

[文章编号] 1000-2200(2010)08-0762-03

· 基础医学 ·

细胞色素 P450 1A1 基因 Ile/Val 多态性与子宫颈癌的遗传易感性研究

耿建^{1,2}, 石玉荣^{2,3}, 王慧³, 秦蓉¹

[摘要] 目的:探讨细胞色素 P450 1A1 (CYP1A1) 基因 Ile/Val 多态性与子宫颈癌遗传易感性的关系。**方法:**采用等位基因特异性 PCR (as-PCR) 分析技术, 检测 92 例子宫颈鳞状细胞癌患者、31 例子宫颈腺癌患者和 100 例对照组 CYP1A1 基因 Ile/Val 多态性。**结果:**对照组 3 种基因型 Ile/Ile、Ile/Val、Val/Val 频率分别为 33.0%、64.0% 和 3.0%, 子宫颈鳞状细胞癌组分别为 20.7%、68.0% 和 16.3%, 子宫颈腺癌组分别为 12.9%、67.7% 和 19.4%; 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** CYP1A1 基因 Ile/Val 多态性与子宫颈癌有遗传易感性。

[关键词] 子宫颈肿瘤; 细胞色素 P450 1A1; 基因多态性; 遗传易感性

[中国图书资料分类法分类号] R 737.33 **[文献标识码]** A

Research of cytochrome P450 1A1 Ile/Val polymorphism and genetic susceptibility in cervical cancer

GENG Jian^{1,2}, SHI Yu-rong^{2,3}, WANG Hui³, QIN Rong¹

(1. Department of Pathology, Anhui Medical University, Hefei Anhui 230032; 2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, 3. Research Center of Clinical Laboratory Science, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] Objective: To evaluate the relationship between the genetic polymorphism of cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) and the genetic susceptibility in cervical cancer. **Methods:** The distribution frequencies of CYP1A1 Ile/Val polymorphism were detected in 92 cervical squamous cell carcinoma, 31 cervical adenocarcinoma and 100 healthy controls by allele-specific PCR. **Results:** The frequencies of three genotypes Ile/Ile, Ile/Val, Val/Val were 33.0%, 64.0% and 3.0% respectively in control group; 20.7%, 68.0% and 16.3% respectively in cervical squamous cell carcinoma; and 12.9%, 67.7% and 19.4% respectively in cervical adenocarcinoma. There was the significant difference among the three groups ($P < 0.05$). **Conclusions:** Polymorphism of CYP1A1 Ile/Val plays an important role in the oncogenesis of cervical cancer.

[Key words] cervical neoplasms; CYP1A1; genetic polymorphisms; hereditary susceptibility

细胞色素 P450 1A1 (cytochrome P450 1A1, CYP1A1) 是一类主要参与代谢活化多环芳烃 (PHAs) 化学致癌物的 I 相酶, 是一种肝外的氧化代谢酶, 具有芳香羟化酶活性, 可催化多种芳香烃化合物, 经过一系列生化改变, 进而成为致癌物。CYP1A1 基因多态性位点位于酶活性中心编码区第 7 外显子 5' 端 4 889 位点上的腺嘌呤被鸟嘌呤取代 (A→G 突变), 致使血红蛋白结合区第 462 位编码异亮氨酸 (Ile) 的密码子 ATT 被缬氨酸 (Val) 密码子 GTT 取代, 有 3 种基因型 Ile/Ile (野生型)、Ile/Val (突变杂合型) 和 Val/Val (突变纯合型)。有报道^[1-3], 该位点多态性与多种肿瘤的易感性相关, 但

在子宫颈癌的相关性研究中尚有争议^[4-5]。本研究采用等位基因特异性 PCR (allele-specific polymerase chain reaction, as-PCR) 方法, 对子宫颈癌患者和健康女性的 CYP1A1 等位基因进行分型, 检测不同多态性与子宫颈癌的相关性, 以阐明 CYP1A1 基因多态性与子宫颈癌易感性的关系, 以期为临床子宫颈癌的预防及诊断提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究中子宫颈癌患者 123 例, 为蚌埠医学院第一附属医院 2007 年 7 月至 2009 年 12 月住院患者, 其中鳞状细胞癌 92 例, 腺癌 31 例。对照组为年龄及地域均匹配的同期女性健康体检者 100 名。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 取空腹静脉血 3 ml, EDTA 抗凝, 采用酚-氯仿法提取 DNA, -20 °C 保存。

