

• 论 著 •

IL-10 基因 1 082A/G 多态性与前列腺癌的发生及其进展的相关性分析

牛文强
(武汉大学医学院 430071)

摘要:目的 调查湖北汉族人群中的 IL-10 启动子区 1 082A/G 位点单核苷酸基因多态性(SNP)分布情况,并探讨此基因多态性与前列腺癌(PC)及其进展程度之间的相关性。**方法** 收集湖北地区汉族 98 例 PC 患者(按 UICC 2002 TNM 分期标准,分为 I、II、III 期 3 个亚组)和 88 例年龄相匹配的健康体检男性作为对照组。采用基因测序技术对 IL-10 基因启动子区 1 082A/G 位点 SNP 分布进行调查,同时结合血清 IL-10 水平、前列腺特异性抗原(PSA)水平探讨此位点 SNP 与前列腺癌的发生、发展之间的关系。**结果** PC 组与对照组相比,等位基因和基因型分布差异均有统计学意义($P<0.01$)。PC 组与对照组相比,血清 PSA、IL-10 水平明显增高($P<0.05$);PC 患者中各亚组血清 PSA、IL-10 水平为: I 组小于 II 组小于 III 组,且差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 湖北汉族人群中的 IL-10 启动子区 1 082A/G 基因多态性可能与 PC 的发生有关,但与 PC 的进展程度无关。

关键词: 白细胞介素 10; 前列腺肿瘤; 基因多态性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.01.020 文献标识码:A 文章编号:1671-8348(2011)01-0042-02

The Study on the Association between the IL-10 Promoter Genetic polymorphisms and prostate cancer in Hubei Hans Population
Niu Wenqiang
(Medical college of Wuhan University 430071, China)

Abstract:Objective To investigate correlation between IL-10 SNP(1 082A/G) and the risk of the PC an its grade in Chinese Hans population. **Methods** A total of 98 PC patients and 88 age-matched healthy individuals were genotyped in three SNPs of the IL-10 promoter(1 082A/G) using gene sequencing technology. Odds ratio and 95% confidence interval were determined by logistic regression for the associations between IL-10 genotypes and haplotypes with the risk of PC and three grades. **Results** There is significant differences not only in allele frequency buy also in genotype distribution between PC group and controls group. Significantly higher frequencies of -1082G allele and GG+GC genotype were observed in PC group than in controls group. **Conclusion** It was suggested that IL-10 promoter SNP(1 082A/G) might be a risk factor for Prostate cancer in Chinese cohorts.

Key words: interleukin-10; prostatic neoplasms; SNP

IL-10 是人体内重要的抗炎因子。IL-10 能抑制白细胞和上皮细胞之间的相互作用,抑制致炎因子的释放,诱导 T 细胞由 Th₁ 向 Th₂ 转化,抑制抗原递呈细胞的功能,减少某些炎性介质如一氧化氮(NO)、过氧化氢的产生。IL-10 的抗炎保护作用与 Th₁ 细胞表型向 Th₂ 细胞表型转变有关。IL-10 的过度表达可以改变 T 细胞表型,从 Th₁ 细胞表型向 Th₂ 细胞表型转变,抑制炎症反应的发展。Rubic 和 Lorenz^[1] 的研究证明,转染 IL-10 能够抑制 T 细胞向 Th₁ 分化,减少致炎因子的产生。前列腺癌的发生与慢性炎症反应的刺激密切相关。作者的研究旨在调查 IL-10 启动子区域 1 082 位点基因多态性在湖北汉族前列腺癌患者和健康中、老年男性中的分布,并结合血清 PSA 和 IL-10 水平分析此多态性位点与前列腺癌发生和疾病进展程度之间的相关性,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 所有病例均在临床指诊后,经 B 超引导细针穿刺活检或手术后病理确诊。前列腺癌组(PC 组)98 例,对照组 88 例,按照国际抗癌联盟(UICC)2002 TNM 分期标准,将 98 例 PC 患者分为 I、II、III 组,所有对象均排除前列腺增生及其他泌尿系统疾病,1 周内无发热及前列腺指诊史。

