

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.03.006  
文章编号: 1005-8982 (2021) 03-0031-05

呼吸系统疾病专题·论著

## PPAR $\gamma$ 基因多态性与新生儿肺炎易感性及血清炎症细胞因子的关系

田静<sup>1</sup>, 惠晓君<sup>1</sup>, 张靖<sup>1</sup>, 任亚方<sup>1</sup>, 张朋<sup>2</sup>

(南阳市中心医院 1.新生儿科, 2.小儿外科, 河南 南阳 473000)

**摘要:** **目的** 研究血清过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ (PPAR  $\gamma$ )基因多态性与新生儿肺炎易感性及血清炎症细胞因子的关系。**方法** 选取2016年3月—2019年3月南阳市中心医院收治的感染性肺炎新生儿90例。根据病情将感染性肺炎新生儿分为轻症肺炎组52例和重症肺炎组38例,另取同期在该院分娩的80例健康新生儿作为对照组。检测PPAR  $\gamma$ 基因rs1801282位点多态性及血清炎症细胞因子白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的质量浓度。**结果** 重症肺炎组和轻症肺炎组新生儿C/C基因型的比例、等位基因C的频率及血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1质量浓度均高于对照组( $P < 0.05$ ),GC+GG基因型的比例、等位基因G的频率低于对照组( $P < 0.05$ );重症肺炎组新生儿CC基因型的比例、等位基因C的频率及血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1质量浓度高于轻症肺炎组( $P < 0.05$ ),GC+GG基因型的比例、等位基因G的频率低于轻症肺炎组( $P < 0.05$ );肺炎组中PPAR  $\gamma$ 基因rs1801282位点GC+GG基因型新生儿的血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1质量浓度均低于CC基因型新生儿( $P < 0.05$ )。**结论** PPAR- $\gamma$ 基因rs1801282位点C向G突变能减少炎症细胞因子的释放,可能是新生儿细菌性肺炎的保护因素。

**关键词:** 肺炎; 婴儿, 新生; PPAR  $\gamma$ ; 基因多态性; 炎症细胞因子

**中图分类号:** R563.1

**文献标识码:** A

## Study on relationship of PPAR $\gamma$ gene polymorphism with neonatal pneumonia susceptibility and serum inflammatory cytokines

Jing Tian<sup>1</sup>, Xiao-jun Hui<sup>1</sup>, Jing Zhang<sup>1</sup>, Ya-fang Ren<sup>1</sup>, Peng Zhang<sup>2</sup>

(1. Department of Neonatology, Nanyang City Central Hospital, Nanyang, Henan 473000, China;

2. Department of Pediatric Surgery, Nanyang City Central Hospital, Nanyang, Henan 473000, China)

**Abstract: Objective** To study the relationship of polymorphism of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  (PPAR  $\gamma$ ) gene with susceptibility to neonatal pneumonia and serum inflammatory cytokines. **Methods** Totally 90 neonates with infectious pneumonia admitted to our hospital from March 2016 to March 2019 were divided into mild pneumonia group (52 cases) and severe pneumonia group (38 cases). Another 80 healthy neonates delivered in our hospital during the same period were selected as control group. The polymorphism of PPAR  $\gamma$  gene rs1801282 and the levels of serum inflammatory cytokines interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) were detected. **Results** The proportion of CC genotype, the frequency of allele C and the contents of serum IL-6, TNF- $\alpha$ , ICAM-1 in serum of severe pneumonia group and mild pneumonia group were higher than those in control group ( $P < 0.05$ ); the proportion of GC+GG genotype, the frequency of allele G were lower than those in control group ( $P < 0.05$ ); and the proportion of CC genotype, the frequency of allele C and the contents of serum IL-6, TNF- $\alpha$ , ICAM-1 in serum of severe pneumonia group were higher than those in mild pneumonia group ( $P < 0.05$ ); the proportion of GC+GG genotype and the frequency of allele G were lower than those in mild pneumonia group ( $P < 0.05$ ); in the pneumonia group, the contents of serum

收稿日期: 2020-08-14

IL-6, TNF- $\alpha$  and ICAM-1 in the GC+GG genotype newborns were lower than those in the CC genotype newborns ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The C-to-G mutation at rs1801282 of *PPAR*  $\gamma$  gene can reduce the release of inflammatory cytokines, which may be a protective factor for neonatal pneumonia.

