

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2019.08.010

论著·临床研究

白细胞介素-10基因多态性与儿童肠道病毒71型感染的相关性研究

赵娜¹ 李静¹ 陈真真² 褚祝飞³ 陈宗波⁴

(青岛大学附属青岛市妇女儿童医院 1. 新生儿科; 2. PICU, 山东 青岛 266000;

3. 余姚市人民医院儿科, 浙江 宁波 315400;

4. 青岛大学附属医院东区儿科, 山东 青岛 266000)

[摘要] **目的** 探讨白细胞介素-10 (IL-10) 基因位点 -1082A/G、-819C/T 和 -592C/A 多态性与 IL-10 水平及儿童肠道病毒 71 型 (EV71) 感染程度的关系。**方法** 选取 EV71 感染的手足口病患儿 137 例为研究对象, 其中轻症组 91 例, 重症组 46 例, 另选取行健康体检儿童 122 例为健康对照组, 采集临床数据。采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测血清 IL-10 水平。采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 分析技术检测 IL-10 基因位点 -1082A/G、-819C/T 和 -592C/A 的多态性。**结果** 与健康对照组相比, EV71 感染组患儿的 -1082 位点 AA 基因型频率和 A 等位基因频率更高 ($P<0.05$)。在 EV71 感染组中, 重症组 -1082 位点 AA 基因型频率和 A 等位基因频率高于轻症组 ($P<0.05$)。两组间 IL-10 基因位点 -819C/T 和 -592C/A 多态性的分布比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。重症组患儿血清 IL-10 水平明显高于轻症组和健康对照组 ($P<0.05$)。IL-10-1082 AA 基因型、-819 TT 基因型和 -592 AA 基因型与 IL-10 的低表达有关 ($P<0.05$)。在单倍型构建上, EV71 感染组 GCC 单倍型的频率低于健康对照组 ($P<0.05$)。在 EV71 重症感染组中, ATA 单倍型患儿的 IL-10 水平较其他单倍型显著降低, 而 GCC 患儿的 IL-10 水平较其他单倍型显著升高 ($P<0.05$); 轻症组和健康对照组各单倍型间的 IL-10 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** IL-10 基因多态性与 IL-10 表达水平及 EV71 感染严重程度有关。
[中国当代儿科杂志, 2019, 21(8): 789-795]

[关键词] 肠道病毒 71 型; 白细胞介素-10; 基因多态性; 儿童

Association of interleukin-10 gene polymorphism with enterovirus 71 infection in children

ZHAO Na, LI Jing, CHEN Zhen-Zhen, CHU Zhu-Fei, CHEN Zong-Bo. Department of Neonatology, Women & Children's Hospital Affiliated to Qingdao University, Qingdao, Shandong 266000, China (Chen Z-B, Email: 953312209@qq.com)

Abstract: Objective To study the association of interleukin-10 (IL-10) -1082A/G, -819C/T, and -592C/A polymorphisms with IL-10 level and the severity of enterovirus 71 (EV71) infection in children. **Methods** A total of 137 children with hand-foot-mouth disease due to EV71 infection were enrolled as EV71 infection group, which was further divided into mild group with 91 children and severe group with 46 children, and 122 healthy children who underwent physical examination were enrolled as healthy control group. Related clinical data were collected. ELISA was used to measure the serum level of IL-10, and polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism was used to analyze IL-10 -1082A/G, -819C/T and -592C/A polymorphisms. **Results** Compared with the healthy control group, the children with EV71 infection had significantly higher frequency of -1082 AA genotype and A allele ($P<0.05$). Among the children with EV71 infection, the severe group had significantly higher frequency of -1082 AA genotype and A allele than the mild group ($P<0.05$), while there was no significant difference in the distribution of IL-10 -819C/T and IL-10 -592C/A polymorphisms between the two groups ($P>0.05$). The severe group had a significantly higher serum level of IL-10 than the mild group and the healthy control group. IL-10 -1082 AA genotype, -819 TT genotype, and -592

