

脂联素基因多态性与非小细胞肺癌遗传易感性的关联

李盈甫¹⁾, 钱旭²⁾, 周竞贤³⁾, 陈楠⁴⁾, 虎月燕¹⁾, 马千里⁴⁾

(1) 昆明医科大学第一附属医院干疗科, 云南昆明 650032; 2) 昆明市延安医院心血管外科, 云南昆明 650051; 3) 中国医学科学院北京协和医学院医学生物学研究所 云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 云南昆明 650118; 4) 昆明医科大学第三附属医院心胸外科, 云南昆明 650106)

[摘要] **目的** 探讨脂联素 (adiponectin, Acrp30, ADIPO) 基因启动子区域多态性与非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 的相关性. **方法** 采用 Taq Man 探针基因分型方法对 NSCLC 患者 (n=179) 与健康体检人群 (n=242) 进行 ADIPO 基因启动子区域 SNP-12140 和 SNP-11426 两个位点进行基因分型, 评估这 2 个 SNPs 与 NSCLC 发生的相关性, 同时根据肺癌病理类型进行分层分析, 评估这 2 个位点与 NSCLC 中与鳞癌和腺癌的相关性. **结果** 病例组和对照组 NSCLC 基因 SNP-12140 位点基因型和等位基因频率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), SNP-11426 位点基因型和等位基因频率在病例组和对照组中无差异 ($P > 0.05$). 在鳞癌和腺癌中 SNP-12140 和 SNP-11426 无差异 ($P > 0.05$). **结论** 脂联素基因启动子区域 SNP-11426 与 NSCLC 的发生有关, 其中 A 等位基因可能减少 NSCLC 的患病风险 (OR = 0.622, 95% CI: 0.398 ~ 0.971), 但是该位点与肺癌的病理类型无相关性.

[关键词] 癌; 非小细胞肺; 脂联素; 多态性; 单核苷酸

[中图分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2014) 09-0052-04

Association Study of Adiponectin Gene Polymorphisms with Genetic Predisposition of Non-small Cell Lung Cancer

LI Ying-fu¹⁾, QIAN Xu²⁾, ZHOU Jing-xian³⁾, CHEN Nan⁴⁾, HU Yue-yan¹⁾, MA Qian-li⁴⁾

(1) Dept. of Geriatrics, The 1st Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032; 2) Dept. of Cardiothoracic Surgery, The Affiliated Yan'an Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650051; 3) Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research & Development on Severe Infectious Disease, Kunming Yunnan 650118; 4) Dept. of Thoracic Surgery, The 3rd Affiliated Hospital of Kunming Medical University/Yunnan Cancer Institute of Lung Cancer Research Center, Kunming Yunnan 650106, China)

[Abstract] **Objective** This study aimed to investigate the association of adiponectin (ADIPO) gene polymorphisms with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** 179 patients with NSCLC and 242 healthy controls in Chinese Han were enrolled in present study. Two single nucleotide polymorphisms (SNPs) of SNP-12140 and SNP-11426 in ADIPO gene were genotyped using TaqMan technique. The correlations between the two SNPs and NSCLC occurrence were evaluated. **Results** The genotypic and allelic frequencies of SNP-12140 showed significant difference between NSCLC and the control groups ($P < 0.05$). However, the genotypic and allelic frequencies of these two SNPs showed no significant difference between the squamous carcinoma and the adenocarcinoma groups ($P > 0.05$). **Conclusion** ADIPO SNP-12140 had a association with NSCLC, and SNP-12140 A allele was associated with decreased NSCLC risk (OR = 0.622, 95% CI: 0.398 ~ 0.971).

[作者简介] 云南省应用基础研究计划项目 (NO2012FB064)

[作者简介] 李盈甫 (1978~), 男, 云南昆明市人, 在读硕士研究生, 主治医师, 主要从事老年呼吸系统肿瘤临床工作.

[通讯作者] 马千里. E-mail: maqianli78@126.com

However, SNP-12140 was not associated with the pathologic types of NSCLC.

[Key words] Carcinoma; Non-small-cell lung; Adiponectin; Polymorphisms; Single nucleotide polymorphism
肺癌是世界范围内居首位的癌症死亡因素, 每年因肺癌而死亡的病人超过百万, 而其中非小细胞肺

癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 占据所有肺癌病人的 80% 以上, 虽然抗肿瘤技术不断发展但是肺癌的预后仍然很低, 患者的 5 a 生存率不到 20%^[1]. 肺癌的家族聚集现象表明, 在肺癌的发生发展过程中遗传因素可能起到至关重要的作用.

