

长链非编码基因 PRNCR1 遗传多态性与胃癌的易感性

杨小兵¹, 王劲松¹, 周 璘², 潘 超^{2*}

¹南京医科大学附属南京医院病理科, ²普外科, 江苏 南京 210006)

[摘要] **目的:**探讨 LncRNA PRNCR1 (prostate cancer non-coding RNA 1) 相关的 4 个基因多态性位点与胃癌发病风险及病理特征的相关性。**方法:**研究纳入 300 例经病理确诊的胃癌患者和 300 例健康者进行病例对照研究; 基因分型采用 Mass-array 基因分析平台完成; 采用酶联免疫吸附实验(ELISA)检测幽门螺杆菌(*H. pylori*)感染状态。**结果:**LncRNA PRNCR1 rs16901946 位点的基因型分布在对照组及病例组中有显著性差异($P=0.018$)。与野生型 AA 基因型相比, rs16901946 位点 AG 基因型(AG vs. AA: 校正后 OR=1.41, 95%CI: 1.00~1.98, $P=0.048$)、GG 基因型(GG vs. AA: 校正后 OR=2.57, 95%CI: 1.15~5.75, $P=0.022$)及 AG/GG 基因型(AG/GG vs. AA: 校正后 OR=1.51, 95%CI: 1.09~2.09, $P=0.014$)的胃癌相对发病风险较高。亚组分析显示, 该位点在男性(AG/GG vs. AA: 校正后 OR=1.82, 95%CI: 1.23~2.69, $P=0.003$)、在 *H. pylori* 感染人群(AG/GG vs. AA: 校正后 OR=1.83, 95%CI: 1.16~2.89, $P=0.009$)发病风险相对较高。对肿瘤病理特征进行亚组分析显示, 该位点与贲门癌的发病风险相关(AG/GG vs. AA: 校正后 OR=1.58, 95%CI: 1.10~2.28, $P=0.011$)、早期胃癌风险相关(AG/GG vs. AA: 校正后 OR=1.88, 95%CI: 1.18~2.98, $P=0.008$)。**结论:**LncRNA PRNCR1 rs16901946 的遗传多态性位点与胃癌发病风险相关, 在男性及 *H. pylori* 感染阳性人群中的相对风险高。

[关键词] 胃癌; LncRNA PRNCR1; 基因多态性

[中图分类号] R735.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)11-1520-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20181107

Association of genetic variations of LncRNA PRNCR1 and risk of gastric cancer

Yang Xiaobing¹, Wang Jingsong¹, Zhou Jin², Pan Chao^{2*}

¹Department of Pathology, ²Department of General Surgery, Nanjing Hospital Affiliated to NMU, Nanjing 210006, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the susceptibility of four genetic variations of prostate cancer non-coding RNA 1 (LncRNA PRNCR1) to the risk and pathological characteristics of gastric cancer. **Methods:** A total of 300 gastric cancer cases and 300 health controls were enrolled in this case-control study. The Mass-array gene analysis platform was applied to genotype the enrolled participants. Enzyme-linked immunosorbent assay was used to detect the *H. pylori* infection. **Results:** There were significant differences of LncRNA PRNCR1 rs16901946 genotypes distribution between the cases and the control group ($P=0.018$), and the AG ($OR_{adjusted}=1.41$, 95%CI: 1.00-1.98, $P=0.048$), GG ($OR_{adjusted}=2.57$, 95%CI: 1.15-5.75, $P=0.022$) and AG/GG genotype ($OR_{adjusted}=1.51$, 95%CI: 1.09-2.09, $P=0.014$) were associated with increased risk of gastric cancer, respectively. The results of subgroup analysis showed that LncRNA PRNCR1 rs16901946 was associated with the risk of gastric cancer in the subgroup of male (AG/GG vs. AA: $OR_{adjusted}=1.82$, 95%CI: 1.23-2.69, $P=0.003$), and individuals with *H. pylori* infection (AG/GG vs. AA: $OR_{adjusted}=1.83$, 95%CI: 1.16-2.89, $P=0.009$). In addition, LncRNA PRNCR1 rs16901946 was associated with risk of cardia cancer (AG/GG vs. AA: $OR_{adjusted}=1.58$, 95%CI: 1.10-2.28, $P=0.011$). Similarly it was associated with risk of gastric cancer in clinical stage T1-T2 (AG/GG vs. AA: $OR_{adjusted}=1.88$, 95%CI: 1.18-2.98, $P=0.008$) but not in T3-T4. **Conclusion:** This study indicates that LncRNA PRNCR1 rs16901946 is associated with the increased risk of gastric cancer, especially for male and individuals with *H. pylori* infection.

