

PARP-1 基因多态性与临夏回族自治州回族人群胃癌易感性的关联研究

唐小凡 何正德 李玉民 蒋祥林

摘要 **目的** 探讨聚腺苷二磷酸核糖聚合酶-1 (PARP-1) Val762Ala 的单核苷酸多态与临夏回族自治州回族人群胃癌易感性的关系。**方法** 采用病例-对照研究设计,研究对象为临夏回族自治州居民(20 岁以上,居住满 20 年以上,3 代无族外通婚)。分两组:胃癌组 200 例,均经组织学确诊。对照组 210 例,按年龄、性别进行匹配的无肿瘤史的健康回族志愿者。抽提血液 DNA,采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性方法(PCR-RFLP)进行基因分型。使用 ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) 法检测血浆中 *H. pylori* 的 IgG 抗体,以检测研究对象是否有 *H. pylori* 感染。用 SPSS 13.0 统计软件分析试验结果。**结果** PARP-1 762Val/Ala + Ala/Ala 在胃癌组显著增高 (OR:2.158, 95% CI:1.404 ~ 3.315, $P=0.020$)。交互作用分析显示:家族史阳性的 Val/Ala + Ala/Ala 基因型患胃癌的风险是家族史阴性的 Val/Val 基因型的 4.125 倍 (OR:4.125, 95% CI:2.117 ~ 8.038, $P=0.000$);食腌菜的 Val/Ala + Ala/Ala 基因型患胃癌的风险是不食腌菜的 Val/Val 基因型的 3.814 倍 (OR:3.814, 95% CI:2.150 ~ 6.766, $P=0.000$);*H. pylori* 感染阳性的 Val/Ala + Ala/Ala 基因型患胃癌的风险是 *H. pylori* 感染阴性 Val/Val 基因型的 4.085 倍 (OR:4.085, 95% CI:2.197 ~ 7.597, $P=0.000$)。**结论** PARP-1 Val762Ala 单核苷酸多态与临夏回族自治州回族人群胃癌易感性增高相关。PARP-1 Val/Ala + Ala/Ala 基因型分别与家族史、食腌菜、*H. pylori* 感染在胃癌的发病风险中存在着加乘交互效应。

关键词 胃癌 聚腺苷二磷酸核糖聚合酶-1 基因多态性

Correlation Between the Nucleotide Polymorphisms of PARP-1 and the Susceptibility of Gastric Cancer in Hui Ethnic Group of Linxia Hui Autonomous Prefecture. Tang Xiaofan, He Zhengde, Li Yumen, Jiang Xianglin. The General Hospital of Sichuan Province's Judicial Politics, Sichuan 610225, China

Abstract **Objective** To explore the correlation between nucleotide polymorphisms in polymerase-1 (PARP-1) Val762Ala and the susceptibility of gastric cancer in Hui ethnic group of Linxia Hui Autonomous Prefecture. **Methods** A case-control study was performed. All investigated objects were Hui ethnic population of Linxia Hui Autonomous Prefecture that included 2 groups: gastric cancer group (200 gastric cancer patients), and control group (210 controls, frequency-matched for age and sex). Polymerase chain reaction-restricted fragments length polymorphism (PCR-RFLP) method was used to detect genotypes of PARP-1 Val762Ala polymorphisms. ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) method was used to identify IgG to *H. pylori*. The results were analyzed by SPSS13.0. **Results** PARP-1 762Val/Ala + Ala/Ala genotypes were overrepresented in the gastric cancer group (OR:2.158, 95% CI:1.404 ~ 3.315, $P=0.020$). Interaction analysis showed that: Val/Ala + Ala/Ala genotypes carriers with positive family history of gastric cancer had 4.125 fold increased risk for developing gastric cancer compared with Val/Val genotypes carriers with negative family history of gastric cancer (OR:4.125, 95% CI:2.117 ~ 8.038, $P=0.000$); Val/Ala + Ala/Ala genotypes carriers with eating pickle vegetables had 3.814 fold increased risk for developing gastric cancer compared with Val/Val genotypes carriers with not-eating pickle vegetables (OR:3.814, 95% CI:2.150 ~ 6.766, $P=0.000$). Val/Ala + Ala/Ala genotypes carriers with positive *H. pylori* infection had 4.085 fold increased risk for developing gastric cancer compared with Val/Val genotypes carriers with negative *H. pylori* infection (OR:4.085, 95% CI:2.197 ~ 7.597, $P=0.000$). **Conclusion** PARP-1 Val762Ala contributed to the increased susceptibility of gastric cancer in Hui ethnic group in Linxia Hui Autonomous Prefecture. Multiplicative interactions lied in between PARP-1 762Val/Ala + Ala/Ala genotypes and positive family history of gastric cancer, eating pickle vegetables, *H. pylori* infection in risk of developing gastric cancer.

