·临床研究·

白细胞介素8基因多态性与卵巢癌发生的关系

陈 雪[1*]，张建洁[1]，袁 琳[1]，王婧娜[2]，马冬霞[1]
（华北石油管理局总医院：[1]妇产科，[2]神经内科，任丘 062550）

【摘 要】 **目的** 研究白细胞介素8（IL-8）+781基因多态性与卵巢癌发生风险之间的关系。**方法** 筛选卵巢癌患者为病例组和年龄匹配的健康人为对照组，应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性分析检测IL-8 +781基因多态性。**结果** 携带基因型TT发生卵巢癌的风险显著高于携带基因型CC（OR=3.385，95% CI：1.361～8.418；P=0.009），携带等位基因T发生卵巢癌风险显著高于等位基因C（OR=1.704，95% CI：1.122～2.590；P=0.013）。**结论** IL-8 +781基因多态性可能影响卵巢癌的发生。

【关键词】 卵巢癌；白细胞介素8；基因多态性
【中图分类号】 R737.31 【文献标识码】 A 【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2016.10.185

Association of interleukin 8 gene polymorphism with ovarian cancer

CHEN Xue[1*], ZHANG Jian-Jie[1], YUAN Lin[1], WANG Jing-Na[2], MA Dong-Xia[1]
([1]Department of Obstetrics and Gynecology, [2]Department of Neurology, North China Petroleum Bureau General Hospital, Renqiu 062552, China)

【**Abstract**】 **Objective** To investigate the relationship between polymorphism of IL-8 +781 and risk of ovarian cancer. **Methods** Patients with ovarian cancer and age-matched healthy people were enrolled in this study. The polymorphism of IL-8 +781 was detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). **Results** The individuals with genotype TT had higher risk of ovarian cancer, compared with those with genotype CC (OR=3.385, 95% CI: 1.361-8.418, P=0.009). The individuals carrying allele T had higher risk of ovarian cancer than those carrying allele C (OR=1.704, 95% CI: 1.122-2.590, P=0.013). **Conclusion** IL-8 +781 polymorphism may exert an effect on the occurrence of ovarian cancer.

【**Key words**】 ovarian cancer; interleukin-8; gene polymorphism
This work was supported by the Project of Health Care Clinical Technique Application of Huabei Oilfield Mining Area (2014HBF1202).
Corresponding author: *CHEN Xue*, *E-mail*: *wangweiwei365@126.com*

卵巢癌是妇科肿瘤中导致妇女死亡的主要病因，大多数患者在确诊时已经发展到晚期[1,2]。卵巢癌晚期5年生存率仅为30%，约有70%的患者在确诊时已为晚期[3-5]。研究发现免疫系统在肿瘤的发生中起重要作用，趋化因子参与多种肿瘤的发生发展。白细胞介素8（interleukin 8，IL-8）是趋化因子家族的成员，在免疫过程中发挥募集和活化中性粒细胞的作用。研究发现IL-8参与血栓形成及新生血管形成，且在多种人类肿瘤组织中高表达，IL-8在慢性感染、炎症和肿瘤进展过程中起重要作用，其过表达可能提示肿瘤易感性升高或临床病理特征改变，研究发现IL-8通过调节肿瘤应答及促进血管形成在肿瘤的发生过程中发挥重要作用[6,7]。本研究旨在研究IL-8 +781基因多态性与患者卵巢癌发生易感性之间的关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

收集2014年1月至2014年12月在华北石油管理局总医院妇产科确诊的卵巢癌患者，以病理结果为诊断依据，同时在门诊就诊患者中收集与病例组年龄相匹配的健康女性作为健康对照组。本研究

收稿日期：2016-02-23；修回日期：2016-06-23
基金项目：华北油田矿区医疗卫生临床技术应用研究项目（2014HBF1202）
通信作者：陈 雪，E-mail：wangweiwei365@126.com

已通过华北石油管理局总医院医学伦理委员会论证审批,所有参与研究患者均已了解研究目的并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 标本的收集及处理 取研究对象约2 ml外周血于抗凝管中,用常规方法提取外周血DNA,测定DNA浓度,保存于-80℃待用。