[Key words] gastric cancer; LncRNA PRNCR1; polymorphism

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(11): 1520-1524]

[基金项目] 南京医科大学科技发展基金重点项目(2017NJMUZD097)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: plt308@163.com

我国是胃癌高发地区,全球新发的胃癌病例约有一半来自中国^[1]。在中国人群中,胃癌发病率在所有肿瘤中排第2位^[2]。流行病学及基础研究显示胃癌是一个多因素参与的慢性病理过程。研究显示胃癌的发病与环境因素和遗传因素及二者交互作用有关。其中定植于胃部的幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)被列为I类致癌因素^[3]。遗传因素也是导致个体胃癌易感的重要原因^[4],近年来基因组关联研究鉴定了一些胃癌的易感基因,为胃癌的预防及发病机制研究提供了线索^[5]。研究显示染色体8q24区域的非编码RNA区域的遗传多态性与肿瘤易感性相关,其中非编码RNA PRNCR1(prostate cancer non-coding RNA 1)与前列腺癌^[6]、胃癌^[7]及肠癌^[8]相关。研究表明,非编码RNA母本区域的遗传多态性对非编码RNA的功能发挥有着显著影响^[9-10],LncRNA PRNCR1编码区域存在遗传多态性位点,与肿瘤发病风险有潜在关联^[11-12]。本研究拟采用病例对照研究探讨LncRNA PRNCR1编码区域的遗传多样性与胃癌发病风险及病理特征的相关性,为胃癌发病风险及相关机制研究提供流行病学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

研究招募南京医科大学附属南京医院于2010年1月—2016年10月经临床和病理诊断为胃癌的患者300例设为病例组。同时间招募来医院健康体检的正常人群,其体检结果正常,且无消化道疾病史,无慢性疾病史、无肿瘤家族史,与病例组性别及年龄匹配共计300例设为对照组。样本收集取得相关人员的知情同意,研究获得医院伦理委员会批准。受试者均抽取肝素抗凝的静脉血,分离血浆与全血冻存于-80℃,用于后续检测。

DNA提取采用磁珠法(试剂盒购自西安金磁纳米生物技术有限公司);PCR扩增仪GeneAmp PCR System 9700型(ABI公司,美国)。蛋白核酸检测仪为NanDrop2000c(Thermo公司,美国);基因分型采用MassARRAY平台(Sequenom公司,美国);PCR扩增所用引物(上海生工生物工程股份有限公司);幽门螺杆菌检测试剂盒(上海润裕生物科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 样本DNA提取

所有受试者取抗凝全血3 mL,离心吸取血浆后,剩余全血用于基因组DNA提取,提取过程按照说明书步骤进行,DNA提取后,采用蛋白核酸检测

仪检测纯度与浓度后用于后续实验。

1.2.2 多态性位点的选择与分析

通过NCBI数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>)获取基因遗传多态性位点信息,选择位于LncRNA PRNCR1编码区或邻近区域且已报道与肿瘤有潜在相关性的位点。选择位点的中国人群最小等位基因频率(minor allele frequency, MAF) >0.05 。以Hapmap中的中国人群MAF、位点的相对风险系数及75%可接受度,确定研究所需样本量。纳入受试者的基因分型采用MassARRAY平台完成,随机选取15%的样本进行重复检测,结果可靠。

