

5 个家兔群体白细胞介素 10 基因外显子的遗传多样性分析

冒留留^{1,2}, 潘雨来³, 王晓明^{1,2}, 万小颖^{1,2}, 李碧春^{1,2}, 吴信生^{1,2*}

(1. 江苏省动物遗传繁育与分子设计重点实验室, 扬州 225009; 2. 扬州大学动物科学与技术学院, 扬州 225009; 3. 江苏省金陵种兔场, 南京 211103)

摘要: 本研究旨在分析家兔 *IL-10* 基因外显子的多态性, 以期为进一步研究家兔 *IL-10* 与疾病抗性的相关性提供理论依据。根据 GenBank 上收录的 *IL-10* 基因序列设计 5 对特异性引物, 采用 PCR-SSCP 方法对海狸色獭兔、白色獭兔、皖系长毛兔、闽西南黑兔、九疑山兔这 5 个家兔群体 *IL-10* 基因的 5 个外显子序列进行多态性分析。结果表明: 在 *IL-10* 基因外显子 3 上检测到 4 种等位基因, 10 种基因型, 存在 3 个 SNPs 位点; 在外显子 4 上检测到 2 种等位基因, 3 种基因型, 存在 1 个 SNP 位点。而外显子 1、2、5 对于实验群体未发现有遗传多态性。在外显子 3 中, D 等位基因只在闽西南黑兔和九疑山兔中检测到, 除海狸色獭兔和闽西南黑兔外其余群体均处于哈代-温伯格平衡, 各群体不同基因型分布存在极显著差异 ($P < 0.01$)。在外显子 4 中, A₁B₁ 基因型在獭兔群体中没有检测到; 除海狸色獭兔外其余各群体均处于哈代-温伯格平衡, 海狸色獭兔跟白兔獭兔不同基因型分布差异不显著 ($P > 0.05$), 而其余群体彼此不同基因型分布存在显著性差异 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果提示: 5 个家兔群体在 *IL-10* 基因外显子 3 和 4 中存在遗传多态性, 不同家兔群体在遗传基础上存在着一定的差异。

关键词: 家兔; *IL-10* 基因; 多态性

中图分类号: S829.1; S813.3

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2012)05-0723-06

Genetic Diversity of *IL-10* Gene Exons in 5 Rabbit Populations

MAO Liu-liu^{1,2}, PAN Yu-lai³, WANG Xiao-ming^{1,2}, WAN Xiao-ying^{1,2},
LI Bi-chun^{1,2}, WU Xin-sheng^{1,2*}

(1. Jiangsu Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Molecular Design, Yangzhou 225009, China; 2. College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China; 3. Jiangsu Jinling Rabbits Field, Nanjing 211103, China)

Abstract: This experiment was conducted to study the polymorphism of *IL-10* gene exons in rabbit and aimed to provide a theoretical foundation for further research on correlation between rabbit *IL-10* gene and disease resistance. Five exons of *IL-10* gene in 5 rabbit populations including Beaver Color Rex rabbit, White Rex rabbit, Wan-line Angora rabbit, Jiuyishan rabbit and Minxinan Black rabbit were scanned by PCR-SSCP method with five specific primers designed according to the *IL-10* sequence from GenBank. The results showed that 10 genotypes and 4 alleles were found in exon3 of *IL-10* gene which contained three SNPs, 3 genotypes and 2 alleles were found in exon4 which contained one SNP. There was no mutation found at exon1, exon2, exon5 of *IL-10* gene. In exon3, D allele was found only in Minxinan Black rabbit and Jiuyishan rabbit. The distribution of these genotypes in all populations was consistent with the Hardy-Weinberg equilibrium except Beaver Color Rex rabbit and Minxinan Black rabbit, which was very significantly

收稿日期: 2011-05-09

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-44-1); 江苏省高新技术项目(BG2007325)

作者简介: 冒留留(1986-), 男, 江苏如东人, 硕士生, 主要从事动物遗传育种与繁殖方面的研究, E-mail: yzumll@126.com

* 通讯作者: 吴信生, E-mail: xinshengwu007@yahoo.com.cn

different ($P < 0.01$) among different populations. In exon4, A_1B_1 genotype was not found in Rex rabbit group. The distribution of these genotypes was significant different ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) among different populations except between Beaver Color and White Rex rabbit ($P > 0.05$). These results indicated that genetic diversity of rabbit *IL-10* gene was detected in exon3 and exon4.

