

IFN- γ 基因 + 874 位点单核苷酸多态性与乳腺癌的相关性

武广恒, 张家颖, 陆培信

Association of Single Nucleotide Polymorphism of Interferon-gamma Gene + 874 Site and Breast Cancer

WU Guang-heng, ZHANG Jia-ying, LU Pei-xin

School of Norman Bethune Medical Sciences of Jilin University, Changchun 130021, China

Corresponding Author: ZHANG Jia-ying, E-mail: jiaying@jlu.edu.cn

Abstract: **Objective** To explore the relationship between the single nucleotide polymorphism of interferon-gamma gene + 874 site and breast cancer. **Methods** Using PCR technique to analyze the single nucleotide polymorphism (SNP) of Interferon-gamma Gene + 874 site A/ T of 96 normal women and 94 female breast cancer patients, the PCR products were cloned and sequenced. **Results** The frequency of interferon-gamma gene + 874 site TT genotype was significantly higher in patients with breast cancer than that in the healthy individuals (18.1% vs 8.3%, $P < 0.05$); T allele frequency was higher in breast cancer group than in normal group. But the TT genotype had no significant correlation with the age in breast cancer patients. **Conclusion** TT genotype of IFN- γ + 874 site might have a relationship with generation of breast cancer.

Key words: Breast cancer; IFN- γ ; Single nucleotide; Polymorphism; Genotype

摘要: **目的** 探讨 IFN- γ 基因 + 874 位点单核苷酸多态性与乳腺癌的相关性。 **方法** 采用 PCR 技术对 94 例乳腺癌患者及 96 例正常女性 IFN- γ 基因 + 874 位点 A/ T 单核苷酸多态性 (SNP) 进行分析, 将 PCR 产物进行克隆、测序。 **结果** 乳腺癌患者 IFN- γ 基因 + 874 位点 TT 基因型频率为 18.1%, 显著高于正常人的 8.3%, 两者之间比较具有显著性差异 ($\chi^2 = 3.95$, $P = 0.047$); 乳腺癌病例组 T 等位基因频率显著高于对照组 ($\chi^2 = 4.984$, $P = 0.026$)。进一步分析显示, 乳腺癌病例组中不同年龄段基因型频率和等位基因频率相比, 均无显著性差异。 **结论** IFN- γ 基因 + 874 位点 TT 基因型可能与乳腺癌的发生相关, T 等位基因可能为乳腺癌发生的遗传危险因素。

关键词: 乳腺癌; 干扰素- γ ; 单核苷酸; 多态性; 基因型

中图分类号: Q754; R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2008)09-0651-02

0 引言

干扰素是一类多功能细胞因子, 对治疗包括肿瘤在内的许多疾病都具有一定的疗效。研究表明^[1], IFN- γ 基因有 6 个多态性位点。IFN- γ 基因第一内含子 + 874 位点 A/ T 单核苷酸多态性 (SNP) 可以通过改变转录因子的结合位点, 影响其表达^[2]。目前, 该位点多态性与某类疾病的相关性已见报道, 但与乳腺癌发生是否相关国内尚未见报道。作者提取外周血 DNA, 采用特异性引物进行 PCR 扩增, 探讨 IFN- γ 基因 + 874 位点的单核苷酸

多态性分布分析其与乳腺癌的相关性。

1 资料与方法

1.1 资料

实验分为病例组和对照组。病例组: 病理诊断乳腺癌并排除其他癌症的患者血样 94 例, 来自吉林省肿瘤医院住院患者; 对照组: 正常体检女性血样 96 例。病例组与对照组年龄在 30 ~ 67 岁之间。

1.2 方法

采用酚仿抽提法提取基因组 DNA。根据 IFN- γ 序列 (NC-000012), 采用 primer 5.0 设计引物, 产物长度 527 bp。正向引物 1: 5'-cgcgcaacacacaaat-caaatca-3', 正向引物 2: 5'-cgcgcaacacacaaatcaatct-3', 反向通用引物: 5'-gctacatctgaatgacctgc-3'。人 GAPDH 内参对照正向引物: 5'-tattggcgccctggtcac-ca-3', 反向引物: 5'-ccaccttcttgatgtcatca-3', 产物长

收稿日期: 2008-04-07; 修回日期: 2008-07-09

基金项目: 国家自然科学基金资助课题 (39870313)

作者单位: 130021 长春, 吉林大学白求恩医学院

通信作者: 张家颖, E-mail: jiaying@jlu.edu.cn

作者简介: 武广恒 (1966-), 男, 硕士, 实验师, 主要研究方向为肿瘤基因单核苷酸多态性

度:746 bp,用以鉴定 PCR 体系。引物由赛百盛公司合成。PCR 反应条件:94 预变性 2 min、94 变性 50 s、56 退火 50 s、72 延伸 1 min、30 个循环后 72 延伸 10 min。PCR 产物经 1 %的琼脂糖凝胶电泳分离,凝胶成像分析。将 AA、TT 基因型片段回收、纯化、测序分析;将 TT 基因型片段连接至 p GEM-T 载体,将重组质粒测序。

