

鼻咽癌遗传易感性与醌氧化还原酶基因多态性的关系

吴德华 第一军医大学南方医院放疗科 广东 广州 510515

摘要目的 探讨醌氧化还原酶基因NQO1的cDNA609位碱基C/T点突变所致的基因多态性位点是否与鼻咽癌遗传易感性有关方法 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术PCR-RFLP分析了120例鼻咽癌病人与120例健康对照者NQO1的基因多态性结果 经 χ^2 检验发现基因型分布在鼻咽癌和对照组之间有显著差异 $P<0.05$ C/T基因型频率鼻咽癌组高于对照组 C/C基因型频率鼻咽癌组低于对照组等位基因频率在鼻咽癌和对照组有显著性差异 $P<0.01$ C等位基因频率鼻咽癌组高于对照组结论 NQO1基因cDNA突变T609等位基因可能是鼻咽癌的遗传易感性有关危险因素之一

关键词 鼻咽肿瘤 / 病因学 NAD(P)H脱氢酶 基因频率 基因型 遗传易感性 疾病

中图分类号 R730.231 文献标识码 A 文章编号 000-2588(2002)1126-02

Quinone oxidoreductase gene polymorphism and genetic susceptibility to nasopharyngeal carcinoma

WU De-hua

Department of Radiation Oncology, Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: Objectives To ascertain whether the point mutation of cDNA 609 C to T of quinone oxidoreductase (NQO1) gene is associated with the genetic susceptibility to nasopharyngeal carcinoma. Methods Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism was employed to assess the polymorphism of NQO1 genes both in 120 patients with nasopharyngeal carcinoma and 120 healthy subjects matched for age, gender and origin. Results The allelic frequency of mutant T allele of NQO1 gene was significantly higher in patients with nasopharyngeal carcinoma than in the healthy subjects ($P<0.05$), and the individuals with T allelic genotype of NQO1 gene were at greater risk to develop nasopharyngeal carcinoma. Conclusion The cDNA 609 T allele of NQO1 gene is very likely to be associated with the genetic susceptibility to nasopharyngeal carcinoma.

Key words: nasopharyngeal neoplasms; quinone reductase; gene frequency; genotype genetic predisposition, disease

目前鼻咽癌的遗传易感性与环境因素相互作用的关系日益受到人们的关注。研究表明，毒素代谢相关酶的遗传多态性与肿瘤遗传易感性密切相关。醌氧化还原酶NQO1是一种黄素酶，可催化醌双电子还原反应，对醌及其衍生物有解毒作用。由于醌是一种有毒的化合物，能诱发哺乳动物细胞癌变、突变和坏死，因此NQO1与肿瘤的关系已引起了人们的重视。已有研究发现，NQO1的基因多态性与肺癌、食管肿瘤等有密切关系，但尚未见其与鼻咽癌的相关性报道。本研究应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性技术PCR-RFLP对编码该酶的一段基因的多态性在一组鼻咽癌病人中进行了分析，旨在探讨NQO1的基因多态性与鼻咽癌的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

120例经南方医院病理确诊的鼻咽癌病人，男女各60例，年龄18~78岁，平均48.7岁。其中低分化

鳞癌106例，低分化腺癌5例，高分化鳞癌4例，未分化癌5例。均来自门诊查体的120例健康成人，男女各60例，为对照。年龄22~65岁，平均47.6岁。

1.2 仪器与试剂

P600仪购自美国Pekin-Elmer公司，dNTP购自武汉华美生物工程公司。

1.3 方法

抽静脉血5ml，分离白细胞，提取DNA。利用PCR-RFLP技术，采用文献报道的方法，设计1对引物，其序列如下：NQO1 F引'-AAGCCCAGACCAACTTCT-3，NQO1 R引'-GCGTTTCTTCCATCCTTC-3。以P600仪进行PCR扩增反应，反应总体积30 μ l，含200 μ mol/L dNTP，两种引物各0.2 μ mol/L，0.4 μ l DNA，单位TaqDNA聚合酶，扩增长度为195bp。先在95 $^{\circ}$ C下预变性2min，再以下列条件循环35次：94 $^{\circ}$ C 30s，55 $^{\circ}$ C 30s，72 $^{\circ}$ C 45s，最后于72 $^{\circ}$ C下延伸5min。