Key words: rabbit; *IL-10* gene; polymorphism

白细胞介素 10 (Interleukin10, IL-10) 是一种独特的细胞因子, 它能抑制单核/巨噬细胞系统的活化及单核因子和炎症因子的合成。除了 Th2 细胞外, T 细胞亚群、单核/巨噬细胞、肥大细胞、角质化细胞、嗜伊红细胞、上皮细胞以及各种肿瘤细胞均能合成 IL-10^[1]。近年来的研究表明, IL-10 具有重要的免疫调节活性^[2-3], 还与寄生虫疾病的发生机制密切相关^[4-5]。随着研究的不断深入, 还发现 *IL-10* 单核苷酸多态性直接影响到体内 IL-10 的表达水平, 从而和疾病的易感性、严重性及疾病的发展进程密切相关^[6-11]。

鉴于目前有关家兔 *IL-10* 基因的研究报道较少, 本试验利用 PCR-SSCP 方法检测 5 个兔群体 *IL-10* 基因的 SNP 位点, 并进行比较, 分析其遗传差异, 为探讨该基因能否做为家兔抗病育种的候选基因提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本试验选取 5 个家兔群体共 336 只家兔作为试验材料, 其中, 海狸色獭兔 (72 只) 和白色獭兔 (60 只) 来自于浙江余姚兔场, 闽西南黑兔 (60 只) 来自于福建省农科院, 皖系长毛兔 (72 只) 来自于江苏宜兴拉必得兔场, 九疑山兔 (72 只) 来自于湖南省宁远

县九疑山兔原种场。

1.2 试验方法

所有个体均为随机抽样, 耳缘静脉采血 5 mL, 采用酚/氯仿法进行总 DNA 的提取^[12]。

1.2.1 引物设计 根据 GenBank 中家兔 *IL-10* 基因序列 (DQ437508.2), 设计并合成 5 对特异性较好的引物, 分别对家兔 *IL-10* 基因的 5 个外显子序列进行扩增, 并用于 PCR-SSCP 检测。引物由上海生工生物工程有限公司合成, 引物信息见表 1。

1.2.2 *IL-10* 外显子 PCR-SSCP 检测 PCR 反应体系为 20 μL : 10 \times PCR Buffer 2 μL , 10 mmol \cdot L⁻¹ dNTPs 0.4 μL , 10 pmol \cdot L⁻¹ 上、下游引物各 1 μL , 5 U \cdot μL^{-1} Taq DNA 聚合酶 0.2 μL , 100 ng \cdot μL^{-1} DNA 模板 1 μL , ddH₂O 14.4 μL 。PCR 反应条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 40 s, 适宜的退火温度 (表 1) 40 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 40 s, 40 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。经 1% 琼脂糖电泳检测后, 产物用于 SSCP 分析。20 μL PCR 产物和 8 μL 变性液, 98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 10 min, 冰浴 5 min。10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳, 120 V 电泳 14~16 h, 银染显色, 选取不同基因型的纯合子进行切胶回收, 由上海生工生物工程有限公司进行双向测序。试验所用的 dNTPs 和 DNA 聚合酶均购自宝生物工程 (大连) 有限公司。

表 1 引物信息

Table 1 The information of primers used in the study

引物 Primer	引物序列 (5'-3') Sequence	片段大小/bp Size	退火温度/ $^{\circ}\text{C}$ Annealing temperature
1	F: CACAAGGCGACTCGTAGA R: GGACAGGAGGGCATCATACT	225	58
2	F: AACGAATGGCTCCAGCACTA R: CGCCTCCCTTCCCCTTAATC	288	58
3	F: TATGCCAAGCCTTGTCGG R: AGAAGCGTCTGCTACTCA	162	63
4	F: TGACAGCCAAGGTCATTAACA R: CGGGGAGCAGTCATTTAGAA	255	63
5	F: CCTCGGAGTGAAGATGCTTAG R: GATCGGGAGCTGAGGTATCA	290	58

