

·研究进展·

IL-10 基因多态性与麻风易感性研究进展

陈小华

摘要 :白细胞介素 -10 是具有免疫调节性质的抗炎因子 ,可抑制细胞免疫和诱导体液免疫 ,与麻风病易感性相关。IL-10 启动子基因多态性可能通过影响转录水平而影响 IL-10 分泌 ,与麻风病发病及病情进展相关。现就 IL-10 启动子基因多态性与麻风病易感性研究作一综述。

关键词 :白细胞介素 -10 ;基因多态性 ;麻风病 ;易感性

中图分类号 R755 **文献标识码** A **文章编号** :1009-9727(2012)5-629-04

IL-10 gene polymorphisms and leprosy susceptibility. CHEN Xiao-hua. (Beijing Institute of Tropical Medicine, Beijing Friendship Hospital Beijing 100050 P. R. China)

Abstract :IL-10, an anti-inflammatory cytokine with immunoregulatory properties, is thought to mediate susceptibility to leprosy via immunosuppression of CMI responses and immunoinduction of HI. IL-10 promoter polymorphisms, which are known to differentially regulate IL-10 secretion by influencing the transcription level, are associated with susceptibility of leprosy *per se* and with different clinical forms of the disease. This article reviewed the relationship between IL-10 promoter polymorphisms and susceptibility of leprosy.

Key words : IL-10; Polymorphism; Leprosy; Susceptibility

1 IL-10 简介

1.1 IL-10 生物学特征 1989 年 Fiorentino 观察到小鼠 Th2 细胞株 D10.G4.1 能产生一种抑制 Th1 细胞株的活化及其细胞因子合成的因子,称为细胞因子合成抑制因子(Cytokine synthesis inhibitory factor, CSIF),同年命名为白细胞介素-10(Interleukin-10, IL-10)^[1]。

IL-10 基因位于染色体 1q31~32 上长约 40kb 的区域内,为单拷贝基因,由 5 个外显子和 4 个内含子组成,均含 178 个氨基酸残基,18 个氨基酸信号肽序列。IL-10 为分泌型蛋白质,分子重量为 18.5kDa,具有酸不稳定性。人类 IL-10 分子是呈“V”字型的异源二聚体结构,与干扰素-1(INF-1)的结构相似。它的启动子区域有几个编码序列现认为是基因转录的反应元件,包括糖皮质激素反应元件、环磷酸腺苷反应元件、激动蛋白-1 结合部位,核因子 KB(NF-κB)结合部位^[2]。

体内 IL-10 主要由单核细胞(Monocytes)、巨噬细胞和不同的 T 细胞亚群等免疫细胞分泌。另外,树突状细胞、B 细胞、NK 细胞、肥大细胞、中性粒细胞及嗜酸粒细胞同样可以合成 IL-10。绝大多数组织细胞不能分泌 IL-10,因而与免疫细胞相比,其介导 IL-10 功能作用也是微乎其微^[3]。

IL-10 基因与后来发现的 IL-19、IL-20、IL-22、IL-24 和 IL-26 共 6 个免疫介质同属于 IL-10 细胞因

子家族。

1.2 IL-10 受体 IL-10 细胞因子家族多向性功能由特异性细胞表面受体介导,该受体包括一个 R1 型链和一个 R2 型链,均属于细胞因子受体家族 2 (Cytokine receptor family, CRF2)成员。与配体相似的是,CRF2 成员编码基因也集中于基因组同一区域内。

IL-10 受体由 IL-10 受体 1 (IL-10 Receptor 1, IL-10R1) 和 IL-10 受体 2 (IL-10 Receptor 2, IL-10R2) 构成。IL-10R1 是 IL-10 受体复合物的特异成分,IL-10R2 则可构成其他受体复合物(IL-22、IL-26、IL-28α、IL-28β 和 IL-29)的成分。IL-10 与 IL-10 受体复合物亲和力 (50-250 pM) 显著高于 IL-10 与分离的 IL-10R1 受体亲和力 (500-620pM)^[3]。