1.2.2 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)分析 PCR-RFLP分析IL-8+781基因多态性,聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)正向引物:CTCTAACTCTT-TATATAAGGAATT,反向引物:GATTGATTTTAT-CAACAGGCA。PCR反应体系如下:100 ng DNA,1×PCR缓冲液,0.2 mmol/L dNTP,2 mmol/L $MgCl_2$,50 pmol正反向引物及Ampli-Taq Gold DNA聚合酶;PCR反应条件如下:95℃ 3 min预变性,95℃ 30 s,50℃ 60 s、72℃ 60 s循环35次,延伸72℃ 10 min。

1.2.3 位点检测 PCR扩增后,产物用5U *Eco*RⅠ限制酶37℃ 3 h,然后用2%的琼脂糖凝胶电脉鉴定基因型。经*Eco*RⅠ限制酶酶切后可产生184 bp和19 bp的片段,位点是C还是T取决于*Eco*RⅠ限制酶是否发生作用,如果位点是C则产生184 bp和19 bp两条片段。

1.3 统计学处理

应用SPSS17.0统计软件对数据进行统计分析。Hardy-Weinberg平衡检验分析纳入研究者是否具有代表性;卡方检验分析基因型分布差异;多因素logistic回归分析卵巢癌发生的风险,以比值比(OR)及95%可信区间(CI)表示相对危险度。以$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 纳入研究对象基本特征

从2014年1月至2014年12月,共有81例卵巢癌患者(病例组)和100名健康志愿者(对照组)纳入本研究,年龄分别为(56.9±8.9)岁和(57.1±7.2)岁。根据国际妇产科联盟(International Federation of Gynecology and Obstetrics,FIGO)分期,81例卵巢癌患者中,9例(11.1%)为FIGO Ⅰ期,8例(9.9%)为FIGO Ⅱ期,55例(67.9%)为FIGO Ⅲ期,9例(11.1%)为FIGO Ⅳ期(表1)。

表1 卵巢癌患者一般情况

Table 1 General characteristics of ovarian cancer patients in this study ($n=81$)

Item	Patient[n (%)]
FIGO staging	
Ⅰ	9(11.1)
Ⅱ	8(9.9)
Ⅲ	55(67.9)
Ⅳ	9(11.1)
TNM staging	
T1	17(21.0)
T2	9(11.1)
T3	51(63.0)
T4	4(4.9)
N0	22(27.1)
N1	26(32.1)
Nx	33(40.7)
M0	71(87.7)
M1	10(12.3)
Grading	
1	6(7.4)
2	33(40.7)
3	42(51.9)

FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics; TNM: tumor, nodes and metastasis

2.2 IL-8+781基因型与卵巢癌发生的风险

纳入研究的病例组和对照组基因型和等位基因频率均符合Hardy-Weinberg平衡定律(病例组$\chi^2=0.369$,$P=0.538$;对照组$\chi^2=1.988$,$P=0.161$),说明纳入的研究对象有良好的代表性。病例组与对照IL-8+781基因型和等位基因分布如表2所示,IL-8+781基因型在两组间分布差异有统计学意义($\chi^2=7.202$, df=2, $P=0.027$)、等位基因在两组间分布差异也具有统计学意义($\chi^2=6.274$, df=2, $P=0.015$),因此IL-8+781基因型可能影响卵巢癌的发生。多因素logistic回归分析判断卵巢癌发生的风险,结果如表3所示,携带基因型TT发生卵巢癌的风险显著高于携带基因型CC(OR=3.385, 95% CI: 1.361~8.418; $P=0.009$),携带等位基因T发生卵巢癌风险显著高于等位基因C(OR=1.704, 95% CI:1.122~2.590;$P=0.013$);IL-8+781基因型在本组卵巢癌患者FIGO各分期的分布差异有统计学意义($P=0.032$;表4),表明FIGO分期与IL-8+781基因型有密切关系。

3 讨 论

IL-8是趋化因子家族,可由多种细胞(如单核细胞、巨噬细胞、成纤维细胞等)分泌产生,主要介导中性粒细胞的激活及从外周血迁移到组织,参与免疫系统的启动和扩大,因此与多种疾病的发生有密切关系[8,9]。IL-8可能参与前列腺癌、直肠癌和卵巢癌的发生,并且有研究发现IL-8可以作为卵巢

表2 病例组与对照组IL-8+781基因型和等位基因分布比较

Table 2 Comparison of IL-8+781 genotypes and alleles between case group and control group [n(%)]

