

## 白细胞介素-1B 多态性与神经胶质瘤的关联

岩亮<sup>1\*</sup>, 舒云<sup>2</sup>

1. 云南省西双版纳州人民医院外四科, 云南 景洪 666100

2. 云南省西双版纳州人民医院普通外科, 云南 景洪 666100

**摘要:**目的 探讨白细胞介素-1B(IL-1B)多态性与神经胶质瘤的相关性。方法 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性检测 152 例神经胶质瘤患者和 201 例正常对照组 IL-1B-511C/T 和 -31T/C 多态性。结果 IL-1B-511C/T 位点:与 CC 基因型相比,TT 基因型显著增加了神经胶质瘤的发病风险( $\chi^2 = 5.61, P = 0.021$ )。与 C 等位基因相比,T 等位基因显著增加了神经胶质瘤的发病风险( $\chi^2 = 5.71, P = 0.019$ )。未发现 IL-1B-31T/C 多态性频率分布在对照组和神经胶质瘤组之间存在明显差异。IL-1B-511C/T 和 -31T/C 两位点单倍型分析显示,-511C/-31T 单倍型显著降低了神经胶质瘤的发病风险( $\chi^2 = 4.89, P = 0.03$ ),-511T/-31C 单倍型显著增加了神经胶质瘤的发病风险( $\chi^2 = 18.55, P < 0.001$ )。

**结论** IL-1B 可能是中国人群神经胶质瘤发病的易感基因。

**关键词:**白细胞介素 1B;多态性;神经胶质瘤

## Association between interleukin-1B polymorphisms and risk of glioma

YAN Liang<sup>1</sup>, SHU Yun<sup>2</sup> 1. Fourth Department of Surgery, People's Hospital of Xishuangbanna, Jinghong, Yunnan, 666100, P. R. China; 2. Department of General Surgery, People's Hospital of Xishuangbanna, Jinghong, Yunnan, 666100, P. R. China

**Abstract: Objective** To investigate the association between interleukin-1B (IL-1B) polymorphisms and risk of glioma. **Methods** The IL-1B-511C/T and -31T/C polymorphisms were detected in 152 patients with glioma and 201 healthy controls using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis. **Results** The TT genotype at position-511C/T in the promoter region of IL-1B was associated with a significantly increased risk of glioma compared with the CC genotype ( $\chi^2 = 5.61, P = 0.021$ ). Similarly, the T allele at position-511C/T was associated with a significantly increased risk of glioma compared with the C allele ( $\chi^2 = 5.71, P = 0.019$ ). There was no significant difference in the frequency distribution of IL-1B-31T/C polymorphism between cases and controls. Results from haplotype analysis showed that the -511C/-31T haplotype was associated with a significantly decreased risk of glioma ( $\chi^2 = 4.89, P = 0.03$ ); conversely, the -511T/-31C haplotype was associated with a significantly increased risk of glioma ( $\chi^2 = 18.55, P < 0.001$ ). **Conclusions** IL-1B may be a susceptibility gene for the development of glioma in Chinese population.

**Key words:** interleukin-1B; polymorphism; glioma

白细胞介素-1B(interleukin-1B, IL-1B)是一种多功能细胞因子,不仅参与炎症反应,而且参与肿瘤生长、侵袭和转移等。神经胶质瘤中 IL-1B mRNA 和蛋白表达显著增高<sup>[1]</sup>。目前,大量研究报道了 IL-1B 基因启动子区多态性(-511C/T 和 -31T/C)与胃癌、乳腺癌、肝癌、宫颈癌等多种肿瘤的相关性<sup>[2-7]</sup>,然而,其与神经胶质瘤的关系至今未见报道。本研究运用病例-对照实验调查了 IL-1B-511C/T 和 -31T/C 多态性在中国西南地区神经胶

质瘤患者和正常对照人群中的分布,并分析了该多态性与神经胶质瘤发病的相关性。

### 1 材料与方法

#### 1.1 研究对象

入选本研究的 152 例神经胶质瘤患者来自于云南省西双版纳州人民医院经组织病理学确诊的住院病人,均为中国西南地区汉族人群。其中男性 87 例,女性 65 例,平均年龄  $44.8 \pm 15.1$  岁,中位年龄 45 岁。根据 1997 年世界卫生组织(WHO)病

收稿日期:2013-03-30;修回日期:2013-06-18

作者简介:岩亮(1972-),男,副主任医师,学士,主要从事神经外科学研究。

理分级标准:I-II 级 84 例,III-IV 级 68 例。同期收集 201 例体检健康者作为正常对照,其中男性 108 例,女性 93 例,平均年龄  $43.6 \pm 12.4$  岁,中位年龄 43 岁,无肿瘤家族史。病例组组和对照组在性别和年龄上无差异。