[收稿日期] 2019-02-13; **[接受日期]** 2019-07-08

[基金项目] 国家自然科学基金 (31640047)。

[作者简介] 赵娜, 女, 博士, 主治医师。

[通信作者] 陈宗波, 女, 主任医师。Email: 953312209@qq.com。

AA genotype were associated with the low expression of IL-10 ($P<0.05$). As for haplotype, the EV71 infection group had a significantly lower frequency of GCC haplotype than the healthy control group ($P<0.05$). In the severe group, the children with ATA haplotype had a significantly lower IL-10 level than those with other haplotypes, and the children with GCC haplotype had a significantly higher IL-10 level than those with other haplotypes ($P<0.05$). There was no significant difference in IL-10 level between children with different haplotypes in the mild group and the healthy control group ($P>0.05$). **Conclusions** IL-10 gene polymorphisms are associated with IL-10 expression and the severity of EV71 infection in children. [Chin J Contemp Pediatr, 2019, 21(8): 789-795]

Key words: Enterovirus 71; Interleukin-10; Gene polymorphism; Child

肠道病毒 71 型 (enterovirus 71, EV71) 是儿童手足口病最常见的病原之一。与其他肠道病毒家族成员相比, EV71 具有高度的嗜神经性, 可导致更严重的并发症, 病死率和致残率较高。它可引起大规模流行, 并导致严重的脑炎和致命的肺部并发症^[1]。自 1969 年首次确定以来, 全世界发生了多次 EV71 暴发流行^[2-4]。EV71 感染与两个主要因素有关: 宿主免疫因素和病毒致病性。最近的研究表明, 细胞因子的遗传倾向与 EV71 的感染和手足口病的严重程度有关^[5-8], 多个基因, 可能包括许多还未确定的基因, 可以调节这种遗传易感性。到目前为止, EV71 感染及相关并发症的发病机制尚不清楚。因此, 需要进一步的研究来解决这些深层次的问题。

白细胞介素 -10 (interleukin-10, IL-10) 是趋化因子家族的成员, 与许多疾病, 包括自身免疫性疾病及感染性疾病的发病有关^[9-11]。多种免疫细胞可产生该因子, 包括单核细胞、巨噬细胞、成纤维细胞、肥大细胞等。IL-10 主要介导中性粒细胞从外周血进入组织的活化和迁移, 并参与机体调节多种病原体的炎症反应^[12]。目前已证实 IL-10 的启动子区存在三种基因多态性, 分别位于 -1082 A/G (rs1800896)、-819 T/C (rs1800871) 和 -592 A/C (rs1800872)^[13], 并且一些 IL-10 的基因多态性与感染性疾病相关^[14-15]。然而, 目前关于 IL-10 及其基因多态性与 EV71 感染之间的相关性研究较少。因此, 本研究旨在探讨 IL-10 基因多态性 (启动子区 -1082、-819 和 -592 的三个位点多态性)、EV71 感染、IL-10 血清浓度变化之间的关系, 及在严重 EV71 感染发展中的相互作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2016 年 5 月至 2018 年 11 月就诊于青岛

大学附属医院儿科和青岛大学附属青岛市妇女儿童医院的 137 例 EV71 感染手足口病患儿为研究对象, 其中男 85 例, 女 52 例, 年龄 0.6~10 岁, 平均年龄 4.8 ± 3.8 岁。手足口病诊断标准符合中国卫生部发布的《手足口病诊疗指南 (2010 年版)》^[16], 所有患儿均经逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测且结果显示 EV71 核酸阳性。

按照病情严重程度分为轻症组 ($n=91$) 和重症组 ($n=46$)。轻症组患儿仅临床表现为发热、口腔溃疡和手足皮肤病变, 无并发症。重症组患儿病情累及神经、呼吸、循环和其他系统, 具体表现为: (1) 意识障碍、共济失调、反应差、持续性痉挛、昏迷、灌注不良、心力呼吸衰竭、肺水肿、肺出血及重要脏器的功能障碍。(2) 神经系统阳性表现 (脑膜刺激、病理反射等); (3) 脑脊液 (CSF) 细胞增多 (白细胞计数 >5 个/ mm^3)、异常磁共振成像 (MRI) 等。采集两组患儿的一般情况、临床特征、实验室结果、脑磁共振成像 (MRI) 和脑电图 (EEG) 结果。另选取 122 例行健康体检的儿童为健康对照组, 其中男 60 例, 女 62 例, 年龄范围 2.5~8 岁, 平均年龄 5.8 ± 2.2 岁。健康对照组儿童血常规检查正常, 无 EV71 感染, 无过敏性疾病, 近期末使用抗生素。本研究获得青岛大学医学院伦理委员会批准, 并经过所有监护人同意并签署了书面的知情同意书。

