti-IgE) for asthma in inner-city children[J]. N Engl J Med, 2011, 364(11): 1005-1015.
- [4] 中华医学会儿科学会呼吸学组, 《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南 [J]. 中华儿科杂志, 2008, 46(10): 745-753.
- [5] Lötvall J, Akdis CA, Bacharier LB, et al. Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome[J]. J Allergy Clin Immunol, 2011, 127(2): 355-360.
- [6] 李亚琴, 薛海燕, 陈伟. 等. 按哮喘预测指数分组治疗在 5 岁以下喘息儿童中的应用 [J]. 中国当代儿科杂志, 2014, 16(8): 795-799.
- [7] Tanaka K, Sugiura H, Uehara M, et al. Lack of association between atopic eczema and the genetic variants of interleukin-4 and the interleukin-4 receptor  $\alpha$  chain gene: heterogeneity of genetic backgrounds on immunoglobulin E production in atopic eczema patients[J]. Clin Exp Allergy, 2001, 31(10): 1522-1527.
- [8] Lee SG, Kim BS, Kim JH, et al. Gene-gene interaction between interleukin-4 and interleukin-4 receptor  $\alpha$  in Korean children with asthma[J]. Clin Exp Allergy, 2004, 34(8): 1202-1208.
- [9] Busse W, Corren J, Lanier BQ, et al. Omalizumab, anti-IgE recombinant humanized monoclonal antibody, for the treatment of severe allergic asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2001, 108(2): 184-190.
- [10] Patelis A, Janson C, Borres MP, et al. Aeroallergen and food IgE sensitization and local and systemic inflammation in asthma[J]. Allergy, 2014, 69(3): 380-387.
- [11] Sunyer J, Pekkanen J, Garcia-Esteban R, et al. Asthma score: predictive ability and risk factors[J]. Allergy, 2007, 62(2): 142-148.
- [12] 张慧芳, 潘家华, 李倩. 等. 小儿慢性咳嗽的病因分析 [J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(9): 667-670.
- [13] Kim JH, Cheong HS, Park JS, et al. A genome-wide association study of total serum and mite-specific IgEs in asthma patients[J]. PLoS One, 2013, 8(8): e71958.

( 本文编辑: 王庆红 )