

北京地区汉族人群胃癌发生与 EBV A73 基因 外显子区 A157154C 多态性的相关性研究*

靳庆娥, 苏建荣 (首都医科大学附属北京友谊医院检验科, 北京 100050)

摘要:目的 探讨北京地区 EBV A73 基因外显子区 A157154C 多态性与胃癌的相关性。方法 采用病例-对照研究方法,以聚合酶链反应(PCR)联合 DNA 测序检测 29 例 EBV IgM+胃癌患者和 40 例同期健康体检者 EBV A73 基因外显子 157154 nt 位点的基因型和等位基因频率。结果 胃癌组 A157154C C 等位基因频率和 CC 基因型频率明显高于对照组($\chi^2=8.997, P=0.003$; $\chi^2=6.801, P=0.033$)。C 等位基因携带者患胃癌的风险是 A 等位基因携带者的 2.95 倍(OR=2.95, 95% CI=1.44~6.04)。胃癌组男性患者 C 等位基因频率显著高于女性患者($\chi^2=5.392, P=0.020$)。两组间比较显示 A157154C 不同基因型与年龄、性别、吸烟、饮酒和临床分期均无相关性。结论 EBV A73 基因 A157154C CA+CC 基因型可能是中国北方地区汉族人群胃癌发病的危险因素。

关键词:胃癌; EBV A73 基因; 单核苷酸多态性

中图分类号: R735.2; R730.43 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2018)03-005-03

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.03.002

Association of Epstein-Barr Virus A73 Gene Exon A157154C Single Nucleotide Polymorphism with Gastric Carcinoma in Han Population of Beijing Area

JIN Qing-e, SU Jian-rong (Department of Clinical Laboratory,

Capital Medical University Affiliated Beijing Friendship Hospital, Beijing 100050, China)

Abstract: Objective To investigate the association of EBV A73 gene exon VB variant A157154C and gastric carcinoma (GC) in Han population of Beijing Area. **Methods** In this case control study, genotypes of EBV A73 (157154 nt) were determined by polymerase chain reaction combined with DNA sequencing in blood samples of 29 GC cases with EBV IgM+ and 40 age-matched healthy controls. Genotype and allele frequency distributions were determined and analyzed. **Results** The frequencies of the C allele and CC genotype of A157154C variant were significantly higher in the GC group than that in the control group ($\chi^2=8.997, P=0.003$; $\chi^2=6.801, P=0.033$). Compared with A allele carriers, C allele carriers of A157154C had a 2.95-fold risk of developing GC (OR=2.95; 95% CI=1.44~6.04). The C allele frequency in male patients was significantly higher than that in female ones within the GC group ($\chi^2=5.392, P=0.020$). There was no significant difference found between the GC and control groups in age, gender, smoking, alcohol intake or clinical stages by stratified analyses. **Conclusion** Suggested a novel association of EBV A73 gene A157154C SNP with GC in a Han population of Northern China.

Keywords: gastric carcinoma; EBV A73 gene; single nucleotide polymorphism

胃癌(gastric carcinoma, GC)是起源于胃黏膜上皮的恶性肿瘤,在我国发病率很高。EBV 作为一种特殊的环境致病因子与很多疾病发生相关,研究表明 10% GC 患者都与 EBV 感染密切相关, Bam H I A 区右向转录物家族(Bam H I A rightward transcripts, BARTs)是 EBV 感染时表达最为广泛的家族之一,尤其在上皮源性肿瘤如鼻咽癌、胃癌中高表达^[1]。A73 基因是该家族的主要成员之一,已有研究表明 EBV A73 基因高频重组的 157154nt 与鼻咽癌密切相关^[2~4]。

目前还鲜见 EBV A73 基因 157154nt 与 GC 相关性的报道,本文以北京地区汉族人群为研究对象,探讨 EBV A73 基因 A157154 C 位点单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与 GC 易感性的关系,为临床实践提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2011 年 7 月~2014 年 6 月临床病理明确诊断为 GC 且 EBV IgM 抗体阳性的 29 例患者作为实验组,男性 20 例,女性 9 例,平均年龄 51.4 ± 8.8 岁,既往有实体瘤病史或转移癌患

* 基金项目:首都医科大学基础-临床科研合作基金(编号:12JL35)。

作者简介:靳庆娥(1981—),女,博士,助理研究员,主要从事病原体分子诊断工作, E-mail: jinqinge@163.com。

通讯作者:苏建荣,女,主任医师,博士生导师,主要从事感染性疾病诊断方法及病原微生物耐药机制研究, E-mail: youyilab@163.com。

者除外。取同期 40 例健康体检者作为对照组,男性 23 例,女性 17 例,平均年龄 45.4 ± 12.2 岁。所有研究对象均为汉族。所有入组人员均签署知情同意书。

1.2 试剂和仪器 血浆基因组 DNA 提取试剂盒购自 QIAGEN 公司,参照文献[3]设计合成引物,引物由生工生物(上海)股份公司合成。恒温水浴锅,高速离心机和 Bio-Rad 梯度 PCR 扩增仪。

