

## 白细胞介素-1B -511T/C 多态性与不同临床病理学类型胃癌的关系

陈 斌<sup>1</sup>, 曾志荣<sup>1\*</sup>, 吴小琴<sup>1</sup>, 张芳宾<sup>1</sup>, 薛 玲<sup>2</sup>, 陈旻湖<sup>1</sup>, 胡品津<sup>1</sup>  
(中山大学附属第一医院 1.消化科; 2. 病理科, 广东 广州 510080)

**摘要:**【目的】研究中国人白细胞介素(IL)-1B -511T/C 多态性与不同临床病理学特征胃癌的遗传易感性的关系及其对胃癌患者预后的影响。【方法】采用聚合酶链反应-限制性长度片段多态性(PCR-RFLP)对 563 例胃癌及 500 例健康对照进行 IL-1B -511 位点基因分型, 分析该多态性与不同临床病理学类型胃癌发病风险关系并对其预后进行生存分析。【结果】IL-1B -511T/C 多态性与胃癌遗传易感性相关, 携带 IL-1B -511T 等位基因者发生胃癌的风险较 CC 基因型增加(OR = 1.60, 95% CI = 1.19 ~ 2.16,  $P = 0.0019$ ), T 等位基因显著增加老年病人( $\geq 65$  岁)胃癌发病风险(OR = 2.35, 95% CI: 1.29 ~ 4.28,  $P = 0.006$ )。T 等位基因与肠型胃癌(OR = 1.63, 95% CI = 1.18 ~ 2.24,  $P = 0.003$ )及低分化胃癌(OR = 1.74, 95% CI = 1.24 ~ 2.43,  $P = 0.001$ )相关。IL-1B -511 不同基因型患者胃癌的生存率无统计学差异。【结论】IL-1B -511T 等位基因可能增加胃癌的发病风险, 且与某些临床病理学特征有关, 但并非影响胃癌患者预后的独立危险因素。

**关键词:** 白细胞介素-1B; 多态性; 生存分析; 胃癌

中图分类号: R57 文献标识码: A 文章编号: 1672-3554(2009)03-0331-05

### Association between Interleukin-1B -511 Polymorphism and Gastric Cancer of Different Clinical and Pathological Characteristics

CHEN Bin<sup>1</sup>, ZENG Zhi-rong<sup>1\*</sup>, WU Xiao-qin<sup>1</sup>, ZHANG Fang-bin<sup>1</sup>, XUE Ling<sup>2</sup>,  
CHEN Min-Hu<sup>1</sup>, HU Pin-jin<sup>1</sup>

(1. Department of Gastroenterology; 2. Department of Pathology, The First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

**Abstract:** 【Objective】 The purpose of this study was to investigate the association of interleukin (IL)-1B -511 polymorphism with the susceptibility to gastric cancer of different clinical and pathological characteristics, and the prognostic value of this polymorphism to gastric cancer patients. 【Methods】 We analyzed single nucleotide polymorphism of IL-1B -511 in 563 gastric cancer patients and 500 healthy controls using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method, and explored the association of this polymorphism with the risk of gastric cancer. Survival analysis was also performed in the patients with gastric cancer. 【Results】 The -511 T/C polymorphism of the IL-1B gene was significantly associated with the susceptibility to gastric cancer. The individuals carrying T allele had a significantly higher risk for developing gastric cancer compared to those with CC genotype (OR = 1.60, 95% CI = 1.19 ~ 2.16,  $P = 0.0019$ ). In old patients ( $\geq 65$ -year-old), this tendency was more significantly (OR = 2.35, 95% CI: 1.29 ~ 4.28,  $P = 0.006$ ). Furthermore, the T allele was associated with intestinal type (OR = 1.63, 95% CI = 1.18 ~ 2.24,  $P = 0.003$ ) and poorly differentiated subtype of gastric cancer (OR = 1.74, 95% CI = 1.24 ~ 2.43,  $P = 0.001$ ). Survival analysis demonstrated that there was no significant difference of survival rate in the patients with different IL-1B -511 T/C polymorphism. 【Conclusion】 The T allele of IL-1B -511 may contribute to gastric cancer susceptibility. It is also associated with certain clinical and pathological characteristics of gastric cancer. However, it is not an independent prognostic factor for gastric cancer patients.

