

## 白细胞介素基因多态性与急性胰腺炎病情程度的关系

陈先强 黄鹤光 周一农 李贇 陈燕昌

**【摘要】** 目的 观察白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )和 IL-6 基因多态性,探讨其与急性胰腺炎(AP)病情严重程度之间的关系。方法 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 74 例 AP 患者[轻型急性胰腺炎(MAP)36 例,重症急性胰腺炎(SAP)38 例]及 78 例健康对照者的 IL-1 $\beta$  基因 511C/T 和 IL-6 基因 634C/G 位点多态性;采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血浆 IL-1 $\beta$  和 IL-6 的浓度;SAP 按不同基因型分组,比较各组间病情程度评分。结果 AP 组血浆 IL-1 $\beta$ 、IL-6 浓度高于健康对照组[IL-1 $\beta$ : (13.16 $\pm$ 2.82)ng/L 比 (6.21 $\pm$ 1.57)ng/L; IL-6: (84.86 $\pm$ 32.92)ng/L 比 (9.95 $\pm$ 2.49)ng/L,  $P$  均 $<$ 0.05]。AP 患者中,IL-1 $\beta$  基因 511 位点不同基因型血浆 IL-1 $\beta$  浓度差异无统计学意义,IL-6 基因 634 位点 C/G 基因型血浆 IL-6 浓度高于 C/C 型[(97.23 $\pm$ 35.49)ng/L 比 (72.14 $\pm$ 24.55)ng/L,  $P$  $<$ 0.05]。IL-1 $\beta$  基因 511 位点和 IL-6 基因 634 位点基因型及等位基因频率分布在 AP 组和健康对照组间差异无统计学意义;SAP 组 IL-1 $\beta$  基因 511 位点 T/T 型及 T 等位基因分布频率高于 MAP 组( $P$  均 $<$ 0.05)。SAP 患者中,IL-1 $\beta$  基因 511 位点 C/T+T/T 型和 IL-6 基因 634 位点 C/G 型具有较高的病情程度评分。结论 IL-1 $\beta$  基因 511C/T 和 IL-6 基因 634C/G 位点多态性可能与 AP 的病情加重有关。

**【关键词】** 白细胞介素-1 $\beta$ ; 白细胞介素-6; 基因多态性; 胰腺炎,急性

**The study of the relationship between interleukin gene polymorphism and the morbidity of patients with acute pancreatitis** CHEN Xian-qiang, HUANG He-guang, ZHOU Yi-nong, LI Yun, CHEN Yan-chang. Department of General Surgery, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian, China Corresponding author: HUANG He-guang, Email: hhuang2@yahoo.com.cn

**【Abstract】** **Objective** To explore interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and IL-6 gene polymorphism, and investigate the relationship between their gene polymorphism and the morbid state of patients with acute pancreatitis (AP). **Methods** The polymorphism of IL-1 $\beta$  gene 511C/T and IL-6 gene 634C/G site was analyzed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) in patients (74 patients) with AP, including mild acute pancreatitis (MAP, 36 patients) and severe acute pancreatitis (SAP, 38 patients), and also a group of normal control (78 patients). The plasma concentrations of IL-1 $\beta$  and IL-6 were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The patients with SAP were divided into groups on the basis of different genotypes, and the clinical data were compared among different groups. **Results** The plasma levels of IL-1 $\beta$  and IL-6 in patients with AP were significantly higher than normal control group [IL-1 $\beta$ : (13.16 $\pm$ 2.82) ng/L vs. (6.21 $\pm$ 1.57) ng/L; IL-6: (84.86 $\pm$ 32.92) ng/L vs. (9.95 $\pm$ 2.49) ng/L, both  $P$  $<$ 0.05]. There was no statistical significance between IL-1 $\beta$  gene 511 site and IL-6 gene 634 site genotype or allele frequency between the patients with AP and the normal control. In patients with SAP, IL-1 $\beta$  gene 511 site T/T genotype and T allele frequency were significantly higher than that of MAP group (both  $P$  $<$ 0.05). There was no statistically significant difference in plasma levels of IL-1 $\beta$  between C/C group and C/T+T/T group, and the plasma levels of IL-6 in patients with IL-6 gene 634 site C/G were significantly higher than C/C group [(97.23 $\pm$ 35.49) ng/L vs. (72.14 $\pm$ 24.55) ng/L,  $P$  $<$ 0.05]. In patients with SAP, the scores of clinical evaluation in IL-1 $\beta$  gene 511 site C/T+T/T group and IL-6 gene 634 site C/G group were significantly higher than that in IL-1 $\beta$  gene 511 site C/C group and IL-6 gene 634 site C/C group (all  $P$  $<$ 0.05). **Conclusion** IL-1 $\beta$  gene 511 site C/T and IL-6 gene 634 site C/G polymorphism may be genetic susceptibility factors for exacerbation of AP.