1.3 方法 采集空腹 EDTA 抗凝静脉血 1 ml,应用试剂盒提取基因组 DNA,采用 PCR 联合 DNA 测序方法检测各标本 A157154 C 位点的基因型。

1.4 统计学分析 采用 SPSS16.0 统计软件分析处理。基因型分布采用 χ^2 遗传平衡吻合度 Hardy-Weinberg 检验。组间比较采用 Pearson χ^2 或独立样本 t 检验。采用非条件 Logistic 回归模型分析 SNP 与 GC 易感性,采用多因素 Logistic 回归模型分析该 SNP 与风险因素(年龄、性别、吸烟、饮酒、临床分期)相关性。采用比值比(odds ratio,

OR)和 95% 置信区间(confidence interval, CI)表示相对危险度。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验结果 GC 组和对照组基因型分布经检验均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律,具有群体代表性($\chi^2 = 1.828, P = 0.176; \chi^2 = 3.432, P = 0.064$)。

2.2 GC 组和对照组 157154 nt 位点基因型和等位基因分布差异 与对照组相比,GC 组基因型和等位基因分布频率差异均有统计学意义($\chi^2 = 6.801, P = 0.033; \chi^2 = 8.997, P = 0.003$)。

2.3 157154 nt SNP 与 GC 遗传易感性关系 见表 1。携带 C 等位基因的个体罹患 GC 的风险是携带 A 等位基因个体的 2.95 倍(OR = 2.95; 95% CI = 1.44 ~ 6.04); CA + CC 基因型个体罹患 GC 的风险是纯合野生型 AA 的 3.75 倍(OR = 3.75; 95% CI = 1.10 ~ 12.89)。

表 1 GC 组和对照组 A73 基因 A157154C 位点基因型和等位基因分布频率及与 GC 的易感性[n(%)]

SNP	GC 组(n=29)	对照组(n=40)	OR(95% CI)	校正 OR(95% CI) ^a	P ^a
157154 nt	AA	4(13.8)	1.00	1.00	
	CA	9(31.0)	2.41(0.60~9.63)	2.58(0.58~11.41)	0.212
	CC	16(55.2)	5.46(1.42~20.91)	4.45(1.10~18.20)	0.038
	CA+CC	25(86.2)	3.75(1.10~12.89)	3.39(0.95~12.03)	0.036
Allele	A	17(29.3)	1.00	1.00	
	C	41(70.7)	2.95(1.44~6.04)	2.80(1.34~5.87)	0.006

注:^a在非条件 Logistic 回归模型中,OR 和 P 值均经年龄校正。

2.4 GC 患者 157154 nt 等位基因与性别的关系 GC 组男性患者 C 等位基因分布频率显著高于女性患者(80.8% vs 50.0%),差异有统计学意义($\chi^2 = 5.392, P = 0.020$)。

2.5 157154 nt SNP 与临床参数的相关性 见表 2。经统计学分析显示 157154 nt 多态性与年龄、性别、吸烟、饮酒和临床分期均无相关性($\chi^2 = 0.077, P = 0.781$)。

表 2 GC 组和对照组 A73 基因 A157154C 位点基因型频率的分层分析结果[n(%)]

项 目	GC 组(n=29)		对照组(n=40)		OR(95% CI)	P
	AA	CA+CC	AA	CA+CC	CA+CC vs AA	
年龄(岁)	≤60	3(12.5)	21(87.5)	14(38.9)	22(61.1)	0.416
	>60	1(20.0)	4(80.0)	1(25.0)	3(75.0)	
性别	男	2(10.0)	18(90.0)	10(43.5)	13(56.5)	0.209
	女	2(22.2)	7(77.8)	5(29.4)	12(70.6)	
是否吸烟	否	3(25.0)	9(75.0)	8(38.1)	13(61.9)	0.623
	是	1(5.9)	16(94.1)	7(36.8)	12(63.2)	
是否饮酒	否	0(0.0)	13(100.0)	10(38.5)	16(61.5)	0.151
	是	4(25.0)	12(75.0)	5(35.7)	9(64.3)	

3 讨论 EBV 是一种普遍存在的人类疱疹病毒,最初在 Burkitt 淋巴瘤细胞系中被发现,据统计世

界上 90% 的人口都曾感染过该病毒,但大多数为无症状隐性感染。在一些 T、B 淋巴细胞和上皮源

性肿瘤中常发现 EBV 的 DNA 片段^[5],并且在 EBV 感染的细胞中均发现 BARTs 家族基因的表达,而 A73 是该家族的重要成员,该胞质蛋白能与 RACK1 相互作用调控 PKC 信号通路和 Src 酪氨酸激酶,提示 A73 与肿瘤增殖调控密切相关。A73 基因可能参与了 EBV 转化和潜伏复制过程,并且其基因遗传变异与肿瘤的侵袭相关^[6]。

