



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2014.04.020  
http://www.zpwz.net/CN/abstract/abstract3856.shtml

· 临床研究 ·

# 白细胞介素 16 基因多态性与大肠癌发病风险的关系

韩捷<sup>1</sup>, 王宇飞<sup>1</sup>, 孔宪刚<sup>1</sup>, 李志华<sup>2</sup>

(1. 山东省济宁市第一人民医院 普通外科, 山东 济宁 272011; 2. 济宁医学院 免疫学教研室, 山东 济宁 272011)

## 摘要

**目的:** 探讨中国山东籍汉族大肠癌 (CRC) 患者人群中, IL-16 基因多态性与大肠癌发病风险的关系。  
**方法:** 在 164 例 CRC 患者和 121 名健康对照个体中, 采用放大阻碍突变 PCR (ARMS-PCR) 方法对 IL-16 基因序列中的 2 个单核苷酸多态性 (SNP) 位点 rs11556218 和 rs4778889 进行基因分型, 分析该 2 个位点的等位基因频率和基因型分布与 CRC 发病风险的关系。

**结果:** 在 CRC 患者中, rs11556218 的 T/G 等位基因频率和基因型分布与对照组的差异有统计学意义 ( $P=0.021\ 725$ ,  $P=0.001\ 033$ ); rs4778889 的 T/C 等位基因频率及基因型分布与正常对照组的差异无统计学意义 ( $P=0.057\ 946$ ,  $P=0.064\ 229$ )。

**结论:** IL-16 的 rs11556218 基因多态性与可能与 CRC 的易感性增加有关。

[中国普通外科杂志, 2014, 23(4):504-507]

## 关键词

结直肠肿瘤; 白细胞介素 16; 多态性, 单核苷酸  
中图分类号: R735.3

## Relationship between interleukin 16 polymorphism and risk of colorectal cancer

HAN Jie<sup>1</sup>, WANG Yufei<sup>1</sup>, KONG Xian'gang<sup>1</sup>, LI Zhihua<sup>2</sup>

(1. Department of General Surgery, Ji'ning No. 1 People's Hospital, Shandong Ji'ning 272011, China; 2. Department of Immunology, Ji'ning Medical University, Shandong Ji'ning 272011, China)

Corresponding author: LI Zhihua, Email: coco6016@163.com

## ABSTRACT

**Objective:** To investigate the relationship between interleukin 16 (IL-16) gene polymorphism and risk of colorectal cancer (CRC) in Han nationality population in China's Shandong province.

**Methods:** From 164 CRC patients and 121 control healthy subjects, two single nucleotide polymorphism (SNP) sites, rs11556218 and rs4778889, in the IL-16 gene sequence were genotyped by means of amplification refractory mutation system (ARMS)-PCR. The relations of the allele frequency and distribution of the two polymorphic sites with CRC risk were analyzed.

**Results:** In group of CRC patients, both the T/G allele frequency and distribution of rs11556218 were significantly different from control group ( $P=0.021\ 725$ ,  $P=0.001\ 033$ ), but the differences in the T/C allele frequency and distribution of rs4778889 had no statistical significance versus control group ( $P=0.057\ 946$ ,  $P=0.064\ 229$ ).

**Conclusion:** IL-16 rs11556218 gene polymorphism is probably associated with the increased CRC susceptibility.

[Chinese Journal of General Surgery, 2014, 23(4):504-507]

收稿日期: 2013-09-06; 修订日期: 2014-03-05。

作者简介: 韩捷, 山东省济宁市第一人民医院副主任医师, 主要从事乳腺、甲状腺、腹部微创外科方面的研究。

通信作者: 李志华, Email: coco6016@163.com

**KEYWORDS** Colorectal Neoplasms; Interleukin-16; Polymorphism, Single Nucleotide  
**CLC number:** R735.3

大肠癌 (colorectal cancer, CRC) 又称为结肠直肠癌, 是常见的消化道恶性肿瘤, 据统计, 大肠癌在恶性肿瘤发病率中居于第4位, 癌症病死率中占第2位<sup>[1]</sup>。近20年来大肠癌的发病率在逐年增加, 同时其发病年龄日渐趋向年轻化<sup>[2]</sup>。目前对于其发病机制的研究主要围绕在遗传因素的改变和一些细胞因子的产生上<sup>[3-5]</sup>。

