

# 探讨 MUC1 基因多态性与胃癌遗传易感性的关系

黄冠男 刁玉荃 姜相君

**【摘要】** 目的 探讨 MUC1 基因多态性与胃癌遗传易感性的关系。方法 采用病例对照研究对 150 例胃癌患者(胃癌组)和 150 名健康查体正常者(对照组)的 MUC1 基因 rs2070803 单核苷酸多态性进行检测,并分析其与胃癌易感性之间的关系。结果 MUC1 基因 rs2070803 位点 3 种基因型 GG、GA、AA 在胃癌病例组中频率分别为 80.7%、16.0%和 3.3%,而在对照组中分别为 64.7%、32.0%和 3.3%。与 GG 型比较,GA/AA 型基因型者胃癌发生的危险性降低,OR 值为 0.439(0.259~0.742)。结论 MUC1 基因 rs2070803 位点 GG、GA 基因型降低汉族人群的胃癌易感性。

**【关键词】** MUC1 基因; 多态性,单核苷酸; 胃肿瘤

## Relationships between the rs2070803 polymorphism of the MUC1 gene and susceptibility to gastric cancer

HUANG Guan-nan, DIAO Yu-quan, JIANG Xiang-jun. Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266000, China

Corresponding author: JIANG Xiang-jun, Email: drjxj@163.com

**【Abstract】** **Objective** To investigate the relationships between the rs2070803 polymorphism of the MUC1 gene and susceptibility to gastric cancer. **Methods** A case-control study was used to investigate whether the polymorphism rs2070803 in MUC1 might be associated with risk of gastric cancer in 150 incident cases with gastric cancer and 150 controls recruited in a Chinese population. **Results** The data showed that, in rs2070803, the frequency of GG genotype was 80.7% in gastric cancer patients and 64.7% in normal controls, GA genotype was associated with a decrease in risk to an adjusted OR of 0.393 (95% CI 0.225-0.685) and rs2070803 GA/AA to 0.439(95% CI 0.259-0.742). **Conclusion** The rs2070803 in MUC1 gene are associated with reduced susceptibility to gastric cancer and may play a protective role in a Chinese population.

**【Key words】** MUC1 gene; Polymorphism, single nucleotide; Stomach neoplasms

胃癌是消化道最常见的恶性肿瘤之一,其发生是一个长期积累的过程,是遗传因素和环境因素共同作用的结果,并且存在一定的个体易感性,产生这种个体易感性的原因很可能是某些与肿瘤相关的基因存在多态性。单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)是指不同个体的基因在某一特定位置点上存在单碱基的突变,它是人类可遗传变异中最常见的一种,占有已知多态性的 90%以上<sup>[1]</sup>。其数目庞大,分布广泛,并且在不同人群中的分布存在差异,而这种分布的差异,很可能代表了这些不同人群间的遗传差异。因此,对胃癌人群和正常人群进行特定位点的 SNP 对比研究,可以确定该变异与胃癌发生发展之间的关系,

有助于解释不同个体对胃癌的易感性,从而应用于对胃癌高危人群的筛查。

黏蛋白 1(简称 MUC1)是黏蛋白的一类,是 MUC1 基因编码的一种高分子量糖蛋白,广泛分布于机体正常各黏膜表面,起保护和润滑作用,是保护上皮细胞免受外界侵袭的重要屏障<sup>[2]</sup>。MUC1 可以介导细胞间的信号转导,通过参与肿瘤细胞局部微环境的维持,调节肿瘤细胞的增殖,影响机体免疫反应等多种途径影响肿瘤的发生与发展,近年来黏蛋白作为一种分子生物学标志,越来越受到人们的重视。近期的一些研究发现,MUC1 基因在胃癌的发生过程中存在异常表达<sup>[3]</sup>,这说明 MUC1 基因的改变与胃癌的发生和发展有着密切的关系,可能对胃癌的临床诊断、治疗和预后判断有重要价值。在本次实验中我们采用病例对照研究的方法对 150 例胃癌患者和 150 名健康查体正常者 MUC1 基因 rs2070803 SNP 进行检测,并分析其与

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.23.012

作者单位:266000 山东省,青岛大学医学院附属青岛市立医院消化内科(黄冠男、姜相君),急诊科(刁玉荃)

通讯作者:姜相君,Email: drjxj@163.com

胃癌易感性之间的关系。

### 资料与方法

#### 一、研究对象

150例病例组血样来自2012年12月至2013年9月青岛大学医学院附属青岛市市立医院进行胃切除手术,经组织病理学确诊为胃癌的患者,且术前未接受化疗及放疗。150名对照血样按照年龄(±5岁)、性别相匹配的原则随机取自同期体检中心的健康人员,所有对照组人员均无胃部疾病及肿瘤家族史。两组间性别、年龄差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表1。胃癌组病理分型:肠型106例,占总例数的70.7%,弥漫型39例,占总例数的26%,未分化型5例,占总例数的3.3%。

