

IL-1 基因多态性与广东地区胃癌关系的研究

胡 胜, 胡品津, 曾志荣, 庞瑞萍, 陈 为
(中山大学附属第一医院消化内科, 广东 广州 510080)

摘 要:【目的】研究 IL-1(interleukin-1)B 基因 +3954、-511、-31 位点和 IL-1 受体拮抗因子基因(IL-1RN)多态性在广东地区普通人群和胃癌患者中的分布,探讨 IL-1 基因多态性与我国胃癌发生的关系。【方法】用 PCR-限制性片段长度多态性(RFLP)分析法检测广东省 192 名普通人和 84 例胃癌患者的 IL-1 基因多态性。【结果】胃癌患者 IL-1B-511 和 IL-1B-31 T 基因携带者(T+) 频率显著高于普通人群(78.6% vs 54.7%, $\chi^2 = 14.1$, $P < 0.01$, $OR = 3.0$, 95% CI 1.7-5.5 和 35.7% vs 18.8%, $\chi^2 = 9.2$, $P < 0.01$, $OR = 2.4$, 95% CI 1.4-4.3), 而 IL-1B+3954 位点 T 和 IL-1RN2 基因携带者频率在两组间无显著差异($\chi^2 = 2.1$ 和 0.6, $P > 0.05$)。【结论】IL-1B-511 和 -31 位点 T 等位基因可能与我国广东地区胃癌的发生有关。

关键词: 白细胞介素 1; 多态性, 限制性片段长度; 胃肿瘤

中图分类号: R735.2; Q354

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2003)03-0221-03

The Study on the Relationship Between Interleukin-1 Gene Polymorphism and Gastric Cancer in Guangdong

HU Sheng, HU Pin-jing, ZENG Zhi-rong, PANG Rui-ping, CHEN Wei

(Department of Gastroenterology, The first affiliated hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract:【Objective】To study the frequency difference of interleukin-1B (IL-1) +3954, -511, -31 and IL-1RN gene polymorphism between gastric cancer and normal persons in Guangdong region of China.【Method】Genomic DNA was extracted from peripheral blood of 192 normal people, 84 gastric cancer patients in Guangdong province. IL-1 polymorphisms were analyzed by PCR-RFLP.【Result】T carrier (T+) frequencies of IL-1B-511 and -31 was remarkably higher in gastric cancer patients compared with the normal people (78.6% vs 54.7%, $\chi^2 = 14.1$, $P < 0.01$, $OR = 3.0$, 95% CI 1.7-5.5 and 35.7% vs 18.8%, $\chi^2 = 9.2$, $P < 0.01$, $OR = 2.4$, 95% CI 1.4-4.3, respectively), whereas other genotype was similar.【Conclusion】The T+ genotype of IL-1 B-511 and-31 may be associated with the risk of gastric cancer in Guangdong region.

Key words: interleukin-1; polymorphism, restriction fragment length; stomach neoplasms

[J SUN Yat-sen Univ (Med Sci), 2003, 24(3): 221-223, 227]

遗传因素(白介素-1基因多态性)与胃癌的关系近来成为研究的热点, El-Omar等^[1]研究发现, IL-1B-31T+和 IL-1RN*2/*2基因型明显增加胃癌发生的危险性, 认为 IL-1 是决定胃炎模式和胃癌发展的关键因素。上述结果在美国^[2]和葡萄牙^[3]人群的研究中也得到证实。我国是胃癌高发区, 其致病原因可能与环境、饮食因素有关, 但与遗传因素, 如白介素-1基因多态性是否存在关系目前

不得而知, 为此我们在本地区以健康志愿者作对照, 探讨白介素-1基因多态性和胃癌发生的关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象

普通人群系健康志愿者 192 名, 均为中山医科

收稿日期: 2002-11-26

作者简介: 胡 胜(1971-), 男, 湖北武汉人, 博士生, 主要从事胃癌的遗传学研究。

大学学生,其中男 73 人,女 119 人,平均年龄(21.2 ± 1.35)岁(19~24 岁)。84 例经组织学证实的胃癌患者(贲门癌除外),其中男 43 例,女 41 例,平均年龄(56.1 ± 14.2)岁(31~87 岁)。所有研究对象均为汉族。健康志愿者系指无胃病史、无系统性红斑狼疮、糖尿病、类风湿性关节炎、炎症性肠病史,以及胃癌家族史。