1.3 IL-10 生物学功能 IL-10 具有抑制细胞免疫 (Cell-mediated immunity, CMI) 和诱导体液免疫 (Humoral immunity, HI) 的双重作用。IL-10 细胞免疫的抑制作用主要表现在:IL-10 抑制单核细胞分泌多种细胞因子,主要有 IFN-γ、肿瘤坏死因子(TNF)、IL-2、IL-3 和粒-巨噬细胞集落刺激因子;IL-10 抑制单核细胞主要组织相容性复合体 II 类抗原和 CD54、CD80 和 CD86 等协同刺激分子的表达,进而减弱其抗原的提呈能力^[4]。IL-10 对体液免疫的诱导作用表现在:IL-10 通过多种方式刺激 B 细胞活性,上调主要组织相容性复合体 II 类抗原的表达和分泌

基金项目:北京市卫生局青年基金(No.QN2009-003),首都医科大学基础-临床合作基金-北京市李桓英基金会联合课题(No.09JL-L05)

作者单位:首都医科大学附属北京友谊医院,北京热带医学研究所,北京 100050

作者简介:陈小华(1976~),女,北京人,硕士,助理研究员,研究方向:病原生物学。

多种抗体,如 IgM、IgG 和 IgA。IL-10 作为协同刺激因子,协同 IL-2 激活 B 细胞增殖和分化,协同转化生长因子 β 1 诱导 IgA 的合成^[4]。

2 IL-10 与麻风病

2.1 IL-10 与麻风病免疫 麻风病是由麻风分枝杆菌感染引起的慢性传染性疾病,主要侵犯皮肤及外周神经,其临床特征表现为与机体对麻风菌免疫反应相一致的“光谱现象”。在光谱的结核样型(Tuberculoid leprosy, T-Lep)端,临床特征表现为少量麻风菌感染、局限性损害、有自愈倾向,与之相反,光谱的瘤型(Lepromatous leprosy, L-Lep)端临床表现为高细菌负荷量、大量皮损,难以有效清除麻风菌^[5-6]。

麻风菌侵入机体后,激发宿主包括单核巨噬细胞(Monocyte/macrophage)系统在内的先天性免疫反应(Innate immune response)和包括免疫细胞(T 细胞、B 细胞)在内的适应性免疫反应(Adaptive immune response)。单核巨噬细胞吞噬麻风菌后,通过分泌 IL-12/IL-10 调节 T 细胞细胞因子分泌模式,影响抗麻风免疫。在 T-Lep 端,巨噬细胞主要分泌 IL-12,激活 NK 细胞和 T 细胞,诱导分泌 Th1 型细胞因子(IL-2、IFN- γ),诱导保护性细胞免疫(CMI),有效抵抗和清除胞内麻风菌;在 L-Lep 端,巨噬细胞主要分泌 IL-10,诱导 T 细胞分泌 Th2 型细胞因子(IL-4),导致疾病恶化。因而 IL-10 在麻风病发病机制与疾病进展中发挥重要作用。

针对小鼠的体外研究显示,培养上清中加入 IL-10 有助于麻风菌在单层培养小鼠腹膜巨噬细胞 Mouse peritoneal macrophages(MPhi)中的存活及其生长代谢^[7]。

针对人类的体外研究同样揭示,麻风菌刺激体外培养的单核细胞可诱导分泌大量 IL-10,而所分泌的 IL-10 可抑制麻风菌诱导的 IL-12 分泌,抑制麻风菌特异性 T 细胞增殖^[8],从而抑制 CMI。

2.2 IL-10 基因多态性与麻风病易感性 TLR2 属于 Toll 样受体家族,主要表达于巨噬细胞表面,是识别分枝杆菌病原体相关分子模式(Pathogen-associated molecule pattern, PAMP)的主要受体。曾有韩国学者 Kang 等研究表明 TLR2 Arg677Trp 与麻风易感相关^[9],且影响麻风病样患者高分分泌 IL-10^[10]。但该研究结果随后被印度学者 Malhotra 等人否定,后者认为非特异引物导致结果不可靠^[11]。何种因素导致 L-Lep 高分分泌 IL-10 仍不清楚,人们将目光转向 IL-10 启动子多态性。

