

东北地区汉族人群DNA修复基因XPD单核苷酸多态性与胃癌的相关性

娄毅, 宋清斌, 何向民

娄毅, 中国医科大学基础医学院医学遗传学教研室 辽宁省沈阳市 110001

宋清斌, 中国医科大学附属第一医院普通外科 辽宁省沈阳市 110001

何向民, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001

通讯作者: 娄毅, 110001, 辽宁省沈阳市和平区北二马路92号, 医学遗传学教研室. louyi_1963_1019@163.com

电话: 024-23256666-5324

收稿日期: 2006-09-01 接受日期: 2006-09-25

Association of single nucleotide polymorphism in DNA repair gene XPD with gastric cancer in Han population from northeast region of China

Yi Lou, Qing-Bin Song, Xiang-Min He

Yi Lou, Department of Medical Genetics, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Qing-Bin Song, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Xiang-Min He, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Yi Lou, Department of Medical Genetics, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. louyi_1963_1019@163.com

Received: 2006-09-01 Accepted: 2006-09-25

Abstract

AIM: To assess the relationship between XPD single nucleotide polymorphism (SNP) and susceptibility to gastric cancer in Han Chinese from northeast region via a hospital-based, case-control study.

METHODS: Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism analysis was used to determine the Asp312Asn and Lys751Gln polymorphisms of XPD gene in 238 patients with gastric cancer and 200 healthy controls. The adjusted odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (CI) were calculated using multivariate logistic regression.

RESULTS: The polymorphism of Lys751Gln was not significantly different between gastric cancer patients and normal controls. The frequency of Asp/Asn and Asn/Asn genotypes in gastric cancer was significantly increased as compared with that in the controls ($P = 0.041$). Individuals carrying at least one 312Asn variant allele (Asp/Asn and Asn/Asn genotypes) tended to have an increased risk (1.901 times) for gastric cancer as compared with those with the Asp/Asp genotype (OR = 1.901, 95% CI: 1.119-3.229).

CONCLUSION: The Asp312Asn polymorphisms in XPD gene are risky factors of gastric cancer in Han Chinese from northeast region.

Key Words: Gastric cancer; XPD gene; Single nucleotide polymorphism; Northeast region

Lou Y, Song QB, He XM. Association of single nucleotide polymorphism in DNA repair gene XPD with gastric cancer in Han population from northeast region of China. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(32):3143-3146

摘要

目的: 研究核苷酸切除修复基因XPD单核苷酸多态性与东北地区汉族人群胃癌风险的关系。

方法: 以聚合酶链反应-限制性片段长度多态性方法分析了238例胃癌患者标本XPD基因Asp312Asn和Lys751Gln多态性, 比较不同基因型与胃癌风险的关系。

结果: Lys751Gln多态在胃癌患者中的分布和正常对照组差异不显著, 与胃癌风险无关。胃癌患者中Asp/Asn和Asn/Asn基因型频率明显高于正常对照组($P = 0.041$); 与携带312 Asp/Asp基因型者比较, 携带至少1个312 Asn等位基因者(即Asp/Asn和Asn/Asn基因型)罹患胃癌的风险增加1.901倍(95%CI: 1.119-3.229)。

结论: XPD基因Asp312Asn多态是东北地区汉

■背景资料

DNA修复基因多态作为个体损伤修复能力差异的分子遗传学基础, 可能是癌症的遗传易感因素。XPD作为进化保守的DNA解旋酶, 参与核苷酸切除修复和基因转录。细胞DNA常常遭受致癌物(致突变物)的刺激而引起损伤, 但细胞内有一系列DNA修复机制, 可修复这些损伤以保持基因组的稳定性。DNA修复能力缺陷或低下将增加基因突变和细胞癌变的风险。本文分析了东北地区汉族人群XPD基因单核苷酸多态及与胃癌风险的关系。