**Key words:** interleukin-1B; polymorphism; survival analysis; gastric cancer

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2009, 30(3): 331-335, 347]

收稿日期: 2008-10-27

基金项目: 广东省博士启动基金(04300361); 高等学校博士学科点专项科研基金(20070558230)

作者简介: 陈斌, 主治医师, 在读博士生, E-mail: ddwchen@yahoo.com.cn; \* 通讯作者, 曾志荣, 主任医师, E-mail: zengzhihong@vip.163.com

长期以来,慢性炎症被认为是肿瘤形成的危险因素之一<sup>[1-2]</sup>。白细胞介素-1B(interleukin-1B, IL-1B)是近年来发现的一个关键的胃癌相关促炎症细胞因子。El-Omar等率先报导了IL-1B-511T等位基因携带者胃癌的易感性增加<sup>[3]</sup>,我们的前期小样本的研究也证实相似的结论<sup>[4]</sup>,但上述结果尚存争议。流行病学资料提示:按照不同临床病理学特征分类,不同胃癌亚型的病因可能不同,由此我们推测,IL-1B-511T/C多态性可能与胃癌的某些特定亚型相关。到目前为止,尚无关于IL-1B-511T/C多态性与胃癌不同亚型的相关性的研究报道。因此本研究分析了IL-1B-511T/C多态性与不同临床病理学特征的胃癌亚型遗传易感性的关系并进一步进行生存分析,探讨IL-1B-511T/C单核苷酸多态性与中国人胃癌遗传易感性关系及其对预后的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

研究对象为1999年1月至2006年12月期间中山大学第一附属医院和中山大学肿瘤医院经手术切除后病理确诊的563例临床资料完整的广东籍胃癌患者。随访的中位时间为14个月(0~98个月不等)。临床资料的收集通过病例资料及问卷相结合的方式获得。对照组为500例广东籍健康志愿者。本研究得到中山大学附属第一医院临床研究伦理委员会批准,受试患者及健康对照者均签署知情同意书。

### 1.2 基因组DNA的提取

胃癌患者的基因组DNA提取自石蜡包埋组织切片癌旁组织,采用QIAamp DNA Mini Kit(Qiagen,德国)试剂盒提取。健康对照人群的基因组DNA取自2 mL空腹外周血,采用Gentra Pure gene Blood Kit(Gentra Systems, Inc., 美国)试剂盒提取,操作步骤按照试剂盒说明书进行。

### 1.3 IL-1B-511基因分型

采用聚合酶链反应-限制性长度片段多态性(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)分析IL-1B-511基因型。上游引物序列为5'-GCCTGAACCCTG CATAACCGT-3',下游引物序列为5'-GCCAATAG CCCTCCCTTCT-3',PCR反应的条件为:94℃预变

性10 min,94℃变性30 s,65℃退火30 s,72℃延伸30 s×5个循环;然后94℃变性30 s,60℃退火30 s,72℃延伸30 s×30个循环;之后94℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸30 s×5个循环,最后72℃引伸7 min。PCR产物用Ava I于37℃酶切6 h后于含有溴化乙锭的3%琼脂糖凝胶电泳后显示。含有C等位基因的PCR产物片段可被切成92 bp及63 bp两段。含有T等位基因PCR产物片段则不能被切开,电泳为155 bp的一条带(图1)。

