

HLA-*DP* 基因 rs3077 和 rs9277535 位点多态性与汉族人群肺癌的关联性研究

冯侃 俞晓军 陆勇

[摘要] 目的 探讨汉族人群中白细胞抗原(HLA)-*DP* 基因多态性与肺癌遗传易感性的关联性。方法 应用Taq-Man-MGB 探针方法检测 rs3077 和 rs9277535 位点基因型,比较新发肺癌组患者和对照组不同基因型与肺癌患病风险的关系。结果 rs3077 和 rs9277535 位点突变纯合基因型 AA 明显增加肺癌的发病风险(OR 分别=1.84、1.91, P 均 <0.05);单倍型分析显示,A-A 单倍型携带者肺癌发病风险更高($OR=1.40, P<0.05$);对比未携带危险等位基因,携带危险等位基因发生肺癌的风险明显升高,并且肺癌发生风险随携带基因个数增加呈现明显的剂量反应关系($P_{趋势}=1.18\times 10^{-11}$)。结论 HLA -*DP* 基因 rs3077 和 rs9277535 两个位点会增加肺癌的发病率,HLA -*DP* 基因多态性与中国汉族人群肺癌的发病风险相关。

[关键词] 肺癌; 基因多态性; 白细胞抗原-*DP*

Association of HLA-*DP* gene rs3077 and rs9277535 polymorphisms with lung cancer in the Han population

FENG Kan, YU Xiaojun, LU Yong. Department of Chest Surgery, First Hospital Fuyang District, Fuyang 311400, China.

[Abstract] **Objective** To investigate the association between polymorphism of human leukocyte antigen (HLA) *DP* gene and genetic susceptibility of lung cancer. **Methods** The genotypes of rs3077 and rs9277535 were detected by Taq-Man-MGB probe, and the relationship between different genotypes and the risk of lung cancer in new lung cancer patients and healthy controls was compared. **Results** The homozygous genotype AA of rs3077 and rs9277535 loci significantly increased the risk of lung cancer ($OR=1.84, 1.91, P<0.05$). The haplotype analysis showed that carriers of A-A haplotype had higher risk of lung cancer ($OR=1.40, P<0.05$). Compared with carriers of zero risk alleles, the risk of lung cancer in carriers of risk alleles was increased significantly, and with the increasing of the number of risk alleles, the risk of lung cancer showed a significant dose-response relationship ($P_{trend}=1.18\times 10^{-11}$). **Conclusion** HLA-*DP* gene rs3077 and rs9277535 loci can significantly increase the incidence of lung cancer. HLA-*DP* gene polymorphism is associated with the risk of lung cancer in Chinese Han population.

[Key words] lung cancer; gene polymorphism; HLA-*DP*

在中国,肺癌是发病率与死亡率第一位的癌症^[1],其发病率已超过乳腺癌、前列腺癌和结直肠癌死亡人数的总和^[2]。肺癌的发病机制尚不完全清楚,目前研究认为遗传易感基因在其中发挥一定作用。人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)-II类基因主要分为DQ、DR、*DP*三个亚型,其

结构都呈高度多态性^[3],功能是递呈外源性抗原肽给CD⁴⁺T淋巴细胞。外周血CD⁴⁺T细胞亚群表达与非小细胞癌、支气管肺癌等的发生和发展过程密切相关^[4,5]。因此,HLA-II类基因的高度多态性可能与肺癌遗传易感性存在关联。为此,本次研究在现有研究基础上,通过比较新发肺癌组和对照组之间HLA-*DP*基因多态性分布差异,探讨其与肺癌发病的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2014年1月至2018年6月在

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2019.04.004

基金项目:社会发展科技项目(2016SK30)

作者单位:311400 浙江杭州,杭州市富阳区第一人民医院胸外科

杭州市富阳区第一人民医院首诊且确诊为肺癌患者58例为新发肺癌组,纳入标准:①年龄20~70岁;②为首次确诊的新发肺癌患者;③自愿参加研究并保证配合完成研究过程。排除标准:①有血缘关系的研究对象;②转移性肺癌患者。选择同一时期本院体检中心参加体检的116例为对照组,并按照性别、年龄等与新发肺癌组匹配。本次研究获本院伦理委员会审批通过。两组一般情况见表1,两组比较,差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。

表1 两组一般情况的比较

一般情况	新发肺癌组 ($n=58$)	对照组 ($n=116$)
年龄/岁	48.91 ± 14.97	47.29 ± 12.77
性别/例(%)		
男	41(70.69)	77(66.38)
女	17(29.31)	39(33.62)
吸烟/例(%)	32(55.17)	60(51.72)
饮酒/例(%)	27(46.55)	52(44.83)
职业致癌因素接触史/例(%)	16(27.59)	27(23.28)