1.3 数据分析

对基因型频率、等位基因频率、多态信息含量 (PIC)、期望杂合度 (*He*) 进行统计分析,并对各群体基因型分布差异进行卡方检验,用 Align 软件进行序列比对,筛查 SNP 位点。

2 结果

2.1 PCR-SSCP 多态性结果

通过 PCR-SSCP 检测,在 *IL-10* 基因外显子 1、2、5 中没有检测到多态位点。在外显子 3 上检测到 4 种等位基因,10 种基因型 (AA、BB、CC、DD、AB、AC、BC、AD、BD、CD),见图 1。经测序,相对于 GenBank 上公布的家兔 *IL-10* 基因序列 (DQ437508.2) 而言,外显子 3 中存在 A1435G、

A1517C 和 G1519A 3 个突变 (图 2、图 3)。在外显子 4 上检测到 2 种等位基因,3 种基因型 (A_1A_1 、 B_1B_1 、 A_1B_1),见图 4,相对于原序列而言,2 532 与 2 533 bp 位点之间有 1 个碱基 (T) 的插入 (图 5)。

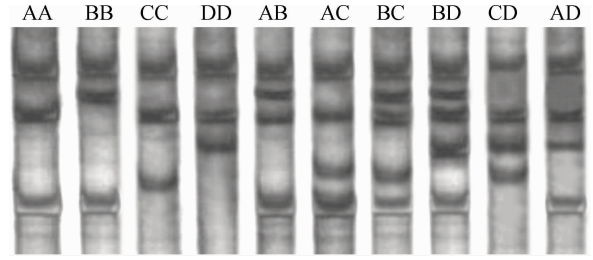


图 1 *IL-10* 基因外显子 3 不同基因型电泳图
Fig. 1 The SSCP electrophoresis image of different genotypes of *IL-10* exon3

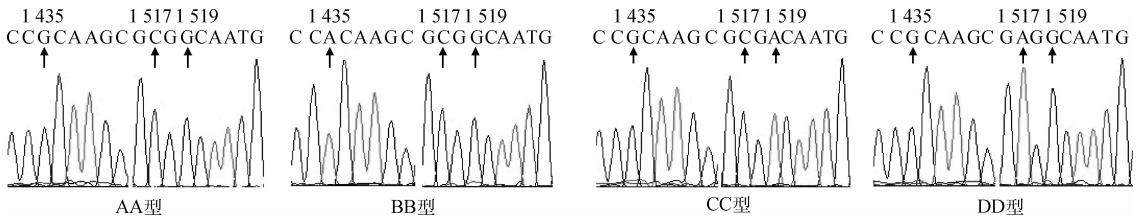


图 2 *IL-10* 基因外显子 3 中 AA、BB、CC 和 DD 基因型的测序图
Fig. 2 The sequencing result of AA, BB, CC and DD genotypes of *IL-10* exon3

```

AA:1431--TGCCGCAAGCTGAGAACCACAGTCCAGCCATCAGGGAGCACGTGAACTCCCTGGGGGAAAACCTG
AAGACCCCTCAGGCTGAGGCTGGGCAATG--1524
BB:1431--TGCCACAAGCTGAGAACCACAGTCCAGCCATCAGGGAGCACGTGAACTCCCTGGGGGAAAACCTG
AAGACCCCTCAGGCTGAGGCTGGGCAATG--1524
CC:1431--TGCCGCAAGCTGAGAACCACAGTCCAGCCATCAGGGAGCACGTGAACTCCCTGGGGGAAAACCTG
AAGACCCCTCAGGCTGAGGCTGGACAATG--1524
DD:1431--TGCCGCAAGCTGAGAACCACAGTCCAGCCATCAGGGAGCACGTGAACTCCCTGGGGGAAAACCTG
AAGACCCCTCAGGCTGAGGCTGAGCAATG--1524
    
```

图 3 *IL-10* 基因不同基因型间外显子 3 核苷酸序列的比较
Fig. 3 Homologous comparison of nucleotide sequence of *IL-10* exon3 among different genotypes

