

RTEL1 基因多态性与 COPD 易感性的相关性研究

王长亮 金光军

[摘要] 目的 研究端粒延长解旋酶1(RTEL1)基因 rs4809324、rs6010620 位点单核苷酸多态性(SNPs)与慢性阻塞性肺疾病(COPD)易感性之间的相关性。方法 选择315例 COPD 患者作为研究对象,同期招募240例健康体检者作为对照组。采用 Sanger 测序法检测所有受试者的 RTEL1 基因 rs4809324、rs6010620 位点基因型,并分析其与 COPD 易感性和严重程度的相关性。结果 研究组 rs4809324 位点突变纯合型 CC 基因频率明显高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=7.12, P<0.05$),该位点突变型等位基因 C 基因频率亦明显高于对照组(校正后 $OR=1.19, 95\%CI\ 1.06\sim1.32$)。研究组 rs6010620 位点各基因型频率和等位基因频率与对照组比较,差异均无统计学意义(χ^2 分别=2.67、0.86, P 均 >0.05)。RTEL1 基因 rs4809324 位点突变型等位基因 C 携带者 COPD 的严重程度明显高于野生型等位基因携带者,差异有统计学意义($\chi^2=9.29, P<0.05$),校正后 OR 为 1.23, $95\%CI\ 1.07\sim1.39$ 。rs6010620 位点 SNP 与 COPD 严重程度比较,差异均无统计学意义(χ^2 分别=2.67、0.08, P 均 >0.05)。结论 RTEL1 基因 rs4809324 位点单核苷酸多态性与 COPD 易感性有关,突变型 C 等位基因携带者具有较高的 COPD 患病风险,且更易发展为重症的 COPD。

[关键词] 端粒延长解旋酶1; 慢性阻塞性肺疾病; 单核苷酸多态性; 遗传多态性; 易感性

Relationship between RTEL1 gene polymorphism and susceptibility to COPD WANG Changliang, JIN Guangjun. Intensive Care Unit, Sir Run Run Show Hospital, Medical School of Zhejiang University, Hangzhou 310000, China

[Abstract] **Objective** To study association between the single nucleotide polymorphisms (SNPs) of the telomere lengthening helicase 1 (RTEL1) gene rs4809324 and rs6010620 locus and susceptibility to chronic obstructive pulmonary disease. **Methods** A total of 315 patients with COPD were selected as the study group. During the same period, 240 healthy patients were recruited as control group. Sanger sequencing was used to detect the genotypes of RTEL1 gene rs4809324 and rs6010620 locus in all subjects, and their correlation between the susceptibility and severity of COPD was analyzed. **Results** The gene frequency of rs4809324 locus homozygous CC in the study group was significantly higher than the control group, the difference was statistically significant ($\chi^2=7.12, P<0.05$) as well as the gene frequency of the rs4809324 locus mutant allele C (adjusted $OR=1.19, 95\%CI\ 1.06\sim1.32$). There was no significant difference in the frequencies of genotypes and alleles at rs6010620 locus between the study group and the control group ($\chi^2=2.67, 0.86, P>0.05$). The COPD condition of the RTEL1 gene rs4809324 locus mutant allele C carrier was more serious than that of the wild-types ($\chi^2=9.29, P<0.05$), (adjusted $OR=1.23, 95\%CI\ 1.07\sim1.39$). There was no correlation between the severity and rs6010620 SNP ($\chi^2=2.67, 0.08, P>0.05$). **Conclusion** The single nucleotide polymorphism at position rs4809324 of RTEL1 gene is associated with susceptibility to COPD. Mutant C allele carriers have a higher risk of COPD and are more likely to develop severe COPD.

[Key words] telomere elongation helicase 1; chronic obstructive pulmonary disease; single nucleotide polymorphism; genetic polymorphism; susceptibility

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2018.04.005

基金项目:浙江省医药卫生科技计划(2018KY560)

作者单位:310016 浙江杭州,浙江大学医学院附属邵逸夫医院重症医学科(王长亮);浙江中医药大学附属第二医院急诊医学科(金光军)

慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)的发展是环境因素与复杂的遗传因素相互作用的结果^[1]。端粒延长解旋酶1(regulation of telomere elongation helicase 1, RTEL1)

是一种DNA解旋酶^[2]。几项全基因组关联研究揭示了RTEL1基因rs4809324和rs6010620位点SNPs与胶质瘤易感性之间有相关性^[3],但目前关于其与COPD易感性及其严重程度相关性的研究甚少,本次研究分析RTEL1基因rs4809324、rs6010620位点SNPs与COPD易感性及其严重程度的相关性。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2014年5月至2017年5月期间