A73 基因共有 3 个 SNP 位点,其中外显子 EBV A157154C 位点呈高频变异。目前对 A73 基因遗传变异主要集中于鼻咽癌研究,全基因组关联研究(genome wide association studies, GWAS)和文献报道都提示 A73 基因是与鼻咽癌相关的新遗传位点^[3]。研究表明云南地区 A73 基因 157154 nt 多态 C 等位基因携带者患鼻咽癌的风险是 A 等位基因的 22.685 倍,提示 CC 基因型可能是鼻咽癌的危险因素^[4]。而 A73 基因 A157154C 与 EBV 感染相关 GC(EBVaGC)易感性的关系鲜见报道。本文中我们采用病例对照研究方法分析该 SNP 与 EBV IgM+ GC 发病风险的相关性。结果表明 GC 组 A73 基因 157154 nt CC 基因型和 C 等位基因分布频率都明显高于对照组,差异均有统计学意义。与携带 AA 野生基因型相比,携带 CA 或 CC 基因型者罹患 GC 的风险分别增加了 2.41 倍和 5.46 倍,这提示 A73 基因 CC 基因型可能是 GC 发生的危险因素。男性 GC 患者 CC 基因型频率显著高于女性患者,这为流行病学数据显示 GC 发病率男性明显高于女性又提供了表观遗传学依据。统计学分析显示 GC 患者 157154 nt 与年龄、性别、吸烟和饮酒等临床参数都无相关性,该结论受标本例数的限制,也间接表明单一 SNP 位点与其他环境因素协同效应在 GC 的发展中起重要作用。

本文结果提示 A157154C 位点是 GC 发病的

危险因素,所以在疾病的预防治疗上要充分考虑人群易感性的重要性,如果能准确预测 GC 高危人群将有助于提高 GC 的早期诊断率。要明确 A73 基因外显子 A157154C 位点 SNP 与 GC 的确切关系尚需增大样本例数和扩大地域范围及种族限制。

参考文献:

- [1] Smith PR, de Jesus O, Turner D, et al. Structure and coding content of CST (BART) family RNAs of Epstein-Barr virus[J]. J Virol, 2000, 74(7): 3082-3092.
- [2] Bei JX, Li Y, Jia WH, et al. A genome-wide association study of nasopharyngeal carcinoma identifies three new susceptibility loci[J]. Nature Genet, 2010, 42(7): 599-603.
- [3] Shen JJ, Niu WN, Zhou M, et al. Association of Epstein-Barr virus A73 gene polymorphism with nasopharyngeal carcinoma[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2015, 19(4): 187-190.
- [4] 韩明睿, 蒋永新, 郝芳, 等. EB 病毒 A73 基因多态性与云南地区鼻咽癌相关性研究[J]. 医学与哲学, 2013, 34(2B): 65-68.
Han MR, Jiang YX, Hao F, et al. Research progress in the EBV A73 gene polymorphism with nasopharyngeal carcinoma in Yunnan[J]. Medicine and Philosophy, 2013, 34(2B): 65-68.
- [5] 喻晶, 王琳, 卢丽华, 等. 淋巴细胞及血浆 EB 病毒 DNA 在 EBV 感染相关疾病中表达的研究[J]. 现代检验医学杂志, 2017, 32(6): 15-18.
Yu J, Wang L, Lu LH, et al. Expression of Epstein-Barr virus DNA in peripheral blood lymphocytes and plasma in patients with EBV-associated diseases[J]. J Mod Lab Med, 2017, 32(6): 15-18.
- [6] Shinozaki-Ushiku A, Kunita A, Fukayama M. Update on Epstein-Barr virus and gastric cancer (review)[J]. Int J Oncol, 2015, 46(4): 1421-1434.

收稿日期: 2018-02-07

修回日期: 2018-03-08

(上接 4 页)

- [10] Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology [J]. Genet Med, 2015, 17(5): 405-424.
- [11] Kruegel J, Rubel D, Gross O. Alport syndrome-insights from basic and clinical research[J]. Nat Rev Nephrol, 2013, 9(3): 170-178.
- [12] Wu Y, Hu PZ, Xu HB, et al. A novel heterozygous COL4A4 missense mutation in a Chinese family with focal segmental glomerulosclerosis[J]. J Cell Mol Med, 2016, 20(12): 2328-2332.

- [13] Kashtan C. Alport syndrome: facts and opinions[J]. F1000 Res, 2017, 6: 50.
- [14] Uchida N, Kumagai N, Nozu K, et al. Early RAAS blockade exerts renoprotective effects in autosomal recessive Alport syndrome[J]. Tohoku J Exp Med, 2016, 240(3): 251-257.
- [15] Chew C, Lennon R. Basement membrane defects in genetic kidney diseases[J]. Front Pediatr, 2018, 6: 11.
- [16] Li A, Gao EZ, Cui YX, et al. Three novel heterozygous COL4A4 mutations result in three different collagen type IV kidney disease phenotypes[J]. Cytogenet Genome Res, 2018, 154(1): 30-36.

收稿日期: 2018-03-08

修回日期: 2018-04-21