

## IL-23R 基因单核苷酸多态性与肝癌预后的关系<sup>①</sup>

覃彦平<sup>1</sup>, 曹昭<sup>2</sup>, 覃锦耀<sup>2</sup>, 林观凤<sup>3</sup>, 吴君荣<sup>2</sup>

1. 广西柳州市红十字会医院检验科, 广西 柳州 545001 E-mail: 1227143070@qq.com;
2. 广西医科大学第一附属医院检验科, 广西 南宁 530021;
3. 广西柳州市红十字会医院放射科, 广西 柳州 545001)

**摘要:** **目的** 探讨 IL-23R 基因单核苷酸多态性与肝癌手术治疗患者预后的关系。**方法** 采用 PCR-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 法检测 68 例肝癌患者 IL-23R 基因 rs17375018 及 rs11805303 位点单核苷酸多态性基因型并分析其与预后的关系。**结果** 这两个位点在年龄、病理分级、复发及存活与否分组中的基因型分布频率比较差异均无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 在性别分组间 rs17375018 位点多态性分布频率比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), rs11805303 位点性别分组间比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 其男、女性患者高比例基因型分别为: CT 型、CC 型。**结论** IL-23R 基因单核苷酸多态性可能与肝癌术后患者生存状况无关。

**关键词:** 白细胞介素-23 受体; 肝肿瘤; 术后复发; 生存率

**中图分类号:** R392.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-5817(2015)01-0020-03  
doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2015.01.007

### Association between single nucleotide polymorphism of IL-23R gene and prognosis of hepatocellular carcinoma

Qin Yanping<sup>1</sup>, Cao Zhao<sup>2</sup>, Qin Jinyao<sup>2</sup>, Lin Guanfeng<sup>3</sup>, Wu Junrong<sup>2</sup>

1. Department of Clinical Laboratory Medicine, Liuzhou Red Cross Hospital, Liuzhou 545001, Guangxi, China E-mail: 1227143070@qq.com;
2. Department of Clinical Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi, China;
3. Department of Radiology, Liuzhou Red Cross Hospital, Liuzhou 545001, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** To study the relationship between the single nucleotide polymorphism of IL-23R gene and post-operative prognosis of hepatocellular carcinoma. **Methods** PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method was applied to determine the genotypes of IL-23R gene (rs17375018 and rs11805303 loci) in 68 patients with hepatocellular carcinoma and the relationship between the genotypes and prognosis of the patients were analyzed. **Results** There were no statistically differences in comparison of genotype frequency distribution of the two gene loci at different age, different pathological grading, with or without recurrence and survival or not groups ( $P > 0.05$ ); there were also no significant differences in the distribution frequency of rs17375018 loci between sex groups ( $P > 0.05$ ), but the comparison of distribution frequency of rs11805303 site yielded significant differences between sex groups ( $P < 0.05$ ). The high proportion of gene type in male and female patients were CT type and CC type, respectively. **Conclusion** The single nucleotide polymorphism of IL-23R gene may have no association with the postoperative life quality of hepatocellular carcinoma.

**Key words:** interleukin-23 receptor; liver neoplasms; post-operative recurrence; survival rate

肝癌是广西常见的恶性肿瘤,其发病率、致死率极高。手术治疗是常用的根治性治疗方法,但术后肿瘤复发是影响患者长期生存的关键因素。研究者已发现白细胞介素-23受体(interleukin-23 receptor; IL-23R)基因单核苷酸多态性与肝癌发病相关<sup>[1-4]</sup>,然而

IL-23R 基因单核苷酸多态性对肝癌预后作用的相关研究未见报道。因此,本课题组针对 68 例手术治疗的肝癌患者进行 IL-23R 基因 rs17375018 及 rs11805303 位点单核苷酸多态性与预后关系的研究,探讨 IL-23R 基因对肝癌预后的影响。

① 基金项目:广西壮族自治区卫生厅自筹经费科研课题(Z2012548)

1 对象与方法

1.1 研究对象 研究对象均为 2012 年 7~12 月在广西医科大学第一附属医院住院的未经化疗、放疗的广西地区肝癌手术治疗患者。入选对象均为根据患者病史及临床表现,CT、MRI 等影像学检查结果阳性,或血清 AFP>400 μg/L,或肝脏细胞学检查及肿瘤标本病理诊断符合原发性肝癌的患者。其中,68 例有完整随访资料的患者纳入本研究。男 58 例,女 10 例,年龄 24~69 岁,平均年龄(46.4±11.4)岁。