1.3 统计学方法

用SPSS11.0及SAS软件进行统计学分析。计数资料用例数、百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立 t 检验。采用 χ^2 检验进行Hardy-Weinberg平衡分析(HWE)对照组的各多态性位点的基因型。采用二分类因变量Logistic回归分析各位点与胃癌发病风险的关系,以风险比(odds ratio, OR)及95%可信区间(CI)表示相对风险度, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象的基本特征

本研究纳入胃癌病例及健康对照各300例,2组样本的基本资料如表1所示。2组年龄差异没有统计学意义($t=1.670, P=0.197$)。此外,2组的性别($\chi^2=1.597, P=0.206$)、饮酒($\chi^2=0.021, P=0.884$)、吸烟($\chi^2=1.098, P=0.295$)比例差异均没有统计学意义。病例组*H. pylori*感染率(56.33%)显著高于对照组(47.00%),差异有统计学意义($\chi^2=5.232, P=0.022$)。病例组依胃癌的病理特征进行分期显示,92例(30.67%)为贲门癌,208例(69.33%)为非贲门癌;临床分期T1~T2期99例(33.00%),T3~T4期为201例(67.00%)。

2.2 各基因遗传多态性位点与胃癌易感性的关系

对4个基因多态性位点的基因型在对照组的分布进行HWE检验,结果显示各位点均符合该定律($P > 0.05$),表明研究的群体具有代表性。

rs16901946位点的基因型在对照组及病例组中分布有显著性差异($P=0.018$)。其他各位点的基因型在2组中分布没有显著性差异(rs13252298, $P=0.712$;rs7463708, $P=0.861$;rs7007694, $P=0.681$)。

与rs16901946位点野生型AA基因型相比,AG基因型(校正后OR=1.41, 95% CI: 1.00~1.98, $P=$

表1 病例组及健康对照组的基本资料

Table 1 Clinical characteristics of cases and controls

分组	病例组(n=300)	对照组(n=300)	χ^2/t 值	P 值
年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	63.72 ± 11.82	64.42 ± 12.75	1.670	0.197 ^a
性别[n(%)]			1.597	0.206 ^b
男	221(73.67)	207(69.00)		
女	79(26.33)	93(31.00)		
饮酒[n(%)]			0.021	0.884 ^b
是	25(8.33)	26(8.67)		
否	275(91.67)	274(91.33)		
吸烟[n(%)]			1.098	0.295 ^b
是	51(17.00)	61(20.33)		
否	249(83.00)	239(79.67)		
<i>H. pylori</i> 感染[n(%)]			5.232	0.022 ^b
阳性	169(56.33)	141(47.00)		
阴性	131(43.67)	159(53.00)		

a: 独立样本 *t* 检验; b: 双侧 χ^2 检验。

0.048)、GG 基因型(校正后 OR=2.57, 95%CI: 1.15~5.75, *P*=0.022)及 AG/GG 基因型(校正后 OR=1.51, 95%CI: 1.09~2.09, *P*=0.014)的胃癌相对发病风险较高(表2)。

2.3 rs16901946 位点与胃癌发病风险的亚组分析

对 rs16901946 位点与胃癌发病风险进行分层分析显示,该位点与男性胃癌发病风险相关(校正后 OR=1.82, 95%CI: 1.23~2.69, *P*=0.003),而与女性发病风险没有显著相关性。在 *H. pylori* 感染人群

中,该位点与胃癌发病风险相关(校正后 OR=1.83, 95%CI: 1.16~2.89, *P*=0.009),而在无感染人群中没有显著相关性(表3)。

对肿瘤的病理特征进行亚组分析显示,该位点与贲门癌的发病风险相关(校正后 OR=1.58, 95%CI: 1.10~2.28, *P*=0.011),而非贲门癌发病风险无显著相关性(校正后 OR=1.38, 95%CI: 0.96~1.98, *P*=0.084)。此外,研究还显示,该位点与早期胃癌(T1~T2) 风险更相关(校正后 OR=1.88, 95%CI:

表2 基因多态性位点与胃癌的相关性分析

Table 2 Association of genetic variations with risk of gastric cancer

SNPs	基因型	病例组[n(%)](n=300)	对照组[n(%)](n=300)	OR (95% CI) ^a	P 值
rs16901946	AA	155(51.67)	186(62.00)	1.00	0.018 ^b
	AG	125(41.67)	104(34.67)	1.41(1.00~1.98)	0.048
	GG	20(6.67)	10(3.33)	2.57(1.15~5.75)	0.022
	AG/GG	145(48.33)	114(38.00)	1.51(1.09~2.09)	0.014
rs13252298	AA	135(45.00)	125(41.67)	1.00	0.712 ^b
	AG	133(44.33)	141(47.00)	0.85(0.60~1.21)	0.367
	GG	32(10.67)	34(11.33)	0.87(0.51~1.53)	0.665
	AG/GG	165(55.00)	175(58.33)	0.86(0.62~1.19)	0.351
rs7463708	TT	142(47.33)	138(46.00)	1.00	0.861 ^b
	GT	127(42.33)	127(42.23)	0.97(0.69~1.36)	0.843
	GG	31(10.33)	35(11.67)	0.73(0.42~1.27)	0.268
	GT/GG	158(52.67)	162(54.00)	0.92(0.66~1.27)	0.604
rs7007694	TT	154(51.33)	164(54.67)	1.00	0.681 ^b
	CT	127(42.33)	120(40.00)	1.13(0.81~1.58)	0.477
	CC	19(6.33)	16(5.33)	1.32(0.64~2.71)	0.456
	CT/CC	146(48.67)	136(45.33)	1.15(0.83~1.59)	0.403

a: 经年龄、性别、吸烟、饮酒及 *H. pylori* 感染校正后; b: 组间差异采用 χ^2 检验。

表3 rs16901946与胃癌风险的分层分析

Table 3 Stratified analysis of the rs16901946 associated with gastric cancer risk

变量	AA		AG/GG		OR (95% CI) ^a	P值
	病例	对照	病例	对照		
性别						
男	110	134	111	73	1.82(1.23~2.69)	0.003
女	45	52	34	41	1.01(0.54~1.91)	0.972
<i>H. pylori</i> 感染						
阳性	86	84	83	57	1.83(1.16~2.89)	0.009
阴性	69	102	62	57	1.11(0.68~1.81)	0.678

a:经年龄、性别、吸烟、饮酒及*H.pylori*感染校准后。

表4 rs16901946与胃癌病理特征相关性的亚组分析

Table 4 Subgroup analysis of the associated between rs16901946 and risk of gastric cancer with different pathological characteristics

基因型	对照组 (例)	肿瘤部位				临床分期			
		贲门癌		非贲门癌		T1~T2		T3~T4	
		例数	OR (95% CI) ^a	例数	OR (95% CI) ^a	例数	OR (95% CI) ^a	例数	OR (95% CI) ^a
AA	186	43	1	112	1	46	1	109	1
AG/GG	114	49	1.58(1.10~2.28)	96	1.38(0.96~1.98)	53	1.88(1.18~2.98)	92	1.36(0.94~1.97)

a:经年龄、性别、吸烟、饮酒及*H.pylori*感染校准后。

LncRNA PRNCR1可以调节细胞周期,进而促进肿瘤细胞生长^[15]。rs16901946可能影响了PRNCR1 RNA的二级结构,影响了其与靶基因的结合,进而导致肿瘤发生^[6]。而该位点与胃癌相关性亦有不同结果的报道,Li等^[7-8]在对四川人群的研究中均未发现结直肠癌及胃癌与该位点有关联。研究结果尚有争议,而近期荟萃分析结果显示该位点与肿瘤的发病风险有潜在相关性^[16]。本研究进一步分层分析显示,该位点与胃癌的相关性主要表现在性别和*H. pylori*感染,且该位点与胃癌发病风险在不同病理特征的胃癌中有较大差异。提示这些是导致分子流行病学研究结果差异的重要因素。此外,本研究纳入的是江苏人群,而Li等^[7-8]研究的是四川人群,二者可能存在生活习惯、*H. pylori*感染率等的差异,这些也可能是导致结果差异的重要原因。