脂联素 (adiponectin, Acrp30, ADIPO) 是脂肪组织特异性分泌的一种新型蛋白. 脂联素可改善肥胖及 2 型糖尿病患者的高脂血症及胰岛素抵抗. 最近的证据表明血清中的脂联素水平与包括子宫内膜癌、肾细胞癌、乳腺癌、结肠癌等多种癌症的发生风险呈负相关^[2-4]. 2011 年, Cui 等的研究表明, 脂联素基因中的单核苷酸多态性 (single-nucleotide polymorphism, SNP) 可能影响 NSCLC 的发病率和病人的生存率^[5].

本研究对脂联素基因启动子区域 SNP-12140 和 SNP-11426 两个 SNPs 位点进行基因分型, 探讨 SNP-12140 和 SNP-11426 位点与非小细胞肺癌发生和发展的相关性, 为肺癌相关基因的研究提供遗传数据.

1 资遗与传易

1.1 临床资遗

根据知情同意原则, 选取 2012 年 9 月至 2013 年 9 月间在昆明医科大学第一和第三附属医院确诊的肺癌患者 (男 =120, 女 =59) 和健康对照人群 (男 =154, 女 =88). 病例组平均年龄 (54.04 ± 10.03) 岁, 对照组 (55.81 ± 7.45) 岁; 病例组 179 例 (男 =120, 女 =59); 对照组 242 例 (男 =154, 女 =88). 2 组间的性别和年龄分布差异无统计学意义 ($P > 0.05$). 肺癌诊断及纳入标准: 经外科手术切片病理学确诊为原发性非小细胞肺癌 (NSCLC) 并且手术前未经任何形式抗癌治疗, 无肺癌家族史, 相互间无亲缘关系. 病例组包括鳞癌 75 例, 腺癌 103 例, 腺鳞癌 1 例. 对照组为同期到昆明医科大学第一附属医院和昆明医科大学第一附属医院体检的健康人群, 其纳入标准为: 经 CT、PET-CT、超声等临床检查结果排外肺部占位性病变、无刺激性干咳、无痰中带血或血痰、胸痛等相关症状, 相互间无亲缘关系. 病例组和对照组均为排除既往曾经患有糖尿病、心血管疾病或其他恶性肿瘤病史的中国汉族人群.

1.2 NSCLC 诊断及分期

NSCLC 的诊断通过开胸手术、胸腔镜检查、纤维支气管镜等方式获取组织, 并经病理学诊断确诊证实^[6]. 对非手术治疗的患者, 根据影像学等检查结果进行临床分期^[7], 对肺癌完全切除术的患者, 采用国际肺癌研究协会 (international association for the study of lung cancer, IASLC) 2009 年第 7 版分期标准进行病理分期.

1.3 样品处理

采集空腹静脉血 5 mL, 使用 AxyPrep 血基因组 DNA 试剂盒提取 DNA.

1.4 脂联素基因启动子品细 SNP 位点基因分型

使用 Taq Man 探针基因分型方法, SNP-12140 和 SNP-11426 引物及探针由 Applied Biosystems 公司提供定制, SNP-12140 和 SNP-11426 两个位点运用罗氏 LightCycler 480 实时荧光定量 PCR 仪进行基因分型. PCR 反应体积为 20 μ L, 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 10 min 预变性, 92 $^{\circ}$ C 15 s 变性, 60 $^{\circ}$ C 1 min 退火, 共 40 个循环, 40 $^{\circ}$ C 5 min 长延伸. 每一块 96 孔反应板中包括经测序验证获得的 3 个已知基因型 (野生纯合子、突变纯合子、杂合子) 的标准样品作为对照.

1.5 统计学分析

使用 Hardy-Weinberg 平衡检验基因型频率的代表性. χ^2 检验比较肺癌组与正常对照组 ADIPO 基因启动子区域 2 个 SNP 基因型、等位基因频率差异. χ^2 检验比较肺癌不同病理类型中 ADIPO 基因启动子区域 2 个 SNP 基因型、等位基因频率差异. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 脂联素基因启动子品细多态性位点在 NSCLC 组与对照组的等位基因与基因型频率分布特征

脂联素基因启动子区域两个 SNP 位点 SNP-12140 和 SNP-11426 的基因型分布在病例组和对照组中均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($P > 0.05$). 在病例组和对照组中, 脂联素 SNP-12140 等位基因 A 和 G 的频率分别为 8.9%、13.6% 和 91.1%、86.4%; AA、AG、GG 基因型频率分别为 1.1%、15.6%、83.2% 和 2.9%、21.5%、75.6%.

