

RUNX3基因rs760805多态性与胃癌的关系

鞠亚菲¹ 隋华箐² 宋明全² 姜相君²

1. 青岛大学医学院, 山东 青岛 266000;
2. 青岛大学医学院附属青岛市市立医院, 山东 青岛 266000

[摘要] **背景与目的:** 人类Runt相关转录因子3(runt-related transcription factor 3, RUNX3)基因与胃癌发生、发展有着极其密切的关系, rs760805 AA基因型与胃癌的发病有关。本研究拟初步探讨RUNX3基因rs760805多态性与中国汉族人群胃癌发病风险的关系。**方法:** 以DNA直接测序法判定310例胃癌患者(胃癌组)和327例健康对照者(对照组)的RUNX3 rs760805的基因型, 分析rs760805基因型与胃癌发病风险之间的关系。**结果:** 胃癌组与对照组的RUNX3 rs760805基因型分布频率差异有统计学意义($P < 0.05$)。与TT基因型相比, 携带AA基因型能显著增加胃癌的发病风险(AA: $OR=1.83$, 95% CI : 1.15~2.92, AT: $OR=1.24$, 95% CI : 0.81~1.92)。**结论:** RUNX3 rs760805 AA基因型与中国汉族人群的胃癌发病有关。

[关键词] RUNX3基因; 基因多态性; 胃癌

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2013.09.003

中图分类号: R735.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2013)09-0709-04

Relationship between the rs760805 polymorphism of the RUNX3 gene and susceptibility to gastric cancer JU Ya-fei¹, SUI Jian-qing², SONG Ming-quan², JIANG Xiang-jun (Municipal Hospital Affiliated to Qingdao University Medical College, Qingdao Shandong 266000, China)

Correspondence to: JIANG Xiang-jun E-mail: drjxj@163.com

[Abstract] **Background and purpose:** Runt-related transcription factor 3 (RUNX3) has a significant relation with gastric cancer. Many researches have confirmed that rs760805 AA can increase the risk of gastric cancer. The purpose of the study was to investigate the relationship between the rs760805 polymorphism of the RUNX3 gene and gastric cancer. **Methods:** The rs760805 genotypes were determined by PCR-based DNA sequence measuring analysis and direct DNA sequencing in 310 incident cases with gastric cancer and 327 controls recruited in Shandong. **Results:** The frequency of TT genotype was 15.16% in gastric cancer patients and 20.49% in normal controls, and the corresponding percentages for AT and AA genotypes were 48.39% and 36.45%, and 52.60% and 26.91%, respectively. Compared to TT genotype, AT genotypes were associated with an increased risk of gastric cancer ($OR=1.24$, 95% CI : 0.81-1.92; $OR=1.83$, 95% CI : 1.15-2.92). **Conclusion:** The rs760805 polymorphism of the RUNX3 gene is associated with increased susceptibility to gastric cancer.

[Key words] Runt-related transcription factor 3 gene; Gene polymorphism; Gastric cancer

胃癌是严重威胁人类健康的消化道肿瘤, 其发病的地域特征明显, 以东亚、东欧和南美最高, 其中中国占全球发病总数的42%^[1]。江苏、浙江、山东、上海、辽宁及福建等地区为胃癌高发区^[2]。我国胃癌的发病年龄还呈现出年轻化趋势, 以往以40~60岁居多, 现在

则以35~55岁居多, 19~35岁发病率也明显上升^[3]。单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是人类基因组DNA序列可遗传变异的主要形式, 是决定人类疾病易感性的核心信息, RUNX3基因与胃癌的发生、发展有极其密切的关系, 其基因多态性与部分肿瘤发生有

关^[4]。本研究拟通过大宗病例, 初步探讨人类Runt相关转录因子3(runt-related transcription factor 3, RUNX3)基因rs760805多态性与中国汉族人群胃癌发病风险的关系。

1 材料和方法

1.1 临床资料

从2011年3月—2013年4月在青岛大学医学院附属青岛市市立医院住院的胃癌患者中选择无血缘关系的汉族患者310例(胃癌组), 抽取外周血。胃癌患者全部经胃镜或手术后病理组织学证实, 且未接受放化疗。其中男性206例, 女性104例, 平均年龄 56.4 ± 13.1 岁。另从青岛市市立医院体检中心收集健康汉族个体327人外周血作为对照(对照组), 所有对照组人员均排除胃部疾病及家族中有肿瘤病史者, 其中男性219人, 女性108人, 平均年龄 56.4 ± 14.6 岁。标本采集获得研究对象的知情同意, 研究方案经青岛大学医学伦理委员会批准。

1.2 实验方法

1.2.1 主要仪器和试剂

主要仪器和试剂包括Platinum®Taq DNA聚合酶、ABI9700 PCR仪、3730XL型DNA测序仪。引物由Invitrogen公司提供。

1.2.2 检测方法

基因组DNA提取: 取EDTA抗凝静脉血2 mL, 用血液基因组DNA提取试剂盒(离心柱型)提取基因组DNA, 紫外分光光度计测定DNA浓度。提取DNA置-20 °C冰箱保存。