1.2 方法 根据PubMed、HapMap等筛选HLA-DP基因位点,选择标准为人群(汉族)最小等位基因频率 ≥ 0.05 、各位点之间的连锁平衡 $r^2 \geq 0.8$,再结合相关文献报道,最终选定HLA-DPA1 rs3077和HLA-DPB1 rs9277535两个位点。用抗凝管采集所有研究对象的静脉血5 ml,置于 -80°C 冰箱冻存,以备使用。通过酚-氯仿法提取细胞DNA,再利用美国ABI公司设计的TaqMan-MGB荧光探针(由南京骥骛生物技术公司生产)实时定量聚合酶链反应法检测HLA-DPA1 rs3077和HLA-DPB1 rs9277535两个位点基因型。所有费用均由本课题项目承担。

1.3 统计学方法 采用SPSS19.0、EpiData3.1、Arlequin 3.5、haploview 4.2和PHASE2.0软件分析数据。计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;rs3077和rs9277535位点基因型以及这两个位点的单倍型与肺癌发病风险的相关性采用多因素logistic回归分析。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg (HWE)平衡检验 rs9277535位点的AA、GA、GG基因型频率分别为13.79%、45.98%和40.23%;等位基因频率分别为A(36.78%),G(63.22%)。rs3077位点的GG、GA、AA基因型频率分别为55.17%、36.21%、8.62%;等位基

因频率分别为G(73.27%),A(26.73%)。rs9277535和rs3077两个位点基因型分布均符合Hardy-Weinberg遗传平衡定律(χ^2 分别=0.05、1.45, P 均 >0.05)。2.2 HLA-DP基因2个位点多态性与肺癌发病风险的相关性 控制性别、年龄、吸烟、饮酒等因素后,进行多因素logistic回归分析,见表2。

表2 HLA-DP基因多态性与肺癌发病风险的关联分析

SNP位点	新发肺癌组 ($n=58$)	对照组 ($n=116$)	OR	95%CI	P
rs3077					
GG	23(39.66)	51(43.97)	1		
GA	26(44.83)	55(47.41)	1.12	0.78 ~ 1.61	>0.05
AA	9(15.51)	10(8.62)	1.84	1.10 ~ 3.21	<0.05
rs9277535					
GG	14(24.14)	38(32.76)	1		
GA	30(51.72)	58(50.00)	1.38	0.96 ~ 2.06	>0.05
AA	14(24.14)	20(17.24)	1.91	1.25 ~ 3.32	<0.05

由表2可见,rs3077和rs9277535两个位点突变纯合基因型AA频数在新发肺癌组中均明显高于对照组,以GG基因型为参考,AA基因型明显增加了肺癌的发病风险(P 均 <0.05)。

2.3 单倍型分析 为了进一步解释HLA-DP基因多态性与肺癌易感性的关系,本次研究采用PHASE 2.0软件构建了rs3077和rs9277535两位点的单倍型。使用Haploview4.2软件计算HLA-DPA1 rs3077和HLA-DPB1 rs9277535之间基因连锁平衡,结果显示 $D' = 0.67$, $r^2 = 0.33$,表明两位点间存在连锁关系。控制性别、年龄、吸烟、饮酒等因素后,HLA-DP基因SNP位点单倍型与肺癌发病风险的关系的多因素logistic回归分析见表3。

表3 HLA-DP基因SNP位点单倍型与肺癌发病风险的关系

单倍型	新发肺癌组 ($n=58$)	对照组 ($n=116$)	OR	95%CI	P
G-G	24(41.38)	55(47.41)	1		
A-A	18(31.03)	29(25.00)	1.40	1.03 ~ 1.86	<0.05
G-A	11(18.96)	23(19.83)	1.08	0.78 ~ 1.51	>0.05
A-G	5(8.62)	9(7.76)	1.07	0.65 ~ 1.75	>0.05

由表3可见,A-A单倍型携带者肺癌发病风险比G-G单倍型携带者更高($P < 0.05$)。

2.4 联合作用 基于位点分析结果,将rs3077-A,rs9277535-A设定为危险等位基因。控制性别、年

龄、吸烟、饮酒等因素后,HLA-DP 基因两位点联合作用分析见表4。

表4 HLA-DP 基因两位点联合作用分析

携带危险等位基因个数	新发肺癌组(n=58)	对照组(n=116)	OR	95%CI	P
0	8(13.79)	31(26.72)	1		
1	11(18.97)	28(24.13)	1.75	1.17~2.59	7.37×10^{-3}
2	22(37.93)	37(31.90)	2.43	1.69~3.47	1.61×10^{-6}
3~4	16(27.59)	20(17.24)	3.51	2.35~5.22	8.77×10^{-10}
1~4	49(84.48)	85(73.28)	2.37	1.74~3.27	8.29×10^{-8}