1.2.2 as-PCR 检测 CYP1A1 基因 Ile/Val 多态性 根据 CYP1A1 基因, 针对第 7 外显子 5' 端 4 889 位点多态性设计引物。Ile/Val 多态性引物序列: 通用

[收稿日期] 2010-06-07

[基金项目] 安徽省高校青年教师资助项目 (2008jq1108)

[作者单位] 1. 安徽医科大学 病理学教研室, 安徽 合肥 230032; 蚌埠医学院 2. 生物化学与分子生物学教研室, 3. 临床检验诊断学实验中心, 安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 耿建 (1977 -), 男, 硕士研究生, 讲师。

[通讯作者] 秦蓉, 研究生导师, 副教授。

引物为 5'-GAA CTG CCA CTT CAG CTG TCT-3'; Ile 引物为 5'-AAG ACC TCC CAG CGG GCA AT-3'; Val 引物为 5'-AAG ACC TCC CAG CGG GCA AC-3'。引物由上海生工生物工程有限公司合成。通用引物分别和 Ile 引物、Val 引物进行 as-PCR。扩增条件: 94 ℃ 10 min, 94 ℃ 30 s, 60 ℃ 30 s, 72 ℃ 60 s; 72 ℃ 延伸 5 min, PCR 产物 4 ℃ 保存。2% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下观察成像。

1.3 统计学方法 采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 CYP1A1 基因 Ile/Val 多态性电泳结果 Ile/Ile 通用引物和 Ile 引物组成的 PCR 体系见 210 bp 扩增条带, 通用引物和 Val 引物组成的 PCR 体系未见 210 bp 扩增条带。Val/Val: 通用引物和 Ile 引物组成的 PCR 体系未见 210 bp 扩增条带, 通用引物和 Val 引物组成的 PCR 体系见 210 bp 的扩增条带。Ile/Val: 通用引物与 Ile 和 Val 引物组成的 2 个 PCR 体系均见 210 bp 扩增条带(见图 1)。

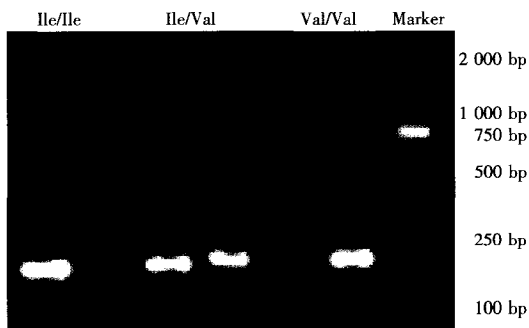


图 1 2% 琼脂糖电泳分析 CYP1A1 Ile/Val 多态性

2.2 子宫颈癌组与对照组 CYP1A1 Ile/Val 基因多态性比较 对照组 3 种基因型 Ile/Ile、Ile/Val、Val/Val 频率分别为 33.0%、64.0% 和 3.0%, 子宫颈癌鳞状细胞癌组分别为 20.7%、68.0% 和 16.3%, 子宫颈癌腺癌组分别为 12.9%、67.7% 和 19.4%。3 组组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$) (见表 1)。3 组中 Ile/Val + Val/Val 频率均占有较高比例, 对照组为 67.0%, 子宫颈癌鳞状细胞癌组为 83.7%, 子宫颈癌腺癌组为 87.1%, 3 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$) (见表 2)。

3 讨论

CYP1A1 基因定位于人类染色体 15q 22-24^[6], 包含 7 个外显子和 6 个内含子。目前, 发现 CYP1A1 基因有 4 个多态性位点: (1) *Msp* I 多态位于 3' 端非编码区多聚 A 下游 264 bp 处, 为 T→C 突变, 该突变可被限制性核酸内切酶 *Msp* I 识别。(2) Exon 7 多态位于第 7 外显子, 是第 7 外显子

表 1 子宫颈癌患者和对照组 CYP1A1 Ile/Val 不同基因多态性比较 [n; 百分率 (%)]

分组	n	基因型			χ^2	P
		Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val		
对照组	100	33(33.0)	64(64.0)	3(3.0)		
子宫颈癌鳞状细胞癌	92	19(20.7)	58(63.0)	15(16.3)	15.41	<0.05
子宫颈癌腺癌	31	4(12.9)	21(67.7)	6(19.4)		
合计	223	56(25.1)	143(64.1)	24(10.8)		

表 2 子宫颈癌患者和对照组 CYP1A1 Ile/Val 突变基因型多态性比较 [n; 百分率 (%)]

