



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2023.03.007

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2023.03.007

• 论著 •

脓毒症患者外周血白细胞介素-6、肿瘤坏死因子- α 和降钙素原水平与白细胞介素-6 基因启动子区-572C/G 多态性的相关性分析

刘杰 陈森

[摘要] **目的** 探讨脓毒症患者外周血白细胞介素(IL)-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 和降钙素原(PCT)水平与 IL-6 基因启动子区-572C/G 多态性的关系。**方法** 回顾性纳入 2018 年 10 月~2020 年 10 月湖北医药学院附属太和医院收治的脓毒血症患者 135 例为试验组,以住院期间是否发生休克将试验组患者分为脓毒症组(63 例)和脓毒症休克组(72 例),选取同期于我院体检健康人群 148 例为对照组。根据基因型再将试验组患者分为 CC 组(29 例)、GC 组(56 例)和 GG 组(50 例)。收集所有受试者的一般临床资料(年龄、性别、合并基础疾病情况)、实验室检查结果(IL-6、TNF- α 、PCT)及 IL-6 基因启动子区-572C/G 多态性检测结果并分组进行比较。采用 χ^2 检验分析基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡,采用 logistic 回归分析探讨 IL-6 基因启动子区-572C/G 基因型与脓毒症的相关性。**结果** 试验组患者 IL-6、TNF- α 和 PCT 水平均明显高于对照组,脓毒症休克组患者上述指标水平均明显高于脓毒症组;试验组患者 IL-6 基因启动子区-572C/G 基因型 CC 及等位基因 C 频率明显低于对照组,基因型 GG 及等位基因 G 频率明显高于对照组;脓毒症休克组患者 IL-6 基因启动子区-572C/G 基因型 CC 及等位基因 C 频率明显低于脓毒症组,基因型 GG 及等位基因 G 频率明显高于脓毒症组($P < 0.05$)。Logistic 回归分析结果显示,等位基因模型基因型 GG 是 CC 患病风险的 2.347 倍,显性模型基因型 GG + CG 是 CC 患病风险的 1.809 倍,隐性模型基因型 GG 是 CC + CG 患病风险的 1.830 倍;IL-6 基因启动子区-572C/G 多态性(CC、CG、GG)为影响脓毒症发生的独立因素($P < 0.05$)。CC 组患者 IL-6、TNF- α 和 PCT 水平均低于 CG 组和 GG 组($P < 0.05$)。**结论** IL-6 基因启动子区-572C/G 多态性与脓毒症的发病风险相关,且与脓毒症的进展显著相关,其多态性影响 PCT 和炎症因子 IL-6、TNF- α 的表达水平。

[关键词] 脓毒血症; 基因多态性; 白细胞介素-6; 肿瘤坏死因子- α ; 降钙素原

[中图分类号] R459.7

[文献标识码] A

Correlation analysis of peripheral blood interleukin-6, tumor necrosis factor- α and procalcitonin levels with interleukin-6 gene promoter region-572C/G polymorphism in sepsis patients Liu

Jie*, Chen Sen. * Department of Intensive Care Medicine, Taihe Hospital affiliated to Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between peripheral blood interleukin 6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF)- α and procalcitonin (PCT) levels with interleukin-6 gene promoter region-572C/G polymorphism in sepsis patients. **Methods** A total of 135 patients with sepsis admitted to Taihe Hospital Affiliated to Hubei College of Medicine from October 2018 to October 2020 were retrospectively included as the experimental group. According to whether shock occurred during hospitalization, the patients in experimental group were divided into sepsis group (63 cases) and sepsis shock group (72 cases). 148 healthy people in our hospital during the same period were selected as the control group. According to genotype, patients in experimental group were divided into CC group (29 cases), GC group (56 cases) and

基金项目:湖北省十堰市科技项目(X201910929032);湖北医药学院教学研究课题(2019031)

