

53BP1 和 p53 基因多态性与食管鳞癌、贲门腺癌遗传易感性的关系

曹延延¹, 葛晖¹, 陈龙奇², 陈志峰³, 温登瑰³, 李琰¹, 张健慧¹

Correlation of 53BP1 and p53 Polymorphisms to Susceptibility to Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Gastric Cardiac Adenocarcinoma

CAO Yan-Yan¹, GE Hui¹, CHEN Long-Qi², CHEN Zhi-Feng³,

WEN Deng-Gui³, LI Yan¹, ZHANG Jian-Hui¹

1. 河北省肿瘤研究所

分子生物学研究室,
河北 石家庄 050011

2. 河北医科大学第四医院
胸外科,
河北 石家庄 050011

3. 河北省肿瘤研究所
流行病学研究室,
河北 石家庄 050011

1. Laboratory of Molecular Biology,
Hebei Provincial Cancer Institute/
The Fourth Affiliated Hospital,
Hebei Medical University,
Shijiazhuang, Hebei, 050011,
P. R. China

2. Department of Thoracic Surgery,
The Fourth Affiliated Hospital,
Hebei Medical University,
Shijiazhuang, Hebei, 050011,
P. R. China

3. Laboratory of Epidemiology,
Hebei Provincial Cancer Institute/
The Fourth Affiliated Hospital,
Hebei Medical University,
Shijiazhuang, Hebei, 050011,
P. R. China

通讯作者: 张健慧

Correspondence to: ZHANG Jian-Hui

Tel: 86-311-86093338

Fax: 86-311-86077634

E-mail: jianhuizh@hotmail.com

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30371591); 河北省自然科学基金 (No. C200400062)

Grants: National Natural Science Foundation of China (No. 30371591); Natural Science Foundation of Hebei Province (No. C200400062)

收稿日期: 2006-12-21

修回日期: 2007-05-14

[ABSTRACT] BACKGROUND & OBJECTIVE: 53BP1 is one of p53-binding proteins, which can enhance the transcriptional activation of p53 and plays a key role in tumor suppression. A single nucleotide polymorphism (SNP) T885G has been found in the promoter of 53BP1. This study was to investigate the correlation of 53BP1 and p53 SNPs to susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and gastric cardiac adenocarcinoma (GCA) in a high incidence area of Hebei Province in China. METHODS: Genotypes of 53BP1 T885G and p53 Arg72Pro in 349 ESCC patients, 275 GCA patients, and 635 healthy subjects were detected by primer-introduced restriction analysis-polymerase chain reaction (PIRA-PCR). RESULTS: The overall distribution of 53BP1 T885G was not significantly different between ESCC patients, GCA patients and healthy subjects ($P > 0.05$). When stratified by smoking status and family history of upper gastrointestinal cancer (UGIC), the distribution of 53BP1 T885G was not significantly different between ESCC patients, GCA patients and healthy subjects. Compared with p53 Arg72Pro Arg/Arg genotype, Pro/Pro genotype decreased the susceptibility to GCA [the age, sex, smoking status, and family history adjusted odds ratio (OR)=0.79, 95% confidence interval (CI)=0.64-0.98]. Stratification analysis showed that Pro/Pro genotype decreased the susceptibility to GCA among non-smokers (adjusted OR=0.72, 95% CI=0.54-0.97), but p53 Arg72Pro had no influence on the susceptibility to ESCC. Stratified by p53 Arg72Pro genotype, 53BP1 T885G G/G genotype reduced the susceptibility to GCA among the individuals with Pro allele (Arg/Pro and Pro/Pro genotypes) (adjusted OR=0.74, 95% CI=0.57-0.95). CONCLUSION: 53BP1 T885G may not be correlated to the susceptibility to ESCC and GCA in the high incidence area of Hebei Province in China; p53 Arg72Pro Pro/Pro genotype could decrease the susceptibility to GCA; 53BP1 T885G G/G genotype could reduce the susceptibility to GCA among the individuals with p53 Pro allele.

