

转化生长因子β1基因C-509T多态与结直肠癌遗传易感性的相关性

吴慧民, 范跃祖, 刘文方, 何向蕾, 朱冠山, 朱忠政, 王爱忠

■背景资料

TGF-β1基因与恶性肿瘤发生密切相关, 近来有关该基因C-509T多态性与肿瘤遗传易感性关系的研究备受关注。目前TGF-β1 C-509T与结直肠癌相关性的报道缺乏一致性。

吴慧民, 范跃祖, 刘文方, 同济大学附属同济医院普外科 上海市 200065

何向蕾, 宁波市李惠利医院病理科 浙江省宁波市 315041

朱冠山, 阿斯利康中国创新中心 上海市 201203

朱忠政, 王爱忠, 中国人民解放军第一一三医院病理科 浙江省宁波市 315040

国家自然科学基金资助项目, No. 30470791

南京军区医学科学技术研究“十一五”计划资助项目, No. 06MA27

作者贡献分布: 此课题由吴慧民, 范跃祖, 刘文方, 何向蕾, 朱冠山, 朱忠政及王爱忠设计; 研究过程由吴慧民, 刘文方及朱冠山操作完成; 数据分析由吴慧民, 刘文方, 何向蕾, 朱忠政及王爱忠完成; 本论文写作由吴慧民, 范跃祖, 朱忠政及王爱忠完成。

通讯作者: 王爱忠, 315040, 浙江省宁波市中山东路377号, 中国人民解放军第一一三医院病理科. waz1113@126.com

电话: 0574-27754043

收稿日期: 2008-10-25 修回日期: 2008-11-12

接受日期: 2008-11-17 在线出版日期: 2008-12-18

Transforming growth factor-beta 1 gene C-509T polymorphism and genetic susceptibility to colorectal cancer

Hui-Min Wu, Yue-Zu Fan, Wen-Fang Liu, Xiang-Lei He, Guan-Shan Zhu, Zhong-Zheng Zhu, Ai-Zhong Wang

Hui-Min Wu, Yue-Zu Fan, Wen-Fang Liu, Department of General Surgery, Tongji Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200065, China

Xiang-Lei He, Department of Pathology, Lihuilu Hospital, Ningbo 315041, Zhejiang Province, China

Guan-Shan Zhu, Innovation Center China, AstraZeneca Global R&D, Shanghai 201203, China

Zhong-Zheng Zhu, Ai-Zhong Wang, Department of Pathology, No. 113 Hospital of People's Liberation Army, Ningbo 315040, Zhejiang Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30470791; and Medical Science and Technology Research Foundation for the 11th 5-Year Program of Chinese PLA, Nanjing Branch, P.R. China, No. 06MA27

Correspondence to: Dr. Ai-Zhong Wang, Department of Pathology, No. 113 Hospital of People's Liberation Army, 377 East Zhongshan Road, Ningbo 315040, Zhejiang Province, China. waz1113@126.com

Received: 2008-10-25 Revised: 2008-11-12

Accepted: 2008-11-17 Published online: 2008-12-18

■同行评议者

王振宁, 教授, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科; 王晓艳, 副教授, 湖南长沙中南大学湘雅三医院消化内科

Abstract

AIM: To examine the possible association between the C-509T polymorphism of transforming growth factor-beta 1 (TGF-β1) gene

and susceptibility to colorectal cancer (CRC) in Chinese population.

METHODS: The TGF-β1 C-509T genotypes were determined by using the real-time PCR technology with TaqMan MGB probes in 345 CRC cases and 670 controls matched with sex and age. Odds ratios (ORs) for CRC and 95% confidence intervals (CIs) from unconditional logistic regression models were used to evaluate relative risks. Potential CRC risk factors, including sex, age, cigarette smoking, alcohol drinking, body mass index (BMI) and family history of colorectal cancer were included in the logistic regression models as a covariate in the multivariate analyses on genotype and CRC risk.

