

[文章编号] 1000-1182(2011)04-0365-04

# 白细胞介素-1单核苷酸多态性与甘肃回族、东乡族人群慢性牙周炎的相关性研究

杨兰<sup>1</sup> 谢小冬<sup>2</sup> 马力扬<sup>3</sup> 刘志寿<sup>4</sup> 潘玉兰<sup>5</sup> 刘颜彬<sup>1</sup>

(1.兰州大学第二医院 口腔科, 兰州 730030; 2.兰州大学基础医学院 遗传学研究所, 兰州 730000;  
3.西北民族大学医学院 口腔教研室, 兰州 730030; 4.临夏州人民医院 口腔科, 临夏 731200;  
5.临夏州广河县人民医院 口腔科, 临夏 731203)

**[摘要]** 目的 通过检测并分析白细胞介素(IL)-1B+3954位点的单核苷酸多态性(SNP), 探索其与甘肃回族与东乡族人群慢性牙周炎的关系。方法 收集215例回族、东乡族慢性牙周炎患者及219例正常对照组健康者的静脉血, 提取外周静脉血白细胞DNA, 采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性技术(PCR-RFLP)方法检测IL-1B+3954位点等位基因频率以及基因型频率。结果 牙周炎组与正常对照组间基因型频率分布、等位基因频率分布差异都有统计学意义, C等位基因的存在使患牙周炎的危险性增加。IL-1B+3954基因多态性在回族与东乡族患者中的分布规律相似。结论 本研究证明了IL-1B+3954C/T基因型与甘肃回族、东乡族慢性牙周炎的发病具有密切的相关性, 显示遗传多态性与甘肃回族、东乡族慢性牙周炎的发病率有关。

**[关键词]** 慢性牙周炎; 白细胞介素-1; 单核苷酸多态性

**[中图分类号]** Q 786 **[文献标志码]** A **[doi]** 10.3969/j.issn.1000-1182.2011.04.008

**A study of association between the interleukin-1 single nucleotide polymorphism and risk of chronic periodontitis among the Hui and Dongxiang minorities in Gansu province** Yang Lan<sup>1</sup>, Xie Xiaodong<sup>2</sup>, Ma Liyang<sup>3</sup>, Liu Zhishou<sup>4</sup>, Pan Yulan<sup>5</sup>, Liu Yanbin<sup>1</sup>. (1. Dept. of Stomatology, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730030, China; 2. Institute of Genetics, School of Basic Medical Sciences, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 3. Dept. of Dentistry, Medical College of Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China; 4. Dept. of Stomatology, People's Hospital of Linxia, Linxia 731200, China; 5. Dept. of Stomatology, People's Hospital of Guanghe County, Linxia 731203, China)

**[Abstract]** **Objective** To examine and analyze the interleukin(IL)-1B gene single nucleotide polymorphism(SNP) at positions +3954, and explore the association between SNP and risk of chronic periodontitis(CP) among the Hui and Dongxiang minorities in Gansu province. **Methods** CP group consisted of 215 patients from Hui and Dongxiang and healthy control group consisted of 219 subjects. Anti-coagulated peripheral blood sample was obtained from each subject and genomic DNA was extracted from each sample. SNP at IL-1B+3954 were analyzed by standard polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism(PCR-RFLP) assay. **Results** Statistically significant differences were found in genotype and allele frequencies between CP group and healthy control group. The exist of position alleles C increased the incidence of CP. The trend of frequency distribution of gene polymorphism above in Dongxiang was the same as that of Hui. **Conclusion** The present study reveals that IL-1B+3954C/T genotypes are significantly associated with the risk of CP. These results indicate that genetic polymorphism is significantly associated with the risk of CP among the Hui and Dongxiang minorities in Gansu province.

