

• 临床检验研究论著 •

Dicer 基因多态性与肿瘤易感性的 meta 分析^{*}

曾 慧¹, 曾 拓², 龙行华^{1△}

(1. 武汉大学中南医院基因诊断中心, 湖北武汉 430071; 2. 贵州师范大学生命科学院, 贵州贵阳 550001)

摘 要:目的 探讨 MicroRNA 合成通路相关基因 Dicer 基因 rs1057035 T>C 多态性与肿瘤易感性的关系。方法 根据关键词全面搜索中英文数据库, 依据纳入和排除标准筛选合适文献并提取所需数据, 用 RevMan5.1 软件对数据进行合并分析, 计算合并的优势比(OR)及其 95% 置信区间(95%CI)。结果 经筛选总共纳入 10 篇与 Dicer 基因多态性与肿瘤易感性相关的病例对照研究, meta 分析结果显示 Dicer 基因 3' 端非编码区多态性位点 rs1057035 突变碱基 C 能够降低肿瘤的罹患风险, OR=0.92, 95%CI 为 0.87~0.97, P=0.003。结论 Dicer 基因 rs1057035 T>C 可能与肿瘤的易感性存在相关性。

关键词: Dicer 基因; 基因多态性; 肿瘤; meta 分析

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.004

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)21-2872-03

Meta analysis for the association between a genetic variant in gene Dicer and cancer susceptibility^{*}

Zeng Hui¹, Zeng Tuo², Long Xinghua^{1△}

(1. Center for Gene Diagnosis, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan, 430071, China;

2. School of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang, 550001, Guizhou, China)

Abstract: Objective To investigate the association between a genetic variant in Dicer and cancer risk. Methods Both English and Chinese databases were carefully searched comprehensively. Based on the including and excluding criteria, literatures that were eligible were carefully screened and data were retrieved. Meta analysis was performed by RevMan 5.1 software. Pooled odds ratios(OR) and 95% confidential interval(CI) were used for analysis. Results Ten eligible literatures were included in the meta analysis. Meta analysis showed that the mutant allele C in 3' untranslated region polymorphism loci rs1057035 of Dicer gene might reduce the cancer risk(OR=0.92, 95%CI=0.87-0.97, P=0.003). Conclusion The variant rs1057035 T>C in Dicer gene could be related to cancer susceptibility.

Key words: Dicer gene; gene polymorphism; cancer; meta analysis

肿瘤已经成为危害人类健康、导致死亡的最主要疾病之一, 其致死率在发达国家甚至排到第一位^[1]。Dicer 是一种通常含有 6 个结构域的高度保守的多结构域蛋白, 主要在微小 RNA(miRNA) 合成过程中起到重要作用。miRNA 在肿瘤的发生、发展中起到抑癌基因和促癌基因的作用, 而 Dicer 作为 miRNA 合成过程中的重要组分, 参与 miRNA 前体的剪切^[2-3], 所以 Dicer 基因尤其是在单核苷酸多态性上越来越受研究者关注, rs1057035 是位于 Dicer 基因 3' 端非编码区(3' UTR)的单核苷酸多态性位点, 但对此位点多态性与肿瘤易感性的众多报道间存在矛盾。因此, 本研究采用循证医学 meta 分析方法对全面收集到的肿瘤相关病例对照研究进行分析, 以评估 Dicer 基因多态性与肿瘤易感性的具体关系。

1 资料与方法

1.1 文献搜索 在 PubMed、EMBASE 数据库中搜索相关英文文献, 在中国知网、万方数字化期刊以及维普咨询网数据库搜索相关中文文献。将“Dicer”、“cancer”或者“tumor”、“polymorphism”或者“variant”作为英文文献搜索关键词, 将“Dicer”、“肿瘤”、“基因多态性”作为中文文献搜索关键词。搜索年限从数据库建立以来到 2014 年 5 月。

1.2 纳入标准 筛选文献必须达到以下标准才纳入分析: (1) 研究内容为 Dicer 基因多态性与肿瘤易感性相关的病例对照研究; (2) 文献为中文或者英文发表的全文; (3) 可获取等位基因频率或(和)基因型频率的文献; (4) 相同研究或者同一样本

