

- 2 王青兵,王雁军,黄天臣,等.改良祥式吻合在全胃切除术后消化道重建中的应用[J].中华胃肠外科杂志,2013,16(2):190
- 3 王东,刘小春,王彬,等.全胃切除双 Braun 吻合空肠代胃术的临床应用[J].中国普通外科杂志,2013,22(10):1365-1366
- 4 臧璐,郑民华,薛佩,等.完全腹腔镜根治性全胃切除术后食管空肠三角吻合的近期疗效[J].中华消化外科杂志,2014,13(2):134-138
- 5 汪灏,王萌,王浩,等.腹腔镜全胃切除后两种食管空肠吻合方式疗效的前瞻性研究[J].中华消化外科杂志,2014,13(2):126-130
- 6 Kim JY, Lee HS, Kim N, *et al.* Prevalence and clinicopathologic characteristics of gastric adenocarcinoma of the esophagogastric junction in South Korea[J]. *Helicobacter*,2012,17(5):358-368
- 7 但卫斌,王昕.全胃切除与消化道重建术治疗胃癌的效果评价[J].中国普通外科杂志,2013,22(4):522-524
- 8 覃谦,陈丽菊,曾丽萍,等.全胃切除术后恢复十二指肠路径 P 型和功能性空肠间置代胃消化道重建术对患者远期营养状况的影响[J].中华临床营养杂志,2013,21(2):77-82
- 9 赵永亮,余佩武,苏崇宇,等.腹腔镜全胃切除术后食管空肠半端端吻合 21 例[J].中华胃肠外科杂志,2013,16(7):681-683
- 10 Suh YS, Han DS, Kong SH, *et al.* Should adenocarcinoma of the esophagogastric junction be classified as esophageal cancer? A comparative analysis according to the seventh AJCC TNM classification[J]. *Ann Surg*,2012,255(5):908-915
- 11 Kawaguchi T, Komatsu S, Ichikawa D, *et al.* Comparison of prognostic compatibility between seventh AJCC/TNM of the esophagus and 14th JCGC staging systems in Siewert type II adenocarcinoma[J]. *Anticancer Res*,2013,33(8):3461-3465
- 12 康悦,魏玉哲,薛英威,等.全胃切除后间置空肠代胃与 Roux-en-Y 吻合两种消化道重建方式远期并发症及生活质量比较的 Meta 分析[J].中华胃肠外科杂志,2013,16(2):135-139

(收稿日期:2014-04-15)

(修回日期:2014-05-04)

p21 基因 nt590 多态性与鼻咽癌易感性的相关性研究

许 珊 姜学钧

摘 要 **目的** 本研究旨在评估 p21 基因 nt590 多态性与鼻咽癌诊断年龄和鼻咽癌易感性之间的相关性。**方法** 选取 102 例鼻咽癌患者和 191 名健康对照作为研究对象,且所有研究对象均无其他已知的肿瘤疾病。采用 PCR-RFLP 技术,分析其血液样本中 p21 基因 3'UTR 多态性频率。**结果** 多态性基因型频率在健康对照组为 93.2% (CC)、5.2% (CT) 和 1.6% (TT),在病例组为 88.2% (CC)、10.8% (CT) 和 1.0% (TT)。p21 基因多态性基因型和鼻咽癌风险之间没有显著相关性 ($P=0.201$)。然而,本研究发现 p21 T 等位基因会增加约 4 倍早期鼻咽癌风险 ($OR=3.734, 95\% \text{ CI}:1.289 \sim 10.281, P=0.010$)。此外,本研究还发现,与 CC 基因型携带者(68.9 岁)相比,T 等位基因携带者(56.5 岁)肿瘤发病的等待时间要早 12.4 年。**结论** p21 基因 3'UTR 多态性可能是鼻咽癌发病的启动要素,但并不导致早期鼻咽癌的恶化。此外,p21 基因 3'UTR 多态性可能与鼻咽癌诊断年龄显著相关。

关键词 p21 多态性 鼻咽癌

[中图分类号] R739.6 [文献标识码] A

Role of nt590 p21 gene Polymorphism in the Susceptibility to Nasopharyngeal Cancer. Xu Shan, Jiang Xuejun. Department of Otolaryngology, First Affiliated Hospital of China Medical University, Liaoning 110001, China

