

- [26] NI X, HU J, HUANG Y, et al. Higher clearance rates of multiple HPV infections may explain their lower risk of HSIL: A retrospective study in Wenzhou, China[J]. *J Med Virol*, 2023, 95(2): e28526.
- [27] FLORES Y N, BISHAI D M, SHAH K V, et al. Risk factors for cervical cancer among HPV positive women in Mexico[J]. *Salud Publica Mex*, 2008, 50(1): 49-58.
- [28] WANG Z, WANG J, FAN J, et al. Risk factors for cervical intraepithelial neoplasia and cervical cancer in Chinese women: large study in Jiexiu, Shanxi Province, China[J]. *J Cancer*, 2017, 8(6): 924-932.
- [29] PIRTEA L, GRIGORAŞD, MATUSZ P, et al. Age and HPV type as risk factors for HPV persistence after loop excision in patients with high grade cervical lesions: An observational study[J]. *BMC Surg*, 2016, 16: 1-7.
- [30] ZHANG Y, NI Z, WEI T, et al. Persistent HPV infection after conization of cervical intraepithelial neoplasia-a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC Womens Health*, 2023, 23(1): 1-11.

IL-13、IL-4、ADRB β 2、Fc ϵ RI- β 单核苷酸多态性与儿童反复喘息发作疗效及临床转归的关系

王 莲, 赵腾飞, 牛四娟 (广州市花都区妇幼保健院儿内科, 广东广州 510800)

摘要: 目的 了解白细胞介素-13 (IL-13)、白细胞介素-4 (IL-4)、肾上腺素能受体 β 2 (ADRB β 2)、免疫球蛋白E高亲和力受体 β 链 (Fc ϵ RI- β)单核苷酸多态性 (SNP)与儿童反复喘息发作的疗效及临床转归的关系。方法 选取60例喘息性支气管炎反复喘息发作患儿作为研究对象,设计IL-13 rs20541、IL-4 rs2243250、ADRB β 2 R16G、Fc ϵ RI- β E237G位点的引物,检测IL-13、IL-4、ADRB β 2、Fc ϵ RI- β 基因多态性,分析各基因位点SNP与患儿疗效及临床转归的关系。结果 IL-13 rs20541野生型AA和杂合型GA的治疗总有效率高于纯合型GG ($P < 0.01$);ADRB β 2 R16G不同基因型之间的治疗有效率比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$),其中基因型GG的治疗有效率显著高于基因型AA、AG ($P < 0.05$);Fc ϵ RI- β E237G治疗有效率比较AA>AG>GG ($P < 0.05$)。IL-13 rs20541野生型AA和杂合型GA发生持续性哮喘的概率低于纯合型GG ($P < 0.05$);ADRB β 2 R16G不同基因型间的疾病转归比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$),其中基因型GG发生持续性哮喘的概率显著低于基因型AA、AG ($P < 0.05$);Fc ϵ RI- β E237G发生持续性哮喘的概率GG>AA>AG ($P < 0.05$)。结论 IL-13、ADRB β 2、Fc ϵ RI- β SNP与反复喘息发作患儿的疗效及临床转归有关。

关键词: 反复喘息发作; 基因多态性; 疗效; 临床转归

中图分类号: R 765

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610 (2023) 06-0669-04

Correlation of IL-13, IL-4, ADR β 2, Fc ϵ RI- β single nucleotide polymorphism with curative effect and clinical outcome of relapse wheezing in children

WANG Lian, ZHAO Teng-fei, NIU Si-juan (Department of Pediatrics, Maternal and Child Health Hospital of Huadu District, Guangzhou 510810, China)

