

• 论 著 •

人类 ErbB2 转录因子 1 基因多态性与陕西汉族人群胃癌的关系研究

李晓波¹, 范志刚², 李 婷³, 白素琴¹, 张清雯¹

(西安交通大学医学院附属 3201 医院: 1. 微生物免疫检验科分子诊断实验室; 2. 肿瘤内科一病区;
3. 临床医学检验科, 陕西汉中 723000)

摘 要:目的 探讨人类 ErbB2 转录因子 1(TOB1)基因多态性与陕西汉族人群胃癌之间的关系。方法 选取 320 例胃癌患者为胃癌组, 350 例经胃镜检查及病理活检排除胃癌的门诊患者为对照组, 对 TOB1 基因 4 个候选单核苷酸多态性(SNP)位点(rs61482741, rs34700818, rs12601477, rs4626)进行基因分型。分析 TOB1 基因候选 SNP 位点等位基因、基因型、显性模式和隐性模式频率与胃癌风险的关系; 分析 TOB1 基因候选 SNP 位点连锁不平衡情况。结果 胃癌组与对照组 TOB1 基因 4 个候选 SNP 位点基因分型结果均符合哈迪-温伯格平衡($P>0.05$)。TOB1 基因易感位点包括内含子区域 rs61482741 位点 G 等位基因($P=0.011, OR=1.42, 95\%CI=1.15\sim1.78$)、GG 基因型($P=0.016, OR=1.91, 95\%CI=1.18\sim3.23$)、显性模式 GG+CG 基因型($P=0.032, OR=1.44, 95\%CI=1.05\sim1.93$)、隐性模式 GG 基因型($P=0.043, OR=1.68, 95\%CI=1.03\sim2.74$); 外显子区域 rs4626 位点 G 等位基因($P=0.006, OR=1.41, 95\%CI=1.16\sim1.76$)、GG 基因型($P=0.006, OR=1.85, 95\%CI=1.20\sim2.85$)、显性模式 GG+AG 基因型($P=0.023, OR=1.53, 95\%CI=1.10\sim2.16$)、隐性模式 GG 基因型($P=0.028, OR=1.56, 95\%CI=1.09\sim2.21$); 内含子区域 rs34700818 和 rs12601477 位点等位基因、基因型、显性模式和隐性模式频率在胃癌组与对照组间比较, 差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 TOB1 基因内含子区域 rs61482741 和外显子区域 rs4626 位点可能是陕西汉族人群胃癌高风险易感基因位点。

关键词: ErbB2 转录因子 1; 单核苷酸多态性; 胃癌

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2020.12.016

中图法分类号: R735.2

文章编号: 1673-4130(2020)12-1473-06

文献标识码: A

Relationship between human transducer of ErbB2 1 gene polymorphism and gastric cancer in Han population in Shaanxi

LI Xiaobo¹, FAN Zhigang², LI Ting³, BAI Suqin¹, ZHANG Qingwen¹

(1. Molecular Diagnostic Laboratory, Department of Microbiology and Immunology Laboratory;
2. Department of Medical Oncology, Ward NO. 1; 3. Department of Clinical Laboratory, 3201 Hospital
Affiliated to Medical College of Xi'an Jiaotong University, Hanzhong, Shaanxi 723000, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between human transducer of ErbB2 1 (TOB1) gene polymorphism and gastric cancer in Han population in Shaanxi. **Methods** A total of 320 gastric cancer patients were selected as the gastric cancer group, and 350 outpatients with gastroscopy and pathological biopsy to exclude gastric cancer were selected as the control group. Genotyped the 4 candidate single nucleotide polymorphism (SNP) loci of TOB1 gene (rs61482741, rs34700818, rs12601477, rs4626). The relationship between the frequency of alleles, genotypes, dominant and recessive patterns of candidate SNP loci of TOB1 gene and the risk of gastric cancer were analyzed. The linkage disequilibrium of candidate SNP loci of TOB1 gene was analyzed. **Results** The 4 candidate SNP loci of TOB1 gene in the gastric cancer group and the control group all met the Hardy-Weinberg equilibrium ($P>0.05$). The susceptible loci of TOB1 gene included the G allele ($P=0.011, OR=1.42, 95\%CI=1.15-1.78$), GG genotype ($P=0.016, OR=1.91, 95\%CI=1.18-3.23$), dominant pattern GG+CG genotype ($P=0.032, OR=1.44, 95\%CI=1.05-1.93$) and recessive pattern GG genotype ($P=0.043, OR=1.68, 95\%CI=1.03-2.74$) in the intron region rs61482741 loci; the G allele ($P=0.006, OR=1.41, 95\%CI=1.16-1.76$), GG genotype ($P=0.006, OR=1.85, 95\%CI=1.20-2.85$), dominant pattern GG+AG genotype ($P=0.023, OR=1.53, 95\%CI=1.10-2.16$) and recessive pattern GG