SNP-12140 的等位基因频率在病例组和对照组中的分布存在显著差异 ($P < 0.05$), 见表 1. A 等位基因对 NSCLC 的发生可能具有保护性作用 ($OR = 0.622$, 95% CI: 0.398 ~ 0.971). 在病例组和对照组中, SNP-11426 等位基因 A 和 G 的频率分别为 84.1%、15.9% 和 86.8%、13.2%; AA、AG、GG 基因型频率分别为 70.9%、26.3%、2.8% 和 75.6%、22.3%、2.1%. SNP-11426 的等位基因频率在病例组和对照组中的分布无显著差异 ($P > 0.05$), 见表 2.

2.2 脂联素基因启动子品细多态性位点在鳞癌组与腺癌组中的等位基因与基因型频率分布特征

在鳞癌组和腺癌组中, SNP-12140 等位基因 A 和 G 的频率分别为 5.8%、94.2% 和 11.4%、88.6%; AA、AG、GG 基因型频率分别为 0%、11.7%、88.3% 和 2%、18.8%、79.2%. SNP-12140 的等位基因频率在鳞癌组和腺癌组的分布无显著差异 ($P > 0.05$), 见表 3. SNP-11426 等位基因 A 和 G 的频率分别为 82.5%、17.5% 和 85.1%、14.9%; AA、AG、GG 基因型频率分别为 66.2%、32.5%、1.3% 和 74.3%、21.8%、4%. SNP-11426 的等位基因频率在鳞癌组和腺癌组的分布无显著差异 ($P > 0.05$), 见表 4.

表 1 SNP-12140 位点在病例组和对胞组的基因型和等位基因频率及 OR 点

Tab. 1 Comparison of SNP-12140 genotype and allele frequency between NSCLC and control groups

组别	基因型			等位基因	
	AA	AG	GG	A	G
病例组	0.011	0.156	0.832	0.089*	0.911*
对照组	0.029	0.215	0.756	0.136	0.864

与对照组比较, * $P < 0.05$.

表 2 SNP-11426 位点在病例组和对胞组的基因型和等位基因频率及 OR 点

Tab. 2 Comparison of SNP-11426 genotype and allele frequency between NSCLC and control groups

组别	基因型			等位基因	
	AA	AG	GG	A	G
病例组	0.709	0.263	0.028	0.841	0.159
对照组	0.756	0.223	0.021	0.868	0.132

表 3 SNP-12140 位点在鳞癌组和腺癌组的基因型和等位基因频率及 OR 点

Tab. 3 Comparison of SNP-12140 genotype and allele frequency between squamous carcinoma and adenocarcinoma

组别	基因型			等位基因	
	AA	AG	GG	A	G
鳞癌组	0.000	0.117	0.883	0.058	0.942
腺癌组	0.020	0.188	0.792	0.114	0.886

表 4 SNP-11426 位点在鳞癌组和腺癌组的基因型和等位基因频率及 OR 点

Tab. 4 Comparison of SNP-11426 genotype and allele frequency between squamous carcinoma and adenocarcinoma

组别	基因型			等位基因	
	AA	AG	GG	A	G
鳞癌组	0.662	0.325	0.013	0.825	0.149
腺癌组	0.743	0.218	0.040	0.114	0.886

3 讨论

1995 年, Scherer 等^[8]首次在小鼠 3T3-L1 前脂肪细胞系的分化过程中发现并克隆出脂肪细胞补体相关蛋白 Pr30 (Acpr30). 1999 年, Arita 等^[9]将其正式命名为脂联素. 脂联素基因为单拷贝基因, 位于染色体 3q27, 全长约 17 kb, 由 3 个外显子及 2 个内含子组成.

近期的研究表明, 脂联素可能在恶性肿瘤的发生发展中起到抑制作用. 脂联素可能与脂联素受体结合并激活受体和下游的信号转导通路, 直接作用于肿瘤细胞; 或者通过抗血管生成, 诱导肿瘤细胞凋亡或其他机制调节细胞增殖^[10]. 病例对照研究显示, 体内的脂联素水平与恶性肿瘤风险呈负相关, 其中包括子宫内膜癌、肾细胞癌、乳腺癌、结肠癌、胃癌、前列腺癌等^[2-4]. 2007 年 Petridou 等^[11]的研究发现, 肺癌患者血清中的脂联素水平与对照组相比并无明显差异, 但是在晚期肺癌患者血清中的脂联素水平明显降低, 因此, 他们认为脂联素可能可以成为对诊断肺癌进展的潜在标记物. 2012 年, 杨文平等^[12]的一项 54 个肺癌病例对照研究发现, 肺癌患者血清中的脂联素水平与对照组相比并无明显差异, 但是发生远处转移后肺癌患者血清中脂联素的表达水平与未远处转移的肺癌患者血清脂联素水平有统计学差异. 同时, 多因素回归分析也提