作者单位:442000 湖北省十堰市太和医院 湖北医药学院附属太和医院重症医学科(刘杰);湖北医药学院临床技能教学培训中心(陈森)

通讯作者:陈森, E-mail: chensen2251@163.com

GG group(50 cases). General clinical data(age, gender and underlying diseases), laboratory test results (IL-6, TNF- α and PCT) and IL-6 gene promoter region-572C/G polymorphism test results of all subjects were collected and grouped for comparison. χ^2 test was used to analyze whether genotype distribution was consistent with *Hardy-Weinberg* genetic balance. *Logistic* regression analysis was used to investigate the correlation between IL-6 gene promoter region-572C/G genotype and sepsis. **Results** IL-6, TNF- α and PCT levels in experimental group were significantly higher than those in control group, and those in sepsis shock group were significantly higher than those in sepsis group; the frequencies of IL-6 gene promoter region-572C/G genotype CC and allele C in experimental group were significantly lower than those in control group, while the frequencies of genotype GG and allele G in experimental group were significantly higher than those in control group; the frequencies of IL-6 gene promoter region-572C/G genotype CC and allele C in sepsis shock group were significantly lower than those in sepsis group, while the frequencies of genotype GG and allele G in sepsis shock group were significantly higher than those in sepsis group ($P < 0.05$). *Logistic* regression analysis showed that the allelic model genotype GG was 2.347 times the risk of CC, the dominant model genotype GG + CG was 1.809 times the risk of CC, and the recessive model genotype GG was 1.830 times the risk of CC + CG. The polymorphism of IL-6 gene promoter region-572C/G (CC, CG, GG) were independent factors affecting the occurrence of sepsis ($P < 0.05$). IL-6, TNF- α and PCT levels in CC group were lower than those in CG group and GG group ($P < 0.05$). **Conclusion** The IL-6 gene promoter region-572C/G polymorphism is associated with the risk of sepsis and significantly associated with the progression of sepsis, and its polymorphism affects the expression levels of PCT and inflammatory factors IL-6 and TNF- α .

[**Key words**] Sepsis; Gene Polymorphisms; Interleukin-6; Tumor necrosis factor- α ; Procalcitonin

脓毒症是宿主对感染的反应失调而导致的危及生命的器官功能障碍,是常见的临床急危重症,严重时会引起器官功能损害或衰竭^[1-2]。目前,有关脓毒症的具体发病机制尚不清楚,大量研究表明,脓毒症与体内炎症和免疫反应关系密切^[3-7],白细胞介素(IL)-6是淋巴细胞、单核/巨噬细胞等在感染早期产生的一种多功能炎症因子,而IL-6又可促进多种炎症因子的释放,使机体炎症反应产生放大效应^[8-9]。有研究表明,IL-6启动子区存在-572C/G位点的基因多态性,而这些多态性对IL-6表达产生影响,并与多种炎症性疾病的发生发展密切相关^[10-11]。相关研究结果显示,脓毒症患者体内IL-6水平明显升高,但其基因多态性与脓毒症发生发展的关系尚未明确^[12-13]。本研究通过探讨IL-6基因启动子区-572C/G多态性与脓毒症发生发展之间的关系,以期从基因水平分析其机制,为脓毒症的预防和治疗提供一定参考依据。

对象与方法

1. 对象:回顾性纳入2018年10月~2020年10月湖北医药学院附属太和医院收治的脓毒症患者135例为试验组,以住院期间是否发生休克将其分为脓毒症组(63例)和脓毒症休克组(72例)。脓毒症和休克的诊断参照2016年《第三版脓毒症与感染性休克定义国际共识》中的诊断标准和分型方法^[14]。排除年龄小于18岁、恶性肿瘤、HIV感染、慢性肝肾疾病、自身免疫性疾病或入院前1个月内接受免疫治疗、抗炎治疗及放化疗的患者。选取同期于我院体检健康人群148例为对照组。本研究已通过我院伦理委员会审核批准。