Abstract Objective To assess the correlation between p21 gene nt590 polymorphisms and age at diagnosis of nasopharyngeal carcinoma and nasopharyngeal cancer susceptibility. **Methods** We analyzed the frequency of 3'UTR p21 polymorphisms in blood samples from 102 nasopharyngeal cancer patients and 191 controls, with no known oncologic disease, using PCR-RFLP. **Results** The polymorphism genotype frequencies were 93.2% (CC), 5.2% (CT) and 1.6% (TT) in the control group and 88.2% (CC), 10.8% (CT) and 1.0% (TT) in the cases group. There was no statistically significant association between the different p21 polymorphism genotypes and risk of nasopharyngeal cancer ($P=0.201$). However, approximately a four-fold increased risk of undifferentiated nasopharyngeal carcinoma in early stages was observed for p21 T carriers ($OR=3.734, 95\% \text{ CI}:1.289-10.281, P=0.01$). Furthermore, our results indicated that the waiting time for onset of neoplasia in T carriers patients was 12.4 years earlier (56.5years old), comparing with those carried CC genotype (68.9 years old). **Conclusion** The 3'UTR p21 polymorphism may play an important role in the pathogenesis and

作者单位:110001 沈阳,中国医科大学附属第一医院耳鼻咽喉科

通讯作者:姜学钧,博士,主任医师,电子信箱:jiangxj_ln@163.com

initiation, but not in the progression, of undifferentiated nasopharyngeal carcinoma. Moreover, the polymorphism seems to contribute to a significantly earlier age at diagnosis.

Key words p21; Genetic polymorphisms; Nasopharyngeal cancer

鼻咽癌(nasopharyngeal cancer, NPC)是中国南部及东南亚地区常见的恶性肿瘤。鼻咽癌流行病学和病因学研究显示,鼻咽癌是一种多因素、多步骤的复杂性疾病,遗传易感性和环境、病毒感染及营养因子都是导致鼻咽癌发病的重要因素^[1]。p21属于CIP-KIP基因家族,细胞周期蛋白依赖激酶抑制因子(cyclin-kinase inhibitors, CKI)是其家族主要成员之一。p21基因位于6号染色体,它包含3个外显子(分别为68,450和1600 pb)和两个内含子,但第1个外显子不参与转录。p21能优先定位到核,含有164个氨基酸,分子质量为21kDa^[2]。p21蛋白表达主要由p53蛋白转录水平调控,通常,tp53肿瘤抑制基因的异常表达,会导致p21基因的转录障碍和G₁期细胞周期阻滞无法进入S期,从而造成细胞周期失控和细胞的异常增生及凋亡^[3,4]。p21很少在肿瘤中发生突变^[5],但人类预后差可能会使得p21基因产生遗传变异,从而影响p21蛋白表达,导致癌变产生^[6]。本研究主要探讨p21基因nt590多态性与鼻咽癌诊断年龄和鼻咽癌易感性之间的相关性。

资料与方法

1. 一般资料:选取2011年6月~2013年6月间来笔者医院治疗鼻咽癌的102例患者(中位年龄47.5±3.9岁),和没有癌症病史的191名健康体检者(中位年龄55.7±15.0岁)作为研究对象。采用病例对照研究法评估p21基因nt590多态性与鼻咽癌易感性之间的关联。组织学类型和肿瘤的病理分级见表1。所有血液样本采集获相关患者知情同意,并通过笔者医院伦理机构委员会批准。

2. 样本采集:将血液样本采集到含有EDTA的试管中。取少量血液,用Qiaamp DNA Mini试剂盒和Qiagen®提取试剂盒从白细胞中提取基因组DNA。

3. p21外显子基因型分析:将提取的基因组DNA扩增后获得一个300bp的DNA片段,采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)法检测其多态性^[7]。扩增所用的引物为5'-CCCAGGGAAGGCTGTCCTG-3'和5'-GGGCGGCCAGGGTATGTAC-3'。DNA在含有1xTaq酶缓冲液、1.5mmol/L氯化镁、0.2nmol/L脱氧核糖核苷三磷酸、各0.3μmol/L扩增引物(共0.6μmol/L)和1单位Taq DNA聚合酶的50μl混合物中进行扩增。热循环参数设置如下:94℃ 5min→94℃ 30个循环 60s→60℃ 45s→72℃ 60s→72℃ 延伸

5min。将扩增后的300bp DNA片段,经1.5%琼脂糖凝胶验证,后加入1单位PstI酶在37℃下消化过夜。PstI酶在识别CT基因型时会导致PstI位点的丢失。在C等位基因的存在下,预期得到两个分别为174和126bp的片段。用紫外分光光度法及2%琼脂糖凝胶电泳-溴化乙锭染色法对限制性消化产物进行检测。

