

IFRD1 基因 rs3807213 位点基因多态性与胃癌关系的研究^{*}

彭昌兵¹, 徐锐¹, 肖硕萌², 庄文^{1△}

1. 四川大学华西医院 胃肠外科中心(成都 610041); 2. 四川省肿瘤医院 胃肠外科(成都 610047)

【摘要】目的 探讨干扰素相关发育调节蛋白 1 (IFRD1) 基因 rs3807213 位点基因多态性与中国汉族人胃癌发生的关系。**方法** 采用病例-对照研究方法, 以 53 例胃癌患者为病例组, 50 例健康人为对照组。采集外周血, 提取全血 DNA, 再采用聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增 DNA 后, 对 IFRD1 基因 rs3807213 位点进行测序, 分析 3 个基因型 (AA, AC, CC) 在病例组和对照组之间的分布差异, 并研究其与胃癌风险及临床病理分期的关系。**结果** 病例组内 rs3807213 位点 C 等位基因频率高于对照组 (OR 值为 3.759, 95%CI 为 1.521~9.294; $P=0.003$)。与对照组相比, 胃癌患者具有更高频率的 rs3807213 位点 CC 基因型 (OR 值为 4.028, 95%CI 为 1.513~10.720; $P=0.004$)。将病例组按病理分期进行分组分析, rs3807213 位点各基因型及等位基因频率的组间差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。**结论** IFRD1 基因 rs3807213 位点基因多态性可能与中国汉族人胃癌发生有关, 但与胃癌的病理分期无关。

【关键词】 胃癌 干扰素相关发育调节蛋白 1 基因多态性

Relationship of IFRD1-rs3807213 Gene Polymorphism with the Risk of Gastric Cancer among Chinese PENG Chang-bing¹, XU Rui¹, XIAO Shuo-meng², ZHUANG Wen^{1△}. 1. Department of Gastrointestinal Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Gastrointestinal Surgery, Sichuan Cancer Hospital, Chengdu 610047, China

△ Corresponding author, E-mail: zw4794@163.com

【Abstract】Objective To investigate the association between rs3807213 gene polymorphism in interferon-related developmental regulator 1 gene (IFRD1) and the risk of gastric cancer among Chinese. **Methods** There were 53 gastric cancer patients and 50 healthy people included in this case-control study. The blood samples were collected from each observed object and genotype (AA, AC, CC) of IFRD1 rs3807213 SNP was detected after polymerase chain reaction (PCR). The relationships of rs3807213 gene polymorphism with gastric cancer risk, clinic and pathologic features were analyzed. **Results** Patients with stomach cancer had a significantly higher frequency of rs3807213 C allele distributions (OR=3.759, 95%CI=1.521-9.294; $P=0.003$) than the controls. Compared with control group, patients with gastric cancer had a significantly higher frequency of rs3807213 CC genotype (OR=4.028, 95%CI=1.513-10.720; $P=0.004$). When stratified by pathological stage of gastric cancer, there was no significant difference observed. **Conclusion** IFRD1-rs3807213 polymorphism may be associated with the increased risk of gastric cancer.

【Key words】 Gastric cancer Interferon-related developmental regulator 1 Gene polymorphism

胃癌一直是严重危害人类健康的最常见的恶性肿瘤之一。在全球范围内, 胃癌的发病率及死亡率均很高, 发病率居恶性肿瘤的第 4 位, 死亡率居第 2 位^[1]。其死亡率表现出男性高于女性、农村高于城市的特点^[2]。随着公民预防意识的增强, 参加筛查的人数日渐增加, 但仍缺乏高危预警及早期诊断的有效手段, 多数患者首诊时已属晚期^[3]。因此, 提高我国胃癌的早期发现及诊断水平, 是提高胃癌疗效的关键。最初, 干扰素相关发育调节蛋白 1 (IFRD1)

被发现在肌肉细胞的增殖分化过程中起作用, 随后的研究表明该蛋白是细胞分化、生长发育相关的重要蛋白^[4,5]。Gu 等^[6]研究发现 IFRD1 基因多态性和中性粒细胞效应能力相关。IFRD1 在胃癌细胞中高表达^[7], 但该基因多态性和胃癌是否有关系? 目前国内外均无相关报道。本研究对中国四川地区汉族人 IFRD1 基因 rs3807213 位点多态性与胃癌的关系进行了初步探讨, 现报道如下。