**Keywords:** pneumonia; infant; *PPAR* gamma; polymorphism, genetic; cytokines

感染性肺炎是新生儿的常见疾病之一，也是引起新生儿病死的常见病因之一，其发生与新生儿免疫系统尚未发育完善，容易感染细菌、病毒、支原体等病原菌有关，但具体的发病机制未完全阐明。过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator activated receptor  $\gamma$ , *PPAR*  $\gamma$ ) 属于核受体超家族，是一类由配体激活的转录因子，参与糖脂代谢、炎症反应、氧化应激反应的调控<sup>[1-2]</sup>。编码 *PPAR*  $\gamma$  基因存在广泛的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP)，其中 rs1801282 是研究最多的 *PPAR*  $\gamma$  基因 SNP 位点<sup>[3-4]</sup>。该位点 CCA 向 GCA 的突变被证实是  $\geq 14$  岁的肺炎脓毒症患者发生多器官功能障碍的保护因素<sup>[5]</sup>，但这一突变是否与新生儿肺炎的发生有关尚未见明确报道。为此，本研究拟检测肺炎新生儿 *PPAR*  $\gamma$  基因 rs1801282 位点的 SNP，分析该基因 SNP 与新生儿肺炎发生、血清炎症细胞因子质量浓度的关系，进而为新生儿肺炎发病机制的研究及未来疾病的

个体化防治提供理论支持。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

回顾性选取 2016 年 3 月—2019 年 3 月南阳市中心医院收治的感染性肺炎新生儿 90 例。纳入标准：①符合新生儿细菌性肺炎的诊断标准；②胎龄 37~42 周；③临床资料及临床样本完整；④取得家长知情同意。排除标准：①有宫内缺氧或新生儿窒息史；②有吸入性肺炎、新生儿呼吸窘迫综合征；③合并先天性畸形或其他先天性疾病；④合并免疫缺陷。根据病情将感染性肺炎新生儿分为轻症肺炎组 52 例和重症肺炎组 38 例。另取同期在该院分娩的 80 例健康新生儿作为对照组。本研究经医院伦理委员会批准。3 组新生儿一般资料的比较，差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ )，具有可比性。见表 1。

表 1 3 组新生儿一般资料的比较

组别	n	男/女/例	胎龄/(周, $\bar{x} \pm s$ )	出生体重/(kg, $\bar{x} \pm s$ )	分娩方式/例	
					顺产	剖宫产
对照组	80	45/35	38.58 $\pm$ 6.82	2.93 $\pm$ 0.82	62	18
轻症肺炎组	52	30/22	38.17 $\pm$ 7.12	2.78 $\pm$ 0.81	38	14
重症肺炎组	38	22/16	37.73 $\pm$ 8.79	2.69 $\pm$ 0.93	26	12
$\chi^2/F$ 值		0.041	0.177	1.179	1.149	
P 值		0.980	0.838	0.310	0.563	

### 1.2 方法

**1.2.1 重症肺炎的评价方法** 感染性肺炎新生儿符合下列任意 1 项，即判断为重症肺炎：①吸入氧浓度 (FiO<sub>2</sub>)  $\geq 60\%$ ，监测动脉血氧饱和度 (SaO<sub>2</sub>)  $< 92\%$ ；②出现休克；③出现呼吸窘迫或多器官衰竭；④出现反复呼吸暂停或慢而不规则的呼吸。

**1.2.2 *PPAR*  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 SNP 的检测** 采集 3 组新生儿的静脉血 2 ml，EDTA 抗凝后采用血液基因组 DNA 提取试剂盒 (北京天根公司) 分离提取抗凝静脉血中的基因组 DNA，操作按照试剂盒说明书进行。得到基因组 DNA 后，配置 PCR 体系：

基因组 DNA 1  $\mu$ l、2 $\times$ Taq PCR 预混试剂 II 10  $\mu$ l、10  $\mu$ mol/L 的正反向引物各 0.4  $\mu$ l、去离子水 8.2  $\mu$ l。按照下列程序进行反应：95 $^{\circ}$ C 预变性 3 min，95 $^{\circ}$ C 变性 30 s，50 $^{\circ}$ C 退火 30 s，72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s，循环 35 次。取 PCR 产物，配置酶切体系，37 $^{\circ}$ C 水浴过夜。次日，取酶切产物，在琼脂糖凝胶中电泳，根据电泳结果判断 *PPAR*  $\gamma$  基因 rs1801282 位点的 SNP。

**1.2.3 血清炎症细胞因子的检测** 采集 3 组新生儿的静脉血 2 ml，室温静置 30 min 后自然凝血，3 000 r/min 离心 20 min，分离上层血清后采用酶

联免疫吸附试验(试剂盒购自上海西唐公司)检测白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的质量浓度,操作按照试剂盒说明书进行。