表1 研究对象的基本资料[例, (%) ]

组别	性别		年龄	
	男	女	≤60岁	>60岁
胃癌组	97(64.7)	53(35.3)	86(57.3)	64(42.6)
对照组	88(58.7)	62(41.3)	90(60.0)	60(40.0)
$\chi^2$ 值	11.14		0.22	
P值	0.285		0.639	

#### 二、方法

1. 基因组DNA提取:取外周血2 ml,按TIANGEN组织/血液DNA提取试剂盒操作说明提取基因组DNA,琼脂糖凝胶电泳法检测DNA的完整性。

2. PCR反应:以MUC1基因组序列为依据,设计MUC1基因rs2070803位点PCR引物。序列为:F:5'-AGCAGAGGCTGGGTCAGATC-3'; R:5'-CTCTAAGCCTCCTGCCACAC-3'。PCR反应体系及扩增条件:PCR反应总体系为25  $\mu$ l;含1  $\mu$ l DNA模板,10 $\times$ PCR缓冲液2.5  $\mu$ l,50 mmol/L 50 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 0.8  $\mu$ l,10 mmol/L dNTP混合液0.5  $\mu$ l,5  $\mu$ mol/L引物正反向各1  $\mu$ l,Platinum<sup>®</sup> Taq DNA聚合酶0.2  $\mu$ l,加入灭菌蒸馏水至25  $\mu$ l。反应在ABi9700PCR仪中进行,条件为:94 $^{\circ}$ C预变性5 min,94 $^{\circ}$ C变性30 s,60 $^{\circ}$ C退火30 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s,进行35个循环,72 $^{\circ}$ C后延伸5 min。PCR扩增完毕,产物用1.5%的琼脂糖凝胶电泳检测,纯化后使用3730XL型DNA测序仪进行测序。

3. DNA测序分析基因型:ABI PRISM TM 3700 DNA Analyzer上用Applied BioSystems公司的POP-6胶,使用仪器默认的3700测序程序电泳。

#### 三、统计学分析

采用SPSS 17.0统计软件进行统计分析。用Hardy-Weinberg平衡吻合度检验、 $\chi^2$ 检验分析对照组各位点基因型频率的观察值与预期值,以评估研究样本的群

体代表性。用 $\chi^2$ 检验比较病例组与对照组之间年龄、性别等基本情况频数分布差异。以OR及其95%CI表示相对危险度, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

### 结 果

1. Hardy-Weinberg平衡吻合度检验:MUC1基因rs2070803位点基因测序结果见图1~3。在正常对照中,MUC1 rs2070803基因型分布符合Hardy-Weinberg平衡( $P>0.05$ )。

2. MUC1基因rs2070803 SNP与胃癌发生的关系:在胃癌组中,发生G>A突变的例数为29例,等位基因A的频率为19.3%,在对照组中发生G>A突变的例数为53例,等位基因A的频率为35.3%,即胃癌组AA/AG等位基因基因型分布频率与正常人群相比较,两者的差别具有统计学意义( $P<0.05$ ),并且携带突变等位基因A的个体较野生型纯合基因型携带者患胃癌的风险显著下降至0.44倍( $OR=0.44$ ; 95%CI: 0.259~0.742)。见表2。

表2 rs2070803位点基因分型检测结果统计表[例, (%) ]

组别	GG	GA	AA	AA/AG
胃癌组	121(80.7)	24(16.0)	5(3.3)	29(19.3)
对照组	97(64.7)	48(32.0)	5(3.3)	53(35.3)
OR (95% CI)		0.393 (0.225~0.685)	0.802 (0.226~2.849)	0.439 (0.259~0.742)
P值		0.001	0.986	0.003

### 讨 论

胃癌是常见的恶性肿瘤之一,日本学者Tahara<sup>[4]</sup>认为胃癌的发生是癌基因、抑癌基因、DNA修复基因、遗传不稳定及端粒酶活化等多种因素共同作用的结果,在肠上皮化生阶段,幽门螺杆菌感染会诱导hTERT阳性细胞异常增生进而发展为癌。这说明胃癌的发生是一个多基因的,多阶段的过程,是环境和个体遗传因素相互作用的复杂结果。

我国胃癌发病率高,病死率高,早发现、早治疗是目前降低胃癌死亡率的关键手段。生活在相同环境中的不同人群发生胃癌的危险性有很大的差异,这说明胃癌的发生存在一定的个体易感性。通过一些分子生物学标记,如胃癌易感基因,来发现胃癌发生的高危人群,从而采取有针对性的预防和治疗措施势在必行。基因多态性是个体遗传易感差异性的最主要原因之一,而SNP是人类可遗传变异中最常见的形式<sup>[5]</sup>。近年来,对胃癌的遗传易感性与SNP的关系展开了广泛的研究。通过近几年的研究,我们已发现了几十个