1.2 研究方法

1.2.1 提取 DNA 抽取患者静脉血 2 ml 并用 EDTA 抗凝,采用苯酚-氯仿法提取 DNA 后置于 -20℃ 冰箱备测。

1.2.2 采用 PCR-RFLP 方法检查基因型 引物由上海生工生物科技有限公司合成,rs17375018 位点引物序列上游为:5' - AGTAATTATTCTAGTT-GATAACT-3',下游为:5' - AATAAAAGT-GAATGTTCTCCTCT-3';rs11805303 位点引物序列上游为:5' - TATGCTTGAAA-CAGAGAACTGTTTCTT-3',下游为:5' - CA-CAGAATACTTAAATTTTTTATCC-3'。采用 DA-7300 PCR 分析仪进行扩增。PCR 反应体系为 25 μl,包括基因组 DNA 2.0 μl,两种引物(1.0 μmol/L)各 1 μl,Dream Taq™ Green PCR Master Mix

(2x) 12.5 μl,余用灭菌去离子水补足。两个位点 PCR 反应循环参数一致:95℃ 预变性 2 min,95℃ 变性 20 s,52℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,35 个循环,72℃ 延伸 10 min。采用 Fermentas 公司生产的 PCR 反应试剂及限制性内切酶。酶切反应体系为:PCR 产物 10 μl,限制性内切酶(10 U/μl)1 μl,反应缓冲液 2 μl,余用灭菌去离子水补足,37℃ 酶切过夜。内切酶分别为 Hae3 和 Dra1。将酶切产物与 DNA marker 同步琼脂糖凝胶电泳,观察基因型。

1.2.3 DNA 测序 由上海生工生物有限公司进行抽样测序验证,酶切结果与测序结果相吻合。

1.3 统计学方法 基因型频率及生存率采用直接计数法统计。计数资料的比较采用 χ² 检验和 Fisher 精确概率法。所有统计分析采用 SPSS 16.0 软件处理,以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

肝癌根治术后患者 IL-23R 基因 rs17375018 及 rs11805303 位点单核苷酸多态性分布频率及生存率详见表 1。rs17375018 位点在年龄、性别、病理组织学、复发及存活与否分组间的分布频率比较差异均无统计学意义(P>0.05);rs11805303 位点除了在男女性别间多态性分布频率比较差异有统计学意义(P<0.05)外,其它各组间比较差异均无统计学意义(P>0.05)。

表 1 IL-23R 基因 SNP 与肝癌根治术后患者各临床参数及预后的关系

变量	n	rs17375018 基因型(n,%)			χ²	P	rs11805303 基因型(n,%)			χ²	P
		GG	GA	AA			CC	CT	TT		
总例数	68	32(47.06)	30(44.12)	6(8.82)			18(26.47)	36(52.94)	14(20.59)		
年龄					0.611	0.737				1.960	0.375
>50	25	12(48.00)	10(40.00)	3(12.00)			9(36.00)	11(44.00)	5(20.00)		
≤50	43	20(46.51)	20(46.51)	3(6.98)			9(20.93)	25(58.14)	9(20.93)		
性别					0.958	0.682				9.629	0.008
男	58	26(44.83)	26(44.83)	6(10.35)			13(22.41)	35(60.34)	10(17.24)		
女	10	6(60.00)	4(40.00)	0(0.00)			5(50.00)	1(10.00)	4(40.00)		
病理分级 <sup>a</sup>					5.913	0.052				1.551	0.460
I+II	40	23(57.50)	15(37.50)	2(5.00)			11(27.50)	23(57.50)	6(15.00)		
III+IV	21	6(28.57)	11(52.38)	4(19.05)			5(23.81)	10(47.62)	6(28.57)		
复发					1.242	0.621				0.820	0.630
是	15	9(60.00)	5(33.33)	1(6.67)			5(33.33)	8(53.33)	2(13.33)		
否	53	23(43.40)	25(47.17)	5(9.43)			13(24.53)	28(52.83)	12(22.64)		
存活情况 <sup>b</sup>					0.646	1.000				1.660	0.417
是	65	30(46.15)	29(44.62)	6(9.23)			18(27.69)	33(50.77)	14(21.54)		
否	3	2(66.67)	1(33.33)	0(0.00)			0(0.00)	3(100.00)	0(0.00)		
生存率(%)		93.75	96.67	100.00			100.00	91.67	100.00		

注:a:61 份病例有病理组织学分级;b:术后存活>18 个月

3 讨论

研究发现许多患者发病基础以及治疗条件相似,但由于患者个体基因多态性的差异性导致疾病预后各不相同<sup>[5]</sup>。基因多态性不仅与肿瘤的发生、发展相关,还影响治疗后的疾病复发率、生存率。炎症细胞因子 IL-23R 为膜表面蛋白受体,属于促红细胞生成素受

体超家族成员,是 IL-23 受体复合物的一个亚基。IL-23R 与多种免疫性疾病、癌症等的发病有关<sup>[4-8]</sup>,其作用是 IL-23 发挥其生物学效用的传导器。IL-23 在肝癌组织中显著高表达,并参与肝癌血管的形成<sup>[9]</sup>。IL-23R 还能诱导 TH 细胞分化,促使 IL-17、IL-10 等炎症细胞因子的大量分泌<sup>[10]</sup>。其中 IL