### 1.2 标本采集及基因组 DNA 提取

所有研究对象均采集外周静脉血 2 mL,EDTA-Na2 抗凝,酚/氯仿法抽提基因组 DNA。

### 1.3 基因分型

运用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism,PCR-RFLP) 方法进行基因分型。参照文献<sup>[6,7]</sup>设计 PCR 引物,IL-1B-511C/T 上游:5'-TG-GCATTGATCTGGTTCATC-3',下游:5'-GTTTAGGAATCT-TCCCACTT-3'; IL-1B-31T/C 上游:5'-AGAAGC TTC-CACCAATACTC-3',下游:5'-AGCACCTAGTTGTAAGGAAG-3'。PCR 扩增:20  $\mu$ L 反应体系,其中,PCR mix (北京百泰克生物公司) 10.0  $\mu$ L,引物 (10  $\mu$ M) 各 0.2  $\mu$ L,模板 DNA 1.5  $\mu$ L,不足体积用无菌去离子水补足至 20  $\mu$ L。PCR 扩增条件:94℃ 预变性 2 min; 94℃ 变性 30 s,退火 45 s (IL-1B-511C/T 和 IL-1B-31T/C 退火温度分别为 60℃ 和 56℃),72℃ 延伸 45 s,-511C/T 共 32 个循环,-31T/C 共 35 个循环;最终 72℃ 延伸 10 min。限制性内切酶 (NEB 公司) 酶切,10  $\mu$ L 酶切反应体系,其中,PCR 产物 3  $\mu$ L,相应限制性内切酶 1U (IL-1B-511C/T: Ava I, IL-1B-31T/C: Alu I),10  $\times$  NEB buffer 1  $\mu$ L,不足体积用无菌去离子水补足至 10  $\mu$ L,37℃ 消化 6 h。酶切产物经聚丙烯酰胺凝胶电泳分析,硝酸

银染色,判读基因型。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 软件包 (19.0 版) 进行统计分析。运用  $\chi^2$  检验进行 Hardy-Weinberg 平衡分析,病例组和对照组基因型和等位基因频率比较采用  $\chi^2$  检验,以优势比 (odds ratio, OR) 和 95% 可信区间 (confidence interval, CI) 表示神经胶质瘤的相对危险度。运用非条件 logistic 回归对性别和年龄进行校正。运用 SHEsis 进行连锁不平衡分析。检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

### 2 结果

IL-1B-511C/T 位点 CC 基因型存在一个 Ava I 酶切识别位点,可产生 190 和 114 bp 两条带;TT 基因型不存在 Ava I 酶切识别位点,产生 304 bp 一条带;CT 基因型产生 304、190 和 114 bp 三条带。IL-1B-31T/C 位点 TT 基因型存在两个 Alu I 酶切识别位点,可产生 137、97 和 5 bp 三条带;CC 基因型存在一个 Alu I 酶切识别位点,产生 234 和 5 bp 两条带;CT 基因型产生 234、137、97 和 5 bp 四条带。经检验,病例组和对照组中两位点各基因型频率均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P > 0.05$ )。对照组和神经胶质瘤组 IL-1B 基因多态性比较见表 1。对照组中,IL-1B-511C/T 位点 CC、CT 和 TT 基因型频率分别为 30.3%、48.3% 和 21.4%,与人类基因组计划中国北京汉族人群中频率一致,分别为:27.9%、53.5% 和 18.6%;IL-1B-31T/C 位点 TT、TC 和 CC 基因型频率分别为 28.9%、46.3% 和 24.9%,与人类基因组计划中国北京汉族人群中频率一致,分别为:28.6%、52.4% 和 19.0%。

表 1 对照组和神经胶质瘤组 IL-1B 多态性比较

Polymorphisms	Controls n = 201 (%)	Glioma n = 152 (%)	$\chi^2$	Adjusted OR(95% CI)	P value
-511C/T					
CC	61 (30.3)	31 (20.4)		1.00	
CT	97 (48.3)	76 (50.0)	2.61	1.55 (0.91 - 2.62)	0.11
TT	43 (21.4)	45 (29.6)	5.61	2.04 (1.12 - 3.74)	0.021
C	219 (54.5)	138 (45.4)		1.00	
T	183 (45.5)	166 (54.6)	5.71	1.43 (1.06 - 1.93)	0.019
-31T/C					
TT	58 (28.9)	37 (24.3)		1.00	
TC	93 (46.3)	75 (49.3)	0.81	1.27 (0.76 - 2.12)	0.37
CC	50 (24.9)	40 (26.3)	0.58	1.26 (0.70 - 2.26)	0.44
T	209 (52.0)	149 (49.0)		1.00	
C	193 (48.0)	155 (51.0)	0.61	1.13 (0.84 - 1.52)	0.43