作者简介: 李晓波, 男, 副主任技师, 主要从事分子诊断研究。

本文引用格式: 李晓波, 范志刚, 李婷, 等. 人类 ErbB2 转录因子 1 基因多态性与陕西汉族人群胃癌的关系研究[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(12): 1473-1478.

genotype ($P=0.028$, $OR=1.56$, $95\%CI=1.09-2.21$) in the exon region rs4626 loci. The frequency of alleles, genotypes, dominant and recessive patterns of intron regions rs34700818 and rs12601477 loci showed no significant difference between the gastric cancer group and the control group ($P>0.05$). **Conclusion** The intron region rs61482741 loci and exon region rs4626 loci of TOB1 gene may be high-risk susceptible gene loci for gastric cancer in Han population in Shaanxi.

Key words: transducer of ErbB2 1; single nucleotide polymorphism; gastric cancer

胃癌是临床常见肿瘤之一,高发于东亚、西欧及拉丁美洲等地区,其病死率仅次于肺癌和肝癌,5 年生存率仅为 10%~15%^[1]。我国胃癌患者人数约占全球胃癌患者总人数的 50%,为社会及家庭带来了沉重的负担^[2]。近年来研究发现,胃癌是由饮食、环境和遗传因素共同决定的多因素复杂疾病^[3],但具体作用机制尚未完全明确。1996 年,有研究在 ErbB2 受体型蛋白酪氨酸激酶与蛋白相互作用时首次发现了人类 ErbB2 转录因子 1(TOB1)基因,TOB1 蛋白是 BTG/TOB 家族抗增殖蛋白成员之一,其与细胞核内的转录因子结合,调节基因的表达水平^[4]。近期研究发现,TOB1 基因表达差异与胃癌、结肠癌、乳腺癌、肺癌细胞的增殖、侵袭和转移能力有关^[5-7];且 TOB1 基因遗传多态性与胃癌发病风险存在密切关系^[8]。但在陕西汉族人群胃癌的相关研究中还未见类似报道,因此,本文主要研究 TOB1 基因 rs61482741、rs34700818、rs12601477、rs4626 4 个单核苷酸多态性(SNP)位点与陕西汉族人群胃癌的关系,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2018 年 10 月本院肿瘤外科和肿瘤内科经病理活检确诊的胃癌患者 320 例为胃癌组。胃癌临床诊断及病理分期依据《WS316—2010 胃癌诊断标准》^[9]。胃癌组患者 TNM 分期为:0 期 8 例,I 期 97 例,II 期 124 例,III 期 68 例,IV 期 23 例。选取本院经胃镜检查及病理活检排除胃癌的门诊患者 350 例为对照组。纳入标准:同意加入本研究,并签署知情同意书;均为陕西汉族人群,且无血缘关系,无异族通婚史。排除标准:合并心脑血管疾病、糖尿病、肿瘤及其他全身性疾病。两组性别、年龄、体质量指数(BMI)等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。本研究经本院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 采集胃癌组和对照组静脉全血 2 mL,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,混匀后取 200 μ L 全血待测;采用血液基因组 DNA 提取试剂盒(TIANGEN 公司,DP348 离心柱型)提取 DNA,操作步骤严格按照说明书进行;加入 100 μ L pH 8.0 TE DNA 缓冲液洗脱 DNA,采用 NanoDrop 2000 微量紫外分光光度计测量基因组 DNA 水平;采用 pH 8.0 TE DNA 缓冲液调整 DNA 终水平至 50 ng/ μ L;置于-80 $^{\circ}$ C 冰箱保存备用。