—17 可促进肝癌血管生长致使肿瘤向肝外器官侵袭<sup>[11]</sup>,且与术后复发密切相关<sup>[12]</sup>;IL-10 则可参与大鼠肝癌免疫微环境的免疫抑制调节作用<sup>[13]</sup>。

本课题组前期已对 IL-23R 基因单核苷酸多态性与肝癌的相关性进行了研究<sup>[2-4]</sup>,本次在前期研究的基础上针对其中的 68 例肝癌根治术后患者分析其预后与 IL-23R 基因单核苷酸多态性的关系,发现 IL-23R 基因 rs17375018 及 rs11805303 位点基因单核苷酸多态性频率分布与年龄、病理组织学分级、复发及存活与否均无关;在性别组间 rs17375018 位点多态性频率分布差异无统计学意义( $P < 0.05$ ),rs11805303 位点则反之,男性患者 CT 型占多数,女性患者为 CC 型最多。68 例患者中 3 例死于复发,均为男性。其中 rs17375018 位点携带 GG 型者 2 例,GA 型者 1 例;全部为 rs11805303 位点携带 CT 型者;病理组织学分级则为 III+IV 级 2 例, I+II 级 1 例。12 例复发后存活,以 rs17375018 位点携带 GG 型及 rs11805303 位点携带 CT 型者复发率高。53 例存活且无复发,rs17375018 位点携带 AG 型存活且无复发肝癌患者 25 例,较携带 GG 或 AA 型者多;与携带 CC 或 TT 型者比较,rs11805303 位点携带 CT 型存活且无复发肝癌患者最多,为 28 例。携带 rs17375018 位点 GG 型及 rs11805303 位点 CT 型肝癌患者的 18 个月生存率最低,分别为 93.75% 和 91.67%。

总之,本次对广西肝癌人群 IL-23R 基因单核苷酸多态性与肝癌根治术后患者预后的研究证实了 IL-23R 基因单核苷酸多态性与术后患者生存状况可能无关。由于样本量、不同种族或人群地域差异等因素不同都会影响研究结果。因此,要全面了解 IL-23R 基因单核苷酸多态性对肝癌预后的影响,尚需进行不同人群、大样本的研究。

#### 参考文献:

[1] Xu YI, Liu Y, Pan S, et al. IL-23R polymorphisms, HBV infection, and risk of hepatocellular carcinoma in a high-risk Chinese population [J]. J Gastroenterol, 2013, 48(1):125-131.

- [2] Peng Q, Qin Y, Chen Z, et al. Correlation between interleukin-23 receptor gene polymorphisms and risk of hepatitis B virus infection in patients [J]. Mol Med Rep, 2013, 8(2):613-20.
- [3] 覃彦平, 秦雪. 白介素-23R 基因多态性与肝癌易感性研究[J]. 重庆医学, 2012, 30(41): 3138-3140.
- [4] 覃彦平, 秦雪, 曹昭, 等. IL-23R rs17375018 单核苷酸多态性与广西肝癌人群相关性分析[J]. 广东医学, 2014, 35(5):674-676.
- [5] 徐小波, 吴李鸣, 沈炬伟, 等. MDR1 基因多态性对肝癌肝移植预后的作用研究[J]. 中国病理生理杂志, 2008, 24(3):476-480.
- [6] Chen C, Zhang X, Li J, et al. Associations of IL-23R polymorphisms with ankylosing spondylitis in East Asian population: a new case-control study and a meta-analysis[J]. Int J Immunogenet, 2012, 39(2): 126-130.
- [7] Yu P, Shen F, Zhang X, Cao R, et al. Association of single nucleotide polymorphisms of IL-23R and IL-17 with ulcerative colitis risk in a Chinese Han population [J]. PLoS One, 2012, 7(9):e44380.
- [8] Poole EM, Curtin K, Hsu L. Genetic variability in IL23R and risk of colorectal adenoma and colorectal cancer[J]. Cancer Epidemiol, 2012, 36(2): e104-10.
- [9] 杜君, 刘立国, 张昆, 等. 肝癌患者白介素-23 与血管内皮生长因子表达相关性研究[J]. 中国医刊, 2013, 4(28): 20-22.
- [10] Wendling D, Cedoz JP, Racadot E. Serum and synovial fluid levels of P40 IL12/23 in spondyloarthritis patients [J]. Clin Rheumatol, 2009, 28(2): 187-190.
- [11] Gu FM, Gao Q, Shi GM, et al. Intratumoral IL-17 cells and neutrophils show strong prognostic significance in intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. Ann Surg Oncol, 2012, 19(8):2506-2514.
- [12] 武敬, 雷云鹏, 林晓华. 肝癌手术患者血清炎症细胞因子浓度与预后关系的研究[J]. 临床外科杂志, 2013, 21(8): 608-611.
- [13] 张志强, 贺杰峰, 张瑜等. 大鼠肝癌免疫微环境中 Treg 与 IL-10 水平的变化及意义[J]. 当代医学, 2014, 20(8):18-19.

收稿日期:2014-11-24;修回日期:2014-12-16