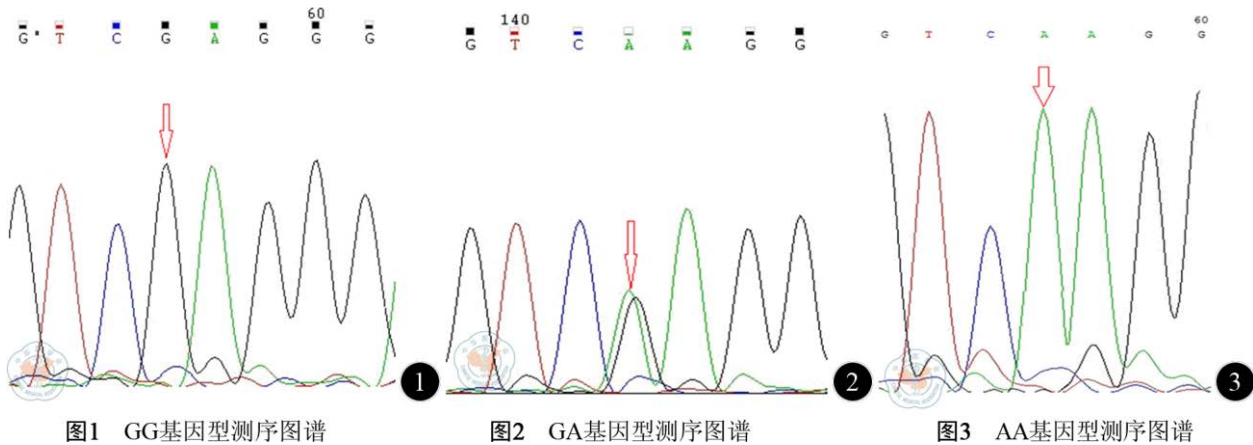


图1 GG基因型测序图谱

图2 GA基因型测序图谱

图3 AA基因型测序图谱

与胃癌的发生、发展密切相关的基因的 SNP, 这些基因涉及细胞增殖<sup>[6]</sup>, DNA 修复<sup>[7]</sup>等多个方面。

MUC1 是黏蛋白家族成员, 正常情况下 MUC1 主要表达于呼吸道、乳腺、胃肠道和泌尿生殖道等上皮组织近管腔或腺腔面, MUC1 可通过多种途径参与肿瘤细胞转移、增生等过程<sup>[8]</sup>, 其异常分布与肿瘤的发生和转移密切相关<sup>[9-10]</sup>。李达周等<sup>[11]</sup>用免疫组化证实了 MUC1 在人贲门肠化及贲门癌组织的表达情况存在差异, 甄强等<sup>[12]</sup>也证明了 MUC1 的表达在远癌组织及癌旁组织中有显著差异, 并且越接近癌中心 MUC1 表达越明显。Uen 等<sup>[13]</sup>证实了 MUC1 的表达与胃癌患者淋巴结转移情况及预后密切相关。Xu 等<sup>[14]</sup>在 MUC1 rs4072037 SNP 研究中发现, 与携带 AG+GG 基因型者相比, 携带 AA 基因型患者患胃癌的风险增大到 1.92 倍 (95% CI: 1.06~3.50), 与 Zheng 等<sup>[15]</sup>的研究结果一致。这说明 MUC1 SNP 与胃癌发病风险之间存在一定的相关性。

之前的研究很多已经证实了 MUC1 基因的多态性和胃癌发病风险的关系<sup>[16-17]</sup>, Byrd 等<sup>[18]</sup>发现 rs2070803 SNP 与弥漫型胃癌的发生密切相关 ( $P=1.2 \times 10^{-6}$ ,  $OR=1.62$ ,  $CI 1.33 \sim 1.98$ )。随后 Sakamoto 等<sup>[19]</sup>也报道了 rs2070803A 等位基因与弥漫性胃癌的发生显著相关, 并且得出了 MUC1 基因 rs2070803 SNP 与患弥漫性胃癌的风险密切相关的结论。

在本次实验中, 我们采用病例-对照研究的方法研究了 MUC1 基因 rs2070803 位点 G>A 突变与胃癌发生、发展之间的关系, 我们发现, 在对照组中有 53 例发生了 G>A 突变, 而胃癌组中只有 29 例发生了该突变, 其等位基因 A 的频率分别为胃癌组 19.3%, 对照组 35.3%, 两者差别具有统计学意义 ( $P<0.05$ )。在实验中我们发现, 携带突变等位基因 A 的个体较野生型纯合基因型携带者患胃癌的风险显著下降至 0.44 倍 ( $OR=0.44$ ; 95% CI: 0.259~0.742)。我们得到的

