

中国汉族结直肠癌患者 UGT1A1*28 基因多态性分析

滕祥云, 王新梦, 刘 维, 樊 慧, 李 琦

(长沙三济生物科技有限公司, 长沙 410205)

摘要: **目的** 研究汉族人群中结直肠癌 (colorectal cancer) 患者尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1 (UGT1A1)*28 基因多态性的分布情况。 **方法** 收集 2016~2017 年合作医疗机构 505 例汉族结直肠癌患者血液标本, 通过焦磷酸测序技术检测 UGT1A1*28 基因型。根据性别、年龄和地区因素对患者进行分组, 统计分析各组间结直肠癌患者 UGT1A1*28 基因型及等位基因分布情况。 **结果** 在 505 例结直肠癌患者中, UGT1A1*28 三种基因型 TA6/TA6, TA6/TA7 和 TA7/TA7 频率分别为 74.26%, 22.97% 和 2.77%。根据性别分组, 患者 UGT1A1*28 的 3 种基因型在不同性别结直肠癌患者中的分布差异无统计学意义 ($\chi^2=3.276$, $P>0.05$)。根据年龄分为 ≤ 44 岁, 45~59 岁, 60~74 岁和 75~89 岁四组, 患者 UGT1A1*28 的 3 种基因型在不同年龄结直肠癌患者中的分布差异无统计学意义 ($P>0.05$)。根据地区分为山东、辽宁、江苏、上海和甘肃五组, 患者 UGT1A1*28 的 3 种基因型在不同地区结直肠癌患者中的分布差异无统计学意义 ($P>0.05$)。 **结论** 中国汉族结直肠癌患者 UGT1A1*28 基因多态性主要为 TA6/TA6 和 UGT1A1*28 的 3 种基因型分布与中国汉族结直肠癌患者性别、年龄分层和地区差异无关。

关键词: 结直肠癌; 尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶; 基因多态性

中图分类号: R735.3; R730.43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2019) 06-020-04

doi:10.3969 / j.issn.1671-7414.2019.06.005

Polymorphism of UGT1A1*28 Gene in Han Patients with Colorectal Cancer in China

TENG Xiang-yun, WANG Xin-meng, LIU Wei, FAN Hui, LI Qi

(Changsha Sanji Biotechnology Co. Ltd., Changsha 410205, China)

Abstract: Objective To investigate the distribution of UGT1A1*28 gene polymorphism in patients with colorectal cancer in Han population. **Methods** Blood samples from 505 Han patients with colorectal cancer from 2016 to 2017 in cooperative medical institutions were collected, the UGT1A1*28 genotype was detected by pyrosequencing, and the groups were divided according to gender, age and regional factors. The distribution of UGT1A1*28 genotypes and alleles in colorectal cancer patients were statistically analyzed. **Results** In 505 cases of colorectal cancer, the TA6/TA6, TA6/TA7 and TA7/TA7 frequencies of UGT1A1*28 were 74.26%, 22.97% and 2.77%, respectively. There was no statistically significant in the distribution of UGT1A1*28 genotypes among patients of different genders with colorectal cancer ($\chi^2=3.276$, $P>0.05$). According to age grouping ≤ 44 y, 45~59 y, 60~74 y and 75~89 y, the distribution of UGT1A1*28 genotypes in patients of different ages with colorectal cancer was no statistically significant ($P>0.05$). According to the regional grouping of Shandong, Liaoning, Jiangsu, Shanghai and Gansu, the distribution of UGT1A1*28 genotypes in patients of different regions with colorectal cancer was no statistically significant ($P>0.05$). **Conclusion** The UGT1A1*28 gene polymorphism in Chinese Han colorectal cancer patients was mainly TA6/TA6, and the three genotype distributions of UGT1A1*28 were not related to gender, age stratification and regional differences in Chinese Han colorectal cancer patients.