KEYWORDS: Esophageal neoplasm, squamous cell carcinoma; Gastric neoplasm, adenocarcinoma; 53BP1; Polymorphism; Susceptibility

【摘要】背景与目的:p53结合蛋白1(53BP1)可通过增强p53的转录活性,而在肿瘤抑制方面发挥重要作用。在53BP1的启动子区-885 bp处存在着T到G的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)。本实验探讨53BP1 T885G基因多态性以及p53 Arg72Pro的多态性与中国河北高发区人群食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)和贲门腺癌(gastric cardiac

adenocarcinoma, GCA) 遗传易感性的关系。方法:应用引物引入限制性内切酶分析-聚合酶链反应 (primer-introduced restriction analysis-polymerase chain reaction, PIRA-PCR) 方法, 分析 624 例患者 (其中 ESCC 349 例, GCA 275 例) 和 635 例健康对照者的 53BP1 T885G 和 p53 Arg72Pro 的基因型。结果:53BP1 T885G 基因型分布在总体 ESCC、GCA 病例组与健康对照组间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。根据吸烟状况和上消化道肿瘤 (upper gastrointestinal cancer, UGIC) 家族史分层分析显示, T885G 基因型分布在病例组与健康对照组差异亦无统计学意义 ($P>0.05$)。与 Arg/Arg 基因型相比, 携带 p53 Arg72Pro Pro/Pro 基因型可降低总体 GCA 的发病风险, 经性别、年龄、吸烟状况和 UGIC 家族史多因素校正后的 OR 值为 0.79 (95% CI=0.64~0.98); 分层分析显示 Pro/Pro 基因型主要降低非吸烟组 GCA 的发病风险, 校正后的 OR 值为 0.72 (95% CI=0.54~0.97)。未发现 p53 Arg72Pro 对 ESCC 发病风险的影响。53BP1 T885G 和 p53 Arg72Pro 联合分析显示, 在携带 Pro 等位基因 (Arg/Pro+Pro/Pro 基因型) 者中, 同时携带 T885G 的 G/G 基因型可降低 GCA 的发病风险, 校正后的 OR 值为 0.74 (95% CI=0.57~0.95)。结论:53BP1 T885G 位点可能与中国河北高发区 ESCC、GCA 的遗传易感性无关, p53 Arg72Pro 的 Pro/Pro 基因型可降低高发区 GCA 的发病风险, 同时携带 Pro 等位基因 (Arg/Pro+Pro/Pro 基因型) 和 53BP1 T885G 的 G/G 基因型可降低高发区 GCA 的发病风险。

关键词:食管肿瘤; 贲门肿瘤; 鳞状细胞癌; 腺细胞癌; P53 结合蛋白 1; 多态性; 易感性

中图分类号:R730.231 文献标识码:A

文章编号:1000-467X(2007)10-1052-06

p53 结合蛋白 1 (53BP1) 是进化保守的 DNA 检测点蛋白家族成员之一。目前发现 53BP1 存在一个 Tudor 结构域和两个 BRCT 结构域。首先, 当 DNA 发生损伤时, 53BP1 通过其 Tudor 结构域与 H3 组蛋白甲基化的 79 赖氨酸相互作用迅速聚集到 DNA 双链断裂处, 活化毛细血管扩张共济失调症突变蛋白 (ataxia-telangiectasia mutated, ATM)^[1]。其次, 它还可通过其羧基末端第一个 BRCT 结构域以及 BRCT 结构域之间的区域与 p53 序列特异的 DNA 结合核心区结合, 增强 p53 介导的转录激活并导致 p53 依赖蛋白的表达增加, 如 p21^{cip1/waf1} 等。因此, 53BP1 的基因多态性可能与肿瘤的易感性相关。在 53BP1 的启动子区-885 bp 处存在着 T 到 G 的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP)^[2], 推测可能会通过影响 53BP1 的转录活性改变其与 p53 的结合能力, 进而影响 p53 在肿瘤中的作用。本研究探讨 53BP1 T885G 以及 p53 常

见的多态性位点 Arg72Pro 与中国河北食管鳞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 和贲门腺癌 (gastric cardiac adenocarcinoma, GCA) 高发区人群遗传易感性的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