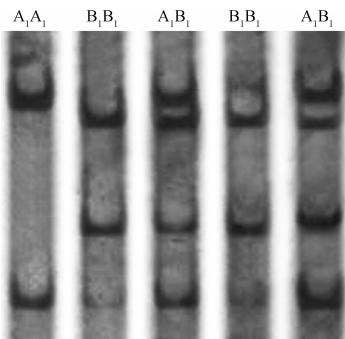


图 4 *IL-10* 基因外显子 4 不同基因型电泳图
Fig. 4 The SSCP electrophoresis image of different genotypes of *IL-10* exon4

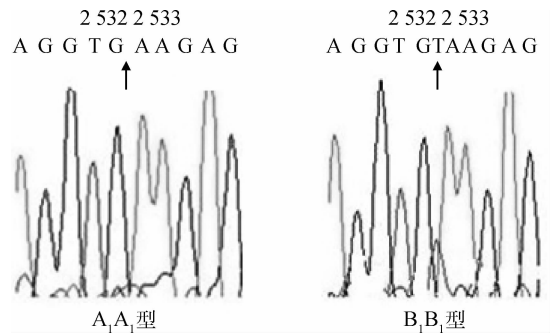


图 5 *IL-10* 基因外显子 4 中 A_1A_1 和 B_1B_1 基因型测序图
Fig. 5 The sequencing result of A_1A_1 and B_1B_1 genotypes of *IL-10* exon4

A₁A₁:2521---GTGGAGCAGGTGAAGAGCGCCTTCAGCAAG---2550
 B₁B₁:2521---GTGGAGCAGGTG□□AAGAGCGCCTTCAGCAAG---2550

图 6 *IL-10* 基因不同基因型间外显子 4 核苷酸序列的比较

Fig. 6 Homologous comparison of nucleotide sequence of *IL-10* exon 4 between different genotypes

2.2 不同家兔群体 *IL-10* 基因外显子 3 的遗传多样性

所检测的 5 个家兔群体 *IL-10* 基因外显子 3 基因型和等位基因频率以及 χ^2 适合性检验结果见表 2。

表 2 5 个家兔群体 *IL-10* 外显子 3 的遗传特性

Table 2 The genetic characteristic of exon3 of *IL-10* gene exon3 in 5 rabbit populations

群体 Population	样本/只 Sample	基因型频率 Genotype frequency										等位基因频率 Allele frequency				He	PIC	χ^2
		AA	BB	CC	DD	AB	AC	BC	AD	BD	CD	A	B	C	D			
BCR	72	0.569 (41)	0 (0)	0.028 (2)	0 (0)	0 (0)	0.278 (20)	0.125 (9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0.708	0.062	0.230	0	0.442	0.385	11.81* (5)
WR	60	0.417 (25)	0 (0)	0.017 (1)	0 (0)	0 (0)	0.567 (34)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0.700	0	0.300	0	0.420	0.332	4.49 (2)
WXA	72	0 (0)	0.736 (53)	0 (0)	0 (0)	0.139 (10)	0 (0)	0.125 (9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0.070	0.868	0.062	0	0.238	0.225	1.12 (5)
JYS	72	0.028 (2)	0.333 (24)	0.014 (1)	0.014 (1)	0.306 (22)	0.042 (3)	0.042 (3)	0.042 (3)	0.083 (6)	0.097 (7)	0.222	0.548	0.104	0.126	0.624	0.575	7.46 (9)
MXN	60	0 (0)	0.067 (4)	0.017 (1)	0.050 (3)	0.083 (5)	0.283 (17)	0.017 (1)	0.350 (21)	0.133 (8)	0 (0)	0.358	0.183	0.167	0.292	0.725	0.675	25.92** (9)

BCR. 海狸色獭兔; WR. 白色獭兔; WXA. 皖系长毛兔; JYS. 九疑山兔; MXN. 闽西南黑兔; * . $P < 0.05$, ** . $P < 0.01$; 卡方值括号中数据为自由度, 以下同。 $\chi^2_{(2)0.05} = 5.99$, $\chi^2_{(2)0.01} = 9.21$, $\chi^2_{(5)0.05} = 11.07$, $\chi^2_{(5)0.01} = 15.09$, $\chi^2_{(9)0.05} = 16.92$, $\chi^2_{(9)0.01} = 21.67$
 BCR. Beaver Color Rex rabbit; WR. White Rex rabbit; WXA. Wan-line Angora rabbit; JYS. Jiuyishan rabbit; MXN. Minxinan Black rabbit; * . $P < 0.05$, ** . $P < 0.01$; The data in the parentheses of χ^2 are the degrees of freedom, the same as below