### 1.3 统计学方法

数据分析采用SPSS 21.0统计软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,比较用 $t$ 检验或方差分析,进一步两两比较用LSD- $t$ 检验;计数资料以构成比(%)表示,比较用 $\chi^2$ 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 3组新生儿 PPAR $\gamma$ 基因 rs1801282 位点多态性的比较

PCR酶切产物的琼脂糖电泳图如图1所示,酶切产物为267 bp是GG基因型,酶切产物为267 bp、224 bp、43 bp是GC基因型,酶切产物为224 bp、43 bp是CC基因型。PPAR  $\gamma$ 基因 rs1801282位点CC为野生基因型,GC、GG为突变基因型。3组新生儿CC基因型的比例及等位基因C的频率比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );重症肺炎组和轻症肺炎组新生儿CC基因型的比例及等位基因C的频率高于对照组,GC+GG基因型的比例及等位基因G的频率低于对照组;重症肺炎组新生儿CC基因型的比例及等位基因C的频率高于轻症肺炎组,GC+GG基因型的比例及等位基因G的频率低于轻症肺炎组。见表2。

### 2.2 3组新生儿血清炎症细胞因子的比较

3组新生儿的血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1的质量

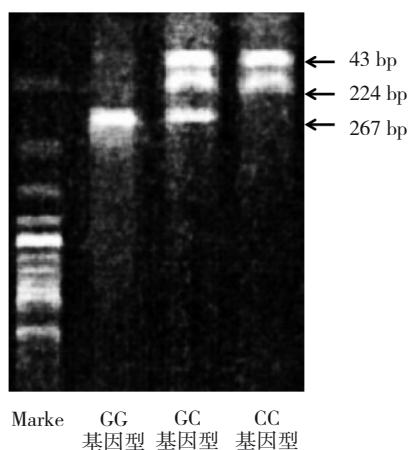


图1 PCR酶切产物的琼脂糖电泳图

表2 3组 PPAR  $\gamma$ 基因 rs1801282 位点多态性的比较例(%)

组别	n	基因型		等位基因	
		CC	GC+GG	C	G
对照组	80	64(80.0)	16(20.0)	140(87.5)	20(12.5)
轻症肺炎组	52	44(84.6)	8(15.4)	94(90.4)	10(9.6)
重症肺炎组	38	37(97.4)	1(2.6)	75(98.7)	1(1.3)
$\chi^2$ 值			6.223		7.823
P值			0.045		0.020

浓度比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );进一步两两比较,重症肺炎组和轻症肺炎组新生儿的血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1质量浓度高于对照组( $P<0.05$ ),重症肺炎组新生儿的血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1质量浓度高于轻症肺炎组( $P<0.05$ )。见表3。

表3 3组血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1质量浓度的比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	IL-6/ (pg/ml)	TNF- $\alpha$ / (ng/ml)	ICAM-1/ (ng/ml)
对照组	80	9.93 $\pm$ 1.34	41.22 $\pm$ 7.96	137.65 $\pm$ 28.79
轻症肺炎组	52	20.37 $\pm$ 5.57	60.39 $\pm$ 11.91	201.41 $\pm$ 48.93
重症肺炎组	38	41.94 $\pm$ 8.94	131.28 $\pm$ 26.58	376.57 $\pm$ 71.47
F值		470.862	462.197	327.475
P值		0.000	0.000	0.000

### 2.3 肺炎组中不同 PPAR $\gamma$ 基因多态性新生儿血清炎症细胞因子的比较

肺炎组中 PPAR  $\gamma$ 基因 rs1801282位点GC+GG基因型新生儿的血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1质量浓度低于CC基因型新生儿,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表4。

表4 肺炎组中不同 PPAR  $\gamma$ 基因多态性新生儿血清IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1质量浓度的比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	IL-6/ (pg/ml)	TNF- $\alpha$ / (ng/ml)	ICAM-1/ (ng/ml)
GC+GG基因型	9	26.12 $\pm$ 6.68	87.75 $\pm$ 10.39	266.59 $\pm$ 44.48
CC基因型	81	59.69 $\pm$ 11.83	113.46 $\pm$ 29.49	354.31 $\pm$ 89.49
t值		13.088	5.497	4.967
P值		0.000	0.000	0.000