349 例 ESCC 和 275 例 GCA 为 2001~2005 年在河北医科大学第四医院或磁县、涉县肿瘤医院经胃镜活检或手术治疗确诊的病例, 均为来自磁县、涉县的北方籍汉族患者。635 例健康对照为同时期磁县、涉县内镜筛查中的未发现肿瘤及癌前病变、无其他肿瘤病史和遗传病史的血缘无关个体。吸烟者定义为既往或目前每天吸烟 5 支以上, 并持续 2 年或 2 年以上者。上消化道肿瘤 (upper gastrointestinal cancer, UGIC) 家族史定义为家族中有 1 名以上一级亲属或 2 名以上二级亲属患有食管癌/贲门癌/胃癌者。

1.2 标本采集及 DNA 提取

抽取外周静脉血 5 ml, 枸橼酸钠抗凝, 经蛋白酶 K 消化-饱和氯化钠盐析法提取外周血白细胞中的 DNA。

1.3 引物引入限制性内切酶分析-聚合酶链反应 (primer-introduced restriction analysis-polymerase chain reaction, PIRA-PCR) 方法检测 53BP1 基因多态性

应用 PIRA-PCR 法检测 53BP1 T885G 和 p53Arg72Pro 的基因型, 引物设计时将 T885G 上游引物 3' 端第 2 个碱基由 A 变成 C, 制造一个 *Msp* I 的酶切位点; 将 p53Arg72Pro 上游引物 3' 端第 2 个碱基由 C 变成 A, 从而制造一个 *Mlu* I 的酶切位点。二者 PCR 反应体系均为 20 μ l, 其中含模板 DNA 100 ng, 10 \times DNA 聚合酶缓冲液 2.0 μ l, 10 mmol/L dNTPs 0.5 μ l, *Taq* DNA 聚合酶 (赛百胜公司) 2.5 U, 5 μ mol/L 上游引物 (T885G 5'-GAACGCCATGGAGTGTGCCG-3', Arg72Pro 5'-CCAGAATGCCAGAGGCTGCTCCAC-3')、下游引物 (T885G 5'-TGCACCTCCTGAGATCTGCC-3', Arg72Pro 5'-CTCAGGGCAACTGACCGTGCAAGTC-3') 各 1 μ l, 25 mmol/L MgCl₂ 1.25 μ l, 余下体积用 ddH₂O 补齐。53BP1 T885G PCR 反应条件均为: 94°C 5 min, 然后经 35 个扩增循环, 包括 94°C 30 s, 56°C 30 s (Arg72Pro 68°C), 72°C 30 s, 之后 72°C 延伸 5 min。53BP1 T885G 和 p53 Arg72Pro 的 PCR

产物分别为 115 bp 和 200 bp, 分别经限制性内切酶 *Msp* I (赛百胜公司) 和 *Mlu* I (大连宝生物公司) 在 37℃ 条件下消化 16 h 后, 经 4% 琼脂糖凝胶电泳分析基因型。每一批 PCR 反应均以 ddH₂O 替代 DNA 模板作为阴性对照, 每一批酶切反应均以 T885G 下纯 (G/G) 和 Arg72Pro 下纯 (Arg/Arg) 作为阳性对照以保证实验质量。其中 10% 的 DNA 样本进行二次分型, 以明确分型的可靠性。

1.4 统计学分析

53BP1 T885G 和 p53 Arg72Pro 基因型在病例组与对照组中的分布情况采用行×列表卡方检验。以非条件 Logistic 回归模型计算表示相对风险度的比值比 (odds ratio, OR) 及其 95% 可信区间 (confidence interval, CI), 并经性别、年龄、吸烟状况和是否具有家族史多因素校正, $P < 0.05$ 认为有