1 资料和方法

1.1 研究对象

收集 2011~2012 年期间四川大学华西医院胃

^{*} 四川省科技厅科技支撑项目 (No. 2010SZ0179) 资助

△ 通讯作者, E-mail: zw4794@163.com

肠外科胃癌患者 53 例和健康对照者 50 例。所有研究对象均为中国四川地区汉族人。纳入标准:①胃癌患者系我院病理确诊并行根治性手术;②胃癌患者既往无化疗或放疗史;③健康对照者系筛查无肿瘤、遗传病史,无肿瘤家族史的正常人。胃癌患者术后病理分期按照 AJCC 标准(2011 年),其中 I 期和 II 期 21 例,III 期和 IV 期 32 例。实验程序经过四川大学华西医院伦理委员会审查通过,所有研究对象均知情同意。

1.2 主要仪器及试剂

凝胶成像分析仪(上海欧翔科学仪器有限公司),郎基 PCR 仪(杭州郎基科学仪器有限公司),测序仪(美国应用生物系统公司)。DNA 提取试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司),dNTP Mixture 及 Ex Taq 酶(TaKaRa 公司),引物(invitrogen 公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 标本采集 用 EDTA 抗凝法收集病例组和对照组的外周静脉血各 4 mL,置于 -20°C 冰箱保存备用。

1.3.2 DNA 提取 将复温混匀的外周血标本 3 mL 加入 15 mL 离心管,按试剂盒说明书程序进行 DNA 提取,提取液放于 -20°C 保存。

1.3.3 模板 DNA 提取结果检测 按 10 g/L 琼脂糖浓度配制 100 mL TBE 琼脂糖溶液,放入微波炉中加热溶解后,加入 3 μL Goldview 显色剂,摇匀,倒入已准备好梳齿的凝胶槽内冷却。每份样本取 1 μL DNA 提取液,与 0.5 μL Loading Buffer 混匀后,分别加入凝胶样品槽内。120 V/100 mA 进行电泳,约 10 min 后,样品完全进入凝胶内,在电泳图像分析仪上观察到模板 DNA 条带清晰。

1.3.4 引物设计及基因多态分析 通过 NCBI 基因序列数据库获得 *IFRD1* 基因 rs3807213 位点核

苷酸序列,并用 primer5.0 设计引物序列如下:上游引物 5'-TCTCACCTGTCTGCCTAAA-3',下游引物 5'-TAGCCATCACAACCATACGAG-3'。采用限制性片段长度多态性方法进行分析。20 μL PCR 扩增反应体系为:0.5 μL 模板 DNA,上、下游引物各 1 μL ,1.6 μL dNTP,0.2 μL Taq 聚合酶,2.0 μL 10 $\times$ 反应缓冲液,余体积用双蒸水补足。PCR 反应条件:先于 95°C 预变性 5 min,然后 95°C 30 s, 62°C 30 s, 72°C 90 s,35 个循环后, 72°C 延伸 10 min。后将 PCR 扩增产物送上海美吉生物公司,使用美国应用生物系统公司 3730xl 测序仪测序。

1.4 统计学方法

Hardy-Weinberg 平衡用于检测各基因型分布, t 检验用于比较病例组与对照组年龄差异,卡方检验用于比较病例组与对照组性别、基因型、等位基因频率分布;计算比值比(odds ratio,OR)和 95% 可信区间(95% confidence interval,95% CI)。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

