

miR-155 侧翼序列 rs767649A/T 多态性与结直肠癌的相关性分析

Association between rs767649A/T Polymorphism in the Flanking Region of MiR-155 and Risk of Colorectal Cancer // PAN Ding-guo, LI Yun-feng

潘定国, 李云峰

(昆明医科大学第三附属医院, 云南省肿瘤医院, 云南 昆明 650118)

摘要: [目的] 分析 miR-155 侧翼序列 rs767649A/T 多态性与结直肠癌的相关性。[方法] 收集 154 例结直肠癌和 203 名健康对照人群外周静脉血样本, TaqMan 探针法分析 rs767649A/T 多态性。[结果] TT 基因型显著增加了结直肠癌的发病风险 (TT 与 AA 相比; OR=2.11, 95%CI: 1.12~3.98, $P=0.02$; TT 与 AA/AT 相比; OR=1.92, 95%CI: 1.09~3.38, $P=0.02$)。与 A 等位基因对比, T 等位基因显著增加了结直肠癌的发病风险 (OR=1.40, 95%CI: 1.04~1.90, $P=0.03$)。分层分析显示, rs767649A/T 多态性与结直肠癌临床分期、分化程度和淋巴结转移等临床特征均无关。[结论] miR-155 侧翼序列 rs767649A/T 多态性可能是结直肠癌发病的危险因素。

关键词: miR-155; 单核苷酸多态性; 结直肠肿瘤

中图分类号: R735.3^{*4} **文献标识码:** B **文章编号:** 1671-170X(2018)12-1227-03

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2018.12.B018

结直肠癌是我国常见的恶性肿瘤, 发病率和死亡率分别位居恶性肿瘤的第 4 和第 5 位。2013 年, 我国新发病例 34.8 万, 死亡病例 16.5 万^[1]。结直肠癌是基因-环境等多因素长期作用的结果, 目前, 其病因及发病机制尚未完全阐明。微小 RNA(miRNA) 的发现为其机制研究提供了新的方向。miRNA 是一类长约 18~24 核苷酸的非编码 RNA, 通过与靶基因 3' 非翻译区结合, 参与转录后基因表达调控, 介导细胞增殖、代谢、发育和分化等。单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 可能影响基因转录和/或蛋白表达, 从而影响个体对疾病的易感性。近年来, 大量研究集中在 miRNA 相关的 SNP^[2-6], 例如, 位于 miR-155 上游-1570bp 的 rs767649 与肺癌、肝癌和宫颈癌的发病和预后相关^[4-6]。目前该多态性与结直肠癌的相关性研究少见报道。本研究探讨 rs767649 多态性与中国汉族人群结直肠癌易感性的关系, 以期在为明确结直肠癌的病因提供流行病学证据。

1 材料与方法

1.1 研究对象

收集 154 例结直肠癌患者作为病例组, 203 名体检健康人群作为对照组。病例组样本均来自我院结直肠外科, 并经组织病理学确诊。男性和女性分别为 104 例和 50 例, 平均年龄 58.3 ± 13.1 岁; I~II 期 72 例, III~IV 期 82 例; 高分化癌 111 例, 中低分化癌 43 例; 有淋巴结转移 59 例, 无淋巴结转移 95 例。对照组平均年龄 57.3 ± 10.3 岁, 其中男性 142 名, 女性 61 名, 无肿瘤家族史及肠道炎症性疾病。所有样本均为无血缘关系的汉族个体。病例组和对照组年龄 ($t=0.77, P=0.44$)、性别 ($\chi^2=0.24, P=0.63$) 分布差异均无统计学意义。

1.2 DNA 提取及基因分型

收集研究对象外周静脉抗凝血标本 2~3ml。采用试剂盒方法提取全血基因组 DNA (百泰克, 北京, 中国)。TaqMan 探针法分析 rs767649 基因型。PCR 扩增体系如下: 2×反应混合物 2.5μl, 上、下游引物各 0.25μl, 探针 0.125μl, 基因组 DNA 10ng, 无菌双蒸水补足 5μl。PCR 反应条件: 95℃ 10min; 95℃ 15s, 60℃ 60s, 45 个循环。反应结束后, 仪器自动读取荧光

通讯作者: 潘定国, 主治医师, 硕士; 昆明医科大学第三附属医院结直肠外科, 云南省昆明市西山区昆州路 519 号 (650118), E-mail: 149355912@qq.com

收稿日期: 2017-07-21; **修回日期:** 2017-11-16

光信号,获得分型结果。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计学软件分析数据。病例组和对照组性别比较采用 χ^2 检验, 年龄比较采用 t 检验。采用卡方检验分析哈迪-温伯格平衡, Logistic 回归计算优势比(OR)和 95% 置信区间(CI)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