表 1 两组一般资料比较					
组别	<i>n</i>	年龄 ($\bar{x}\pm s$,岁)	性别(<i>n</i>)		BMI ($\bar{x}\pm s$,kg/m ²)
			男	女	
胃癌组	320	58.57 $\pm$ 11.10	216	104	25.10 $\pm$ 3.40
对照组	350	57.63 $\pm$ 11.39	230	120	25.32 $\pm$ 4.20
<i>t</i> / χ^2		1.252	0.240		4.875
<i>P</i>		0.211	0.625		0.328

1.2.2 候选 SNP 位点选择,引物与酶切位点设计 本研究使用 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov> 网站筛选 TOB1 基因 SNP 位点,以中国汉族人群数据库最小等位基因频率 >0.05 为筛选标准,结合相关研究^[9],选定 17 号染色体 rs61482741(NM 001243877)、rs34700818(NM 001243877)、rs12601477(NM 001243877)、rs4626(NM 001243877)为本次研究候选 SNP 位点。采用 Primer Premier 5 软件设计 PCR 扩增引物;在 <https://genome.ucsc.edu> 网站使用 In-Silico PCR 软件验证各 SNP 位点 PCR 扩增引物特异性。PCR 扩增引物委托上海生工生物科技有限公司合成。在 <http://watcut.uwaterloo.ca> 网站使用 SNP-RFLP analysis 软件筛选 4 个 SNP 位点限制性片段长度多态性(RFLP)内切酶位点;限制性内切酶 Eam1104I(rs61482741,货号:FD0234)、Csp6I(rs34700818,货号:FD0214)、Tail(rs12601477,货号:FD1144)、Alw26I(rs4626,货号:FD0034)购于 Thermo ScientificTM 公司。见表 2。

1.2.3 候选 SNP 位点基因分型 PCR 扩增:采用 BIO-RAD C1000 梯度 PCR 仪,PCR 扩增试剂为康为世纪公司 2 $\times$ Taq Plus Master Mix (Dye)试剂盒(货号:CW2849L),反应体系为 2 $\times$ Taq Plus Master Mix (Dye) 25 μ L,正向引物(10 μ mol/L)2 μ L,反向引物(10 μ mol/L)2 μ L,模板 DNA 1 μ L(约 50 ng/L),用双蒸馏水补足总体积至 50 μ L。扩增程序:预变性 94 $^{\circ}$ C 2 min;变性 94 $^{\circ}$ C 30 s;退火(rs61482741 为 55 $^{\circ}$ C 30 s,rs34700818 和 rs2601477 为 58 $^{\circ}$ C 30 s,rs4624 为 62 $^{\circ}$ C 30 s);延伸 72 $^{\circ}$ C 30 s 共 30 个循环,延伸 72 $^{\circ}$ C 2 min,12 $^{\circ}$ C 保存。限制性酶切:4 个 SNP 位点分别取扩增产物 5 μ L 加入对应的限制性内切酶[Eam1104I(rs61482741)、Csp6I(rs34700818)、Tail(rs12601477)、Alw26I(rs4626)] 0.5 μ L,10 $\times$ Fast-Digest Buffer 1 μ L,纯水 8.5 μ L 补足总体积至 15 μ L 酶切体系;37 $^{\circ}$ C 孵育 15 min,80 $^{\circ}$ C 灭活 10 min。取

酶切后的产物 5 μ L 加入康为世纪公司 6 $\times$ Loading buffer (CW0610) 1 μ L 混合。2.0% 琼脂糖凝胶(EB 染料) 水平电泳, DNA Marker 选用 DL500 DNA Marker 试剂盒 (Takara 公司, 货号: 3590A), 电压 110 V, 30 min 后使用 BIO-RAD GelDoc XR+ 凝胶成像仪分析结果。各 SNP 位点不同 RFLP 类型片段大小判断标准见表 2。为确认分型结果, 随机抽取 5% 标本通过直接测序法验证基因分型结果准确性。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验; 计