2.2.1 IL-10 启动子区相关 SNPs 已报道与麻风病相关的 IL-10 启动子(Promoter)单核苷酸多态性

(Single nucleotide polymorphisms, SNPs)主要涉及以下六个,分别是位于启动子区域转录起始位点上游 IL-10 T-3575A(rs1800890)、G-2849A(rs6703630)、C-2763A(rs6693899)、A-1082G(rs1800896)、C-819T(rs1800871)、C-592A(rs1800872)^[12-17]。上述 SNPs 多位于启动子区域负责 IL-10 基因转录的结合位点内:-3575 位于 Pit-1 结合位点(Pit-1 binding site);-2763 位于公认的淋巴细胞特异性因子(Lymphocyte-specific factor)和髓系锌指结构(Myeloid zinc finger)结合位点;-1082 位于公认的 ETS 因子(ETS-factor)结合位点,-592 位于 STAT3 结合位点^[18]。由于启动子区域负责控制基因表达(转录)的起始时间和表达的程度。因而推测 IL-10 启动子 SNPs 和/或单倍型(Haplotype)可通过影响 IL-10 分泌功能,进而影响抗麻风免疫,从而与麻风及其亚型的易感/抵抗相关。

2.3 IL-10 启动子区 SNPs 与麻风病的相关性 目前仅有数项研究关注 IL-10 与麻风病易感性关系,关注人群集中于巴西人群(四项研究)^[12,13,16,17]、马拉维人群(一项研究)^[14]和印度人群(一项研究)^[15],研究方法均为病例-对照研究。麻风患者以查菌指数(BI)为标准,被分为 BI>0 的多菌型患者(MB)、BI<0 的少菌型患者(PB)和健康对照者。收集样本量由 100-300 余例不等,研究内容针对上述 SNPs 的基因型频率(Genetic Frequency)、等位基因型频率(Alelic Frequency)、单倍型频率(Haplotype Frequency)等指标在病例-对照、MB-PB、MB-对照、PB-对照间携带频率差异有无统计学意义。应用的统计学软件各异,但主要内容涉及入选人群是否具有代表性(Hardy-Weinberg equilibrium)、组间基因型、等位基因型频率的显著性分析(χ^2 检验)、单倍型的相对危险度(Risk ratio, RR)/相对风险或比值比(Odds-ratio, OR)分析(Logistic 回归)。研究关注 SNPs 和/或单倍型与麻风病及麻风亚型易感/抵抗关系。

2.3.1 麻风病易感相关研究 2002 年,Adalberto R. Santos 等对巴西人群(143MB, 79PB, 62control)开展 IL-10 promoter SNPs(-819, -592)易感性研究,结果提示 -592 位点与麻风病及亚型易感性无关,但 -819T 等位基因型频率在 PB(47%)高于 MB(33%)($\chi^2=6.66$, OR=2.28, 95%CI 1.1-4.5, $P<0.05$)和对照(31%)($P<0.05$)。-819TT 在病例(18.1%)携带率显著高于对照(8.1%)($\chi^2=4.02$, OR=2.64, 95%CI 0.93~8.04, $P=0.04$)提示 IL-10 启动子基因多态性不仅与麻风病、且与 PB 易感相关^[12]。

2004 年,该研究小组扩大标本量(166MB, 131PB,

283 对照), 对巴西人群开展更多 IL-10 promoter SNPs (-3575, -2849, -2763, -1082, -819) 易感性研究。与其先前研究结果不同的是, 未能再次证实 -819TT 与麻风及亚型易感性相关, 但经单倍型分析后认为, 3575A/2849G/-2763C 和 3575T/2849A/2763C 分别与麻风抵抗 (OR 0.35 (0.13~0.91) $P=0.005$) 和易感 (OR 2.37 (1.04~5.39) $P=0.027$) 相关, 提示 IL-10 位点影响麻风病预后^[13]。

