

# 溶酶体相关4次跨膜蛋白质基因多态性与肝癌易感性的关系

孙桂珍, 李卓, 郝娃, 牛京勤, 殷继明, 严艳

## ■背景资料

乙型肝炎病毒 (HBV) 感染在我国是一个重要的问题, 人体被HBV感染后可发展成为HBV携带者、慢性乙型肝炎、肝硬化和肝癌。原发性肝癌发病率逐年增加, 治疗手段有限, 早期诊断是改善预后的关键。

孙桂珍, 首都医科大学附属北京佑安医院临床检验中心 北京市 100069

李卓, 郝娃, 牛京勤, 殷继明, 严艳, 北京市卫生局肝炎研究所 北京市 100069

通讯作者: 李卓, 100069, 北京市卫生局肝炎研究所。

lizhuo\_youan@163.com

电话: 010-83997427

收稿日期: 2007-12-28 修回日期: 2008-02-13

## Relationship between lysosome-associated protein transmembrane 4β polymorphism and susceptibility to liver cancer

Gui-Zhen Sun, Zhuo Li, Wa Hao, Jing-Qin Niu, Ji-Ming Yin, Yan Yan

Gui-Zhen Sun, Beijing Youan Hospital, Capital University of Medical Sciences, Beijing 100069, China  
Zhuo Li, Wa Hao, Jing-Qin Niu, Ji-Ming Yin, Yan Yan, Institute of Hepatitis, Beijing 100069, China  
Correspondence to: Zhuo Li, Institute of Hepatitis, Beijing 100069, China. lizhuo\_youan@163.com  
Received: 2007-12-28 Revised: 2008-02-13

## Abstract

**AIM:** To investigate the possible association between allelic variation of lysosome-associated protein transmembrane 4β (LAPTM4β) and genetic susceptibility to liver cancer.

**METHODS:** Genotype of LAPTM4β was detected in 190 patients with liver cancer, 175 healthy adults and 190 chronic hepatitis B (CHB) patients by special primers-based polymerase chain reaction. Genotypic distribution of LAPTM4β was analyzed by  $\chi^2$  test.

**RESULTS:** The allelic frequency of \*1 and \*2 was 68.8%, 33.3%, 73.21%, 26.8%, 75.7% and 24.29% in the of HCC, chronic hepatitis B and healthy control groups, which was significantly different between the HCC and healthy control groups ( $\chi^2 = 6.979$ ,  $P = 0.008$ ). The risk of suffering from HCC was increased 1.547-fold. The LAPTM4β genotypes \*1\*1, \*2\*2, and \*1\*2 were 37.9%, 57.9% and 4.2% in the HCC group, 50.5%, 45.3% and 4.2% in the CHB group and 56.6%,

38.3% and 5.1% in the health control group ( $\chi^2 = 14.854$ ,  $P < 0.005$ ).

**CONCLUSION:** The allele of LAPTM4β is associated with the genotypic susceptibility to liver cancer.

**Key Words:** Susceptibility to liver cancer; Polymorphism gene; Hepatitis B; Lysosome-associated protein transmembrane 4 beta

Sun GZ, Li Z, Hao W, Niu JQ, Yin JM, Yan Y. Relationship between lysosome-associated protein transmembrane 4β polymorphism and susceptibility to liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(8): 908-911

## 摘要

**目的:** 探讨溶酶体相关4次跨膜蛋白质B (lysosome-associated protein transmembrane 4 beta, LAPTM4B) 基因多态性与肝癌易感性的关系。

**方法:** 应用病例对照研究方法, 收集190例肝癌患者、190例慢性乙型肝炎患者、175例健康献血者全血, 分离白细胞, 提取基因组DNA, 采用特异性引物PCR方法, 扩增LAPTM4B第一外显子5'UTR内的部分序列, 对三组人群进行分析研究。  $\chi^2$  检验分析肝癌组与对照组LAPTM4B的基因多态性和其他相关因素的相关性。

**结果:** LAPTM4B等位基因在三组观察对象中的分布, \*1和\*2在健康对照组的频率分别是75.71%和24.29%, 慢肝组73.16%和26.84%, 肝癌组中66.84%和33.45%, 三组比较等位基因分布频率有统计学意义, 健康对照组与肝癌组比较有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.979$ ,  $P = 0.008$ )。LAPTM4B的基因型LAPTM4B1\*1型、LAPTM4B\*1/2混合型和LAPTM4B2\*2型在肝癌组中的频率分别是37.9%、57.9%和4.2%、慢肝组50.5%、45.3%和4.2%、健康对照组56.6%、38.3%和5.1%, 三组间三种基因型分布频率比较有统计学意义 ( $\chi^2 = 14.854$ ,  $P < 0.005$ )。