数资料以例数或百分率表示, 计数资料组间比较、哈迪-温伯格平衡检验均采用 χ^2 检验; 采用二元 Logistic 回归进行风险关联分析, 使用年龄、性别、BMI、吸烟史、饮酒史等参数校正两组等位基因与基因型差异; 连锁不平衡区域单倍体型分析采用 Haploview 4.2 软件, 两相邻 SNP 位点分析以 $D' = 1$ 表示两位点完全连锁, $D' = 0$ 表示两位点不存在连锁不平衡, $D' > 0.8$ 表示高度连锁; r^2 在 0 到 1 之间变化反映连锁不平衡程度, r^2 越接近 1 表示两位点连锁程度越高。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 2 PCR 扩增引物与限制性内切酶片段多态性位点实验设计

SNP 位点	扩增引物	功能区域	退火温度(℃)	片段长度(bp)	内切酶	RFLP 类型及片段大小
rs61482741	F-5'-TGGAGGGCTAACTGCTAA-3'	内含子	55	254	Eam1104I	CC:254 bp
	R-5'-AAGGCACTTTCAAGAACTGTAT-3'					CG:254 bp,174 bp,80 bp GG:174 bp,80 bp
rs34700818	F-5'-AAATGTCATCAAAGCGTCAA-3'	内含子	58	277	Csp6I	CC:277 bp
	R-5'-CATGGTCCCGCAGTTCTA-3'					CT:277 bp,149 bp,128 bp TT:149 bp,128 bp
rs12601477	F-5'-CCGCACTGAGAAAGGGTA-3'	内含子	58	467	TatI	AA:310 bp,157 bp
	R-5'-GTAAGGCATTCCAAGGAT-3'					AG:467 bp,310 bp,157 bp GG:467 bp
rs4626	F-5'-TGGGCTTGGCTTGGGTAG-3'	外显子	62	335	Alw26I	AA:335 bp
	R-5'-CAGGCTGGAATTGCTGGT-3'					AG:335 bp,273 bp,62 bp GG:273 bp,62 bp

注:F 为正向引物,R 为反向引物。

2 结 果

2.1 TOB1 基因候选 SNP 位点等位基因频率与胃癌的风险关联结果 胃癌组与对照组 TOB1 基因 4 个候选 SNP 位点 (rs61482741、rs34700818、rs12601477、rs4626) 基因分型结果均符合哈迪-温伯格平衡 ($P > 0.05$), 两组具有群体代表性, 可用于病例-对照研究。TOB1 基因内含子区域 rs61482741 位点 G 等位基因频率胃癌组为 36.4%, 高于对照组的 29.9%, G 等位

基因携带者患胃癌风险是 C 等位基因的 1.42 倍 ($P = 0.011$, 95% $CI = 1.15 \sim 1.78$)。外显子区域 rs4626 位点 G 等位基因频率胃癌组为 50.6%, 高于对照组的 43.1%, G 等位基因携带者患胃癌风险是 A 等位基因的 1.41 倍 ($P = 0.006$, 95% $CI = 1.16 \sim 1.76$)。内含子区域 rs34700818 和 rs12601477 位点等位基因频率在胃癌组与对照组间比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 TOB1 基因候选 SNP 位点等位基因频率与胃癌的风险关联结果 [$n(\%)$]

SNP 位点	位置	等位基因	胃癌组	对照组	OR(95%CI)	P
rs61482741	chr17:50869947	G	233(36.4)	209(29.9)	1.42(1.15~1.78)	0.011
		C	407(63.6)	491(70.1)	1.00	
rs34700818	chr17:50868392	A	236(36.9)	279(39.9)	0.92(0.79~1.23)	0.262
		G	404(63.1)	421(60.1)	1.00	
rs12601477	chr17:50868277	T	222(34.7)	264(37.7)	0.92(0.79~1.23)	0.250
		C	418(65.3)	436(62.3)	1.00	
rs4626	chr17:50863061	G	324(50.6)	302(43.1)	1.41(1.16~1.76)	0.006
		A	316(49.4)	398(56.9)	1.00	