**【Key words】** interleukin-1 $\beta$ ; interleukin-6; polymorphism; acute pancreatitis

重症急性胰腺炎(SAP)发展过程中常并发全身炎症反应综合征(SIRS)、多器官功能障碍综合征(MODS),促炎细胞因子在其病程中发挥了重要的

作用。本研究中探讨白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )基因 511C/T 和 IL-6 基因 634C/G 位点多态性与急性胰腺炎(AP)易感性和病情程度的关系,报告如下。

### 1 资料与方法

**1.1 临床资料:**选择 2005 年 6 月—2007 年 2 月 AP 患者 74 例,男 36 例,女 38 例;年龄 22~72 岁,平均(45.2 $\pm$ 14.2)岁。Balthazar CT 评分<sup>[1]</sup> $\geq$ 4 分、急性

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.02.012

基金项目:福建省医学创新课题项目(2003-CX-20)

作者单位:350001 福州,福建医科大学附属协和医院普外科

通信作者:黄鹤光,Email:hhuang2@yahoo.com.cn

生理学与慢性健康状况评分系统 I (APACHE I) 评分<sup>[2-3]</sup> ≥ 8 分者为 SAP (38 例); 其余为轻型急性胰腺炎 (MAP) 患者 (36 例)。健康对照组 78 例为健康体检志愿者, 男 40 例, 女 38 例; 年龄 25~64 岁, 平均 (47.3 ± 13.6) 岁。AP 诊断参照中华医学会外科学会胰腺学组制定的《急性胰腺炎的临床诊断及分级标准》<sup>[4]</sup>, 所有研究对象为汉族, 且无血缘关系。采用 Balthazar CT 评分、APACHE I 评分和 MODS (Marshall) 评分<sup>[5]</sup> 系统评估 SAP 病情程度。

1.2 研究方法

1.2.1 血浆 IL-1β、IL-6 测定: 取患者入院后 24 h 内外周静脉血, 用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定, 试剂盒由深圳晶美生物公司提供。

1.2.2 基因组 DNA 提取: 取外周静脉 3 ml 乙二胺四乙酸 (EDTA) 抗凝血, 用红细胞裂解法与酚/氯仿法相结合提取基因组 DNA, 适量的 TE 缓冲液或双蒸水溶解, 置于 -70 °C 冰箱保存待检。

1.2.3 基因多态性检测: 应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 分析技术检测。IL-1β 基因 511 C/T 和 IL-6 基因 634 C/G 位点 PCR 引物序列 (由上海生工公司合成)、条件、产物及所用内切酶按文献<sup>[6-7]</sup> 方法。反应体系: 25 μl, TaqDNA 聚合酶 2 U, dNTP 200 μmol/L, 上、下游引物浓度 20 pmol/L, 模板 DNA 50~100 ng。用 PCR 产物 10 μl, 加 10× 缓冲液 2 μl、加限制性内切酶 5 U (美国 Fermentas MBI 公司), 在 37 °C 水浴锅消化 2~16 h, PCR 产物及酶切产物用琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色, 紫外透射仪观察分析。

1.3 统计学方法: 数据用 SPSS 13.0 统计软件处理, 用 Hardy-Weinberg 平衡检验确认研究样本的群体代表性。各组基因型和等位基因频率比较用 χ<sup>2</sup> 检验 (或 Fisher 检验), 计量资料用 t 检验, 非正态分布用秩和检验。用 logistic 回归计算相对危险度 (OR), P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆 IL-1β 和 IL-6 浓度 (表 1): AP 组血浆 IL-1β、IL-6 浓度高于健康对照组 (P 均 < 0.05); C/C 基因型 IL-1β 浓度与 C/T+T/T 基因型比较差异无统计学意义; 而 C/G 基因型血浆 IL-6 浓度高于 C/C 基因型, 差异有统计学意义 (P < 0.05)。