统计学意义。数据统计分析采用 SPSS 11.5 软件包进行。

2 结 果

2.1 研究对象的一般特征

ESCC 患者组年龄 32~85 岁, 中位年龄 60 岁; GCA 患者组年龄 26~77 岁, 中位年龄 60 岁; 健康对照组年龄 22~80 岁, 中位年龄 59 岁。三组间的性别和吸烟人数构成差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 而 UGIC 阳性家族史在 ESCC、GCA 中的比例 (47.3% 和 46.2%) 明显高于健康对照组 (34.6%)。因此, UGIC 家族史可显著增加河北高发区人群 ESCC、GCA 的发病风险, 经性别、年龄和吸烟状况校正后的 OR 值分别为 1.69 (95% CI=1.30~2.21) 和 1.62 (95% CI=1.21~2.16) (表 1)。

表 1 ESCC、GCA 患者和健康对照组的一般特征与 53BP1 SNP 分布

Table 1 Demographic characteristics and single nucleotide polymorphism (SNP) distribution of 53BP1 in 349 ESCC patients, 275 GCA patients and 635 healthy controls [cases (%)]

Group	Controls	ESCC	<i>P</i> value ^a	GCA	<i>P</i> value ^a
Sex					
Male	409(64.4)	234(67.0)		182(66.2)	
Female	226(35.6)	115(33.0)	0.41	93(33.8)	0.61
Median age (range)	59(22~89)	60(32~85)	0.08 ^b	60(21~77)	0.06 ^b
Smoking status					
Ex-or current smokers	273(43.0)	140(40.1)		132(48.0)	
Non-smokers	362(57.0)	209(59.9)	0.38	143(52.0)	0.16
Family history of UGIC					
Positive	220(34.6)	165(47.3)		127(46.2)	
Negative	415(65.4)	184(52.7)	0.00 ^c	148(53.8)	0.00 ^d
53BP1 T885G					
T/T	168(26.5)	87(24.9)		87(31.6)	
T/G	305(48.0)	184(52.7)		127(46.2)	
G/G	162(25.5)	78(22.4)	0.35	61(22.2)	0.24

ESCC, esophageal squamous cell carcinoma; GCA, gastric cardiac adenocarcinoma; UGIC, upper gastrointestinal cancer. ^a*P* value for Chi-square test; ^b*P* value for *t* test; ^cage, sex, and smoking status adjusted odds ratio (OR)=1.69, 95% confidence interval (CI)=1.30~2.21; ^dage, sex, and smoking status adjusted OR=1.62, 95% CI=1.21~2.16.

2.2 53BP1 和 p53 基因多态性

所有 DNA 样本经 PIRA-PCR 方法成功进行了 53BP1 T885G 和 p53Arg72Pro 基因型分析, 所有重复分型结果均与原结果相符。当存在 G 等位基因时, 53BP1 T885G 位点可被 *Msp* I 识别, 消化后产生 97 bp 和 18 bp 两种产物; 而 T 等位基因存在时, *Msp* I 限制性酶切位点消失, 经其消化后产物仍为 115 bp。因此 T/T、T/G 和 G/G 基因型经 *Msp* I 内切酶消化后产物分别为 115 bp; 115 bp+97 bp+18 bp; 97 bp+18 bp (图 1)。*Mlu* I 可识别 p53 Arg72Pro 的 Arg 等位基因而不识别 Pro 位点, 因此 C/C、C/G

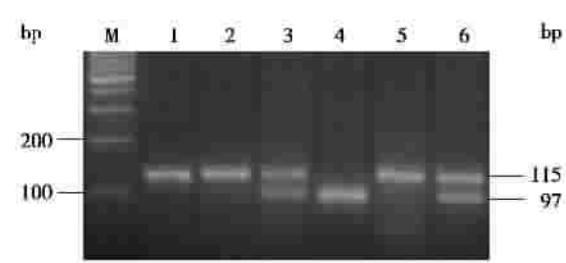


图 1 PCR-*Msp* I 酶切的 53BP1 T885G 基因分型

Figure 1 53BP1 T885G genotyping by polymerase chain reaction (PCR) with *Msp* I digestion

Lane M: 100 bp DNA marker; lane 1: PCR product; lanes 2 and 5: T/T homozygous genotype; lanes 3 and 6: T/G heterozygous genotype; lane 4: G/G homozygous genotype.