1.2 病毒检测

采用 RNA 提取试剂盒 (大连宝生物工程有 限公司) 从血清中提取 RNA。采用计算机软件针对 EV71 的 VP1 区域基因序列设计特异性引物, EV71 上游引物序列: 5'-GTTCTTACATAGCA-3', 下游引物序列: 5'-TTGACAACTGAGGTT-3', 片段长度为 341 bp。PCR 扩增反应体系为: $5 \times$ 扩增缓冲液 10 μL , 上、下游引物 (10 pmol/ μL) 各 5 μL , 酶混合物 (200 U/ μL) 2 μL , dNTP 混合物 (2.5 mmol/L) 2 μL , RNA 10 μL , 加双蒸水

至 50 μ L。PCR 扩增反应条件为：50 $^{\circ}$ C 30 min；95 $^{\circ}$ C 15 min；94 $^{\circ}$ C 1 min，52 $^{\circ}$ C 45 s，72 $^{\circ}$ C 1 min，40 个循环；72 $^{\circ}$ C 10 min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳检测，并经 DNA 测序进一步验证。

1.3 IL-10 基因多态性分析

使用 DNA 提取试剂盒（Omega，美国），从 2 mL EDTA 处理的全血样本中提取基因组 DNA。采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性方法（PCR-RFLP）对 -1082 A/G、-819 C/T、-592 C/A 位置的多态性进行分析。其中，-1082 位点上游引物为 5'-CTCGCCGCAACCCAACTGGC-3'，下游引物为 5'-TCTTACCTATCCCTACTTCC-3'，片段长度为 136 bp；-819 位点上游引物为 5'-TGGCTCCCTTACCTTCTAC-3'，下游引物为 5'-AGGCTCCTTTACCCCGATTT-3'，片段长度为 561 bp；-592 位点上游引物为 5'-ATCCAAGACAAC-ACTACTAA-3'，下游引物为 5'-AAATATCCTCAA-AGTTCC-3'，片段长度为 588 bp。PCR 反应体系：5 $\times$ 扩增缓冲液 10 μ L，上、下游引物（10 pmol/ μ L）各 5 μ L，酶混合物（100 U/ μ L）2 μ L，dNTP 混合物（100 μ mol/L）2 μ L，基因组 DNA 10 μ L，加双蒸水至 50 μ L。PCR 反应条件：94 $^{\circ}$ C 5 min；94 $^{\circ}$ C 30 s，57 $^{\circ}$ C 55 s，72 $^{\circ}$ C 1 min，循环 35 次；72 $^{\circ}$ C 8 min。-1082 A/G、-819 C/T、-592 C/A 位点的产物在 37 $^{\circ}$ C 环境中分别用 Mnl I、Msl I、Rsa I 限制性内切酶消化 4 h。将消化后的片段进行 3% 琼脂糖凝胶电泳及 0.1% 溴化乙锭染色。通过各自反应体系和消化酶，得到不同片段长度的产物。

1.4 IL-10 水平测定

将血液样本离心以获得血清，然后采用 ELISA 法测定患儿及健康对照组儿童血清中 IL-10 蛋白水平，具体实验步骤参照高灵敏度 IL-10 酶联免疫吸附测定试剂盒（Orgenium Laboratories，芬兰）说明书进行。

1.5 统计学分析

使用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行统计学分析。符合正态分布计量资料采用均数 $\pm$ 标准差（ $\bar{x} \pm s$ ）表示，两组间比较采用两独立样本 *t* 检验；多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 SNK-*q* 检验。计数资料采用百分率或构成比（%）表示，两组间比较采用四格表卡方检验；多组间比较采用行 $\times$ 列表卡方检验，组间两两比较采用卡方分割法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义，卡方分割调整检验水准为 $P < 0.0125$ 。