注:chr17 为 17 号染色体;P 和 OR(95%CI)为使用 Logistic 回归分析经年龄、性别、BMI、吸烟史、饮酒史等校正后的数据。

2.2 TOB1 基因候选 SNP 位点基因型、显性模式和隐性模式频率与胃癌的风险关联结果 内含子区域 rs61482741 位点基因型(CC 与 GG)比较中,胃癌组 GG 基因型频率为 13.4%,高于对照组的 8.6%,GG 基因型携带者患胃癌风险是 CC 基因型的 1.91 倍($P=0.016$, $95\%CI=1.18\sim3.23$);在显性模式(GG+CG 与 CC)胃癌组与对照组比较中,GG+CG 基因型携带者患胃癌风险是 CC 基因型的 1.44 倍($P=0.032$, $95\%CI=1.05\sim1.93$);在隐性模式(GG 与 CG+CC)胃癌组与对照组比较中,GG 基因型携带者患胃癌风险是 CG+CC 基因型的 1.68 倍($P=0.043$, $95\%CI=1.03\sim2.74$)。外显子区域 rs4626 位点基因

型(GG 与 AA)比较中,胃癌组 GG 基因型频率为 25.6%,高于对照组的 18.6%,GG 基因型携带者患胃癌风险是 AA 基因型的 1.85 倍($P=0.006$, $95\%CI=1.20\sim2.85$);在显性模式(GG+AG 与 AA)胃癌组与对照组比较中,GG+AG 基因型携带者患胃癌风险是 AA 基因型的 1.53 倍($P=0.023$, $95\%CI=1.10\sim2.16$);在隐性模式(GG 与 AA+AG)胃癌组与对照组比较中,GG 基因型携带者患胃癌风险是 AA+AG 型的 1.56 倍($P=0.028$, $95\%CI=1.09\sim2.21$)。内含子区域 rs34700818 和 rs12601477 位点基因型、显性模式和隐性模式频率在胃癌组与对照组间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 4。

表 4 TOB1 基因候选 SNP 位点基因型、显性模式和隐性模式频率与胃癌的风险关联结果[n(%)]

SNP 位点	分析模式	胃癌组	对照组	OR(95%CI)	P
rs61482741	基因型				
	GG	43(13.4)	30(8.6)	1.91(1.18~3.23)	0.016
	CG	147(45.9)	149(42.6)	1.32(0.96~1.81)	0.113
	CC	130(40.6)	171(48.9)	1.00	
	显性模式				
	GG+CG	190(59.4)	179(51.1)	1.44(1.05~1.93)	0.032
	CC	130(40.6)	171(48.9)	1.00	
	隐性模式				
rs34700818	GG	43(13.4)	30(8.6)	1.68(1.03~2.74)	0.043
	CG+CC	277(86.6)	320(91.4)	1.00	
	基因型				
	AA	47(14.7)	50(14.3)	0.90(0.57~1.41)	0.554
	AG	142(44.4)	179(51.1)	0.76(0.56~1.04)	0.065
	GG	131(40.9)	121(34.6)	1.00	
	显性模式				
	AA+AG	189(59.1)	229(65.4)	0.78(0.58~1.07)	0.089
rs12601477	GG	131(40.9)	121(34.6)	1.00	
	隐性模式				
	AA	47(14.7)	50(14.3)	1.05(0.69~1.61)	0.883
	GG+AG	273(85.3)	300(85.7)	1.00	
	基因型				
	TT	41(12.8)	46(13.1)	0.87(0.54~1.39)	0.499
	CT	140(43.8)	172(49.1)	0.80(0.58~1.09)	0.122
	CC	139(43.4)	132(37.7)	1.00	
rs4626	显性模式				
	TT+CT	181(56.6)	218(62.3)	0.81(0.60~1.09)	0.132
	CC	139(43.4)	132(37.7)	1.00	
	隐性模式				
	TT	41(12.8)	46(13.1)	0.99(0.64~1.55)	0.899
	CC+CT	279(87.2)	304(86.9)	1.00	
	基因型				
	GG	82(25.6)	65(18.6)	1.85(1.20~2.85)	0.006
rs4626	AG	160(50.0)	172(49.1)	1.37(0.96~1.95)	0.104
	AA	78(24.4)	113(32.3)	1.00	
	显性模式				

