

## ·流行病学·

# E-钙黏蛋白基因 3'-UTR + 54C/T 多态与肺癌的发病风险

牛朝旭<sup>1,2</sup>, 周荣秒<sup>1</sup>, 王 娜<sup>1</sup>, 段亚男<sup>1</sup>, 孙东兰<sup>1</sup>, 李 琰<sup>1</sup>

## Correlation between CDH1 3'-UTR + 54C/T Polymorphism and Risk of Lung Cancer

NIU Chao-xu<sup>1,2</sup>, ZHOU Rong-miao<sup>1</sup>, WANG Na<sup>1</sup>, DUAN Ya-nan<sup>1</sup>, SUN Dong-lan<sup>1</sup>, LI Yan<sup>1</sup>

1. Laboratory of Biochemistry, The Fourth Affiliated Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China; 2. Department of Surgery, Hebei Youai Hospital

Corresponding Author: LI Yan, E-mail: lykx1962@yahoo.com.cn

**Abstract:** Objective This study was designed to investigate the correlation between CDH1 3'-UTR + 54 locus C/T SNP and susceptibility to lung cancer in Northern Chinese population. Methods 3'-UTR + 54 locus C/T SNP was genotyped by polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) analysis in 194 lung cancer patients and 223 healthy controls. Results The number of the smokers in lung cancer patients was significantly higher than that in healthy controls. Smoking may increase the risk of developing lung cancer [odds ratio (*OR*) = 3.03, 95% (*CI*) = 2.03~4.54]. The C allele frequency of CDH1 in lung cancer patients was 85.6%, which was significantly higher than that in healthy controls ( $\chi^2 = 10.09$ ,  $P = 0.00$ ). The T/T, T/C and C/C genotype frequencies of lung cancer patients and healthy controls were 1.0%, 26.8%, 72.2% and 4.0%, 38.1%, 57.8%, respectively. Compared with individuals with T/T or T/C genotype, individuals with C/C genotype had significantly higher risk in developing lung cancer (*OR* = 1.89, 95% *CI* = 1.25~2.85). Conclusion The C/C genotype of CDH1 3'-UTR + 54 locus might be a potential risk for lung cancer development in Northern Chinese population.

**Key words:** Lung cancer; CDH1; Polymorphism; Susceptibility

**摘要:** 目的 探讨 CDH1 基因 3'-UTR + 54C/T SNP 与中国北方人群肺癌遗传易感性的关系。方法 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)分析方法检测 194 名肺癌患者和 223 名健康对照组 3'-UTR + 54C/T SNP 的基因型。结果 肺癌患者组吸烟个体比例明显高于对照组,吸烟可增加肺癌的发病风险(*OR* = 3.03, 95% *CI* = 2.03~4.54)。肺癌患者组 C 等位基因频率(85.6%)显著高于对照组(76.9%),两组相比差异有统计学意义( $\chi^2 = 10.09$ ,  $P = 0.00$ );肺癌患者组与对照组 T/T、T/C 和 C/C 基因型频率分别为 1.0%、26.8%、72.2% 和 4.0%、38.1%、57.8%,与 T/T 或 T/C 基因型相比,携带 C/C 基因型可显著增加肺癌的发病风险(*OR* = 1.89, 95% *CI* = 1.25~2.85)。结论 CDH1 基因 3'-UTR + 54C/C 基因型可能是中国北方人群肺癌发病的潜在危险因素。

**关键词:** 肺癌;CDH1;基因多态性;肿瘤易感性

中图分类号:R730.231;R734.2 文献标识码:A 文章编号:1000-8578(2008)12-0900-04

## 0 引言

E-钙黏蛋白(E-cadherin, CDH1)基因定位于 16q 22.1。其产物为 Ca<sup>2+</sup> 依赖性细胞黏附分子,几乎表达于所有的上皮细胞,对于介导同型细胞的黏

附、维持上皮细胞的极性和完整性至关重要。研究表明,E-钙黏蛋白表达缺失不但与肿瘤细胞的去分化和侵袭性相关,而且可激活 WNT/-catenin 信号转导途径、尤其是通过刺激 C-myc 等致癌基因过表达最终导致肿瘤的发生。CDH1 基因被认为是抑癌基因,其 3'-UTR (untranslated region) 的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)可能引起 mRNA 稳定性和蛋白表达水平的改变<sup>[1]</sup>。Wu 等<sup>[2]</sup>报道,CDH1 基因 3'-UTR 终止密码子下游 54bp 处 C/T 多态与前列腺癌的发病风险相关,本研究应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性