Key words Gastric cancer; Poly (ADP-ribose) polymerase-1; Polymorphism

作者单位:610225 成都,四川省司法警官总医院普外科(唐小凡、何正德、蒋祥林);730000 兰州大学第二医院普外科(李玉民)

幽门螺旋杆菌 (*H. pylori*) 感染、盐腌食品、饮酒、吸烟等是与胃癌发生有关的主要危险因素。然而,接触同样的危险因素,却仅有部分人发生胃癌,说

明不同个体对胃癌的易感性存在差异,其遗传学基础是人类基因组 DNA 序列的变异性,其中最常见的是单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) [1,2]。

聚腺苷二磷酸核糖聚合酶 [poly (ADP ribose) polymerase, PARP] 是一个能选择性识别并结合 DNA 缺口的 DNA 结合蛋白酶,人的 PARP 组成一个有 17 个成员的大家族,其中 PARP - 1 是原型。PARP - 1 基因存在多个单核苷酸多态性位点,其中某些位点被报道与恶性肿瘤的易感性相关 [3]。

回族是我国的一个重要的民族。根据 2000 年第 5 次人口普查数据,甘肃回族人口为 118.49 万人,居全国第二。甘肃临夏回族自治州是全国两个回族自治州之一。回族在临夏州境内的总人口约 61 万人。王德增等 [4] 发现回族胃癌患病率可能较高。其原因可能与遗传及回族大部居住高原和饮食特点 (冬春季节较长,多以腌菜为主) 有关。苏芳贤等 [5] 在 3269 例回族胃镜检查中,检出胃癌 431 例,胃癌检出率为 13.2%。因此,探讨回族胃癌发病机制、易感因素、治疗方法及预防措施具有重要的意义。唐小凡等 [6] 研究表明 COX - 2 - 765G > C 和中国甘肃地区回族人群众胃癌易感性增高相关。目前尚未见 PARP - 1 Val762Ala 基因多态性与回族人群众胃癌易感性方面的文献报告。本研究旨在探讨临夏回族自治州回族人群众中 PARP - 1 基因多态与胃癌易感性之间关系。

资料与方法

1. 一般资料:研究对象均为甘肃临夏回族自治州居民 (20 岁以上,居住满 20 年以上,3 代无族外通婚的回族居民)。分胃癌组 (200 例)、正常对照组 (210 例)。胃癌组为 2007 年 9 月 ~ 2010 年 5 月在甘肃临夏及兰州地区二级甲等以上医院住院或接受胃镜检查并满足上述条件的回族居民,均经组织病理学确诊。正常对照组:来自同一时期该地区按性别、年龄 (± 5 岁) 配对,并排除肿瘤和消化系统疾病的健康回族志愿者。征得研究对象同意,并采集以下信息:a. 人口学特征,如年龄、性别等;b. 胃癌家族史 (家族中有 1 名以上一级亲属或 2 名以上二级亲属患有胃癌者为阳性);c. 食腌菜史 (自行拟定标准为每周 ≥ 5 次,每次 ≥ 50 g, ≥ 6 个月/年,连续 3 年以上)。经调查,回族不吸烟、不喝酒,所以本研究未涉及吸烟、饮酒史。每位研究对象自愿贡献外周静脉血 5ml (EDTA 抗凝), - 70℃ 冰箱保存。

2. 实验方法:研究对象的基因组 DNA 样品从外周血淋巴细胞中分离。使用幽门螺杆菌 IgG 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂盒检测是否有 *H. pylori* 感染。扩增引物参照文献,上游引物:5' - GCCCTCTGACATGTTTCTCC - 3',下游引物 5' - AAGGAGGGCACC GAACAC - 3',由 Sangon 公司合成