续表 4 TOB1 基因候选 SNP 位点基因型、显性模式和隐性模式频率与胃癌的风险关联结果[n(%)]

SNP 位点	分析模式	胃癌组	对照组	OR(95%CI)	P
GG+AG AA 隐性模式	GG+AG	242(75.6)	237(67.7)	1.53(1.10~2.16)	0.023
	AA	78(24.4)	113(32.3)	1.00	
	隐性模式				
GG AA+AG	GG	82(25.6)	65(18.6)	1.56(1.09~2.21)	0.028
	AA+AG	238(74.4)	285(81.4)	1.00	

注:P 和 OR(95%CI)为使用 Logistic 回归分析经年龄、性别、BMI、吸烟史、饮酒史等校正后的数据。

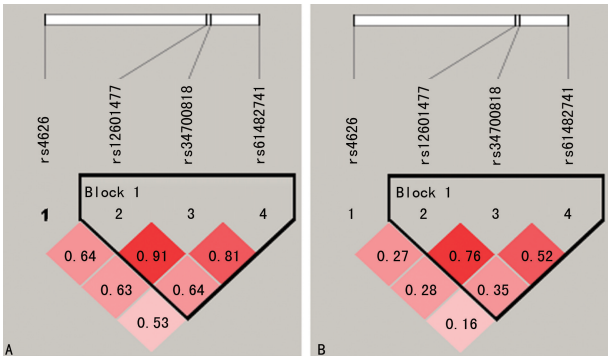
2.3 TOB1 基因候选 SNP 位点连锁不平衡分析 TOB1 基因 4 个 SNP 位点等位基因分型数据结合其在 17 号染色体上的位置信息,使用 Haploview 4.2 软件分析得到 4 个 SNP 位点的连锁不平衡关联图,见图 1。rs61482741、rs34700818 和 rs12601477 位点位于一个连锁不平衡区域,其中 rs34700818 与 rs12601477 位点存在高度连锁关系($D' = 0.91, r^2 = 0.76$),rs61482741 与 rs34700818 位点存在高度连锁关系($D' = 0.81, r^2 = 0.52$)。连锁分析发现,rs61482741、rs34700818 和 rs12601477 组成的单倍体 GAT 型频率胃癌组为 22.7%,低于对照组的 28.9%,GAT 单倍体型携带者患胃癌风险比其他单倍体型低($P = 0.010, OR = 0.72, 95\%CI = 0.57 \sim 0.92$)。单倍体 CAT 型频率胃癌组为 12.8%,高于对照组的 4.1%,CAT 单倍体型携带者患胃癌风险比其他单倍体型高($P < 0.001, OR = 3.44, 95\%CI = 2.19 \sim 5.40$)。见表 5。

3 讨 论

胃癌的发生是遗传因素和环境因素共同作用的结果,其具体致病机制尚不明确,目前越来越多的研究发现遗传因素在胃癌的发生、发展中发挥着重要作用。TOB1 基因具有抑制细胞增殖的能力,TOB1 蛋白低表达可能与胃癌的发生、发展密切相关。

TOB1 基因位于常染色体 17q21.3-22 上,其编码的 TOB1 蛋白相对分子质量为 45 000,由 345 个氨基酸组成,属于 BTG/TOB 蛋白家族^[10-11]。在脊椎动物中,BTG/TOB 蛋白家族包括 BTG1、BTG2/PC3/Tis21、BTG3/ANA、BTG4/PC3B、TOB1/TOB 和 TOB2,其共用一个保守的 BTG 同源氨基末端。研究发现,BTG 区域包含 BoxA 和 BoxB 两个区域,其中 BoxA 具有抗增殖作用,BoxB 是靶分子特异性结合区域^[12]。TOB1 蛋白与人类表皮生长因子受体 2 (HER-2)基因存在高度相关性,TOB1 蛋白抑制癌基因 HER-2 的表达,从而抑制肿瘤细胞增殖^[12]。KUNDU 等^[13]的体外细胞培养研究发现,胃癌 MKN28 和 AGS 细胞系 TOB1 基因过表达可以激活 Smad4 及抑制 β -连环蛋白信号通路,从而抑制肿瘤细胞增殖。后续还发现胃癌 MKN28 和 AGS 细胞系中 TOB1 基因过表达能阻滞 G1 前期,诱导细胞凋亡。另外,SEAN 等^[14]在乳腺癌 MCF-7 细胞系中发现 TOB1 基因过表达能阻滞 G1~S 期,通过瞬时转染在 MCF-7 细胞中增强 TOB1 基因表达时可见细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 P27 表达上调,同时,抗凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-XL 表达下调,在转染 shRNA-TOB1 细胞中结果相反。YU 等^[15]经免疫组织化学分析了 97 例胃癌组织标本,发现 97%的胃癌患者组织中 TOB1 基因表达缺失或显著下降,蛋白印迹试验发现 3/4 的胃癌细胞系中存在 TOB1 蛋白表达下降,磷酸化 TOB1 蛋白比例明显升高。