最后,假设所有病例在出生时患鼻咽癌的风险均相同,笔者提出一个假设问题:“对于一个新生的个体,假设他能生存那么久,那么他在X岁以前发生晚期鼻咽癌的概率是多少?”。为了解决这个问题,研究假设p21 nt590基因型可能会改变鼻咽癌的发病,定义p21 nt590基因型为独立变量,癌症发病年龄为结果。

4. 统计学方法:采用SPSS 15.0软件进行统计数据分析。运用卡方检验比较分类变量,采用优势比(odds ratio, OR)及95%可信区间(95% CI)计算p21多态性基因型与鼻咽癌风险之间的关系。Hardy-Weinberg平衡用Pearson拟合优度检验计算,用以比较观察到的和预期的基因型频率。用Kaplan-Meier生存曲线比较发病年龄与多态性基因型之间的关联。定义发病等待时间(waiting time for onset of disease, WTOD)为最初接触危险因素(即多态性)到疾病发作之间的间隔时间。采用Kaplan-Meier法评估鼻咽癌的累积概率。用log-rank检验(双侧)进行WTOD的初步分析,以P<0.05为差异有统计学意义。

结 果

本研究采用PCR-RFLP法分析102例鼻咽癌患者和191名健康体检者p21基因的3'UTR多态性基因型,研究对象的基线数据见表1。98%病例的多态性分析是在未分化癌组织中进行的。将病例组根据临床分期分类,其中,I期占1%,II期占26.4%,III期占28.4%,IV期占39.2%。多态性基因型频率在健康对照组为93.2%(CC)、5.2%(CT)和1.6%(TT),在病例组为88.2%(CC)、10.8%(CT)和1.0%(TT)(表2)。

研究发现,单核苷酸多态性基因型与鼻咽癌风险的发生和发展不相关。然而,数据显示,T等位基因与早期癌症易感性存在显著相关性,T等位基因会增加约4倍未分化鼻咽癌风险(OR=3.734,95% CI: 1.289~10.281, P=0.01,表3),但在晚期癌症中并未发现此关联。在早期癌症患者中,T等位基因携带者的平均年龄为56.5岁,CC基因型患者的平均年龄

表 1 鼻咽癌病例组和对照组的临床病理特征[*n*(%)]

组别	<i>n</i>	性别		年龄(岁)	组织学类型		分期				
		男性	女性		未分化	其他	I 期	II 期	III 期	IV 期	未知
病例组	102	75(73.5)	27(26.5)	47.49 ± 14.97	100(98.0)	2(2.0)	1(1.0)	27(26.4)	29(28.4)	40(39.2)	5(4.9)
对照组	191	145(75.9)	46(24.1)	55.68 ± 3.90	—	—	—	—	—	—	—

表 2 p21 基因 nt590 多态性基因型频率与鼻咽癌风险

组别	<i>n</i>	基因型			隐性模型			
		CC	CT	TT	T 携带者	OR	95% CI	<i>P</i>
对照组	191	178(93.2)	10(5.2)	3(1.6)	13(6.8)	1	—	—
病例组	102	90(88.2)	11(10.8)	1(1.0)	12(11.8)	1.826	0.800 ~ 4.164	0.148
未分化	100	88(88.0)	11(11.0)	1(1.0)	12(12.0)	1.867	0.818 ~ 4.261	0.133

表 3 关于 T 等位基因携带者与不同肿瘤分期鼻咽癌未分化组织学类型易感性的分析

组别	CC[<i>n</i> (%)]	CT/TT[<i>n</i> (%)]	OR(T 携带者基因型)	95% CI	<i>P</i> (χ^2 检验)
对照组	178(93.2)	13(6.8)	—	—	—
I 和 II 期	22(78.6)	6(21.4)	3.734	1.289 ~ 10.821	0.010
III 和 IV 期	63(91.3)	6(8.7)	1.304	0.475 ~ 3.577	0.605

为 68.9 岁。*Kaplan - Meier* 生存曲线显示了早期鼻咽癌(I 和 II 期)与 WTOD 的关联(图 1)。用 *log - rank* 检验和 95% 可信区间对生存曲线进行比较,结果表明,T 等位基因携带者比未携带 T 等位基因患者患早期鼻咽癌(I 和 II 期)的年龄早($P=0.001$)。在晚期癌症(III 和 IV 期)患者中,T 等位基因携带者的平均年龄为 57.7 岁,CC 基因型患者的平均年龄为 61.9 岁,差异无统计学意义($P=0.529$)。因此,在晚期癌症中,基因型多态性与早期鼻咽癌不存在相关性。