本研究还通过分层分析发现,该位点与胃癌的发病风险和*H. pylori*感染相关。众所周知,*H. pylori*感染是导致胃部疾病发生、进展的重要原因。而在这一病理进程中很多分子参与其中,如炎症因子、关键信号通路的激活和细胞周期调控等。已有报道LncRNA PRNCR1可能通过影响细胞周期调控来参与肿瘤进展^[15],因此推测该分子与*H. pylori*感染可能存在潜在的交互作用而最终导致胃癌发生。

1.18~2.98, $P=0.008$,表4)。

3 讨论

本研究招募了300对胃癌及健康对照,对LncRNA PRNCR1相关的遗传多态性位点与胃癌易感性进行了探讨,结果显示rs16901946位点与胃癌发病风险相关。且该位点与胃癌的发病风险与个体性别、*H. pylori*感染及胃癌的病理特征相关。

LncRNA PRNCR1最早是在前列腺癌中被发现^[13]。rs16901946位点位于LncRNA PRNCR1的编码区,有研究报道该位点与肿瘤的发病风险相关^[14],

此外,在男性亚组中发现该分子与胃癌发病风险有关,和LncRNA PRNCR1与前列腺癌发病风险研究一致^[13]。由于胃癌异质性较大^[17],本研究对胃癌的发生部位及临床分期进行亚组分析显示,LncRNA PRNCR1 rs16901946与贲门癌及早期胃癌存在显著相关性,此结果是否提示LncRNA PRNCR1参与胃癌的病理进程存在组织特异性,有待于更多基础研究进行探讨。本研究还有一些不足之处,鉴于纳入的样本量相对较小,可能会影响到统计学效应;未对一些胃癌的易感因素,如饮食方式、生活方式、胃部疾病史加以分析和探讨。因此本研究结果还有待于更大样本量更多流行病学资料来分析确认。

综上所述,本研究结果提示LncRNA PRNCR1 rs16901946的遗传多态性位点与胃癌发病风险相关,在男性及*H. pylori*感染阳性人群中相对风险高。

[参考文献]

- [1] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108
- [2] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132
- [3] Gonzalez CA, Sala N, Rokkas T. Gastric cancer: epidemiologic aspects[J]. Helicobacter, 2013, 18(Suppl 1): 34-38
- [4] Nagini S. Carcinoma of the stomach: A review of epidemi-

- ology, pathogenesis, molecular genetics and chemoprevention[J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2012, 4(7):156-169
- [5] 许桃,何帮顺,林康,等.长链非编码RNA遗传多态性作为肿瘤标志物的研究进展[J].*南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(4):556-561
- [6] Chung S, Nakagawa H, Uemura M, et al. Association of a novel long non-coding RNA in 8q24 with prostate cancer susceptibility[J]. *Cancer Sci*, 2011, 102(1):245-252
- [7] Li L, Jia F, Bai P, et al. Association between polymorphisms in long non-coding RNA PRNCR1 in 8q24 and risk of gastric cancer[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(1):299-303
- [8] Li L, Sun R, Liang Y, et al. Association between polymorphisms in long non-coding RNA PRNCR1 in 8q24 and risk of colorectal cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2013, 32(1):104
- [9] Guo H, Ahmed M, Zhang F, et al. Modulation of long non-coding RNAs by risk SNPs underlying genetic predispositions to prostate cancer [J]. *Nat Genet*, 2016, 48(10):1142-1150
- [10] Zheng J, Huang X, Tan W, et al. Pancreatic cancer risk variant in LINC00673 creates a miR-1231 binding site and interferes with PTPN11 degradation [J]. *Nat Genet*, 2016, 48(7):747-757
- [11] Huang X, Zhang W, Shao Z. Association between long non-coding RNA polymorphisms and cancer risk: a meta-analysis [J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(4):BSR20180365
- [12] Sattarifard H, Hashemi M, Hassanzarei S, et al. Association between genetic polymorphisms of long non-coding RNA PRNCR1 and prostate cancer risk in a sample of the Iranian population [J]. *Mol Clin Oncol*, 2017, 7(6):1152-1158
- [13] Yang L, Lin C, Jin C, et al. lncRNA-dependent mechanisms of androgen-receptor-regulated gene activation programs [J]. *Nature*, 2013, 500(7464):598-602
- [14] He BS, Sun HL, Xu T, et al. Association of genetic polymorphisms in the lncRNAs with gastric cancer risk in a Chinese population [J]. *J Cancer*, 2017, 8(4):531-536
- [15] Yang L, Qiu M, Xu Y, et al. Upregulation of long non-coding RNA PRNCR1 in colorectal cancer promotes cell proliferation and cell cycle progression [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(1):318-324
- [16] Chu H, Chen Y, Yuan Q, et al. The HOTAIR, PRNCR1 and POLR2E polymorphisms are associated with cancer risk: a meta-analysis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(26):43271-43283
- [17] Peleteiro B, Cavaleiro-Pinto M, Barros R, et al. Is cardia cancer aetiologically different from distal stomach cancer? [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2011, 20(2):96-101