收稿日期:2008-02-28;修回日期:2008-05-07

基金项目:河北省科技厅科技支撑课题资助项目(08276101D-41)

作者单位:1.050011 石家庄,河北医科大学第四医院分子生物学研究室;2. 河北友爱医院外科

通信作者:李琰, E-mail:lykx1962@yahoo.com.cn

作者简介:牛朝旭(1970-),男,学士,副主任医师,主要从事肿瘤病因学研究

(PCR-RFLP) 分析方法 , 探讨中国北方人群 CDH1 基因 3'-UTR + 54C/T SNP 对肺癌遗传易感性的影响。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

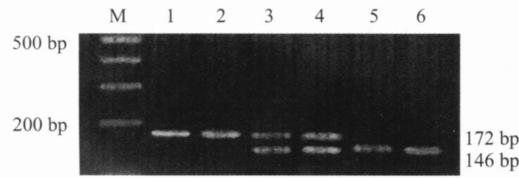
194 例为 2001 ~ 2006 年在河北医科大学第四医院胸外科住院并经外科手术和病理学确诊的原发性肺癌患者。均为北方人 , 术前没有经过任何抗癌治疗 , 无职业性致癌因素接触史。病理类型按 WHO《肺肿瘤组织学分型》(2000 年) 标准进行分类 , 其中鳞癌 91 例 , 腺癌 103 例。223 名健康对照为同一时间在河北医科大学第四医院体检的健康成人。肺癌组与对照组的性别、民族、籍贯分布相似 , 无血缘关系。现吸烟或曾吸烟每天 5 支以上并持续两年或两年以上者定义为吸烟个体。

### 1.2 标本采集及外周血白细胞 DNA 的提取

所有研究个体均采集静脉血 5 ml , 经枸橼酸钠抗凝 ,<sup>4</sup> 冰箱保存。采血后一周内 , 以蛋白酶 K 消化 - 饱和氯化钠盐析法提取外周血白细胞 DNA<sup>[3]</sup>。

### 1.3 CDH1 SNP 基因分型

CDH1 基因型检测应用 PCR-RFLP 方法进行。PCR 反应体系为 20  $\mu$ l , 其中模板 DNA 100 ng , 10  $\times$  PCR 缓冲液 (15 mmol/L MgCl<sub>2</sub>) 2.4  $\mu$ l , Taq DNA 聚合酶 1 u (天根公司 , 北京) , 10 mmol/L dNTPs 0.4  $\mu$ l , 5  $\mu$ mol/L 上游引物 (5'-CA GA- CAAA GACCA GGACTA T-3') 和下游引物 (5'-AA GGG A GCT GAAAA ACCACCA GCCAC-3') 各 1.5  $\mu$ l 。PCR 反应条件为 : 94 预变性 5 min 后 , 然后 94 变性 45 s , 57 退火 45 s , 72 延伸 45 s , 35 个循环后 , 72 继续延伸 7 min 。PCR 产物经限制性内切酶 Pmac I (生工公司 , 上海) 于 37 酶切 16 h 后 , 进行 3% 琼脂糖凝胶电泳。C/C 基因型存在 Pmac I 的识别位点产生 146 bp 和 26 bp 两条 DNA 片段 , 而 T/T 基因型缺乏 Pmac I 的识别位点保持原有 PCR 后的 172 bp 的片段 , T/C 基因型则显示为 172 、 146 和 26 bp 3 条片段 , 见图 1 。



M: 100 bp ladder ; 1: PCR product ; 2: T/T; 3、4: T/C; 5、6: C/C

图 1 CDH1 3'-UTR + 54C/T SNP 基因型分型

Fig 1 CDH1 3'-UTR + 54C/T SNP genotype

为进行基因型检测的质量控制 , 每一批 PCR 反应均以灭菌蒸馏水替代模板 DNA 作为阴性对照 , 并随机挑取 10 % 的 DNA 标本进行重复实验。

### 1.4 统计学方法

统计分析采用 SPSS 11.5 版软件包进行。经卡方检验比较基因型频率的观察值与预期值 , 进行 Hardy-Weinberg 平衡分析。病例组和对照组的 CDH1 等位基因频率及基因型分布比较采用行  $\times$  列表的卡方检验。应用非条件 Logistic 回归模型计算相对风险度的比值比 OR 及其 95 % 可信区间 CI , 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般特征