1.2 IL-1 基因多态性的检测

1.2.1 基因组 DNA 的提取 取静脉血 1 mL,采用 6 mol/L NaCl 200 μL,氯仿:异戊醇(24:1)400 μL 提取 100 μL 外周抗凝血白细胞基因组 DNA。

1.2.2 PCR 扩增^[1] PCR 反应条件为: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;最后 94℃变性 30 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,×5 个循环,72℃引伸 7 min。引物序列及扩增片段长度如下表 1。

表 1 IL-1 基因多态性扩增位点及引物序列

Table 1 The primer sequence of IL-1 gene loci

Loci	Primer sequence	PCR production
IL-1 B+3 954	5'AATTTTGCCACCTCGCTCA3'	152 bp
	5'CGGAGCGTGCAGTTCAGTGAT3'	
IL-1 B-511	5'GCCTGAACCCCTGCATACCGT3'	155 bp
	5'GCCAATAGCCCTCCCTGTCT3'	
IL-1 B-31	5'AGAAGCTTCCACCAATACTC3'	152 bp
	5'ACCACCTAGTTGTAAGGAAG3'	
IL-1 RN	5'CCCCTCAGCAACTCC3'	240, 410 bp
	5'GGTCAGAAGGGCAGAGA3'	

IL-1RN 基因存在 5 个长度为 86 bp 的串联重复序列(variable number of tandem repeat, VNTR),等位基因 1 存在 4 个重复,即扩增产物为 410 bp;等位基因 2 有 2 个重复,扩增产物为 240 bp;等位基因 3 存在 5 个重复,扩增产物为 530 bp;等位基因 4 扩增产物为 350 bp。

1.2.3 限制性内切酶消化 IL-1B 扩增片段

IL-1B+3 954 存在 *Taq* I 酶切位点,IL-1B-31 存在 *ALU* I 酶切位,IL-1B-511 存在 *Ava* I 酶切位点。扩增产物用苯酚、氯仿和异戊醇(25:24:1)纯化,然后在 20 μL 反应体系中用 *Taq* I 65℃或 *ALU* I、*Ava* I 37℃消化 3 h。IL-1B+3 954C/C 基因型能被内切酶切开,152 bp 消化为 88 bp 和 64 bp 两片段;T/T 基因型不能被切开;而 C/T 基因型消化后为 152

bp、88 bp 和 64 bp 3 种产物。相反,IL-1B-31C/C 基因型不能被 *Taq* I 酶切,而 T/T 型能被切为 100 bp 和 52 bp 两片段,C/T 基因型则为 152 bp、100 bp 和 52 bp 3 种产物。IL-1B-511C/C 基因型能被切开,155 bp 消化为 92 bp 和 63 bp 两片段,T/T 基因型不能被切开;而 C/T 基因型消化后为 155 bp、92 bp 和 63 bp 3 种产物。

1.2.4 IL-1RN 扩增产物和 IL-1B 基因酶切产物电泳

IL-1B 基因 3 个位点的酶切产物以 30 g/L 琼脂糖凝胶电泳,IL-1RN 扩增产物以 20 g/L 的琼脂糖凝胶电泳,均为 100 V 25min,然后溴乙锭染色,紫外灯下观察结果,见图 1。

1.3 统计方法

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料的比较和基因型 Hardy-weinberg 平衡和连锁不平衡采用 χ^2 检验和精确概率法,以 $P < 0.05$ 为有显著性差别。数据处理用 SPSS 10.0 统计软件。

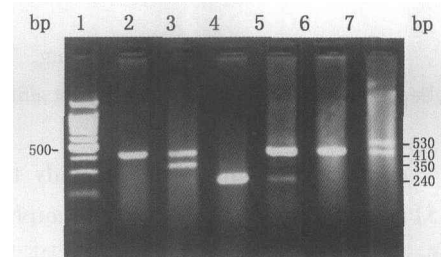


图 1 IL-1RN 各基因型电泳

Fig. 1 IL-1RN genotypes discovered

1: DNA marker, 2 and 6: 1/1 genotype, 3: 1/4 genotype,

4: 2/2 genotype, 5: 1/2 genotype, 7: 1/3 genotype

2 结果

2.1 IL-1 各基因型频率分布

胃癌患者的,IL-1B-511、-31 位点 T+ 基因型频率显著高于普通人群,但普通人群和胃癌患者相比,IL-1B+3 954T+ 基因型和 IL-1RN2+ 基因型无显著差别,见表 2。