(PAGE 纯化) [7]。PCR 扩增在 50 μ l 反应体系中进行,包括 10 $\times$ Buffer 5 μ l, 4 $\times$ dNTPs 10mmol/L 5 μ l, 25mmol/L MgCl₂ 6 μ l, 引物 (50 μ mol/L) 各 1 μ l, Tag 酶 0.2 μ l, 模板 3 μ l, 去离子水 29 μ l。反应条件:94℃ 预变性 5min, 然后按 94℃ 30s、62℃ 30s、72℃ 45 秒的顺序进行 35 个循环,最后 72℃ 延伸 10min。扩增产物用内切酶 Tail 进行消化,酶切反应体系为 20 μ l, 其中 PCR 产物 10 μ l, 2 $\times$ Buffer 2 μ l, 内切酶 1 μ l (10 个单位), 去离子水 7 μ l。37℃ 温育过夜。3% 琼脂糖凝胶 100V 电泳检测酶切结果。酶切后 Ala/Ala 型无酶切位点,产生 100bp 一条片段;Val/Val 型产生 80bp 和 20bp 两条片段;Val/Ala 型经酶切后产生 100bp、80bp 和 20bp 3 条片段。其中 20bp 的片段与引物二聚体在凝胶上难以分辨。

3. 统计学方法:两组之间年龄性别差异用 *t* 检验比较。 χ^2 检验比较两组之间性别、家族史、食腌菜、*H. pylori* 感染和各基因型的分布差异。计量资料采用均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。以非条件 Logistic 回归计算比值比 (odds ratio, OR) 及其 95% 可信区间 (confidence interval, CI) 评价各基因型与胃癌发病风险的关系。所用统计学分析软件为 SPSS 13.0。所有统计检验均为双侧概率检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。 $P < 0.05$ 为差异具有显著性。

结 果

1. 胃癌组与正常对照组在家族史、食腌菜、*H. pylori* 感染率方面的比较:胃癌组与正常对照组比较,家族史阳性率、食腌菜、*H. pylori* 感染率均有统计学差异 ($P = 0.000$) (表 1)。

表 1 胃癌组与正常对照组在家族史、食腌菜、*H. pylori* 感染率方面的比较 [$n(\%)$]

项目	正常对照组	胃癌组	<i>P</i>
家族史			
阳性	23 (11.0)	48 (24.0)	0.000
阴性	187 (89.0)	152 (76.0)	
是否食腌菜			
食腌菜	45 (21.4)	84 (42.0)	0.000
不食腌菜	165 (78.6)	116 (58.0)	
<i>H. pylori</i> 感染			
阳性	102 (48.6)	134 (67.0)	0.000
阴性	108 (51.4)	66 (33.0)	

2. 基因型频率分布及与胃癌的关系:表 2 所示 PARP - 1 Val762Ala 的基因型频率分布均符合 Hardy - Weinberg 平衡规律 ($P = 0.348, 0.067$)。PARP - 1 762Val/Ala、Ala/Ala 分别与 Val/Val 比较,两组之间差异无统计学意义 ($P > 0.05$),但 Val/Ala + Ala/Ala 在胃癌组显著增高 ($P = 0.020$)。

3. 基因型的分层分析:表 3 示:在年龄、性别、家族史、食腌菜分层分析中未观察到基因型分布差异。

在 *H. pylori* 感染阳性人群中, PARP - 1 Val/Ala + Ala/Ala 基因型患胃癌的风险是 Val/Val 基因型的 1.748 倍(OR = 1.748, 95% CI: 1.016 ~ 3.008, *P* = 0.043)。

表 2 PARP - 1 基因型在 3 组中的分布及其与胃癌的关系[*n*(%)]

基因型	胃癌组	正常对照组	OR(95% CI)	<i>P</i>
Val/ Val	122(61.0)	162(77.2)	1.000	
Val/Ala	56 (28.0)	40(19.0)	1.859(1.163 ~ 2.971)	0.052
Ala/Ala	22(11.0)	8(3.8)	3.652(1.572 ~ 8.481)	0.051
Val/Ala + Ala/Ala	78(39.0)	48(22.8)	2.158(1.404 ~ 3.315)	0.020

表 3 PARP - 1Val762Ala 基因多态性与胃癌相关性的分层分析

分层	胃癌组		正常对照组		OR(95% CI)	<i>P</i>
	Val/Val	Val/Ala + Ala/Ala	Val/Val	Val/Ala + Ala/Ala		
年龄						
<60 岁	55	29	70	20	1.845(0.944 ~ 3.607)	0.071
≥60 岁	67	49	92	28	2.403(1.371 ~ 4.211)	0.052
性别						
女性	45	20	55	13	1.880(0.843 ~ 4.192)	0.120
男性	77	58	107	35	1.915(0.144 ~ 3.207)	0.053
家族史						
阳性	77	58	14	9	1.691(0.615 ~ 4.646)	0.307
阴性	99	53	148	39	2.052(1.250 ~ 3.301)	0.004
食腌菜						
食	43	41	30	15	1.907(0.898 ~ 4.050)	0.091
不食	79	37	132	33	1.873(1.085 ~ 3.234)	0.023
<i>H. pylori</i> 感染						
阳性	76	58	71	31	1.748(1.016 ~ 3.008)	0.043
阴性	46	20	91	17	2.327(1.113 ~ 4.865)	0.023

