

6p21.1 和 7p15.3 基因多态性与宫颈癌发生风险的研究

许余玲¹, 金 华², 张正东³, 王适之^{1*}

(¹东南大学公共卫生学院, 江苏 南京 210009; ²南通肿瘤医院中心实验室, 江苏 南通 226000; ³南京医科大学公共卫生学院, 江苏 南京 211166)

[摘要] 目的:探讨 6p21.1 rs2494938 和 7p15.3 rs2285947 基因多态性与宫颈癌发生风险的关联性。方法:以 571 例宫颈癌患者和 657 例非宫颈癌患者(对照组)为研究对象,用 TaqMan MGB(minor groove binder)探针针对 6p21.1 rs2494938 多态位点和 7p15.3 rs2285947 多态位点进行基因分型,分析不同基因型与宫颈癌发生风险的关联性。采用非条件 Logistic 回归分析统计该多态位点与宫颈癌遗传易感的关联性,计算相对危险度的比值比(OR)及 95%置信区间(CI)。结果:rs2494938 多态位点突变型 GA 和 AA 基因型频率在病例组和对照组的分布无显著差异($P=0.848$)。rs2285947 多态位点突变型 GA 和 AA 基因型频率在病例组和对照组的分布有显著差异($P=0.028$);合并突变基因型(GA+AA)与野生型 GG 相比宫颈癌发生风险显著下降(OR=0.77, 95%CI:0.62~0.97, $P=0.025$)。结论:rs2494938 多态性与宫颈癌发生风险无显著关联,rs2285947 多态性与宫颈癌发生风险有显著关联。

[关键词] 6p21.1, 7p15.3 基因; 宫颈癌; 多态性

[中图分类号] R737.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2017)02-252-04

doi: 10.7655/NYDXBNS20170227

Two polymorphisms at 6p21.1 and 7p15.3 and the risk of cervical cancer

Xu Yuling¹, Jin Hua², Zhang Zhengdong³, Wang Shizhi^{1*}

(¹School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009; ²Central Laboratory of Nantong Tumor Hospital, Nantong 226000; ³Department of Epidemiology, NJMU, Nanjing 211166, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the correlation between 6p21.1 rs2494938 and 7p15.3 rs2285947 and risk of cervical cancer. **Methods:** A total of 571 cervical cancer patients and 657 cancer-free controls were recruited in the study. The genotypes of 6p21.1 rs2494938 and 7p15.3 rs2285947 were detected by TaqMan MGB probe method. The correlation between the SNPs and the susceptibility to cervical cancer was evaluated using unconditional logistic regression analysis, and the relative risk of odds ratio(OR) and 95% confidence interval(CI) were calculated. **Results:** There was no significant association between the frequencies of GA or AA among the case and control groups at SNP rs2494938($P=0.848$). There was significant association between the frequencies of GA or AA among the case and control groups at SNP rs2285947, ($P=0.028$), and significant reduction was found in the risk of cervical cancer between all mutation genotype (GA + AA) and wild type genotype GG (OR=0.77, 95%CI:0.62~0.97, $P=0.025$). **Conclusion:** There was no significant association between the rs2494938 pleiotropy and cervical cancer susceptibility, and there was significant association between the rs2285947 pleiotropy and cervical cancer susceptibility.

[Key words] 6p21.1 and 7p15.3 gene; cervical cancers; polymorphisms

[Acta Univ Med Nanjing, 2017, 37(02):252-255, 260]

[基金项目] 国家自然科学基金(81302502);江苏省自然科学基金青年基金项目(BK20130641);教育部博士点基金(新教师类)(20130092120063);中央高校基本科研基金

*通信作者(Corresponding author), E-mail: shizhiwang2009@seu.edu.cn

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一,2015年“中国宫颈癌防控”会议指出,我国宫颈癌发病率已高居世界第2位,仅次于智利,且发病年轻化趋势明显。我国每年约有15万新发宫颈癌病例,约占全球患者总数的1/3,近8万妇女因此死去。这说明宫颈癌成中国女性的杀手之一,严重威胁女性的生