### 3 讨论

PPAR  $\gamma$  是重要的核转录因子, 参与糖脂代谢、炎症反应、氧化应激反应的调控。PPAR  $\gamma$  基因存在广泛的多态性, 其中 rs1801282 是目前研究最广泛的 PPAR- $\gamma$  基因 SNP 位点, 该位点位于外显子 2 第 12 位密码子, 发生 CCA 向 GCA 的突变后、编码的氨基酸从脯氨酸转变为丙氨酸, 进而造成编码产物蛋白结构及功能的改变<sup>[6-7]</sup>。该突变在不同人群中存在差异, 其中亚洲人群中 PPAR  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 SNP 的发生率低于白种人<sup>[8]</sup>。张晓伏<sup>[9]</sup>报道, 汉族人群 PPAR  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 GC+GG 突变基因型的比例约 15% 且发生纯合突变, 即 GG 基因型的患者仅 1 例。本研究所纳入的健康新生儿中, PPAR  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 SNP 的发生率为 20%, 与国内已有的研究报道基本一致。

PPAR  $\gamma$  基因的编码产物具有抑制炎症反应的作用<sup>[10-11]</sup>, 当 rs1801282 位点发生 SNP 后, PPAR  $\gamma$  基因编码产物的抑炎作用可能受到影响, 进而参与多种炎症疾病的发生<sup>[12-13]</sup>。朱小蔚<sup>[5]</sup>对肺炎脓毒症患者 PPAR  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 SNP 的分析证实, 合并重度器官衰竭的肺炎脓毒症患者无一例发生 GG 纯合突变, 仅 1 例发生 GC 杂合突变, rs1801282 位点 GC+GG 基因型的比例低于轻度器官衰竭的肺炎脓毒症患者, 提示 PPAR  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 C 向 G 的突变可能在肺炎脓毒症中起到保护作用。本研究肺炎新生儿 PPAR  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 CC 基因型的比例高于对照组, GC+GG 基因型的比例低于对照组, 重症肺炎组 CC 基因型的比例高于轻症肺炎组, GC+GG 基因型的比例低于轻症肺炎组, 说明 PPAR  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 SNP 与新生儿肺炎的发生有关, C 向 G 突变的减少会造成新生儿肺炎的发生。

PPAR  $\gamma$  的抑炎作用与其对多种炎症细胞因子表达的抑制作用有关, 孙小平<sup>[14]</sup>的动物实验证实, PPAR  $\gamma$  的激动剂罗格列酮对脓毒症小鼠炎症细胞因子 IL-6、TNF- $\alpha$  的分泌具有抑制作用; BHAT<sup>[15]</sup>的动物实验证实, PPAR  $\gamma$  对高脂血症小鼠体内炎症细胞因子 ICAM-1 的分泌具有抑制作用。IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 3 种炎症细胞因子在炎症反应的激活过程中起到促炎、促黏附等作用, 已经被证实新生儿肺炎的发病过程中大量分泌<sup>[16-18]</sup>。本研究对肺炎新生

儿血清中炎症细胞因子的分析结果与已有的研究一致, 即肺炎新生儿血清中 IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 的质量浓度升高且重症肺炎组血清中 IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 的质量浓度高于轻症肺炎组。进一步分析 PPAR  $\gamma$  多态性对血清炎症细胞因子分泌的影响可知, 肺炎组中 PPAR  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 GC+GG 基因型新生儿的血清 IL-6、TNF- $\alpha$ 、ICAM-1 质量浓度低于 CC 基因型新生儿, 说明 PPAR  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 C 向 G 的突变能够起到抑炎作用, 减少炎症细胞因子的释放。

综上所述, 本研究对 PPAR  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 SNP 的分析说明, PPAR  $\gamma$  基因多态性与新生儿肺炎的发生、发展有关, C 向 G 的突变是在发病过程中起保护作用, 能够减少多种炎症细胞因子的释放; PPAR  $\gamma$  基因 rs1801282 位点 SNP 的检测可能作为筛查新生儿肺炎高危人群的潜在靶点, 为疾病的个体化防治提供依据。