神经胶质瘤组中,IL-1B-511C/T 位点 CC、CT 和 TT 基因型频率分别为 20.4%、50.0% 和 29.6%,

与对照组相比,差异具有统计学意义(TT与CC相比: $\chi^2 = 5.61, P = 0.021$ );C和T等位基因在对照组中的频率分别为54.5%和45.5%,在神经胶质瘤组中的频率分别为45.4%和54.6%,两组相比,差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.71, P = 0.019$ )。未发现IL-1B-31T/C多态性频率分布在对照组和神经胶质瘤组之间存在明显差异( $P > 0.05$ )。

表2 对照组和神经胶质瘤组IL-1B多态性单倍型分析

IL-1B-511/-31 haplotypes	Controls (%)	Glioma (%)	$\chi^2$	OR(95% CI)	P value
CC	186 (46.3)	128 (42.1)		1.00	
CT	33 (8.2)	10 (3.3)	4.89	0.44 (0.21-0.93)	0.03
TC	7 (1.7)	27 (8.9)	18.55	5.61 (2.37-13.26)	< 0.001
TT	176 (43.8)	139 (45.7)	0.73	1.15 (0.84-1.58)	0.39

### 3 讨论

研究显示,不仅微小RNA、基因甲基化等因素参与神经胶质瘤的发生发展,炎症与神经胶质瘤的演进亦有着密切的联系<sup>[8,9]</sup>。神经胶质瘤中IL-1B mRNA和蛋白表达显著增高<sup>[1]</sup>。IL-1B可引起胶质瘤细胞内蛋白聚集体形成,线粒体功能障碍,细胞活性氧含量增加进而细胞氧化应激反应增强,最终导致细胞死亡<sup>[10]</sup>,说明IL-1B参与神经胶质瘤的发生发展。

IL-1B基因位于人类第2号染色体长臂1区4带(2q14),编码IL-1B蛋白。位于IL-1B基因启动子区的-31T/C多态性(rs1143627)可影响Yin Yang 1(YY1)等多种转录因子结合,最终影响IL-1B的转录活性<sup>[11]</sup>。位于IL-1B基因启动子区的另一多态性位点-511C/T(rs16944)与IL-1B-511C/T存在明显的连锁关系,因此,两位点多态性与肿瘤的关系得到了广泛研究。2000年,El-Omar等<sup>[12]</sup>首次报道了IL-1B基因-511C/T和-31T/C多态性增加了高加索人群胃癌的发病风险。随后,一系列研究报道了该多态性与多种肿瘤的相关性。由于单一研究可能存在选择偏倚、发表偏倚等影响结果准确性的因素,因此,多项meta分析用于评价IL-1B基因-511C/T和-31T/C多态性与肿瘤的关联。Xue等<sup>[2]</sup>收集了21项文献,运用meta分析调查了该多态性与胃癌的相关性,发现携带IL-1B-511T等位基因的个体患胃癌的风险增加了1.23倍,亚组分析发现患非贲门胃癌的风险增加了1.31倍,患肠型胃癌的风险增加了1.55倍;相反,携带IL-1B-31CC基因型的个体患肠型胃癌的风

连锁不平衡分析发现,IL-1B-511C/T和-31T/C两位点处于高度连锁不平衡( $D' = 0.81$ ),单倍型分析显示,-511C/-31T单倍型显著降低了神经胶质瘤的发病风险( $\chi^2 = 4.89, P = 0.03$ ),-511T/-31C单倍型却显著增加了神经胶质瘤的发病风险( $\chi^2 = 18.55, P < 0.001$ )(见表2)。

险降低了0.73倍。Liu等<sup>[3]</sup>收集了8项病例对照研究,meta分析结果显示IL-1B-31CC基因型显著增强了乳腺癌的发病风险。然而,Yang等<sup>[4]</sup>收集了20项文献研究,包括2763例肝癌患者和4152例对照人群,meta分析结果显示IL-1B基因-511C/T和-31T/C多态性与肝癌发病无关。本研究首次运用PCR-RFLP方法调查了IL-1B基因-511C/T和-31T/C多态性在152例神经胶质瘤患者和201例正常对照组中的分布,结果显示携带TT基因型和T等位基因的个体患神经胶质瘤的风险分别增加了2.06和1.44倍,-511T/-31C单倍型个体患神经胶质瘤的风险增加了5.61倍,相反,-511C/-31T单倍型个体患神经胶质瘤的风险降低了0.44倍,提示IL-1B基因可能是中国人群神经胶质瘤的易感基因。