1.2 血清 PSA、IL-10 水平检测 所有血液样本均在 7:30~8:30 空腹采集,30~45 min 后血液样本分离离心,上午 12 时前测定完毕。血清 PSA 水平检测采用罗氏电化学发光分析仪(Modular, E170, Roche Diagnostics Mannheim, Germany)。血清 IL-10 水平检测采用 IL-10 ELISA 试剂盒(由上海锐谷生物科技有限公司提供)。

1.3 DNA 提取及 PCR 扩增 外周血样品用改良的 NaI 法提取模板 DNA。根据 Genbank 基因全序列运用 Primer Premier 5.0 引物设计软件进行引物设计,引物由上海英骏公司合成。反应体系为 25 μ L,包括 10 \times PCR Buffer 2.0 μ L,2.5 mmol/L

dNTPs 2.0 μ L,引物 P1、P2 各 10 pmol,模板 0.2 μ g, Taq DNA 聚合酶 1.0 U。PCR 扩增条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 变性 45 s,58 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s,循环 35 次,最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。以上反应在 Gene Amp PCR system 2700(美国 PE 公司)基因扩增仪中完成。

1.4 基因测序 将所有 PCR 产物进行测序(由上海英骏公司完成),确定多态性位点,并根据测序结果判断基因型。

1.5 统计学处理 基因型和等位基因频率采用频率计数法计算,单个基因型及组间等位基因频率比较采用四格表 χ^2 检验;计量资料采用($\bar{x}\pm s$),并进行正态齐性检验,2 组间均数分析用独立样本 t 检验。不同基因型间 IL-10 和 PSA 水平比较用单因素方差分析(ANOVA)和 q 检验。

2 结果

2.1 各组血清 PSA、IL-10 水平测定结果,见表 1。

表 1 各组血清 PSA 水平测定结果($\bar{x}\pm s$)				
组别	<i>n</i>	PSA(ng/mL)	IL-10(pg/mL)	
对照组	88	1.49 \pm 0.56	21.57 \pm 11.23	
PC 组	I 期 40	21.45 \pm 15.43*	173.35 \pm 99.56*	
	II 期 44	47.32 \pm 23.21*	287.65 \pm 89.23*	
	III 期 14	89.25 \pm 51.52*	232.54 \pm 114.56*	

注:与对照组比较,* $P<0.05$,差异有统计学意义。

2.2 基因测序结果 扩增产物送出测序后结果用 CHROMAS 软件分析以验证多态性位点并确定基因型。

2.3 PC 组与对照组 IL-10 基因多态性分布特点 PC 组中基因型分布为:AA 型 24.5%,AG+AA 型 75.5%;对照组中分布为:GG 型 47.7%,AG+AA 型 52.3%。PC 组中等位基因频率 A 和 G 分别为 53.0%和 47.0%;对照组中分别为 72.5%和 53.0%。2 组间等位基因频率均以 A 等位基因为常见等位

基因,G 等位基因为少见等位基因。

χ^2 检验结果表明,基因型在 2 组间分布差异有统计学意义($\chi^2=10.936,P<0.01$),基因型频率的相对风险分析,AG+GG 基因型患 PC 的风险是 AA 基因型的 2.815 倍(1.511~5.244)。等位基因频率在 2 组间差异有统计学意义($\chi^2=14.304,P<0.01$),G 等位基因患 PC 的风险是 A 等位基因的 2.335 倍(1.498~3.640),见表 2。

表 2 PC 组与对照组 IL-10 基因多态性分布特点[n(%)]

组别	基因型频率		等位基因频率	
	AA	AG+GG	A	G
PC 组	24(24.5)	74(75.5)	70(53.0)	62(47.0)
对照组	42(47.7)	46(52.3)	174(72.5)	66(27.5)

2.4 PC 组中各亚组 IL-10 基因多态性分布特点 PC 组中基因型分布结果,见表 3。卡方检验结果表明,基因型在 2 组间分布比较,差异无统计学意义($\chi^2=1.532,P>0.05$)。等位基因频率在 2 组间比较,差异无统计学意义($\chi^2=2.227,P>0.05$)。

表 3 PC 患者各亚组 IL-10 基因多态性分布情况[n(%)]