浙江大学附属邵逸夫医院和浙江中医药大学附属第二医院收治的315例COPD患者为研究组。COPD患者的诊断均参考《慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版)》^[4]。剔除有其他呼吸系统疾病如肺癌、肺结核、囊性纤维化、支气管哮喘等患者,合并有其他重大疾病患者。选择同期相似年龄段的无气流受限的健康体检者240例为对照组,两组的年龄、性别、体重指数、吸烟状况和饮酒状况等一般资料比较见表1。两组比较,差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。

表1 两组一般资料比较

组别	<i>n</i>	性别(男/女)	年龄/岁	体重指数/kg/m ²	吸烟人数/例(%)	饮酒人数/例(%)
研究组	315	172/143	65.45 ± 8.54	22.35 ± 2.34	91(28.89)	104(33.02)
对照组	240	125/115	64.78 ± 9.12	22.40 ± 2.18	65(27.08)	75(31.25)

1.2 RTEL1基因型检测 收集所有受试者肘静脉血约3 ml,采用全血基因组提取试剂盒提取受试者基因组DNA。rs4809324位点聚合酶链式反应(polymerase chain reaction,PCR)引物序列为正向:5'-AGCCGGTG-CACAGATTCC-3';反向:5'-TGAGAAGTCAAGTGA-CATCAGAGG-3'。rs6010620位点PCR引物序列为正向:5'-TTCCCTTTTGTGAGACCTGGGA-3';反向:5'-TGCTGCTCCTCTCAACATCTC-3'。PCR反应体系为:10×buffer 10 μl,0.25 μl dNTP,上下游引物各10 pmol,模板DNA 10 ng,Taq 酶0.25 μl,补水至20 μl。PCR反应条件为:94℃ 4 min,94℃ 20 s,60℃ 30 s,72℃ 30 s;35个循环数。72℃终末延伸4 min。将PCR产物采用纯化回收后进行Sanger测序。

1.3 COPD严重程度的判定标准 I级(轻度COPD):第1秒用力呼气容积/用力肺活量(1 second forced expiratory volume/forced vital capacity,FEV1/FVC) $<70\%$,FEV1占预计值百分比 $\geq 80\%$;II级(中度COPD):(FEV1/FVC) $<70\%$;50% $\leq$ FEV1占预计值百分比 $<80\%$;III级(重度COPD):(FEV1/FVC) $<70\%$,30% $\leq$ FEV1占预计值百分比 $<50\%$;IV级(极重度COPD):(FEV1/FVC) $<70\%$;FEV1占预计值百分比 $<30\%$,或FEV1占预计值百分比 $<50\%$ 并伴有呼吸衰竭^[4]。

1.4 统计学方法 采用SPSS 20.0软件进行统计分析。计量资料以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。计量资料比较采用 t 检验。计数资料比较采用 χ^2 检验。Hardy-Weinberg遗传平衡检验采用 χ^2 检验。多态性对COPD易感性的影响用优势比(OR)及95%置信区间(CI)表示,校正年龄、性别、身体质量指数、吸

烟、饮酒等一般因素后使用非条件logistic回归分析计算。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RTEL1基因SNP位点基因型和等位基因频率见表2

表2 RTEL1基因SNP位点基因型和等位基因频率比较

SNP		研究组(<i>n</i> =315)	对照组(<i>n</i> =240)
rs4809324			
基因型	TT	170 (53.97)	151 (62.92)
	TC	100 (31.75)	72 (30.00)
	CC	45 (14.29)*	17 (7.08)
等位基因	T	440 (69.84)	374 (77.92)
	C	190 (30.16)*	106 (22.08)
rs6010620			
基因型	AA	161 (51.11)	125 (52.08)
	AG	116 (36.83)	96 (40.00)
	GG	38 (12.06)	19 (7.92)
等位基因	A	438 (69.52)	346 (72.08)
	G	192 (30.48)	134 (27.92)

注: *:与对照组比较, $P < 0.05$ 。

由表2可见,RTEL1基因rs4809324位点和rs6010620位点基因型频率符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律(χ^2 分别=3.95、0.01, P 均 >0.05)。研究组rs4809324位点突变纯合型CC基因频率明显高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=7.12$, $P < 0.05$),rs4809324位点突变型等位基因C基因频率明显高于对照组($\chi^2=9.08$, $P < 0.05$),经logistic回归对年龄

性别、身体质量指数、吸烟状况和饮酒状况等一般因素进行校正,校正后 OR 为 1.19, 95% CI 1.06 ~ 1.32。研究组 rs6010620 位点各基因型频率和等位基因频率与对照组比较,差异均无统计学意义(χ^2 分别=2.67、0.86, P 均>0.05)。