**结论:** 基因型\*1/2和等位基因\*2可能与肝癌

## ■同行评议者

党双锁, 副教授, 西安交通大学第二医院感染科

的发生有关。

**关键词:** 肝癌易感性; 基因多态性; 乙型肝炎; 溶酶体相关4次跨膜蛋白质B

孙桂珍, 李卓, 郝娃, 牛京勤, 殷继明, 严艳. 溶酶体相关4次跨膜蛋白质基因多态性与肝癌易感性的关系. 世界华人消化杂志 2008; 16(8): 908-911

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/908.asp>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(HBV)感染在我国是一个严重的问题, 人体被HBV感染后可发展成为HBV携带者、慢性乙型肝炎、肝硬化和肝癌<sup>[1]</sup>. 肝癌是常见消化道恶性肿瘤, 死亡率在全部恶性肿瘤中位居第二, 对人类健康造成极大危害<sup>[2-6]</sup>. 因此, 在乙型肝炎病毒感染的高危人群中开展筛查和随访是原发性肝癌早期发现的主要途径之一, 而正确地评价个体发生肝癌的危险性, 有助于制定符合成本效益原则的随访策略. 刘建军 *et al*<sup>[7]</sup>已有的研究表明在四种肝组织(正常成年人、胎肝、肝癌及配对非肝癌肝组织)中筛选出溶酶体相关4次跨膜蛋白质B(lysosome-associated protein transmembrane 4 beta, LAPTMB4B), 这种蛋白质在正常人肝癌组织中表达量很低, 但是在肝癌组织中高度表达. 该基因定位于人的染色体8q22.1的基因, 具有7个外显子, 6个内含子, DNA 全长2245个核苷酸, 在LAPTMB4B第一外显子5'UTR内的一段序列存在差异, 可分为LAPTMB4B\*1和LAPTMB4B\*2. 即LAPTMB4B\*1只有一段19 bp的序列, 而LAPTMB4B\*2由一段19 bp序列重复紧密相连的38个bp序列组成. 人群中存在携带不同形式的基因多态性个体, 并且初步证明他的单核苷酸多态性与肿瘤发生的危险性有关, 已有研究显示LAPTMB4B等位基因突变可能增加慢性HBV感染者或暴露于黄曲霉毒素高危人群相关肝癌的危险性. 我们通过病例对照研究, 探讨LAPTMB4B多态性与肝癌易感性之间的相关性.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2005-2007年北京佑安医院住院慢性乙型肝炎患者, 临床诊断参照2005年慢性乙型肝炎防治指南的诊断标准. 肝癌患者临床诊断根据2001年中国抗癌协会肝癌专业委员会制定的肝癌临床诊断标准, 通过影像学结合AFP或者组织病理学确诊为原发性肝癌. 原发性肝癌患者190

表 1 LAPTMB4B基因多态性在三组观察对象中的分布 *n*(%)

分组	<i>n</i>	LAPTMB4B2*2型	LAPTMB4B1*1型	LAPTMB4B*1/2混合型
健康对照组	175	9(5.1)	99(56.6)	67(38.3)
肝纤维化组	190	8(4.2)	96(50.5)	86(45.3)
原发性肝癌组	190	8(4.2)	72(37.9)	110(57.9)

例, 男152例, 女38例, 平均年龄 $57.5 \pm 12.8$ 岁; 慢性乙型肝炎患者190例, 男164例, 女26例, 平均年龄 $47.5 \pm 16.5$ 岁; 健康献血员175例, 男135例, 女40例, 平均年龄 $24.5 \pm 4.5$ 岁. 收取全部观察对象的静脉血(抗凝血), 分离白细胞和血浆,  $-20^{\circ}\text{C}$ 冰箱储存备用.