■研究前沿

XPD基因多态在东北地区人群中的分布及其与肿瘤发生的关系未见报道。本研究发

族人群胃癌遗传易感因素。

关键词: 胃癌; XPD基因; 单核苷酸多态

姜毅, 宋清斌, 何向民. 东北地区汉族人群DNA修复基因XPD单核苷酸多态性与胃癌的相关性. 世界华人消化杂志 2006;14(32):3143-3146

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/3143.asp>

0 引言

细胞DNA常常遭受致癌物(致突变物)的刺激而引起损伤, 但细胞内有一系列DNA修复机制, 可修复这些损伤以保持基因组的稳定性. DNA修复能力缺陷或低下将增加基因突变和细胞癌变的风险. XPD作为进化保守的DNA解旋酶, 参与核苷酸切除修复和基因转录. 该基因第312密码子G→A多态和第751密码子C→A多态分别导致Asp312→Asn312和Lys751→Gln751氨基酸替代, 而且其突变表型与DNA损伤修复能力密切相关^[1-2]. DNA修复基因多态作为个体损伤修复能力差异的分子遗传学基础, 可能是癌症的遗传易感因素. XPD基因多态在东北地区人群中的分布及其与肿瘤发生的关系未见报道. 我们分析了东北地区汉族人群XPD基因单核苷酸多态及与胃癌风险的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 238例标本为中国医科大学附属第一医院普外科2000-2005年手术切除的胃癌组织, 所有患者都经组织病理学确诊, 术前未经放射和抗癌药物治疗. 238例胃癌组织均为腺癌. 200例无肿瘤病史和体征的正常对照组外周静脉血随机选自同期体检的人群.

1.2 方法

1.2.1 引物设计 明确两侧基因组序列及SNP是否引起酶切位点改变. 应用Primer3软件设计引物(Sangon公司合成). 其引物序列、扩增片段长度及酶切后片段长度见表1.

1.2.2 基因组DNA提取 应用常规酚-氯仿法进行基因组DNA提取.

1.2.3 PCR反应扩增目的片段 反应液总体积25 μ L, 其中基因组DNA约40 ng, 10 $\times$ 反应缓冲液(MgCl₂ 15 mmol/L) 2.5 μ L, dNTP(2.0 mmol/L) 2.0 μ L, 上下游引物(20 μ mol/L)各0.5 μ L, Taq酶1 nkat. 循环参数: (1)Asp312Asn: 94 $^{\circ}$ C变性5 min, 94 $^{\circ}$ C 45 s, 58 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s 35个循环, 72 $^{\circ}$ C延伸8 min; (2)Lys751Gln: 94 $^{\circ}$ C变性8 min, 94 $^{\circ}$ C

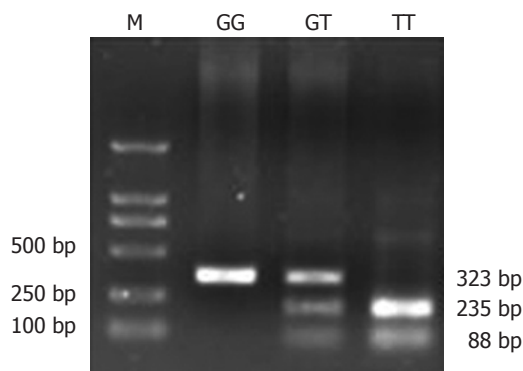


图1 Lys751Gln位点EarI酶切结果.

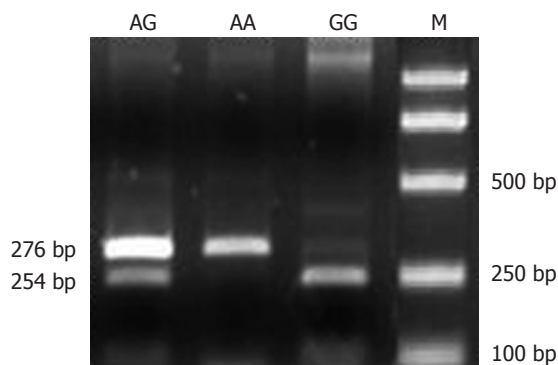


图2 Asp312Asn位点Hpy99I酶切结果.

50 s, 60 $^{\circ}$ C 50 s, 72 $^{\circ}$ C 50 s 35个循环, 72 $^{\circ}$ C延伸5 min. PCR产物分别经15 g/L和30 g/L的琼脂糖凝胶电泳检测确认.

1.2.4 限制性内切酶酶切鉴定基因型 (1)EarI酶切鉴定Lys751Gln基因型. 酶切反应体系20 μ L: 其中PCR产物8 μ L, EarI 5 U, 10 $\times$ 缓冲液2 μ L. 37 $^{\circ}$ C水浴过夜, 15 g/L琼脂糖凝胶电泳鉴定基因型(图1); (2)Hpy99I酶切鉴定Asp312Asn基因型. 酶切反应体系20 μ L: 其中PCR产物8 μ L, Hpy99I 5 U, 10 $\times$ 缓冲液2 μ L. 37 $^{\circ}$ C水浴过夜, 30 g/L琼脂糖凝胶电泳鉴定基因型(图2).

统计学处理 应用SPSS 10.0软件统计分析患者组和对照组中多态位点基因型频率是否存在差异.