PCR反应: 以RUNX3基因组序列为依据, 设计RUNX3基因rs760805位点PCR引物。顺义链序列: 5' -CTGGCGCATATTGAGAGCTGTA-3', 反义链: 5' -TCTCCCACTCAGCAGTTCACAC-3', PCR反应体系及扩增条件: PCR反应总体系为25 μ L; 含100 μ g/L DNA模板, 10 \times PCR缓冲液2.5 μ L, 50 mmol/L MgCl₂ 0.8 μ L, 10 mmol/L dNTP混合液0.5 μ L, 5 μ mol/L引物正反向各1 μ L, Platinum® Taq DNA聚合酶0.2 μ L, 加入灭菌蒸馏水至

25 μ L。反应在ABI9700PCR仪中进行, 反应条件: 94 °C预变性5 min, 94 °C变性30 s, 58 °C退火30 s, 72 °C延伸30 s, 进行35个循环, 72 °C后延伸5 min。PCR产物2 μ L行2%琼脂糖凝胶电泳鉴定扩增产物。DNA测序分析基因型: ABI PRISM™ 3700 DNA Analyzer上用Applied BioSystems公司的POP-6胶, 使用仪器默认的3700测序程序电泳。

1.3 统计学处理

统计分析使用SPSS 13.0软件。人群资料先进行Hardy-Weinberg遗传平衡检验, 以 χ^2 检验确定胃癌组与对照组之间3个位点基因型频数分布的差异, 以OR及其95%CI表示相对危险度, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

胃癌组和对照组在年龄、性别、吸烟及饮酒方面差异均无统计学意义(P 值分别为0.891、0.889、0.055和0.627, 表1)。RUNX3基因rs760805位点AA、AT及TT基因型测序结果(图1~3)。携带RUNX3 rs760805位点AT基因型的个体罹患胃癌的风险是携带TT基因型的1.24倍(AT: OR=1.24, 95%CI: 0.8~1.92), 携带RUNX3 rs760805位点AA基因型的个体罹患胃癌的风险是携带TT基因型的1.83倍(AA: OR=1.83, 95%CI: 1.15~2.92), 均能显著增加胃癌的发病风险(表2)。

表1 胃癌组与对照组基本特征比较

Tab. 1 Characteristics of study subjects

Variables	GC patients	Controls	[n(%)] <i>P</i> *
Age/year			
<55	178 (57.42)	186 (56.88)	0.891
≥55	132 (42.58)	141 (43.12)	
Gender			
Male	206 (66.45)	219 (66.97)	0.889
Female	104 (33.55)	108 (33.03)	
Smoking status			
Smoking	131 (42.26)	114 (34.86)	0.055
Never	179 (57.74)	213 (65.14)	
Alcohol use			
Regular	94 (30.32)	105 (32.11)	0.627
Never	216 (69.68)	222 (67.89)	

*: Two-sided χ^2 -test for the frequency distribution of selected variables between gastric cancer cases and cancer-free controls.

A G T A A C A A A A T C T C T A A C A T G T A T C

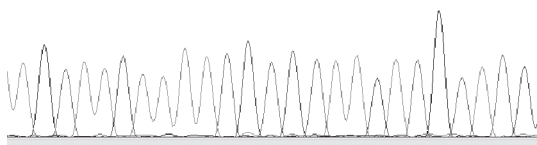


图 1 RUNX3 rs760805 AA基因型

Fig. 1 AA genotype of RUNX3 rs760805

T A A C A A A A T C T C T A A C A T G T T T C C A G C T C

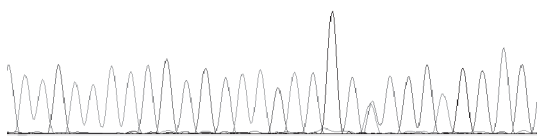


图 2 RUNX3 rs760805 AT基因型

Fig. 2 AT genotype of RUNX3 rs760805

A A G T A A C A A A A T C T C T A A C A T G T T T C C A G C T C

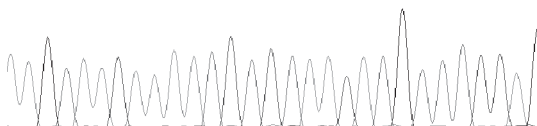


图 3 RUNX3 rs760805 TT基因型

Fig. 3 TT genotype of RUNX3 rs760805

表 2 胃癌组与对照组RUNX3 rs760805基因型与分布频率

Tab. 2 Genotype distributions of the RUNX3 rs760805 in gastric cancer cases and controls and risk estimates

Variables	GC patients	Controls	OR	[n(%)]
				95%CI
TT	47(15.16)	67(20.49)	1.00	
AT	150(48.39)	172(52.60)	1.24	0.81-1.92
AA	113(36.45)	88(26.91)	1.83	1.15-2.92

3 讨 论

SNPs是人类基因组DNA序列可遗传变异的主要形式之一，是决定人类疾病易感性的核心信息，目前已经被广泛用于疾病病因、治疗及预后评估等反映个体间易感性差异的研究领域中。