**1.2 方法** 采用常规的蛋白酶K消化, 酚-氯仿处理方法, 提取患者白细胞基因组DNA. 引物设计参照文献[7]; PCR扩增条件: 30  $\mu\text{L}$ 反应体积含有模板DNA 5  $\mu\text{L}$ , dNTPs 200  $\mu\text{mol/L}$ , 上游引物/下游引物各为0.1  $\mu\text{mol/L}$ , Taq酶1  $\mu\text{L}$ ,  $94^{\circ}\text{C}$ 预变性180 s,  $94^{\circ}\text{C}$  40 s,  $55^{\circ}\text{C}$  40 s,  $72^{\circ}\text{C}$  45 s, 扩增35个循环. PCR产物鉴定: 取PCR产物10  $\mu\text{L}$ , 用60 g/L的丙烯酰胺凝胶电泳, EB染色, 紫外灯下观察结果.

**统计学处理** 研究数据用SPSS11.5软件进行统计分析, 计数资料用 $\chi^2$ 检验, 统计学检验均为双侧,  $P < 0.05$ 为有统计学意义. OR和95%CI用于评价估计研究因素与肝癌的相关性.

## 2 结果

**2.1 LAPTMB4B单核苷酸多态性** 结果表明PCR产物为223 bp为基因型LAPTMB4B2\*2, 204 bp为LAPTMB4B1\*1基因型, 同时有223 bp条带与204 bp条带为LAPTMB4B\*1/2混合型.

**2.2 LAPTMB4B等位基因与基因型多态性在三组观察对象中的分布** LAPTMB4B基因型在三组不同人群中的分布具有显著性差异( $\chi^2 = 14.854$ ,  $P = 0.005$ ). 应用 $\chi^2$ 检验的多组间的两两比较显示原发性肝癌组分别与健康对照组、肝纤维化组比较, LAPTMB4B2\*2型无统计学意义; 健康对照组LAPTMB4B\*1/1型携带频率高于其他两组, 原发性肝癌组显著低于其他两组. LAPTMB4B\*1/2混合型在原发性肝癌组携带频率为57.9%, 高于健康对照组38.3%和肝纤维化组45.3%(表1), 统计学处理差异有显著性( $\chi^2 = 14.003$ ,  $P = 0.000$ ; OR = 2.257, 95% CI = 1.469-3.468;  $\chi^2 = 6.367$ ,  $P = 0.012$ , OR = 1.705, 95% CI = 1.125-2.585).

## ■ 研发前沿

临床上需要更为理想的肝癌特异性血清标志物用于高危人群的筛查和临床诊断. 肝癌是一种高度异质性的肿瘤, 单个肿瘤标志物的诊断敏感性有限, 但是联合检测多个指标有望提高对肝癌的筛查和诊断效率.

### 应用要点

虽然单个基因SNP不太可能在肝癌的发生中起主要作用,但是突变频率较高的SNPs可在公共卫生领域应用于肝癌的筛查和预防。深入探讨基因与环境因子、基因与基因之间的相互作用,期望在肝癌的分子病理学方面获得突破。

表 2 LPTM4B\*1型与LPTM4B\*2等位基因携带频率 (%)

	*2型	*1型	$\chi^2$	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% CI
原发性肝癌组	126(33.15)	254(66.84)	3.609	0.057	1.352	[0.990, 1.846]
肝纤维化组	102(26.84)	278(73.16)	6.979	0.008	1.547	[1.118, 2.139]
健康对照组	85(24.29)	265(75.71)	0.625	0.429	1.144	[0.820, 1.597]

三组比较LPTM4B等位基因\*1与\*2比较有显著性差异( $\chi^2 = 7.608, P = 0.022$ )。两两比较显示原发性肝癌组分别与肝纤维化组和健康对照组比较 $\chi^2 = 3.609, P = 0.057, \chi^2 = 6.979, P = 0.008$ , 肝纤维化组与健康人群组比较没有差异。\*2等位基因在健康人群中显著低于原发性肝癌组, 原发性肝癌组和健康人群组与肝纤维化组比较\*2等位基因频率没有差异(表2)。