两组 rs767649 基因型分布符合哈迪-温伯格平衡($P=0.31, 0.61$)。rs767649 多态性与结直肠癌的关系见 Table 1。病例组 rs767649 AA、AT 和 TT 基因型频率分别为 32.5%、45.5% 和 22.1%; 对照组 AA、AT 和 TT 基因型频率分别为 38.9%、48.3% 和 12.8%。校正性别和年龄后, 与 AA 基因型相比, TT 基因型显著增加了结直肠癌的发病风险(OR=2.11, 95%CI: 1.12~3.98, $P=0.02$)。隐性模型: TT 基因型显著增加了结直肠癌的发病风险(OR=1.92, 95%CI: 1.09~3.38, $P=0.02$)。等位基因对比, T 等位基因显著增加了结直肠癌的发病风险(OR=1.40, 95%CI: 1.04~1.90, $P=0.03$)。分层分析显示, rs767649 多态性与结直肠癌临床分期、分化程度和淋巴结转移状态等临床特征无关(Table 2)。

3 讨论

MiR-155 是进化上高度保守的 miRNA, 主要表达于胸腺和脾脏, 由活化蛋白-1 和核因子 κ B 复合体调控, 通过与多个靶基因结合, 参与多种疾病的发生发展, 包括肿瘤、心血管系统疾病和炎症性疾病等^[7,8]。多项研究证实, miR-155 在结直肠癌中高表达, 不仅可促进细胞增殖、侵袭和迁移等^[9-11], 具有类似于癌基因的作用; 而且有望作为结直肠癌的无创性诊断和预后判断指标^[12]。鉴于 miR-155 在结直肠癌中的重要作用, 有必要从不同层面探讨两者的关系, 为阐明 miR-155 的作用机理奠定基础。

最近研究显示, 位于 miR-155 上游的 rs767649A/T 遗传变异可能影响了其与核因子 κ B

Table 1 Association between rs767649 in the flanking region of miR-155 and risk of colorectal cancer

Polymorphism	Controls (%)	Cases (%)	Adjusted OR (95 % CI)	Adjusted P value
Genotype				
AA	79 (38.9)	50 (32.5)	1.0	
AT	98 (48.3)	70 (45.5)	1.14 (0.71~1.83)	0.59
TT	26 (12.8)	34 (22.1)	2.11 (1.12~3.98)	0.02
Dominant model				
AA	79 (38.9)	50 (32.5)	1.0	
AT/TT	124 (61.1)	104 (67.5)	1.37 (0.88~2.14)	0.16
Recessive model				
AA/AT	177 (87.2)	120 (77.9)	1.0	
TT	26 (12.8)	34 (22.1)	1.92 (1.09~3.38)	0.02
Allele				
A	256 (63.1)	170 (55.2)	1.0	
T	150 (36.9)	138 (44.8)	1.40 (1.04~1.90)	0.03

Table 2 Association between rs767649 in the flanking region of miR-155 and clinical characteristics of colorectal cancer

Index	AA	AT/TT	Adjusted OR (95%CI)	Adjusted P value
Clinical stages				
I ~ II	21 (29.2)	51 (70.8)	1.0	
III ~ IV	29 (35.4)	53 (64.6)	0.67 (0.33~1.37)	0.28
Differentiation				
High	32 (28.8)	79 (71.2)	1.0	
Low	18 (41.9)	25 (58.1)	0.57 (0.27~1.21)	0.15
Lymph node metastasis				
Yes	19 (32.2)	40 (67.8)	1.0	
No	31 (32.6)	64 (67.4)	1.07 (0.52~2.22)	0.85

的结合亲和力^[4,13]。与 T 等位基因相比, A 等位基因的转录活性明显增加^[6]。Xie 等^[4]调查了 rs767649 多态性在 1341 例肺癌患者和 1982 例对照人群中分布, 发现 TT 基因型在肺癌患者的频率明显高于对照组, 并且预示较短的生存期。Ji 等^[5]报道 rs767649TT 基因型显著增加了肝癌的发病风险, 在肝癌和癌旁组织中, TT 基因型携带者对应的 miR-155 表达量均明显升高。以上研究结果提示, rs767649A/T 是一个功能性多态位点。

本研究调查了 rs767649A/T 多态性在 154 例中国汉族结直肠癌和 203 名健康对照人群中的分布, 发现 TT 基因型显著增加了结直肠癌发病风险。本研究结果与肺癌和肝癌中的研究结果类似^[4,5], 推测其可能机制是 TT 基因型引起具有癌基因作用的 miR-155 表达量增加, 进而使得个体对结直肠癌易感。相反, 与本研究结果不同的是, Wang 等^[6]报道