2004 年, 另一研究小组对马拉维人群 (191~215 对照, 349~362 麻风 (90% PB)) 进行 IL-10 promoter SNPs (-1082, -819, -592) 与麻风易感性关系, 未发现有意义的 SNPs^[14]。

2005 年, 在印度人群 (282 例, 144MB, 142PB), 266 对照) 对 IL-10 promoter SNPs (-3575, -2849, -2763, -1082, -819, -592) 进行分析, 该研究发现 -819TT/-592AA 位点在病例-对照、MB-对照、PB-对照间均有显著性差异 ($P=0.0002, 0.0002, 0.001$ 和 $0.0004, 0.0001, 0.01$), 通过进一步的单倍型分析, 发现 3575T/2849G/2763C/1082A/819C/592C 与麻风病抵抗及亚型相关 (OR 0.58 (0.37~0.89) $P=0.01$), 而单倍型 TGCATA 则与易感相关 (OR no data (ordinal trait), $P=0.0002$)^[15]。

2008 年, AC Pereira 等对巴西人群 (374 例, 380 对照) 对 IL-10 promoter SNPs (-3575, -2849, -2763, -1082, -819) 进行麻风易感性研究, 并结合上述 4 个研究^[12-15]进行 Meta 分析, 结果提示 -819T 基因型和 -819TT 等位基因型是麻风病易感因素 (OR 1.44 TT/CT vs CC $P=0.026$)^[16]。

2009 年对巴西人群再次开展病例-对照 (240 对照, 156 病例) 研究 IL-10 (-1082, -819, -592) 提示 -819T 与麻风病易感无相关, 双倍型分析也无阳性发现^[17]。

2.3.2 IL-10 -819TT 上述研究人群不同, 样本量不一, 涉及 SNPs 各异, 均涉及 -819 位点, 但结果各异。仅 2002 年巴西人群^[12]和 2005 年印度人群^[15]研究中发现 -819TT/-819T 携带频率在病例-对照、PB-对照、PB-MB (巴西)、病例-对照、MB-对照 (印度) 间差异有统计学意义, 但对巴西人群扩大标本研究中, 则未再发现该位点差异有统计学意义。目前仅印度人群研究提示阳性结果, 但对多项研究的 Meta 分析^[16]仍然显示 -819T, -819TT 是麻风病易感因素 (OR 1.44 TT/CT vs CC $P=0.026$)。人群间基因异质性可能是易感基因研究难于在不同人群中得出一致结论的原因之一。有研究对荷兰高加索人和巴西人健康人群进行

IL-10 启动子 SNPs (-3575, -2849, -2763, -1082, -819) 基因分型研究, 发现两人群间 SNPs 和单倍型携带频率均有显著差异^[19]。

2.4 IL-10 基因多态性与 IL-10 分泌功能关系

2.4.1 IL-10 启动子区域 SNPs 和微卫星 J Eskdale 等对 56 荷兰欧洲家系 IL-10 启动子区域 SNPs 和微卫星研究发现, IL-10 -1082/-819/-592 位点的 GCC 和 ACC 两单倍型相比较, 后者为 IL-10 相对高分泌单倍型, 提示 IL-10 启动子单倍型确实可影响 IL-10 分泌水平^[20]。

2.4.2 远端 SNPs 和近端 SNPs 根据距离 IL-10 基因转录起始点的远近, 上述 6 个 SNPs 被分为远端 SNPs (distal SNPs) 和近端 SNPs (Proximal SNPs), 远端 SNPs 包括 IL-10 T-3575A, G-2849A, C-2763A; 近端 SNPs 则包括 IL-10 A-1082G, C-819T, C-592A。Andrew W. Gibson 等在对系统性红斑狼疮的研究表明, 远端 SNPs (T-G-C) 和 (A-G/A-A) 分别与 IL-10 高分泌和低分泌相关, 且远端 SNPs 较近端 SNPs 对 IL-10 分泌功能起到更大影响^[18]。