组别	基因型频率		等位基因频率	
	AA	AG+GG	A	G
I 期	13(32.5)	27(67.5)	39(48.8)	41(51.2)
II 期	20(45.5)	24(54.5)	52(59.1)	36(40.9)
III 期	6(42.9)	8(57.1)	17(60.7)	11(39.3)

3 讨 论

近年来,IL-10 基因启动子区域的单核苷酸多态性(SNP)与冠心病、红斑狼疮、慢性 HBV 感染以及糖尿病等多种疾病的相关性受到关注^[2-3]。Trompet 等^[4]报道,IL-10 SNP 与冠状动脉和脑血管疾病有关,并与 AS 的进展及冠心病危险事件相关。Olivieri 等^[5]的研究也证实,IL-10-1 082 GG 基因型表达增多和 IL-10 水平的增加,可以抑制慢性血管损伤引起的炎性反应,并减少动脉粥样硬化合并症的危险性。Jovanny 等^[6]报道了高加索人和非裔美国人种中的 IL-10 启动子 SNP 基因型分布,并调查了基因多态性与前列腺癌的侵袭力之间的相关性,结果证明,不同人种中的基因型分布有很大差异;并证明了多个基因多态性之间的相互作用对前列腺癌侵袭力有影响。

IL-10 启动子区域 SNP 与前列腺癌之间的相关性目前国内鲜有报道。作者调查了湖北地区的 98 例前列腺癌患者和 88 例健康男性中的 IL-10 启动子 1 082 位点 SNP 分布情况,并分析此多态性与前列腺癌之间的相关性。研究结果表明,IL-10 启动子 1 082 位点 SNP 可能与前列腺癌的发生相关;1 082 GG

型可能增加前列腺癌发生的风险,但此多态性与前列腺癌进展之间的相关性未能被发现。可能的机制是此基因位点 A-G 碱基突变可能影响到 IL-10 的蛋白质表达,从而影响到 Th₁/Th₂ 细胞的分化和免疫机制的平衡,导致 IL-10 抑制抗炎因子的作用减弱,导致前列腺炎症反应的迁延不愈,最终导致前列腺癌的发生。作者报道的结果与 Jovanny 等^[6]的报道并不一致,可能的原因是前列腺癌的发生受到人种、地域和遗传等多方面的影响。

由于本次研究样本量不足,难免对研究结果产生偏倚。前列腺癌的发生机制较为复杂,影响因素较多,单个位点 SNP 能否对疾病的发生和发展起到独立的影响尚未可知。这些都需要后期扩大样本量,结合 IL-10 启动子区域的另外 2 个多态性位点联合调查,以期从遗传学角度探讨前列腺癌的发生和发展机制提供更多的实验依据。

参考文献

[1] Rubic T,Lorenz RL. Downregulated CD36 and oxLDL uptake and stimulated ABCA1/G1 and cholesterol efflux as anti2atherosclerotic mechanisms of interleu2 kin210[J]. Cardiovasc Res,2006,69(2):527-535.

[2] 李枚娟,王焱,巩燕. 白介素 210 在粥样斑块形成机制中的研究进展[J]. 心血管病学进展,2009,30(1):111-113.

[3] Stearns ME,Rhim J,Wang M. Interleukin 10(IL-10)inhibition of primary human prostate cell-induced angiogenesis;IL-10 stimulation of tissue inhibitor of metalloproteinase-1 and inhibition of matrix metalloproteinase (MMP)-2/MMP-9 secretion[J]. Clin Cancer Res,1999,5:189-196.

[4] Trompet S,Pons D,de Craen AJ,et al. Genetic variation in the interleukin 10 gene promoter and risk of coronary and cerebrovascular events[J]. Ann N Y Acad Sci,2007,1100(1):189-198.

[5] Olivieri F,Antonicelli R,Cardelli M,et al. Genetic polymorphisms of inflammatory cytokines and myocardial infarction in the elderly[J]. Mech Ageing Dev,2006,127(6):552-559.

[6] Jovanny Z,Zabaleta L,Joseph S,et al. Cytokine genetic polymorphisms and prostate cancer aggressiveness[J]. Carcinogenesis,2009,30:1358-1362.