

# TAP2基因多态性及遗传因素与新疆哈萨克族食管癌的相关性

曾同霞, 张海峰, 雷丽娟, 蔡金凤, 李 锋, 廖佩花, 秦江梅

曾同霞, 蔡金凤, 李锋, 秦江梅, 新疆地方病与民族高发病省部共建重点实验室 石河子大学医学院预防医学系 新疆维吾尔自治区石河子市 832002  
张海峰, 雷丽娟, 伊犁哈萨克自治州新华医院消化内科 新疆维吾尔自治区伊犁哈萨克自治州伊宁市 835000  
廖佩花, 新疆生产建设兵团医院科教科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830002  
国家自然科学基金资助项目, No. 30660161  
国家重点基础研究发展规划基金资助项目(973计划), No. 2005CCA03700  
2006年教育部科学技术研究重点基金资助项目, No. 206167  
国家973计划前期研究专项基金资助项目, No. 2007CB516804  
作者贡献分布: 此课题由秦江梅与李锋设计并组织实施; 曾同霞、张海峰及雷丽娟负责问卷调查与标本的收集工作; 曾同霞、蔡金凤及廖佩花参与TAP2基因多态实验与数据分析; 本文写作由曾同霞与秦江梅完成。  
通讯作者: 秦江梅, 教授, 832002, 新疆维吾尔自治区石河子市, 新疆地方病与民族高发病省部共建重点实验室, 石河子大学医学院预防医学系, qinjiangmei@yahoo.com.cn  
电话: 0993-2596036 传真: 0993-2057153  
收稿日期: 2009-09-18 修回日期: 2009-10-25  
接受日期: 2009-11-02 在线出版日期: 2009-11-08

## Correlation of Tap2 gene polymorphisms and genetic factors with esophageal cancer in Kazakh population in Xinjiang Uygur Autonomous Region

Tong-Xia Zeng, Hai-Feng Zhang, Li-Juan Lei, Jin-Feng Cai, Feng Li, Pei-Hua Liao, Jiang-Mei Qin

Tong-Xia Zeng, Jin-Feng Cai, Feng Li, Jiang-Mei Qin, Key Laboratory of Xinjiang Endemic and Ethnic Diseases, Department of Preventive Medicine, Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Hai-Feng Zhang, Li-Juan Lei, Department of Gastroenterology, Xinhua Hospital of Yili Canton, Yining 835000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Pei-Hua Liao, Department of Scientific Education, Hospital of Xinjiang Production and Construction Corp, Urumqi 830002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30660161; the Major State Basic Research Development Program of China (973 program), No. 2005CCA03700; the Foundation for Key Program of Ministry in Education, China, No. 206167; and the Special Foundation for 973 Program of China, No. 2007CB516804

Correspondence to: Professor Jiang-Mei Qin, Key Laboratory of Xinjiang Endemic and Ethnic Diseases, Department of Preventive Medicine, Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. qinjiangmei@yahoo.com.cn

Received: 2009-09-18 Revised: 2009-10-25

Accepted: 2009-11-02 Published online: 2009-11-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the association between the genetic polymorphisms (Tap2379/Tap2665) of the transporter associated with antigen processing 2 (TAP2) gene and esophageal cancer (EC) in Kazakh population in Xinjiang Uygur Autonomous Region.

**METHODS:** A case-control study was conducted using 165 EC patients and 330 control patients who were endoscopically diagnosed as non-esophageal diseases. Tap2379/Tap2665 genotypes were detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). A conditional logistic regression model was used for data analysis.

**RESULTS:** Tap2379 genotype frequencies were significantly different between EC patients and control ones ( $\chi^2 = 5.295$ ,  $P < 0.05$ ,  $OR = 1.750$ ). Multivariate conditional logistic regression analysis showed that history of esophageal or stomach diseases and family history of esophageal cancer were significantly different between EC patients and control ones ( $\chi^2 = 4.797$  and  $24.803$ ;  $P < 0.05$  and  $0.01$ ; and  $OR = 2.160$  and  $3.638$ , respectively). Individuals with Tap2379 A/A or A/G genotype had a 1.673-fold (95%CI = 1.115-5.511) increased risk for developing EC compared with those with Tap2379G/G genotype after excluding potential confounding factors such as age, sex, history of esophageal or stomach disease and family history of esophageal cancer.