2 结果

2.1 临床资料

重症组患儿年龄小于健康对照组和轻症组（ $P < 0.05$ ），性别在三组间比较差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。重症组患儿 WBC $> 10 \times 10^9/L$ 比例高于健康对照组和轻症组（ $P < 0.05$ ）。与轻症组患儿相比，重症组患儿发热天数较长，C 反应蛋白 $> 8 \text{ mg/L}$ 、血糖 $\geq 7.0 \text{ mmol/L}$ 及天冬氨酸氨基转移酶 $\geq 60 \text{ U/L}$ 比例较高（ $P < 0.05$ ）；但两组丙氨酸氨基转移酶 $\geq 60 \text{ U/L}$ 、肌酸激酶同工酶 MB $\geq 35 \text{ U/L}$ 比例比较差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ）。见表 1。

表 1 各组儿童临床资料比较

组别	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别 (男/女, 例)	发热持续 时间 ($\bar{x} \pm s$, d)	WBC $> 10 \times 10^9/L$ [例 (%)]	CRP $> 8 \text{ mg/L}$ [例 (%)]	血糖 $\geq 7.0 \text{ mmol/L}$ [例 (%)]	ALT $\geq 60 \text{ U/L}$ [例 (%)]	AST $\geq 60 \text{ U/L}$ [例 (%)]	CK-MB $\geq 35 \text{ U/L}$ [例 (%)]
健康对照组	122	5.8 $\pm$ 2.2	60/62	0	6(4.9)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
轻症组	91	5.2 $\pm$ 3.6	55/36	2.4 $\pm$ 1.6	21(23.1) ^c	11(12.1)	1(1.1)	5(5.5)	12(13.2)	1(1.1)
重症组	46	4.0 $\pm$ 2.9 ^{a,b}	30/16	3.9 $\pm$ 2.2	26(56.5) ^{c,d}	18(39.1)	7(15.2)	3(6.5)	16(34.8)	3(6.5)
$\chi^2/F/t$ 值		4.32	4.62	4.55	30.43	13.39	11.05	0.02	8.76	3.19
<i>P</i> 值		< 0.001	0.099	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.001	0.888	0.003	0.074

注：a 示与健康对照组相比， $P < 0.05$ ；b 示与轻症组相比， $P < 0.05$ ；c 示与健康对照组相比， $P < 0.0125$ ；d 示与轻症组相比， $P < 0.0125$ 。[CRP] C 反应蛋白；[ALT] 丙氨酸氨基转移酶；[AST] 天冬氨酸氨基转移酶；[CK-MB] 肌酸激酶同工酶 MB。

2.2 等位基因和基因型频率

各组基因型频率与 Hardy-Weinberg 平衡相符 ($P>0.05$)。与健康对照组相比, EV71 感染组患儿的 IL-10-1082 基因型分布差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; 将 AG 与 GG 基因型合并后, 健康对照组 AG+GG 基因型频率为 61.5% (75/122), EV71 感染组 AG+GG 基因型频率为 40.1% (55/137), EV71 感染组 AA 基因型频率高于健康对照组 ($\chi^2=11.74$, $P=0.001$) ; 且等位基因 A 的频率亦高于健康对照组 ($P=0.004$)。与轻症组患儿相

比, 重症组患儿的 IL-10-1082 基因型分布差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; 将 AG 与 GG 基因型合并后, 轻症组 AG+GG 基因型频率为 48% (44/91), 重症组 AG+GG 基因型频率为 24% (11/46), 重症组 AA 基因型频率高于轻症组 ($\chi^2=7.59$, $P=0.006$) ; 且等位基因 A 的频率亦显著高于轻症组 ($P<0.05$)。对于 IL-10-819 和 IL-10-592 位点, 健康对照组和 EV71 感染组患儿之间, 以及重症组和轻症组患儿之间比较, 基因型分布和等位基因频率差异均无统计学差异 ($P>0.05$)。见表 2~3。

表 2 EV71 感染组和健康对照组 IL-10-1082、-819、-592 位点的等位基因和基因型分布 [例(%)]

