

白细胞介素4基因多态性与结直肠癌的易感性*

陈晓露 (西安市中心医院消化科, 西安 710003)

摘要:目的 研究白细胞介素-4 (interleukin-4, IL-4) 基因多态性与结直肠癌的相关性。方法 采用聚合酶链式反应-序列特异性引物(PCR-SSP)方法及聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法检测 93 例结直肠癌患者及 107 例健康对照者的 IL-4 内含子 3 及启动子-589 位点基因型。结果 结直肠癌组 IL-4 内含子 3 的 RP1 基因频率明显低于对照组(69.9% vs 86.4%, $\chi^2 = 16.300$, $P < 0.01$), RP2 基因频率明显高于对照组(30.1% vs 13.6%, $\chi^2 = 16.300$, $P < 0.01$)。RP1.1, RP1.2 基因型的优势比值分别为 0.28(95%CI, 0.15~0.50)和 3.28(95%CI, 1.77~6.07)。IL-4-589 位点在结直肠癌组和对照组中基因型分布和等位基因频率与内含子 3 位点频率分布一致, 连锁不平衡。结论 结直肠癌与 IL-4 基因多态性相关联。

关键词: 白细胞介素 4; 基因多态性; 结直肠肿瘤

中图分类号: R730.43; R735.3 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2015)05-105-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2015.05.032

Interleukin-4 Gene Polymorphisms and Colorectal Cancer Susceptibility

CHEN Xiao-lu (Department of Gastroenterology, Xi'an Central Hospital, Xi'an 710003, China)

Abstract: **Objective** To investigate the association between the interleukin-4(IL-4) gene polymorphisms and colorectal cancer. **Methods** Genotypes of the IL-4 intron 3 and -589 loci of the IL-4 promoter were examined by the polymerase chain reaction with sequence-specific primers (PCR-SSP) and polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) respectively in 93 colorectal cancer patients and 107 healthy controls. **Results** The gene frequency of allele RP1 of interleukin-4 intron 3 in colorectal cancer patients was significantly lower than that in healthy controls (69.9% vs 86.4%, $\chi^2 = 16.300$, $P < 0.01$), but the gene frequency of RP2 was significantly higher than that in healthy controls (30.1% vs 13.6%, $\chi^2 = 16.300$, $P < 0.01$). OR of the genotype RP1.1 and RP1.2 were 0.28 (95%CI, 0.15~0.50) and 3.28 (95%CI, 1.77~6.07) respectively. The distributing frequencies of genotypes and alleles of IL-4-589 locus in healthy controls and in colorectal cancer patients were consistent with those of IL-4 intron 3 locus. There was a linkage disequilibrium between 2 locus. **Conclusion** There is correlation between the colorectal cancer and the gene polymorphisms of IL-4.

Keywords: interleukin-4; gene polymorphism; colorectal carcinoma

结直肠癌是常见的消化道恶性肿瘤,近年来,随着我国人口饮食习惯的改变,其发病率有上升趋势。白细胞介素4(interleukin-4, IL-4)属于 Th2 类细胞因子,是一种重要的抗炎细胞因子,有免疫调节作用。研究提示,IL-4 基因多态性与膀胱癌、非小细胞肺癌、口腔癌、肾癌等多种恶性肿瘤的发生有关^[1~3]。目前,有关 IL-4 基因多态性与结直肠癌关系的研究国内报道极少,为了解其与汉族人群中结直肠癌的相关性,我们选择 IL-4 进行基因多态性的分布状况研究。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取经内镜及病理检查后确诊的结直肠癌患者 93 例作为观察组,其中男性 50 例,女性 43 例,平均年龄 50.6 ± 11.3 岁。选取同期健康查体人群 107 例作为对照组,其中男性 56 例,女性 51 例,平均年龄 48.6 ± 12.8 岁。排除其他系统肿瘤、自身免疫性疾病病史。所有研究对象均知情同意,均为汉族。

1.2 试剂与仪器 蛋白酶 K、TRIS-饱和酚、Taq DNA 聚合酶及配套 PCR 缓冲液、PCR 引物由博亚生物有限公司提供或合成,限制性内切酶 BsmFI 由 New England BioLabs 提供,琼脂糖购自杭州微生物试剂厂,DNA 热循环仪使用美国 PERKIN ELMER480 型,电泳仪使用北京东方特力科贸中心 DF-C 型,电热恒温水箱使用上海益恒实验仪器有限公司 CU600 型,凝胶成像系统由瑞典 PHARMACIA 提供。

1.3 实验方法

1.3.1 标本收集:清晨空腹采取静脉血 2 ml 放入 EDTA 抗凝管。

1.3.2 基因组 DNA 提取:用饱和酚-蛋白酶 K 法提取全血中 DNA。

1.3.3 基因多态性分析:IL-4 内含子 3 基因多态性分析采用 PCR-SSP 法。上游引物:5'-TAG-GCTGAAAGGGGAAAGC-3',下游引物:5'-CT-GTTCACCTCAACTGCTCC-3'。IL-4-589C/T