重复发表的研究, 样本量大的研究优先纳入。

1.3 排除标准 满足下列任一标准的文献给予排除: (1) 与 Dicer 基因多态性无关的文献; (2) 文献类型为综述、病例报告、信函、摘要等非病例对照文献; (3) 文献报道资料欠缺且联系作者后无法获得完整资料计算优势比(OR)及其 95% 置信区间(95%CI)的文献; (4) 重复研究; (5) 纳入了有家族血缘关系的肿瘤病例。

1.4 资料提取 由两名研究人员根据排除以及纳入标准独立地对所筛选文献进行数据等资料提取, 对存在争议的经过商议并达成一致。提取资料包括: 第一作者姓名、发表年份、语言、试验人群地域、基因检测方法、肿瘤类型、病例组和对照组基因型频率以及哈迪-温伯格平衡(HWE)。

1.5 文献质量评估 由两名研究人员根据 Newcastle-Ottawa scale(NOS)量表对纳入文献进行质量评估^[4]。NOS 评分系统包括了三大方面: 研究人群选择、病例组和对照组的可比性和结果评价, 满分为 9 分。

1.6 统计学处理 采用 Pearson 拟合度卡方检验来检验对照组基因型分布是否符合 HWE。Dicer 基因多态性与肿瘤易感性的具体关联强弱程度采用 OR 值及其 95%CI 进行衡量, OR 值的统计学意义采用 Z 检验, P<0.05 为关联显著。等位基因模型(C vs. T)、显性模型(CC+CT vs. TT)、隐性模型(CC vs. CT+TT)、CC vs. TT、CT vs. TT 用这 5 种对比模型来评价 Dicer 基因多态性与肿瘤易感性的关系。各研究间的异质性评

^{*} 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30873044, 81272372); 教育部留学回国人员科研启动基金资助项目(教外司留[2011]1139 号)。

作者简介: 曾慧, 女, 硕士研究生, 主要从事肿瘤的分子生物学研究。△ 通讯作者, E-mail: xlong888@yahoo.com。

估采用以卡方检验为基础的 Cochran Q 检验来衡量, $I^2>50\%$ 或者异质性检验 P 值($P_{\text{异质性}}$) <0.10 提示存在显著异质性^[5], 采用随机效应模型进行分析^[6], 反之则采用固定效应模型^[7]。采用漏斗图对纳入文献进行发表偏倚评估。敏感性分析主要通过每次删除一个研究结果来观察结果的稳定性。所有统计学分析均采用 RevMan 5.1 软件(The Nordic Cochrane Centre, The Cochrane Collaboration)对数据进行分析。

表 1 纳入文献基本情况以及 Dicer 基因 rs1057035 基因型分布

作者	年份	地区	语言	肿瘤类型	检测方法	病例组	对照组	P_{HWE}^*	NOS
						TT/CT/CC(n)	TT/CT/CC(n)		
Chen 等 ^[8]	2013	江苏	英文	子宫颈癌	Taqman	1163/293/19	1198/307/23	0.5130	7
Jiang 等 ^[9]	2013	江苏	英文	乳腺癌	Taqman	696/145/7	711/161/9	0.9728	8
Liu 等 ^[10]	2013	江苏	英文	肝癌	Taqman	1063/196/16	2107/538/25	0.1453	4
Ma 等 ^[11]	2012	江苏	英文	头颈癌	Taqman	317/75/2	678/204/9	0.1380	8
Permuth 等 ^[12]	2011	美国	英文	卵巢上皮癌	Illumina infinium 610k	744/844/226	758/863/279	0.1921	8
Slaby 等 ^[13]	2013	捷克	英文	直结肠癌	Taqman	96/82/20	80/91/32	0.4731	6
Sung 等 ^[14]	2011	韩国	英文	乳腺癌	Taqman	—	—	—	5
Wang 等 ^[15]	2012	重庆	英文	食管鳞癌	SNaPshot	207/323/3	222/373/6	<0.01	6
Yuan 等 ^[16]	2013	安徽	英文	膀胱癌	Taqman	548/120/17	577/145/8	0.7408	6
张芹 ^[17]	2012	江苏	中文	胃癌	Taqman	1336/282/26	1500/325/15	0.5701	6