肺癌组与对照组之间的性别、年龄构成相似 ( $P > 0.05$ ) 。肺癌患者组吸烟个体比例为 68.0 % , 显著高于对照组 41.3 % ( $\chi^2 = 29.94$  ,  $P = 0.00$ ) , 吸烟可增加肺癌的发病风险 ( $OR = 3.04$  , 95 % CI = 2.03 ~ 4.54) , 见表 1 。肺鳞癌患者中吸烟个体比例为 82.4 % , 肺腺癌患者中吸烟个体比例为 55.3 % , 吸烟可明显增加肺鳞癌的发病风险 ( $\chi^2 = 16.29$  ,  $P = 0.00$  ,  $OR = 3.78$  , 95 % CI = 1.95 ~ 7.36) 。

表 1 肺癌组和对照组人口学分布及 CDH1 3'-UTR + 54C/T 等位基因型频率

Tab 1 Characteristic and distribution of CDH1 3'-UTR + 54C/T allele type among lung cancer patients and healthy controls

Group	Controls n (%)	Cases n (%)	P <sup>a</sup>
Sex			
Male	167 (74.9)	155 (79.9)	
Female	56 (25.1)	39 (20.1)	0.22
Mean age in years (SD)	56.8 (7.37)	58.3 (9.06)	0.56 <sup>b</sup>
Smoking status			
Smoker	92 (41.3)	132 (68.0)	
Non-smoker	131 (58.7)	62 (32.0)	0.00 <sup>c</sup>
CDH1 C/T SNP			
C	343 (76.9)	332 (85.6)	
T	103 (23.1)	56 (14.4)	0.00 <sup>d</sup>

a:  $P$  value for Chi-square test ; b:  $P$  value for t test ; c: odds ratio ( $OR$ ) = 3.03 , 95 % confidence interval (CI) = 2.03 ~ 4.54 , d: odds ratio ( $OR$ ) = 1.78 , 95 % confidence interval (CI) = 1.24 ~ 2.55

所有标本均成功进行了基因型分型 , 所有重复分型结果均与原结果相符。经卡方检验 , 对照组 CDH1 SNP 基因型分布符合 Hardy-Weinberg 平衡 ( $P > 0.05$ ) 。

### 2.2 CDH1 基因 3'-UTR + 54C/T SNP 与肺癌的关系

CDH1 基因 C 和 T 等位基因频率分布在肺癌组与对照组之间差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 10.09$ ,  $P = 0.00$ ) , 在肺癌组中 C 等位基因频率为 85.6 % , 显著高于对照组 76.9 % , 见表 1 。 CDH1 基因 T/ T 、 T/ C 、 C/ C 基因型频率在肺癌组及对照组中分别为 1.0 % 、 26.8 % 、 72.2 % 和 4.0 % 、 38.1 % 、 57.8 % , 与 T/ T 或 T/ C 基因型比较 , 携带 C/ C 基因型可显著增加肺癌的发病风险 ( $OR = 1.89$ , 95 % CI = 1.25 ~ 2.85) 。按吸烟状况进行分层分析发现 , 与 T/ T 或 T/ C 基因型比较 , 携带 C/ C 基因型可显著增加吸烟和非吸烟个体肺癌的发病风险 ( $OR = 1.91$  和 1.63 , 95 % CI = 1.01 ~ 3.63 和 1.01 ~ 2.88) 。按病理类型进行分层分析显示 , 与 T/ T 或 T/ C 基因型比较 , 携带 C/ C 基因型可显著增加个体肺鳞癌与肺腺癌的发病风险 ( $OR = 1.82$  和 1.95 , 95 % CI = 1.08 ~ 3.09 和 1.17 ~ 3.25) , 见表 2 。

### 3 讨论

长期大量吸烟是肺癌的一个重要致病因素。吸烟与不同肺癌细胞类型都有剂量-效应关系 , 但在联系强度上 , 吸烟与鳞癌和小细胞癌的关系明显高于腺癌 , 我们的研究结果显示 , 吸烟明显增加肺癌的发病风险 , 在肺鳞癌中的作用尤为显著 , 再次证明了上述观点。

本研究结果显示 , 与 T/ T 或 T/ C 基因型相比 , C/ C 基因型可显著增加肺癌的发病风险 , 即携带 C 等位基因的发病风险是携带 T 等位基因的 1.78 倍 , 与 Wu 等<sup>[2]</sup> 的一项研究结果一致。Wu 等的研究包括 96 例前列腺癌患者和 114 名健康对照个体 , 患者组 C/ C 基因型频率明显高于健康对照组 , 携带 C 等

