

白细胞介素-8基因多态性与颅内动脉粥样硬化性狭窄的相关性分析

高策¹, 黄建敏², 蒋勇明², 云艳芳², 杨长燕², 陈海燕²

(1.右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;

2.右江民族医学院附属医院神经内科, 广西 百色 533000)

摘要:目的 探究白细胞介素-8(IL-8)基因单核苷酸多态性与颅内动脉粥样硬化性狭窄(ICAS)的相关性。方法 选取2018年10月-2019年10月在右江民族医学院附属医院神经内科收治的150例ICAS患者设为病例组,另选取同期健康体检者150名设为对照组,应用PCR-SeagerDNA测序法对两组外周血IL-8基因-251A/T位点的基因多态性进行检测,评估两组基因型频率和等位基因频率分布的差异性。结果 IL-8基因-251A/T位点检测到AA、AT和TT 3种基因型,两组等位基因分布和基因型分布比较,差异有统计学意义($P<0.05$);与AT+TT基因型相比,AA基因型患者ICAS发病风险增加($OR=1.732$, 95%CI: 1.013~2.961)。结论 IL-8基因-251A/T位点单核苷酸多态性可能与ICAS发病易感性有关,AA基因型可能是ICAS易感基因型。

关键词: 白细胞介素-8; 颅内动脉粥样硬化性狭窄; 单核苷酸多态性

中图分类号: R743.3

文献标识码: A

DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2022.10.028

文章编号: 1006-1959(2022)10-0117-03

Correlation Analysis of Interleukin-8 Gene Polymorphism and Intracranial Atherosclerotic Stenosis

GAO Ce¹, HUANG Jian-min², JIANG Yong-ming², YUN Yan-fang², YANG Chang-yan², CHEN Hai-yan²

(1. Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;

2. Department of Neurology, Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To explore the correlation between single nucleotide polymorphism of interleukin-8 (IL-8) gene and intracranial atherosclerotic stenosis (ICAS). **Methods** A total of 150 ICAS patients admitted to the Neurology Department of the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities from October 2018 to October 2019 were selected as the case group, and 150 healthy people in the same period were selected as the control group. PCR-SeagerDNA sequencing method was used to detect the genetic polymorphism of IL-8 gene-251A/T site in peripheral blood of the two groups, and the difference in the distribution of genotype frequency and allele frequency between the two groups was evaluated. **Results** AA, AT and TT genotypes were detected at IL-8 gene-251A/T site. There were significant differences in allele distribution and genotype distribution between the two groups ($P<0.05$); Compared with AT+TT genotype, the risk of ICAS in AA genotype patients was increased ($OR=1.732$, 95% CI: 1.013-2.961). **Conclusion** IL-8 gene-251A/T polymorphism may be associated with the susceptibility of ICAS, AA genotype may be the susceptible genotype of ICAS.

Key words: Interleukin-8; Intracranial atherosclerotic stenosis; Single nucleotide polymorphism

颅内动脉粥样硬化性狭窄(intracranial atherosclerotic stenosis, ICAS)是以进行性脂质沉积、纤维组织增生和炎性细胞浸润为特征的病理过程,既能缓慢加重血管狭窄,又能引起栓子脱落堵塞血管,导致脑血液循环障碍,现已成为缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)的重要病因^[1]。随着人们生活水平的提高,IS发病率也在以每年8.7%的速率递增^[2]。IS因具有高致残率及致死率的特点,给患者及其家庭、社会带来了极重的负担。因此,探究ICAS的致病机制对IS防治具有重要意义。在动脉粥样硬化形成众多机制学说中,慢性炎症与动脉粥样硬化密切相关,其中白细胞介素-8(interleukin, IL-8)作为经典炎症趋化因子,不仅能够促进中性粒细胞在炎症细胞的聚集,同时也能诱导血管内皮细胞及平滑肌细胞增殖和迁移,更易促进动脉粥样硬化形成^[3]。目

前临床关于IL-8基因多态性与动脉粥样硬化的研究相对较少,尤其是IL-8基因启动子-251A/T位点。基于此,本研究主要探究IL-8基因-251A/T位点与ICAS易感性的关系,现报道如下。