* :HWE 检验 P 值;—:无数据。

2.2 Dicer rs1057035 多态性与肿瘤易感性结果 研究人群结果显示, 等位基因模型(C vs. T)分析纳入 10 篇文献, 其他四种模型均纳入 9 篇文献。等位基因模型(C vs. T)分析中, 异质性检验 $I^2=23\%$, $P_{\text{异质性}}=0.23$, 因此采用固定效应模型, meta 分析结果显示 Dicer 基因 3'UTR rs1057035 T>C 多态性与肿瘤具有显著相关, 等位基因 C 明显降低了肿瘤的易感性, $OR=0.92$, $95\%CI$ 为 $0.87\sim0.97$, $P=0.003$, 见图 1。假设突变基因为显性基因, 则采用显性模型(CC+CT vs. TT)分析, 异质性检验 $I^2=26\%$, $P_{\text{异质性}}=0.21$, 因此本模型同样还是采用固定效应模型, meta 分析结果显示, 在此模型中结果仍显示 Dicer 基因多态性与肿瘤存在显著相关性, $OR=0.91$, $95\%CI$ 为 $0.85\sim0.97$, $P=0.004$ 。假设突变基因为隐性基因时, 则采用隐性模型(CC vs. CT+TT)分析, 异质性分析结果显示, $I^2=49\%$, 但 $P_{\text{异质性}}=0.05<0.1$, 因此采用随机效应模型, 结果并未出现有意义的关联, $OR=1.0$, $95\%CI$ 为 $0.73\sim1.35$, $P=0.980$ 。而在 CC vs. TT 和 CT vs. TT 两种模型中, 前者异质性显著($I^2=50\%$, $P_{\text{异质性}}=0.04$), 后者异质性无统计学意义($I^2=28\%$, $P_{\text{异质性}}=0.19$), 两种模型分析分别采用随机效应模型和固定效应模型。结果显示, CC vs. TT 模型结果显示无意义($OR=0.97$, $95\%CI$ 为 $0.71\sim1.33$, $P=0.840$), 而 CT vs. TT 模型结果显示 Dicer 基因多态性与肿瘤具有显著相关性($OR=0.91$, $95\%CI$ 为 $0.85\sim0.97$, $P=0.005$)。

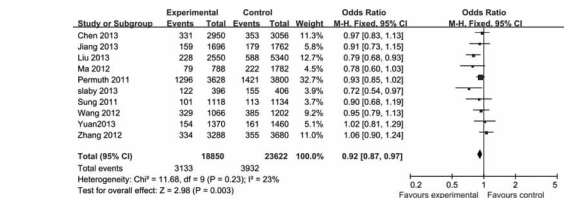


图 1 rs1057035 与肿瘤易感性的关联性(等位基因模型)

2.3 发表偏倚 采用漏斗图对文献发表偏倚进行评估, 本研

2 结 果

2.1 文献搜索结果 根据本文的搜索方案, 总共搜索出中文文献 86 篇, 英文文献 10 篇, 根据本文制定的纳入和排除标准, 10 篇文献符合标准^[8-17]。纳入的文献研究对象累计包括 9 423 例病例, 11 811 例对照, 其中 Sung 等^[14] 只获取等位基因频率, 见表 1。

究中所有 meta 分析的漏斗图显示基本对称, 见图 2。

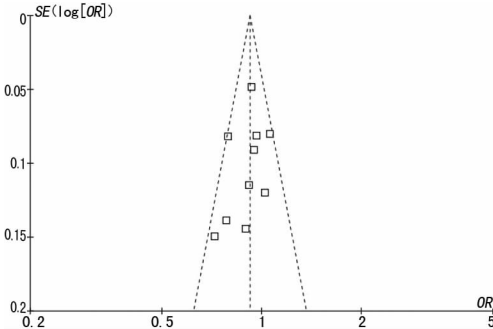


图 2 meta 分析漏斗图(等位基因模型)

2.4 敏感性分析 敏感性分析通过逐次剔除单个研究来进行。敏感性分析结果显示, 在等位基因模型以及隐性模型和 CC vs. TT 模型中均不会引起结果的显著改变, 但隐性模型和 CC vs. TT 模型中会引起异质性的显著改变, 异质性的来源主要是 Yuan 等^[16] 的研究。而显性模型以及 CT vs. TT 模型结果和异质性均出现较为显著地改变, 异质性改变以及导致结果改变的来源主要是 Liu 等^[10] 的研究。