位基因可以增加前列腺癌的发病风险 ( $OR = 2.896$  , 95 % CI = 1.908 ~ 4.396) 。另外 , 本课题组关于卵巢癌的研究表明 , 与 T/ T 或 T/ C 基因型相比 , C/ C 基因型可显著增加卵巢癌的发病风险 ( $OR = 1.85$  , 95 % CI = 1.27 ~ 2.69)<sup>[4]</sup> 。上述结果均提示 , CDH1 3 -UTR C/ C 基因型可能是多种肿瘤发病的潜在危险因素。

3 -UTR 为基因的非编码区 , 虽不编码蛋白 , 但可能与基因的转录活性和 mRNA 的稳定性相关。且越来越多的研究证明非编码区的多态性可能影响蛋白表达。如 : Keirsebilck 等<sup>[5]</sup> 体外研究显示 , CDH1 3 -UTR 存在的某一特殊序列导致其 mRNA 不稳定性增加 , 从而引起该蛋白表达下降 ; TYMS 基因 3 -UTR 6bp 插入 / 缺失多态可影响 TYMS mRNA 的稳定性和翻译<sup>[1]</sup> ; Wang 等<sup>[6]</sup> 关于 CYP2A6 的研究表明 , 3 -UTR 多态性位点在维持其 mRNA 的稳定性和蛋白表达方面发挥重要作用。虽然目前 CDH1 3 -UTR +54C/ T SNP 与基因表达的关系尚不明确 , 但本课题组采用免疫组织化学方法检测携带 3 -UTR +54C/ T SNP 位点不同基因型的卵巢癌患者癌组织 E- 钙黏蛋白的表达情况 , 结果显示 : C/ C 基因型患者癌组织蛋白的表达明显低于 T 等位基因 (C/ T 或 T/ T 基因型) 携带者 , 表明该多态位点可能引起蛋白表达水平的改变<sup>[4]</sup> 。 E- 钙黏蛋白作为抑癌基因 , 其抑癌作用主要通过加强细胞间的黏附和抑制细胞增殖两方面来完成<sup>[7]</sup> , E- 钙黏蛋白水平降低 , 细胞间黏附性下降 , 而细胞的黏附状态与细胞周期调控相关。当细胞处于有害的环境因素的影响下 , 细胞会启动阻抑机制阻止细胞周期的进行 ; 而非正常黏附状态的细胞在接受有害因素

表 2 CDH1 3 -UTR +54C/ T SNP 与肺癌发病风险的相关性

Tab 2 Correlation of CDH1 3 -UTR +54C/ T SNP to susceptibility of lung cancer

Group	T/ T n(%)	T/ C n(%)	T/ T + T/ C n(%)	C/ C n(%)	OR (95 % CI) <sup>a</sup>
Overall					
Controls	9(4.0)	85(38.1)	94(42.1)	129(57.8)	1.00
Cases	2(1.0)	52(26.8)	54(27.8)	140(72.2)	1.89(1.25 ~ 2.85)
Non-smoker					
Controls	7(5.3)	53(40.5)	60(45.8)	71(54.2)	1.00
Cases	1(1.6)	18(29.0)	19(30.6)	43(69.4)	1.91(1.01 ~ 3.63)
Smoker					
Controls	2(2.2)	32(34.8)	34(37.0)	58(63.0)	1.00
Cases	1(0.8)	34(25.8)	35(26.6)	97(73.4)	1.63(1.01 ~ 2.88)
Pathological type					
SCC	0(0.0)	26(28.6)	26(28.6)	65(71.4)	1.82(1.08 ~ 3.09)
AC	2(1.9)	26(25.2)	28(27.1)	75(72.9)	1.95(1.17 ~ 3.25)

SCC: Squamous cell carcinoma ; AC: Adenocarcinoma ; a: Comparison between C/ C genotype and T/ T + T/ C genotype

## · 综述 ·

# 水泡口炎病毒抗肿瘤研究进展

赵菊梅<sup>1,2</sup>, 李秋<sup>2</sup>, 魏于全<sup>2</sup>, 文艳君<sup>2</sup>

关键词: 水泡口炎病毒; 肿瘤; 治疗

中图分类号: R730.54 文献标识码: A 文章编号: 1000-8578(2008)12-0903-05

## 0 引言

病毒治癌近 20 年来发展非常迅速, 到目前为止, 至少有 10 种不同的病毒已进入或不久将进入临床试验, 前景令人鼓舞<sup>[1]</sup>。有报道记载, 患有恶性肿瘤的病人当接种狂犬疫苗或患有某种病毒感染性疾病以后, 肿瘤会自发的消退<sup>[1,2]</sup>。20 世纪 20 年代的动物实验已证明, 病毒能够感染实验小鼠的肿瘤细胞, 并使其裂解<sup>[3]</sup>。50 年代又有报道, 新城疫病毒和流感病毒可以有效地裂解小鼠的肿瘤细胞<sup>[1]</sup>。而病毒对人类肿瘤细胞裂解作用的研