分组	n	基因型		χ^2	P
		Ile/Ile	Ile/Val + Val/Val		
对照组	100	33(33.0)	67(67.0)		
子宫颈癌鳞状细胞癌	92	19(20.7)	73(79.3)	7.08	<0.05
子宫颈癌腺癌	31	4(12.9)	27(87.1)		
合计	223	56(25.1)	171(76.7)		

4 889 kbp 位置的 A→G 突变, 在酶蛋白水平上表现为 Ile 变成 Val, 即 Ile/Val 多态性, 限制性内切酶 *Bsr* D I 可识别。这 2 种突变均可显著增高 CYP1A1 催化活性或表达水平。(3) 第 3 个多态位于第 7 内含子, 为 T→C 突变; (4) 第 4 个多态是与 Exon 7 相邻的 C→A 突变, 催化活性区的苏氨酸 (Thr) 变为天冬氨酸 (Asn)^[7], 导致酶代谢活性改变。现已证实这些多态性在不同人群的分布表现出较大的差异。

本研究结果显示, 对照组 3 种基因型 Ile/Ile、Ile/Val、Val/Val 频率分别为 33.0%、64.0% 和 3.0%, 子宫颈癌鳞状细胞癌组分别为 20.7%、68.0% 和 16.3%, 子宫颈癌腺癌组分别为 12.9%、67.7% 和 19.4%, 与 Taskiran 等^[8]报道结果不同。这可能与遗传多态性在人种和地区间有较大的变异有关。

分析不同组各基因型频率分布发现, 对照组 Ile/Ile 频率为 33.0%, 均高于子宫颈癌鳞状细胞癌组和子宫颈癌腺癌组 (20.7% 和 12.9%); 对照组 Val/Val 频率为 3.0%, 低于子宫颈癌鳞状细胞癌组和子宫颈癌腺癌组 (16.3% 和 19.4%), 组间差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 表明 CYP1A1 Ile/Val 多态性与子宫颈癌的发病相关。

进一步分析 CYP1A1 突变基因型、野生基因型与子宫颈癌的相关性, 发现不同组中突变基因型所占的比例不同, 在对照组 Ile/Val + Val/Val 为 67.0%, 子宫颈癌鳞状细胞癌组为 79.3%, 子宫颈癌腺癌组为 87.1%, 提示 CYP1A1 基因突变等位基因型 Val 可能与子宫颈癌的发病相关, 有可能作为子宫颈癌发病的危险因子。

(下转第 767 页)

异较小,对样本的含量及男性与女性的年龄配对程度要求较高。本研究发现,男性胼胝体 I、IV 和 VI 区面积显著大于女性。有学者^[4]认为这种性别差异真正的原因是男性的脑体积较大。消除脑体积差异的方法除直接校正脑体积外,还可通过脑重量^[7,13]以及端脑的正中矢状面面积^[10-11]等指标间接地对其进行标准化。本研究采用后者,以端脑面积为协变量(它与胼胝体面积有显著相关性),通过协方差分析对脑体积进行间接校正,结果显示,胼胝体各区及总面积的性别差异无统计学意义,我们认为胼胝体面积的性别差异可能是由两性脑体积的显著不同所致,肯定了 Giedd 等^[4]的研究结果。虽然端脑面积与胼胝体面积的相关性是协方差分析的重要前提,但这种相关性是否是受年龄的影响所致却不得而知,Giedd 等^[4]也未对此进行探讨。本研究中我们用偏相关分析排除了这种可能,说明胼胝体面积和脑体积可能有着内在的相关性,也肯定了协方差分析的合理性。然而,事实上,影响胼胝体大小的因素可能还有很多,如脑皮质神经元数量^[14]以及脑功能的侧化程度^[15]等,尚有待于更先进的技术手段和精细的实验设计来探讨。

[参 考 文 献]