3 讨 论

Dicer 基因位于常染色体 14q32.13, 全长 71.2×10^3 bp, 含有 28 个外显子^[18]。研究表明, Dicer 在乳腺癌^[19-20]、宫颈癌^[21]、卵巢癌^[22-23]、肝癌^[24] 等癌症中表达存在异常。本研究通过全面搜索有关 Dicer 基因多态性与肿瘤易感性关系的病例进行对照研究, 首次运用 meta 分析探讨了 Dicer 基因 rs1057035 多态性与肿瘤易感性的关联。分析结果表明 Dicer rs1057035 T>C 多态性很可能影响了肿瘤的发病风险, 显著降低了肿瘤罹患的风险。

大量的研究表明, miRNA 在肿瘤中既可以充当促癌基因诱导促进肿瘤的形成, 又可充当抑癌基因抑制肿瘤的发生和发展, miRNA 在多种肿瘤中均显示有异常表达^[25-27], 因此 miR-

NA 的合成过程受到干扰就可能导致生理过程的紊乱进而促使正常细胞发展为肿瘤细胞^[28]。而 Dicer 是 miRNA 合成通路中关键的蛋白酶,参与了 miRNA 前提的剪接。Liu 等^[10]的研究就显示 rs1057035 多态性可以改变 microRNA-574-3p 与 Dicer 的 3'UTR 区域的结合。而 microRNA-574-3p 本来就在多种肿瘤中起到促癌基因的作用^[29-30],rs1057035 多态性改变可能增强了 microRNA-574-3p 与 Dicer 的结合力,负反馈调节导致 Dicer 基因表达的降低,进而引起 microRNA-574-3p 的表达下降,从而降低肿瘤的易感性。

虽然本研究经过了合理的设计和实施,但是其中仍存在一些缺陷。首先本研究是基于病例对照研究的 meta 分析,因此可能存在文献选择偏倚。其次,由于纳入文献的数量较小无法对肿瘤进行亚组分析。另外,由于本研究是基于各纳入文献原始数据的分析,因此无法对原始数据中存在的混杂因素如年龄、种族、性别等进行校正。

总之,通过对纳入的 10 篇文献的分析证实 Dicer 基因 3'UTR 区域 rs1057035 T>C 多态性与肿瘤的易感性存在关联,该位点的突变碱基 C 可能降低人群罹患肿瘤的危险性,因而 Dicer 基因因此位点的突变可能是肿瘤的一个重要分子标记物。对于该基因多态性在不同肿瘤中的研究仍然是十分必要且有意义的。