究, 直到 20 世纪 40 年代末 50 年代初才开始起步。近些年, 随着分子生物学技术的发展, 人类改造病毒的能力进一步增加, 可以将病毒改造成具有选择性地在肿瘤细胞中复制的功能。一旦肿瘤细胞被这种病毒感染, 病毒就在肿瘤细胞中大量复制, 最终杀死细胞并释放出来以感染更多的肿瘤细胞。这种技术的关键在于要使病毒不能在正常细胞中复制, 以免伤及正常组织, 这类病毒被称为溶瘤病毒(oncology virus)。最近的研究发现某些溶瘤病毒不但能杀死癌细胞, 而且还带有使宿主细胞对射线和化疗更加敏感的基因, 从而对肿瘤实施“双重打击”。目前研究较多的溶瘤病毒主要有: 溶瘤腺病毒、单纯疱疹病毒型、呼肠病毒、流感病毒、新城疫病毒, 水泡口炎病毒等。下面主要综述水泡口炎病毒(vesicular stomatitis virus, VSV)在抗肿瘤方面的一些研究进展。

收稿日期: 2008-02-28; 修回日期: 2008-06-20

基金项目: 973 基金资助项目(2004CB518807); 国家自然科学基金资助项目(30200339); 陕西省教育厅资助项目(JJK438); 陕西省科技厅自然科学资助项目(SJ08ZT09-4)

作者单位: 1. 716000 陕西延安大学医学院药理教研室; 2. 四川大学华西医院肿瘤中心生物治疗国家重点实验室

作者简介: 赵菊梅(1970-), 女, 博士, 副教授, 主要从事抗肿瘤生物治疗研究

刺激时, 失去正常细胞周期的调控点, 使细胞损伤的 DNA 被累积成稳定的基因突变, 更容易发生恶性转变, 肿瘤的发病风险增加, 因此, CDH1 3'-UTR + 54C/C 基因型可能通过降低 E-钙黏蛋白的表达增加个体的肿瘤发病风险。

由于吸烟是肺癌的主要致病因素, 而不同病理类型的肺癌其病因、组织发生、生物学特性又各不相同, 我们根据吸烟状况和病理类型分层进一步进行分析, 结果表明, C/C 基因型均可增加个体的肺癌发病风险, 与是否吸烟或病理类型无明显关联。分层后排除了环境因素或肿瘤组织学类型的影响, 提示遗传因素在肺癌发病中的重要作用。

总之, 我们的研究结果提示, CDH1 基因 3'-UTR C/C 基因型可能是中国北方人群肺癌的潜在危险因素。我们将进一步检验 CDH1 基因 3'-UTR C/T SNP 对 mRNA 水平及稳定性的影响。

## 参考文献:

[1] Ulrich CM, Bigler J, Velicer CM, et al. Searching expressed

sequence tag databases: discovery and confirmation of a common polymorphism in the thymidylate synthase gene [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2000, 9(12): 1381-1385.

- [2] Wu HC, Lai MT, Wu CI, et al. E-cadherin gene 3'-UTR C/T polymorphism is associated with prostate cancer [J]. Urol Int, 2005, 75(4): 350-353.
- [3] Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells [J]. Nucleic Acid Res, 1988, 16(3): 1215.
- [4] Li Y, Liang J, Kang S, et al. E-cadherin gene polymorphism and haplotype associated with the occurrence of epithelial ovarian cancer in Chinese [J]. 2008, 108(2): 409-414.
- [5] Keirsebilck A, Van Hoord L, Gao Y, et al. Mechanisms of downregulation of transfected E-cadherin cDNA during formation of invasive tumors in syngeneic mice [J]. Invasion Metastasis, 1998, 18(1): 44-56.
- [6] Wang J, Pitarque M, Ingelman-Sundberg M. 3'-UTR polymorphism in the human CYP2A6 gene affects mRNA stability and enzyme expression [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2006, 340(2): 491-497.
- [7] 张文, 查锡良. E-钙粘蛋白复合体抑癌作用的分子机制研究进展 [J]. 国外医学分子生物学分册, 2003, 25(4): 196-200.

[编辑: 周永红; 校对: 杨卉]