2. 方法

(1)一般临床资料和实验室检查结果收集:包括年龄、性别、合并基础疾病情况及IL-6、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、降钙素原(PCT)水平。

(2)IL-6基因多态性检测:采用人全血基因组DNA提取试剂盒(赛默飞公司)从白细胞中提取出基因组DNA,采用限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RELP)对IL-6基因启动子区-572C/G位点的基因多态性进行检测分析。根据基因型再将试验组患者分为CC组(29例)、GC组(56例)和GG组(50例)。

3. 统计学处理:应用SPSS 21.0软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料以频数和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 χ^2 检验分析基因型分布是否符合*Hardy-Weinberg*遗传平衡,采用*logistic*回归分析探讨IL-6基因启动子区-572C/G基因型与脓毒症的相关性。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 对照组和试验组受试者一般临床资料及实验室检查结果比较:试验组患者IL-6、TNF- α 和PCT水平均明显高于对照组($P < 0.05$)。两组受试者其余指标比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2. 脓毒症组和脓毒症休克组患者IL-6、TNF- α 和PCT水平比较:脓毒症休克组患者IL-6、TNF- α 和PCT水平均明显高于脓毒症组($P < 0.05$)。见表2。

3. 对照组与试验组受试者IL-6基因启动子区-572G/C基因型及等位基因频率比较:IL-6基因启动子

表 1 对照组和试验组受试者一般临床资料及实验室检查结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	男性 [例, (%)]	年龄 (岁)	高血压病 [例, (%)]	高脂血症 [例, (%)]	糖尿病 [例, (%)]	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PCT (ng/ml)
对照组	148	86 (58.11)	57.5 \pm 14.2	38 (25.68)	33 (22.30)	36 (24.32)	22.5 \pm 3.7	30.4 \pm 4.2	0.13 \pm 0.06
试验组	135	74 (54.81)	59.4 \pm 17.6	42 (31.11)	35 (25.93)	30 (22.22)	51.6 \pm 8.5	57.3 \pm 6.4	25.15 \pm 7.54
χ^2/t 值		0.312	-0.857	1.029	0.509	0.174	-23.254	-27.624	-25.284
P 值		0.557	0.342	0.310	0.475	0.676	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 脓毒症组和脓毒症休克组患者 IL-6、TNF- α 和 PCT 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PCT (ng/ml)
脓毒症组	63	39.8 \pm 6.7	45.8 \pm 5.6	18.14 \pm 4.35
脓毒症休克组	72	57.5 \pm 8.8	68.4 \pm 8.7	39.35 \pm 6.58
t 值		-22.153	-26.352	-24.354
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

区-572C/G 位点 PCR-RFLP 电泳图谱见图 1。对照组与试验组受试者基因型 CC、CG、GG 分布组内分别比较差异均无统计学意义($\chi^2 = 2.99, P = 0.084; \chi^2 = 3.03, P = 0.082$), 符合 *Hardy-Weinberg* 遗传平衡, 具有群体代表性。试验组患者 IL-6 基因启动子区-572C/G 基因型 CC 及等位基因 C 频率明显低于对照组, 基因型 GG 及等位基因 G 频率明显高于对照组($P < 0.05$)。见表 3。

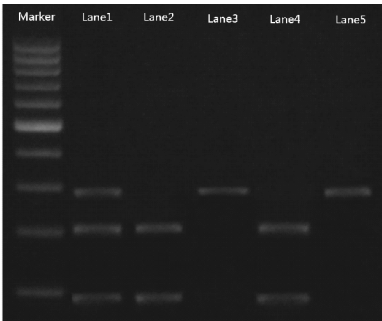


图 1 IL-6 基因启动子区-572C/G 位点 PCR-RFLP 电泳图谱[Lane1 为 CG 基因型(296bp、202bp、94bp); Lane2、4 为 GG 基因型(202bp、94bp); Lane3、5 为 CC 基因型(296bp)]