RESULTS: The T allele frequencies of the TGF-β1 C-509T polymorphism were 0.435 in CRC cases and 0.488 in controls, respectively. The T allele had a significantly decreased risk for CRC (95%CI 0.68-0.99, $P = 0.037$) as compared with the C allele. When compared with CC homozygote, CT heterozygote had a 0.79-fold decreased risk (95%CI 0.58-1.08, $P = 0.137$), whereas TT homozygote had a 0.66-fold significantly decreased risk (95%CI 0.45-0.96, $P = 0.032$) of CRC. The T-allele carriers (CT or TT genotypes) had a marginally significantly decreased CRC risk ($OR = 0.75$, 95%CI 0.56-1.00, $P = 0.052$) when compared with CC genotype.

CONCLUSION: The T allele of TGF-β1 C-509T was associated with the decreased risk of CRC and TT homozygote is potentially one of the genetic protective factors for CRC in Chinese population.

Key Words: Colorectal cancer; Transforming growth factor-β1; Genetic polymorphism; Genetic susceptibility

Wu HM, Fan YZ, Liu WF, He XL, Zhu GS, Zhu ZZ, Wang AZ. Transforming growth factor-beta 1 gene C-509T polymorphism and genetic susceptibility to colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(35): 4020-4023

摘要

目的: 探讨转化生长因子β1基因(TGF-β1)C-509T多态与结直肠癌(colorectal cancer, CRC)遗传易感性的关系。

方法: 采用TaqMan方法检测345例CRC与670名对照的TGF-β1 C-509T基因型分布及差异。

结果: CRC组与对照组T等位基因频率分别为43.5%、48.8%, T的CRC发病风险是C的0.82倍(95%CI 0.68-0.99, $P = 0.037$)。与CC纯合子相比, CT杂合子引起CRC风险为0.79倍(95%CI 0.58-1.08, $P = 0.137$), 而TT纯合子引起CRC风险显著降低至0.66倍(95%CI 0.45-0.96, $P = 0.032$)。将CT、TT基因型合并计算, 则其CRC发病风险与CC基因型相比降低至0.75倍(95%CI 0.56-1.00, $P = 0.052$)。

结论: TGF-β1基因C-509T多态是中国人群重要的CRC遗传保护因子, 可作为CRC发病风险评估的筛选指标。

关键词: 结直肠癌; 转化生长因子β1; 基因多态; 遗传易感性

吴慧民, 范跃祖, 刘文方, 何向善, 朱冠山, 朱忠政, 王爱忠. 转化生长因子β1基因C-509T多态与结直肠癌遗传易感性的相关性. 世界华人消化杂志 2008; 16(35): 4020-4023
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/4020.asp>

0 引言

大量的研究表明, 转化生长因子β1(transforming growth factor beta 1, TGF-β1)信号传导通路通过控制细胞增殖、分化和凋亡在肿瘤的发生中发挥重要的作用, 而作为该通路的核心基因, TGF-β1异常表达与肿瘤发生密切相关^[1]。研究发现, TGF-β1的基因表达受遗传学调控, 因此, 其基因启动子区域的遗传多态性改变可能参与基因的表达调控, 从而修饰肿瘤的发病风险。目前研究最多的TGF-β1基因启动子区域的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)位点是转录起始点前第509位点的C或T多态(C-509T)。已有功能学研究显示, 这种-509C>T多态性可能改变TGF-β1基因的转录水平, 从而影响TGF-β1基因的表达^[2]。近来, 有关TGF-β1 C-509T与包括结直肠癌(colorectal cancer, CRC)在内的肿瘤遗传易感性关系的研究备受关注。本研究在大样本基础上探讨了TGF-β1 C-509T与中国人群CRC发病风险的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 宁波中国人民解放军第一一三医院和李惠利医院于2003-2005年收治的345例住院CRC患者设为病例组, 诊断均经组织病理学证实, 其中男198例, 女147例, 患者年龄25-85(平均 58.7 ± 13.5)岁。病例组对象纳入标准包括: 汉族; 年龄 ≥ 25 岁; 组织病理学诊断为原发性结直肠腺癌; 术前未经放疗、化疗等治疗。剔除标准为家族性腺瘤性息肉病和遗传性非腺瘤性结肠癌。对照组为同时期同一地区健康无血缘关系的个体, 共670名。对照组与病例组在性别、年龄、吸烟和饮酒方面保持均衡可比。以问卷调查和病历记录方法取得所有研究对象的有关资料。本研究经医院伦理委员会批准, 所有研究对象均同意并填写知情同意书^[3]。