近年来,越来越多的证据表明遗传变异在大多数疾病中起到关键作用,特别是在肿瘤疾病中^[16]。作为常见的突变形式,多个基因 SNP 位点在研究中被证明与胃癌相关^[17-18]。WANG 等^[8]收集了 506 例胃癌患者和 548 例健康对照者标本,研究了 TOB1 基因 11 个候选 SNP 位点与东北汉族胃癌患病风险的关联,结果发现,与健康对照者比较,rs12601477、rs4626、rs34700818 和 rs61482741 等位点在胃癌患者中存在显



注:A 为 TOB1 基因 SNP 位点连锁不平衡区域 D' 值,rs12601477 和 rs34700818 的 D' 为 0.91,rs12601477 和 rs61482741 的 D' 为 0.64,rs34700818 和 rs61482741 的 D' 为 0.81;B 为 TOB1 基因 SNP 位点连锁不平衡区域 r^2 值,rs12601477 和 rs34700818 的 r^2 为 0.76,rs12601477 和 rs61482741 的 r^2 为 0.35,rs34700818 和 rs61482741 的 r^2 为 0.52。

图 1 TOB1 基因候选 SNP 位点连锁不平衡关联图

表 5 rs61482741、rs34700818 和 rs12601477 单倍体频率在两组中的分布情况比较 (%)

单倍体型	胃癌组	对照组	χ^2	OR(95%CI)	P
CGC	54.4	57.3	1.152	0.89(0.72~1.10)	0.283
GAT	22.7	28.9	6.718	0.72(0.57~0.92)	0.010
CAT	12.8	4.1	31.898	3.44(2.19~5.40)	<0.001
GGC	3.5	4.1	0.374	0.84(0.48~1.48)	0.541
GAA	3.7	3.4	0.077	1.09(0.61~1.94)	0.781
CGT	2.2	1.6	0.544	1.34(0.62~2.90)	0.461

著性差异,并且 rs12601477、rs34700818、rs12950561、rs9903822、rs11656976、rs7221352 和 rs61482741 位点在一个连锁不平衡区域,rs4626、rs35220381、rs12649115 位点在另一个连锁不平衡区域。本研究在陕西汉族胃癌患者中验证发现,rs12601477、rs34700818、rs61482741 位点位于一个连锁不平衡区域,与东北汉族结果一致,但东北汉族胃癌患者 rs12601477 和 rs34700818 位点的 D' 为 0.99,高于陕西汉族的 0.91;而变化最显著的是 rs12601477 和 rs61482741 位点,东北汉族胃癌患者 D' 为 0.96,本研究陕西汉族 D' 下降到 0.64。

本研究在等位基因比较中发现,内含子区域 rs61482741 位点 G 等位基因频率胃癌组为 36.4%,高于对照组的 29.9%,G 等位基因携带者患胃癌风险是 C 等位基因的 1.42 倍,与 WANG 等^[8] 研究结果一致;在显性模式(GG+CG 与 CC)胃癌组与对照组比较中,GG+CG 基因型携带者患胃癌风险是 CC 基因型的 1.44 倍。在东北汉族人群中,rs61482741 位点 GG+CG 基因型被证明与 T3~T4 期胃癌风险增加有关^[8]。外显子区域 rs4626 位点显性模式(GG+AG 与 AA)胃癌组与对照组比较中,GG+AG 基因型携带者患胃癌风险是 AA 基因型的 1.53 倍。在东北汉族人群的研究中证实,rs4626 位点显性模式 GG+AG 基因型与 58 岁以上人群患胃癌的风险增加相关^[8]。