这个结论同之前的研究结果相吻合, 这说明 rs2070803 SNP 很可能是胃癌的一个保护性因素, 这为我们进一步阐明胃癌发生的病因学机制, 制定胃癌的预防措施及基因治疗等方面提供了一定的理论依据, 但是仍需要大样本的实验来验证这个结果。

#### 参考文献

- [1] Mah James TL, Chia KS. A gentle introduction to snpanalysis: resources and tools. *Journal of Bioinformatics and Computational Biology*, 2007, 5: 1123-1138.
- [2] 李兆中, 湛先保, 许国铭, 等. 胃粘膜损伤与保护-基础与临床. 上海: 上海科学技术出版, 2004: 82-84.
- [3] Wei X, Xu H, Kufe D. Human MUC1 on coprotein regulates p53-responsive gene transcription in the genotoxic stress response. *Cancer Cell*, 2005, 7: 167-178.
- [4] Tahara E. Genetic pathways of two types of gastric cancer. *IARC Sci Publ*, 2004(157): 327-49
- [5] 周渊, 吴强, 刘弋, 等. EZH2 基因单核苷酸多态性对中国汉族人群散发性胃癌易感性的影响. *临床与实验病理学杂志*, 2011, 27:717-721.
- [6] 宋传贵, 刘星, 黄昌明, 等. MMP-1 基因 1G/2G 多态性与胃癌预后相关性的探讨. *中华肿瘤防治杂志*, 2011, 6: 833-835.
- [7] Fan H, Liu D, Qiu X, et al. A functional polymorphism in the DNA methyltransferase-3A promoter modifies the susceptibility in gastric cancer but not in esophageal carcinoma. *BMC Med*, 2010, 8: 12.
- [8] 彭志红, 汪荣泉. 粘蛋白研究进展. *胃肠病学和肝病杂志*, 2010, 19: 952-955.
- [9] Mukhopadhyay P, Chakraborty S, Ponnasamy MP, et al. Mucins in the pathogenesis of breast cancer: implications in diagnosis, prognosis and therapy. *Biochim Biorhys Acta*, 2011, 1815: 224-240.
- [10] Senapati S, Das S, Batra SK. Mucin-interacting proteins: from function to therapeutics. *Trends Biochem Sci*, 2013, 5: 236-245.
- [11] 李达周, 王雯, 叶春荣, 等. 粘蛋白(MUC1)在正常贲门上皮、贲门肠化及贲门癌中的表达. *临床消化病杂志*, 2011, 23: 327-329.
- [12] 甄强, 高丽娜, 刘家宝, 等. MUC-1 与  $\beta$ -Catenin 在贲门癌组织中的表达及意义. *中国医药指南*, 2011, 9: 262-264.
- [13] Uen YH, Lin SR, Wu CH, et al. Clinical significance of MUC1 and c-Met RT-PCR detection of circulating tumor cells in patients with gastric carcinoma. *Clin Chim Acta*, 2006, 367: 55-61.
- [14] Xu Q, Yuan Y, Sun LP, et al. Risk of gastric cancer is associated with the MUC1568A/Gpolymorphism. *Int J Oncol*, 2009, 35: 1313-1320.
- [15] Zheng L, Zhu C, Gu J, et al. Functional polymorphism rs4072037 in MUC1 gene contributes to the susceptibility to gastric cancer: evidence from pooled 6, 580 cases and 10, 324 controls. *Mol Biol Rep*, 2013, 40:

- 5791-5796.
- [16] Imbert Y, Darling DS, Jumblatt MM, et al. MUC1 splice variants in human ocular surface tissues: possible differences between dry eye patients and normal controls. *Exp Eye Res*, 2006, 83: 493-501.
- [17] Jia Y, Persson C, Hou L, et al. A comprehensive analysis of common genetic variation in MUC1, MUC5AC, MUC6 genes and risk of stomach cancer. *Cancer Causes Control*, 2010, 21: 313-321.
- [18] Byrd JC, Bresalier RS. Mucins and mucin binding proteins in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev*, 2004, 23: 77-99.
- [19] Sakamoto H, Yoshimura K, Saeki N, et al. Genetic variation in psca is associated with susceptibility to diffuse-type gastric cancer. *Nature Genetics*, 2008, 40: 730-740.

(收稿日期: 2013-10-17)

(本文编辑: 马超)

黄冠男, 刁玉荃, 姜相君. 探讨 MUC1 基因多态性与胃癌遗传易感性的关系 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2013, 7 (23): 10435-10438.