白细胞介素16 (IL-16) 是一种前炎症因子, 其与白细胞介素 (IL) 1、6、8、11、17 和肿瘤坏死因子 (TNF) 等被命名为慢性炎症因子<sup>[6]</sup>, 这些细胞因子可引起全身或组织特异性炎症, 其机制可能是上述细胞因子浓度的变化可影响组织固有细胞如巨噬细胞和上皮细胞等, 从而出现组织炎症反应<sup>[7]</sup>。IL-16 的编码基因位于人第15号染色体长臂15q26.3, 全长17 kb, 包括8个外显子区域<sup>[8-9]</sup>。近来一些研究<sup>[10-11]</sup>将目光聚焦在前炎症因子与癌症的关系上, 并得出这些炎症因子在肿瘤微环境中可影响到结肠与直肠上皮细胞的改变, 在肿瘤的发生发展中可能起到极其重要的作用。已有研究<sup>[12]</sup>显示, 在IL-16基因的编码调控区中, 存在有多个多态性位点, 它们可以影响IL-16的转录, 从而造成个体的差异性。

目前, 关于IL-16的多态性与大肠癌关系的研究在中国人群中还缺乏相关的数据报道。本研

究选取IL-16的2个SNP位点 (rs11556218、rs4778889) 作为研究对象, 来探讨其与大肠癌发病风险的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

从2010年1月—2011年12月, 收集山东省济宁市第一人民医院普外科、济宁医学院附属医院普外科大肠癌患者164例, 其中男92例, 女72例, 男女比例为1.28:1; 平均年龄56.3岁。121例健康对照为我院自愿献血的职工, 男性65例, 女性56例, 男女比例为1.16:1; 平均年龄49.6岁, 所有健康对照者均无胃肠道疾病的家族史。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 DNA的提取** 取乙二胺四乙酸 (EDTA) 抗凝血液4 mL, 分离单个核细胞后, 蛋白酶K消化, 盐析法提取、纯化DNA, 待用。

**1.2.2 IL-16的SNP位点 (rs11556218、rs4778889) 的基因型检测** 采用放大阻碍突变PCR (ARMS-PCR) 法检测, 根据Gao等<sup>[13]</sup>报道的引物序列, 委托上海英骏生物公司负责合成。引物序列见表1 (附内对照引物序列)。

表1 SNP位点的引物序列

Table 1 Primer sequences for SNP sites

SNP位点	引物序列	产物长度
rs11556218	上游引物: 5'-GCTCAGGTCACAGAGTGTTCATA-3' 下游引物: 5'-TGTGACAATCACAGCTTGCCTG-3'	171 bp
rs4778889	上游引物: 5'-CTC CAC ACT CAA AGC CTT TTG TTC CTA TGA-3' 下游引物: 5'-ATA CAC GCT GGT TCC TTC TGT-3'	280 bp
内对照	上游引物: 5'-TGC CAA GTG GAG CAC CCA A-3' 下游引物: 5'-GCA TCT TGC TCT GTG CAG AT-3'	796 bp

**1.2.3 PCR反应条件** 反应体积10 μL。取100 ng模板DNA, 分别加入1 μL 10×buffer, 0.2 μL 10 mmol/L dNTPs, 1 μL 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 目的基因上下游引物各5 pmol, 上下游内对照引物各0.6 pmol, Taq酶0.5 U, 加无菌双蒸水补足反应体系。扩增条件为: 95℃ 3 min, 95℃ 1 min, 58℃ 50 s, 72℃ 1 min, 30个循环; 72℃延伸5 min,

PCR反应结束。

**1.2.4 结果分析** 取PCR反应产物8 μL, 经2%琼脂糖凝胶电泳后采用凝胶成像系统成像显示结果。当出现1条目的条带时, 视为纯合子; 出现2条目的条带时, 视为杂合子。为检验反应产物的可靠性, 对部分产物进行了基因测序。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件进行  $\chi^2$  检验, 并作连续性校正或 Fisher's 精确检验。多项比较时用 Bonferroni 法校正  $P$  值, 即  $P_c = P \times$  所比较的等位基因或基因型数目。 $P_c < 0.05$  时确认有统计学差异; 基因型分布进行 Hardy-Weinberg (HWE) 遗传平衡检验; 计算各等位基因的比值比 (odds ratio, OR) 及双侧 95% 可信区间 (95% CI)。

## 2 结果

### 2.1 rs11556218 与 rs4778889 位点基因多态性的 PCR 结果

由 rs11556218 的引物扩增的产物长度为 171 bp, 出现在不同的基因样本中。内对照产物为 796 bp, 出现在所有样本中 (图 1)。

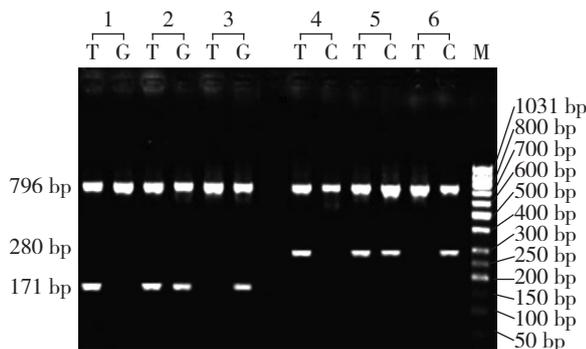


图 1 rs11556218 与 rs4778889 位点的不同基因型 PCR 检测产物的电泳图 1: rs11556218 (TT) 纯合基因型; 2: rs11556218 (TG) 杂合基因型; 3: rs11556218 (GG) 纯合基因型; 4: rs4778889 (TT) 纯合基因型; 5: rs4778889 (TC) 杂合基因型; 6: rs4778889 (CC) 纯合基因型; M: 50 bp DNA 梯带