4 结 论

本研究初步验证了人类 TOB1 基因 SNP 位点 rs61482741 和 rs4626 可能是陕西汉族人群胃癌的易感基因位点,且涉及的多种遗传模型为后续研究提供了方向,也为胃癌的早期预防提供了生物学标志物。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(1): 7-34.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [3] CAI M, DAI S, CHEN W, et al. Environmental factors, seven GWAS-identified susceptibility loci, and risk of gastric cancer and its precursors in a Chinese population[J]. Cancer Med, 2017, 6(3): 708-720.
- [4] MATSUDA S, KAWAMURA T, TSUZUKU J, OHSUGI M, et al. TOB, a novel protein that interacts with p185erbB2, is associated with anti-proliferative activity [J]. Oncogene, 1996, 12(4): 705-713.
- [5] GUAN R, PENG L, WANG D, et al. Decreased TOB1 expression and increased phosphorylation of nuclear TOB1 promotes gastric cancer [J]. Oncotarget, 2017, 8(43): 75243-75253.
- [6] ZHANG Y W, NASTO R E, VARGHESE R, et al. Acquisition of estrogen independence induces TOB1-related mechanisms supporting breast cancer cell proliferation [J]. Oncogene, 2016, 35(13): 1643-1656.
- [7] JIAO Y, SUN K K, ZHAO L, et al. Suppression of human lung cancer cell proliferation and metastasis in vitro by the transducer of ErbB-2, 1 (TOB1) [J]. Acta Pharmacol Sin, 2012, 33(2): 250-260.
- [8] WANG H, HAO H, GUO H, et al. Association between the SNPs of the TOB1 gene and gastric cancer risk in the Chinese Han population of northeast China [J]. J Cancer, 2018, 9(8): 1371-1378.
- [9] 中华人民共和国卫生部. WS316—2010 胃癌诊断标准 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [10] YU J C, ZHOU H, BAI J, et al. Human gastric adenocarcinoma allelotyping on chromosomes 17 and 18 [J]. J Int Med Res, 2008, 36(2): 279-288.
- [11] YU J, ZHOU H, JIN Y, et al. Three distinct regions of allelic deletion on chromosome 17 involved in sporadic gastric cancer [J]. Hepatogastroenterology, 2008, 55(85): 1487-1491.
- [12] WINKLER G S. The mammalian anti-proliferative BTG/TOB protein family [J]. J Cell Physiol, 2010, 222(1): 66-72.
- [13] KUNDU J, WAHAB S M, KUNDU J K, et al. TOB1 induces apoptosis and inhibits proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells by activating Smad4 and inhibiting β -catenin signaling [J]. Int J Oncol, 2012, 41(3): 839-848.
- [14] SEAN O, HUA S U, TAO Z, et al. TOB suppresses breast cancer tumorigenesis [J]. Int J Cancer, 2009, 125(8): 1805-1813.
- [15] YU J, LIU P, CUI X, et al. Identification of novel subregions of LOH in gastric cancer and analysis of the HIC1 and TOB1 tumor suppressor genes in these subregions [J]. Mol Cells, 2011, 32(1): 47-55.
- [16] LANI P, CHRISTIAN P, YI L, et al. Association of cancer susceptibility variants with risk of multiple primary cancers: the population architecture using genomics and epidemiology study [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2014, 23(11): 2568-2578.
- [17] CHI H, YOUNAN W, HAO F, et al. Association analysis of DACT1 genetic variants and gastric cancer risk in a Chinese Han population: a case-control study [J]. Onco Targets Ther, 2016, 9: 5975-5983.
- [18] WU G C, ZHANG Z T. Genetic association of single nucleotide polymorphisms in p53 pathway with gastric cancer risk in a Chinese Han population [J]. Med Oncol, 2015, 32(1): 401-405.