命健康,影响到中国千万家庭的幸福生活^[1]。近年来很多研究发现,除环境与生活方式等外界因素外,个体的遗传背景与宫颈癌的发生密切相关。

近年来有研究表明,基因 6p21.1 rs2494938 多态位点和基因 7p15.3 rs2285947 多态位点的遗传变异与肺癌、胃癌及食管癌的发生风险有关联^[2]。迄今为止,该多态位点与宫颈癌遗传易感性的研究在汉族人群尚未见报道。因此本研究拟通过病例-对照研究,探讨 6p21.1 rs2494938 和 7p15.3 rs2285947 基因多态性与江苏及周边汉族妇女宫颈癌遗传易感性之间的关系,为宫颈癌的预防和治疗提供新思路。

1 对象和方法

1.1 对象

571 例宫颈癌患者及 657 例对照来源于 2007—2010 年间南京医科大学第一附属医院及南通市肿瘤医院,样本收集已经过医院及样本人群知情同意。所有患者都经病理学诊断实为宫颈癌,术前均未行化疗或放疗,对照均来自与病例同一医院且无亲缘关系,中位年龄为 46 岁。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取

按常规酚-氯仿法抽提基因组 DNA,紫外分光光度仪测定 DNA 的量,琼脂糖凝胶电泳法检测 DNA 的完整性。

1.2.2 引物及 TaqMan 探针

6p21.1 rs2494938 正义引物为 5'-CCTGGGATC-TATGTGTCTAAGATGG-3',反义引物为 5'-TG-TAAGCCACCCACCCACATACATAACTT-3';TaqMan 探针 1 为 5'-FAM-AGACAGCAGCTTC-MGB-3',探针 2 为 5'-HEX-AGACAGCAACTTC-MGB-3'。7p15.3 rs2285947 正义引物为 5'-GGCTGCCTTATGCTATT-GTGAATTT-3',反义引物为 5'-ACAACACTGAGT-CATTCCATTGAACAT-3';TaqMan 探针 1 为 5'-FAMACAAGGCGATAGAAC-MGB-3',探针 2 为 5'-HEXACAAGGCAATAGAAC-MGB-3'。引物及 TaqMan 探针均由南京骥骜生物技术有限公司设计及合成。

1.2.3 PCR 反应体系

PCR 反应体系组成如下:ddH₂O 2.8 μL,Real-time Probe qPCR Mix 5 μL,正反义引物各 0.3 μL, TaqMan 探针 1 及 2 各 0.2 μL,50×Rox reference dye 0.2 μL,模板 DNA 1 μL。正反义引物和 TaqMan 探针 1 及 2 浓度均为 10 pmol/μL,总反应体积为 10 μL(其中 MIX 购于日本 TOYOBO 公司)。每次 PCR 扩

增均设立阴性对照(不加模板 DNA)。在 ABI7300 型荧光定量 PCR 仪上反应:95℃ 10 min 预变性,然后按 95℃变性 15 s,60℃退火及延伸 1 min 条件进行 45 个循环,仪器自动收集荧光信号,SDSV1.3.2 软件分析给出基因分型结果。

1.3 统计学方法

应用统计软件 SAS9.1,以拟合优度 χ^2 检验分析各基因型在对照人群中分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡定律,以确认研究样本的群体代表性。 χ^2 检验比较研究人群年龄、生育史等因素频数分布差异。不同基因型与宫颈癌患者的相对风险度以比值比(odds ratios, ORs)及其 95%可信区间(confidence intervals, CI)表示,OR 值和 95%CI 通过非条件 logistic 回归分析计算。所有统计检验均为双侧概率检验。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究群体的基本特征分布