1 资料及方法

1.1 一般资料 选取2018年10月-2019年10月在右江民族医学院附属医院神经内科收治的150例ICAS患者设为病例组,另选取同期健康体检者150名设为对照组。纳入标准:①病例组患者符合1995年全国第四届脑血管病学术会议制定的ICAS诊断标准^[4];②年龄>55岁;③临床资料完善。排除标准:①急性心肌梗死、凝血障碍致脑梗死患者;②自身免疫性疾病及严重肝、肾功能不全患者;③有外科手术、急慢性感染、创伤等病史;④大动脉炎、颅内感染、血管畸形、心源性栓塞者;⑤造影剂过敏等脑血管造影禁忌者。病例组男90例,女60例;年龄60~76岁,平均年龄(67.51±7.56)岁。对照组男77例,女73例;年龄59~74岁,平均年龄(66.52±6.78)岁。两组年龄、性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经右江民族医学院附属医院伦理

作者简介:高策(1992.3-),男,河南永城人,硕士研究生,住院医师,主要从事脑血管病的研究

通讯作者:黄建敏(1972.4-),男,广西百色人,硕士,教授,主任医师,主要从事脑血管病的研究

委员会批准,患者知情同意并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 抽取受试对象空腹外周静脉血 1.5 ml,应用通用型动物基因组 DNA 提取试剂盒(北京肇科新业生物技术有限公司)并严格按照操作说明书提取 DNA,另应用紫外分光光度仪及琼脂凝胶电泳检测 DNA 样本纯度,舍弃不合格的样本。

1.2.2 引物设计及合成 在 PubMed 中检索 IL-8 基因的全序列,选取 IL-8 基因在-251A/T 位点为靶点,应用美国国家生物信息中心(NCBI)在线设计引物,通过上海生工生物工程有限公司合成引物,其上游引物为 5-TGGCTGGCTTATCTTCACCATCA-3',下游引物为 5-TCAGGGCAAACCTGAGTCATCA-3'。

1.2.3 目的基因分型及测序 对选取的基因位点引物进行聚合酶链反应(PCR)扩增,PCR 反应在 50 μ l 体系中进行,其中包括上、下游引物各 2 μ l,基因组 DNA 1 μ l,金牌 Mix(green)45 μ l,ddH₂O 补足 50 μ l。扩增条件:98 $^{\circ}$ C 预变性 2 min;98 $^{\circ}$ C 10 s,54 $^{\circ}$ C 30 s,

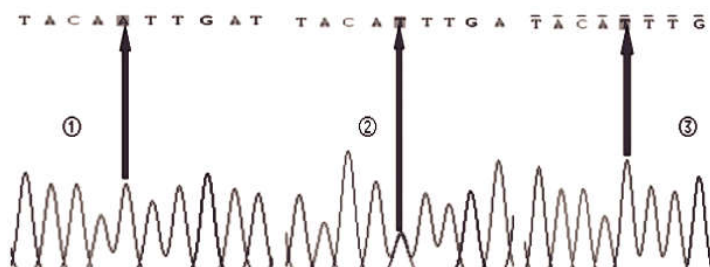
72 $^{\circ}$ C 30 s,重复 30 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min。对 PCR 产物应用 1%琼脂凝胶电泳检测其纯度,并使用 DNA 凝胶回收试剂盒对 PCR 产物进行回收纯化。应用 ABI 公司 DNA 测序仪(3730)测序,测序峰图分析采用 chromsa 软件进行分析。

1.3 统计学方法 所有数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验;计数资料以[n(%)]表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-8 基因-251A/T 位点基因分型 对 IL-8 基因-251A/T 位点峰型图分析,检测到 AA、AT、TT 三种基因型,见图 1。经 Hardy-Weinberg 平衡检验分析发现,其符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,所选样本具有代表性。

2.2 IL-8 基因-251A/T 位点等位基因与基因型频率分析 两组等位基因及基因型分布比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。



注:①为 AA 基因峰型图片;②为 AT 基因峰型图;③为 TT 基因峰型图

图 1 IL-8 基因-251A/T 位点峰型图

表 1 两组 IL-8 基因-251A/T 位点等位基因及基因型分布比较[n(%)]

组别	n	基因型分布			等位基因分布	
		AA	AT	TT	A	T
病例组	150	44(29.30)	64(42.70)	42(28.00)	152(50.70)	148(49.30)
对照组	150	29(19.30)	57(38.00)	64(42.70)	115(38.30)	185(61.70)
χ^2			8.053			9.238
P			0.018			0.002