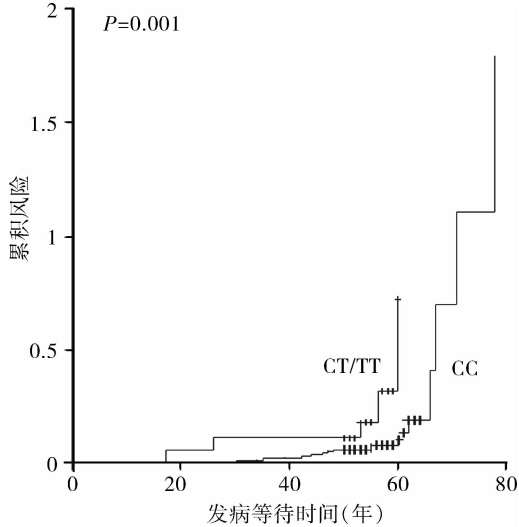


图 1 *Kaplan - Meier* 生存曲线显示早期鼻咽癌(I 和 II 期)与 WTOD 的关联

讨 论

p21 基因位于 3' 非编码区(非转录区),通常与

31 号密码子的多态性有关^[8]。因其与 mRNA 的稳定和降解紧密关联,故与正常细胞和癌细胞的分化、增生和转移抑制也相关^[9]。因此,尽管 nt590 多态性没有位于转录区,却能影响 p21 蛋白功能和细胞周期,从而增加罹患癌症的概率。而 p21 蛋白被认为是一种 CDK 抑制蛋白,它能防止视网膜母细胞瘤蛋白的磷酸化,促使细胞阻滞在 G₁ 期无法进入 S 期。p53 蛋白质在基因毒性应激情况下调控 p21 基因使其表达水平提高,p21 蛋白通过与 PCNA 结合抑制 DNA 的复制,导致正常细胞和肿瘤细胞的异常分化,从而促进或抑制细胞的凋亡^[10,11]。

本研究发现 p21 基因 nt590 多态性与鼻咽癌易感性风险间不存在相关性。然而,在癌症早期,T 等位基因(CT 和 TT 基因)携带者患未分化鼻咽癌风险的概率为野生型(CC 基因)等位基因患者的 4 倍,但癌症晚期并没有发现此种关联,这表明基因多态性与鼻咽癌的易感相关性仅发生在肿瘤的初始阶段而不是发展阶段。此外,携带危险基因型(CT 和 TT 基因型)的个体诊断患有鼻咽癌的年龄更年轻,表明多态性可能在未分化鼻咽癌的发病中作为遗传因素发挥作用。

也有研究认为,p21 基因多态性和未分化鼻咽癌的遗传易感性还与 Epstein - Barr 病毒(EBV)有关^[12~14]。p21 基因未发生突变,但基因 p21 nt590 T 等位基因的存在仍有可能改变蛋白质的功能从而抑制细胞增生,因为 EBV 感染将阻碍 B7 - H4 细胞蛋

白诱导 G₀/G₁ 期细胞阻滞,使得细胞分裂持续进行成为一种癌症表型。同样的,EBV 感染能使 nt590 上 C 等位基因突变为 T 等位基因,通过 BRLF1 基因和转录因子 E2F1 介导,导致 p21 功能的改变,降低细胞凋亡^[15]。上述观点认为 nt590 多态性在鼻咽癌初始阶段受到的影响,是通过 EBV 诱导细胞周期异常,从而触发细胞不受控制的增殖。

综上所述,尽管 p21 基因多态性与鼻咽癌的相关性研究结果不一,但已使得更多人认识到这个抑癌基因在肿瘤发病过程中的重要性,且 p21 基因多态性研究有助于鼻咽癌易感性的评估,并增加鼻咽癌患者对临床特征及预后的判断,为临床诊治提供更科学的指导。