组别	n	-1082					-819				
		等位基因		基因型			等位基因		基因型		
		A	G	AA	AG	GG	C	T	CC	CT	TT
健康对照组	122	163(66.8)	81(33.2)	47(38.5)	69(56.6)	6(4.9)	167(68.4)	77(31.6)	53(43.4)	61(50.0)	8(6.6)
EV71 感染组	137	214(78.1)	60(21.9)	82(59.9)	50(36.5)	5(3.6)	182(66.4)	92(33.6)	55(40.1)	72(52.6)	10(7.3)
χ^2 值		8.32		18.53			0.24		0.30		
P 值		<0.05		<0.05			>0.05		>0.05		

-592				
等位基因		基因型		
A	C	AA	AC	CC
99(36.1)	161(66.0)	9(7.4)	65(53.3)	48(39.3)
83(34.0)	175(63.9)	15(10.9)	20(43.5)	53(38.7)
8.32		18.53		
<0.05		<0.05		

表 3 EV71 轻症组和重症组的 IL-10-1082、-819、-592 位点的等位基因和基因型分布 [例(%)]

组别	n	-1082					-819				
		等位基因		基因型			等位基因		基因型		
		A	G	AA	AG	GG	C	T	CC	CT	TT
轻症组	91	134(73.6)	48(26.4)	47(51.6)	40(44.0)	4(4.39)	122(67.0)	60(33.0)	37(40.7)	48(52.7)	6(6.6)
重症组	46	80(87.0)	12(13.0)	35(76.1)	10(21.7)	1(2.17)	60(73.2)	32(39.0)	18(39.1)	24(52.2)	4(8.7)
χ^2 值		6.35		29.97			0.09		0.20		
P 值		<0.05		<0.05			>0.05		>0.05		

-592				
等位基因		基因型		
A	C	AA	AC	CC
53(29.1)	129(70.9)	7(7.7)	39(42.9)	45(49.5)
36(39.1)	56(60.9)	8(17.4)	20(43.5)	18(39.1)
2.79		3.50		
>0.05		>0.05		

2.3 单倍型分析

在EV71感染组和健康对照组中共发现6个单倍型。在EV71感染组中,ACC单倍型最常见,而在健康对照组中,GCC单倍型最常见。健康对照组的GCC频率明显高于EV71感染组($P<0.05$)。

EV71感染组与健康对照组其他单倍型的分布比较差异无统计学意义($P>0.05$)。此外,轻症和重症EV71感染组患儿的单倍型分布比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表4~5。

表4 EV71感染组和健康对照组的IL-10单倍型分布 [例(%)]

组别	<i>n</i>	GCC	ACC	ATA	ACA	ATC	GCA
健康对照组	122	75(30.7)	68(27.9)	59(24.2)	18(7.4)	18(7.4)	6(2.5)
EV71感染组	137	55(20.1)	90(32.8)	62(22.6)	32(11.7)	30(10.9)	5(1.8)
χ^2 值		7.81	1.51	0.17	2.74	1.96	0.25
<i>P</i> 值		0.005	0.219	0.680	0.098	0.162	0.617

表5 轻症组和重症组的IL-10单倍型分布 [例(%)]

组别	<i>n</i>	GCC	ACC	ATA	ACA	ATC	GCA
轻症组	91	40(22.0)	63(34.6)	37(20.3)	20(11.0)	19(10.4)	3(1.6)
重症组	46	15(16.3)	27(29.3)	25(27.2)	12(13.0)	11(12.0)	2(2.2)
χ^2 值		1.23	0.77	1.64	0.25	0.14	0.03
<i>P</i> 值		0.267	0.380	0.200	0.617	0.708	0.862

2.4 血清IL-10浓度

IL-10表达水平在健康对照组(78 ± 8 pg/mL)、轻症组(86 ± 7 pg/mL)、重症组(109 ± 10 pg/mL)之间比较差异有统计学意义($F=20.87$, $P<0.001$);其中重症组患儿IL-10表达水平明显高于轻症组和健康对照组($P<0.05$);轻症组IL-10表达水平明显高于健康对照组($P<0.05$)。各组IL-10-1082 AA基因型、-819 TT基因型和-592 AA基因型均与