Abstract: Objective To explore the correlation between IL-13, IL-4, ADR β 2, and Fc ϵ RI- β single nucleotide polymorphism (SNP) and the curative effect and clinical outcome of relapse wheezing in children. **Methods** A total of 60 children with relapse wheezing of asthmatic bronchitis were selected as the research subjects. The primers of IL-13 rs20541, IL-4 rs2243250, ADR β 2 R16G and Fc ϵ RI- β E237G sites were designed to test the SNP of IL-13, IL-4, ADR β 2 and Fc ϵ RI- β , and the correlation of SNP of each genetic locus with the curative effect and clinical outcome in children was analyzed. **Results** The total effective rates of IL-13 rs20541 wild type AA and heterozygous type GA was higher than that of homozygous type GG ($P < 0.01$). There were statistical differences in the effective rate among different genotypes of ADR β 2 R16G ($P < 0.01$), of which the effective rate of the genotype GG was higher than that of the genotype AA and AG ($P < 0.05$). for the comparison of the effective rate of different genotypes of Fc ϵ RI- β E237G, AA>AG>GG ($P < 0.05$). The incidence of persistent wheezing of IL-13

收稿日期: 2022-10-18

作者简介: 王 莲 (1975-), 女, 硕士研究生, 副主任医师, E-mail: wl915915ztf@163.com

rs20541 wild type AA and heterozygous type GA was lower than that of homozygous type GG ($P<0.05$). There were statistical differences in the outcome among different genotypes of ADR β 2 R16G ($P<0.05$), of which the incidence of persistent wheezing of the genotype GG was higher than that of the genotype AA and AG ($P<0.05$). For the incidence of persistent wheezing of different genotypes of Fc ϵ RI- β E237G, GG>AA>AG ($P<0.05$). **Conclusion** IL-13 rs20541, ADR β 2 R16G, and Fc ϵ RI- β E237G SNPs are correlated with the curative effect and clinical outcome of children.

Key words: relapse wheezing; gene polymorphism; curative effect; clinical outcome

近年来,儿童喘息性疾病的发病率逐年上升,已成为婴幼儿群体的常见疾病。哮喘的发生与特异性体质、病毒感染及过敏原等因素具有密切关系。根据有关研究显示,约50%儿童在3岁前至少有一次喘息发作,且具有不同的转归结果;喘息作为儿童常见的呼吸道症状,约1/3患儿最终发展成哮喘,且其反复发作容易影响患儿的生长、发育及健康^[1]。因此,早期识别治疗效果、判断疾病转归,对患儿提早进行干预,有利于疾病的预后。目前已有研究表明哮喘基因及环境因素是引发小儿哮喘的主要原因^[2]。白细胞介素-13(IL-13)、白细胞介素-4(IL-4)、肾上腺素能受体 β 2(ADR β 2)、免疫球蛋白E高亲和力受体 β 链(Fc ϵ RI- β)的单核苷酸多态性(SNP)与哮喘具有一定的关系^[3-5]。本研究分析了IL-13、IL-4、ADR β 2、Fc ϵ RI- β SNP与反复喘息发作的疗效及临床转归的关系,旨在为儿童反复喘息发作的诊断治疗提供参考依据。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选取2020年3月至2021年9月广州市花都区妇幼保健院儿科住院部60例喘息性气管炎反复喘息发作患儿作为研究对象,其中男42例,女18例,年龄3~5岁,平均(4.1 \pm 0.5)岁;年喘息发作次数4~14次,平均(7.21 \pm 1.98)次。纳入标准:(1)符合《儿科学》中关于喘息性支气管炎的相关诊断标准^[6];(2)喘息反复发作次数 \geq 3次;(3)年龄 \leq 5岁。排除标准:(1)先天性气管、支气管发育畸形、气管内含异物、先天性心脏病等引起的喘息;(2)有呼吸系统感染疾病史;