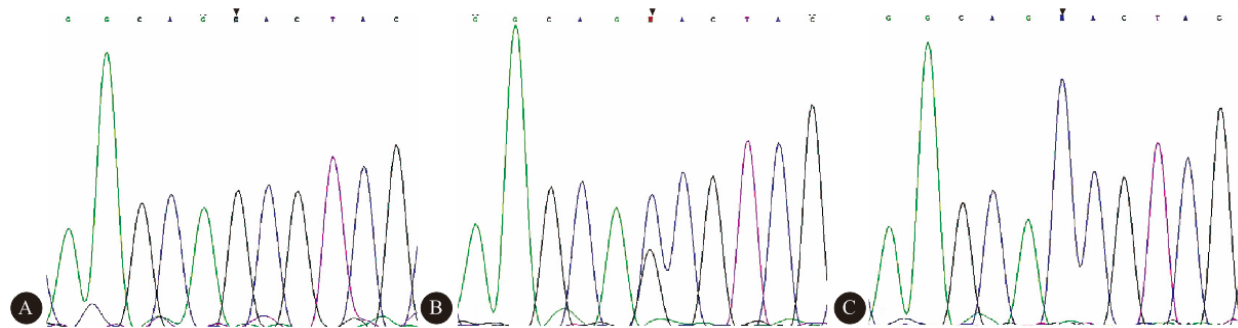
2 结果

2.1 一般情况及 Hardy-Weinberg 平衡检验

病例组 53 例,男性 40 例,女性 13 例,平均年龄(60.26 ± 8.75)岁;对照组 50 例,其中男性 36 例,女性 14 例,平均年龄(63.62 ± 12.18)岁。病例组与对照组的年龄、性别差异无统计学意义($P > 0.05$)。两组 *IFRD1* 基因 rs3807213 位点的基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡。

2.2 *IFRD1* 基因 rs3807213 位点基因多态性及其与胃癌发生的关系

PCR 扩增产物测序(附图)分析显示,*IFRD1* 基因 rs3807213 位点有 CC、CA、AA 3 种基因型。其分布情况见表 1。*IFRD1* rs3807213 C 等位基因分布频率病例组(93.4%)高于对照组(79.0%),



附图 *IFRD1* 基因 rs3807213 位点多态性测序结果

Fig The sequencing results of rs3807213 polymorphism in the *IFRD1* gene

A: CC genotype; B: CA genotype; C: AA genotype

差异有统计学意义 ($P=0.003$),携带 C 等位基因增加胃癌风险, OR 值为 3.759 (95% CI 为 1.521~9.294)。病例组 A 等位基因分布频率低于对照组 ($P=0.005$), OR 值为 0.286 (95% CI 为 0.116~0.709)。*IFRD1* rs3807213 CC 基因型病例组 (86.8%)高于对照组 (62.0%),差异有统计学意义 ($P=0.004$), OR 值为 4.028 (95% CI 为 1.513~10.720)。而杂合子 CA 基因型在病例组的频率 (13.2%)低于对照组 (34.0%)($P=0.013$), OR 值为 0.295 (95% CI 为 0.110~0.793)。

2.3 *IFRD1* 基因 rs3807213 位点基因多态性与胃癌病理分期的关系

结果见表 2。*IFRD1* 基因 rs3807213 位点等位基因及基因型分布频率在不同分期胃癌组间的差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表 1 *IFRD1* 基因 rs3807213 位点基因多态性及与胃癌发生的关系
Table 1 The association between *IFRD1*-rs3807213 gene polymorphism and gastric cancer risk

	Gastric cancer [<i>n</i> =53, case (%)]	Control [<i>n</i> =50, case (%)]	<i>P</i>
Genotype			
CC	46 (86.8)	31 (62.0)	0.004
CA	7 (13.2)	17 (34.0)	0.013
AA	0 (0.0)	2 (4.0)	0.233
Allel			
C	99 (93.4)	79 (79.0)	0.003
A	7 (6.6)	21 (21.0)	0.005

表 2 *IFRD1* 基因 rs3807213 位点基因多态性与胃癌分期的关系
Table 2 The association between *IFRD1*-rs3807213 gene polymorphism and the stage of gastric cancer

Pathological stage	<i>n</i>	Genotype			Allele	
		CC	CA	AA	C	A
I + II	21	19	2	0	40	2
III + IV	32	27	5	0	59	5
χ^2		0.412			0.383	
<i>P</i>		0.690			0.700	

3 讨论

近年来,学者们借助现代分子遗传学研究的方法和技术,从基因水平研究胃癌的发生成为热点。最近研究提示单核苷酸多态 (SNP)可能与胃癌的发生有关系^[8,9]。研究基因多态性与胃癌的关系,目的是希望筛选出导致胃癌发生的易感基因,拟提高胃癌的早期诊断率,寻找基因水平的治疗途经和方法,改善胃癌患者的生存率。