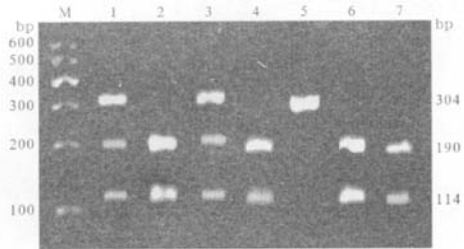
2.2 IL-1β 基因 511C/T 和 IL-6 基因 634C/G 位点多态性分布: IL-1β 基因 511C/T 位点基因型为纯合野生 C/C 型 (190 bp 和 114 bp)、杂合突变 C/T 型 (304、190 和 114 bp)、纯合突变 T/T 型 (304 bp,

图 1)。IL-6 基因 634C/G 位点 2 种基因型为纯合野生 C/C 型 (180 bp)、杂合突变 C/G 型 (180、120 和 60 bp); 本研究未检测到纯合突变 G/G 型 (60 bp 和 120 bp, 图 2)。本组 IL-1β、IL-6 基因型及等位基因频率经检验处于 Hardy-Weinberg 平衡状态。

表 1 各组血浆 IL-1β、IL-6 浓度比较 (x ± s)

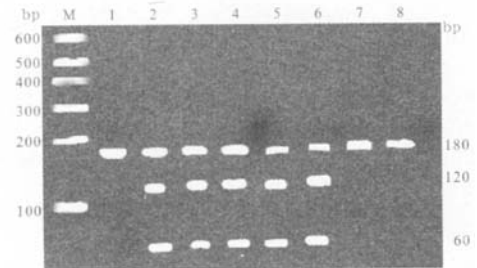
组别	IL-1β (ng/L)	组别	IL-6 (ng/L)
健康对照组	6.21 ± 1.57	健康对照组	9.95 ± 2.49
AP 组	13.16 ± 2.82 <sup>a</sup>	AP 组	84.86 ± 32.92 <sup>a</sup>
C/C 基因型	13.01 ± 4.62	C/C 基因型	72.14 ± 24.55
C/T+T/T 基因型	12.91 ± 2.48	C/G 基因型	97.23 ± 35.49 <sup>b</sup>

注: 与健康对照组比较, <sup>a</sup>P < 0.05; 与本基因 C/C 比较, <sup>b</sup>P < 0.05



M: Marker; 1, 3: 杂合突变 C/T 基因型; 2, 4, 6, 7: 纯合野生 C/C 基因型; 5: 纯合突变 T/T 基因型

图 1 IL-1β 基因 511C/T 位点基因图谱



M: Marker; 1, 7, 8: 纯合野生 C/C 基因型; 2~6: 杂合突变 C/G 基因型

图 2 IL-6 基因 634C/G 位点基因图谱

表 2 结果显示, IL-1β 基因 511C/T、IL-6 基因 634C/G 位点基因型及等位基因分布频率在 AP 组和健康对照组间比较差异无统计学意义; SAP 组 IL-1β 基因 511T/T 型高于 MAP 组 (P < 0.05), SAP 组 T 等位基因与 MAP 组比较 OR = 2.147, 95%CI: 1.113~4.140, P < 0.05。IL-6 基因 634C/G 位点基因型及等位基因分布频率在 MAP 组及 SAP 组间差异无统计学意义。

2.3 不同基因型 SAP 患者病情程度 (表 3): 携带 IL-1β 基因 511 位点 T 等位基因者 APACHE I 评分高于 C 等位基因者 (P < 0.05)。SAP 第 1 个死亡