* 作者简介:陈晓露(1980-),女,医学硕士,主治医师,消化内科专业,Tel:029-87268355-3066,E-mail:ccwhite@163.com。

基因多态性分析采用 PCR-RFLP 法。上游引物: 5'-ACTAGGCCTCACCTGATACG-3', 下游引物: 5'-GTTGTAATGCAGTCCTCCTG-3'。扩增产物使用 BsmFI 进行限制性酶切。

1.4 统计学分析 先计算出结直肠癌患者和健康体检者各基因的基因频率, 经 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验, 表明各基因频率已达到遗传平衡, 具有群体代表性, 然后用 SPSS17.0 软件处理数据。对样本率的比较采用 χ^2 检验或精确概率法; 计算优势比 (OR) 和 95% 可信区间 (CI), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基因多态性检测结果 IL-4 内含子 3 基因多态性表现为数目可变的串联重复序列, 重复序列长 70bp, 等位基因 RP1 为 183 bp, RP2 为 253 bp, 见图 1。IL-4-589 位点扩增产物长 252 bp, 包含 BsmFI 酶切位点, 等位基因 C 被酶完全切断, 见 192 bp 和 60 bp 片段, 等位基因 T 未被酶切断, 只见 252 bp 片段, 见图 2。

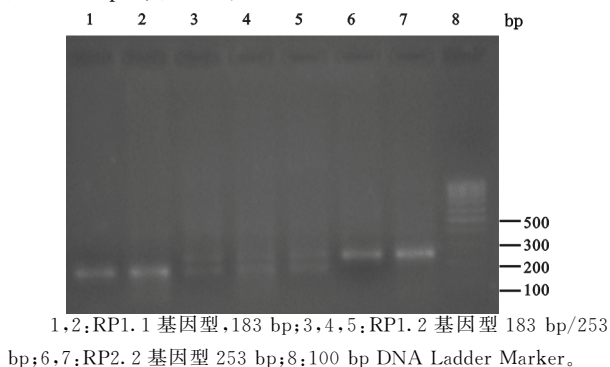


图 1 IL-4 内含子 3 扩增产物电泳图

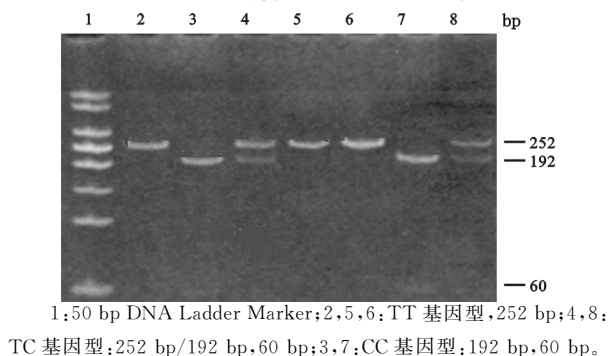


图 2 IL-4-589 位点扩增产物酶切后电泳图

2.2 基因多态性比较 结直肠癌组 IL-4 内含子 3 的 RP1 基因频率明显低于对照组 ($P < 0.01$), RP2 基因频率明显高于对照组 ($P < 0.01$), 见表 1。RP1.1, RP1.2 基因型的 OR 值分别为 0.28 (95% CI, 0.15 ~ 0.50) 和 3.28 (95% CI, 1.77 ~ 6.07)。IL-4-589 和内含子 3 两个位点等位基因完全连锁: -589T 和内含子 3RP1 完全连锁, -589C 和内含子 3RP2 完全连锁。其基因频率分布一致。结直

肠癌组 IL-4-589T 基因频率明显低于对照组 ($P < 0.01$), C 基因频率明显高于对照组 ($P < 0.01$)。TT, TC 基因型的 OR 值分别为 0.28 (95% CI, 0.15 ~ 0.50) 和 3.28 (95% CI, 1.77 ~ 6.07)。

表 1 两组 IL-4 内含子 3 基因多态性比较 [n(%)]

项 目	结直肠癌 (n=93)	健康对照 (n=107)	χ^2	P
基因型	RP1.1	43(46.2)	18.334	0.000
	RP1.2	44(47.3)	14.886	0.000
	RP2.2	6(6.5)	-	0.308
基因频率	RP1	130(69.9)	16.300	0.000
	RP2	56(30.1)	16.300	0.000

3 讨论 IL-4 是由活化的 Th2 型 CD4⁺ T 细胞产生的特征性细胞因子, 能抑制 Th1 细胞产生细胞因子的能力和其他辅助功能, 对于 B 细胞、T 细胞、肥大细胞、巨噬细胞和造血细胞都有免疫调节作用, 同时还参与了细胞增殖、凋亡的调节, 促进巨噬细胞提呈抗原和杀伤肿瘤细胞。在动物试验中, IL-4 显示抗肿瘤的作用。编码 IL-4 的基因位于第 5 条染色体长臂上, 其启动子和内含子 3 上均存在基因多态性, 与多种自身免疫性疾病及恶性肿瘤有关^[1~5]。