示,低血清脂联素水平与肺癌发生远处转移相关。因此,脂联素水平的降低提示肺癌患者具有更高的侵袭性和转移性,在未来可能成为反映肺癌患者疾病进展的一个血清指标。

近年来有报道证明脂联素基因中的 SNP 与脂联素的血浆水平,基因表达和生物学活性密切相关。其中,SNP-11365 (C>G, rs266729) 可影响血循环中脂联素水平^[13,14]。2008 年 Kaklamani 等^[13]揭示脂联素基因 SNPs-rs2241766 和 rs1501299 与美国人乳腺癌发生相关。本次研究结果发现,脂联素基因启动子区域的 SNP-12140 位点与 NSCLC 的发生具有相关性,且 A 等位基因对 NSCLC 的发生可能具有保护性作用 (OR = 0.622, 95% CI: 0.398 ~ 0.971)。但是分层分析结果发现,在鳞癌组和腺癌组中,SNP-12140 和 SNP-11426 等位基因和基因型频率无统计学差异 ($P > 0.05$)。研究结果提示该位点变异与肺癌的发生有相关性,但是与肺癌的病理类型无相关性。

综上所述,笔者推测脂联素基因启动子 SNP-11426 可能在 NSCLC 的发展中扮演重要角色,其可能减少患 NSCLC 风险。在今后的研究中,笔者将对脂联素基因启动子的其他多态性位点进行基因分型,期望获得该区域与 NSCLC 更全面的相关性数据,为下一步探讨脂联素基因启动子变异在 NSCLC 发生和发展的作用提供证据。

[参考文献]

- [1] LAWRENCE R E, SALGIA R. MET molecular mechanisms and therapies in lung cancer [J]. *Cell Adh Migr*, 2010, 4 (1):146 - 152.
- [2] HORIGUCHI A, ITO K, SUMITOMO M, et al. Decreased serum adiponectin levels in patients with metastatic renal cell carcinoma [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2008, 38 (2): 106 - 111.
- [3] ISHIKAWA M, KITAYAMA J, KAZAMA S, et al. Plasma adiponectin and gastric cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11 (2 Pt 1): 466 - 472.
- [4] MIYOSHI Y, FUNAHASHI T, KIHARA S, et al. Association of serum adiponectin levels with breast cancer risk [J]. *Clin Cancer R*, 2003, 9 (15): 5 699 - 5 704.
- [5] CUI E, DENG A, WANG X, et al. The role of adiponectin (ADIPOQ) gene polymorphisms in the susceptibility and prognosis of non-small cell lung cancer [J]. *Biochem Cell Biol*, 2011, 89 (3): 308 - 313.
- [6] 高俊珍, 付秀华, 王立红. 无症状肺癌的临床特点及其诊断方法分析 [J/CD] [J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2012, 6(4): 990 - 992.
- [7] 马云川. PET 概述及其在肺癌诊疗中的应用 [J/CD] [J]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2008, 2(11): 1 313.
- [8] SCHERER P E, WILLIAMS S, FOGLIANO M, et al. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes [J]. *J Biol Chem*, 1995, 270 (45): 26 746 - 26 749.
- [9] ARITA Y, KIHARA S, OUCHI N, et al. Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 257 (1): 79 - 83.
- [10] 李盈甫, 马千里, 姚宇峰. 脂联素基因与非小细胞肺癌相关性研究进展 [J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2013, 7 (23): 10 944 - 10 946.
- [11] PETRIDOU E T, MITSIADES N, GIALAMAS S, et al. Circulating adiponectin levels and expression of adiponectin receptors in relation to lung cancer: two case-control studies [J]. *Oncology*, 2007, 73 (3-4): 261 - 269.
- [12] 杨文平, 蔡曦光, 刘华. 脂联素在肺癌患者血清中的表达及意义 [J]. *国际呼吸杂志*, 2012, 32(10): 769 - 772.
- [13] KAKLAMANI VG, SADIM M, HSI A, et al. Variants of the adiponectin and adiponectin receptor 1 genes and breast cancer risk [J]. *Cancer Res*, 2008, 68 (9): 3 178 - 3 184.
- [14] VASSEUR F, HELBECQUE N, DINA C, et al. Single-nucleotide polymorphism haplotypes in the both proximal promoter and exon 3 of the APM1 gene modulate adipocyte-secreted adiponectin hormone levels and contribute to the genetic risk for type 2 diabetes in French Caucasians [J]. *Hum Mol Genet*, 2002, 11 (21): 2 607 - 2 614.

(2014-06-13 收稿)