4. 家族史、食腌菜、*H. pylori* 感染与 PARP - 1 Val762Ala 交互作用对胃癌发病风险的影响: 分别以家族史阴性、不食腌菜、*H. pylori* 感染阴性的正常对照组中基因型为 Val/Val 的个体为对照, 家族史阳性的胃癌组 Val/Ala + Ala/Ala 基因型患胃癌的风险是家族史阴性的正常对照组 Val/Val 基因型的 4.125 倍(OR = 4.125, 95% CI: 2.117 ~ 8.038, *P* = 0.000), 大于家族史阴性的胃癌组对家族史阴性的正常对照组 OR 值与家族史阳性的胃癌组对家族史阳性的正常对照组 OR 值乘积; 食腌菜的胃癌组 Val/Ala + Ala/Ala 基因型患胃癌的风险是不食腌菜的正常对照组 Val/Val 基因型的 3.814 倍(OR = 3.814, 95% CI: 2.150 ~ 6.766, *P* = 0.000), 大于不食腌菜的胃癌组对不食腌菜的正常对照组 OR 值与食腌菜的胃癌组对食腌菜的正常对照组 OR 值乘积; *H. pylori* 感染阳性的胃癌组 Val/Ala + Ala/Ala 基因型患胃癌的风险是 *H. pylori* 感染阴性的正常对照组 Val/Val 基因型的 4.085 倍(OR = 4.085, 95% CI: 2.197 ~ 7.597, *P* = 0.000), 大于 *H. pylori* 感染阴性胃癌组对 *H. pylori* 感

染阴性的正常对照组的 OR 值与 *H. pylori* 感染阳性的胃癌组对 *H. pylori* 感染阳性的正常对照组的 OR 值乘积, 可见 Val/Ala + Ala/Ala 基因型分别与家族史、食腌菜、*H. pylori* 感染对胃癌的发生具有加乘交互作用。

讨 论

1. PARP - 1 Val762Ala 基因多态性与胃癌易感性: PARP - 1 主要通过修复 DNA 单链及双链断裂在维持基因组的完整性方面发挥作用^[8]。PARP - 1 基因存在着丰富的单核苷酸多态性, 尤其是 Val762Ala 位点的多态可下调酶的活性, 与人类多种肿瘤相关^[9]。Shiokawa 等^[10]在人类生殖肿瘤细胞中发现了 PARP - 1 Val762Ala 的基因多态性。Zhang 等^[11]的研究显示在中国汉族人群中, PARP - 1 Val762Ala 多态与吸烟相关的肺癌发病风险增高相关。本研究发现携带 PARP - 1 Val/Ala + Ala/Ala 基因型的个体患胃癌的风险是 Val/Val 携带者的 2.158 倍(*P* = 0.020)。胃癌组的 Ala 等位基因频率明显高于正常对照组的 Ala 等位基因频率(*P* = 0.000)。通过数据分析, 我们

认为 PARP - 1 Val762Ala 多态性与临夏回族自治州回族胃癌的发病风险相关。

2. 胃癌家族史、食腌菜、*H. pylori* 感染与 PARP - 1 Val762Ala 的交互作用对胃癌发病风险的影响: 胃癌有明显的家族聚集现象, 家族发病率高于人群 2 ~ 3 倍^[12,13]。一般认为遗传素质使致癌物质对易感者更易致癌, 人体对内外源性致癌剂的代谢能力和基因修复能力等因素将影响个体对胃癌的易感性。本研究发现胃癌组的家族史阳性率高于正常对照组 ($P = 0.000$)。交互作用分析证明 PARP - 1 Val/Ala + Ala/Ala 基因型与家族史对胃癌的发生具有加乘交互作用。

李玉民等^[14]研究发现腌菜中亚硝基化合物含量较高, 经常食用腌菜人群的胃液中的硝酸盐和亚硝酸盐含量均明显高于不常食用者。硝酸盐和亚硝酸盐可在胃内经细菌作用形成直接致癌的亚硝酰胺, 它可以与 DNA 高分子结合导致基因突变。张龙杰等^[15]研究表明腌菜有致癌作用, 因为该类食物中含有大量的亚硝酸盐, 在胃中可转化为强致癌化合物。本研究发现胃癌组食腌菜的比例 (42.0%) 明显高于正常对照组 (21.4%)。交互作用分析发现 PARP - 1 Val/Ala + Ala/Ala 与食腌菜对于胃癌的发生具有加乘交互作用。