表 3 对照组与试验组受试者 IL-6 基因启动子区-572G/C 基因型及等位基因频率比较[频数, (%)]

组别	例数	-572C/G 基因型			等位基因	
		CC	CG	GG	C	G
对照组	148	49 (33.1)	63 (42.6)	36 (24.3)	161 (54.4)	135 (45.6)
试验组	135	29 (21.5) ^a	56 (41.5)	50 (37.0) ^a	114 (42.2) ^a	156 (57.8) ^a
χ^2 值		7.273			8.372	
P 值		0.027			0.004	

注: 与对照组比较, ^a $P < 0.05$

4. 脓毒症组与脓毒症休克组患 IL-6 基因启动子区-572G/C 基因型及等位基因频率比较: 脓毒症休克组患者 IL-6 启动子区-572G/C 基因型 CC 及等位基因 C 频率明显低于脓毒症组, 基因型 GG 及等位基因 G

频率明显高于脓毒症组($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 脓毒症组与脓毒症休克组患 IL-6 基因启动子区-572G/C 基因型及等位基因频率比较[频数, (%)]

组别	例数	-572C/G 基因型			等位基因	
		CC	CG	GG	C	G
脓毒症组	72	22 (30.6)	31 (43.1)	19 (26.4)	75 (52.1)	69 (47.9)
脓毒症休克组	63	7 (11.1) ^a	25 (39.7)	31 (49.2) ^a	39 (31.0) ^a	87 (69.0) ^a
χ^2 值		10.729			12.287	
P 值		0.005			<0.001	

注: 与脓毒症组比较, ^a $P < 0.05$

5. IL-6 基因启动子区-572C/G 基因型与脓毒症的相关性分析: *logistic* 回归分析结果显示, 等位基因模型基因型 GG ($OR = 2.347$) 是 CC ($OR = 1.000$) 患病风险的 2.347 倍, 显性模型基因型 GG + CG ($OR = 1.809$) 是 CC 患病风险的 1.809 倍, 隐性模型基因型 GG ($OR = 1.830$) 是 CC + CG ($OR = 1.000$) 患病风险的 1.830 倍($P < 0.05$)。IL-6 基因启动子区-572C/G 多态性(CC、CG、GG) 为影响脓毒症发生的独立因素($P < 0.05$)。

6. 不同基因型组脓症患者 IL-6、TNF- α 及 PCT 水平比较: CC 组患者 IL-6、TNF- α 和 PCT 水平均低于 CG 组和 GG 组($P < 0.05$)。见表 5。

表 5 不同基因型组脓症患者 IL-6、TNF- α 及 PCT 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)	PCT (ng/ml)
CC 组	29	23.3 \pm 5.5	40.3 \pm 6.2	17.34 \pm 4.32
CG 组	56	42.7 \pm 5.9 ^a	57.3 \pm 5.9 ^a	32.52 \pm 5.54 ^a
GG 组	50	57.7 \pm 8.3 ^a	78.8 \pm 7.9 ^a	46.28 \pm 7.71 ^a
t 值		-13.214	-14.657	-20.357
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: 与 CC 组比较, ^a $P < 0.05$

讨 论

脓毒症是宿主对感染的反应失调而导致危及生命的器官功能障碍, 每年可致大量患者死亡, 流行病学资料显示, 脓毒症发病率呈逐年上升趋势^[15-16], 尽管近年来在脓毒症的临床治疗方面取得了一定的进步, 但其死亡率仍较高, 诊治费用高昂, 对患者的健康和经济产生了较大影响, 因此脓毒症一直是临床研究的重点课题。已有研究表明, 脓毒症患者因感染引起的全身炎症反应综合征时, 机体免疫系统会产生一系列强