**CONCLUSION:** Tap2379 genetic polymorphisms, history of esophageal or stomach diseases and family history of esophageal cancer are important risk factors for EC.

**Key Words:** Kazakh population; Esophageal Cancer; Tap2379; Tap2665; Case-control study

Zeng TX, Zhang HF, Lei LJ, Cai JF, Li F, Liao PH, Qin JM. Correlation of Tap2 gene polymorphisms and genetic factors with esophageal cancer in Kazakh population in Xinjiang Uygur Autonomous Region. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(31): 3255-3258

## 摘要

**目的:** 探讨Tap2379及Tap2665基因多态性与新

## 背景资料

哈族食管癌高发与少食蔬菜水果、吸烟饮酒相关,且这些与相关代谢基因亚甲基四氢叶酸还原酶(C677T)、细胞色素P4502E1(CYP2E1)多态性存在交互作用;免疫相关基因LMP2/LMP7及Tap1637基因多态性及HLA-DR9阳性等均与哈族食管癌存在相关性。

## 同行评议者

姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

### 相关报道

Sumiyoshi *et al*认为HLA-DR抗原参与了食管鳞状上皮发育不良部位的局部免疫应答,且HLA-DR抗原的表达可以防止肿瘤的侵袭,对机体具有保护作用. Lin *et al*运用PCRSSP检测42例食管癌患者与136例对照组中HLA-DRB1等位基因与食管癌的遗传易感性,结果发现携带HLA-DRB10901等位基因的个体对食管癌具有易感性.

### 哈萨克族(简称哈族)食管癌的相关性.

**方法:** 采用1:2配比的病例对照研究,收集哈族食管癌患者165例,对照330例(对照部分来源于同一所医院门诊胃镜非食管疾病患者,部分来源于食管癌高发区正常人群),运用序列特异性引物聚合酶链反应-限制片段长度多态技术(PCR-RFLP)检测tap2379与ap2665基因多态性,采用多因素Logistic回归进行统计分析.

**结果:** Tap2379基因型在病例组与对照组间比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.295$ ,  $P < 0.05$ ,  $OR = 1.750$ );多因素Logistic回归显示:食管或胃疾病史、食管癌家族史在2组间均存在差异( $\chi^2 = 4.797$ ,  $OR = 2.160$ ;  $\chi^2 = 24.803$ ,  $OR = 3.638$ ,  $P < 0.05$ 或 $0.01$ );在控制了年龄、性别、食管或胃疾病史、食管癌家族史等潜在混杂因素的情况下, Tap2379位A/A型及A/G型的个体患食管癌的风险是G/G型的1.673倍(95%CI = 1.115-5.511).

**结论:** Tap2379位G→A转变、食管或胃疾病史及食管癌家族史为食管癌的危险因素.

**关键词:** 哈萨克族; 食管癌; Tap2379; Tap2665; 病例对照研究

曾同霞, 张海峰, 雷丽娟, 蔡金凤, 李锋, 廖佩花, 秦江梅. TAP2基因多态性及遗传因素与新疆哈萨克族食管癌的相关性. 世界华人消化杂志 2009; 17(31): 3255-3258  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/3255.asp>