IL-10的低表达有关($P<0.05$),见表6。

重症EV71感染组中,GCC单倍型患儿的IL-10水平明显高于ATA、ACC及其他单倍型患儿($P<0.05$),且ATA单倍型患儿的IL-10水平明显低于ACC及其他单倍型患儿($P<0.05$)。在轻症EV71感染组和健康对照组中,GCC、ATA、ACC及其他单倍型患儿的IL-10水平比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表7。

表6 各组IL-10-1082、-819、-592位点基因型中IL-10的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	例数	-1082		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	-819		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	-592		<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
		AA	AG+GG			TT	CT+CC			AA	AC+CC		
健康对照组	122	75 $\pm$ 6	81 $\pm$ 6	5.13	<0.001	77 $\pm$ 4	81 $\pm$ 5	4.35	<0.001	76 $\pm$ 4	82 $\pm$ 5	8.22	<0.001
轻症组	91	83 $\pm$ 5	90 $\pm$ 5	7.10	<0.001	85 $\pm$ 6	88 $\pm$ 5	2.47	0.015	83 $\pm$ 3	88 $\pm$ 5	3.89	<0.001
重症组	46	107 $\pm$ 7	113 $\pm$ 7	2.47	0.017	106 $\pm$ 8	113 $\pm$ 7	3.08	0.004	107 $\pm$ 6	112 $\pm$ 6	2.63	0.012

表7 各组IL-10单倍型中IL-10的表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	例数	GCC	ATA	ACC	其他	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
健康对照组	122	78 $\pm$ 7	78 $\pm$ 7	79 $\pm$ 7	80 $\pm$ 6	1.39	0.246
轻症组	91	87 $\pm$ 6	85 $\pm$ 7	86 $\pm$ 6	87 $\pm$ 6	1.65	0.178
重症组	46	114 $\pm$ 6	104 $\pm$ 6 ^a	109 $\pm$ 7 ^{a,b}	109 $\pm$ 10 ^{a,b}	2.71	0.045

注:a示与GCC单倍型相比, $P<0.05$;b示与ATA单倍型相比, $P<0.05$ 。

2.5 预后和随访

轻症EV71感染的患儿均预后良好,治愈出院。重症EV71感染患儿中,43例治愈出院;1例患儿(男性,2.5岁)死亡;出院时2例存在神经系统异常:(1)男,3.7岁,双下肢肌力异常,出院时需要康复训练,营养神经等治疗,(2)女,1.3岁,出院时需要口服药物控制惊厥发作,但在之后的6个月随访中发现,他们的生理功能和心理功能均恢复至正常。

3 讨论

IL-10是一种有效的抗炎细胞因子调节剂,它通过抑制多种促炎细胞因子的合成和下调Th1细胞介导的免疫反应发挥其抗炎作用^[17-18]。据报道,在严重感染性疾病中,IL-10水平在血液循环中升高,IL-10水平的升高与病理性炎症反应的严重程度和病死率相关^[19]。Lowe等^[20]报道称,较高水平的IL-10与早期全身炎症反应患者的死亡相关。在本研究中,我们得到了相似的结果,发现随着EV71感染程度的加重,IL-10水平越来越高,但是尚不清楚IL-10的增高会加速还是延缓感染的恶化。由于IL-10是公认的抗炎因子,其增高对炎症反应产生抑制作用,所以我们推测在感染进程中,先发生了过度的炎症反应,接着是IL-10水平的升高以对抗过度的炎症反应。换句话说,IL-10水平的升高不会导致EV71感染的加重,反而可能调节过度的炎症反应对机体造成的损害。但这一假说尚需进一步验证。

人类IL-10基因位于1号染色体(1q31-1q32),其受体位于11号染色体^[21]。IL-10基因由5个外显子组成,编码178个氨基酸组成蛋白质^[22]。目前已证实IL-10的浓度受启动子区控制,启动子区域具有高度多态性^[23]。有研究表明,IL-10-1082G等位基因与IL-10的高表达有关,而-592A和-819T等位基因与IL-10的低表达有关^[24]。在本研究中,我们也试图找出IL-10的血清浓度与基因型或单倍型之间的关系。