烈反应,释放大量炎性介质,且炎症介质又会影响免疫细胞的免疫应答,交错循环,引发炎症瀑布样反应,最终导致脓毒症休克,甚至引起多器官功能障碍综合征(MODS)^[17-18]。PCT 是降钙素的前肽,是炎症活动和脓毒症诊断的可靠指标,美国传染病协会和美国危重病学会联合推荐 PCT 作为区别脓毒血症和非感染性全身炎症反应的辅助诊断标记物^[19]。TNF- α 由活化的单核/巨噬细胞产生,其在炎症反应早期出现,并可激活多种信号转导途径,诱发下游细胞因子产生,如 IL-1 β 、IL-6、IL-8,从而引起广泛的生物学效应。IL-6 由活化的单核细胞、成纤维细胞等分泌,正常情况下其水平较低,在感染患者中其水平明显升高,是炎症应答中重要的炎性介质,与严重全身感染密切相关,其表达量受转录和转录后水平的严格调控^[20-23]。有研究表明,IL-6 基因启动子区单核苷酸突变对 IL-6 的表达水平产生影响^[24-25],血清 IL-6 等炎症因子水平变化与脓毒症的发生发展密切相关,可作为脓毒症的检测指标之一^[26]。但 IL-6 基因启动子区多态性与脓毒症的相关性尚不清楚。因此,本研究通过探讨脓毒症发生发展与 IL-6 基因启动子区多态性之间的关系,以期对脓毒症的临床防治提供指导。

本研究回顾性分析 135 例符合纳入标准的脓毒症患者,发现试验组患者 PCT 及炎症因子 IL-6、TNF- α 水平明显高于对照组,脓毒症休克组患者上述指标水平均明显高于脓毒症组,表明这几项指标水平随着脓毒症病情程度的加重而增高。进一步研究 IL-6 启动子区基因多态性位点-572C/G 的基因型及等位基因频率分布,发现与脓毒症组比较,基因型 CC 及等位基因 C 频率在脓毒症休克组显著降低。Logistic 回归分析结果显示,基因型 GG 是 CC 患病风险的 2.347 倍,提示 IL-6 基因启动子区-572C/G 多态性与脓毒症发病风险具有相关性。本研究结果还发现,携带基因型 CC 的脓毒症患者 PCT 和炎症因子 IL-6、TNF- α 水平均低于携带基因型 GC 和 GG 患者,说明其多态性影响 PCT 和炎症因子 IL-6、TNF- α 水平,IL-6 基因启动子区-572C/G 多态性 CC 基因型可抑制其表达,减轻炎症反应,因此,应对脓毒症患者早期进行 IL-6 基因启动子区-572C/G 多态性检测,从而及早采取对应干预措施,抑制病情进展。

本课题的研究为脓毒症的临床诊治提供新的思路,然而脓毒症是涉及全身的炎症反应综合征,其病理生理机制复杂,且脓毒血症休克有多种影响因素,故本研究有一定的局限性,仍有诸多问题需进一步探讨。