1.3 统计学方法

基因型和等位基因频率在各组中的分布差异采用 χ^2 检验。

2 结果

PCR 产物电泳后,按照其单核苷酸的多态性 (SNP) 分为 AA、AT 和 TT 等三种不同基因型,见图 1,同一样本用正向引物 1、2 及反向通用引物两次扩增后均出现 527 bp 片段为 AT 基因型;只出现一次 527 bp 扩增产物为 AA 或 TT 基因型。所有样品均可扩增出内参对照的 746 bp。病例组和对照组均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律。TT 基因型频率在病例组和对照组之间比较差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 3.95, P = 0.047, OR = 2.429, 95 \% CI: 1.013 \sim 5.827$);病例组 T 等位基因频率显著高于

对照组 ($\chi^2 = 4.984, P = 0.026, OR = 1.640, 95 \% CI: 1.062 \sim 2.532$)。病例组中不同年龄基因型频率和等位基因频率相比差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。IFN- γ 基因 + 874 位点 AA 基因型及 TT 基因型测序结果见图 2、3。

表 1 乳腺癌病例组与正常对照组之间基因型频率和等位基因频率分布

Tab 1 The genotype frequency and allele frequency in breast cancer group and normal group (n, %)

Group	n	Genotype			Allele	
		AA	AT	TT	A	T
breast cancer	94	41 (43.6)	36 (38.3)	17 (18.1) *	118 (62.8)	70 (37.2) *
normal	96	53 (55.2)	35 (36.5)	8 (8.3)	141 (73.4)	51 (26.6)

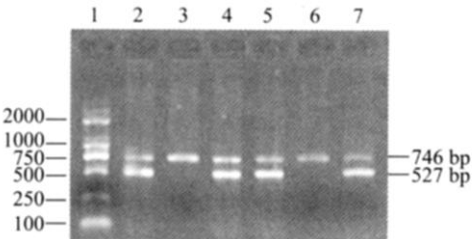
* $P < 0.05$, compared with normal group

3 讨论

IFN- γ 作为宿主体内重要的细胞因子,具有广泛的抗病毒、抗肿瘤和免疫调节作用,是人体防御体系中重要的组成部分。研究表明^[3] IFN- γ 基因内含子 1 区存在 CA 重复序列,其中 CA 重复为 12 次的个体外周血单个核细胞 IFN- γ 表达量最高。

由于 + 874 位点恰好位于转录因子 NF- κ B 的结合位点,此处出现 SNP 直接影响与转录因子的结合能力,从而影响 IFN- γ 的 mRNA 转录^[4]。

实验结果显示乳腺癌患者中的 IFN- γ + 874 位点 TT 基因型频率显著高于正常人,提示 TT 基因型可能为乳腺癌易感基因型,对于乳腺癌的发生具有一定作用,IFN- γ + 874 位点 SNP 可能通过影响 IFN- γ 的分泌而参与乳腺癌的发病。乳腺癌病例组 T 等位基因频率显著高于对照组,可能预示着 T 等位基因为乳腺癌发生的遗传危险因素。另外,乳腺癌病例组中不同年龄段基因型频率和等位基因频率相比,均无显著性差异,有可能与病例数量不够大,而分解到各年龄段的病例数量较少有关。



lane 1:DL-2000 DNA Marker;lane 2 ~ 3: The PCR product of AA genotype-527 bp;lane 4 ~ 5: The PCR product of AT genotype-527 bp;lane 6 ~ 7: The PCR product of TT genotype-527 bp. Each lane in 2 ~ 7 contain GAD6H, the length of PCR product is 146 bp

图 1 PCR 产物电泳后 AA、AT 和 TT 三种不同基因型电泳图谱

Fig 1 Electrophoretic analysis of the PCR product of AA、AT and TT genotype

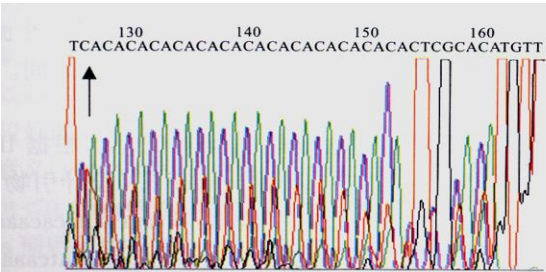


图 2 IFN- γ 基因 + 874 位点 AA 基因型测序图

Fig 2 The figure sequenced of interferon-gamma gene + 874 site AA genotype

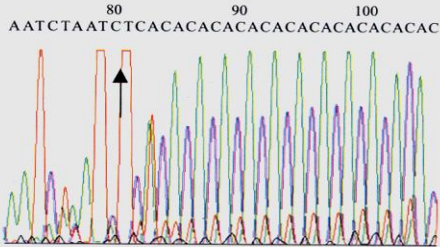


图 3 IFN- γ 基因 + 874 位点 TT 基因型测序图

Fig 3 The figure sequenced of interferon-gamma gene + 874 site TT genotype

(下转第 670 页)