## 0 引言

位于中国北部的新疆哈萨克族(哈族)是食管癌的高发民族,哈族食管癌高发与少食蔬菜水果、吸烟饮酒相关,且这些与相关代谢基因亚甲基四氢叶酸还原酶(C677T)、细胞色素P4502E1(CYP2E1)多态性存在交互作用<sup>[1-3]</sup>;免疫相关基因LMP2/LMP7等基因多态性及HLA-DR9阳性等均与哈族食管癌存在相关性<sup>[4-5]</sup>. 抗原加工相关转运体(transporter of antigen processing, Tap)是主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)-I限制性免疫应答途径中的一种重要分子,在MHC-I类分子的成熟及膜表面表达中起着十分重要的作用, Tap具有多态性,其多态性影响到对肽的选择性转运<sup>[6]</sup>,而Tap2基因的单个氨基酸取代也可能导致对抗原肽的选择转运产生较大变化<sup>[7-8]</sup>. Tap2基因多态性与宫颈癌、乳腺癌等恶性肿瘤的发生有关<sup>[9-10]</sup>. Tap2379位异亮氨酸携带者是汉族食管癌的危险因素<sup>[11]</sup>.

而哈族食管癌与Tap2基因多态相关性研究未见报道,为进一步探讨哈族食管癌高发的病因机制,本研究从遗传因素和免疫相关基因角度探讨该人群食管癌高发原因,为进一步干预研究提供更多的生物学证据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2005-03/2009-08在新疆北部哈族聚集地区的六所医院共收集哈萨克族新发食管癌病例165例,对照330例.对照部分来源于同一所医院门诊胃镜非食管疾病患者,部分来源于食管癌高发区正常人群,所有标本均经组织病理学确诊或排除.对照的匹配条件:同民族、同性别、年龄相差不超过5岁、居住同一地区.病例和对照均要签署知情同意书.采用自行设计的调查表进行问卷调查,内容包括:(1)一般情况:年龄、性别、婚姻状况等社会学指标;(2)饮食、生活习惯:包括吸烟史、饮酒史、饮茶、饮水、新鲜蔬菜水果摄入、蛋白摄入、热烫饮食、不规律饮食、特色饮食等;(3)病史:消化系统疾病史及食管癌家族史.主要仪器与试剂:PCR仪(德国Biometra公司);离心机(德国Thermo公司);紫外分光光度仪(北京普析通用仪器公司);琼脂糖(上海杰瑞公司);PCR扩增试剂:三磷酸碱基脱氧核苷酸(dNTP),Taq酶,10×PCR Buffer及Msp I内切酶(大连宝生物公司),Bst I内切酶(Fermentas公司).

**1.2 方法** 食管癌病例及对照均取新鲜全血,-80℃低温保存备用.基因组DNA提取采用酚-氯仿-异戊醇法;所有抽提的DNA均经1%琼脂糖凝胶电泳验证.PCR扩增所使用的引物参考文献[12], Tap2379: F 5'GCCCCGTGCCTTGACCTGCGC3' R5'ACCCCCAAGTGGAGCAC3',共212 bp; Tap2665 F5'-GGTGATTGCTCACAGGCTGCCG-3', R5'-CACAGCTCTAGGGAACTC-3',共227 bp.反应总体积25 μL,基因组DNA2 μL,引物(25 pmol/μL)各0.8 μL, dNTP2.0 μL、Taq酶(2.5 U/μL)0.4 μL, 10×PCR Buffer(含Mg<sup>2+</sup>)2.5 μL. PCR扩增条件为:94℃预变性5 min, 94℃, 45 s、56℃, 45 s、72℃, 45 s,共35个循环,最后72℃延伸10 min. Tap2379 PCR产物用Bst I内切酶酶切, Tap2 665 PCR产物用Msp I内切酶酶切,均37℃水浴12 h.酶切产物检测及鉴定:3%琼脂糖凝胶电泳鉴定其基因型,用DNA Marker I (100-600 bp)作为参照, Tap2379基因型分3种: G/G、G/A、A/A,片段长度分别

表 1 Tap2379基因多态性与哈族食管癌的关系

病例组基因多态性	对照组基因多态性			合计
	++	+-	--	
+	4	26	38	68
-	10	45	42	97
合计	14	71	80	165

$$\chi^2 = 5.295, g = 1, P < 0.05.$$

表 2 Tap2665基因多态性与哈族食管癌的关系

病例组基因多态性	对照组基因多态性			合计
	++	+-	--	
+	10	36	22	68
-	15	43	39	97
合计	25	79	61	165

$$\chi^2 = 0.130, g = 1, P > 0.05.$$

表 3 哈族食管癌的多因素条件Logistic回归分析

	偏回归系数	标准误	$\chi^2$ 值	P值	OR(95%CI)
食管或胃疾病史(对照 = 无)	0.770	0.352	4.797	0.029	2.160(1.804-4.304)
家族史(对照 = 无)	1.291	0.259	24.803	0.000	3.638(2.188-6.047)
Tap2379(对照 = G/G型)	0.515	0.207	6.185	0.013	1.673(1.115-5.511)