结直肠癌的发生与遗传、环境及免疫等多种因素相关, 有报道 IL-4 可抑制结肠肿瘤细胞的生长。IL-4 基因多态性的功能如何? 有研究表明, IL-4 内含子 3 的 RP1 等位基因及 -589 位点的 T 等位基因均可通过调节转录使血清 IL-4 水平增高^[6], 从而导致 Th1/Th2 免疫反应的失衡, 这可能与炎症及肿瘤的发生发展有关^[7]。既往的研究显示, IL-4 在控制肿瘤的生长方面起着双向作用, 一方面促进头颈部鳞状细胞癌和多种淋巴瘤的进展和扩散, 另一方面, 在乳腺癌、胃癌、肾癌和结肠癌中, IL-4 则起着抗肿瘤作用^[8]。我们对 IL-4 内含子 3 及启动子 -589 位点基因多态性与结直肠癌的相关性进行研究, 发现汉族结直肠癌病人与 IL-4 内含子 3 及启动子 -589 位点的基因多态性有关联, IL-4 内含子 3RP1 和 -589T 完全连锁, RP2 和 -589C 完全连锁, 存在连锁不平衡, 这与早年在日本人群中进行的研究结果相符^[6]。有研究提示, “高表达”的 IL-4-589T 等位基因可通过调节转录使血清 IL-4 水平增高, 降低结直肠癌, 尤其是早癌的发病率^[7], 这与我们的研究结果一致。然而, 也有一些研究提示 IL-4 基因多态性与结直肠癌的易感性无关^[9,10], 这可能与样本选择的数量、是否做分层分析及遗传背景的不同有关, 对此尚需开展更多的研究来加以验证。此外, IL-4 在肿瘤组织中的水平如何, 亦应做进一步的研究。

(下转 110 页)

(上接 106 页) 结直肠癌的发生可能与多基因的遗传标记有关。随着人类基因组计划的完成和基因流行病学的发展,对基因的研究将会获得新的突破。近年来,我国结直肠癌的发病率呈上升趋势,充分了解其与基因多态性的关系,可为寻找疾病的高危患者,早期发现、预防结直肠癌和在基因水平上制定个体化的免疫调控治疗方案奠定理论基础。

参考文献:

- [1] Gu J, Shen Y, Zhang Y. Association between interleukin-4 polymorphisms and environment and nonsmall cell lung cancer in Chinese population[J]. J Cancer Res Ther, 2014, 10(Suppl): C135-139.
- [2] Luo Y, Ye Z, Li K, et al. Associations between polymorphisms in the IL-4 and IL-4 receptor genes and urinary carcinomas; a meta-analysis[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(1): 1227-1233.
- [3] Li ZZ, Liu XH, Wang QW, et al. Three common polymorphisms in the IL-4 gene and cancer risk; a meta-analysis involving 5 392 cases and 6 930 controls[J]. Tumour Biol, 2013, 34(4): 2215-2224.
- [4] Makhoulouf MM, Elhamid SM. Expression of IL-4 (V NTR intron 3) and IL-10 (-627) genes polymorphisms in childhood immune thrombocytopenic purpura[J]. Lab Med, 2014, 45(3): 211-219.
- [5] Yu HH, Liu PH, Lin YC, et al. Interleukin 4 and ST AT6 gene polymorphisms are associated with systemic lupus erythematosus in Chinese patients[J]. Lupus, 2010, 19(10): 1219-1228.
- [6] Nakashima H, Miyake K, Inoue Y, et al. Association between IL-4 genotype and IL-4 production in the Japanese population[J]. Genes and Immunity, 2002, 3(2): 107-109.
- [7] 徐 静, 岳雁鸿, 孙治君. 检测 IFN- γ 和 IL-4 在急性胰腺炎中的应用[J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(4): 83-85.
- Xu J, Yue YH, Sun ZJ. Significance of combined detection of helper T lymphocyte 1 and 2 type cytokines in acute pancreatitis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2014, 29(4): 83-85.
- [8] Yannopoulos A, Nikiteas N, Chatzitheofylaktou A, et al. The(-590 C/T) polymorphism in the interleukin-4 gene is associated with increased risk for early stages of colorectal adenocarcinoma[J]. In Vivo, 2007, 21(6): 1031-1035.
- [9] Li Q, Wang Q, Xu XY, et al. Association between IL-4 -589C>T polymorphism and colorectal cancer risk[J]. Tumour Biol, 2014, 35(3): 2675-2679.
- [10] Zhang J, Xie DL, Zhou HB, et al. The -590C/T polymorphism in the IL-4 gene and the risk of cancer; a meta-analysis[J]. Tumour Biol, 2013, 34(4): 2261-2268.

收稿日期: 2015-06-24

修回日期: 2015-07-25