3 结语

白细胞介素-10, 又称细胞因子合成抑制因子 (Cytokine synthesis inhibitory factor, CSIF), 具有抑制细胞免疫和诱导体液免疫的双重作用, 在麻风病发病及向 L-lep 进展中发挥重要作用。IL-10 有助于麻风菌存活, 在麻风病的瘤型端, IL-10 诱导 Th2 型细胞因子 (IL-4) 分泌, 抑制 IL-12 分泌, 从而抑制麻风菌特异性 T 细胞增殖, 抑制保护性 CMI^[8], 导致疾病恶化。作为表达于巨噬细胞表面的分支杆菌模式识别受体, TLR2 多态性对 IL-10 高分泌的影响并未得以确认。IL-10 启动子及其单倍型可能参与 IL-10 高分泌及麻风病发病及病情恶化, 其易感机制仍有待深入研究。

参考文献:

- [1] Fiorentino DF, Bond MW, Mosmann TR. Two types of mouse helper T cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones [J]. J. Exp. Med., 1989, 170: 2081-2095.
- [2] Opalski W, Wherry JC, Grimp. Interleukin-10: potential benefits and possible risk in clinical infection diseases [J]. Clin Infect Dis, 1998, 27(6): 1495-1507.
- [3] Sabat R, Grutz G, Warszawska K, et al. Biology of Interleukin-10 [J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2010, 21: 331-344.
- [4] 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.
- [5] Yamamura M, Umemura KD, Aens RJ, et al. Defining protective response to pathogens: cytokine profiles in leprosy lesions [J].

- Science 1991 ;254 :277-282.
- [6] Joshua R , Bleharski Huiying Li , Christoph Meinken et al . Use of Genetic Profiling in Leprosy to Discriminate Clinical Forms of the Disease[J] . Science 2003 ,301(5639) :1527-1530.
- [7] Fukutomi Y , Matsuoka M , Minagawa F et al . IL-10 treatment of macrophages bolsters intracellular survival of Mycobacterium leprae [J] . Int J Lepr Other Mycobact Dis 2004 ,72(1) :16-26.
- [8] Libraty DH , Airan LE , Ujemura K et al . Interferon-gamma differentially regulates interleukin-12 and interleukin-10 production in leprosy[J] . J Clin Invest ,1997 ,99(2) :336-341.
- [9] Kang TJ , Chae GT . Detection of Toll-like receptor 2 (TLR2) mutation in the lepromatous leprosy patients [J] . FEMS Immunol Med Microbiol 2001 ,31 :53-58.
- [10] Kang TJ , Yeum CE , Kim BC et al . Differential production of interleukin-10 and interleukin-12 in mononuclear cells from leprosy patients with a Toll like receptor 2 mutation [J] . Immunol 2004 ,112(4) :674-680.
- [11] Malhotra D , Relhan V , Reddy BS . TLR2 Arg677Trp polymorphism in leprosy revisited[J] . Hum Genet 2005 ,116 :413-415.
- [12] Santos AR , Suffys PN , Vanderborgh PR et al . Role of tumor necrosis factor- α and interleukin-10 promoter gene polymorphisms in leprosy[J] . J Infect Dis 2002 ,186(11) :1687-1691.
- [13] Moraes MO , Pacheco AG , Schonkeren JJ et al . Interleukin-10 promoter single-nucleotide polymorphisms as markers for disease susceptibility and disease severity in leprosy [J] . Genes Immun , 2004 ,5(7) :592-595.
- [14] Jobene Fitness Sian Floyd , David K , Warndorff et al . Large-Scale Candidate Gene Study of Leprosy Susceptibility in The Karonga Distret of Northern Malawi[J] . Am . J.Trop.Med.Hyg 2004 ,71(3) :330-340.
- [15] Malhotra D , Darvishi K , Sood S et al . IL-10 promoter single nucleotide polymorphisms are significantly associated with resistance to leprosy [J] . Hum Genet 2005 ,118 (2) :295-300.
- [16] AC Pereira , VN Brito -de -Souza , CC Cardoso et al . Genetic , epidemiological and biological analysis of interleukin-10 promoter single -nucleotide polymorphisms suggests a definitive role for 819C/T in leprosy susceptibility[J] . Genes Immun 2008 ,10 :174-180.
- [17] Franceschi D , S. P. S. Mazini et al . Influence of TNF and IL10 gene polymorphisms in the immunopathogenesis of leprosy in the south of Brazil[J] . Int. J. Infect. Dis 2009 ,13 :493-498.
- [18] Andrew W , Gibson Jeffrey C. Edberg , Jianming Wu et al . Novel Single Nucleotide Polymorphisms in the Distal IL-10 Promoter Affect IL-10 Production and Enhance the Risk of Systemic Lupus Erythematosus [J] . The Journal of Immunology 2001 ,166 :3915-3922.
- [19] Milton O. Moraes , Adalberto R. Santos , Joris J. M. Schonkeren et al . Interleukin-10 promoter haplotypes are differently distributed in the Brazilian versus the Dutch population [J] . Immunogenetics , 2003 ,54 :896-899.
- [20] J Eskdale , V Keijzers , T Huizinga et al . Microsatellite alleles and single nucleotide polymorphisms (SNP) combine to form four major haplotype families at the human interleukin-10(IL-10)locus[J] . Genes and Immunity ,1999 ,1 :151-155.