(3)4周内接受过糖皮质激素治疗;(4)家属临床治疗依从性低,不配合治疗工作。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 第1周给予吸入用布地奈德混悬液(批准文号:H20140475;规格:2 mL:1 mg)1 mg、硫酸特布他林雾化液(批准文号:H20140108;规格:2 mL:5 mg)2.5 mg进行雾化吸入,10~15 min/次,2次/d;第2周布地奈德混悬液剂量改为0.5 mg/次,如患儿近1 a反复喘息发作达4次及以上,则在症状缓解期继续雾化吸入布地奈德混悬液,0.5 mg/次,2次/d,连续治疗3周。

1.2.2 IL-13、IL-4、ADR β 2、Fc ϵ RI- β 基因多态性的检测^[4,5,7] 采集患儿肘静脉血2 mL后,乙二胺四乙酸抗凝;DNA提取采用血液基因组DNA提取试剂盒;设计IL-13 rs20541、IL-4 rs2243250、ADR β 2 R16G、Fc ϵ RI- β E237G位点的引物(见表1),按照聚合酶链式反应(PCR)试剂盒配置50 μ L反应体系,按照95 $^{\circ}$ C 30 s、59 $^{\circ}$ C 30 s、72 $^{\circ}$ C 30 s的程序反应40个循环,采用荧光定量PCR仪(厂商:北京龙跃科技发展有限公司,型号:ABI7900)进行检测。根据4个基因位点的荧光曲线判读基因型[野生型:只有六氯-6-甲基荧光素(Hex)荧光;突变纯合型:只有6-羧基荧光素(FAM)]荧光扩增曲线;突变杂合型:同时有Hex和FAM荧光扩增曲线。该检测由上海科医联创医学检验所有限公司完成。

1.2.3 疗效评定^[7] (1)显效:治疗2 d内症状明显缓解,且呼吸困难及缺氧状况有明显改善,且哮喘音、湿

表1 各基因位点引物探针序列

基因位点	引物/探针	序列
IL-13 rs20541	正向引物	5' -CCTGTCTCTGCAAATAATGATGCT-3'
	反向引物	5' -GGTGGCCAGTTTGTAAGG-3'
IL-4 rs2243250	正向引物	5' -TGTCCTTCTCAAAACACCTAAACTTG-3'
	反向引物	5' -AGAGGCAGAATAACAGGCAGACTCT-3'
ADR β 2 R16G	正向引物	5' -GAGTGTCTGGACACGTGATTCTTA-3'
	反向引物	5' -CAGAGGATCGTGTATATGAAGAATTAA-3'
Fc ϵ RI- β E237G	正向引物	5' -ATATGCTAGCTATAGCTACTA-3'
	反向引物	5' -AACTTCGTAGCTAGCTATCG-3'

啰音消失; (2) 有效: 治疗 3 d 内症状明显缓解, 呼吸困难及缺氧状况恢复正常, 且哮喘音、湿啰音基本消失; (3) 无效: 治疗后 3 d 内症状及体征无明显缓解。以显效和有效表示治疗效果好, 无效表示治疗效果差。

1.2.4 疾病转归评定 随访时间为 1 a, 采用电话随访的方式调查研究对象的疾病转归, 内容包括入组至随访时总的喘息次数及随访近 1 a 的喘息次数。按照 Tucson 儿童呼吸研究喘息分类法^[8], 评定患儿反复喘息发作的临床转归: 一过性喘息为首次喘息年龄小于 3 岁, 6 岁时无喘息症状; 持续性喘息为首次喘息年龄小于 3 岁, 6 岁时仍有喘息症状。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计学软件对数据进行分析, 计数资料以例 (%) 表示, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各基因位点 SNP 与疗效的关系

60 例喘息性气管炎反复发作患儿经治疗后效果好者 32 例, 效果差者 28 例。其中 IL-13 rs20541 野生型 AA 和杂合型 GA 的治疗总有效率高于纯合型 GG ($P < 0.01$); ADRβ2 R16G 不同基因型之间的治疗有效率比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 其中基因型 GG 的治疗有效率显著高于基因型 AA、AG ($P < 0.05$); FcεRI-β E237G 治疗有效率比较 AA > AG > GG ($P < 0.05$)。见表 2。