和 G/G 基因型经 *Mlu* I 消化后产物分别为 200 bp、200 bp+177 bp+23 bp、177 bp+23 bp(图 2)。

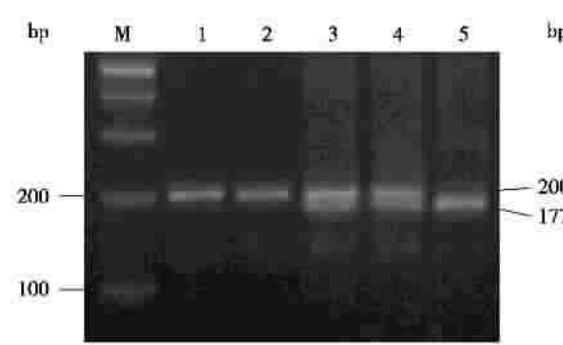


图 2 PCR-*Mlu* I 酶切的 p53 Arg72Pro 基因分型
Figure 2 p53 Arg72Pro genotyping by PCR with *Mlu* I digestion

Lane M: 100 bp DNA marker; lane 1: PCR product; lane 2: Pro/Pro homozygous genotype; lanes 3 and 4: Arg/Pro heterozygous genotype; lane 5: Arg/Arg homozygous genotype.

2.3 53BP1 和 p53 基因多态性与 ESCC、GCA 的关系

53BP1 和 p53 基因多态性位点在健康对照组的基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($P > 0.05$)。53BP1 T885G ESCC 组的 T/T、T/G 和 G/G 基因型频率分别为 24.9%、52.7%、22.3%，GCA 组分别为 31.6%、46.2%、22.2%，高发区健康对照组分别为 26.5%、48.0%、25.4%，总体分布差异均无

统计学意义 ($P > 0.05$)。

在本实验所抽样的健康对照人群中, 53BP1 T885G 的 T/T 基因型和 p53 Arg72Pro 的 Arg/Arg 基因型所占的比例较高, 故以其作为参照, 分别计算其它基因型患 ESCC、GCA 的相对风险度。

如表 2 所示, 与 T/T 纯合子携带者相比, 携带 T/G 杂合子者和携带 G/G 纯合子者患 ESCC 的 OR 值经性别、年龄、吸烟状况和 UGIC 家族史多因素校正后分别为 1.09 (95% CI=0.79~1.51) 和 0.94 (95% CI=0.77~1.14); 患 GCA 校正后的 OR 值分别为 0.76 (95% CI=0.54~1.08) 和 0.84 (95% CI=0.69~1.04)。根据个体吸烟状况和 UGIC 家族史分层分析显示亦无统计学意义 ($P > 0.05$)。

如表 3 所示, 与 Arg/Arg 基因型相比, 携带 Pro/Pro 基因型患 ESCC、GCA 的 OR 值经多因素校正后分别为 0.90 (95% CI=0.74~1.10) 和 0.79 (95% CI=0.64~0.98)。根据个体吸烟状况和 UGIC 家族史分层分析, 在非吸烟组中携带 Pro/Pro 基因型患 ESCC、GCA 校正后的 OR 值分别为 0.90 (95% CI=0.69~1.18) 和 0.72 (95% CI=0.54~0.97)。

联合分析显示, 在携带 Pro 等位基因 (Arg/Pro+Pro/Pro) 组中, 53BP1 T885G G/G 基因型相对于 T/T 基因型患 ESCC、GCA 的 OR 值经多因素校正后分别为 0.94 (95% CI=0.74~1.18) 和 0.74 (95% CI=0.57~0.95) (表 4)。

表 2 53BP1 T885G 与 ESCC、GCA 发病风险的相关性分析

Table 2 Correlation of 53BP1 T885G to susceptibility to ESCC and GCA [cases (%)]