Group	n	Genotype			Allele	
		CC	CT	TT	C	T
Control	100	32(32.0)	55(55.0)	13(13.0)	119(59.5)	81(40.5)
Case	81	16(19.8)	43(53.1)	22(27.2)	75(46.3)	87(53.7)
P value			0.027		0.015	

IL-8: interleukin 8

表3 IL-8+781基因型与卵巢癌发生风险的相关回归研究

Talbe 3 Association and regression analysis between the genotype of IL-8+781 and the risk of ovarian cancer [n(%)]

Genotype	Cases group(n=81)	Control group(n=100)	OR	95%CI	*P* value
CC	16(19.8)	32(32.0)	1	-	
CT	43(53.1)	55(55.0)	1.564	0.761-3.214	0.224
TT	22(27.2)	13(13.0)	3.385	1.361-8.418	0.009
Allele[C]	75(46.3)	119(59.5)	1	-	
Allele[T]	87(53.7)	81(40.5)	1.704	1.122-2.590	0.013

IL-8: interleukin 8

表4 卵巢癌患者FIGO各分期IL-8+781基因型分布情况

Table 4 FIGO staging and genotye of IL-8+781 in the patients with ovarian cancer [n(%)]

FIGO staging	n	CC	CT	TT
Ⅰ	9	2(22.2)	6(66.7)	1(11.1)
Ⅱ	8	3(37.5)	4(50.0)	1(12.5)
Ⅲ	55	6(10.9)	30(54.5)	19(34.6)
Ⅳ	9	5(55.6)	3(33.3)	1(11.1)
P value			0.032	

FIGO: International Federation of Gynecology and Obstetrics; IL-8: interleukin 8

癌的生物标志物。在卵巢癌患者中,发现患者腹水、血清以及肿瘤组织中IL-8表达升高。另外,一些研究也发现IL-8可能参与卵巢癌的病程发展。IL-8基因位于染色体4q13-21,有4个外显子、3个内含子和1个远端启动子组成,常见的SNP多态性为-251A/T、+396G/T和+781C/T。

既往研究发现IL-8基因多态性与肿瘤的发生(如胃癌、肺癌、结直肠癌等)有相关性,本研究旨在研究IL-8+781基因多态性与中国人卵巢癌发生之间的关系。结果发现IL-8+781在病例组与对照组间有显著差异,回归分析显示携带基因型TT发生卵巢癌的风险显著高于携带基因型CC(OR=3.385,95%CI:1.361~8.418,*P*=0.009),携带等位基因T发生卵巢癌风险显著高于等位基因C(OR=1.704,95%CI:1.122~2.590,*P*=0.013)。位于IL-8基因内含子1内的IL-8+781 C/T SNP,位于C/EBPβ结合序列,这个序列可以被等位基因C破坏,因此IL-8+781SNP可以影响IL-8基因转录水平[10]。

在IL-8+781基因多态性与其他疾病的研究中发现,携带基因型TT的患者发生口腔鳞癌的风险明显升高[11],等位基因T与经皮冠状动脉介入术后再狭窄风险相关[12]。然而,一些研究发现,等位基因C与哮喘发生风险相关[13],IL-8+781基因多态性与非小细胞肺癌有关,等位基因C可能使非小细胞肺癌发生风险升高。IL-8基因常见的多态性位点为+781C/T、-251A/T、+1633C/T、+2767A/T,研究发现IL-8基因不同位点基因多态性参与多种疾病的发生,如IL-8+2767A/T位于IL-8基因3'-URT处,有重要的转录后调节作用,研究发现IL-8+2767A/T可能对口腔肿瘤、肝细胞肿瘤等的发生有重要作用[14]。IL-8作为趋化因子家族成员,参与细胞增殖、迁移以及肿瘤的侵袭,促进肿瘤细胞躲避应激诱导的凋亡以及血管生成、肿瘤生长和转移[11,15]。既往研究发现卵巢癌患者卵巢囊液、腹水以及肿瘤组织中高表达,因此IL-8参与卵巢癌的发生和发展[16]。

本研究发现IL-8+781基因多态性可能影响卵巢癌的发生及分期,将来需要大样本病例进行进一步的验证,为未来卵巢癌无创诊断提供思路。

【参考文献】

[1] Sankaranarayanan R, Ferlay J. Worldwide burden of gynaecological cancer: the size of the problem[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2006, 20(2): 207-225.