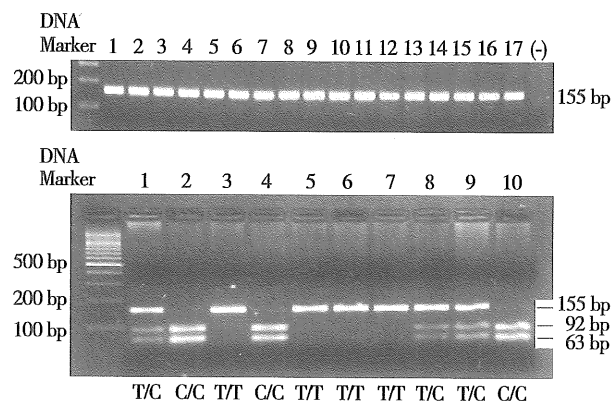


图1 IL-1B-511位点PCR及酶切电泳图

Fig.1 Represented electropherogram of IL-1B-511 PCR products and the results of RFLP

A: IL-1B-511 PCR products; B: PCR-RFLP analysis with Ava I digestion for IL-1B-511 polymorphism

### 1.4 统计学分析

IL-1B-511基因型与胃癌的发病风险因素优势比(odds ratio, OR)及95%的可信区间(confidence interval, CI),采用logistic回归分析;所有的OR值的计算均经过性别和年龄的校正;临床病理学特点及IL-1B-511基因型的相关性分析采用列联表和Pearson's  $\chi^2$ 检验;IL-1B-511T/C多态性与预后的关系采用log-rank检验及Kaplan-Meier生存曲线分析;多变量生存分析采用Cox回归模型。以 $P < 0.05$ 为具有显著性差异。统计学软件选用SAS软件(SAS Institute, Inc., Cary, North Carolina)。

## 2 结果

### 2.1 IL-1B-511T等位基因增加胃癌发生风险

胃癌组与对照组IL-1B-511基因型频率分布明显不同。与CC纯合子相比,T等位基因的携带

者(TC/TT)胃癌发生风险显著增加(OR = 1.60, 95% CI = 1.19 ~ 2.16,  $P = 0.002$ , 表1)。

## 2.2 IL-1B -511T 等位基因与肠型胃癌相关

通过进一步评估了胃癌不同亚型中 IL-1B -511T/C 多态性的作用,对胃癌患者按 Lauren 标准进行病理分型后,发现肠型胃癌 IL-1B -511 T

等位基因携带者(TC/TT)频率较正常对照明显增加(74% vs 64%),而弥漫型或混合型胃癌与对照组相比较,上述基因型频率无统计学意义差异(表2)。提示 IL-1B -511 T 等位基因显著增加肠型胃癌发病风险(OR = 1.63, 95% CI = 1.18 ~ 2.24,  $P = 0.003$ ),而与弥漫型或混合型胃癌无相关性。

表1 胃癌组与对照组 IL-1B -511 基因型频率比较

Table 1 Adjusted Odds Ratios(OR) and 95% confidence intervals(CI) for gastric cancer in relation to IL-1B -511 genotypes

Genotype	Controls(%)	Cases(%)	OR <sup>1)</sup> (95%CI)	P
CC	182(36)	143(25)	1	
TC	253(51)	309(55)	1.50(1.10-2.05)	0.010
TT	65(13)	111(20)	1.97(1.29-3.01)	0.002
TC/TT	318(64)	420(75)	1.60(1.19-2.16)	0.002

1) Adjusted for age and gender

表2 按照病理类型(Lauren)和分化程度分型的各种胃癌 IL-1B -511 基因型比例

Table 2 IL-1B -511 genotypic proportion for gastric cancer stratified by Lauren type and tumor differentiation n(%), OR<sup>1)</sup>(95% CI)

	Genotype			
	CC	TC	TT	TC/TT
Control	182(36)	253(51)	65(13)	318(64)
Lauren type				
Intestinal	101(26)	203(52), 1.49(1.06-2.08) <sup>2)</sup>	85(22), 2.14(1.37-3.35) <sup>2)</sup>	288(74) 1.63(1.18-2.24) <sup>2)</sup>
Diffuse	6(23)	17(65), 2.37(0.88-6.39)	3(4), 1.25(0.29-5.41)	20(77), 2.1(0.80-5.50)
Mix	23(28)	46(57), 1.5(0.86-2.61)	12(15), 1.5(0.69-3.27)	58(72), 1.5(0.88-2.56)
Differentiation				
Moderate or Well	29(28)	53(51), 1.39(0.79-2.44)	23(22), 1.71(0.83-3.51)	76(72), 1.47(0.86-2.50)
Poor	80(25)	171(54), 1.59(1.12-2.26) <sup>2)</sup>	68(21), 2.27(1.43-3.60) <sup>2)</sup>	239(75), 1.74(1.24-2.43) <sup>2)</sup>