为193+20 bp、213+193+20 bp、213 bp; Tap2665基因型分3种: A/A、A/G、G/G, 片段长度分别为227 bp、227+207+20 bp、207+20 bp.

**统计学处理** 使用Epidata建立数据库, 采用SPSS13.0统计软件进行分析, 以1:2配对资料 $\chi^2$ 检验、P值及OR 95%CI确定tap2665及tap2379基因多态性在病例和对照组中的分布差异, 多因素Logistic回归进行危险度分析, 1:2配对资料 $\chi^2$ 检验涉及的公式<sup>[13]</sup>有:

$n_2$ 的期望值:  $E(n_2) = (n_2 + n_4)/3$ ,  $n_2$ 的方差:  $Var(n_2) = 2(n_2 + n_4)/9$ ,  $n_1$ 的期望值:  $E(n_1) = 2(n_1 + n_3)/3$ ,  $n_1$ 的方差:  $Var(n_1) = 2(n_1 + n_3)/9$ ,  $\chi^2 = [n_2 - E(n_2) + n_1 - E(n_1)]^2 / [Var(n_2) + Var(n_1)]$ ,  $OR = (n_1 + 2n_2) / (2n_3 + n_4)$ .

## 2 结果

**2.1 一般情况** 调查对象均为哈族, 食管癌组165例, 其中男107例, 女58例; 对照组330例, 其中男214例, 女116例, 2组差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.000$ ,  $P = 1.000$ ); 病例组年龄35.33-80.20(平均58.425 ± 9.681)岁, 对照组年龄33.58-80.40(平均58.715 ± 9.432)岁, 2组差异无统计学意义( $t = 0.320$ ,  $P = 0.749$ ). 病例组和对照组性别、年龄分布均衡.

**2.2 Hardy Weinberg遗传平衡检验** 为检验人群Tap2379和Tap2665基因型频率是否达到Hardy Weinberg遗传平衡, 将对照组Tap2379基因型频率观察值与期望值进行比较, 差异无统计学意义( $\chi^2 = 4.771$ ,  $g = 2$ ,  $P > 0.05$ ), 将对照组Tap2665基因型频率观察值与期望值进行比较, 差异无统计学意义( $\chi^2 = 5.672$ ,  $g = 2$ ,  $P > 0.05$ ), 说明Tap2379和Tap2665基因型频率已达到遗传平衡,

具有人群代表性.

**2.3 Tap2379基因多态性与哈族食管癌的关系** 表1所示, 以Tap2379突变杂合型(G/A)和突变纯合型(A/A)为暴露, 用“+”表示; Tap2379野生纯合型(G/G)为非暴露, 以“-”表示. 1:2配对, 每个对子有3例, 1个病例, 2个对照, 三者的暴露情况出现六种可能组合: +++、++-、+-、-+-、--+、---. 经1:2配对资料的卡方检验 $\chi^2 = 5.295$ ,  $P < 0.05$ , 差异有统计学意义, 其OR值为1.570(95%CI: 1.069-2.303).

**2.4 Tap2665基因多态性与哈族食管癌的关系** 表2所示, 以Tap2665突变杂合型(A/G)和突变纯合型(G/G)为暴露, 以“+”表示; Tap2665野生纯合型(A/A)为非暴露, 以“-”表示. 食管癌病例组和对照组Tap2665基因型分布经1:2配对资料的卡方检验,  $\chi^2 = 0.130$ ,  $P > 0.05$ , 差异无统计学意义, 其OR值为1.096(95%CI: 0.667-1.801).