[2] Jemal A, Siegel R, Xu J, *et al*. Cancer statistics, 2010[J]. CA Cancer J Clin, 2010, 60(5): 277-300.

[3] De Santis CE, Lin CC, Mariotto AB, *et al*. Cancer treatment and

survivorship statistics, 2014 [J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(4): 252-271.
[4] Siegel R, Ma J, Zou Z, *et al*. Cancer statistics, 2014 [J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1): 9-29.
[5] Li WS. Research of IL-8 gene on the mechanism of invasion and metastasis in epithelial ovarian cancer [D]. Hebei Medical University, 2008: 97-100. [李万胜. 人IL-8基因在卵巢上皮性癌浸润转移中作用机制的研究[D]. 河北医科大学, 2008: 97-100.]
[6] Kassim SK, El-Salahy EM, Fayed ST, *et al*. Vascular endothelial growth factor and interleukin-8 are associated with poor prognosis in epithelial ovarian cancer patients [J]. Clin Biochem, 2004, 37(5): 363-369.
[7] Cacev T, Radosevic S, Krizanac S, *et al*. Influence of interleukin-8 and interleukin-10 on sporadic colon cancer development and progression[J]. Carcinogenesis, 2008, 29(8): 1572-1580.
[8] Hartman ZC, Poage GM, den Hollander P, *et al*. Growth of triple-negative breast cancer cells relies upon coordinate autocrine expression of the proinflammatory cytokines IL-6 and IL-8 [J]. Cancer Res, 2013, 73(11): 3470-3480.
[9] de Oliveira S, Reyes-Aldasoro CC, Candel S, *et al*. Cxcl8 (IL-8) mediates neutrophil recruitment and behavior in the zebrafish inflammatory response [J]. J Immunol, 2013, 190(8): 4349-4359.
[10] Hacking D, Knight JC, Rockett K, *et al*. Increased *in vivo* transcription of an IL-8 haplotype associated with respiratory syncytial virus disease-susceptibility [J]. Genes Immun, 2004, 5(4): 274-282.
[11] Liu CM, Yeh CJ, Yu CC, *et al*. Impact of interleukin-8 gene polymorphisms and environmental factors on oral cancer susceptibility in Taiwan[J]. Oral Dis, 2012, 18(3): 307-314.
[12] Vogiatzi K, Apostolakis S, Voudris V, *et al*. Interleukin 8 gene polymorphisms and susceptibility to restenosis after percutaneous coronary intervention[J]. J Thromb Thrombolysis, 2010, 29(1): 134-140.
[13] Heinzmann A, Ahlert I, Kurz T, *et al*. Association study suggests opposite effects of polymorphisms within IL-8 on bronchial asthma and respiratory syncytial virus bronchiolitis [J]. J Allergy Clin Immunol, 2004, 114(3): 671-676.
[14] Emonts M, Hazes MJ, Houwing-Duistermaat JJ, *et al*. Polymorphisms in genes controlling inflammation and tissue repair in rheumatoid arthritis: a case control study[J]. BMC Med Genet, 2011, 12: 36.
[15] Wang Y, Xu RC, Zhang XL, *et al*. Interleukin-8 secretion by ovarian cancer cells increases anchorage-independent growth, proliferation, angiogenic potential, adhesion and invasion [J]. Cytokine, 2012, 59(1): 145-155.
[16] Browne A, Sriraksa R, Guney T, *et al*. Differential expression of IL-8 and IL-8 receptors in benign, borderline and malignant ovarian epithelial tumours[J]. Cytokine, 2013, 64(1): 413-421.

（编辑：周宇红）

·消 息·

《中华老年多器官疾病杂志》论文优先发表快速通道

为加快重大医学研究成果的交流推广，促进医学事业的发展，我刊对符合下列条件的论文开设快速通道，优先发表：(1)国家、军队、省部级基金资助项目；(2)其他具有国内领先水平的创新性科研成果论文；(3)相关领域各类最新指南解读。凡要求以“快速通道”发表的论文，作者应提供关于论文科学性和创新性的说明。我刊对符合标准的稿件，即快速审核及刊用。

地址：100853 北京市复兴路28号，《中华老年多器官疾病杂志》编辑部
电话：010-66936756
网址：www.mode301.cn
E-mail：zhlndqg@mode301.cn