由表4可见,与不携带危险等位基因相比,携带危险等位基因个体发生肺癌的风险明显升高,并且肺癌的发病风险与携带危险等位基因个数呈现明显的剂量反应关系($P_{趋势}=1.18 \times 10^{-11}$)。

3 讨论

近年来,关于 HLA -DP 基因遗传变异与各类疾病相关的研究不断增加。Kamatani 等^[6]发现亚洲人群中 HLA-DP 基因与乙型肝炎的感染以及肝细胞癌进展过程存在明显关联。国内研究人员也证实 HLA-DPA1 rs3077 和 HLA-DPB1 rs9277535 两个位点与多种肿瘤的遗传易感性相关^[7-9]。一篇 Meta 分析指出,HLA-DP 基因 rs3077 位点多态性与肝细胞癌相关^[10]。本研究采用病例对照研究设计,在 58 例新发肺癌患者和 116 例对照人群中,探讨了 HLA-DPA1 rs3077 和 HLA-DPB1 rs9277535 两个多态性位点与肺癌发病风险的关联,结果发现 rs3077 和 rs9277535 突变纯合基因型 AA 均会增加肺癌的患病风险,这与邹雯等^[7]研究一致,说明 rs3077 和 rs9277535 两个位点会增加肺癌的发病率,提示这两个位点可以作为肺癌潜在的遗传易感标志物。本次研究结果还显示携带 A-A 单倍型可增加肺癌发病风险,并且随着携带危险基因个数增加,肺癌发病风险也随之升高,表明 HLA-DPA1 rs3077 和 HLA-DPB1 rs9277535 两个位点可调节 HLA-DP 基因 mRNA 表达,影响 HLA-II 类抗原的表达,参与机体抗肿瘤效应^[10]。但是,其具体的免疫学作用机制尚不清楚,未来在这一领域还得进一步探索。

本次研究也存在一定局限性。首先,本研究采取病例对照研究,对象均来源于医院,存在一定选择偏倚;其次,重点研究了 rs3077 和 rs9277535 两

个基因位点对肺癌的影响,但不能排除 HLA-DP 基因其他位点与肺癌发病的关联。本次研究样本量有限,rs3077 和 rs9277535 两个位点可以明显增加肺癌的发病率这一结论尚需大规模队列研究进行进一步验证。

综上所述,HLA-DP 基因 rs3077 和 rs9277535 两个位点能明显增加中国人群肺癌发病风险,这为进一步研究肺癌的发病机制提供思路及线索。

参考文献

- 1 Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- 2 Freddie B, Jacques F, Isabelle S, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA, 2018, 68(6): 394-424.
- 3 韦娟,王佳佳,王洁,等. HLA-DP 基因多态性与丙型肝炎病毒感染转归的关系[J]. 现代预防医学, 2015, 42(11): 2090-2093.
- 4 殷红梅,王磊,胡晓波,等. 非小细胞肺癌患者外周血 CD4+T 淋巴细胞亚群的变化及临床意义[J]. 检验医学与临床, 2017, 14(6): 759-762.
- 5 陶辰楠,李世敏,关丽娜. 支气管肺癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群表达情况及其与预后的关系研究[J]. 实用心脑血管病杂志, 2018, 26(3): 37-40.
- 6 Kamatani Y, Wattanapokayakit S, Ochi H, et al. A genome-wide association study identifies variants in the HLA-DP locus associated with chronic hepatitis B in Asians[J]. Nat Genet, 2009, 41(5): 591-595.
- 7 邹雯,陈宇平,谢玲燕. HLA-DP 基因多态性与肺癌遗传易感性研究[J]. 现代预防医学, 2016, 43(14): 2624-2627.
- 8 鲍芳,李毓飞,李菊. HLA-DP 基因多态性与卵巢癌临床病理参数的关联研究[J]. 江苏预防医学, 2018, 29(1): 42-44.
- 9 张凯,孙萍,郭兰伟,等. 中国北方汉族女性 HLA - DP/DQ 基因多态性与宫颈癌易感性的关联研究[J]. 中国肿瘤, 2013, 22(6): 442-447.
- 10 O'brien TR, Kohaar I, Pfeiffer RM, et al. Risk alleles for chronic hepatitis B are associated with decreased mRNA expression of HLA - DPA1 and HLA - DPB1 in normal human liver[J]. Genes Immun, 2011, 12(6): 428-433.

(收稿日期 2018-12-27)

(本文编辑 蔡华波)