2.2 RTEL1 基因 SNP 与 COPD 严重程度比较见表 3

表 3 RTEL1 基因 rs4809324 位点和 rs6010620 位点基因型频率与 COPD 严重程度分布比较

SNP		I / II 级 (n=125)	III / IV 级 (n=190)
rs4809324			
基因型	TT	78 (62.40)	92 (48.42)
	TC	38 (30.40)	68 (35.79)
	CC	9 (7.20)	30 (15.79)
等位基因	T	194 (77.60)	252 (66.32)
	C	56 (22.40)	128 (33.68)
rs6010620			
基因型	AA	66 (52.80)	95 (50.00)
	AG	35 (28.00)	68 (35.79)
	GG	24 (19.20)	27 (14.21)
等位基因	A	167 (66.80)	258 (67.89)
	G	83 (33.20)	122 (32.11)

由表 3 可见, RTEL1 基因 rs4809324 位点突变型等位基因 C 携带者 COPD 的严重程度明显高于 T 等位基因携带者, 差异有统计学意义($\chi^2=9.29$, $P<0.05$)。经 logistic 回归对年龄性别、身体质量指数、吸烟状况和饮酒状况等一般因素进行校正, 校正后 OR 为 1.23, 95% CI 1.07 ~ 1.39。rs6010620 位点不同基因型和等位基因的 COPD 严重程度比较, 差异均无统计学意义(χ^2 分别=2.67、0.08, P 均>0.05)。

3 讨论

COPD 的发病机制比较复杂, 个体间差异较大。除了环境因素外, 遗传因素在 COPD 的发病过程中的作用也不容忽视。有研究者检测了 COPD 患者的端粒长度, 结果发现 COPD 患者白细胞端粒较短, 且与 COPD 和癌症死亡率增加有关^[5]。RTEL1 基因位于染色体 20 q13.3 上, RTEL1 是一种必需的 DNA 解旋酶, 它可以分解各种 DNA 二级结构以促进其复制、修复和重组过程, 并有助于保持端粒的完整性^[6]。既往研究显示 RTEL1 基因组位点在乳腺癌、肺癌、食管癌、胃癌和结肠直肠癌中过表达^[7]。此外, 在小鼠模型中已经证明 RTEL1 可通过参与 Wnt/b-catenin 信

号传导来促进细胞的生长, 该研究表明 RTEL1 可能是癌基因^[8]。然而, 相反的研究显示, RTEL1 变异与几种脑癌和年龄相关型疾病的风险降低相关^[9,10]。在小鼠模型中进一步研究表明, RTEL1-PCNA 相互作用对于抑制细胞癌变具有重要的作用^[11]。这些研究都表明 RTEL1 基因可能具有抑制肿瘤发生的作用。本次研究分析了 RTEL1 基因 rs4809324 位点和 rs6010620 位点 SNP 与 COPD 易感性及其严重程度的相关性, 从研究结果来看, RTEL1 基因 rs4809324 位点 SNP 与 COPD 易感性和严重程度相关, 而 rs6010620 位点 SNP 与 COPD 易感性和严重程度无相关性。这个结果也支持 RTEL1 基因的抑制肿瘤发生的作用。以上研究结果和分析说明 RTEL1 的过度表达或下调可能对肿瘤发生起作用。

本次研究分析了 RTEL1 基因 rs4809324 位点和 rs6010620 位点 SNP, 据相关研究结果显示这两个 SNP 位点与中国汉族人群以及美国人群脑肿瘤具有相关性^[12,13]。然而本次研究结果仅发现 rs4809324 位点和 COPD 发生和严重程度相关, 与 Ding 等^[14]研究结果一致。可能的原因需进一步探究。

本次研究没有进行进一步体外实验研究 RTEL1 基因 SNP 与 COPD 发生风险之间相关性的发生机制, 而且在选择临床样本时缺乏对饮食习惯、生活环境的因素的控制, 而这些因素可能影响本次研究结论的客观性。因此, 需进一步研究。

综上所述, RTEL1 基因 rs4809324 位点单核苷酸多态性与 COPD 易感性有关, 突变型 C 等位基因携带者患 COPD 的风险较高, 且更易发展为重度的 COPD。具体发生的机制还需要进一步实验证实。

参考文献

- 1 Xiong M, Wang J, Guo M, et al. TRPM8 genetic variations associated with COPD risk in the Chinese Han population[J]. Int J Chronic Obstr, 2016, 11 (1): 2563-2571.
- 2 Vannier JB, Pavicickaltenbrunner V, Petalcorin MIR, et al. RTEL1 dismantles T loops and counteracts telomeric G4-DNA to maintain telomere integrity[J]. Cell, 2012, 149(4): 795-806.
- 3 Liu Y, Shete S, Etzel CJ, et al. Polymorphisms of LIG4, BTBD2, HMG2, and RTEL1 genes involved in the double-strand break repair pathway predict glioblastoma survival[J]. J Clin Oncol, 2010, 28(14): 2467-2474.