将扩增产物用Hinf I限制性内切酶在37 $^{\circ}$ C下消化2h，最后以8%的聚丙烯酰胺凝胶电泳及EB染色。若NQO1 C609 T碱基替换时，则产生一个Hinf I酶切位点，扩增的片段被切成119和76bp两个片

收稿日期 2002-06-02

作者简介 吴德华，男，1963年，湖南华容人，主治医师，副主任医师。电话：020-61642136

段遥当基因型为野生型时渊/C冤则不能被消化袁为 195bp 如基因型为杂合子渊/T冤则为 195尧19尧6 bp 3 个片段 曰基因型为突变型渊/T冤时袁则为 119尧6 bp 两个片段渊图 1 冤

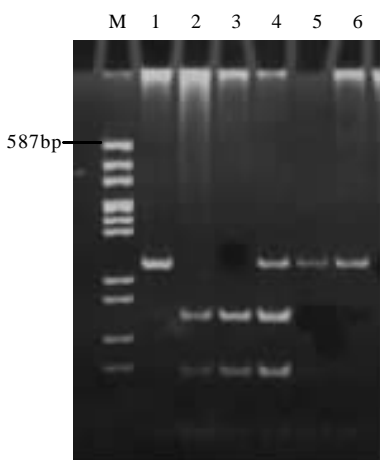


图 1 NQO1 基因扩增产物 HinfI 酶切电泳结果
Fig.1 Electrophoresis of NQO1 PCR product digested with restriction endonuclease HinfI
M:pGEM-3Zf(+)/HaeIII DNA Marker Lane 1, 5, 6 Genotype C/C(195bp) Lane 2, 3 Genotype T/T(119尧66bp) Lane 4 Genotype C/T(195,119,76bp)

1.3 统计方法

组间基因型频率差异采用 字检验袁用 SPSS10.0 统计软件包完成遥

2 结果

2.1 鼻咽癌与对照组 NQO1 等位基因频率比较

本研究发现在鼻咽癌组中 NQO1 基因 T 等位基因的频率为 55.0% 袁对照组为 42.1% 袁较对照组显著增高渊表 1 冤 表 =0.006 冤 遥 经统计相对危险因素的估计值 OR(oddsratio) 袁发现 T 等位基因携带者患鼻咽癌的危险性是 C 等位基因的 1.68 倍遥

2.2 鼻咽癌与对照组 NQO1 基因型分布比较

对照组 NQO1 的基因型频率分别为院野生型渊/C冤 0.8% 尧杂合型渊/T冤 4.2% 尧突变纯合子型渊/T冤 5.0% 袁其基因型分布符合哈迪 - 温伯格平衡规律 曰鼻咽癌组则分别为院野生型渊/C冤 2.5% 尧杂合型渊/T冤 65.0% 尧突变纯合子型渊/T冤 2.5% 袁见表 2 遥 两组 NQO1 的基因型频率的分布差异显著渊 =0.002 冤 遥 经统计 OR 值袁发现 T/T 和 T/C 基因型携带者患鼻咽癌的危险性分别是野生型纯合子渊/C冤 基因型携带者的 3.70 倍与 2.96 倍遥

3 讨论

鼻咽癌具有明显的种族及家族聚集现象 袁并未

表 1 鼻咽癌患者和正常对照者的 NQO1 等位基因比较
Tab.1 Comparison of NQO1 allelic genes between the 2 groups

Allelic gene	Nasopharyngeal carcinoma		Control	
	n	%	n	%
C	108	45.0	139	57.9
T	132	55.0	101	42.1

表 2 鼻咽癌患者和正常对照者的 NQO1 基因型比较
Tab.2 Comparison of NQO1 genotypes between the 2 groups

Genotype	Patients		Control	
	n	%	n	%
C/C	15	12.5	37	30.8
T/C	78	65.0	65	54.2
T/T	27	22.5	18	15.0