1.2 方法 按常规蛋白酶K、酚/氯仿法提取外周血白细胞基因组DNA。采用TaqMan方法检测TGF-β1 C-509T基因型, 由上海基康生物技术有限公司完成。引物和探针序列: 上游引物F, 5'-AAG GAG AGC AAT TCT TAC AGG TGT CT-3'; 下游引物R, 5'-GCC TCC GGA GGG TGT CA-3'; 等位基因T特异性TaqMan探针, 5'-FAM-CAT CCT TCA GGT GTC-MGB-3'; 等位基因C特异性TaqMan探针, 5'-TET-CCA TCC CTC AGG TGT-MGB-3'; 扩增片段长度93 bp。PCR扩增体系(25 μL)中含: 1×TaqMan PCR master mix(Applied Biosystems, Foster City, CA), 1 μL(50 mg/L)基因组DNA, 1 μmol/L上游引物, 1 μmol/L下游引物, 0.2 μmol/L FAM-标记探针, 0.2 μmol/L TET-标记探针。扩增参数: 50℃预热2 min, 95℃预变性10 min, 然后95℃变性15 s, 62℃复性1 min, 共40个循环。最后在ABI 7900上检测荧光信号。基因型分析结果用Sequence Detector System 2.0软件(Applied Biosystems, Foster City, CA)。

统计学处理 以非条件Logistic回归法计算表示相对危险度的比值比(OR)及其95%可信区间(CI)。OR值均经性别、年龄、吸烟、饮酒、体质量指数和CRC家族史因素校正。两组人群CRC混淆因素比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 作为有统计学意义。采用统计分析系统Stata9.0进行数据分析。

2 结果

2.1 两组人群CRC混淆因素比较 两组人群的性别、年龄、吸烟、饮酒和体质量指数构成差异

■ 研究前沿

近年来, TGF-β1基因多态性与肿瘤相关性研究日益受到重视, 但结果存在分歧, 可能与样本量小、种族差异和疾病遗传异质性等有关, 需要进一步扩大样本、统一研究方法及统计标准, 深入研究。

应用要点

TGF- β 1 基因 C-509T 多态是中国人患结直肠癌的一个遗传保护分子,可作为结直肠癌发病风险的评价指标之一。

表 1 两组对象多种混淆因素频率比较 $n(\%)$

分组	n	性别		年龄(岁)		吸烟		饮酒		体质量指数(kg/m ²)		CRC家族史	
		女	男	≤60	>60	否	是	否	是	≤22.9	>22.9	无	有
CRC	345	147 (42.6)	198 (57.4)	178 (51.6)	167 (48.4)	231 (67.0)	114 (33.0)	263 (76.2)	82 (23.8)	196 (56.8)	149 (43.2)	307 (89.0)	38 (11.0)
对照	670	290 (43.3)	380 (56.7)	336 (50.1)	334 (49.9)	464 (69.3)	206 (30.7)	500 (74.6)	170 (25.4)	400 (59.7)	270 (40.3)	637 (95.1)	33 (4.9)
χ^2		0.042		0.190		0.557		0.314		0.785		12.979	
P 值 ¹		0.837		0.663		0.456		0.575		0.376		<0.001	

¹双侧 χ^2 检验。

表 2 TGF- β 1 C-509T 频率分布及其与CRC风险

TGF- β 1 C-509T	对照组 $n(\%)$	CRC组 $n(\%)$	校正OR(95%CI) ¹	P 值 ¹
基因型				
CC	176(26.3)	109(31.6)	1.00(Reference)	
CT	340(50.7)	172(49.9)	0.79(0.58-1.08)	0.137
TT	154(23.0)	64(18.6)	0.66(0.45-0.96)	0.032
CT+TT	494(73.7)	236(68.4)	0.75(0.56-1.00)	0.052
等位基因型				
C	692(51.6)	390(56.5)	1.00	
T	648(48.8)	300(43.5)	0.82(0.68-0.99)	0.037