有关,因为 Kim 认为充盈膀胱较 Belly-board 对减少小肠受照体积的影响更明显。同时 Oliver 等^[10]的研究结果表明有孔泡沫板下缘放置在患者腰骶联合处小肠受照射体积最小。由于本研究中有孔泡沫板下缘放置在患者腰骶联合处且充分充盈膀胱,所以小肠在 20、30、40 Gy 剂量水平受照的体积显著降低。

总之,俯卧位应用有孔泡沫板可以减少直肠癌术后辅助放疗时小肠的受照射体积,减轻放疗后引起的急、慢性反应。有孔泡沫板作为一种简单有效的方法,可常规用于直肠癌术后辅助放疗以保护盆腔器官。

参考文献:

- [1] Miller RC, Martenson JA, Sargent DJ, et al. Acute treatment-related diarrhea during post-operative adjuvant therapy for high-risk rectal carcinoma[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1998, 41(3): 593-598.
- [2] Mak AC, Rich TA, Schultheiss TE, et al. Late complications of postoperative radiation therapy for cancer of the rectum and rectosigmoid[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1994, 28(3): 597-603.
- [3] Minsky BD, Conti JA, Huang Y, et al. Relationship of acute gastrointestinal toxicity and the volume of irradiated small bowel in patients receiving combined modality therapy for rectal cancer[J]. J Clin Oncol, 1995, 13(6): 1409-1416.
- [4] Cohan AM, Gunderson LL, Welch CE. Selective use of adjuvant radiation therapy in resectable colorectal adenocarcinoma[J]. Dis Colon Rectum, 1981, 24(4): 247-251.
- [5] Rudat V, Flentje M, Engenhart R, et al. The bellyboard technique for the sparing of the small intestine[J]. Strahlenther Onkol, 1995, 171(8): 437-443.
- [6] Shank B, Losasso T, Brewster L, et al. Three-dimensional treatment planning for postoperative treatment of rectal carcinoma[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1991, 21(1): 253-265.
- [7] Gunderson LL, Russell AH, Llewellyn HJ, et al. Treatment planning for colorectal cancer: radiation and surgical techniques and value of small-bowel films[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 1985, 11(7): 1379-1393.
- [8] Capirci C, Polico C, Mandoliti G. Dislocation of small bowel volume within box pelvic treatment fields, using new "up down table" device[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2001, 51(2): 465-473.
- [9] Kim TH, Kim DY, Cho KH, et al. Comparative analysis of the effects of belly board and bladder distension in postoperative radiotherapy of rectal cancer patients[J]. Strahlenther Onkol, 2005, 181(9): 601-605.
- [10] Koelbl O, Vordermark D, Flentje M. The relationship between belly board position and patient anatomy and its influence on dose-volume histogram of small bowel for postoperative radiotherapy of rectal cancer[J]. Radiat Oncol, 2003, 67(3): 345-349.
- [11] 李宁, 金晶, 李涛, 等. 二期直肠癌术后放疗应用有孔泡沫板对小肠照射剂量的影响[J]. 中华放射肿瘤学杂志, 2007, 16(3): 206-209.

[编辑:贺文;校对:安凤]

(上接第 652 页)

Kamali-Sarvestani 等^[5]在一伊朗妇女人群中发现乳腺癌患者中的 IFN- γ 基因 + 874 位点 TT 基因型频率显著高于正常人群,这与本实验的结果互相印证,但 TT 基因型的构成比却远高于本实验中的数据,这可能与种族的差异有关。有学者研究表明^[6],大肠癌患者中的 IFN- γ + 874 位点 AA 基因型频率显著高于正常人。乳腺癌是由遗传、机体免疫和环境等因素共同作用引起的,本研究为乳腺癌的病因学研究提供了新的参考,为临床治疗和预防提供了研究资料。

参考文献:

- [1] Chevillard C, Henri S, Stefani F, et al. Two new polymorphisms in the human interferon gamma (IFN- γ) promoter[J]. Eur J Immunogenet, 2002, 29(1): 53-56.
- [2] Henri S, Stefani F, Parzy D, et al. Description of three new polymorphisms in the intronic and 3' UTR regions of the human interferon gamma gene[J]. Genes Immun, 2002, 3(1): 124-125.
- [3] 张平安, 吴健民, 李艳. IFN- γ 基因 + 874 位点单核苷酸多态性与乙型肝炎病毒感染关系的研究[J]. 医学临床研究, 2005, 22(9): 1191-1192.
- [4] Pravica V, Perrey C, Stevens A, et al. A single nucleotide polymorphism in the first intron of the human IFN- γ gene: absolute correlation with a polymorphic CA microsatellite marker of high IFN- γ gene[J]. Hum Immunol, 2000, 61(9): 863-866.
- [5] Kamali-Sarvestani E, Merat A, Talei AR. Polymorphism in the genes of alpha and beta tumor necrosis factors (TNF- α and TNF- β) and gamma interferon (IFN- γ) among Iranian women with breast cancer[J]. Cancer Lett, 2005, 223(1): 113-119.
- [6] 费保莹, 吕火祥, 陈永伟. 大肠癌 IFN- γ 基因 + 874 位点的单核苷酸多态性[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(20): 2022-2025.

[编辑:贺文;校对:安凤]