发现明确遗传方式 袁而是呈现出一种易感倾向 袁且易感性遥 有研究表明鼻咽癌易感性与 HLA 抗原系统明显相关 袁可能是遗传基因的缺陷和环境致癌物的相互作用所致 遥 但是 袁到目前为止 袁哪些遗传因素与鼻咽癌的遗传易感性有关 袁尚无明确的结论遥

NQO1 是醌的主要代谢酶 遥 而醌是一种有毒的化合物 袁它在自然界广泛存在 袁如汽车废气 尧烟草的烟雾 尧食物等 袁与肿瘤的发生有密切的关系 遥 NQO1 对醌及其衍生物致突变 尧癌变以及其它毒性具有抑制作用 袁其机制是催化醌还原为亲电子的水溶性醌 袁避免了亲核性的醌损伤 DNA 遥

编码 NQO1 的基因定位在第 16 号染色体上 袁由 6 个外显子和 5 个内含子组成 袁在人体的各种组织中均有表达 遥 由于其基因的 6 号外显子上存在一个 C T 的错义突变 袁导致 NQO1 基因编码的 187 位氨基酸由脯氨酸变成了色氨酸 袁不影响其 mRNA 的合成 袁但可能改变了酶的二级结构 袁使酶的活性降低 遥 NQO1 基因在该位点具有多态性 袁在正常人群中均有该突变位点等位基因的纯合子和杂合子存在 遥 国外研究表明 袁该基因的多态性和肺癌 尧食道肿瘤有明显的相关性 袁但目前尚未见有关 NQO1 和鼻咽癌相关的研究报道遥

本研究发现 袁鼻咽癌组突变型基因频率显著高于对照组 袁携带 T 等位基因的个体患鼻咽癌的危险性为正常人的 1.68 倍 遥 鼻咽癌组带有 T 等位基因的基因型亦显著高于对照组 袁其突变杂合子基因型渊/C冤 可使个体患鼻咽癌的危险性达到正常人的 2.96 倍 袁其突变纯合子基因型渊/T冤 可使个体患鼻咽癌的危险性达到正常的 3.70 倍 遥 该结果提示 NQO1 基因的多态性与鼻咽癌的发病有一定的关系 遥 其原因可能是

节段内固定器承受拉伸载荷时内固定器的应力分布情况显示越靠近内固定器的中间部位应力分布越集中为固定器的中间部位应力最大越接近钩端应力越小说明内固定器使用时最容易发生疲劳断裂的部位是内固定器的中间部位钩部发生断裂的可能性较小

3.3 有限元分析法与 MTS-858 材料试验机测试结果的比较

由于任何有限元模型都是对实际情况的近似利用有限元模型得出的计算结果还需与体内或体外实验进行比较有限元分析法与体内或体外实验方法各有其优缺点固定内固定器横突钩中点椎板钩中点承受拉伸载荷使两钩分离 2mm 时中承载点的应力为 281.93 N 此数据与在 37 益条件下采用 MTS-858 材料试验机测试的内固定器的抗拉强度均数 245.20N 比较相符说明有限元分析法测出的内固定器的强度试验数据比较可信

参考文献

咱暂 王**国强**. 实用工程数值模拟技术及其在 ANSYS 上的实践咱暂西安: 西北工业大学出版社, 1999.1-3.
咱暂 BelytschkoT, AndriacchiTP, SchultzAB, et al. Analogstudiesof forcesinthehumanspine-computationaltechniques咱暂Biomech,

1973,6(3):361-71.