Group	T/T	T/G	G/G	OR (95% CI) ^a	OR (95% CI) ^b
Overall					
Controls	168(26.5)	305(48.0)	162(25.5)	1.00	1.00
ESCC	87(24.9)	184(52.7)	78(22.3)	1.09(0.79~1.51)	0.94(0.77~1.14)
GCA	87(31.6)	127(46.2)	61(22.2)	0.76(0.54~1.08)	0.84(0.69~1.04)
Smoker					
Controls	72(26.0)	127(46.5)	75(27.5)	1.00	1.00
ESCC	28(20.0)	84(60.0)	28(20.0)	1.57(0.93~2.66)	0.94(0.68~1.29)
GCA	38(28.8)	64(48.5)	30(22.7)	0.86(0.51~1.44)	0.85(0.63~1.16)
Non-smoker					
Controls	97(26.9)	177(49.0)	87(24.1)	1.00	1.00
ESCC	59(28.2)	100(47.8)	50(24.0)	0.89(0.56~1.31)	0.94(0.73~1.21)
GCA	49(34.3)	63(44.1)	31(21.6)	0.68(0.42~1.10)	0.83(0.62~1.11)
Positive family history of UGIC					
Controls	47(21.4)	113(51.4)	60(27.2)	1.00	1.00
ESCC	40(24.2)	89(53.9)	36(21.9)	0.93(0.56~1.54)	0.82(0.60~1.11)
GCA	38(29.9)	58(45.7)	31(24.4)	0.61(0.36~1.05)	0.79(0.58~1.07)
Negative family history of UGIC					
Controls	121(29.2)	192(46.3)	102(24.5)	1.00	1.00
ESCC	47(25.5)	95(51.6)	42(22.9)	1.21(0.79~1.87)	1.04(0.80~1.35)
GCA	49(33.1)	69(46.6)	30(20.3)	0.90(0.57~1.44)	0.90(0.68~1.20)

^aComparison between T/G genotype and T/T genotype; ^bcomparison between G/G genotype and T/T genotype.

表 3 p53 Arg 72 Pro 与 ESCC、GCA 发病风险的相关性分析

Table 3 Correlation of p53 Arg 72 Pro to susceptibility to ESCC and GCA [cases (%)]

Group	Pro/ Pro	Pro/ Arg	Arg/ Arg	OR(95% CI) ^a	OR(95% CI) ^b
Overall					
Controls	150(23.6)	315(49.6)	170(26.8)	1.00	1.00
ESCC	71(20.3)	188(53.9)	90(25.8)	1.07(0.78–1.47)	0.90(0.74–1.10)
GCA	48(17.5)	143(52.0)	84(30.5)	0.87(0.62–1.22)	0.79(0.64–0.98)
Smoker					
Controls	63(23.1)	130(47.6)	80(29.3)	1.00	1.00
ESCC	22(15.7)	79(56.4)	39(27.9)	1.27(0.79–2.06)	0.88(0.64–1.21)
GCA	21(15.9)	72(54.5)	39(29.5)	1.21(0.73–1.98)	0.90(0.65–1.25)
Non-smoker					
Controls	87(24.0)	185(51.1)	90(24.9)	1.00	1.00
ESCC	49(23.4)	109(52.2)	51(24.4)	0.95(0.62–1.48)	0.90(0.69–1.18)
GCA	27(18.9)	71(49.7)	45(31.5)	0.65(0.40–1.05)	0.72(0.54–0.97)
Positive family history of UGIC					
Controls	49(22.3)	116(52.7)	55(25.0)	1.00	1.00
ESCC	35(21.2)	87(52.7)	43(26.1)	0.96(0.59–1.57)	0.89(0.65–1.21)
GCA	24(18.9)	65(51.2)	38(29.9)	0.83(0.49–1.28)	0.83(0.60–1.15)
Negative family history of UGIC					
Controls	101(24.3)	199(48.0)	115(27.7)	1.00	1.00
ESCC	36(19.6)	101(54.9)	47(25.5)	1.16(0.75–1.78)	0.91(0.69–1.18)
GCA	24(16.2)	78(52.7)	46(31.1)	0.91(0.57–1.45)	0.77(0.57–1.03)

^aComparison between Pro/Arg genotype and Arg/Arg genotype; ^bcomparison between Pro/Pro genotype and Arg/Arg genotype.