¹经性别、年龄、吸烟、饮酒、体质量指数和CRC家族史因素校正。

无显著意义。CRC组和对照组的一级亲属CRC家族史阳性者分别占11.0%和4.9%,且前者明显高于后者($P < 0.01$, 表1)。

2.2 TGF- β 1 C-509T与CRC风险 对照组CC、CT及TT基因型频率分别为26.3%、50.7%和23.0%,符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律($P = 0.678$),而CRC组的基因型频率为CC 31.6%、CT 49.9%和TT 18.6%。据此计算,CRC组与对照组T等位基因频率分别为43.5%和48.8%,T的CRC发病风险是C的0.82倍(95%CI: 0.68-0.99, $P = 0.037$)。与CC纯合子相比,CT杂合子引起CRC风险为0.79倍(95%CI: 0.58-1.08, $P = 0.137$),而TT纯合子引起CRC风险则显著降低至0.66倍(95%CI: 0.45-0.96, $P = 0.032$)。将CT、TT基因型合并计算,则其CRC发病风险与CC基因型相比降低至0.75倍(95%CI: 0.56-1.00, $P = 0.052$, 表2)。

3 讨论

在肿瘤形成的早期阶段,TGF- β 1通过调控细胞周期、抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡发挥抗肿瘤作用^[1]。研究表明,TGF- β 1的表达受遗传学调控。TGF- β 1基因C-509T单核苷酸多态位点位于

基因上游转录起始点前509 bp,处于-731 bp至-453 bp间,而此区域恰是TGF- β 1基因的负性调控区^[4]。功能学研究显示,-509C→T多态性改变可提高TGF- β 1的转录水平^[2],结果TGF- β 1基因的表达增加,肿瘤发生风险随之降低。与此功能学研究相一致,本研究结果显示-509T等位基因降低CRC发病风险。以往研究显示,TGF- β 1 C-509T降低中国人群胃癌和食管癌的发病风险^[5-6]。结合本研究结果,我们推测,TGF- β 1 C-509T是我国人群多种恶性肿瘤共同的遗传易感基础之一。因此,TGF- β 1 C-509T与我国人群其他肿瘤,特别是消化系肿瘤风险关系的研究值得进行。

近来,有关TGF- β 1 C-509T与CRC发病风险关系的研究备受关注。Chung *et al*^[7]以韩国人群为对象的研究结果显示,-509T等位基因携带者的CRC发病风险降低,这与我们的结果一致。另有研究显示,C-509T与苏格兰、德国、意大利、美国等欧美人群的CRC发病风险无关^[8-11]。鉴于C-509T基因型在欧美与亚洲人群中的分布存在明显不同^[12],种族差异可能是导致结果不一致的主要原因。然而国内仅有的一项有关C-509T与CRC风险关系的研究结果提示,-509T

等位基因携带者的CRC发病风险增加^[13]. 导致该研究与我们研究结果相反的原因尚不清楚. Shin *et al*^[14]对TGF-β1 C-509T和乳腺癌发病风险关系的研究结果提示, -509T降低早期但增加晚期乳腺癌的发病风险. 这提示, 病例组中不同分期(早期、晚期)的CRC样本构成差异可能是造成韦良宏 *et al*^[13]成与本研究结论相反的重要原因之一.

总之, TGF-β1基因C-509T多态是中国人群重要的CRC遗传保护因子, 可作为CRC发病风险评估的筛选指标. 进一步探讨TGF-β1 C-509T多态与不同分期(早期、晚期)CRC发病风险的关系对于揭示该多态在CRC发生和/或发展中的确切作用具有重要意义.