虽然EV71感染存在一些严重并发症可导致高病死率和高残疾率,如脑干脑炎、神经源性肺水肿、肺出血等,评估IL-10和EV71感染重症病例之间的关系的的研究仍然很少。本研究评估了

IL-10和IL-10基因启动子(-1082A/G、-819C/T和-592C/A)与不同程度的EV71感染的相关性,结果发现-1082A等位基因在重症EV71感染患儿中的分布显著高于轻症患儿及健康对照组,这与Li等^[25]的研究结果相似。本研究中,IL-10-819C/T和IL-10-592C/A多态性在各组间的分布差异无统计学意义。但是与之不同,Wang等^[26]在对EB病毒感染患者的研究中得到了相反的结果,原因可能是IL-10的其他多态性基因及其他细胞因子可能同时控制IL-10的表达及感染的进展。此外,本研究还发现,重症组的IL-10水平明显高于轻症组和健康对照组,IL-10-1082AA基因型、-819TT基因型和-592AA基因型与IL-10的低表达相关,这一发现与以往结论一致^[27]。仅在重症组中,IL-10在各单倍型间的表达存在差异,这表明该细胞因子的单倍型对免疫过程有重要影响。因此,需要进一步深入的研究来解释这一现象。

本研究存在一定局限性。在本研究中,各组的样本量非常小,因此,可能存在结果为假阳性或者假阴性的情况。本研究只纳入汉族人群,因此本研究结果和其他研究结果之间的差异也可能是由于人种不同造成的。此外,调控IL-10表达的信号通路是复杂的。不同的细胞因子可以通过不同或相同的途径调节IL-10的表达^[28]。细胞因子可形成相互作用的复杂的调控网络。因此,研究其他炎性和抗炎细胞因子调节位点的多态性也很重要。将来需要通过进一步扩大样本量及更为合理的实验设计来处理以上问题。

综上所述,根据本研究结果,可以得出结论,至少在中国EV71感染患者中,IL-10启动子区域的基因多态性对疾病可起到易感或保护作用;可能IL-10-1082AA基因型是严重EV71感染的危险因素。此外,本研究还证实了IL-10水平随着EV71感染程度的加重而逐渐升高,同时这一状态也受到自身基因多态性和单倍型的调控。

[参 考 文 献]

- [1] Chang LY, Lin TY, Hsu KH, et al. Clinical features and risk factors of pulmonary edema after enterovirus 71-related hand, foot, mouth disease[J]. Lancet, 1999, 354(9191): 1682-1686.
- [2] Chang PC, Chen SC, Chen KT. The current status of the disease caused by Enterovirus 71 infections: epidemiology, pathogenesis, molecular epidemiology, and vaccine