2 结果

我们分析了XPD两个多态位点Lys751Gln和Asp312Asn的基因型分布及其与胃癌风险的关系. 胃癌病例组Asp/Asp, Asp/Asn, Asn/Asn的基因型频率分别为79.4%, 16.4%和4.2%, 正常对照组的基因型频率分别为88.0%, 10.5%和0.5%, 二者差异有统计学意义($P < 0.05$, 表2). 与

■相关报道

XPD基因第312密码子G→A多态和第751密码子C→A多态分别导致Asp312→Asn312和Lys751→Gln751氨基酸替代, 而且其突变表型与DNA损伤修复能力密切相关.

■创新盘点

XPD基因多态在东北地区人群中的分布及其与肿瘤发生的关系未见报道。

■应用要点

XPD基因的Asp-312Asn位点个体差异和胃癌风险有关, 因此临床上检测该基因的多态位点有助于胃癌的预防及早期诊断。

表 1 2个SNP位点引物序列、扩增片段长度及酶切后片段长度

SNP名称	引物序列	长度	酶切后片段长度
Lys751Gln	AGGGGGTCTATCATCTCCTG/CCTCTCCCTTCCTCTGTTC	323 bp	235 bp/88 bp (EalI)
Asp312Asn	CCTGCAGAAGACGGTGCT/GCTCACCTGCAGCACTT	276 bp	254 bp/22 bp (Hpy99I)

表 2 患者组与正常对照组2个SNP位点基因型频率比较

项目	<i>n</i>	基因型频率(%)			χ^2	<i>P</i>
Lys751Gln		Lys/Lys	Lys/Gln	Gln/Gln		
胃癌组	238	205 (86.1)	30 (12.8)	3 (1.1)	4.51	>0.05
对照组	200	164 (82.3)	33 (16.2)	3 (1.5)		
Asp312Asn		Asp/Asp	Asp/Asn	Asn/Asn		
胃癌组	238	189 (79.4)	39 (16.4)	10 (4.2)	6.38	0.041
对照组	200	176 (88.0)	21 (10.5)	3 (0.5)		

表 3 胃癌患病风险与XPD基因型的关系

项目	<i>n</i>	基因型频率(%)		OR (95%CI)	<i>P</i>
Lys751Gln		Lys/Lys	Lys/Gln或Gln/Gln	0.733 (0.438–1.227)	>0.05
胃癌组	238	205	33		
对照组	200	164	36		
Asp312Asn		Asp/Asp	Asp/Asn或Asn/Asn	1.901 (1.119–3.229)	0.016
胃癌组	238	189	49		
对照组	200	176	24		

携带XPD312Asp/Asp基因型比较, 携带至少1个312Asn等位基因(即Asp/Asn和Asn/Asn基因型)的个体罹患胃癌的风险显著增加($P = 0.016$, 校正的 $OR = 1.901$, 95%CI: 1.119-3.229, 表3)。Lys751Gln多态在胃癌患者中的分布和正常对照组差异不显著。

3 讨论

人类肿瘤多数是环境和遗传因素共同作用的结果。环境致癌物或其代谢产物攻击机体细胞引起DNA损伤, 修复系统对损伤进行修复以保证基因组的完整性和稳定性。当DNA损伤不能及时有效的修复, 积累到一定程度导致基因组不稳定性升高, 引起细胞增殖和分化失控, 导致肿瘤的发生。因此, DNA修复与肿瘤发生有着密不可分的联系。研究资料表明, DNA修复能力的个体差异是决定肿瘤易感性的重要因素^[3-4]。许多DNA修复基因具有单核苷酸多态(single nucleotide polymorphism, SNP), 导致氨基酸替代的SNP可能改变修复酶的活性。因此, DNA修复基因SNP是导致DNA修复能力个体差异的

重要原因。胃癌是我国最常见的消化道肿瘤, 占恶性肿瘤死亡率的第1位。胃癌的发生、发展是一个多因素、多基因作用的复杂过程。目前已发现很多胃癌相关基因, 如KAI1, nm23, c-Fos, c-Jun, p53, RB和hMLH1等^[5-8]。XPD基因位于19q13, 含有23个外显子, 长约5413 kb, 在该基因上有135个SNP位点。XPD基因编码的蛋白质相对分子质量为8619 kDa, 是由761个氨基酸组成的ATP依赖5→3 DNA解旋酶, 为生命活动所必不可少^[4]。已经发现XPD基因的编码区有6个SNP位点, 其中312密码子G→A和751密码子C→A多态均引起氨基酸替代, 其突变表型使DNA修复能力低下^[1-2]。流行病学研究结果显示, XPD基因密码子156, 312和751位点的多态性与肿瘤易感性密切相关^[9-12]。Xing *et al*^[13]研究了中国北京人群中Asp312Asn和Lys751Gln和肺癌和食管癌风险的关系, 认为Asp312Asn和Lys751Gln和肺癌风险有关, 而和食管癌的风险无关。目前, 国内尚未有该基因多态位点和胃癌风险的研究。在本研究中, 我们分析XPD基因两个位点单核苷酸多态(Asp312Asn和Lys751Gln)与胃癌