2.2 各基因位点 SNP 与疾病转归的关系

60 例喘息性气管炎反复发作患儿随访期间发生一过性喘息者 27 例, 持续性喘息者 33 例。表 3 可见, IL-13 rs20541 野生型 AA 和杂合型 GA 发生持续性哮喘的几率低于纯合型 GG ($P < 0.05$); ADRβ2 R16G 不同基因型间的疾病转归比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其中基因型 GG 发生持续性哮喘的几率显著低于基因型 AA、AG ($P < 0.05$); FcεRI-β E237G 发生持续性哮喘的几率排序为 GG > AA > AG ($P < 0.05$)。

表 2 各基因位点与疗效的关系分析

基因位点	基因型	治疗效果		合计	总有效率/%	χ^2	P 值
		好 (n=32)	差 (n=28)				
IL-13 rs20541	AA	5	5	10	50.0	15.649	<0.001
	GA	21	5	26	80.8		
	GG	6	18	24	25.0		
IL-4 rs2243250	CC	1	0	1	100.0	0.957	0.620
	TC	9	9	18	50.0		
	TT	22	19	41	53.7		
ADRβ2 R16G	AA	8	17	25	32.0	11.614	0.003
	AG	12	13	25	48.0		
	GG	12	2	14	85.7		
FcεRI-β E237G	AA	29	18	47	61.7	7.039	0.030
	AG	2	3	5	40.0		
	GG	1	7	8	12.5		

表 3 各基因位点 SNP 与疾病转归的关系

基因位点	基因型	喘息		合计	χ^2	P 值
		一过性 (n=27)	持续性 (n=33)			
IL-13 rs20541	AA	5	5	10	6.085	0.048
	GA	17	12	29		
	GG	5	16	21		
IL-4 rs2243250	CC	2	0	2	3.030	0.220
	TC	9	9	18		
	TT	16	24	40		
ADRβ2 R16G	AA	7	17	24	8.092	0.016
	AG	13	15	28		
	GG	7	1	8		
FcεRI-β E237G	AA	31	11	42	7.264	0.026
	AG	6	2	8		
	GG	3	7	10		

3 讨论

喘息反复发作作为婴幼儿常见的症状,虽然已知环境及生活方式是导致其发病的主要原因,但遗传易感性及家庭间病例聚集也是不可忽视的关键因素^[9]。而喘息作为哮喘的特征性症状之一,患有持续性喘息的患儿在其青春期更容易出现哮喘。探寻与儿童反复哮喘发作相关的基因多态性并据此对喘息患儿进行鉴别诊断以及预后评估一直为该领域的研究热点。

目前已有研究证实儿童哮喘发作与多种基因多态性有关。有研究提出IL-13多态性与总IgG血清水平存在显著关系^[10]。本研究结果显示,IL-13 rs20541的野生型AA和杂合型GA的治疗效果优于纯合型GG,且IL-13 rs20541的纯合型GG发生持续性喘息的风险最高,考虑可能原因为IL-13的等位基因变异导致IgE抗体水平下降,使得炎症介质分泌减少,从而降低持续性喘息发生的可能性。而白细胞介素基因内含子区的SNP正是由于患者的T等位基因所致。而ADRB2 R16G作为ADRB2位于其染色体5q31上的一个突变位点,与哮喘的严重程度以及发生夜间哮喘相关^[5]。本研究结果显示,ADRB2 R16G基因型GG的治疗效果最好,且基因型GG发生持续性哮喘的可能性最小,提示ADRB2 R16G基因型AG和AA具有较高地发生持续性哮喘的风险,临床治疗中若此基因型患儿发生反复喘息发作,则应采取针对性治疗。过敏性喘息及哮喘发生的病理、生理基础均含有IgE介导的超敏反应,且FcεRI能够通过IgE结合从而促进肥大细胞、嗜酸粒细胞、嗜碱粒细胞活化,增加气道反应性。因此,该类基因型患者容易出现喘息的症状。常永莉等^[11]研究表明,ADRB2 R16G位点AA型突变等位基因频率在哮喘患者的体内具有较高的表达水平,提示其纯合子基因型与患者哮喘的发作有一定关系,认为IL-13、ADRB2基因表达异常容易使机体辅助性T细胞1/辅助性T细胞2之间失去平衡;IL-13高表达并作用于B细胞易促进体内炎症反应的发生,加重患者病情。本研究结果显示,FcεRI-β E237G基因型AA的治疗有效率最高,且基因型GG发生持续性喘息的风险最高,可能原因为FcεRI-β基因在E237G位点A向G的突变能够加重儿童喘息的病情,有效增强FcεRI-β亚基在细胞内介导信