- development[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2016, 13(9): pii: E890.
- [3] Li J, Li Y, Zhang S. Analysis of an imported subgenotype C2 strain of human Enterovirus 71 in Beijing, China, 2015[J]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 2337.
- [4] Chen M, Ju Y, Chen M. Epidemiological and genetic characteristics of EV71 in hand, foot, and mouth disease in Guangxi, southern China, from 2010 to 2015[J]. *PLoS One*, 2017, 12(12): e0188640.
- [5] Hu J, Chen Z, Liu X, et al. Association of CPT II gene with risk of acute encephalitis in Chinese children[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2014, 33(10): 1077-1082.
- [6] Lv T, Li J, Han Z, et al. Association of interleukin-17F gene polymorphism with enterovirus 71 encephalitis in patients with hand, foot, and mouth disease[J]. *Inflammation*, 2013, 36(4): 977-981.
- [7] 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.
- [8] Li F, Liu XP, Li JA, et al. Correlation of an interleukin-4 gene polymorphism with susceptibility to severe enterovirus 71 infection in Chinese children[J]. *Arch Virol*, 2015, 160(4): 1035-1042.
- [9] Peñaloza HF, Nieto PA, Muñoz-Durango N, et al. Interleukin-10 plays a key role in the modulation of neutrophils recruitment and lung inflammation during infection by *Streptococcus pneumoniae*[J]. *Immunology*, 2015, 146(1): 100-112.
- [10] Kim H, Kwon KW, Kim WS, et al. Virulence-dependent induction of interleukin-10-producing-tolerogenic dendritic cells by *Mycobacterium tuberculosis* impedes optimal T helper type 1 proliferation[J]. *Immunology*, 2017, 151(2): 177-190.
- [11] He L, Zhou S, Qi Q, et al. The regulation of regulation: interleukin-10 increases CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells but impairs their immunosuppressive activity in murine models with schistosomiasis japonica or asthma[J]. *Immunology*, 2018, 153(1): 84-96.
- [12] Ray A, Dittel BN. Mechanisms of regulatory B cell function in autoimmune and inflammatory diseases beyond IL-10[J]. *J Clin Med*, 2017, 6(1): pii: E12.
- [13] Chatterjee A, Rathore A, Sivarama P, et al. Genetic association of IL-10 gene promoter polymorphism and HIV-1 infection in North Indians[J]. *J Clin Immunol*, 2009, 29(1): 71-77.
- [14] Azab SF, Abdalrhady MA, Elsaadany HF, et al. Interleukin-10 -1082 G/A gene polymorphisms in Egyptian children with CAP: a case-control study[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2016, 95(26): e4013.
- [15] Ke Z, Yuan L, Ma J, et al. IL-10 polymorphisms and tuberculosis susceptibility: an updated meta-analysis[J]. *Yonsei Med J*, 2015, 56(5): 1274-1287.
- [16] 中华人民共和国卫生部. 手足口病诊疗指南 (2010 年版)[J]. 国际呼吸杂志, 2010, 30(24): 1473-1475.
- [17] Lin Y, Zheng C, Liu Y, et al. Effect of adenovirus mediated β 2-AR overexpression on IL-10 level secreted by cardiomyocytes of heart failure rats[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(3): 1349-1354.
- [18] Chang TP, Poltoratsky V, Vancurova I. Bortezomib inhibits expression of TGF β 1, IL-10, and CXCR4, resulting in decreased survival and migration of cutaneous T cell lymphoma cells[J]. *J Immunol*, 2015, 194(6): 2942-2953.
- [19] Loisa P, Rinne T, Laine S, et al. Anti-inflammatory cytokine response and the development of multiple organ failure in severe sepsis[J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2003, 47(3): 319-325.
- [20] Lowe PR, Galley HF, Abdel-Fattah A, et al. Influence of interleukin-10 polymorphisms on interleukin-10 expression and survival in critically ill patients[J]. *Crit Care Med*, 2003, 31(1): 34-38.
- [21] Karjalainen J, Hulkkonen J, Nieminen MM, et al. Interleukin-10 gene promoter region polymorphism is associated with eosinophil count and circulating immunoglobulin E in adult asthma[J]. *Clin Exp Allergy*, 2003, 33(1): 78-83.
- [22] Sabat R, Grütz G, Warszawska K, et al. Biology of interleukin-10[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2010, 21(5): 331-334.
- [23] Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor[J]. *Annu Rev Immunol*, 2001, 19: 683-765.
- [24] Westendorp RG, Langermans JA, Huizinga TW, et al. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease[J]. *Lancet*, 1997, 349(9046): 170-173.
- [25] Li Q, He H, Guo Y, et al. Impact of IL-10-1082A/G gene polymorphism on the severity of EV71 infection in Chinese children[J]. *Arch Virol*, 2018, 163(2): 501-508.
- [26] Wang Y, Ai J, Xie Z, et al. IL-10-592 A/C polymorphisms is associated with EBV-HLH in Chinese children[J]. *Hematology*, 2016, 21(2): 95-98.
- [27] Turner DM, Williams DM, Sankaran D, et al. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter[J]. *Eur J Immunogenet*, 1997, 24(1): 1-8.
- [28] Lin Z, Wang Z, Hegarty JP, et al. Genetic association and epistatic interaction of the interleukin-10 signaling pathway in pediatric inflammatory bowel disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2017, 23(27): 4897-4909.

(本文编辑: 万静)