Table 1 Electrophoretogram of PCR products of the different genotypes of rs11556218 and rs4778889

- 1: Homozygous (TT) genotype of rs11556218;
- 2: Heterozygous (TG) genotype of rs11556218;
- 3: Homozygous (GG) genotype of rs11556218;
- 4: Homozygous (TT) genotype of rs4778889;
- 5: Heterozygous (TC) genotype of rs4778889;
- 6: Homozygous (CC) genotype of rs4778889;
- M: Generuler 50 bp DNA Ladder

### 2.2 rs11556218 与 rs4778889 位点的等位基因和基因型频率及 HME 检验

对 164 例 CRC 患者及 121 名正常对照逐一进行基因分型, 每个标本均得到确切的分型结果。为了研究基因型分布差异的来源, 对单个基因型数据

进行  $2 \times 2 \chi^2$  检验, 发现在 CRC 组 T/G 基因型频率明显高于对照组 ( $P < 0.05$ )。CRC 组与对照组的 HME  $\chi^2$  检验结果表明具有群体代表性 ( $P > 0.05$ )。

### 2.3 rs11556218 与 rs4778889 位点与 CRC 的关系分析

$\chi^2$  检验结果显示, 在 CRC 患者中, rs11556218 的等位基因频率和基因型频率与对照组的差异均有统计学意义 ( $P = 0.021725$ ,  $P = 0.001033$ ), 提示 rs11556218 与 CRC 存在相关性。rs4778889 的等位基因频率和基因型频率在 CRC 组与对照组间均无统计学差异 ( $P = 0.057946$ ,  $P = 0.064229$ ) (表 2)。

表 2 CRC 组和对照组中 rs11556218 与 rs4778889 位点的等位基因频率和基因型分布

Table 2 The allele frequencies and distributions of rs11556218 and rs4778889 in CRC group and control group

SNP 位点	CRC 组 (%)	对照组 (%)	$\chi^2$	P	OR (95% CI)
rs11556218 基因型					
T/T	22 (13.4)	38 (31.4)	13.7514	0.001033	—
T/G	118 (72.0)	67 (55.4)			
G/G	24 (14.6)	16 (13.2)			
等位基因					
T	162 (49.4)	143 (59.1)	5.2677	0.021725	1.480 (1.058~2.070)
G	166 (50.6)	99 (40.9)			
rs4778889 基因型					
C/C	124 (75.6)	76 (62.8)	5.4096	0.064229	—
C/T	35 (21.3)	40 (33.1)			
T/T	5 (3.1)	5 (4.1)			
等位基因					
C	283 (86.3)	192 (79.3)	4.8314	0.057946	1.638 (1.052~2.549)
T	45 (13.7)	50 (20.7)			

## 3 讨论

CRC 的病因目前尚未完全阐明, 一些研究<sup>[14-15]</sup>认为细胞因子基因的改变在 CRC 的发病中占有重要作用。本研究通过分析 IL-16 基因 rs11556218、rs4778889 位点基因多态性与 CRC 之间的关系, 来探讨 IL-16 在 CRC 发病中的作用。结果发现, rs11556218 的 T/G 基因型的频率在 CRC 患者组明显高于正常对照组, 提示 rs11556218 与 CRC 发病的易感性密切相关。

已知 IL-16 是一种多功能的细胞因子, 参与了多种炎症性疾病与肿瘤的发生与发展<sup>[13, 16]</sup>。究其原因可能与下述因素有关。一方面, IL-16 作为一种先导因子, 可以刺激多种前炎症因子如

TNF- $\alpha$ , IL-1b, IL-6等单核因子的产生,这些因子的失调则可以参与肿瘤的发生发展;另一方面,IL-16作为T细胞活化的调节因子,同时也可以调节外周血中的单核细胞及其亚群。已有研究<sup>[17]</sup>证实,IL-16能够诱导肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )的表达,而前炎症因子TNF- $\alpha$ 在细胞的生存与凋亡中具有重要的作用已被公认,因此这一现象进一步证明IL-16在肿瘤的发生与发展中确实具有一定的作用。