Keywords: colorectal cancer; uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A1 (UGT1A1); gene polymorphism

结直肠癌是一种常见的消化道恶性肿瘤, 在我国结直肠癌的死亡率位于全部恶性肿瘤死亡率的前 6 位, 对人类健康产生严重影响^[1]。伊立替康是一种治疗转移性结直肠癌的特效药, 与氟尿嘧啶联合使用, 可以延长结直肠癌患者的生存期^[2]。但是, 伊立替康因其毒副作用的影响 (尤其是严重的延迟

性腹泻以及骨髓抑制), 使用受到一定的限制。而引起伊立替康产生毒副作用发生的机制可能与遗传基因多态性有关。

尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 (uridine diphosphate glucuronosyltransferase, UGT) 是体内重要第 II 相生物转化代谢酶, 分为 UGT1 和 UGT2

作者简介: 滕祥云 (1980-), 男, 博士, 研发总监, 主要从事精准医学基因检测方面的研究, E-mail: 1339035044@qq.com。

通信作者: 李琦, 男, 硕士, 经理, 主要从事医学信息分析工作, E-mail: liqi@3gbio.com.cn。

两个家族。UGT1A1 启动子区存在大量的 TA 碱基重复序列 (TA6 或 TA7)，随着 TA 重复序列数目的增加，UGT1A1 表达下降，将导致伊立替康代谢产物 SN-38 在体内过度蓄积，从而引发严重的毒副作用^[3]。美国食品药品监督管理局 (FDA) 在伊立替康和 UGT1A1 的标签中表明，UGT1A1*28 纯合基因型 (TA7/ TA7) 使用伊立替康进行治疗时，中性粒细胞减少增加。

有研究发现，UGT1A1 基因多态性的分布在不同种族间存在明显差异^[4]，为进一步明确中国汉族结直肠癌人群 UGT1A1*28 位点基因多态性的分布特点及差异，本研究采用焦磷酸测序技术对 505 例汉族结直肠癌患者 UGT1A1*28 的基因多态性进行检测，比较不同性别、年龄段及地区汉族结直肠癌患者中 UGT1A1*28 基因型分布特点，为结直肠癌人群的 UGT1A1*28 基因筛查及个体化用药提供理论依据，有效减少临床延迟性腹泻以及骨髓抑制等不良事件的发生。

1 材料与方法

1.1 研究对象 505 例结直肠癌患者的临床样本来自全国 49 家医疗机构于 2016~2017 年送检的血液标本，每份样本均通过病理检查确诊。其中，男性 311 例，平均年龄 58.10 ± 11.19 岁；女性 194 例，平均年龄 56.19 ± 11.73 岁。

1.2 试剂与仪器 DNA 提取试剂盒、测序反应通用试剂盒 (长沙三济生物科技有限公司)；焦磷酸测序试剂、Qiagen PyroMark Q24 焦磷酸测序仪 (德

国凯杰公司)；PCR 扩增引物和焦磷酸测序引物 (上海捷瑞生物工程有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 基因组 DNA 的提取：按照 DNA 提取试剂盒说明书进行。

1.3.2 引物设计：见表 1。采用 PyroMark Assay Design Software2.0(德国凯杰公司) 软件设计 PCR 引物和焦磷酸测序引物。

表 1 UGT1A1*28 位点的引物序列

引物 5' → 3'	Tm 值	产物长度
F : 5'Biotin-TGAAAGTGAAGTCCCTGCTACC	60℃	257bp
R: TCCACTGGGATCAACAGTATCTT		
S: TCGCCCTCTCCTACTTATA		

1.3.3 焦磷酸测序法检测 UGT1A1*28 的基因多态性：按照仪器和试剂盒说明书进行 PCR 扩增、焦磷酸测序，并通过 Qiagen PyroMark Q24(德国凯杰公司) 软件对测序结果进行分析，根据出峰的碱基和峰高判断 UGT1A1*28 的基因型。

1.4 统计学分析 应用 SPSS18.0 统计软件处理数据，计量资料采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，计数资料以频数表述，组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确检验，Hardy-Weinberg 遗传平衡检验采用 Person χ^2 检验。