表2 各组患者IL-1β、IL-6基因多态性分布频率

组别	例数	IL-1β 基因 511[个(%)]					IL-6 基因 634[个(%)]			
		C/C	C/T	T/T	C	T	C/C	C/G	C	G
健康对照组	28	22(28.2)	40(51.3)	16(20.5)	84(53.8)	72(46.2)	46(58.9)	32(41.1)	124(79.5)	32(20.5)
AP组	74	13(17.6)	46(62.2)	15(20.2)	72(48.6)	76(51.4)	38(51.4)	36(48.7)	112(75.7)	36(24.3)
MAP组	36	9(25.0)	24(66.7)	3(8.3)	42(58.3)	30(41.7)	22(61.1)	14(38.9)	58(80.6)	14(19.4)
SAP组	38	4(10.5)	22(57.9)	12(31.6) <sup>a</sup>	30(39.5)	46(60.5) <sup>a</sup>	16(42.1)	22(57.9)	54(71.1)	22(28.9)

注:与MAP组比较,<sup>a</sup>P<0.05

表3 38例不同基因型SAP患者APACHE II、Balthazar CT及MODS评分比较

基因类型	等位基因型	APACHE II 评分( $\bar{x} \pm s$ ,分)			Balthazar CT 评分( $\bar{x} \pm s$ ,分)	MODS 评分(M,分)
		总分	1 d	4~7 d		
IL-1β 基因 511	C/C	8.60±0.89	8.60±0.89	6.40±1.14 <sup>c</sup>	5.20±1.92	2.5
	C/T+T/T	10.94±2.79 <sup>b</sup>	10.94±2.79	8.94±2.78 <sup>c</sup>	5.03±1.45	2.0
IL-6 基因 634	C/C	9.56±2.78	9.56±2.78	7.31±2.89 <sup>c</sup>	4.44±1.34	1.0
	C/G	11.59±2.40 <sup>b</sup>	11.50±2.50	9.95±2.77	5.43±1.33 <sup>b</sup>	2.5 <sup>b</sup>

注:与本基因C/C型比较,<sup>b</sup>P<0.05;与APACHE II评分1d比较,<sup>c</sup>P<0.05

高峰期(第1周),IL-6基因634C/G基因型携带者APACHE II评分无显著变化(P>0.05),其他基因型均显著降低(P均<0.05)。IL-6基因634位点G等位基因携带者的各项病情程度评分均高于C等位基因(P均<0.05)。

### 3 讨论

IL-1β和IL-6在AP的加重发展机制中起重要作用,它通过诱导炎症反应加重局部损伤和全身炎症反应。本研究中发现AP组血浆IL-1β、IL-6浓度均显著高于健康对照组,提示其浓度升高是AP的重要特征之一,可作为病情预测的评估指标<sup>[8]</sup>。

本研究结果显示,在中国汉族人群中,IL-1β基因511 C/T、IL-6基因634 C/G位点基因多态性在健康对照组和AP组间比较差异无统计学意义,说明AP发病易感性与此无关,但IL-1β基因511位点T等位基因与AP的病情加重相关,携带T等位基因的AP患者发生SAP的风险是C等位基因的2.147倍。有研究发现,IL-1β基因511位点等位基因C变成T时,IL-1β基因转录得到增强,IL-6基因634位点C变成G时,IL-6基因转录得到增强<sup>[7]</sup>。本研究也发现,T等位基因不能引起血浆IL-1β浓度升高,而携带G等位基因者血浆IL-6水平显著升高。但血浆细胞因子浓度受到许多因素影响,这个结论有待进一步证实。

我们进一步比较不同基因型SAP患者的病情严重程度,发现携带IL-β基因511位点T等位基因患者APACHE II评分高于C等位基因,携带IL-6基因634位点G等位基因型患者的APACHE II评分、Balthazar CT评分和MODS评分均高于C等位

基因者,其中MODS评分的差异主要体现在肺功能损害方面,而SAP并发急性呼吸窘迫综合征(ARDS)方面主要是SIRS引起炎症因子快速级联反应导致肺组织损伤<sup>[9]</sup>。这表明IL-β基因511位点T等位基因和IL-6基因634位点G等位基因可能是SAP进展的危险因素,可以促进胰腺局部病变并引发MODS。SAP患者的第1个死亡高峰期是在第1周的炎症反应期,本研究动态分析了携带不同基因型的SAP患者第1周全身炎症反应变化情况,发现携带IL-6基因634位点C/G基因型患者APACHE II评分无明显降低,提示携带G等位基因患者病情不易控制,治疗上更为困难,以上研究结果提示我们,临床上可以对AP患者早期进行IL-1β及IL-6基因多态性的检测,筛选出AP中病情易恶化的人群,实施有针对性的个体化治疗<sup>[10]</sup>。