IFRD1 也称为十四烷酰佛波醇醋酸诱导序列 7 (TIS7),其编码基因定位于人染色体 7q22~q31。

它是细胞分化、生长发育相关的重要蛋白^[4,5]。*IFRD1* 也是依赖组蛋白去乙酰化酶 (histonedacetylase,HDAC)的一种调节蛋白。组蛋白乙酰化可以开放染色体结构,增强基因转录活性^[10]。HDAC 能够去乙酰化组蛋白,减少基因表达,从而调节细胞的增殖和分化。HDAC 还参与形成 SIN3 (哺乳动物的共同转录抑制复合物)。Vietor 等^[11]通过免疫沉淀和酵母双杂交方法发现 *IFRD1* 能够与 SIN3 的几种复合物 (mSin3B, HDAC1, N-CoRandSAP30)相反应,形成转录复合物。由此可见 *IFRD1* 在细胞增殖及分化中可能扮演重要角色。Cheon 等^[7]研究发现 *IFRD1* 基因 rs3807213 位点的 AA 基因型中性粒细胞氧化能力高。中性粒细胞氧化能力在炎症反应初期对机体起到保护作用,而炎症在胃肿瘤发生发展中的作用已得到广泛认可^[12-15]。

本研究发现 *IFRD1* 基因 rs3807213 位点的基因多态性分布与胃癌的发生相关,与胃癌分期无关,即携带等位基因 C 的人患胃癌的风险增高。在杂合子状态下患胃癌的风险明显降低,是因为 A 基因的表达使中性粒细胞氧化能力高从而对机体起到保护作用,还是 C 基因的表达受到抑制,抑或调查样本量太少? 原因有待进一步研究。AA 纯合子在本次调查中检出数极低,且均在对照组中检出,亦并未发现病例组与对照组间差异有统计学意义,可能与样本量有关。如果有足够样本量证明 C 基因确与胃癌发病相关,对胃癌在基因水平的检查和防治将有重要意义。

综上所述,*IFRD1* 基因 rs3807213 位点的基因多态性分布与胃癌的风险相关,胃癌的组织病理学分期与该位点的基因多态性分布无关。本研究由于受到样本量的影响,且只检测了汉族一个民族,故尚需扩大样本量,并收集多民族样本,以进一步明确 *IFRD1* 基因 rs3807213 位点的基因多态性在胃癌遗传易感性中的作用。

参 考 文 献

1 Kamangar F, Dores GM, Anderson WF. Patterns of cancer incidence, mortality, and prevalence across five continents: defining priorities to reduce cancer disparities in different geographic reginons of the world. J Clin Oncol;2006;24(14): 2137-2150.

2 邹小农, 孙喜斌, 陈万青等. 2003-2007 年中国胃癌发病及死亡情况分析. 肿瘤,2012;32(2):109-114.

3 Taylor PR. Prevention of gastric cancer;a miss. J Natl Cancer

- Inst, 2007; 99(2): 101-103.
- 4 梁 超, 方肇勤, 管冬元等. RNAi 检测 IFRD1 在肝癌增殖中的作用及不同中医治法的调节. 世界科学技术, 2010; 12(5): 723-728.
 - 5 Buanne P, Incerti B, Guardavaccaro D, *et al.* Cloning of the human interferon-related developmental regulator (IFRD1) gene coding for the PC4 protein, a member of a novel family of developmentally regulated genes. Genomics, 1998; 51(2): 233-242.
 - 6 Gu Y, Harley IT, Henderson LB, *et al.* Identification of IFRD1 as a modifier gene for cystic fibrosis lung disease. Nature, 2009; 458(7241): 1039-1042.
 - 7 Cheon CW, Kim DH, Cho YH, *et al.* Effects of ciglitazone and troglitazone on the proliferation of human stomach cancer cells. World J Gastroenterol, 2009; 15(3): 310-320.
 - 8 邢培祥, 肖东杰, 胡安拉等. TNF- α 及 IL-6 基因多态性与胃癌易感性的关系. 山东大学学报(医学版), 2006; 44(9): 949-953.
 - 9 张 颖, 张志广, 齐凤祥等. IL-1 基因多态性与 Hp 感染后胃癌易感性的研究. 中华消化内镜杂志, 2006; 23(3): 189-193.
 - 10 Vietor I, Kurzbauer R, Brosch G, *et al.* TIS7 regulation of the beta-catenin/Tcf-4 target gene osteopontin (OPN) is histone deacetylase-dependent. J Biol Chem, 2005; 280(48): 39795-39801.
 - 11 Vietor I, Vadivelu SK, Wick N, *et al.* TIS7 interacts with the mammalian SIN3 histone deacetylase complex in epithelial cells. EMBO J, 2002; 21(17): 4621-4631.
 - 12 Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. Nature, 2002; 420(6917): 860-867.
 - 13 郑 杰. TLRs、慢性炎症与肿瘤. 生命科学, 2009; 19(1): 15-20.
 - 14 Melo HP, Martins LC, Dos SE, *et al.* Interleukin-1 and TNF-alpha polymorphisms and Helicobacter pylori in a Brazilian Amazon population. World J Gastroenterol, 2009; 15(12): 1465-1471.
 - 15 Persson C, Canedo P, Machado JC, *et al.* Polymorphisms in inflammatory response genes and their association with gastric cancer: a huge systematic review and meta-analyses. Am J Epidemiol, 2011; 173(3): 259-270.