参 考 文 献

[1] 王仲,魏捷,朱华栋,等. 中国脓毒症早期预防与阻断急诊专家共识

- [J]. 中国急救医学,2020,40(7):577-588.
- [2] 陈城,崔静,纪小奇,等. 脓毒症患者预后危险因素分析[J]. 临床军医杂志,2021,49(1):61-63.
- [3] Napolitano LM. Sepsis 2018: Definitions and Guideline Changes[J]. Surg Infect (Larchmt), 2018,19(2):117-125.
- [4] Chen Y, Hu Y, Song Z. The association between interleukin-6 gene-174G/C single nucleotide polymorphism and sepsis: an updated meta-analysis with trial sequential analysis[J]. BMC Med Genet, 2019, 20(1):35.
- [5] 朱鹏,余跃天,潘纯. 脓毒症相关的免疫抑制:生物标志物的监测与挑战[J]. 临床内科杂志,2021,38(9):591-593.
- [6] 陈小莹,陈忆青. 系统免疫炎症指数在脓毒症严重程度和预后判断中的应用价值[J]. 中国医药,2021,16(6):893-896.
- [7] 孙旗,丁纯蕾,范倩,等. 脓毒症小鼠不同组织炎症因子及 T 细胞亚群动态变化[J]. 中国临床医学,2022,29(6):999-1005.
- [8] 朱碧濤. 病毒性脓毒症研究进展[J]. 中华儿科杂志,2021,59(3):250-253.
- [9] Hu P, Chen Y, Pang J, et al. Association between IL-6 polymorphisms and sepsis[J]. Innate Immun, 2019, 25(8):465-472.
- [10] 邓慧兰,韩文慧,王辉,等. 微小 RNA-145-5p 与脓毒症急性肺损伤的相关性研究[J]. 临床内科杂志,2021,38(8):552-555.
- [11] Thompson K, Venkatesh B, Finfer S. Sepsis and septic shock: current approaches to management[J]. Intern Med J, 2019, 49(2):160-170.
- [12] Schlapbach LJ. Paediatric sepsis[J]. Curr Opin Infect Dis, 2019, 32(5):497-504.
- [13] Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. Immunotherapeutic implications of IL-6 blockade for cytokine storm[J]. Immunotherapy, 2016, 8(8):959-970.
- [14] 黄伟.《第三版脓毒症与感染性休克定义国际共识》解读[J]. 中国实用内科杂志,2016,36(11):959-962.
- [15] Qiu X, Zhang L, Tong Y, et al. Interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis with premature rupture of the membranes: A meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(47):e13146.
- [16] Song J, Park DW, Moon S, et al. Diagnostic and prognostic value of interleukin-6, pentraxin 3, and procalcitonin levels among sepsis and septic shock patients: a prospective controlled study according to the Sepsis-3 definitions[J]. BMC Infect Dis, 2019, 19(1):968.
- [17] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315(8):801-810.
- [18] Molano Franco D, Arevalo-Rodriguez I, Roqué Figuls M, et al. Plasma interleukin-6 concentration for the diagnosis of sepsis in critically ill adults. [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2019, 4(4):CD011811.
- [19] 张继松,王聿明,祁星,等. 中性粒细胞膜脂蛋白对脓毒症/脓毒性休克患者预后的预测作用[J]. 临床内科杂志,2021,38(10):662-665.
- [20] Ricarte-Bratti JP, Brizuela NY, Jaime-Albarran N, et al. IL-6, MMP 3 and prognosis in previously healthy sepsis patients[J]. Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba, 2017, 74(2):99-106.
- [21] Fatani SH, Alkhatib KH, Badr H. Association of TNF- α -308 (G > A) (rs1800629) Gene Polymorphism with Adverse Outcomes of Sepsis in Critically Ill Patients[J]. DNA Cell Biol, 2020, 39(9):1723-1729.
- [22] Fatani SH, Alrefai AA, Al-Amodi HS. Assessment of tumor necrosis factor alpha polymorphism TNF- α -238 (rs361525) as a risk factor for development of acute kidney injury in critically ill patients[J]. Mol Biol Rep, 2018, 45(5):839-847.
- [23] 方森,吴秀文,郑涛,等. 不同蛋白种类的膳食对结肠炎小鼠的影响[J]. 中华炎性肠病杂志,2021,5(3):225-228.
- [24] Hu P, Chen Y, Pang J, et al. Association between IL-6 polymorphisms and sepsis[J]. Innate Immun, 2019, 25(8):465-472.
- [25] Qiu X, Zhang L, Tong Y, et al. Interleukin-6 for early diagnosis of neonatal sepsis with premature rupture of the membranes: A meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2018, 97(47):e13146.
- [26] Watanabe E, Akamatsu T, Ohmori M. Recombinant thrombomodulin attenuates hyper-inflammation and glycocalyx damage in a murine model of Streptococcus pneumoniae induced sepsis[J]. Cytokine, 2021, 149:155723.

(收稿日期:2021-12-14)

(本文编辑:余晓曼)