表 3 5 个家兔群体 *IL-10* 外显子 3 不同基因型分布差异 χ^2 检验

Table 3 χ^2 test of the distribution of genotypes of *IL-10* exon3 in 5 rabbit populations

群体 Population	WR	WXA	JYS	MXN
BCR	15.88** (3)	126.00** (5)	114.27** (9)	88.62** (8)
WR		132.00** (5)	114.40** (9)	72.67** (8)
WXA			41.42** (9)	99.92** (7)
JYS				58.97** (9)

$\chi^2_{(3)0.05} = 7.81$, $\chi^2_{(3)0.01} = 11.34$, $\chi^2_{(5)0.05} = 11.07$, $\chi^2_{(5)0.01} = 15.09$, $\chi^2_{(7)0.05} = 14.07$, $\chi^2_{(7)0.01} = 18.48$, $\chi^2_{(8)0.05} = 15.51$, $\chi^2_{(8)0.01} = 20.09$, $\chi^2_{(9)0.05} = 16.92$, $\chi^2_{(9)0.01} = 21.67$

2.3 不同家兔群体 *IL-10* 基因外显子 4 的遗传多样性

所检测的 5 个兔群体 *IL-10* 基因外显子 4 基因型和等位基因频率及 χ^2 适合性检验结果见表 4。由

海狸色獭兔及白色獭兔中, AA 基因型均为优势基因型; 在皖系长毛兔中 BB 型为优势基因型; 而 D 等位基因只在闽西南黑兔和九疑山兔中检测到。在 *IL-10* 基因外显子 3 上, 闽西南黑兔和九疑山兔期望杂合度和多态信息含量最高, 其他群体为低度多态或中度多态。5 个群体除了海狸色獭兔和闽西南黑兔外, 均处于哈代-温伯格平衡。由表 3 可以看出, 各兔群体彼此间的不同基因型分布均存在极显著的差异 ($P < 0.01$)。

表 4 可知, 在海狸色獭兔、白色獭兔、九疑山兔、闽西南黑兔中, A₁ 等位基因为优势等位基因; 在皖系长毛兔中 B₁ 等位基因为优势等位基因, 在海狸色獭兔和白色獭兔群体中没有检测到 A₁B₁ 基因型的个

体。5 个家兔群体在 *IL-10* 基因外显子上表现为中或低度多态,除了海狸色獭兔,其它群体均处于哈代-温伯格平衡。由表 5 可以看出,海狸色獭兔与白

色獭兔不同基因型分布不存在显著性差异($P > 0.05$),而其他家兔群体彼此间的不同基因型分布均存在显著差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 4 5 个家兔群体 *IL-10* 外显子 4 的遗传特性

Table 4 The characteristic of exon4 of *IL-10* exon4 in 5 rabbit populations

群体 Population	样本/只 Sample	基因型频率 Genotype frequency			等位基因频率 Allele frequency		<i>He</i>	<i>PIC</i>	χ^2
		$A_1 A_1$	$A_1 B_1$	$B_1 B_1$	A_1	B_1			
BCR	72	0.972 (70)	0 (0)	0.028 (2)	0.972	0.028	0.054	0.053	6.03* (2)
WR	60	0.983 (59)	0 (0)	0.017 (1)	0.983	0.017	0.033	0.033	3.01 (2)
WXA	72	0.028 (2)	0.444 (32)	0.528 (38)	0.250	0.750	0.375	0.305	1.76 (2)
JYS	72	0.861 (62)	0.125 (9)	0.014 (1)	0.924	0.076	0.140	0.131	1.05 (2)
MXN	60	0.434 (26)	0.483 (29)	0.083 (5)	0.676	0.324	0.438	0.342	0.52 (2)

$$\chi^2_{(2)0.05} = 5.99, \chi^2_{(2)0.01} = 9.21$$

表 5 5 个家兔群体 *IL-10* 外显子 4 不同基因型分布差异 χ^2 检验

Table 5 χ^2 test of the distribution of genotypes of *IL-10* exon4 in 5 rabbit populations