1) Adjusted for age and gender; 2)  $P < 0.05$

## 2.3 IL-1B -511T 等位基因与低分化胃癌相关

经过对胃癌患者按肿瘤分化程度分层后发现,IL-1B -511T 等位基因携带者(TC/TT)低分化的胃癌发病风险增加,OR 值 2.27( $P < 0.001$ , 95% CI = 1.43 ~ 3.60);而与中、高分化胃癌无相关性(表2)。

## 2.4 IL-1B -511T 等位基因与胃癌发病年龄的关系

在年龄  $\geq 65$  岁组,IL-1B -511T 等位基因携带者(TC/TT)胃癌发病风险显著增加,OR 值为 2.35(95% CI: 1.29 ~ 4.28,  $P = 0.006$ , 表3)在其它两

个低龄组,IL-1B -511T 等位基因与胃癌发病风险无明显相关性。

## 2.5 IL-1B -511T 等位基因与胃癌发生部位、TNM 分期的关系

IL-1B -511T 等位基因与胃癌的相关性不随肿瘤发生部位及 TNM 分期而改变。与 CC 基因型相比,T 等位基因携带者贲门癌及非贲门癌的风险均增加,OR 分别为 1.85( $P = 0.015$ , 95% CI = 1.13 ~ 3.02)及 1.545( $P = 0.008$ , 95% CI = 1.12 ~ 2.13);携带 T 等位基因者患 TNM I/II 期和 TNM III/IV 胃癌的风险均较 CC 基因型者增加。

表 3 按年龄分层的各组 IL-1B -511 基因型比例  
Table 3 IL-1B -511 genotypic proportion for gastric cancer stratified by age groups n(%)

	Genotype			
	CC	TC	TT	TC/TT
Age ≤ 40				
Controls(%)	72(36)	102(51)	26(13)	128(64)
Cases	15(29)	26(50)	11(21)	37(71)
OR <sup>1)</sup>		1.23	2.07	1.41
95% CI		0.62-2.53	0.84-5.09	0.72-2.76
Age 40~65				
Controls(%)	78(34)	121(53)	30(13)	151(66)
Cases	78(27)	160(54)	56(19)	216(74)
OR <sup>1)</sup>		1.23	1.70	1.32
95% CI		0.82-1.84	0.98-2.96	0.90-1.95
Age ≥ 65				
Controls(%)	32(45)	30(42)	9(13)	39(55)
Cases	39(22)	83(54)	33(21)	116(75)
OR <sup>1)</sup>		2.21	2.8	2.35
95% CI		1.17-4.18 <sup>2)</sup>	1.15-6.77 <sup>2)</sup>	1.29-4.28 <sup>2)</sup>

1) Adjusted for gender; 2)  $P < 0.05$

## 2.6 IL-1B -511T 等位基因与胃癌患者预后的关系

采用 Kaplan-Meier 生存曲线对胃癌患者进行生存分析后发现, 携带不同 IL-1B -511 基因型的胃癌患者生存率无明显差别( $P = 0.809$ , 图 2)。多变量 Cox 回归模型显示, 肿瘤浸润深度(T)、淋巴结的受累情况(N)及远处转移(M)等因素与胃癌患者的生存率显著相关, 而 IL-1B -511T/C 多态性与胃癌患者的预后无显著相关性(表 4)。