(下转第 384 页)

- 体增强姜黄素对雄激素非依赖性前列腺癌的抑制效应[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2012, 41(3): 284-287.
- 5 叶定伟, 朱耀. 中国前列腺癌的流行病学概述和启示 [J]. 中华外科杂志, 2015, 53(4): 249-252.
 - 6 Balmano K, Cook SJ. Tumour cell survival signalling by the ERK1/2 pathway [J]. Cell Death Differ, 2009, 16(3): 368-377.
 - 7 田瑞华, 殷平, 金光辉, 等. 全反式维甲酸对结肠癌不同增殖潜能细胞株 HIF-1 α 表达的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(7): 1425-1427.
 - 8 Mathur A, ABD Elmageed ZY, Liu X, et al. Subverting ER-stress towards apoptosis by nelfinavir and curcumin coexposure augments docetaxel efficacy in castration resistant prostate cancer cells[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e103109.
 - 9 余建华, 邓刚. 姜黄素雷公藤内酯醇对前列腺癌细胞 PC3 及血管内皮生长因子影响的比较[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2010, 6(2): 224-227.
 - 10 李建华, 周洁, 陆素青, 等. 姜黄素对前列腺癌 PC-3 细胞增殖的抑制作用[J]. 中国医药科学, 2012, 2012(15): 29-36.
 - 11 李会宣, 杨虹, 张红兵, 等. 姜黄素通过 MAPK 信号通路诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(3): 329-334.
 - 12 钟利春, 李昌平. 姜黄素与 p38MAPK 的研究进展[J]. 西南军医, 2015, 17(1): 47-49.
 - 13 Zhou M, Li Z, Han Z, et al. Paclitaxel-sensitization enhanced by curcumin involves down-regulation of nuclear factor- κ B and Lin28 in Hep3B cells [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2015, 35(6): 618-625.
 - 14 Seo JH, Jeong ES, Choi YK. Therapeutic effects of lentivirus-mediated shRNA targeting of cyclin D1 in human gastric cancer [J]. BMC Cancer, 2014, 14(1): 175-180.
 - 15 黄益玲, 胡火军, 尤程程. 天花粉蛋白通过下调 p-ERK 及 Cyclin D1 表达抑制 PC3 细胞增殖[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(15): 4108-4109.
- (收稿日期 2017-03-08)
(本文编辑 蔡华波)

(上接第 379 页)

- 4 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版)[S]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 6(4): 67-80.
 - 5 Rode L, Bojesen SE, Weischer M, et al. Short telomere length, lung function and chronic obstructive pulmonary disease in 46 396 individuals[J]. Thorax, 2013, 68(5): 429-435.
 - 6 Vannier JB, Sarek G, Boulton SJ. RTEL1: functions of a disease-associated helicase[J]. Trends Cell Biol, 2014, 24(7): 416-425.
 - 7 Muleris M, Almeida A, Gerbaultseureau M, et al. Identification of amplified DNA sequences in breast cancer and their organization within homogeneously staining regions[J]. Gene Chromosome Canc, 2010, 14(3): 155-163.
 - 8 Wu X, Sandhu S, Nabi Z, et al. Generation of a mouse model for studying the role of upregulated RTEL1 activity in tumorigenesis[J]. Transgenic Res, 2012, 21(5): 1109-1115.
 - 9 Melin B, Dahlin AM, Andersson U, et al. Known glioma risk loci are associated with glioma with a family history of brain tumours—a case-control gene association study[J]. Int J Cancer, 2013, 132(10): 2464-2468.
 - 10 Deng Z, Glousker G, Molczan A, et al. Inherited mutations in the helicase RTEL1 cause telomere dysfunction and Hoyeraal-Hreidarsson syndrome[J]. P Natl Acad Sci USA, 2013, 110(36): E3408-E3416.
 - 11 Vannier JB, Sandhu S, Petalcorin MI, et al. RTEL1 is a replisome-associated helicase that promotes telomere and genome-wide replication[J]. Science, 2013, 342(6155): 239-242.
 - 12 Wrensch M, Jenkins RB, Chang JS, et al. Variants in the CDKN2B and RTEL1 regions are associated with high grade glioma susceptibility[J]. Nat Genetics, 2009, 41(8): 905-908.
 - 13 Adel FM, Lavebratt C, Schüz J, et al. CCDC26, CDKN2BAS, RTEL1 and TERT polymorphisms in pediatric brain tumor susceptibility[J]. Eur J Cancer, 2015, 51(8): S163.
 - 14 Ding Y, Xu H, Yao J, et al. Association between RTEL1 gene polymorphisms and COPD susceptibility in a Chinese Han population[J]. Int J Chroni Obstruct Pulmon Dis, 2017, 12(3): 931-936.
- (收稿日期 2018-05-02)
(本文编辑 蔡华波)