2 结果

2.1 PCR 产物测序结果 采用焦磷酸测序技术，检测 UGT1A1*28 基因多态性，其代表性结果见图 1。

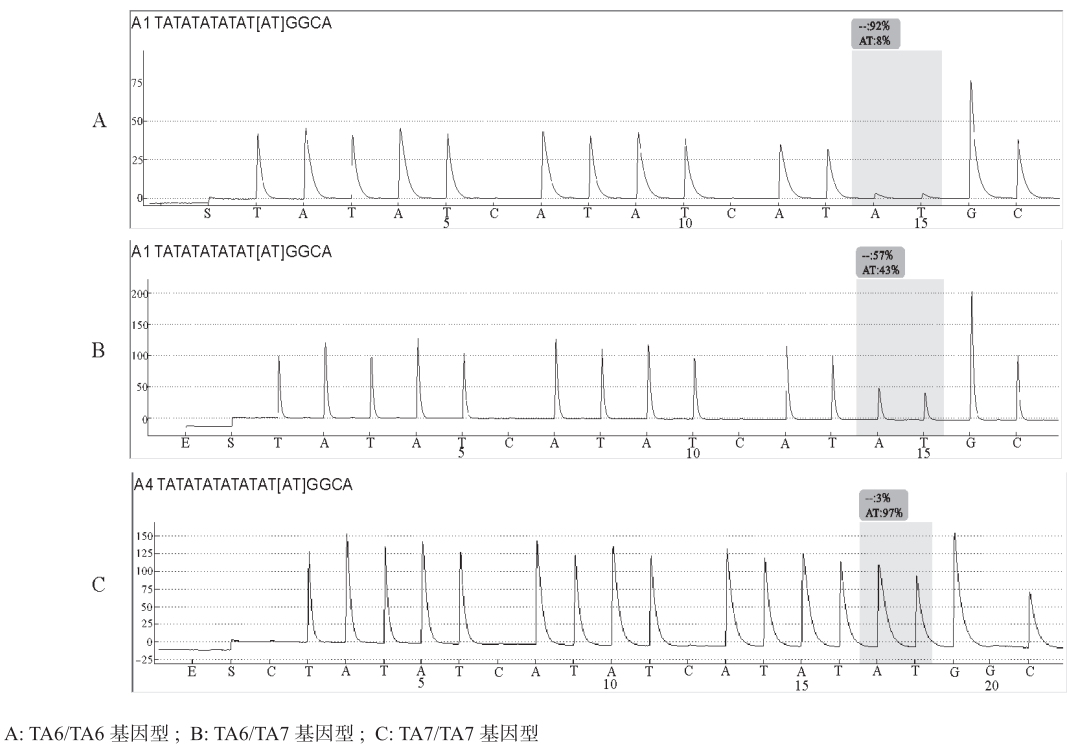


图 1 UGT1A1*28 焦磷酸测序结果

2.2 UGT1A1*28 基因型分布情况 UGT1A1*28 的 3 种基因型分布频率为 TA6/TA6: 74.26%, TA6/TA7: 22.97%, TA7/TA7: 2.77%, 等位基因的分布频率为 TA6: 85.74%, TA7: 14.26%, 检测结果符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($\chi^2=1.84$, $P>0.05$)。

2.3 中国汉族结直肠癌患者 UGT1A1*28 基因型和等位基因分布 505 例结直肠癌患者中,

UGT1A1*28 野生型 (TA6/TA6)、杂合型 (TA6/TA7)、突变纯合型 (TA7/TA7) 频率分别为 74.26%, 22.97% 和 2.77%。通过对不同性别、年龄段以及地区 UGT1A1*28 基因型和等位基因数据进行分析发现, 基因型分布和等位基因分布与患者性别、年龄以及地区之间差异无统计学意义 ($P>0.05$), 见表 2。

表 2 不同性别、年龄段、地区结直肠癌患者 UGT1A1*28 基因型分布情况

类别	n	基因型			χ^2	P	等位基因		χ^2	P
		TA6/TA6	TA6/TA7	TA7/TA7			TA6	TA7		
性别 男	311	225(72.35)	79(25.40)	7(2.25)	3.276	0.194	529(85.05)	93(14.95)	0.639	0.46
女	194	150(77.32)	37(19.07)	7(3.61)			337(86.86)	51(13.14)		
年龄段 ≤ 44 岁	70	51(72.86)	18(25.71)	1(1.43)	-	0.538	120(85.71)	20(14.29)	0.746	0.862
45~59 岁	180	137(76.11)	39(21.67)	4(2.22)			313(86.94)	47(13.06)		
60~74 岁	233	170(72.96)	56(24.03)	7(3.01)			396(84.98)	70(15.02)		
75~89 岁	22	17(77.27)	3(13.64)	2(9.09)			37(84.09)	7(15.91)		
地区 山东省	288	213(73.96)	70(24.30)	5(1.74)	-	0.152	496(86.11)	80(13.89)	-	0.535
辽宁省	73	51(69.86)	20(27.40)	2(2.74)			122(83.56)	24(16.44)		
江苏省	58	45(77.59)	11(18.96)	2(3.45)			101(87.07)	15(12.93)		
上海市	53	42(79.45)	10(18.87)	1(1.88)			94(88.68)	12(11.32)		
甘肃省	33	24(72.73)	5(15.15)	4(12.12)			53(80.30)	13(19.70)		