**[Key words]** chronic periodontitis; interleukin-1; single nucleotide polymorphism

慢性牙周炎是一种多种病因导致的细菌感染炎症性疾病, 但遗传因素也对患病易感性有不可忽视

的作用, 免疫相关因子的基因型可能决定个体对牙周炎的易感性<sup>[1]</sup>。白细胞介素(interleukin, IL)-1是一类重要的具有免疫调节作用的细胞因子, 既可促进结缔组织基质的降解, 也可刺激骨吸收。有研究发现: IL-1与慢性炎症的活跃性有密切关系<sup>[2]</sup>。国内外学者对IL-1B+3954位点的单核苷酸多态性(single

[收稿日期] 2010-06-01; [修回日期] 2011-06-04

[基金项目] 甘肃省科技攻关基金资助项目(2GS064-A43-020-10)

[作者简介] 杨兰(1959—), 女, 甘肃人, 主任医师, 博士

[通讯作者] 谢小冬, Tel: 13150022776

nucleotide polymorphism, SNP)与慢性牙周炎发生的关联性进行了多方面研究,许多等位基因的频率因地域、种族的差别而有所改变,得出的结论有时也是矛盾的<sup>[3-7]</sup>。本实验通过病例对照研究,观察中国甘肃省回族、东乡族人群IL-1 SNP与成人慢性牙周炎易感性的关系,探讨中国少数民族慢性牙周炎易感因素。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究对象的选择

选择甘肃临夏回族、东乡族慢性牙周炎患者215例作为牙周炎组。回族患者中男性78人,女性47人;东乡族患者中男性60人,女性30人。回族患者年龄为35~70岁,平均年龄54岁;东乡族患者年龄35~67岁,平均50岁。纳入标准:1)三代均系回族、东乡族血统;2)年龄35~74岁;3)至少有14颗牙,其中4颗磨牙;4)6个月内无牙周治疗史;5)本人知情同意。排除标准:1)有明显错颌畸形及局部刺激因素者;2)有全身系统性疾病者;3)吸烟者,孕期及哺乳期妇女。同时选取219个全身健康无系统性疾病者作为正常对照组,其中回族患者120人,东乡族患者99人;男性100人,女性119人,年龄为30~65岁,平均年龄53岁。

由2位经过培训的专科主治医师对所有受检者进行全口牙周检查。记录口腔中所有余留牙6个部位(近中颊面、颊面、远中颊面、近中舌面、舌面、远中舌面)的牙周袋探诊深度(probing depth, PD)及临床附着丧失(clinical attachment loss, CAL),检查结果参照Armitage推荐的诊断标准<sup>[8]</sup>,根据检查结果将CAL>1.6 mm、口内至少3个区或至少6颗牙8个以上邻面部位CAL>3 mm、缺失牙>2颗(第三磨牙拔除、正畸牙拔除、外伤脱落牙、大面积龋失牙及先天缺牙除外)者纳入病例组。正常对照组:平均CAL≤0.5 mm,无邻面部位的CAL≥3 mm,缺失牙≤2颗(第三磨牙拔除、正畸牙拔除、外伤脱落牙、大面积龋失牙及先天缺牙除外)。

### 1.2 主要仪器

低温台式离心机MIRKO-22R(Hettich Zentrifugen公司,德国), TL-16型台式高速冷冻离心机(上海市离心机械研究所), UV7501紫外分光光度计(上海天美科学仪器有限公司),超净工作台(苏净集团安泰公司制造),电泳仪JY-ECP 3000和JY-600(北京市君意机电技术公司),电子恒温水箱(北京永光明医疗仪器厂)等。

### 1.3 主要试剂

蛋白酶K(Merck KgaA公司,德国),琼脂糖

(BIOWEST公司,西班牙), *Taq* DNA polymerase和10 mmol·L<sup>-1</sup>dNTP mixture(北京鼎国生物技术有限公司), Alu I(TOYOBO Co. LTD, 日本), *Ava*I、*Taq*I(MBI Fermentas公司,立陶宛), *Bsh*1236I(Fermentas Life Science公司,立陶宛), *Bst*U I(New England Biolabs公司,美国)。饱和酚(pH>7.8)、氯仿、异戊醇、无水乙醇、溴化乙锭(ethidium bromide, EB)等化学试剂以及引物均购于上海生工生物工程技术有限公司。

### 1.4 实验方法

取研究对象前臂静脉血2 mL,用标准的蛋白酶K及酚-氯仿有机抽提法从乙二胺四乙酸(ethylene-diamine tetraacetic acid, EDTA)抗凝的外周血白细胞中提取DNA,提取的DNA溶于TE缓冲液中,置4℃保存。