病例组和对照组人群的基本信息如表 1 所示:病例组和对照组人群年龄频数分布无统计学意义($P=0.09$),有无流产史的频数分布也没有统计学意义($P=0.565$)。病例组初潮年龄、产次和绝经情况与对照组的频数分布差异有统计学意义, P 均 < 0.001。宫颈癌患者组织学分型:鳞状细胞癌 473 例(83.4%),腺癌 24 例(4.2%),腺鳞癌 4 例(0.7%),其他类型 66 例(11.75%);浸润深度:癌前病变(CIN3)65 例(11.6%),I 级 318 例(56.4%),II 级 145 例(27.8%),III 级 28 例(5.0%),IV 级 7 例(1.2%)。

2.2 6p21.1 rs2494938 与 7p15.3 rs2285947 多态性与宫颈癌发生风险的关联性

6p21.1 rs2494938 各基因型在对照人群分布频率分别为:GG 380 例(57.8%),GA 237 例(36.1%),AA 40 例(6.1%),其分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律($\chi^2=0.14, P=0.707$);在宫颈癌患者分布频率为:GG 328 例(57.5%),GA 212 例(37.1%),AA 31 例(5.4%)。以野生基因型 GG 为参照,携带突变 A 等位基因的基因型 GA 和 AA 在病例和对照组中频率分布无显著差异($P=0.848$)。7p15.3 rs2285947 各基因型在对照人群分布频率分别为:GG 317 例(48.2%),GA 291 例(44.3%),AA 49 例(7.5%),其分布符合 Hardy-Weinberg 平衡定律($\chi^2=2.58, P=0.108$);在宫颈癌患者分布频率为:GG 312 例(54.6%),GA 210 例(36.8%),AA 49 例(8.6%)。以野生基因型 GG 为参照,携带突变 A 等位基因的基因型 GA 和 AA 在病

表 1 宫颈癌病例和对照人群的基本信息
Table 1 Frequency distribution of selected variables between cervical cancer cases and controls [n(%)]

变量	病例(n = 571)	对照 (n = 657)	P 值
年龄(岁)			0.090
46	294 (51.5)	370(56.3)	
>46	277(48.5)	287(43.7)	
初潮年龄(岁)			< 0.001
15	340(59.7)	484(75.3)	
>15	230(40.4)	159(24.7)	
产次			< 0.001
0~1	324(58.3)	446(75.2)	
≥2	232(41.7)	147(24.8)	
流产史			0.565
无	377(70.5)	402(72.0)	
有	158(29.5)	156(28.0)	
绝经状态			< 0.001
绝经前	240(44.0)	127(21.1)	
绝经后	306(56.0)	476(78.9)	
病理类型			
鳞癌	473(83.4)		
腺癌	24(4.2)		
腺鳞癌	4(0.7)		
其他	66(11.7)		
浸润深度			
CIN3	65(11.6)		
I	318(56.4)		
II	145(27.8)		
III	28(5.0)		
IV	7(1.2)		

表 2 多态位点 rs2494938 和 rs2285947 与宫颈癌发生风险的关联性

Table 2 SNP rs2494938 and rs2285947 polymorphism and their association with risk of cervical cancer [n(%)]

SNPs	基因型	病例(n = 571)	对照 (n = 657)	P 值	OR(95%CI)	
rs2494938	GG	328(57.5)	380(57.8)	0.848	1.00	
	GA	212(37.1)	237(36.1)		1.04(0.82~1.31)	
	AA	31(5.4)	40(6.1)		0.90(0.55~1.47)	
rs2285947	GG	312(54.6)	317(48.2)	0.028	1.00	
	GA	210(36.8)	291(44.3)		0.73(0.58~0.93)	
	AA	49(8.6)	49(7.5)		1.02(0.66~1.56)	
	GG	312(54.6)	317(48.2)		0.025	1.00
	AA/GA	259(45.4)	340(51.8)			0.77(0.62~0.97)
	GG/GA	522(91.4)	608(92.5)			1.00
	AA	49(8.6)	49(7.5)		1.17(0.77~1.76)	

因素,还有其他危险因素发挥作用,除环境与生活方式等外界因素外,个体的遗传背景与宫颈癌的发生密切相关^[6]。

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs),主要是指在基因组水平上由单个核苷酸的变异所引起的 DNA 序列多态性,SNPs 的突