3 讨论

UGT1A1 基因位于染色体 2q37, 是尿苷酸二磷酸葡萄糖醛酸转移酶中的一员, 其基因产物的主要作用是醛酸化各种外源性药物以及内生底物葡萄糖, 使其更好地被清除, 包括伊立替康、胆红素等。伊立替康 (Irinotecan, CPT-11), 是一种 DNA 拓扑异构酶 I 抑制剂, 是目前治疗转移性结直肠癌最有效的化疗药物之一^[5], 主要在肝脏内进行代谢, 形成活性代谢产物 7-乙基-10-羟基喜树碱 (SN-38), SN-38 的细胞毒性大大增强, 从而导致毒副作用的发生。UGT1A1 是伊立替康的重要代谢酶, 该基因位点存在 50 多种基因多态性, 其中以 UGT1A1*6 和 UGT1A1*28 与伊立替康疗效和安全性研究为主^[6-7], UGT1A1*28 启动子区存在大量的 TA 碱基重复序列, 随着 TA 重复序列数目的增加, UGT1A1 酶活性下降, 使得 SN-38 在体内蓄积, 从而引发严重的毒副反应^[3]。2005 年 FDA 批准 UGT1A1*28 用于预测伊立替康的不良反应。

结直肠癌是一种世界范围的消化道常见恶性肿瘤, 发病率位于第三位^[8]。在我国, 结直肠癌

的发病率约为 37.6/10 万, 死亡率约为 19.1/10 万^[9], 并且呈现上升趋势, 成为中国社会重要的健康负担, 尤其是在较为发达的省份^[10]。以往研究表明 UGT1A1*28 基因多态性与伊立替康疗效及不良反应密切相关, 并且 UGT1A1*28 基因多态性有地域和种族差异。本次研究中中国汉族结直肠癌患者中 UGT1A1*28 的 3 种基因型发生率与国内汉族人群相关报道结果一致^[11-12]。UGT1A1*28 的基因型分布频率为 TA6/TA6: 74.26%, TA6/TA7: 22.97%, TA7/TA7: 2.77%, 等位基因的分布频率为 TA6: 85.74%, TA7: 14.26%。UGT1A1*28 的 3 种基因型及两种等位基因分布与中国汉族结直肠癌患者的性别、年龄、地区差异无关。但在新疆维吾尔族人群^[13]中, TA6 与 TA7 两种等位基因的频率分别为 30.93% 和 69.07%, 两者之间存在差异性。与国外研究相比, 泰国^[14]UGT1A1*28 基因频率分布与我国相似, 沙特阿拉伯^[15]、秘鲁和墨西哥^[16]TA7 等位基因频率高于我国。由此可知, UGT1A1*28 基因频率存在种族差异性, 相比于白种人, TA7 等位基因在中国人群中的频率较低。

综上所述, UGT1A1 是伊立替康重要的代谢酶,

UGT1A1*28 基因多态性可以预测伊立替康不良反应,但是 UGT1A1*28 在白种人群中突变率较高,而在中国人群中突变率较低,在对中国人使用伊立替康治疗时,是否需要检测 UGT1A1*28 多态性,尚无一致的定论。本次研究还存在很多局限性,本次研究结果还需要更广泛的地区,更大的样本量进一步验证。

参考文献:

- [1] WANG Zhengxu, CAO Junxia, LIU Zhiping, et al. Combination of chemotherapy and immunotherapy for colon cancer in China: A meta-analysis[J]. World Journal of Gastroenterology, 2014, 20(4):1095-1106.
- [2] DOUILLARD J Y, CUNNINGHAM D, ROTH A D, et al. Irinotecan combined with fluorouracil compared with fluorouracil alone as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: a multicentre randomised trial[J]. The Lancet, 2000, 355(9209): 1041-1047.
- [3] 赵荣荣, 牛作兴. UGT1A1*28 基因多态性与伊立替康疗效和毒副作用相关性研究进展 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2013, 20(9): 717-720.
ZHAO Rongrong, NIU Zuoxing. Association of UGT1A1*28 polymorphism with the efficacy and toxicity of irinotecan chemotherapy [J]. Chinese J Cancer Prev Treat, 2013, 20(9): 717-720.
- [4] OHNO S, NAKAJIN S. Determination of mRNA expression of human UDP-glucuronosyltransferases and application for localization in various human tissues by real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction[J]. Drug Metab Dispos, 2009, 37(1):32-40.
- [5] 张君孝, 王晨亮, 黄美近, 等. UGT1A1 基因多态性与转移性结直肠癌伊立替康化疗毒性及疗效的关系 [J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(5): 823-828.
ZHANG Junxiao, WANG Chenliang, HUANG Meijin, et al. Relationship between UGT1A1 gene polymorphisms and toxicity/efficacy of irinotecan-based chemotherapy in metastatic colorectal cancer[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2012, 28(5): 823-828.
- [6] LIU Xinghua, LU Jun, DUAN Wei, et al. Predictive value of UGT1A1*28 polymorphism in irinotecan-based chemotherapy[J]. Journal of Cancer, 2017, 8(4): 691-703.
- [7] RIERA P, SALAZAR J, VIRGILI A C, et al. Relevance of CYP3A4*20, UGT1A1*37 and UGT1A1*28 variants in irinotecan - induced severe toxicity[J]. British Journal of Clinical Pharmacology, 2018, 84(6): 1389-1392.
- [8] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2017[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2017, 67(1):7-30.
- [9] CHEN Wanqing, ZHENG Rongshou, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA: A Cancer Journal for Clinicians, 2016, 66(2):115-132.
- [10] 吴泽华, 邓艳红. 结直肠癌流行病学东西方差异对肿瘤部位的影响 [J]. 中国癌症防治杂志, 2017, 9(5): 356-360.
WU Zehua, DENG Yanhong. Effect of epidemiological differences between east and west on tumor location in colorectal cancer[J]. Chinese Journal of Oncology Prevention and Treatment, 2017, 9(5): 356-360.
- [11] LI Guoyin, DUAN Jianfeng, LI Wanjun, et al. DPYD* 2A/*5A/*9A and UGT1A1*6/*28 polymorphisms in Chinese colorectal cancer patients[J]. Journal of Cancer Research and Therapeutics, 2016, 12(2): 782-786.
- [12] 黄春锦, 张浩. 282 例结直肠癌患者 UGT1A1*28 基因多态性分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(9): 1173-1175.
HUANG Chunjin, ZHANG Hao. Analysis on gene polymorphism of UGT1A1*28 in 282 cases of colorectal cancer[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2015, 36(9): 1173-1175.
- [13] 孙建, 姜婷, 田宇, 等. 维吾尔族结直肠癌患者 UGT1A1 基因多态性与伊立替康毒性的相关性 [J]. 中国医学创新, 2017, 14(20): 65-68.
SUN Jian, JIANG Ting, TIAN Yu, et al. Correlation of UGT1A1 gene polymorphism and irinotecan toxicity in uygur colorectal carcinoma patients[J]. Medical Innovation of China, 2017, 14(20): 65-68.
- [14] ATASILP C, CHANSRIWONG P, SIRACHAINAN E, et al. Correlation of UGT1A1*28 and*6 polymorphisms with irinotecan-induced neutropenia in Thai colorectal cancer patients[J]. Drug Metabolism and Pharmacokinetics, 2016, 31(1): 90-94.
- [15] ALKHARFY K M, ALGHAMDI A M, BAGULB K M, et al. Distribution of selected gene polymorphisms of UGT1A1 in a Saudi population[J]. Archives of Medical Science, 2013, 9(4): 731-738.
- [16] MARSH S, KING C R, VAN BOOVEN D J, et al. Pharmacogenomic assessment of Mexican and Peruvian populations[J]. Pharmacogenomics, 2015, 16(5): 441-448.

收稿日期: 2019-09-03

修回日期: 2019-10-08