另外,IL-16的基因多态性还参与了多种炎症性疾病与自身免疫性疾病的发生。有研究<sup>[18,18]</sup>证实在中国人群中,rs11556218 T/G和rs4778889 T/C的基因多态性与系统性红斑狼疮(SLE)的发病易感性相关;rs4778889 T/C的基因多态性可以增加Graves病的疾病易感性。另有研究<sup>[13]</sup>证实,rs11556218 T/G基因多态性可增加胃癌的发病风险率。结合以上结果,提示IL-16的基因多态性参与了包括CRC在内的多种炎症性疾病与肿瘤的发病机制。

在本实验中,rs4778889 T/C等位基因在两组比较中无统计学差异,这一结果与Azimzadeh等<sup>[19]</sup>的研究结果有差异,可能的原因有:(1)IL-16基因多态性分布具有种族和地区差异;(2)对照组选择及标本量不同。因此,为了更好的阐明IL-16基因多态性与CRC的相关性,进行大量标本中国人群的研究是十分必要的。

## 参考文献

- Moghim-Dehkordi B, Safae A, Zali MR. Prognostic factors in 1,138 Iranian colorectal cancer patients[J]. *Int J Colorectal Dis*, 2008, 23(7):683-688.
- 杨伟明,赵洪远,王超宇,等. 大肠癌肿瘤浸润CD4和CD8 T淋巴细胞的表达与预后的关系[J]. *中国普通外科杂志*, 2011, 20(10):1062-1066.
- Lubbe SJ, Pittman AM, Matijssen C, et al. Evaluation of germline Bmp4 mutation as a cause of colorectal cancer[J]. *Hum Mutat*, 2011, 32(1): E1928-E1938.
- Grivennikov SI, Karin M. Inflammatory cytokines in cancer: tumour necrosis factor and interleukin 6 take the stage[J]. *Ann Rheum Dis*, 2011, 70(Suppl 1):i104-108.
- Klampfer L. Cytokines, inflammation and colon cancer[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2011, 11(4):451-464.
- Aukrust P, Gullestad L, Ueland T, et al. Inflammatory and anti-inflammatory cytokines in chronic heart failure: potential therapeutic implications[J]. *Ann Med*, 2005, 37(2):74-85.
- Fantini MC, Pallone F. Cytokines: from gut inflammation to colorectal cancer[J]. *Curr Drug Targets*, 2008, 9(5):375-380.
- Gu XJ, Cui B, Zhao ZF, et al. Association of the interleukin (IL)-16 gene polymorphisms with Graves' disease[J]. *Clin Immunol*, 2008, 127(3):298-302.
- Bannert N, Vollhardt K, Asomuddinov B, et al. PDZ Domain-mediated interaction of interleukin-16 precursor proteins with myosin phosphatase targeting subunits[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(43):42190-42199.
- Sheu BC, Chang WC, Cheng CY, et al. Cytokine regulation networks in the cancer microenvironment[J]. *Front Biosci*, 2008, 13:6255-6268.
- Rakoff-Nahoum S. Why cancer and inflammation?[J]. *Yale J Biol Med*, 2006, 79(3/4):123-130.
- Yilmaz V, Yentür SP, Saruhan-Direskeneli G. IL-12 and IL-10 polymorphisms and their effects on cytokine production[J]. *Cytokine*, 2005, 30(4):188-194.
- Gao LB, Rao L, Wang YY, et al. The association of interleukin-16 polymorphisms with IL-16 serum levels and risk of colorectal and gastric cancer[J]. *Carcinogenesis*, 2009, 30(2):295-299.
- Ramensky V, Bork P, Sunyaev S. Human non-synonymous SNPs: server and survey[J]. *Nucleic Acids Res*, 2002, 30(17):3894-3900.
- Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(5):1175-1183.
- Izkowitz SH, Yio X. Inflammation and cancer IV. Colorectal cancer in inflammatory bowel disease: the role of inflammation[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2004, 287(1): G7-G17.
- van Horssen R, Ten Hagen TL, Eggermont AM. TNF-alpha in cancer treatment: molecular insights, antitumor effects, and clinical utility[J]. *Oncologist*, 2006, 11(4):397-408.
- Xue H, Gao L, Wu Y, et al. The IL-16 gene polymorphisms and the risk of the systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Chim Acta*, 2009, 403(1/2):223-225.
- Azimzadeh P, Romani S, Mohebbi SR, et al. Interleukin-16 (IL-16) gene polymorphisms in Iranian patients with colorectal cancer[J]. *J Gastrointest Liver Dis* December, 2011, 20(4):371-376.

(本文编辑 宋涛)

本文引用格式:韩捷,王宇飞,孔宪刚,等.白细胞介素16基因多态性与大肠癌发病风险的关系[J].中国普通外科杂志,2014,23(4):504-507. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.04.020

Cite this article as: HAN J, WANG YF, KONG XG, et al. Relationship between interleukin 16 polymorphism and risk of colorectal cancer[J]. *Chin J Gen Surg*, 2014, 23(4):504-507. doi: 10.7659/j.issn.1005-6947.2014.04.020