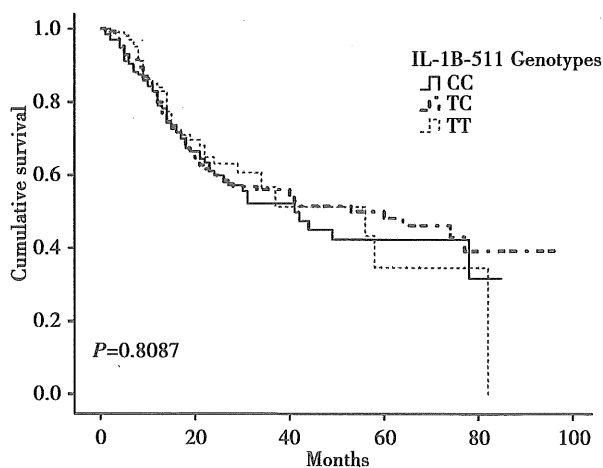


图 2 IL-1B -511 基因型与预后的关系的生存曲线

Fig.2 Survival curve of IL-1B -511 genotype and prognosis

表 4 胃癌预后相关因素的多变量 Cox 回归分析

Table 5 Cox multivariate regression analysis of potential factors for overall survival in 537 gastric cancer patients

Variable	HR <sup>1)</sup> (95% CI)	P-value
Age	1.01(1.00-1.02)	0.23
Gender		
Female	1	
Male	0.92(0.69-1.24)	0.59
Tumor staging		
T1	1	
T2	3.54(0.76-16.58)	0.11
T3	6.27(1.49-26.38)	0.01
T4	8.33(1.93-36.01)	0.005
Lymph node		
Negative	1	
Positive	2.13(1.39-3.28)	<0.001
Metastasis		
No	1	
Yes	3.16(2.25-4.44)	<0.001
Lauren classification		
Intestinal	1	
Diffuse or mix	1.19(0.75-1.87)	0.46
Location		
Cardiac	1	
Non-cardiac	1.05(0.75-1.47)	0.77
Differentiation		
Poor	1	
Moderate or well	0.86(0.58-1.26)	0.42
IL-1B -511 genotype		
CC	1	
TC	0.83(0.57-1.21)	0.34
TT	0.67(0.40-1.11)	0.12

1) HR: hazard ratio

## 3 讨论

### 3.1 IL-1B -511T/C 多态性与胃癌遗传易感性有关

在本研究通过对 IL-1B -511 基因型与胃癌的关系进行大样本病例-对照的研究发现, IL-1B -511T 纯合子及杂合子基因型频率在胃癌组显著高于对照组, 提示 IL-1B -511T/C 多态性与中国南方地区胃癌遗传易感性有关。本研究进一步证实我们前期研究结果, 并提示 IL-1B 是一个在胃癌发生过程中发挥重要作用的基因<sup>[3]</sup>。

### 3.2 IL-1B -511T/C 多态性与不同临床病理学特征胃癌易感性的关系

胃癌的不同病理类型在发病年龄、性别和致癌机理方面均有不同<sup>[6]</sup>。肠型胃癌为萎缩性胃炎→肠化→异型增生→胃癌的多阶段的长期的过程<sup>[7]</sup>;相反,弥漫型胃癌则常与阳性家族史、早年发病有关,不经过萎缩和肠化过程<sup>[8]</sup>。我们发现 T 等位基因增加肠型胃癌风险,而与弥漫型及混合型胃癌无关。可能机理为:在肠型胃癌多阶段致病过程中,不同的 IL-1B -511 基因型导致不同程度的 IL-1B 表达,对促进肿瘤发生起了不同的作用。有学者发现 IL-1B -511T/C 多态性与胃萎缩及肠化等肠型胃癌的癌前损伤有关,是对以上观点的有力支持<sup>[9-10]</sup>。

此外,本研究发现 IL-1B -511T/C 多态性与胃癌的分化程度有关,T 等位基因显著增加低分化胃癌发病风险,而与中高分化的胃癌无关。既往研究证实 IL-1B 与 p38 促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)在胃癌中相互作用密切<sup>[11]</sup>,而 P38 MAPK 途径在低分化胃癌发生过程中起了重要作用<sup>[12]</sup>。因此,IL-1B 可能通过活化 P38 MAPK 途径,部分地诱导低分化胃癌的去分化来发挥作用。