表 4 53BP1 T885G 和 p53 Arg72Pro 与 ESCC、GCA 发病风险的相关性分析

Table 4 Correlations of 53BP1 T885G and p53 Arg72Pro to susceptibility to ESCC and GCA [cases (%)]

Genotype	Controls	ESCC	OR (95% CI) ^a	GCA	OR (95% CI) ^b
p53Arg/Arg					
T885G					
T/T	51(30)	25(27.8)	1.00	23(27.4)	1.00
T/G	75(44.1)	46(51.1)	1.22(0.66–2.28)	37(44.0)	1.01(0.52–1.94)
G/G	44(25.9)	19(21.1)	0.95(0.64–1.39)	24(28.6)	1.16(0.78–1.71)
p53Arg/Pro+Pro/Pro					
T885G					
T/T	117(25.2)	62(23.9)	1.00	64(33.5)	1.00
T/G	230(49.5)	138(53.3)	1.06(0.72–1.56)	90(47.1)	0.69(0.45–1.04)
G/G	118(25.3)	59(22.8)	0.94(0.74–1.18)	37(19.4)	0.74(0.57–0.95)

^aComparison between ESCC and controls; ^bcomparison between GCA and controls.

3 讨 论

在许多与 DNA 损伤应答和 DNA 修复过程相关的基因中都发现含有 BRCT 结构域。53BP1 具有 2 个串联的 BRCT 结构域, 提示它直接或间接参与 DNA 损伤应答。最初的研究认为, 53BP1 是 DNA 双链断裂应答的中介者, 但近来的研究表明, 当发生 DNA 双链断裂时, 53BP1 在 H3 组蛋白甲基化的 79 赖氨酸介导下最先聚集在断裂处, 活化 ATM 激活 DNA 修复基因, 引发一系列的 DNA 修复反应^[1]。53BP1 基因缺陷细胞经电离辐射后, 出

现轻微的 S 期检测点缺陷和 G₂/M 期的延长。动物实验显示, 敲除 53BP1 基因的小鼠发育迟缓、免疫缺陷、对放射线敏感性增强和肿瘤发生率增高^[3]。由此可见 53BP1 在 DNA 双链断裂应答和肿瘤抑制方面发挥一定作用。此外, 53BP1 还可与 p53 相结合增强 p53 介导的转录激活。二者的基因多态性是否可以相互影响而改变其在肿瘤中的作用呢? 本研究选取 53BP1 启动子区 T885G 多态位点, 和在多种肿瘤中都发挥重要作用的 p53 Arg72Pro 位点, 探讨二者在中国河北高发区人群 ESCC 和 GCA 中的相关作用。

中国河北的磁县和涉县是食管癌、贲门癌的高发区,其发病具有明显的家族聚集性,本研究也显示了这一点。但是暴露在同样的环境因素下并不是所有的人都患病,说明遗传因素在肿瘤的形成中起着一定的作用,个体之间存在着遗传易感性的差异。

Ma 等^[2]的研究显示,53BP1 T885G 可分别增加中国人群孕激素受体阴性患者和雌激素受体阴性患者乳腺癌的发病风险。本研究结果显示 53BP1 T885G 位点可能与中国河北高发区人群 ESCC 和 GCA 的遗传易感性无关。说明该位点在不同肿瘤中发挥的作用不同。此外,本研究显示 T885G T/T、T/G 和 G/G 基因型频率分别为 26.5%、48.0%、25.5%,这与 Ma 等^[2]以南京及周边地区居民为研究对象所得出的结果存在差异。说明 53BP1 基因多态性的分布存在着地域差异,虽为同一种族人群,但是由于地域差异,同一 SNP 所起的作用也可能不同。