**2.5 哈族食管癌的多因素条件Logistic回归分析** 本研究对年龄、性别、民族、居住地等易成为混杂因素的因子进行了严格匹配, 为进一步控制可能同遗传、免疫相关的其他混杂因素的作用, 将调查因素中的食管或胃疾病史、食管癌家族史与单因素结果分析中有意义的Tap2379基因多态性引入多因素条件Logistic回归模型, 用逐步法进行分析, 结果显示: 有食管或胃疾病史的个体患食管癌的风险是无疾病史的2.160倍(95%CI = 1.804-4.304); 有食管癌家族史的个体患食管癌的风险是无家族史的3.638倍(95%CI = 2.188-6.047); 在控制了食管或胃疾病史、食管癌家族史的情况下, Tap2379位A/A型及A/G型的个体患食管癌

### 创新盘点

本研究首次对新疆哈族食管癌及对照人群Tap2基因多态性进行检测, 分析了哈萨克族食管癌与Tap2基因多态性的关系, 为哈族食管癌的预防及干预策略提供有价值的参考依据.



**同行评价**  
本文得出的结论有利于新疆哈萨克族食管癌防治工作水平的提高,具有较强的现实意义和可读性。

的风险是G/G型的1.673倍(95%CI = 1.115-5.511)。

### 3 讨论

Tap是一种属于ATP结合匣超家族的转运蛋白,由Tap1和Tap2两个亚单位组成,并以异二聚体的形式发挥作用。Tap2基因多态性与多种恶性肿瘤的发生相关,且其与汉族食管癌存在相关性<sup>[11]</sup>。

本研究采用PCR-RFLP技术分别对165例哈萨克族食管癌病例与330例对照中的Tap2基因多态性进行检测,结果提示,在哈萨克族食管癌中, Tap2379处G→A的转变是哈萨克族食管癌的危险因素( $\chi^2 = 5.295$ ,  $P < 0.05$ ), 杂合型(G/A)及突变型(A/A)较野生型(G/G)能够提高个体患病风险1.570倍(95%CI: 1.069-2.303); Tap2665未发现有此作用( $\chi^2 = 0.130$ ,  $P > 0.05$ )。其原因可能是:肿瘤细胞在与宿主的相互作用中,为求生存可建立一系列免疫逃避机制以抵抗机体免疫系统的攻击。其中对MHC-I类分子限制性抗原递呈途径进行干扰则被认为是内源性抗原(肿瘤抗原、病毒抗原等)逃避免疫识别免遭清除的主要机制之一。该机制中,针对抗原加工转运蛋白(TAP)的干扰是一关键环节。Tap2379处及Tap2665处存在2个位点多态性: Tap2379处存在G→A的多态性,该多态性导致编码的Tap2蛋白第379位密码子由GTA置换为ATA,相应的导致氨基酸由缬氨酸(Val)变为异亮氨酸(Ile)。Tap2665处存在A→G的多态性,该多态性导致编码的Tap2蛋白第665位密码子由ACA置换为GCA,相应的导致氨基酸由苏氨酸(Thr)变为丙氨酸(Ala),这种多态性在正常人群中普遍存在。抗原呈递时,肿瘤抗原在抗原呈递细胞(APC)内与泛素结合后经蛋白酶复合物(LMP2/7/10、PA28)水解成长度为8-10个氨基酸的肽段。合适大小的抗原肽结合至TAP胞质侧的抗原结合槽,该阶段无须ATP供能,在两者结合后TAP上的ATP酶便被激活,ATP水解释放能量促使TAP二聚体结构发生改变,跨膜通道开放,胞质侧的抗原肽随即被转位于内质网腔内<sup>[14]</sup>。在tapasin、calnexin、calreticulin的协同作用下与内质网中新合成组装完整的MHC-I  $\alpha/\beta$ 2m分子上的肽结合沟槽结合,形成稳定的MHC-I抗原肽复合物。经分泌途径表达于APC表面,被CD8<sup>+</sup> T细胞识别从而引起免疫应答。Tap基因的缺失或突变可能导致Tap表达下降或功能障碍,当Tap功能障碍或表达下降都将导致肿瘤抗原不能被有效地转运,从而使肿瘤逃逸