### 3 讨论

原发性肝癌发病率逐年增加, 治疗手段有限, 早期诊断是改善预后的关键。肝癌具有明确的危险因素, 临床上一般结合血清AFP测定和肝脏B超或者CT检查在高危人群中进行筛查, 使得早期肝癌的诊断率有所提高, 已有的研究显示血清AFP水平与肿瘤负荷有关, 在早期肝癌中敏感性更低。在良性肝病患者中约有20%-40%血清AFP水平异常, 使得临床上有时对血清AFP中等水平升高的解释很困难。一般认为AFP水平大于400 mg/L对肝癌的患者具有诊断意义。影像学检查对于直径小于2 cm肝癌诊断较为困难, 需要进行有创的组织病理学检查来确诊。组织病理学检查作为诊断肝癌的金标准有潜在的使肿瘤扩散的危险, 对分化程度较好的肝癌与良性肝病基础上高度发育不良的结节有时也很难鉴别。临床上需要更为理想的肝癌特异性血清标志物用于高危人群的筛查和临床诊断。肝癌是一种高度异质性的肿瘤, 单个肿瘤标志物的诊断敏感性有限, 但是联合检测多个指标有望提高对肝癌的筛查和诊断效率。慢性病毒感染、酒精和黄曲霉毒素暴露等为肝癌的致病因子。各种原因导致的肝硬化均可发生肝癌, 尤其是病毒感染和相关的肝硬化。约25%的肝硬化患者一生中会发生肝癌。但是并不是所有的危险因素暴露者一生中均会发生肝癌, 提示遗传因素可能也与肝癌的发生有关。虽然单个基因SNP不太可能在肝癌的发生中起主要作用, 但是突变频率较高的SNPs可在公共卫生领域应用于肝癌的筛查和预防。深入探讨基因与环境因子、基因与

基因之间的相互作用, 有望在肝癌的分子病理学方面获得突破。

LPTM4B是一种在成人肝脏中表达很低而在绝大多数肝癌组织中高度表达的蛋白质。LPTM4B1\*1和LPTM4B2\*2两个等位基因所编码的蛋白质结构、功能与活性不同。由于这重复的19个bp碱基序列的插入, 使得\*1等位基因5'UTR中的终止密码消失, 而蛋白质编码框在N端延长。LPTM4BN 端蛋白序列是分子的重要功能部分, 他可能在细胞信号传导、配体与受体的结合等方面起重要作用。已有的研究表明, LPTM4B是一个保守的与细胞增殖, 分化相关的重要新基因, 他的过表达可能与细胞增殖加快, 增殖恶性转化有关<sup>[7-9]</sup>。

Liu *et al*研究发现LPTM4B等位基因在人群中具有3种基因形式存在, 分别为1\*1、2\*2和1\*2; 在肝癌患者中2\*2携带率显著高于健康对照组, 2\*2携带者患肝癌的风险是非2\*2型个体的2.89倍, 结果显示2\*2型与肝癌的易感性有关<sup>[10-12]</sup>。李昌林 *et al*对131例肺癌患者和104例健康对照者进行了有关LPTM4B基因多态性的研究显示1\*和2\*的基因频率在肺癌组分别为74.8%和25.2%, 在健康对照组为72.1%和27.9%, 两组间比较无明显差异, 提示LPTM4B基因多态性可能与肺癌易感无关。

本研究采用病例对照研究方法, 应用等位基因特异性引物扩增方法检测LPTM4B基因多态性, 探讨多态性与肝癌易感性之间可能存在的关系, 进一步验证等位基因型是否为肝癌的危险因素。首先证明在健康献血员、慢性乙型肝炎患者和肝癌患者中LPTM4B存在三种等位基因的形式, LPTM4B等位基因\*2在肝癌组患者中高于对照组, 这一结果与刘韵荣的研究结果相似; 在肝癌患者中LPTM4B等位基因\*1的频率显著低于健康献血员、慢性乙型肝炎患者组; 基因型和等位基因比较具有显著性差异。对基因型的分析显示原发性肝癌组与健康对照组和肝纤维化组比较LPTM4B\*1/\*2混合型分布频率显著高于其他两个组, 这一点与其



他报道不同, 我们认为, 由于\*1/\*2混合型造成两条DNA链碱基序列排列不匹配, 可能增加感染HBV后成为HCC的易感性。

肝癌严重危害人民健康, 研究他的发病机制试图发现早期的相关性指标具有重要的临床意义。对LAPTM4B基因多态性<sup>[13-15]</sup>的深入研究可能为我们提供一些有关肝癌发生的信息。