群体 Population	WR	WXA	JYS	MXN
BCR	0.18(1)	128.62** (2)	9.82** (2)	49.77** (2)
WR		120.27** (2)	8.05* (2)	44.48** (2)
WXA			104.26** (2)	45.33** (2)
JYS				27.05** (2)

$$\chi^2_{(1)0.05} = 3.84, \chi^2_{(1)0.01} = 6.63; \chi^2_{(2)0.05} = 5.99, \chi^2_{(2)0.01} = 9.21$$

3 讨论

随着家兔生产水平和产业集约化程度的不断提高,通过人为选择过度的追求生产性能从而忽略了对抗性选择,导致家兔对环境适应性有所下降,相应地引起了一些传染病的发生和蔓延。目前,生产中主要是使用疫苗和药物来达到防治这些疾病的目的。但考虑到食品安全及消费者的消费需求,传统的药物治疗已不能有效解决这些问题,因此,目前许多育种专家都在致力于提高畜禽品种自身抗性方面的研究。

本试验对 5 个家兔群体的 *IL-10* 基因的所有外显子进行了 SSCP 检测。经对比,外显子 3 上的 1 435、1 517 和 1 519 bp 3 个位点的突变均为同义突变,而外显子 4 上的 2 532 与 2 533 bp 位点中间的碱基插入导致了其后面编码氨基酸的密码子发生了变化。在 *IL-10* 外显子 3 上,闽西南黑兔和九疑山兔的多态信息含量高于獭兔和长毛兔,其原因可能是闽西南黑兔、九疑山兔为我国新鉴定的地方家

兔品种,饲养在偏远的山区,选育程度远不及獭兔和长毛兔;此外,*IL-10* 基因外显子 3 检测到的 D 等位基因,仅在闽西南黑兔、九疑山兔检测到,而其他家兔群体中未检测到,其原因一方面可能是其他几个家兔群体的样本数不够大,未能检测到 D 等位基因;另一方面也可能是 D 等位基因为我国地方家兔品种所特有,这一点还需要进一步验证。在 *IL-10* 基因外显子 4 上,2 个獭兔群体均未检测到 $A_1 B_1$ 基因型,且 B_1 等位基因在皖系长毛兔中的频率远远高于其他兔群体,这说明不同家兔群体在遗传基础上存在着一定的差异。研究还发现,在外显子 3 上,海狸色獭兔和闽西南黑兔群体,以及在外显子 4 上,海狸色獭兔群体均偏离了哈代-温伯格平衡,引起遗传不平衡的原因可能与这 2 个家兔群体近年的选育强度较高,另一方面也可能是这 2 个家兔群体的交配方式有关^[13]。

近年来,对 *IL-10* 基因多态性与疾病易感性的研究主要集中于人该基因启动子区域 -592、-819 和 -1 082 bp 位点,国内外文献对于人、兔等哺乳动

物 *IL-10* 基因外显子的研究几乎未曾报道。孪生胎家系研究表明, *IL-10* 的分泌水平 75% 是由遗传决定的, 而且主要受转录水平的控制^[14]。van der Linde 等^[15] 研究发现在人 *IL-10* (NG_012088.1) 外显子 1 的 43 bp 处 G/A 的突变引起人体抗炎效应低下, 从而易导致结肠炎的发生。大量研究证明 *IL-10* 启动子区域 -592、-819 和 -1 082 bp 位点的碱基突变对人体炎症发生及发展进程也具有紧密联系^[16-18]。另外研究还发现, -1 082、-819 和 -592 bp 这 3 个位点的 SNPs 与处于外显子 1 处的 +117 bp 位点的 SNP 形成单倍型, 其中 -1082A、-819C、-592、+117T (简称为 *IL-10-ht2*) 与 *IL-10* 表达量密切相关^[19]。

4 结 论

综上所述, *IL-10* 基因的相关位点的多态性对机体炎症发生及发展具有一定的联系。本试验结果表明, 5 个家兔群体在 *IL-10* 基因中存在一定的差异, 这些差异是否由兔群体来源以及不同经济用途的兔群体决定, 进而说明其抗病性差异, 还要进一步根据一系列免疫性状的测定以及相关研究来验证。