2.3 病例组 IL-8 基因-251A/T 位点与 ICAS 易感性分析 与 AT+TT 基因型相比,AA 基因型的 ICAS 发病的易感性风险增加($OR=1.732, 95\%CI:1.013\sim2.961$)。

3 讨论

ICAS 是动脉粥样硬化重要病因,动脉粥样硬化除了进展缓慢外,也会脱落形成血栓,当堵塞重要脑供血区时,可能会危及生命。有研究表明^[5],ICAS 患病风险随着年龄增加而增加。Lu M 等^[6]研究发现,老年人群的颈动脉斑块进展速度比年轻人群更快。ICAS 目前发病机理尚不明确,在众多学说中,慢性炎症学说越来越被临床认可。

作为经典的炎症趋化因子,IL-8 最早是由

Yoshimur 通过刺激人单核细胞产生的具有中性粒细胞趋化功能的蛋白质^[7],其位于第 4 号染色体,包含 4 个外显子和 3 个内含子^[8,9]。IL-8 主要是通过与受体结合,从而发挥生物学作用^[10],其与动脉粥样硬化密切相关。An Z 等^[11]研究显示,在动脉粥样硬化小鼠血清 IL-8 水平较高。另外,郑晓丽等^[12]应用高脂动脉硬化模型检测不同时期 IL-8 的含量变化,结果发现在动脉粥样硬化的早期 IL-8 水平明显升高。Kis Z 等^[13]研究发现,IL-8 表达量在非心源性脑卒中患者中明显高于健康人群。另外,Marino F 等^[14]研究发现,在有颈动脉斑块的患者中外周循环和斑块内 IL-8 均呈高表达。IL-8 促进动脉粥样硬化机制是多

方面的,其中 Tang XE 等^[15]研究发现,IL-8 通过增加 miR-183 的表达,从而有效抑制胆固醇外流。应用 IL-8 单克隆抗体可能为早期防治 ICAS 提供了新的思路, Yang H 等^[16]通过在兔动脉粥样硬化模型中使用超声靶向微泡破坏(ultrasound-targeted microbubble destruction, UTMD)传递 IL-8 单克隆抗体,在进行靶向对比增强超声检查后发现, UTMD 传递的 IL-8 单克隆抗体可减轻动脉粥样硬化斑块内的炎症,提示 UTMD 是一种新颖有效的斑块稳定方法。随着单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)逐渐兴起, IL-8 基因多态性的研究也在不断的深入,尤其是在肠炎、肿瘤等方面的研究^[17]。但 IL-8 基因多态性与动脉粥样硬化的研究相对较少,尤其是 IL-8 基因-251A/T 位于启动子序列。

本研究通过分析病例组与对照组在 IL-8 基因-251A/T 位点基因型与基因频率,发现两组在基因频率分布及基因型分布均具有差异性,其中病例组纯合子 AA 基因型高于对照组,且病例组中 AA 纯合子能增加 ICAS 发病的易感性,提示 AA 基因型可能是 ICAS 易感基因型。IL-8 基因-251A/T 位点位于启动子序列,其可能通过调控基因转录,从而影响 IL-8 蛋白的表达,促进动脉粥样硬化形成,同时也证实了 IL-8 基因-251A/T 位点基因多态性与动脉粥样硬化密切相关,尤其是在冠状动脉疾病方面。 Zhang Q 等^[18]研究发现,显性(AA+AT vs TT)基因型模型 IL-8 基因-251A/T 多态性与冠状动脉疾病风险显著相关($OR=1.48$)。另外, Zhang X 等^[19]研究发现, IL-8 基因-251A/T 多态性与急性冠状动脉综合征的敏感性增加相关($P=0.004$, $OR=1.30$, $95\% CI: 1.12\sim 1.53$),在急性冠状动脉综合征患者中 IL-8 含量明显升高,证实了 IL-8 基因-251A/T 可能会影响 IL-8 的表达。以上研究均提示, IL-8 基因-251A/T 多态性与冠心病存在相关性。

综上所述, IL-8 基因-251A/T 位点单核苷酸多态性可能与 ICAS 发病易感性有关。

参考文献:

- [1]马小秀,鲁建华.颈动脉粥样硬化与老年脑梗死患者的相关性研究[J].中国实用神经疾病杂志,2019,22(20):2210-2216.
- [2]辛家厚,杨玲玲,俞明明,等.急性缺血性脑卒中患者血清 Pannexin1 水平变化及其与病情严重程度和预后的关系[J].中风与神经疾病杂志,2021,38(3):209-212.
- [3]Cimini FA, Barchetta I, Porzia A, et al. Circulating IL-8 levels are increased in patients with type 2 diabetes and associated with worse inflammatory and cardiometabolic profile[J]. Acta Diabetol, 2017, 54(10):961-967.
- [4]吴逊.全国第四届脑血管病学术会议纪要[J].卒中与神经疾病,1997(2):51-55.
- [5]王炎强,孙绍洋,张炳俊,等.老年颅内动脉粥样硬化性狭窄

致缺血性脑卒中患者危险因素分析[J].中华老年心脑血管病杂志,2015,17(5):459-462.

- [6]Lu M, Peng P, Qiao H, et al. Association between age and progression of carotid artery atherosclerosis: a serial high resolution magnetic resonance imaging study [J]. Int J Cardiovasc Imaging, 2019, 35(7):1287-1295.
- [7]Remick DG. Interleukin-8 [J]. Crit Care Med, 2005, 33 (12 Suppl):S466-S467.
- [8]Mukaida N, Shiroo M, Matsushima K. Genomic structure of the human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor IL-8[J]. Immunol, 1989, 143(4):1366-1371.
- [9]Wang Z, Gao ZM, Huang HB, et al. Association of IL-8 gene promoter -251 A/T and IL-18 gene promoter -137 G/C polymorphisms with head and neck cancer risk: a comprehensive meta-analysis[J]. Cancer Manag Res, 2018, 10(1):2589-2604.
- [10]Vacchini A, Mortier A, Proost P, et al. Differential Effects of Posttranslational Modifications of CXCL8/Interleukin-8 on CXCR1 and CXCR2 Internalization and Signaling Properties [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(12):3768.
- [11]An Z, Li J, Yu J, et al. Neutrophil extracellular traps induced by IL-8 aggravate atherosclerosis via activation NF- κ B signaling in macrophages[J]. Cell Cycle 2019, 18(21):2928-2938.
- [12]郑晓丽,靳春荣,陈武,等.脂餐负荷前后 IL-8、IL-10 动态变化与动脉硬化关系的研究[J].中西医结合心脑血管病杂志, 2015, 13(7):891-892.
- [13]Kis Z, Sas K, Gyulai Z, et al. Chronic infections and genetic factors in the development of ischemic stroke[J]. New Microbiol, 2007, 30(3):213-220.
- [14]Marino F, Tozzi M, Schembri L, et al. Production of IL-8, VEGF and Elastase by Circulating and Intraplaque Neutrophils in Patients with Carotid Atherosclerosis[J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0124565.
- [15]Tang XE, Li H, Chen LY, et al. IL-8 negatively regulates ABCA1 expression and cholesterol efflux via upregulating miR-183 in THP-1 macrophage-derived foam cells [J]. Cytokine, 2019(122):154385.
- [16]Yang H, Sun Y, Wei J, et al. The effects of ultrasound-targeted microbubble destruction (UTMD) carrying IL-8 monoclonal antibody on the inflammatory responses and stability of atherosclerotic plaques[J]. Biomed Pharmacother, 2019(118):109161.
- [17]Gonzalez-Hormazabal P, Romero S, Musleh M, et al. IL-8 -251T>A (rs4073) Polymorphism Is Associated with Prognosis in Gastric Cancer Patients[J]. Anticancer Res, 2018, 38(10):5703-5708.
- [18]Zhang Q, Lian Z, Zhang W, et al. Association between interleukin-8 gene -251 A/T polymorphism and the risk of coronary artery disease: A meta-analysis [J]. Medicine (Baltimore), 2019, 98(48):e17866.
- [19]Zhang X, Zhang B, Zhang M, et al. Interleukin-8 gene polymorphism is associated with acute coronary syndrome in the Chinese Han population[J]. Cytokine, 2011, 56(2):188-191.

收稿日期:2021-08-01;修回日期:2021-12-06

编辑/杜帆