TT 基因型携带者宫颈癌的发病风险降低了 0.67 倍 (95%CI:0.51~0.87)。结果不一致的可能原因如下: (1)肿瘤类型不一致;(2)样本量含量不同;(3)环境因素可能参与其中。大样本、基因-环境相互作用的验证性研究有助于明确其真正原因。

综上所述,本研究探讨了 miR-155 侧翼序列调节区 rs767649 多态性与中国汉族人群结直肠癌易感性的关联,发现 TT 基因型和 T 等位基因显著增加了结直肠癌的发病风险。尚应考虑到,结直肠癌是多因素共同作用的结果,miR-155 rs767649 多态性仅是其易感因素之一,其它易感基因和环境因素亦参与其发病,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Chen WQ,Zheng RT,Zhang SW,et al. Report of cancer incidence and mortality in China [J]. China Cancer,2017,26(1):1-8.[陈万青,郑荣寿,张思维,等. 2013 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤,2017,26(1):1-8.]
- [2] Yuan F,Sun R,Li L,et al. A functional variant rs353292 in the flanking region of miR-143/145 contributes to the risk of colorectal cancer[J]. Sci Rep,2016,6:30195.
- [3] Sun R,Chen P,Li L,et al. A polymorphism rs4705341 in the flanking region of miR-143/145 predicts risk and prognosis of colorectal cancer[J]. Oncotarget,2016,7(38):62084-62090.
- [4] Xie K,Ma H,Liang C,et al. A functional variant in miR-155 regulation region contributes to lung cancer risk and survival[J]. Oncotarget,2015,6(40):42781-42792.
- [5] Ji J,Xu M,Tu J,et al. MiR-155 and its functional variant rs767649 contribute to the susceptibility and survival of hepatocellular carcinoma [J]. Oncotarget,2016,7(37):60303-60309.
- [6] Wang S,Cao X,Ding B,et al. The rs767649 polymorphism in the promoter of miR-155 contributes to the decreased risk for cervical cancer in a Chinese population [J]. Gene,2016,595(1):109-114.
- [7] Faraoni I,Antonetti FR,Cardone J,et al. miR-155 gene:a typical multifunctional microRNA [J]. Biochim Biophys Acta,2009,1792(6):497-505.
- [8] Thai TH,Calado DP,Casola S,et al. Regulation of the germinal center response by microRNA-155 [J]. Science,2007,316(5824):604-608.
- [9] Al-Haidari AA,Syk I,Thorlacius H. MiR-155-5p positively regulates CCL17-induced colon cancer cell migration by targeting RhoA[J]. Oncotarget,2017,8(9):14887-14896.
- [10] Qu YL,Wang HF,Sun ZQ,et al. Up-regulated miR-155-5p promotes cell proliferation,invasion and metastasis in colorectal carcinoma[J]. Int J Clin Exp Pathol,2015,8(6):6988-6994.
- [11] Zhang GJ,Xiao HX,Tian HP,et al. Upregulation of microRNA-155 promotes the migration and invasion of colorectal cancer cells through the regulation of claudin-1 expression[J]. Int J Mol Med,2013,31(6):1375-1380.
- [12] Lv ZC,Fan YS,Chen HB,et al. Investigation of microRNA-155 as a serum diagnostic and prognostic biomarker for colorectal cancer[J]. Tumour Biol,2015,36(3):1619-1625.
- [13] Karczewski KJ,Tatonetti NP,Landt SG,et al. Cooperative transcription factor associations discovered using regulatory variation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2011,108(32):13353-13358.

《肿瘤学杂志》关于“在线优先出版”的通告

为了加快学术论文传播速度,缩短出版周期,使作者研究成果的首发权及时得到确认,《肿瘤学杂志》自 2016 年实行“在线优先出版”,经同行评议通过采用的稿件,经编辑部加工处理后在中国知网(CNKI)实行电子版在线优先出版。具体如下:

(1)在线投稿接收之后,编辑部核实文稿的题目、作者、单位等版权作息,作者提供相关信息,供在线出版使用。此信息为文稿最终确认的出版信息,此后作者不再予以更改。

(2)在线出版的 PDF 全文是经作者最终校对的修改定稿。待编辑部完成整个校对流程后替换为正式出版稿,同时给出完整的发表年份、卷、期、起止页码和唯一的文献识别 DOI 号码。

(3)在线出版的文献是《肿瘤学杂志》印刷版本的在线优先网络版,完全满足国内外学术交流的在线检索和引用。