例和对照组中频率分布有显著差异($P=0.028$);与野生型 GG 相比合并突变基因型(GA+AA)与宫颈癌发生风险有关联 ($OR=0.77, 95\%CI:0.62\sim0.97, P=0.025$,表 2)。

2.3 分层分析 7p15.3 rs2285947 多态性与宫颈癌发生风险的关联性

进一步对人群特征进行分层分析发现,与宫颈癌发生风险有关联的为以下几种因素:有 2 次以上生产史($OR=0.57, 95\%CI:0.37\sim0.86, P=0.007$),有流产史($OR=0.47, 95\%CI:0.30\sim0.74, P=0.001$)以及宫颈癌病理类型为 CIN3 和 I 级 ($OR=0.72, 95\%CI:0.56\sim0.93$,表 3)。

3 讨论

宫颈癌是严重危害女性健康的全球性恶性肿瘤之一。调查显示,我国宫颈癌发病率和死亡率均呈现上升趋势,且发病年轻化趋势明显,表明现阶段我国宫颈癌防治任务艰巨^[3]。宫颈癌发病影响因素研究分析显示,人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈癌的主要危险因素^[4]。HPV 感染根据其致病力的大小分为高危型和低危型两种,HPV 高危型感染已明确为宫颈癌的致病因素,很多报道显示 90%以上的宫颈癌组织中含有 HPV DNA^[5]。然而在感染 HPV 的妇女中,大多数感染可自行消退,只有一小部分经过相对长的潜伏期才最终发展为宫颈癌,这表明在宫颈癌的发生过程中,HPV 感染可能是一个启动

变可改变机体对疾病的遗传易感性。近年来有研究报道,6p21.1 rs2494938 和 7p15.3 rs2285947 多态性与多种肿瘤的发生风险有关,Jim 等报道^[2],在汉族人群中 6p21.1 rs2494938 和 7p15.3 rs2285947 多态性位点均与肺癌、胃癌、食管癌的发生风险有关联 (OR 值和 $95\%CI$ 分别为 1.15、1.17、1.10~1.19、1.12~

表 3 分层分析 rs2285947 多态性与宫颈癌发生风险的关联性(显性模型)

Table 3 Stratified analysis of the SNP rs2285947 associated with cervical cancer risk by selected variables in a dominant model

变量	基因型(病例/对照)		P 值	OR(95% CI)
	GG	AA/GA		
年龄(岁)				
46	155/171	139/199	0.096	0.77(0.57~1.05)
>46	157/146	120/141	0.167	0.79(0.57~1.10)
初潮年龄(岁)				
15	178/230	162/254	0.172	0.82(0.62~1.09)
>15	133/82	97/77	0.223	0.78(0.52~1.17)
产次				
0~1	163/224	161/222	0.982	1.00(0.75~1.33)
≥2	137/66	95/81	0.007	0.57(0.37~0.86)
流产史				
无	201/205	176/197	0.517	0.91(0.69~1.21)
有	94/64	64/92	0.001	0.47(0.30~0.74)
绝经状态				
绝经前	138/66	102/61	0.310	0.80(0.52~1.23)
绝经后	163/229	143/247	0.159	0.81(0.61~1.08)
浸润深度				
CIN3/ I	216/317	167/340		0.72(0.56~0.93)
II	74/317	71/340		0.90(0.62~1.28)
III/IV	20/317	15/340		0.70(0.35~1.39)

1.21, P 值分别为 1.20×10^{-12} 、 1.26×10^{-16})。Wang 等^[7]报道, 在汉族人群中 6p21.1 rs2494938 多态位点与头颈部肿瘤的发生风险有关联(调整 OR=1.84, 95% CI: 1.13~3.00, $P=0.014$), 而 7p15.3 rs2285947 多态位点与头颈部肿瘤的发生风险无关联。Li 等^[8]报道, 同样是汉族人群, 6p21.1 rs2494938 多态位点与卵巢癌的发生风险无关联, 而 7p15.3 rs2285947 多态位点与卵巢癌的发生风险有关联(OR=1.33, 95% CI: 1.08~1.64, $P=0.008$)。