结果还显示 IL-1B -511T 等位基因增加老年人胃癌发病风险,而与早年发病的胃癌无关。可能的原因:促炎症细胞因子如 IL-1B 所涉及的从癌前病变到胃癌形成的多阶段过程,是一个漫长的过程。

El-Omar 等<sup>[13]</sup>报道在西方人群中 IL-1B -511T/C 多态性仅与非贲门胃癌有关,而与贲门癌无关。与之不同的是,我们发现携带有 IL-1B -511T 等位基因者贲门癌与非贲门胃癌的发病风险均增加。这一点与幽门螺杆菌与贲门癌之间的关系类似,幽门螺杆菌的致病过程包括幽门螺杆菌在胃黏膜定植后,激活下游的信号传导途径,分泌包括 IL-1B 在内的一系列的细胞因子<sup>[1]</sup>。因此幽门螺杆菌这个最重要的始动因素与 IL-1B 这个最重要的中间介质在胃癌的发病过程中起到相互促进作用。目前认为,贲门癌的病因学成因分为两种,一种为类似于非贲门胃腺癌,另外一种则类似于食管腺癌,其中幽门螺杆菌对后者为保护作用<sup>[14]</sup>。因此,国内外研究结果的不同可能是因为在中国的某些地区,非贲门胃癌常见而食管腺癌的发生率较

低<sup>[15]</sup>,这种贲门癌主要起源于远端胃,与 IL-1B -511T/C 多态性及幽门螺杆菌感染均呈正相关。

### 3.3 IL-1B -511T/C 多态性与胃癌预后的关系

单因素生存分析显示 IL-1B -511T/C 多态性与胃癌的预后无相关性,多因素生存分析显示肿瘤的浸润深度分级(T)、淋巴结的受累情况(N)、远处转移(M)等因素为胃癌预后独立影响因素,TNM 分期越高,胃癌的预后越差,TNM 分期是目前公认的影响患者预后的因素,因此从另一个方面说明了我们的多变量 Cox 回归模型的可信度。Deans 等的研究发现 IL-1B -511T/C 多态性与西方人群胃-食管交界癌的预后无关<sup>[16]</sup>,与本研究结果一致。

### 3.4 结 论

本研究显示 IL-1B -511T/C 多态性与胃癌的遗传易感性有关。不同亚型胃癌易感性存在异质性,IL-1B -511T 等位基因显著增加南方地区肠型、低分化及老年人胃癌风险。本研究为胃癌发生及其异质性的生物学机制提供了依据,为进一步临床生物学研究打下基础。

### 参考文献:

- [1] Moss SF, Blaser MJ. Mechanisms of disease: inflammation and the origins of cancer [J]. Nat Clin Pract Oncol, 2005,2(1):90-97.
- [2] 高艳萍,原素梅,郝素珍. 幽门螺杆菌感染及其毒力相关基因 cagA 的分布与临床胃疾患关系探讨 [J]. 热带医学杂志,2007,7(12):1179-1181.
- [3] El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer [J]. Nature, 2000,404(5):398-402.
- [4] 胡 胜,胡品津,曾志荣,等. IL-1 基因多态性与广东地区胃癌关系的研究 [J]. 中山大学学报:医学科学版,2003,24(3):221-223, 227
- [5] Kato S, Onda M, Yamada S, et al. Association of the interleukin-1 beta genetic polymorphism and gastric cancer risk in Japanese [J]. J Gastroenterol, 2001,36(4):696-699.
- [6] Yamaguchi N, Kakizoe T. Synergistic interaction between *Helicobacter pylori* gastritis and diet in gastric cancer [J]. Lancet Oncol, 2001,2(1):88-94.
- [7] Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D, et al. New aspects of *Helicobacter pylori* infection involvement in