采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性技术(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)对IL-1B+3954等位基因进行分型。PCR引物F:5'-GTTGTCATCAG-ACTTTGACC-3', R:5'-TTCAGTTCATATGGACC-AGA-3'。PCR反应体积为25 μL。PCR条件:先行3个循环的变性(95℃, 2 min)、复性(55℃, 90 s)和延伸(74℃, 1 min);后接32个周期变性(94℃, 1 min)、复性(55℃, 1 min)和延伸(74℃, 1 min);最后72℃延伸10 min。经2%琼脂糖电泳确定有一条249 bp带后,将PCR产物用限制酶*Taq*I在65℃消化16 h。C等位基因含*Taq*I限制位点,酶切后产生135 bp和114 bp两条带;T等位基因不能被*Taq*I消化,只有249 bp一条带。2.5%琼脂糖凝胶(EB染色)电泳分析。T/T=249 bp, C/C=135 bp+114 bp, C/T=249 bp+135 bp+114 bp[156, 44]。30%的标本被再次进行基因分型,已确认结果的可靠性。

### 1.5 统计学分析

采用SPSS 11.0统计软件对数据进行处理,各基因多态性位点的等位基因频率用Hardy-Weinberg平衡检测,并经 $\chi^2$ 检验确定差异有无统计学意义。各等位基因的频率以及基因型的分布频率用优势比(odds ratio, OR)及其95%可信区间(95% confidence interval, 95%CI)表示相对风险度分析。二组之间在年龄、性别上的差异用 $\chi^2$ 检验确定有无统计学意义。

## 2 结果

本研究对牙周炎组215例和正常对照组219例进行检测,所检测的全部基因型分布频率均符合Hardy-Weinberg平衡,二组之间在年龄、性别上差异无统计学意义。

## 2.1 IL-1B+3954基因多态性

牙周炎组IL-1B+3954位点C/C、C/T和T/T基因型的频率分别为75.3%(162/215)、15.8%(34/215)、8.8%(19/215);正常对照组相应基因型的频率分别为57.1%(125/219)、28.3%(62/219)、14.6%(32/219)。牙周炎组的基因型频率分布与正常对照组的基因型频率分布差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

牙周炎组IL-1B+3954位点C、T等位基因频率分别为83.3%(358/430)、16.7%(72/430);正常对照组相应等位基因频率分别为71.2%(312/438)、28.8%(126/438)。2组间差异有统计学意义( $P<0.05$ )。根据OR值判断,C等位基因相对于T等位基因为危险基因,即携带等位基因C比携带等位基因T患牙周炎的风险高2.008倍( $P<0.05$ )。

## 2.2 IL-1B+3954基因多态性在回族与东乡族患者中的分布频率

牙周炎组回族患者IL-1B+3954位点C/C、C/T、T/T基因型的频率分别为72.0%(90/125)、19.2%(24/125)、8.8%(11/125);东乡族患者相应基因型的频率分别为80.0%(72/90)、11.1%(10/90)、8.9%(8/90)。3种基因型在牙周炎组回族患者和东乡族患者间分布频率的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

牙周炎组回族患者IL-1B+3954位点C、T等位基因的频率分别为81.6%(204/250)、18.4%(46/250);东乡族患者相应等位基因的频率分别为85.6%(154/180)、14.4%(26/180)。2种等位基因在牙周炎组回族和东乡族患者间分布频率的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

牙周炎是一种多基因、多因素疾病,不同种族、民族所携带的易感基因以及诱导的环境因素可能不同<sup>[9]</sup>。通过分析不同民族的基因多态性,对疾病的发病机制、基因水平的诊断和治疗有重要意义。本研究从基因水平探讨甘肃回族、东乡族人群慢性牙周炎发病的遗传学原因并与其他民族比较,利用现代分子生物学手段,为甘肃回族、东乡族中慢性牙周炎相关易感基因的分布和分型提供了基本数据,为慢性牙周炎的分子分型、分子诊断和基因治疗提供一定的理论依据。

自从1997年Kornman等<sup>[7]</sup>首次将IL-1基因的多态性引入到慢性牙周炎的关联研究中,发现IL-1A-899和IL-1B+3953与牙周炎的易感性有关以来,Cullinan等<sup>[10]</sup>对504名志愿者做长期纵向追踪研究IL-1和牙周炎进展的关系,结果显示具有IL-1基因多态性的个体比没有IL-1变异的个体更容易有附着丧失,证明