本研究采用病例-对照研究方法, 首次对 6p21.1 rs2494938 多态位点和 7p15.3 rs2285947 多态位点与宫颈癌的关系进行分析, 结果发现 6p21.1 rs2494938 多态位点与宫颈癌的发生风险无关联, 而 7p15.3 rs2285947 多态位点与宫颈癌的发生风险有关联, 这与 Li 等^[8]报道相一致, 但突变基因的功能却不尽相同。rs2285947 多态位点基因型的分析结果显示, 与 GG 基因型相比, 携带 A 等位基因的个体(GA+AA)显著降低患宫颈癌的风险(OR=0.77, $P=0.025$)。而且 A 等位基因降低个体患宫颈癌风险的趋势在产次 ≥ 2 及有流产史的人群中更加明显(OR 值分别为 0.57、0.47, P 值分别为 0.007、0.001)。这些结果提示 7p15.3 rs2285947 基因多态性与江苏地区

汉族妇女宫颈癌的遗传易感性有密切关系, A 等位基因可能是降低宫颈癌发病风险的一个因素。

7p15.3 rs2285947 位于 SP4(特异性蛋白)与 DNAH11(动力蛋白微丝重链 11)的初始部分, 动力蛋白是微管相关的蛋白复合物, 是激活 MAPK(蛋白激酶复合物) 并与其建立功能链不可缺少的。P38-MAPK 路径在免疫和炎症反应中有重要作用, 同时也对细胞生存、分化和迁移有调节作用。然而这个区域可能作用在其他基因或非编码区, 需要进一步功能研究来揭示 7p15.3 与肿瘤相关的风险^[2]。

HPV 致病机制是将 DNA 整合到宿主细胞, 导致细胞发生一系列变化, 7p15.3 rs2285947 基因多态性与 HPV DNA 的相互作用在宫颈癌发生发展过程中起到的影响目前尚不清楚, 需要更深入的探索。

需要指出本病例对照研究存在一些不足, HPV 感染是公认的宫颈癌的主要发病因素, 但研究中宫颈癌患者缺乏 HPV 感染的相关数据资料。因为在临床中宫颈癌患者并非常规行 HPV 检查, 同时 HPV 检测价格相对比较昂贵, 还没有被广泛推广和使用, 造成 HPV 数据的缺失。另外, 环境因素(吸烟、致癌物接触)、社会因素(教育程度、经济收入)和饮食习惯等与宫颈癌发病也相关, 但本研究缺少相关的背景资料。所以本研究并未能分析 HPV 感染情况与 6p21.1 rs2494938 和 7p15.3 rs2285947 基因多态性的相关性。

综合以上研究结果, 对 6p21.1 rs2494938 和 7p15.3 rs2285947 基因多态性的研究都是基于汉族人群, 但对于不同组织类型的肿瘤, 其基因多态性的功能却不相同。尽管对 6p21.1 rs2494938 和 7p15.3 rs2285947 基因多态的功能、肿瘤易感性的研究结果存在差异, 但我们不能排除 6p21.1 和 7p15.3 基因在不同类型的组织细胞内与其他蛋白协同作用影响 DNA 修复功能差异、与不同肿瘤的发病机制, 以及环境等因素不相同导致不同的遗传易感分析结果。且本研究仅仅对 6p21.1 rs2494938 和 7p15.3 rs2285947 基因多态性与宫颈癌的遗传易感性做了初步探讨, 仍需要在综合考虑多种环境因素的作用下, 例如调整家族史、环境因素和 HPV 感染情况等相关因素, 联系多个基因的多态位点及其连锁不平衡研究中寻找更多的证据加以验证, 同时其结论仍需在其他人群和更大样本中进行类似研究。

[参考文献]

[1] Parkin D, Bray MF, Ferla YJ, et al. Global cancer statis- (下转第 260 页)