参考文献

- 郭灿,刘正春,陈真诚,等. p63 与 p21 在鼻咽癌细胞中的表达及相互作用的初步研究[J]. 激光生物学报, 2009, 18(3): 379-382
- Javelaud D, Besançon F. CDKN1A (cyclin-dependent kinase inhibitor 1A) [J]. Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol, 2001, 5(3): 170-171
- 彭维晖,杨一兵,漆一飞,等. 鼻咽癌与 IGF-2R 及 p27 和 p21 表达的相关性研究[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2007, 21(11): 514-516
- Romanov VS, Pospelov VA, Pospelova TV. Cyclin-dependent kinase inhibitor p21Waf1: contemporary view on its role in senescence and oncogenesis [J]. Biochemistry: Moscow, 2012, 77(6): 575-584
- 徐维果. 化疗药物在 p53 缺陷型肿瘤细胞中对 p21 启动子激活机制的研究[D]. 上海:上海交通大学, 2013
- Liu J, Hu Y, Hu W, et al. Expression and prognostic relevance of p21WAF1 in stage III esophageal squamous cell carcinoma [J]. Diseases of the Esophagus, 2012, 25(1): 67-71
- 宋广军,杜绍财,饶慧瑛,等. 简便 HBV 基因型 S 基因 PCR-RFLP 分型方法的建立[J]. 中华检验医学杂志, 2013, 36(5): 420-424
- Liu B, Zhang Y, Jin M, et al. Association of selected polymorphisms of CCND1, p21, and caspase8 with colorectal cancer risk [J]. Molecular Carcinogenesis, 2010, 49(1): 75-84
- 樊波,徐昌水,梁尚栋. 长非编码 PZ-1A 与人类疾病调控机制的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(12): 1629-1633
- 杨慧敏,黄林,覃蒙斌,等. 曲古抑菌素 A 对鼻咽癌 CNE2 细胞凋亡的影响及机制研究[J]. 检验医学, 2012, 27(5): 371-373
- Catarino R, Pereira D, Breda E, et al. Oncogenic virus-associated neoplasia: A role for cyclin D1 genotypes influencing the age of onset of disease? [J]. Biochemical and biophysical research communications, 2008, 370(1): 118-122
- Raab-Traub N. Epstein-Barr virus in the pathogenesis of NPC [J]. Academic Press, 2002, 12(6): 431-441
- Tse LA, Yu ITS, Mang OWK, et al. Incidence rate trends of histological subtypes of nasopharyngeal carcinoma in Hong Kong [J]. British J Cancer, 2006, 95(9): 1269-1273
- Wei WI, Sham JST. Nasopharyngeal carcinoma [J]. Lancet, 2005, 365(9476): 2041-2054
- Park GB, Song H, Kim YS, et al. Cell cycle arrest induced by engagement of B7-1 on Epstein-Barr virus-positive B-cell lymphoma cell lines [J]. Immunology, 2009, 128(3): 360-368

(收稿日期:2014-05-26)

(修回日期:2014-06-05)

老年长期卧床患者继发肺部感染特点及危险因素研究

原 源 邓晓慧 葛晓竹 岳 睿 关 望 宋丽清 田 巍

摘 要 目的 探讨老年长期卧床患者继发肺部感染的临床及病原学特点,以及影响预后的独立危险因素。**方法** 回顾性分析 2013 年 4 月 1 日~2014 年 4 月 1 日因肺部感染入院的、患者年龄≥65 岁、卧床时间>3 个月的患者,共 58 例,分为低龄老年组(≤80 岁)及高龄老年组(>80 岁),比较组间临床及实验室等特点的差异;并对肺部感染预后的相关危险因素进行多因素回归分析。**结果** 58 例患者男女性别比为 34:24,患者平均年龄 80±8 岁,卧床时间中位数为 12 个月,病死率 13.8%(8/58)。100% 的患者有新发咳嗽咳痰或原有咳嗽咳痰加重,临床起病以低热为主(30 例,55.6%),入院 1 周内谵妄、显性呛咳比例分别为 53.4%(31/58)及 58.6%(34/58)。入院后首次化验显示高龄组 CRP 及动脉血二氧化碳分压(PaCO₂)均高于低龄组,而血肌酐水平低于正常范围及高于正常范围的比例均高于低龄组。影像学以双侧渗出为主(37 例,63.8%)。致病细菌中,G⁻杆菌感染居首位(46 例,79.3%),G⁺球菌次之(11 例,19%)。真菌感染 31 例(53.4%),白假丝酵母菌最常见(19 例,61.3%)。多因素回归分析显示,有 COPD 病史、入院前已留置导尿、入院后血肌酐水平高于正常、首次动脉血 pH>7.446、首次动脉血氧分压(PaO₂)

作者单位:100035 北京积水潭医院干部科

通讯作者:田巍,电子信箱:twttdd@163.com