对 p53Arg72Pro 位点与 ESCC 和 GCA 的研究报道也因研究对象的不同而得出不同的结论。有研究报道 p53 Arg72Pro 位点 Pro/Pro 基因型可增加中国北方人群 ESCC 和肺癌的发病风险^[4];Arg/Arg 基因型可增加中国新疆地区哈萨克人群 HPV 相关食管鳞癌的发病风险^[5]。而本研究未发现该位点与中国河北高发区人群 ESCC 相关。而就该位点与胃癌的相关性研究有报道称 Pro/Pro 基因型可增加韩国人群胃癌的发病风险^[6];Arg/Arg 基因型可增加墨西哥人群患远端胃癌的发病风险^[7]。本研究结果表明,与 Arg/Arg 基因型相比,Pro/Pro 基因型可降低中国河北高发区人群 GCA 的发病风险,这与 Shen 等^[8]得出携带 Arg 等位基因(Arg/Pro+Arg/Arg) 可增加中国汉族人群胃癌的发病风险的结论类似,但该位点是否存在剂量效应还需要进一步验证。

虽然 53BP1 T885G 可能不单独影响 ESCC 和 GCA 的发病风险,但将其与 p53 Arg72Pro 联合分析显示,在携带 Pro 等位基因(Arg/Pro+Pro/Pro) 组中,T885G 的 G/G 基因型可降低 GCA 的发病风险而不影响 ESCC 的发病。说明 53BP1 T885G 可能与 p53 Arg72Pro 相互作用来影响肿瘤的发生,但其机制还有待进一步研究,同时也说明 ESCC 和 GCA 可能存在着不同的发病机制,这也与我们以往的研究报道^[9]一致。

本实验采用的是基于人群的病例对照研究,因而研究对象的地域代表性更强。但肿瘤是由多基因、多因素造成的复杂性疾病,单个基因的单个 SNP 远远不能说明问题。随着生物技术的发展,越来越多的 SNP 将会被发现,因此有必要继续对 53BP1 SNP 进行研究,选择多个 SNP 联合分析其与不同种族、不同地区人群、不同肿瘤的相关性,并加入多个候选基因分析基因之间的相互作用关系。并且为了避免选择性偏倚,还需扩大样本量做进一步验证。

总之,本研究结果显示,53BP1 T885G 可能与中国河北高发区人群的 ESCC 和 GCA 发病风险无关;p53Arg72Pro Pro/Pro 基因型可降低中国河北高发区人群 GCA 的发病风险;同时携带 p53 Pro 等位基因和 53BP1 T885G 的 G/G 基因型,可降低中国河北高发区人群 GCA 的发病风险。

[参 考 文 献]

- [1] Huyen Y, Zqheib O, Ditullio R A Jr, et al. Methylated lysine 79 of histone H3 targets 53BP1 to DNA double-strand breaks [J]. *Nature*, 2004, 432(7015):406-411.
- [2] Ma H, Hu Z, Zhai X, et al. Joint effects of single nucleotide polymorphisms in P53BP1 and p53 on breast cancer risk in a Chinese population [J]. *Carcinogenesis*, 2006, 27(4):766-771.
- [3] Ward I M, Minn K, van Deursen J, et al. p53 binding protein 53BP1 is required for DNA damage responses and tumor suppression in mice [J]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23(7): 2556-2563.
- [4] 张健慧,李琰,王瑞,等.中国人食管癌及肺癌发病风险与 p53 基因多态性 [J].中华肿瘤杂志,2003,25(4):365-367.
- [5] Lu X M, Zhang Y M, Lin R Y, et al. p53 polymorphism in human papillomavirus-associated Kazakh's esophageal cancer in Xinjiang, China [J]. *World J Gastroenterol*, 2004, 10(19): 2775-2778.
- [6] Chung W C, Lee K M, Lee B I, et al. P53 genetic polymorphism of gastric cancer in Korea [J]. *Korean J Intern Med*, 2006, 21(1): 28-32.
- [7] Perez-Perez G I, Bosques-Padilla F J, Crosatti M L, et al. Role of p53 codon 72 polymorphism in the risk of development of distal gastric cancer [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2005, 40(1):56-60.
- [8] Shen H, Solari A, Wang X, et al. P53 codon 72 polymorphism and risk of gastric cancer in a Chinese population [J]. *Oncol Res*, 2004, 11(5): 1115-1120.
- [9] 张秀凤,王益民,王瑞,等. E-钙粘蛋白基因多态性与食管鳞癌、贲门癌的关系 [J]. 癌症, 2005, 24(5):513-519.

[编辑:何华;校对:庄爱华]