参考文献:

- [1] PRETOLANI M. Interleukin-10: an anti-inflammatory cytokine with therapeutic potential [J]. *Clin Exp Allergy*, 1999, 29(9): 1164-1171.
- [2] FICKENSCHER H, HOR S, KUPERS H, et al. The interleukin-10 family of cytokines [J]. *Trends Immunol*, 2002, 23(2): 89-96.
- [3] SCUMPIA P O, MOLDAWER L L. Biology of interleukin-10 and its regulatory roles in sepsis syndromes [J]. *Crit Care Med*, 2005, 33(12): 468-471.
- [4] PESTKA S, KRAUSE C D, SARKAR D, et al. Interleukin-10 and related cytokines and receptors [J]. *Annu Rev Immunol*, 2004, 22: 929-979.
- [5] ALBA SOTO C D, SOLANA M E, PONCINI C V, et al. Dendritic cells devoid of *IL-10* induce protective immunity against the protozoan parasite *Trypanosoma cruzi* [J]. *Vaccine*, 2010, 8: 7407-7413.
- [6] LUNG F W, YANG M C, SHU B C. The interleukin 10 promoter haplotype ACA and the long-form variant of the *DRD4* vNTR polymorphism are associated with vulnerability to schizophrenia [J]. *Psychiatry Res*, 2011, 188(2): 294-296.
- [7] REZAEI N, AGHAMOHAMMADI A, MAHMOU-

- DI M, et al. Association of *IL-4* and *IL-10* gene promoter polymorphisms with common variable immunodeficiency [J]. *Immunobiology*, 2010, 215: 81-87.
- [8] MORAES M O, PACHECO A G, SCHONKEREN J J, et al. Interleukin-10 promoter single-nucleotide polymorphisms as marker for disease susceptibility and disease severity in leprosy [J]. *Genes Immun*, 2004, 5: 592-595.
- [9] GALLAGHER P M, LOWE G, FITZGERALD T, et al. Association of *IL-10* polymorphism with severity of illness in community acquired pneumonia [J]. *Thorax*, 2003, 58: 154-156.
- [10] 姜英杰, 聂玉强, 赖晓波. *IL-10* 启动子-592 基因多态性与肠易激综合征的关系 [J]. *现代医院*, 2010, 10(9): 8-9.
- [11] ZHANG Y G, ZHANG J, TIAN C, et al. The -1082G/A polymorphism in *IL-10* gene is associated with risk of Alzheimer's disease: A meta-analysis [J]. *J Neurol Sci*, 2011, 303(1): 133-138.
- [12] SAMBROOK J, RUSSELL D W. Molecular cloning: a laboratory manual (Third edit) [M]. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York, 2001: 49-56.
- [13] 张鸿雁, 张宏礼, 郭满才, 等. 不同交配方式下遗传平衡的信息学分析 [J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2006, 32(5): 515-519.
- [14] WESTENDORP R G, LANGERMANS J A, HUIZINGA T W, et al. Genetic influence on cytokine production and fatal meningococcal disease [J]. *Lancet*, 1997, 349(9046): 170-173.
- [15] van der LINDE K, BOOR P P C, SANDKUIJL L A, et al. A Gly15Arg mutation in the interleukin-10 gene reduces secretion of interleukin-10 in Crohn disease [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2003, 38(6): 611-617.
- [16] SEIFART C, DEMPFLER A, SEIFART U, et al. TNF-alpha, TNF-beta, IL-6, and IL-10 polymorphism in patients with chronic obstructive pulmonary diseases [J]. *Tissue Antigens*, 2005, 65(1): 93-100.
- [17] 许银姬, 佟金平, 王惠娟. *IL-10* 基因多态性与特应性皮炎发生的相关性 [J]. *基础医学与临床*, 2010, 30(7): 763-766.
- [18] XIE J Y, WANG S K, HE B S, et al. Association of Interleukin-10 gene promoter polymorphism in children with atopic dermatitis [J]. *J Pediatr*, 2007, 150(1): 106-108.
- [19] SHIN H D, PARK B L, KIM L H, et al. Interleukin-10 haplotype associated with increased risk of hepatocellular carcinoma [J]. *Hum Mol Genet*, 2003, 12(8): 901-906.