#### 4 参考文献

- 1 病毒性肝炎防治方案. 中华肝脏病杂志 2000; 8: 324-329
- 2 Uchimura S, Iizuka N, Tamesa T, Miyamoto T, Hamamoto Y, Oka M. Resampling based on geographic patterns of hepatitis virus infection reveals a common gene signature for early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res* 2007; 27: 3323-3330
- 3 Coronado GD, Taylor VM, Tu SP, Yasui Y, Acorda E, Woodall E, Yip MP, Li L, Hislop TG. Correlates of hepatitis B testing among Chinese Americans. *J Community Health* 2007; 32: 379-390
- 4 Jung YJ, Kim YJ, Kim LH, Lee SO, Park BL, Shin HD, Lee HS. Putative association of Fas and FasL gene polymorphisms with clinical outcomes of hepatitis B virus infection. *Intervirology* 2007; 50: 369-376
- 5 Amin J, O'Connell D, Bartlett M, Tracey E, Kaldor J, Law M, Dore G. Liver cancer and hepatitis B and C in New South Wales, 1990-2002: a linkage study. *Aust N Z J Public Health* 2007; 31: 475-482
- 6 Liu C, Cheng B. Association of polymorphisms of human leucocyte antigen-DQA1 and DQB1 alleles with chronic hepatitis B virus infection, liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma in Chinese. *Int J Immunogenet* 2007; 34: 373-378
- 7 Liu Y, Zhang QY, Qian N, Zhou RL. Relationship between LAPTM4B gene polymorphism and susceptibility of gastric cancer. *Ann Oncol* 2007; 18: 311-316
- 8 Maeda K, Horikoshi T, Nakashima E, Miyamoto Y, Mabuchi A, Ikegawa S. MATN and LAPTM are parts of larger transcription units produced by intergenic splicing: intergenic splicing may be a common phenomenon. *DNA Res* 2005; 12: 365-372
- 9 Deng LJ, Zhang QY, Liu B, Zhou RL. Relationship between LAPTM4B gene polymorphism and susceptibility of lung cancer. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2005; 37: 302-305
- 10 Shao GZ, Zhou RL, Zhang QY, Zhang Y, Liu JJ, Rui JA, Wei X, Ye DX. Molecular cloning and characterization of LAPTM4B, a novel gene upregulated in hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2003; 22: 5060-5069
- 11 Liu X, Zhou R, Zhang Q, Zhang Y, Shao G, Jin Y, Zhang S, Lin M, Rui J, Ye D. Identification and characterization of LAPTM4B encoded by a human hepatocellular carcinoma-associated novel gene. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2003; 35: 340-347
- 12 Zhou L, He XD, Chen J, Cui QC, Qu Q, Rui JA, Zhao YP. Overexpression of LAPTM4B-35 closely correlated with clinicopathological features and post-resectional survival of gallbladder carcinoma. *Eur J Cancer* 2007; 43: 809-815
- 13 Uchimura S, Iizuka N, Tamesa T, Miyamoto T, Hamamoto Y, Oka M. Resampling based on geographic patterns of hepatitis virus infection reveals a common gene signature for early intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma. *Anticancer Res* 2007; 27: 3323-3330
- 14 Peng C, Zhou RL, Shao GZ, Rui JA, Wang SB, Lin M, Zhang S, Gao ZF. Expression of lysosome-associated protein transmembrane 4B-35 in cancer and its correlation with the differentiation status of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2704-2708
- 15 Lo SS, Lin SC, Wu CW, Chen JH, Yeh WI, Chung MY, Lui WY. Heme oxygenase-1 gene promoter polymorphism is associated with risk of gastric adenocarcinoma and lymphovascular tumor invasion. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 2250-2256

#### ■同行评价

本研究立题结合临床需要, 进行了有价值的探索, 具有新的发现, 书写流畅, 方法可靠, 有一定的参考价值。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

#### ●消息●

### 2007年度山西省期刊质量评估结果揭晓

**本刊讯** 2007年参加山西省期刊质量评估的期刊有196种, 其中社科类期刊110种, 科技类期刊86种。结果评出一级(优秀)期刊93种, 社科类47种, 科技类46种, 其中包含《世界胃肠病学杂志(英文版)》; 二级期刊96种, 社科类59种, 科技类37种, 其中包含《世界华人消化杂志》; 三级期刊共7种, 社科类4种, 科技类3种。特别需要强调的是, 《世界胃肠病学杂志(英文版)》连续9年被评为一级(优秀)期刊。(常务副总编辑: 张海宁 2008-03-18)