- [1] LaMantia AS, Rakic P. Axon overproduction and elimination in the corpus callosum of the developing rhesus monkey [J]. *J Neurosci*, 1990, 10(7): 2156-2175.
- [2] Aboitiz F, Scheibel AB, Fisher RS, et al. Fiber composition of the human corpus callosum [J]. *Brain Res*, 1992, 598(10): 143-153.
- [3] Keshavan MS, Diwadkar VA, DeBellis M, et al. Development of the corpus callosum in childhood, adolescence and early adulthood [J]. *Life Sci*, 2002, 70(16): 1909-1922.
- [4] Giedd JN, Rumsey JM, Castellanos FX, et al. A quantitative MRI study of the corpus callosum in children and adolescents [J]. *Dev Brain Res*, 1996, 91(2): 274-280.
- [5] Fields RD. White matter in learning, cognition and psychiatric disorders [J]. *Neurosci*, 2008, 31(7): 361-370.
- [6] Castellanos FX, Lee PP, Sharp W, et al. Corpus callosum morphology in children and adolescents with attention deficit hyperactivity disorder: a meta-analytic review [J]. *Neuropsychology*, 2008, 22(3): 341-349.
- [7] Witelson SF. Hand and sex differences in the isthmus and genu of the human corpus callosum: a postmortem morphological study [J]. *Brain*, 1989, 112(3): 799-835.
- [8] Hofer S, Frahm J. Topography of the human corpus callosum revisited-comprehensive fiber tractography using diffusion tensor magnetic resonance imaging [J]. *Neuro Image*, 2006, 32(3): 989-994.
- [9] Chao YP, Cho KH, Yeh CH, et al. Probabilistic topography of human corpus callosum using cytoarchitectural parcellation and high angular resolution diffusion imaging tractography [J]. *Hum Brain Mapp*, 2009, 30(10): 3172-3187.
- [10] Bishop KM, Wahlsten D. Sex differences in the human corpus callosum: myth or reality? [J]. *Neurosci Biobehav Res*, 1997, 21(5): 581-601.
- [11] Clarke JM, Zaidel E. Anatomical-behavioral relationships: corpus callosum morphometry and hemispheric specialization [J]. *Behav Brain Res*, 1994, 64(1/2): 185-202.
- [12] Keyvan K, Bentley C, John T, et al. Digital photography as a novel technique of measuring ocular surface dimensions [J]. *Orbit*, 2008, 27(4): 259-265.
- [13] Delacoste-Utamsing C, Holloway RL. Sexual dimorphism in the human corpus callosum [J]. *Science*, 1982, 216(4553): 1431-1432.
- [14] Pakkenberg B, Gundersen HJ. Neocortical neuron number in humans: effect of sex and age [J]. *J Comp Neurol*, 1997, 384(2): 312-320.
- [15] Ringo JK, Doty RW, Demeter S, et al. Time is of the essence: a conjecture that hemispheric specialization arises from interhemispheric conduction delay [J]. *Cereb Cortex*, 1994, 4(4): 331-343.

(上接第 763 页)

总之,本研究结果提示,CYP1A1 Ile/Val 基因多态性与子宫颈腺癌和子宫颈鳞状细胞癌的发病相关,突变基因型增加患子宫颈癌的危险性,这可能是因为 CYP1A1 Exon7 基因突变提高了酶的诱导活性,加速致癌物的活化。对于不同基因多态性与子宫颈癌发病的具体机制,尚须进一步的研究。

[参 考 文 献]

- [1] Li H, Chen XL, Li HQ. Polymorphism of CYP1A1 and GSTM1 genes associated with susceptibility of gastric cancer in Shandong Province of China [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(37): 5757-5762.
- [2] Masson LF, Sharp L, Cotton SC, et al. Cytochrome P-450 1A1 gene polymorphisms and risk of breast cancer: a huge review [J]. *Am J Epidemiol*, 2005, 161(10): 901-915.
- [3] Zhang J, Deng J, Zhang C, et al. Association of GSTT1, GSTM1 and CYP1A1 polymorphisms with susceptibility to systemic lupus erythematosus in the Chinese population [J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(11/12): 878-881.
- [4] Juárez-Cedillo T, Vallejo M, Fragoso JM, et al. The risk of developing cervical cancer in Mexican women is associated to CYP1A1 Msp I polymorphism [J]. *Eur J Cancer*, 2007, 43(10): 1590-1595.
- [5] Agorastos T, Papadopoulos N, Lambropoulos AF, et al. Glutathione-S-transferase M1 and T1 and cytochrome P1A1 genetic polymorphisms and susceptibility to cervical intraepithelial neoplasia in Greek women [J]. *Eur J Cancer Prev*, 2007, 16(6): 498-504.
- [6] Taioli E, Benhamou S, Boffetta P, et al. Polymorphisms in CYP1A1, GSTM1, GSTT1 and lung cancer below the age of 45 years [J]. *Int J Epidemiol*, 2003, 32(1): 60-63.
- [7] Seremak-Mrozikiewicz A, Drews K, Senczuk A, et al. CYP1A1 alleles in female genital cancers in the Polish population [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2005, 118(2): 246-250.
- [8] Taskiran C, Aktas D, Yigit-Celik N, et al. CYP1A1 gene polymorphism as a risk factor for cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2006, 101(3): 503-506.