H. pylori 是引发胃癌的主要因素之一。1994 年国际癌症研究中心将 *H. pylori* 列为 I 类致癌因子。*H. pylori* 在世界范围感染率高达 50% 左右, 我国不同地区、不同民族人群胃内 *H. pylori* 检出率为 30% ~ 80%。*H. pylori* 感染可能引起胃黏膜上皮细胞增殖动力学的改变, 产生致癌物及毒素, 甚至引起基因及其表达异常。Zhang 等研究发现 *H. pylori* 感染中的 Cag(+) 与 PARP - 1762Ala/Ala 基因型共同促进了胃癌的发生和发展。PARP - 1 的 Val762Ala 的基因变异可导致 PARP - 1 酶活性下降, 修复 DNA 损伤的能力降低。本研究发现 PARP - 1 Val/Ala + Ala/Ala 基因型与 *H. pylori* 感染对胃癌的发生具有加乘交互作用。

由于涉及癌变过程的基因 - 基因、基因 - 环境因素相互作用关系错综复杂, 因此, 本研究所获得的这一结果有待于进一步扩大研究因素进行深入研究和

探讨。

参考文献

- 1 Zhu Y, Spitz MR, Amos CI, *et al.* Nucleotide polymorphism screening in molecular cancer epidemiology[J]. Cancer Research, 2004, 64(3): 2251 - 2257
- 2 Chandrasekharan NV, Dai H, Roos KL, *et al.* COX - 3, a cyclooxygenase - 1 variant inhibited by acetaminophen and other analgesic /antipyretic drugs: cloning, structure, and expression[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(21): 13926 - 13931
- 3 Wang J, Pan HF, Hu YT, *et al.* Polymorphism of IL - 8 in 251 allele and gastric cancer susceptibility: a meta - analysis[J]. Dig Dis Sci, 2010, 55(7): 1818 - 1823
- 4 王德增, 张得希, 李艳, 等. 高原地区胃癌发病的特点[J]. 中华消化内镜杂志, 1997, 14(4): 257 - 258
- 5 苏芳贤, 王志坚, 杨文明, 等. 回族贲门癌 102 例报告[J]. 宁夏医学杂志, 2003, 25(4): 244
- 6 唐小凡, 李玉民, 李世雄, 等. 环氧化酶 - 2 基因多态性与回族人群众胃癌易感性的关联[J]. 世界华人消化杂志, 2009, 17(17): 1772 - 1776
- 7 Jin XM, Kim HN, Lee IK, *et al.* PARP - 1 Val762Ala polymorphism is associated with reduced risk of non - Hodgkin lymphoma in Korean males[J]. BMC Med Genet, 2010, 11(38): 568 - 572
- 8 Wang XG, Wang ZQ, Tong WM, *et al.* PARP - 1 Val762Ala polymorphism reduces enzymatic activity[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 35(4): 122 - 126
- 9 Lockett KL, Hall MC, Xu J, *et al.* The ADPRT V762A genetic variant contributes to prostate cancer susceptibility and deficient enzyme function[J]. Cancer Res, 2004, 64(17): 6344 - 6348
- 10 Shiokawa M, Masutani M, Fujihara H, *et al.* Genetic alteration of poly (ADP - ribose) polymerase - 1 in human germ cell tumors[J]. Japanese Journal of Clinical Oncology, 2005, 35(2): 97 - 102
- 11 Zhang XM, Miao XP, Ling G, *et al.* Polymorphisms in DNA base excision repair genes ADPRT and XRCC1 and risk of lung cancer[J]. Cancer Research, 2005, 65(2): 722 - 726
- 12 胡品津. 基因多态性与胃癌遗传易感性的关系[J]. 中华消化杂志, 2006, 26(4): 278 - 279
- 13 张励, 孙胜玫. 大连地区胃癌遗传度的研究[J]. 中华医学遗传学杂志, 1995, 12(5): 45 - 46
- 14 李玉民, 陈立仁, 薛群基, 等. 武威市腌菜中亚硝基化合物的测定及其胃癌高发原因的分析[J]. 分析测试技术与仪器, 2003, 9(2): 88 - 90
- 15 张龙杰, 吴宗辉, 邹兴菊, 等. 消化系统癌症与饮食关系病例对照研究[J]. 中国公共卫生, 2008, 24(5): 539 - 540

(收稿: 2011 - 04 - 27)

(修回: 2011 - 06 - 03)