IL-1和牙周病的进展相关。李启艳等<sup>[11]</sup>通过提取122例侵袭性牙周炎患者和95例健康对照者外周静脉血基因组DNA进行研究,分析了IL-1A+4845、IL-1B+3954、IL-1B-511多态性,得出IL-1A+4845、IL-1B-511位点的SNP可能与中国人群中男性个体的侵袭性牙周炎易感性有关,而未发现IL-1B+3954的多态性与侵袭性牙周炎的易感性有关。

Nikolopoulos等<sup>[12]</sup>关于牙周疾病及细胞因子基因多态性关系的研究中,综合分析了23篇IL-1B SNP对慢性牙周炎易感性作用的文章,肯定了IL-1B+3954多态性是慢性牙周炎患病的危险因素。本研究对甘肃临夏回族自治州的回族及东乡族慢性牙周炎易感性与IL-1B+3954基因多态性的相关性分别进行了分析。结果显示:IL-1B+3954基因型频率分布在慢性牙周炎组与正常对照组间差异有统计学意义,提示其基因多态性与回族及东乡族慢性牙周炎发病风险有显著的相关性。IL-1B+3954位点C等位基因在牙周炎组占83.3%,明显高于正常对照组中的71.2%的比例,二者间差异有统计学意义( $P<0.05$ ),说明在IL-1B+3954中,随着C等位基因频率的升高,发生牙周炎的比例明显升高,提示C等位基因与牙周炎的患病风险有相关性。Moreira等<sup>[13]</sup>在对巴西人的研究中发现:与侵袭性牙周炎组和对照组相比,IL-1B+3954在慢性牙周炎组中T等位基因占有更高的比例。上述不同研究结果的产生可能与种族影响基因多态性分布有关<sup>[4]</sup>,同时提示IL-1基因型在不同地域、不同人种中的分布是不相同的<sup>[14]</sup>。

本研究表明牙周炎组回族患者IL-1B+3954位点C/C、C/T、T/T基因型及C、T等位基因的频率和东乡族患者间分布频率的差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。这可能是由于回族和东乡族在民族的形成和发展中有着相同或相近的渊源,遗传距离很近<sup>[15]</sup>。

牙周炎的发生是遗传、环境以及个人行为习惯等因素共同作用的结果,要揭示牙周炎发生的可靠易感性标志物,尚需综合其他基因位点共同分析,将遗传与环境的相互作用、联系纳入研究范围之内,只有这样才能为将来对危险人群进行早期的诊断和治疗打下良好基础。

## 【参考文献】

- [1] 钟良军,张蕴惠,章锦才,等.白细胞介素1受体拮抗剂基因型与维吾尔族慢性牙周炎的关系[J].中华口腔医学杂志,2003,38(5):370-373.  
Zhong Liangjun, Zhang Yunhui, Zhang Jincai, et al. The association between interleukin-1 receptor antagonist genotype and chronic periodontitis of Uighur patients[J]. Chin J Stomatol, 2003, 38(5):370-373.