免疫监视。

本研究在控制年龄、性别、居住地、食管或胃疾病史、食管癌家族史等因素的基础上仍显示Tap2379位A/A型及A/G型的个体患食管癌的风险是G/G型的1.673倍(95%CI = 1.115-5.511),是对上述原理的一个初步印证。

### 4 参考文献

- 1 王秀梅, 张卫群, 陈波, 何玲, 阿力木太. MTHFR基因多态性与哈萨克族食管癌易感性. 中国公共卫生 2007; 23: 937-938
- 2 陈波, 马彦清, 杨磊, 李锋, 王秀梅. 哈萨克族食管癌与CYP2E1基因多态性及烟酒嗜好的关系. 世界华人消化杂志 2007; 15: 3852-3855
- 3 秦江梅, 王秀梅, 陈波, 杨磊, 李锋, 何玲, 廖佩花. 新疆哈萨克族食管癌与叶酸摄入水平、亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态关系的研究. 中华流行病学杂志 2008; 29: 27-30
- 4 杨兰, 陈玲, 孙振柱, 张海洋, 任涛, 齐妍, 李洪安, 蒋金芳, 梁伟华, 秦江梅, 李锋. LMP7基因多态性与新疆哈萨克族食管鳞癌易感性的研究. 农垦医学 2007; 29: 249-253
- 5 廖佩花, 马彦清, 曾同霞, 陈波, 杨磊, 李锋, 何玲, 秦江梅. 哈萨克族食管癌与HLA-DR9等位基因关系. 中国公共卫生 2009; 25: 798-800
- 6 Lauvau G, Kakimi K, Niedermann G, Ostankovitch M, Yotnda P, Firat H, Chisari FV, van Enderd PM. Human transporters associated with antigen processing (TAPs) select epitope precursor peptides for processing in the endoplasmic reticulum and presentation to T cells. *J Exp Med* 1999; 190: 1227-1240
- 7 Powis SJ, Young LL, Joly E, Barker PJ, Richardson L, Brandt RP, Melief CJ, Howard JC, Butcher GW. The rat cim effect: TAP allele-dependent changes in a class I MHC anchor motif and evidence against C-terminal trimming of peptides in the ER. *Immunity* 1996; 4: 159-165
- 8 Yan G, Shi L, Faustman D. Novel splicing of the human MHC-encoded peptide transporter confers unique properties. *J Immunol* 1999; 162: 852-859
- 9 张笑人, 蔡晓敏. 卵巢癌细胞HLA类分子表达异常和TAP, LMP基因表达的关系. 中国肿瘤生物治疗杂志 1999; 6: 257-260
- 10 海米提·阿布都力木, 杜靖, 拉莱·苏祖克, 郝治. 子宫颈癌鳞癌中MHC-I类呈递抗原相关蛋白表达与HPV16相关性的研究. 临床与实验病理学杂志 2008; 24: 411-415
- 11 Cao B, Tian X, Li Y, Jiang P, Ning T, Xing H, Zhao Y, Zhang C, Shi X, Chen D, Shen Y, Ke Y. LMP7/TAP2 gene polymorphisms and HPV infection in esophageal carcinoma patients from a high incidence area in China. *Carcinogenesis* 2005; 26: 1280-1284
- 12 瞿金霞, 沈冲, 叶冬青. 抗原肽处理相关运载蛋白体基因多态性与1型糖尿病. 中国慢性病预防与控制 2007; 15: 28-31
- 13 许春雷, 千新来, 周小山, 赵清正, 李艳春. HPV16型-E6、E7在食管鳞癌组织与非癌组织中的表达. 癌症 2004; 23: 165-168
- 14 Reits EA, Griekspoor AC, Neefjes J. How does TAP pump peptides? insights from DNA repair and traffic ATPases. *Immunol Today* 2000; 21: 598-600

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