### 参考文献

- [1] Balthazar EJ, Robinson DL, Megibow AJ, et al. Acute pancreatitis: value of CT in establishing prognosis. *Radiology*, 1990, 174(2): 331-336.
- [2] 陈燕昌, 黄鹤光, 陈大良, 等. 重症急性胰腺炎APACHE II评分的应用价值. *中国普通外科杂志*, 2002, 11(3): 139-141.
- [3] Dominguez-Muñoz JE, Carballo F, Garcia MJ, et al. Evaluation of the clinical usefulness of APACHE I and SAPS systems in the initial prognostic classification of acute pancreatitis: a multicenter study. *Pancreas*, 1993, 8(6): 682-686.
- [4] 中华医学会外科学会胰腺学组. 急性胰腺炎的临床诊断及分级标准[J]. *中华外科杂志*, 1997, 35(12): 773-775.
- [5] Marshall JC, Cook DJ, Christou NV, et al. Multiple organ dysfunction score: a reliable description of a complex clinical outcome. *Crit Care Med*, 1995, 23(10): 1638-1652.
- [6] Kanemoto K, Kawasaki J, Miyamoto T, et al. Interleukin (IL)-1β, IL-1α and IL-1 receptor antagonist gene polymorphisms in patients with temporal lobe epilepsy. *Ann*

Neurol, 2000, 47(5): 571-574.

[7] Kitamura A, Hasegawa G, Obayashi H, et al. Interleukin-6 polymorphism (-634C/G) in the promotor region and the progression of diabetic nephropathy in type 2 diabetes. *Diabet Med*, 2002, 19(12): 1000-1005.

[8] 杨立新, 刘静, 蒋俊明, 等. 细胞因子在急性胰腺炎病情评估和预测中的意义. *中国危重病急救医学*, 2000, 12(7): 435-436.

[9] 陈宏, 李非, 杨磊, 等. 重症急性胰腺炎并发急性呼吸窘迫综合征的临床特点分析. *中国危重病急救医学*, 2005, 17(6): 375-376.

[10] 刘宝, 潘爱军, 周树生, 等. 重症急性胰腺炎的早期个体化综合治疗——附 110 例分析. *中国危重病急救医学*, 2006, 18(3): 169-171.

(收稿日期: 2008-07-06 修回日期: 2008-11-08)  
(本文编辑: 李银平)

• 经验交流 •

## 连续性高容量血液滤过联合血浆吸附治疗重症急性胰腺炎疗效观察

肖先华

【关键词】 胰腺炎, 急性, 重症; 血浆吸附; C-反应蛋白; 连续性高容量血液滤过

2005 年 8 月—2008 年 7 月, 对 16 例重症急性胰腺炎(SAP)取连续性高容量血液滤过(HVHF)联合血浆吸附等综合措施疗效较好, 报告如下。

### 1 临床资料

1.1 病例资料: 男 9 例, 女 7 例; 平均年龄(45.5±12.6)岁; 原发病: 高脂血症、胰腺炎、暴饮、暴食等; 并发症: 多器官功能障碍综合征(MODS)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、急性肾损伤、上消化道出血、休克、胰性脑病。

1.2 治疗方法: 全部患者行禁食、解痉、胃肠减压、肠外营养、抑酸、抑酶、导泻、抗感染、对症、腹腔引流、机械通气等综合治疗; 经股静脉或颈内静脉穿刺置管, 普通肝素抗凝, 按活化部分凝血活酶时间(APTT)调节泵入速度; 手术或出血者用局部肝素化; 置换液用南京军区总医院方案<sup>[1]</sup>; 首次治疗 24 h 后更换滤器, 以后根据患者病情间断应用。16 例共进行联合治疗 50 例次, 最少 1 次, 最多 6 次, 平均 1.75 次, 平均每例次 36 h。