总之,本研究探索了IL-1B基因-511C/T和-31T/C多态性与中国西南地区神经胶质瘤发病风险的关系,结果显示,IL-1B-511TT基因型和-511T/-31C单倍型是神经胶质瘤发病的危险因素。但是,由于本研究仅调查了中国西南地区人群,而且样本量有限,因此,需要更多种族、更大样本量的研究以验证本研究结果。

### 参 考 文 献

- [1] 王贵新,杨涌杰,高红. 细胞因子IL-1B和TNF- $\alpha$ 在恶性脑瘤中mRNA表达的变化及意义. 中国医科大学学报, 2005, 34(5): 485-486.
- [2] Xue H, Lin B, Ni P, et al. Interleukin-1B and interleukin-1 RN polymorphisms and gastric carcinoma risk: a meta-analysis. J Gastroenterol Hepatol, 2010, 25(10): 1604-

- 1617.
- [3] Liu X, Wang Z, Yu J, et al. Three polymorphisms in interleukin-1B gene and risk for breast cancer: a meta-analysis. *Breast Cancer Res Treat*, 2010, 124(3): 821-825.
- [4] Yang Y, Luo C, Feng R, et al. The TNF-alpha, IL-1B and IL-10 polymorphisms and risk for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2011, 137(6): 947-952.
- [5] Qian N, Chen X, Han S, et al. Circulating IL-1B levels, polymorphisms of IL-1B, and risk of cervical cancer in Chinese women. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(5): 709-716.
- [6] 李卡, 杨婕, 陈增蓉. IL-1B 和 IL-1 受体拮抗剂基因多态性与胃癌遗传易感性的相关性研究. *四川大学学报(医学版)*, 2010, 41(6): 1039-1043.
- [7] 钱年凤, 韩素萍, 陈小军, et al. IL-1B 及 IL-1RN 基因多态性与江苏地区宫颈癌遗传易感性相关. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2008, 28(5): 629-634.
- [8] 付胜伟, 岳树源. 微小分子 RNA 在胶质瘤中的研究进展. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2012, 39(4): 373-376.
- [9] 蔡晓平, 高丽, 朱文佳. ANXA7 基因异常甲基化与神经胶质瘤发生相关性的研究. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2013, 40(1): 10-13.
- [10] 马国诏, 陈生弟, 陆国强, et al. 白细胞介素 21B 引起胶质瘤细胞 U251 中蛋白聚集体形成、活性氧含量和线粒体膜电位增高. *中华神经科杂志*, 2004, 37(5): 396-401.
- [11] Chen H, Wilkins LM, Aziz N, et al. Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context. *Hum Mol Genet*, 2006, 15(4): 519-529.
- [12] El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*, 2000, 404(6776): 398-402.

## 《国际神经病学神经外科学杂志》征稿、征订启事

《国际神经病学神经外科学杂志》创刊于 1974 年,由教育部主管,中南大学主办,中南大学湘雅医院承办。是目前国内唯一一本同时涵盖神经病学和神经外科学两个相联学科的专业学术期刊。本刊被收录为“中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)”。

《国际神经病学神经外科学杂志》现主要栏目有论著、临床经验交流、疑难病例讨论、病例报道、专家论坛和综述等。杂志立足于国内神经病学、神经外科学领域的前沿研究,及时报道国内外神经科学领域最新的学术动态和信息。促进国内外学术的双向交流,为中国神经科学走向世界搭建新的平台。

我们热忱欢迎国内外神经科学工作者踊跃来稿,通过本刊介绍自己的研究成果和临床经验。对于论著、临床经验交流、疑难病例讨论、病例报道等类型的文章将优先发表。

《国际神经病学神经外科学杂志》刊号为 CN 43-1456/R,ISSN 1673-2642,邮发代号 42-11,全国公开发行。读者对象主要为国内外从事神经病学、神经外科专业及相关专业的医务人员。杂志为双月刊,每期定价 13 元,全年定价 78 元。欢迎各级医师到当地邮局订购。杂志社也可办理邮购。

为更好地筹集办刊资金,保证刊物的健康发展,本刊将竭诚为药品厂商、医疗器械厂商和广告公司提供优质服务,并长期向各级医疗单位征集协办单位,具体事宜请与本刊编辑部联系。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路 87 号(中南大学湘雅医院内)《国际神经病学神经外科学杂志》编辑部,邮编:410008,电话/传真:0731-84327401,E-mail 地址:jinn@vip.163.com,网址:http://www.jinn.org.cn/。