2.2 IL-1B-511 和 -31 位点的连锁不平衡

对 IL-1B-511 和 -31 位点进一步作连锁不平衡分析发现,普通人群的 IL-1B-511 和 -31 位点之间几乎不存在连锁不平衡($D' = 0.08$, $\chi^2 = 2.1$; $P > 0.05$),提示两种基因的遗传是独立的,可能不存在相互关联。

表2 IL-1 基因多态性在普通人群和胃癌患者的分布
Table 2 The frequency of IL-1 gene polymorphism in gastric cancer patients and controls

Loci	Genotype	Control (n = 192)	GC patient (n = 84)
IL-1 B + 3954	C/C	164	77
	C/T	28	7
	T/T	0	0
	T +	28(14.6%)	7(8.3%)
IL-1B - 511	C/C	87	19
	C/T	78	44
	T/T	27	21
	T +	105(54.7%)	65(78.6%) ¹⁾
IL-1 B-31	C/C	156	54
	C/T	35	27
	T/T	1	3
	T +	36(18.8%)	30(35.7%) ²⁾
IL-1 RN	1/1	175	74
	1/2	13	8
	2/2	2	0
	1/3	2	0
	1/4	0	1
	2/4	0	1
	2 +	15(7.8%)	9(10.7%)

1) Gastric cancer patients vs controls, $\chi^2 = 14.1$, $P < 0.01$, $OR = 3.0$, 95% CI 1.7 ~ 5.5; 2) Gastric cancer patients vs controls, $\chi^2 = 9.2$, $P < 0.01$, $OR = 2.4$, 95% CI 1.4 ~ 4.3

3 讨论

胃癌与其他肿瘤一样,是宿主遗传因素与饮食等环境因素相互作用的结果。Correa等^[4]认为Hp在启动慢性胃黏膜炎症和最终导致胃癌的多步骤过程中具有重要作用。Hp感染可促进IL-1 β 的分泌为Correa的假说提供了依据^[5]。因为IL-1 β 具有强烈的抑制胃酸分泌的作用^[6],而胃酸分泌是决定临床结果的关键因素,高酸分泌与胃炎有关,而低酸则与全胃炎有关,后者与萎缩性胃炎有密切关系,萎缩性胃炎是肠型胃癌的重要癌前病变。

Omar等^[1]最近对波兰人群研究发现,与正常人相比,胃酸分泌低的胃癌直系亲属IL-1B-511T/-31T单倍体基因型和IL-1RN2等位基因频率明显高于正常胃酸或高胃酸者;IL-1B-31T基因携

带者和IL-1B-31T/IL-1RN2单倍体基因型胃癌发生危险性显著增加,OR值分别为1.9和4.4。随后Machado^[3]的研究发现IL-1B-511T基因携带者和IL-1RN2等位基因纯合子具有肠型胃癌的高危险性,OR值分别为2.7(95%CI 1.5~4.9)和3.1(95%CI 1.5~6.5)。Furuta等^[7]最近报道认为日本人群IL-1B-511T/T基因型与Hp感染后萎缩性胃炎的高危险性相关。Kato^[8]在日本人群中的研究发现IL-1B-511基因多态性与胃癌的危险性无关。

我国是胃癌高发区,胃癌的发生与IL-1基因多态性是否有关尚不清楚。为此我们选择我国广东地区(胃癌死亡率:男=7.02/10万,女=3.41/10万)的人群进行对比研究,发现胃癌患者IL-1B-511和-31T基因携带者频率高于普通人(78.6% vs 54.7%,和35.7% vs 18.8%),而IL-1B+3954T等位基因携带和IL-1RN2等位基因携带频率无显著差别。上述结果支持目前大多数文献报道。我们发现IL-1RN2等位基因在本研究人群中甚为罕见,与国外人群差异甚大,这提示在遗传背景上两者存在明显差异。连锁不平衡分析发现,IL-1B-31和-511两个位点间几乎不存在连锁不平衡,提示IL-1B-31和-511位点T等位基因对胃癌的危险性可能是独立的。

本研究提示,IL-1B-31T+和-511T+基因型和本地区胃癌发病有关,IL-1基因多态性增加胃癌发生的危险性推测可能与IL-1 β 有关,IL-1 β 分泌增加导致低胃酸,低胃酸状态不仅与胃炎发展模式有关,而且低胃酸有利于其他细菌在胃内繁殖,促进胃内亚硝胺类物质增加,最终导致胃黏膜的损害以及胃癌的发生^[4-9]。

参考文献:

- [1] El-Omar E M, Carrington M, Chow W H, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer[J]. Nature, 2000, 404 (6776): 398.
- [2] El-Omar E M, Chow W H, Gammon M D, et al. Pro-inflammatory genotypes of IL-1B, TNF α and IL-10 increase risk of distal gastric cancer but not of cardia or esophageal adenocarcinoma[J]. Gastroenterology, 2001, [3] 120 (suppl): A86.
- [3] Machado J C, Pharoah P, Sousa S, et al. Interleukin1B and Interleukin 1 RN polymorphism are associated with increased risk of gastric carcinoma[J]. Gastroenterology, [4] 2001; 121(4): 823.