■同行评价

本研究设计合理, 实验方法得当, 结果分析条理清晰, 工作有一定的价值, 但需要进行合理并客观的分析。

易患性的关系。结果发现, 胃癌病例组Lys/Lys, Lys/Gln和Gln/Gln基因型频率分别为86.1%, 12.8%和1.1%, 正常对照组Lys/Lys, Lys/Gln和Gln/Gln基因型频率分别为82.3%, 16.2%和1.5%, Lys751Gln多态在胃癌患者中的分布和正常对照组差异不显著, 与胃癌的风险无关。Asp312Asn位点胃癌病例组Asp/Asp, Asp/Asn和Asn/Asn的基因型频率分别为79.4%, 16.4%和4.2%, 正常对照组的基因型频率分别为88.0%, 10.5%和0.5%, 二者差异有统计学意义($P < 0.05$)。与携带XPD312Asp/Asp基因型比较, 携带至少1个312Asn等位基因(即Asp/Asn和Asn/Asn基因型)的个体罹患胃癌的风险显著增加($P = 0.016$, 校正的 $OR = 1.901$, 95%CI = 1.119-3.229)。XPD基因的Asp312Asn位点个体差异和胃癌风险有关, 因此临床上检测该基因的多态位点有助于胃癌的预防及早期诊断。

4 参考文献

- 1 Qiao Y, Spitz MR, Shen H, Guo Z, Shete S, Hedayati M, Grossman L, Mohrenweiser H, Wei Q. Modulation of repair of ultraviolet damage in the host-cell reactivation assay by polymorphic XPC and XPD/ERCC2 genotypes. *Carcinogenesis* 2002; 23: 295-299
- 2 Hemminki K, Xu G, Angelini S, Snellman E, Jansen CT, Lambert B, Hou SM. XPD exon 10 and 23 polymorphisms and DNA repair in human skin in situ. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1185-1188
- 3 Hoeijmakers JH. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 2001; 411: 366-374
- 4 许玲, 孙大志, 余志红. 肿瘤基因单核苷酸多态性研究及个体化医疗的思考. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 592-595
- 5 侯仁好, 初晓艺, 刘希双. c-Fos, c-Jun与Bcl-2蛋白在胃癌组织中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2448-2451
- 6 刘茗露, 刘斌, 邢传平, 陈一伟. 胃癌组织中KAI1、nm23及P53的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 491-496
- 7 肖桂珍, 刘希双. 胃癌和癌前病变中错配修复基因hMLH1的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2093-2097
- 8 凌霄华, 汪丽燕, 关景明, 刘颖, 于欣. 胃癌相关基因在癌前病变中的表达. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2102-2105
- 9 Arrand JE, Bone NM, Johnson RT. Molecular cloning and characterization of a mammalian excision repair gene that partially restores UV resistance to xeroderma pigmentosum complementation group D cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 6997-7001
- 10 Tomescu D, Kavanagh G, Ha T, Campbell H, Melton DW. Nucleotide excision repair gene XPD polymorphisms and genetic predisposition to melanoma. *Carcinogenesis* 2001; 22: 403-408
- 11 Sturgis EM, Zheng R, Li L, Castillo EJ, Eicher SA, Chen M, Strom SS, Spitz MR, Wei Q. XPD/ERCC2 polymorphisms and risk of head and neck cancer: a case-control analysis. *Carcinogenesis* 2000; 21: 2219-2223
- 12 Spitz MR, Wu X, Wang Y, Wang LE, Shete S, Amos CI, Guo Z, Lei L, Mohrenweiser H, Wei Q. Modulation of nucleotide excision repair capacity by XPD polymorphisms in lung cancer patients. *Cancer Res* 2001; 61: 1354-1357
- 13 Xing D, Tan W, Song N, Lin D. Genetic polymorphism in hOGG1 and susceptibility to esophageal cancer in Chinese. *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2000; 17: 377-380

电编 张敏 编辑 王晓瑜