收稿日期 2011-12-26 编辑 崔宜庆

(上接第 622 页)

我们观察了甘露醇治疗脑卒中患者颅内压的动态变化,两种检测方法所测颅内压结果变化趋势相同,两种检测方法具有等效性,可以较准确的判断患者颅内压的变化。

综上所述,闪光视觉诱发电位无创颅内压检测,可以有效地监测颅内压变化,且能在病床边进行动态监测,客观指导临床进行药物治疗,是一种安全、简便、有效的方法,具有较好临床应用价值,值得临床推广应用。

参考文献:

- [1] No authors listed. The Brain Trauma Foundation . The American Association of Neurological Surgeons. The Joint Section Neurotrauma and Critical Care indications for intracranial pressure monitoring. J Neurotrauma 2000 ,17 :479-491.
- [2] Pan YF. Clinical potentials[M] 2nd edition. Beijing: People's Medical Publishing House 2000.423(In Chinese)
(潘映福.临床诱发电位学[M]第2版.北京:人民卫生出版社,2000.423.)
- [3] Desch LW . Longitudinal stability of visual evoked potentials in children and adolescents with hydrocephalus [J] . Dev Med Child , 2001 ,43(2) :113-117.
- [4] Zhang D , Peng GG , Dong WW . Short-latency somatosensory evoked potentials , flash visual evoked potentials and early prognosis in patients with cerebral hemorrhage [J] . Chinese J of Clinical Rehabilitation . 2002 ,6(9) :1278-1279. (In Chinese)
(张丹,彭国光,董为伟.短潜伏期体感诱发电位和闪光视觉诱发电位对脑出血患者预后的判断[J].中国临床康复 2002 ,6(9) :1278-1279.)
- [5] Yao XW , Lu BX , Li YL et al . Feasibility and clinical application of noninvasive monitoring of intracranial pressure measured by flash visual evoked potential[J]. Chin J Neurol 2004 ,37 :558-560(In Chinese)
(么宪伟,陆兵勋,李艳丽,等.闪光视觉诱发电位无创监测颅内压的可行性及临床应用[J].中华神经科杂志 2004 ,37 :558-560.)
- [6] Zhou Q , X RX , Liu C et al . Application of noninvasive measurement of intracranial pressure in craniocerebral injury[J]. Clin J Neuromed , 2007 ,6(6) :634-637.(In Chinese)
(周青,徐如祥,刘策,等.无创颅内压监测仪在颅脑损伤中的应用.中华神经医学杂志 2007 ,6(6) :634-637.)
- [7] Zhao YL , Zhou JY , Zhu GH. Clinical experience with the noninvasive ICP monitoring system. Acta Neurochir Suppl. 2005 ,95:351-355.

收稿日期 2011-12-22 编辑 崔宜庆