1.3 观察指标: 观察患者治疗后呼吸、心率、体温、血压、意识等变化; 治疗前后取血测 C-反应蛋白(CRP)、电解质、肾功能、血气分析等, 以急性生理学与慢性健康状况评分系统 I (APACHE I) 评分判断整体病情严重程度变化。

### 2 结果

2.1 临床症状与体征变化: 治疗过程中

患者血流动力学稳定, 各项生命体征好转, 24~48 h 病情趋于稳定。12 例使用呼吸机者均顺利撤机; 2 例休克者 24 h 内停用升压药; 胰性脑病患者 24 h 内好转; 3 例严重高脂血症胰腺炎患者治疗 4 h 血脂明显降低, 2 例治疗 24 h 病情完全控制, 1 例治疗 48 h 病情完全缓解。

2.2 CRP 和 APACHE I 评分(表 1): 治疗后 CRP 和 APACHE I 评分均逐渐降低, 治疗后 96 h 与治疗前比较差异均有统计学意义( $P$  均 $<0.05$ )。

表 1 16 例 SAP 患者治疗前后 CRP 和 APACHE I 评分变化( $\bar{x} \pm s$ )

治疗时间	CRP (mg/L)	APACHE I 评分(分)
治疗前	123.5±51.3	14.7±5.3
治疗后 12 h	108.3±38.5	12.1±4.5
治疗后 24 h	90.3±25.6	10.1±4.2
治疗后 48 h	80.6±16.3	8.6±4.3
治疗后 72 h	56.3±14.5	7.5±4.6
治疗后 96 h	32.5±12.6 <sup>a</sup>	7.3±4.4 <sup>a</sup>

注: 与治疗前比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$

2.3 预后: 15 例痊愈出院, 1 例因经济困难放弃治疗; 治愈率为 94%。4 例腹腔大量积液患者多次穿刺抽液后积液明显减少, 出院随访半年完全消退。

### 3 讨论

大量炎症介质过度释放致 MODS 是 SAP 主要发病机制之一, 以 CRP 升高尤为突出。连续性血液净化(CRRT)是治疗 SIRS 和 MODS 有效途径<sup>[2]</sup>; 不仅能清除体内代谢废物, 更重要的是能清除部分炎症介质, 下调全身炎症反应, 阻止病情进一步恶化<sup>[3]</sup>。对严重感染所

致 SIRS 和 MODS 患者采用 HVHF 和连续性静-静脉血液滤过(CVVH)治疗, 结果证实 HVHF 能更有效清除各种炎症介质, 明显改善患者的生存率及预后<sup>[4-5]</sup>。我们采用 HVHF 联合血浆吸附治疗, 从本质上为血浆吸附联合连续性血液滤过(HF), 能有效清除炎症介质。

高脂血症性 SAP 的发生主要为游离脂肪酸对胰腺细胞的损伤, CVVH 能在短时间内明显降低患者血脂, 迅速缓解病情, 其疗效明显优于血脂分离技术, 是高脂血症性 SAP 的主要治疗手段<sup>[6]</sup>。

### 参考文献

[1] 黎磊石, 季大玺. 连续性血液净化. 南京: 东南大学出版社, 2004: 90.

[2] 赵华, 徐文达. 连续性血液净化技术在治疗危重病中的体会. *中国危重病急救医学*, 2004, 16(11): 698.

[3] 季大玺, 谢红浪, 黎磊石. 连续性血液净化与非肾脏疾病. *中国危重病急救医学*, 2001, 13(1): 5-9.

[4] Ronco C, Bellomo R, Homel P, et al. Effects of different doses in continuous veno-venous haemofiltration on outcomes of acute renal failure: a prospective randomised trial. *Lancet*, 2000, 356(9223): 26-30.

[5] Cole L, Bellomo R, Journois D, et al. High-volume haemofiltration in human septic shock. *Intensive Care Med*, 2001, 27(6): 978-986.

[6] 毛恩强, 汤耀卿, 张圣道. 高脂血症性重症急性胰腺炎规范化治疗方案的探讨. *中国实用外科杂志*, 2003, 12(9): 542-545.

(收稿日期: 2008-10-28)  
(本文编辑: 李银平)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.02.013

作者单位: 641003 四川, 内江市第二人民医院 ICU