参考文献

- [1] Siegel R, Ward E, Brawley O, et al. The impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(4): 212-236.
- [2] 王雪梅, 王敏. Dicer 在肿瘤中的研究进展[J]. *辽宁医学杂志*, 2011, 25(4): 203-206.
- [3] 杨静, 曾曙光, 刘启才, 等. Dicer 在舌癌细胞中的表达及意义[J]. *广东医学*, 2013, 34(13): 1978-1980.
- [4] Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses[J]. *Euro J Epidemiol*, 2010, 25(9): 603-605.
- [5] Higgins JP, Thompson SG, Deeks JJ, et al. Measuring inconsistency in meta-analyses[J]. *BMJ*, 2003, 327(7414): 557-560.
- [6] DerSimonian R, Kacker R. Random-effects model for meta-analysis of clinical trials; an update[J]. *Contemp Clin Trials*, 2007, 28(2): 105-114.
- [7] Higgins JP, Thompson SG. Quantifying heterogeneity in a meta-analysis[J]. *Stat Med*, 2002, 21(11): 1539-1558.
- [8] Chen JP, Qin ZZ, Pan SD, et al. Genetic variants in RAN, DICER and HIWI of microRNA biogenesis genes and risk of cervical carcinoma in a Chinese population[J]. *Chin J Cancer Res*, 2013, 25(5): 565-571.
- [9] Jiang Y, Chen JP, Wu JP, et al. Evaluation of genetic variants in microRNA biosynthesis genes and risk of breast cancer in Chinese women[J]. *Int J Cancer*, 2013, 133(9): 2216-2224.
- [10] Liu L, An JZ, Liu JB, et al. Potentially functional genetic variants in microRNA processing genes and risk of HBV-related hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52 Suppl 1: 148-154.
- [11] Ma HX, Yuan H, Yuan ZY, et al. Genetic variations in key microRNA processing genes and risk of head and neck cancer: a case-control study in Chinese population[J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47544.
- [12] Permuth JW, Kim DH, Tsai YY, et al. LIN28B polymorphisms influence susceptibility to epithelial ovarian cancer[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(11): 3896-3903.
- [13] Slaby O, Sachlova M, Brezkova V, et al. Identification of microRNAs regulated by isothiocyanates and association of polymorphisms inside their target sites with risk of sporadic colorectal cancer[J]. *Nutr Cancer*, 2013, 65(2): 247-254.
- [14] Sung H, Lee KM, Choi JY, et al. Common genetic polymorphisms of microRNA biogenesis pathway genes and risk of breast cancer: a case-control study in Korea[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 130(3): 939-951.
- [15] Wang K, Li J, Guo H, et al. MiR-196a binding-site SNP regulates RAP1A expression contributing to esophageal squamous cell carcinoma risk and metastasis[J]. *Carcinogenesis*, 2012, 33(11): 2147-2154.
- [16] Yuan L, Chu HY, Wang ML, et al. Genetic variation in DROSHA 3'UTR regulated by hsa-miR-27b is associated with bladder cancer risk[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e81524.
- [17] 张芹. MicroRNA 及其合成通路基因遗传变异与胃癌易感性的关联研究[D]. 南京: 南京医科大学, 2012.
- [18] 曹文明, 王晓稼. Dicer 在肿瘤中的研究进展[J]. *肿瘤学杂志*, 2012, 18(4): 298-301.
- [19] Grelier G, Voirin N, Aya S, et al. Prognostic value of Dicer expression in human breast cancers and association with the mesenchymal phenotype[J]. *Br J Cancer*, 2009, 101(4): 673-683.
- [20] Yan M, Huang HY, Wang T, et al. Dysregulated expression of dicer and drosha in breast cancer[J]. *Pathol Oncol Res*, 2011, 18(2): 343-348.
- [21] Birner P, Schindl M, Obermair A, et al. Overexpression of hypoxia-inducible factor 1 alpha is a marker for an unfavourable prognosis in early-stage invasive cervical cancer[J]. *Cancer Res*, 2000, 60(17): 4693-4696.
- [22] Merritt WM, Lin YG, Han LY, et al. Dicer, Drosha, and outcomes in patients with ovarian cancer[J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(25): 2641-2650.
- [23] Pampalakis G, Diamandis EP, Kaisaros D, et al. Down-regulation of dicer expression in ovarian cancer tissues[J]. *Clin Biochem*, 2010, 43(3): 324-327.
- [24] Wu JF, Shen W, Liu NZ, et al. Down-regulation of Dicer in hepatocellular carcinoma[J]. *Med Oncol*, 2011, 28(3): 804-809.
- [25] Dahiya N, Sherman-Baust CA, Wang TL, et al. MicroRNA expression and identification of putative miRNA targets in ovarian cancer[J]. *PLoS One*, 2008, 3(6): e2436.
- [26] Kogo R, Mimori K, Tanaka F, et al. Clinical significance of miR-146a in gastric cancer cases[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(3): 4277-4284.
- [27] Yu F, Yao H, Zhu P, et al. Let-7 regulates self renewal and tumorigenicity of breast cancer cells[J]. *Cell*, 131(6): 1109-1123.
- [28] Kumar MS, Lu J, Mercer KL, et al. Impaired microRNA processing enhances cellular transformation and tumorigenesis[J]. *Nat Genet*, 2007, 39(5): 673-677.
- [29] Bryant RJ, Pawlowski T, Catto JW, et al. Changes in circulating microRNA levels associated with prostate cancer[J]. *Br J Cancer*, 2012, 106(4): 768-774.
- [30] Cui J, Tian Y, Wen X, et al. Serum microRNA characterization identifies miR-885-5p as a potential marker for detecting liver pathologies[J]. *Clin Sci (Lond)*, 2011, 120(5): 183-193.