号转导的功能并且加剧患儿的超敏反应^[12]。

综上所述,IL-13、ADRB2、FcεRI-β SNP与患儿的疗效及疾病转归有关,且IL-13 rs20541的GG型、ADRB2 R16G的AA型、FcεRI-β E237G的GG型为患儿持续性喘息的影响因素。

参考文献:

- [1] KWONG C G, BACHARIER L B. Phenotypes of wheezing and asthma in preschool children[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 2019, 19(2): 148-153.
- [2] CHEN Y, WONG G W, LI J. Environmental exposure and genetic predisposition as risk factors for asthma in china[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2016, 8(2): 92-100.
- [3] 杨善浦, 沈仁, 张林桃, 等. IL-13、IL-4、MS4A2、ADRB2基因多态性与婴幼儿反复喘息发作疗效及临床转归的关系[J]. *临床医学研究与实践*, 2021, 6(22): 28-32.
- [4] 李妙晨, 惠雷, 韦宝生, 等. 哮喘易感基因FcεRI-β多态性与喘息患儿临床特征、细胞因子及Th17/Treg的关系[J]. *国际呼吸杂志*, 2019(20): 1521-1525.
- [5] 王冰洁, 王桂兰, 刘翔腾, 等. 5岁以下喘息患儿ADRB2、ORMDL3基因SNP与API的关系研究[J]. *新医学*, 2022, 53(2): 104-108.
- [6] 王卫平, 孙轲, 常立文, 等. 儿科学[M]. 9版. 北京: 人民卫生出版社, 2018: 243-251.
- [7] 齐莎莎, 张国伟, 孟凡威, 等. 富马酸福莫特罗片对小儿喘息性支气管炎反复发作的疗效[J]. *深圳中西医结合杂志*, 2022, 32(4): 84-86.
- [8] WALLIS C, ALEXOPOULOU E, ANTON-PACHECO J L, et al. ERS statement on tracheomalacia and bronchomalacia in children[J]. *Eur Respir J*, 2019, 54(3): 1900382.
- [9] LIU J, DENG Y, YU B, et al. Targeted resequencing showing novel common and rare genetic variants increases the risk of asthma in the Chinese Han population[J]. *J Clin Lab Anal*, 2021, 35(6): e23813.
- [10] IMRAISH A, ABU-THIAB T, ZIHLIF M. IL-13 and FOXO genes polymorphisms regulate IgE levels in asthmatic patients[J]. *Biomed Rep*, 2021, 14(6): 55.
- [11] 常永莉, 张莉媛, 王惠琴, 等. 哮喘患者IL-13基因Intron3+1923位点C/T、β2-AR基因R16G单核苷酸多态性及HLA等位基因频率表达对外周血T淋巴细胞亚群和IgE的影响[J]. *临床检验杂志*, 2021, 39(3): 198-201.
- [12] 郭素华, 林英, 李丽云, 等. 喘息患儿FcεRI-β基因多态性与临床表现、疗效及预后研究[J]. *中国妇幼保健*, 2016, 31(7): 1427-1429.