RUNX3是新发现的抑癌基因，长67 kb，位于染色体1p36区，含有P1、P2两个启动子，6个外显子，编码由415个氨基酸残基组成的核心结合因子(core binding factors, CBFs)的α亚单位，其基因序列上有一段由128个氨基酸组成的高度保守域成为Runt结构域(runt domain, RD)，能够特异性识别目的基因进而与之结合^[5]。

RUNX3作为TGF信号转导通路中非常重要的调节因子，与TGF成员共同调控细胞的生长发育和凋亡^[6]。截至目前，RUNX3基因遗传变异与肿瘤的研究报道较少。Hishida等^[7]报道了RUNX3外显子上的多态性位点rs6672420T>A和内含子中的rs760805T>A与日本胃癌患者的关系，发现在幽门螺杆菌感染者中，携带rs760805 AA基因型患胃癌的风险增高59%(OR=1.59, 95%CI: 1.08~2.33)。胡胜等^[8]分析了位于RUNX3 Runt保守区域的C364T这一突变位点，未发现该点与胃癌发生相关。此外，Keller等^[9]分析了RUNX3基因突变与德国胃癌患者遗传倾向的关系，共检测了34例胃癌患者(20例弥散型，9例肠型和5例混合型)外周血淋巴细胞中提取的基因组DNA，包括5个外显子和内含子-外显子交接区域，结果均未发现种系突变。Guo等^[10]为证实R122C突变的意义，将野生型和突变型RUNX3基因(R122C)分别转染至胃癌细胞株MKN74，观察

细胞的生长曲线。结果发现,野生型RUNX3可以明显抑制胃癌细胞株MKN74生长,而突变型RUNX3与空载体组生长曲线相似,提示突变型RUNX3的活性降低或失活,不能抑制胃癌细胞株MKN74的生长。Ito等^[11]发现,R122C突变的RUNX3在结合TCF4转录因子时是不完全的,说明该突变能增强肿瘤的生长。Hishida等^[12]证实了在同时伴有幽门螺杆菌感染的日本胃癌患者中,携带AA基因型的患病率较高,差异有统计学意义。Zhang等^[4]在研究中发现,携带RUNX3 AA基因型的个体膀胱癌发病率较携带RUNX3 AT、TT基因型高,差异有统计学意义。

综上所述,本研究结果显示,rs760805 AA基因型与中国汉族人群的胃癌发病有关,今后尚需行更大样本的多中心研究以验证上述结果。

[参 考 文 献]

- [1] YANG L. Incidence and mortality of gastric cancer in China [J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(1): 17-20.
- [2] CREW K D, NEUGUT A I. Epidemiology of gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2006, 12(3): 354-362.
- [3] 谢英标. 胃癌防与治 [M]. 西安交通大学出版社, 2010: 9-11.
- [4] ZHANG Z, WANG S, WANG M, et al. Genetic variants

in RUNX3 and risk of bladder cancer: a haplotype-based analysis [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(10): 1973-1978.

- [5] BANGSOW C, RUBINS N, GLUSMAN G, et al. The RUNX3 gene—sequence, structure and regulated expression [J]. *Gene*, 2001, 279(2): 221-232.
- [6] DERYNCK R, AKHURST R J, BALMAIN A. TGF- β signaling in tumor suppression and cancer progression [J]. *Nat Genet*, 2001, 29(2): 117-129.
- [7] HISHIDA A, MATSUO K, GOTO Y, et al. Significant association of RUNX3 T/A polymorphism at intron 3(rs760805) with the risk of gastric atrophy in Helicobacter pylori seropositive Japanese [J]. *J Gastroenterol*, 2009, 44(12): 1165-1171.
- [8] 胡胜, 宋启斌, 柯玉华, 等. RUNX3基因364位点C/T突变与胃癌关系的研究 [J]. *中国病理生理杂志*, 2005, (21): 1905-1908.
- [9] KELLER G, VOGELSANG H, BECKER I, et al. Germline mutations of the E-cadherin(CDH1) and TP53 genes, rather than of RUNX3 and HPP1, contribute to genetic predisposition in German gastric cancer patients [J]. *J Med Genet*, 2004, 41(6): 89.
- [10] GUO W H, WENG L Q, ITO K, et al. Inhibition of growth of mouse gastric cancer cells by RUNX3, a novel tumor suppressor [J]. *Oncogene*, 2002, 21(54): 8251-8255.
- [11] ITO K, CHUANG L S, ITO T, et al. Loss of Runx3 is a key event in inducing precancerous state of the stomach [J]. *Gastroenterology*, 2011, 140(5): 1536-1546.
- [12] HISHIDA A, MATSUO K, GATO Y, et al. Genetic predisposition to Helicobacter pylori-induced gastric precancerous conditions [J]. *World J Gastrointest Oncol*, 2010, 2(10): 369-379.

(收稿日期: 2013-02-25 修回日期: 2013-07-02)