4 参考文献

- 1 Massagué J. TGFβ in Cancer. *Cell* 2008; 134: 215-230
- 2 Silverman ES, Palmer LJ, Subramaniam V, Hallock A, Mathew S, Vallone J, Faffe DS, Shikanai T, Raby BA, Weiss ST, Shore SA. Transforming growth factor-beta1 promoter polymorphism C-509T is associated with asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169: 214-219
- 3 Jia HR, He XL, Zhu ZZ, Jin XX, Wang AZ, Huang HY, Zhu J, Yu GB, Zhu GS. [TP53 gene polymorphisms and colorectal cancer risk in Chinese population] *Zhonghua Yixue Zazhi* 2007; 87: 1448-1451
- 4 Luedeking EK, DeKosky ST, Mehdi H, Ganguli M, Kamboh MI. Analysis of genetic polymorphisms in the transforming growth factor-beta1 gene and the risk of Alzheimer's disease. *Hum Genet* 2000; 106: 565-569
- 5 Jin G, Wang L, Chen W, Hu Z, Zhou Y, Tan Y, Wang J, Hua Z, Ding W, Shen J, Zhang Z, Wang X, Xu Y, Shen H. Variant alleles of TGFB1 and TGFB2 are associated with a decreased risk of gastric cancer in a Chinese population. *Int J Cancer* 2007; 120: 1330-1335
- 6 Jin G, Deng Y, Miao R, Hu Z, Zhou Y, Tan Y, Wang J, Hua Z, Ding W, Wang L, Chen W, Shen J, Wang X, Xu Y, Shen H. TGFB1 and TGFB2 functional polymorphisms and risk of esophageal squamous cell carcinoma: a case-control analysis in a Chinese population. *J Cancer Res Clin Oncol* 2008; 134: 345-351
- 7 Chung SJ, Kim JS, Jung HC, Song IS. Transforming growth factor-[beta]1 -509T reduces risk of colorectal cancer, but not adenoma in Koreans. *Cancer Sci* 2007; 98: 401-404
- 8 Macarthur M, Sharp L, Hold GL, Little J, El-Omar EM. The role of cytokine gene polymorphisms in colorectal cancer and their interaction with aspirin use in the northeast of Scotland. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1613-1618
- 9 Crivello A, Giacalone A, Vaglica M, Scola L, Forte GI, Macaluso MC, Raimondi C, Di Noto L, Bongiovanni A, Accardo A, Candore G, Palmeri L, Verna R, Caruso C, Lio D, Palmeri S. Regulatory cytokine gene polymorphisms and risk of colorectal carcinoma. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1089: 98-103
- 10 吴国洋, 王效民, Michael Keese, Till Hasenberg, Jörg W. Sturm. TGF-β1-509 T/T基因型与结直肠癌患者术后结肠吻合口瘘的关系. *中华普通外科杂志* 2007; 22: 359-361
- 11 Saltzman BS, Yamamoto JF, Decker R, Yokochi L, Theriault AG, Vogt TM, Le Marchand L. Association of genetic variation in the transforming growth factor beta-1 gene with serum levels and risk of colorectal neoplasia. *Cancer Res* 2008; 68: 1236-1244
- 12 Wei YS, Xu QQ, Wang CF, Pan Y, Liang F, Long XK. Genetic variation in transforming growth factor-beta1 gene associated with increased risk of esophageal squamous cell carcinoma. *Tissue Antigens* 2007; 70: 464-469
- 13 韦良宏, 陈凤坤, 谭宗群, 陈海东. 转化生长因子β1基因多态性与结直肠癌关系的研究. *肿瘤* 2007; 27: 383-385
- 14 Shin A, Shu XO, Cai Q, Gao YT, Zheng W. Genetic polymorphisms of the transforming growth factor-beta1 gene and breast cancer risk: a possible dual role at different cancer stages. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 1567-1570

■同行评价

本研究的样本量较大, 同时没有回避国内已有的相反实验结果, 分析比较客观, 具有一定的可读性.

编辑 史景红 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

中国科技期刊引证报告(核心版)发布世界华人消化杂志 2007年影响因子0.568

本刊讯 2007年世界华人消化杂志的总被引频次为2353, 位居全部1723种中国科技论文统计源期刊的第86位, 内科医学类28种期刊的第5位. 2007年世界华人消化杂志的影响因子为0.568, 内科医学类28种期刊的第15位. 即年指标0.082, 他引率0.69, 引用刊数372种, 扩散因子15.81, 学科影响指标0.54. (编辑: 程剑侠 2008-12-18)