(2013-07-11 收稿, 2013-10-30 修回)

编辑 余 琳

• 个案报告 •

经肌电图诊断糖尿病性肌萎缩症 1 例报告

谢丹丹^{1,2}, 曾 艳^{1△}

1. 四川大学华西医院 神经生物检测中心(成都 610041); 2. 成都市第二人民医院 神经内科(成都 610017)

【关键词】 肌电图 糖尿病性肌萎缩症

患者,男,63岁,因“左下肢疼痛 4⁺月,左下肢肌肉萎缩伴无力 3⁺月”入院。疼痛分布于左侧臀部至膝关节以上,呈游走性跳痛,无明显减轻及加重因素。在当地医疗机构予以止痛对症(具体不详)处理,症状缓解。入院前 3⁺月患者在洗澡时发现左下肢较右下肢明显变细,并感左下肢无力,此后发生摔倒 2 次。既往有高血压病史 20⁺年,2 型糖尿病 4 年。查体:神志清楚,高级神经功能正常。颅神经(一)。四肢肌张力正常,双上肢及右下肢肌力 5 级,左下肢肌肉萎缩、肌力 4 级。左侧膝反射、踝反射未引出。余神经系统检查(一)。辅助检查:空腹血糖 10.23 mmol/L,血常规、小便常规、大便常规、肝肾功能、电解质、凝血均正常。腰椎 MRI 示:腰椎轻度骨质增生, L₃~S₁ 椎间盘轻度向后膨出,脊髓形态未见异常,脊髓内未见异常信号。肌电图检查示左胫骨前肌、左股四头肌于安静时可见大量失神经电位(正锐波、纤颤波),小力收缩时运动单位电位(MUP)平均波幅、时限及多相电位在正常范围,余肢体肌肉如左腓肠肌、右胫骨前肌、右拇展肌肌电图未见异常。双侧桡神经、腓总神经运

动传导、双侧腓肠神经感觉传导未见异常。诊断为:糖尿病性肌萎缩症。经控制血糖(空腹血糖 5.60~7.20 mmol/L)、促进神经细胞代谢、止痛及按摩等治疗 1 个月后,症状好转出院。1 年后随访,左下肢肌力恢复正常,行走无困难。

讨论 糖尿病性肌萎缩症是糖尿病的一种少见并发症,可能与糖尿病所致代谢紊乱、微血管缺血、免疫异常等多种因素有关。该病多见于中老年,以亚急性起病多见。主要累及下肢近端肌肉,股四头肌最常受累,也可累及臀肌、股内收肌和髂腰肌等。上肢肌很少受累,延髓支配的肌肉不受累。无力发生前常伴有严重疼痛。查体无相应感觉障碍,膝、踝反射减弱或消失。常需与腰椎间盘突出症、进行性脊肌萎缩症、糖尿病性单神经病鉴别。本例患者有肌无力、萎缩、疼痛及无感觉障碍等临床表现,按照 Hamilton 糖尿病性肌萎缩症的诊断标准,明确诊断为糖尿病性肌萎缩症。

糖尿病性肌萎缩症辅助诊断中最有价值的检查为神经传导速度和针极肌电图。神经传导速度及肌电图可显示以下肢近端肌肉失神经为主,上肢肌电图多为正常。轴突明显变性患者,肌电图可显示有正锐波和纤颤波的发放。该例患者肌电图检查示左胫骨前肌、左股四头肌于安静时可见大量正锐波和纤颤波,与文献报道一致。

本病的治疗方案为控制血糖、缓解疼痛,应用 B 族维生素治疗、免疫治疗,以及物理疗法等。

(2013-05-21 收稿, 2013-08-14 修回)

编辑 汤 洁