#### 参 考 文 献 :

- [1] MIRZA A Z, ALTHAGAFI I I, SHAMSHAD H. Role of PPAR receptor in different diseases and their ligands: physiological importance and clinical implications[J]. Eur J Med Chem, 2019, 15(166): 502-513.
- [2] NELSON V L, NGUYEN H C B, GARCÍA-CAÑAVÉRAS J C, et al. PPAR  $\gamma$  is a nexus controlling alternative activation of macrophages via glutamine metabolism[J]. Genes Dev, 2018, 32(15/16): 1035-1044.
- [3] KOOHDANI F, SOTOUDEH G, KALANTAR Z, et al. PPAR  $\gamma$  pro12Ala polymorphism influences the relationship between dietary fat intake, adiposity and lipid profile in patients with type 2 diabetes[J]. Int J Vitam Nutr Res, 2018, 88(5/6): 263-269.
- [4] HASAN N S, KAMEL S A, HAMED M, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  polymorphism (rs1801282) is associated with obesity in Egyptian patients with coronary artery disease and type 2 diabetes mellitus[J]. J Genet Eng Biotechnol, 2017, 15(2): 409-414.
- [5] 朱小蔚, 黄方, 方放, 等. 过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  基因多态性与肺炎脓毒症临床转归的相关性研究[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(12): 1300-1304.
- [6] RODRIGUES A P S, ROSA L P S, SILVEIRA E A. PPARG2 pro12Ala polymorphism influences body composition changes in severely obese patients consuming extra virgin olive oil: a randomized clinical trial[J]. Nutr Metab (Lond), 2018, 17(15): 52.
- [7] ALMEIDA S M, FURTADO J M, MASCARENHAS P, et al. Association between LEPR, FTO, MC4R, and PPARG-2 polymorphisms with obesity traits and metabolic phenotypes in

- school-aged children[J]. *Endocrine*, 2018, 60(3): 466-478.
- [8] JENINGA E H, GURNELL M, KALKHOVEN E. Functional implications of genetic variation in human *PPAR*  $\gamma$ [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2009, 20(8): 380-387.
- [9] 张晓伏, 李新茹, 薛新宏, 等. 过氧化物酶体增殖物激活受体 $\gamma$ 2基因Pro12Ala多态性与宁夏回、汉族原发性高血压的关系[J]. *临床心血管病杂志*, 2018, 34(1): 47-51.
- [10] JU Z R, SU M Z, LI D D, et al. An algal metabolite-based *PPAR*  $\gamma$  agonist displayed anti-inflammatory effect via inhibition of the NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Mar Drugs*, 2019, 17(6): E321.
- [11] MENG Q Q, FENG Z C, ZHANG X L, et al. *PPAR*  $\gamma$  activation exerts an anti-inflammatory effect by suppressing the NLRP3 inflammasome in spinal cord-derived neurons[J]. *Mediators Inflamm*, 2019, 13(2019): 6386729.
- [12] LIU Y, WAN W H, FANG F, et al. Clinical relevance of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  gene polymorphisms with sepsis[J]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(4): e22340.
- [13] CHANG W C, JAN WU Y J, CHUNG W H, et al. Genetic variants of *PPAR*-gamma coactivator 1B augment NLRP3-mediated inflammation in gouty arthritis[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2017, 56(3): 457-466.
- [14] 孙小平, 邓扬嘉, 李佳俊, 等. *PPAR*  $\gamma$ 促进miR-16表达抑制脓毒症炎症反应的作用研究[J]. *第三军医大学学报*, 2018, 40(2): 141-148.
- [15] BHAT O M, UDAY K P, HARISHANKAR N, et al. Interleukin-18-induced cell adhesion molecule expression is associated with feedback regulation by *PPAR*  $\gamma$  and NF- $\kappa$ B in Apo E<sup>-/-</sup> mice[J]. *Mol Cell Biochem*, 2017, 428(1/2): 119-128.
- [16] HAZZANI A A, BAWAZEER R A B, SHEHATA A I. Epidemiological characterization of serotype group B *Streptococci* neonatal infections associated with interleukin-6 level as a sensitive parameter for the early diagnosis[J]. *Saudi J Biol Sci*, 2018, 25(7): 1356-1364.
- [17] EHRHARDT H, PRITZKE T, OAK P, et al. Absence of TNF- $\alpha$  enhances inflammatory response in the newborn lung undergoing mechanical ventilation[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2016, 310(10): 909-918.
- [18] 吕秀丽. 新生儿呼吸机相关性肺炎的血清MIP-2, ICAM-1, MMP-9水平变化[J]. *现代预防医学*, 2014, 41(18): 3337-3339.

(张蕾 编辑)

**本文引用格式:** 田静, 惠晓君, 张靖, 等. *PPAR*  $\gamma$ 基因多态性与新生儿肺炎易感性及血清炎症细胞因子的关系[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(3): 31-35.

**Cite this article as:** TIAN J, HUI X J, ZHANG J, et al. Study on relationship of *PPAR* $\gamma$  gene polymorphism with neonatal pneumonia susceptibility, serum inflammatory cytokines[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2021, 31(3): 31-35.