- [2] Birkedal-Hansen H. Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction[J]. J Periodontol Res, 1993, 28(6Pt 2): 500-510.
- [3] Greenstein G, Hart TC. A critical assessment of interleukin-1(IL-1) genotyping when used in a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis[J]. J Periodontol, 2002, 73(2): 231-247.
- [4] Hoffmann SC, Stanley EM, Cox ED, et al. Ethnicity greatly influences cytokine gene polymorphism distribution[J]. Am J Transplant, 2002, 2(6): 560-567.
- [5] Hodge PJ, Riggio MP, Kinane DF. Failure to detect an association with IL1 genotypes in European Caucasians with generalised early onset periodontitis[J]. J Clin Periodontol, 2001, 28(5): 430-436.
- [6] Nares S. The genetic relationship to periodontal disease[J]. Periodontology 2000, 2003, 32(1): 36-49.
- [7] Kornman KS, Crane A, Wang HY, et al. The interleukin-1 genotype as a severity factor in adult periodontal disease[J]. J Clin Periodontol, 1997, 24(1): 72-77.
- [8] Armitage GC, Wu Y, Wang HY, et al. Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage[J]. J Periodontol, 2000, 71(2): 164-171.
- [9] 钟良军, 陈晓涛, 李泽慧, 等. 新疆不同民族慢性牙周炎IL-1基因多态性的研究[J]. 临床口腔医学杂志, 2006, 22(12): 726-729.
- Zhong Liangjun, Chen Xiaotao, Li Zehui, et al. Distribution of interleukin-1 genotype polymorphism in different nationalities periodontitis in Xinjiang[J]. J Clin Stomatol, 2006, 22(12): 726-729.
- [10] Cullinan MP, Westerman B, Hamlet SM, et al. A longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population[J]. J Clin Periodontol, 2001, 28(12): 1137-1144.
- [11] 李启艳, 赵红珊, 孟焕新, 等. 白细胞介素-1基因多态性与侵袭性牙周炎的关系[J]. 上海口腔医学, 2005, 14(4): 333-337.
- Li Qiyang, Zhao Hongshan, Meng Huanxin, et al. Interleukin-1 polymorphisms in patients with aggressive periodontitis[J]. Shanghai J Stomatol, 2005, 14(4): 333-337.
- [12] Nikolopoulos GK, Dimou NL, Hamdrakas SJ, et al. Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: A meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls[J]. J Clin Periodontol, 2008, 35(9): 754-767.
- [13] Moreira PR, de S AR, Xavier GM, et al. A functional interleukin-1 beta gene polymorphism is associated with chronic periodontitis in a sample of Brazilian individuals[J]. J Periodontol Res, 2005, 40(4): 306-311.
- [14] 黄海云, 章锦才. 白细胞介素1基因多态性与四川地区慢性牙周炎相关关系的研究[J]. 华西口腔医学杂志, 2004, 22(5): 415-419.
- Huang Haiyun, Zhang Jincai. Investigation on the association of interleukin-1 genotype polymorphism with chronic periodontitis[J]. West China J Stomatol, 2004, 22(5): 415-419.
- [15] 谢小冬, 王勋陵, 安黎哲. 从群体遗传的DNA线索看东乡族族源问题[J]. 民族研究, 2002(1): 35-39.
- Xie Xiaodong, Wang Xunling, An Lizhe. From the clue of DNA in population genetics to identify the origin of Dongxiang[J]. Ethno-National Studies, 2002(1): 35-39.

(本文编辑 胡兴戎)

## SoproLife荧光龋齿观察仪——创新一代口腔内窥镜

法国艾龙集团在2009年推出了创新一代口腔数字观察仪——SoproLife荧光龋齿观察仪,其既具有普通内窥镜的拍摄功能,还能探测龋齿,是目前市场上唯一集两种功能为一体的高科技内窥镜。

SoproLife首先是一款能够拍摄高品质图像的高端内窥镜,有3种拍摄模式:面部、口内、微距,能帮助医生获得最清晰的图像。

另外,在过去5年里,专业口腔影像设备制造商Sopro公司应用专业技术知识,与临床研究人员一起研究出一项基于荧光原理的专利技术。荧光分子具有吸收发光能量和在荧光灯下迅速复原的能力,在口腔医学中利用特定的波长去照射牙齿,并利用荧光反射原理可得到组织特性,在此技术基础上开发了SoproLife荧光龋齿观察仪。

使用自动荧光技术,只需触动一下按钮,SoproLife就可以实现从白色LED光源转换至蓝色LED光源,医生在蓝光下观察牙本质的健康状况。

使用龋齿探测功能,SoproLife可以探测到被X射线忽略的殆面和邻面龋。SoproLife还可用于制备过程中,帮助去除病理组织,同时尽可能保护健康牙体组织。

SoproLife独具的多功能性、圆外形以及简便的操作方式,给牙医的日常治疗提供了切实的帮助。SoproLife还有很好的兼容性,可以连接到彩色监视器,广泛兼容各种图像软件,并且兼容Sopro公司其他型号内窥镜的控制盒。当连接Sopro Imaging成像软件后可以使用SoproLife专用模块,从而可拥有个性化界面和定制化的患者随访。

如需了解更多SoproLife口腔影像产品信息,请联系法国艾龙集团北京办事处,电话010-64657011/12。

法国艾龙集团北京办事处