(下转第227页 to page 227)

作用。

(本文图1~5见插页1, Fig. 1~5 shown in back coloured page 1)

参考文献:

- [1] Weinberg A D, Wegmann K W, Funatake C, *et al.* Blocking OX-40/OX-40 ligand interaction *in vitro* and *in vivo* leads to decreased T cell function and amelioration of experimental allergic encephalomyelitis[J]. *J Immunol*, 1999, 162(3): 1818.
- [2] 叶任高. 系统性红斑狼疮 [A]. 见: 叶任高主编. 内科学 [M]. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2000. 909~915.
- [3] 申洪. 免疫组织化学染色定量方法研究 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 1995, 4(1): 89.
- [4] Brocker T, Gulbranson Judge A, Flynn S, *et al.* CD4T cell traffic control: *in vivo* evidence that ligation of OX40 on CD4 T cells by OX40-ligand expressed on dendritic cells leads to the accumulation of CD4 T cells in B follicles [J]. *Eur J Immunol*, 1999, 29(5): 1610.
- [5] Higgins L M, McDonald S A, Whittle N, *et al.* Regulation of T cell activation *in vitro* and *in vivo* by targeting the OX40-OX40 ligand interaction: amelioration of ongoing inflammatory bowel disease with an OX40-IgG fusion protein, but not with an OX40 ligand-IgG fusion protein[J]. *J Immunol*, 1999, 162(1): 486.
- [6] Flynn S, Toellner K M, Raykundalia C, *et al.* CD4 T cell cytokine differentiation: the B cell activation molecule. OX40 ligand, instructs CD4 T cells to express interleukin 4 and upregulates expression of the chemokine receptor, Blr-1[J]. *J Exp Med*, 1998, 188(2): 297.
- [7] Kalinski P, Hilkens C M, Wierenga E A, *et al.* T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal [J]. *Immunol Today*, 1999, 20(12): 561.
- [8] Guizarro C, Kim Y, Kasiske B L, *et al.* Central role of the transcription factor NF- κ B in mesangial cell production of chemokines[J]. *Contrib Nephrol*, 1997, 120(2): 210.
- [9] Arch R H, Thompson C B. 4-1BB and OX40 are members of a tumor necrosis factor(TNF)-nerve growth factor receptor subfamily that bind TNF receptor-associated factors and activate nuclear factor κ B[J]. *Mol Cell Biol*, 1998, 18(1): 558.
- [10] Chandel N S, Schumacker P T, Arch R H, *et al.* Reactive oxygen species are downstream products of TRAF-mediated signal transduction[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(46): 42728.

(编辑 黄小廷)

(上接第223页 from page 223)

- Correa P. Humeri gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process-first American cancer society award lecture on cancer epidemiology and prevention[J]. *Cancer Res*, 1992, 52(24): 6735.
- [5] Noach L A, Bosma N B, Jansen J, *et al.* Mucosal tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, and interleukin-8 production in patients with *Helicobacter pylori* infection[J]. *Scand J Gastroenterol*, 1994, 29(5): 425.
- [6] Wolfe M M, Nompoggi D J. Cytokine inhibition of gastric acid secretion-a little goes a long way[J]. *Gastroenterology*, 1992, 102(6): 2177.
- [7] Furuta T, El-Omar E, Xiao F, *et al.* Interleukin β polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan[J]. *Gastroenterology*, 2002, 123(1): 92.
- [8] Kato S, Onda M, Yamada S, *et al.* Association of the Interleukin 1 β genetic polymorphism and gastric cancer in Japanese[J]. *J Gastroenterol*, 2001, 36(10): 696.
- [9] Stockbruegger R W, Cotton P B, Menon G G, *et al.* Pernicious anemia, intragastric bacterial overgrowth, and possible consequences[J]. *Scand J Gastroenterol*, 1984, 19(3): 335.

(编辑 黄小廷)