咱暂 KingAL, HakimsNS. Athreedimensionalfiniteelementdynamic responseanalysisofavertebraewiththeexperimentalverification咱暂J Biomech,1979,12(3):277-84.
咱暂 LuYM, HuttonWC, GharpurayVM. Dobending, twisting, anddiurnalfluidchangesinthediscaffectthepropensitytoprolapse? A viscoelasticfiniteelementmodel咱暂Spine,1996,21(22):2570-9.
咱暂 NatarajanRN, AndersonGB. Theinfluenceoflumbar disc height and crosssectionalareaonthemechanicalresponseofthedisctophysiologicalloading咱暂Spine,1999,24(17):1873-81.
咱暂 LeeCK, KimYE, LeeCS, et al. Impactresponseoftheintervertebraldiscinafinite-elementmodel咱暂Spine,2000,25(21):2431-9.
咱暂 张美超, 肖进, 李义凯, 等. 腰椎小关节接触模型的有限元分析咱暂第一军医大学学报,2002,22(9):836-8.
ZhangMC, XiaoJ, LiYK, et al. Finiteelementanalysisonosculant modeloflumbarfacetjoints咱暂FirstMilMedUniv,2002,22(9):836-8.
咱暂 SharmaM, LangranaNA, RodriguezJ. Roleofligamentsandfacets inlumbar spinalstability咱暂Spine,1995,20(6):887-900.
咱暂 戴力扬, 屠开元, 徐印坎, 等. 腰椎椎弓峡部裂的生物力学研究咱暂中国运动医学杂志,1990,9(2):67-8.
咱暂 张辉, 靳安民, 赵卫东. 腰椎峡部裂记忆合金节段内固定器的生物力学评价咱暂中国临床解剖学杂志,2002,20(4):301-2.
ZhangH, JinAM, ZhaoWD. Biomechanicalevaluationofmemory alloyintrasegmentalfixatorforlumbar spondylolysis咱暂ChinClin Anat,2002,20(4):301-2.

渊上接 1127 页冤

NQO1 基因 6 号外显子上的 C T 的错义突变造成 NQO1 酶活性降低或缺乏减弱了 NQO1 对抗致癌物毒性的抑制作用使机体倾向于罹患恶性疾病不过袁这种倾向性的结果可能要同某一特定性的毒物结合方能发病至于同哪些危险因素结合具有更高的发病倾向吸烟尧B 病毒感染等均有待于进一步深入研究

参考文献

咱暂张 锋, 李振权, 张锦明, 等. 鼻咽癌家族聚集现象及其临床分析咱暂癌症,1983,2(4):243.
咱暂邵 明, 刘焯霖, 陶恩祥, 等. 中国汉族人依赖还原型辅酶 I/II 醌氧化还原酶基因多态性咱暂中山医科大学学报,1998,19(1):23-6.
ShaoM, LiuCL, TaoEX, et al. PreliminarystudyofNAD(P)H: quinone oxidoreductase gene polymorphism inChinese population咱暂AcadJSUMS,1998,19(1):23-6.
咱暂 ErnsterL. DT-diaphorase咱暂MethodsEnzymol,1967,10:309-19.

咱暂 SchlagerJJ, PowisG. Cytosolic NAD(P)H:(Quinone-acceptor) oxidoreductase inhumannormalandtumortissue: effectsofcigarette smokingandalcohol咱暂nt.J.Cancer,1990,45:403-9.
咱暂 BelinskyM, Jaiswal AK. NAD(P)H:quinone oxidoreductase1(DT-diaphorase) expressioninnormalandtumortissues咱暂 Cancer MetastasisRev,1993,12(2):103-17.
咱暂 Jaiswal AK, McBride OW, Adesnik M, et al. Human dioxin-induciblecytosolic NAD(P)H:menadiioneoxidoreductase. cDNA sequenceandlocalizationofgenetochromosome16咱暂BiolChem,1988,263(27):13572-8.
咱暂 Kuehl BL, PatersonJW, PeacockJW. Presence ofaheterozygous substitutionanditsrelationshipptoDT-diaphoraseactivity咱暂 BrJ Cancer,1995,72(3):555-61.
咱暂 SunagaN, KohnoT, YanagitaniN, et al. ContributionoftheNQO1 and GSTT1polymorphisms to lung adenocarcinoma susceptibility咱暂CancerEpidemiolBiomarkersPrev,2002,11(8):730-8.
咱暂 HamajimaN, MatsuoK, IwataH, et al. NAD(P)H:quinone oxidoreductase1 (NQO1) C609T polymorphism andtheriskofeightcancersforJapanese咱暂ntJClinOncol,2002,7(2):103-8.

责任编辑 殷咏慧