[收稿日期] 2018-07-27

(上接第1511页)

低。用Liguzinediol干预后,CAMK II、SERCA2a、FKBP12.6和PLN功能逐渐恢复,心肌收缩力增强,缓解心脏衰竭。结合前期工作发现Liguzinediol可通过影响肌浆网对Ca²⁺的存储和释放,来实现其正性肌力作用,从而改善心功能,同时还具有水溶性好、安全性高的特点,具有广阔的开发前景。

[参考文献]

- [1] 陈磊,李伟,陈龙,等.川芎嗪仲醇类衍生物的合成及其正性肌力活性研究[J].*中国药学杂志*, 2013, 48(13):1118-1122
- [2] 刘贞兴,李伟,陈龙,等. Liguzinediol甲基替代衍生物的合成及其正性肌力活性研究[J].*中国新药与临床杂志*, 2014, 33(5):357-363
- [3] Liu Z, Li W, Wen HM, et al. Synthesis, biological evaluation, and pharmacokinetic study of novel liguzinediol prodrugs [J]. *Molecules*, 2013, 18(4):4561-4572
- [4] 郭瑶,周静,卞慧敏,等.川芎嗪衍生物liguzinediol对戊巴比妥钠致急性心力衰竭大鼠血流动力学的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(6):170-174
- [5] Garcia A. Adverse effects of propafenone after long-term

therapy with the addition of citalopram [J]. *Am J Geriatr Pharmacother*, 2008, 6(2):96-99

- [6] 李梦婷,彭成,谢晓芳.心力衰竭小型动物模型研究进展[J].*中国实验方剂学杂志*, 2018, 24(5):213-219
- [7] Luo M, Anderson ME. Mechanisms of altered Ca²⁺ handling in heart failure [J]. *Circ Res*, 2013, 113(6):690-708
- [8] Frank KF, Bölc B, Erdmann E, et al. Sarcoplasmic reticulum Ca²⁺-ATPase modulates cardiac contraction and relaxation [J]. *Cardiovasc Res*, 2003, 57(1):20-27
- [9] 孔令恒,梁飞,陈玉龙,等.钠钙交换体激活CaMK II介导大鼠离体心脏缺血再灌注损伤[J].*中南大学学报(医学版)*, 2018, 43(1):28-34
- [10] Mora MT, Ferrero JM, Romero L, et al. Sensitivity analysis revealing the effect of modulating ionic mechanisms on calcium dynamics in simulated human heart failure [J]. *PLoS One*, 2017, 12(11):e0187739
- [11] Zhang Y, Jiao L, Sun L, et al. lncRNA ZFAS1 as a SERCA2a inhibitor to cause intracellular Ca²⁺ overload and contractile dysfunction in a mouse model of myocardial infarction [J]. *Circ Res*, 2018, 122(10):1354-1368

[收稿日期] 2018-04-28