

# Fas-670 G>A和Fasl-844 T>C基因 多态性与肺癌易感性关系研究

韩俊<sup>1</sup>, 邵淑娟<sup>2</sup>, 孙兵<sup>3</sup>

1. 大连医科大学附属第一医院麻醉科, 辽宁大连, 116011;
2. 大连医科大学组织学与胚胎学教研室, 辽宁大连, 116044;
3. 大连医科大学附属第一医院胸外科, 辽宁大连, 116011

[摘要] 背景与目的: 肺癌是全球肿瘤相关性死亡的主要病因之一。该研究旨在探索Fas-670 G>A和Fasl-844 T>C基因多态性与肺癌易感性关系。方法: 2010—2015年, 共收集400例具有明确病理诊断的肺癌病例, 同时按照同性别, 选取年龄 $\pm 5$ 岁进行匹配健康对照, 采用TaqMan荧光探针法进行基因分型检测。对实验结果, 采用SPSS 16.0软件进行统计分析。结果: 共386例肺癌患者和394例健康对照者分型成功, 与Fas基因的AA基因型携带者相比, GA和GG基因型携带者肺癌发病风险无显著性增加, OR值分别为1.05(0.77~1.44)和1.27(0.81~1.99), 与Fasl基因的TT基因型携带者相比, CT和CC基因型携带者患肺癌的风险显著升高, 调整年龄、性别和吸烟状态后, OR值分别为1.37(1.01~1.86)和1.74(1.09~2.77)。结论: Fasl-844 T>C多态性可能与肺癌易感性有关, Fas-670 G>A多态性可能与肺癌易感性无关。

[关键词] Fas基因; Fasl基因; 多态性; 肺癌; 易感性

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2016.07.006

中图分类号: R734.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2016)07-0596-05

**A study on the relationship between Fas-670 G>A and Fasl-844 T>C polymorphisms and the susceptibility to lung cancer** HAN Jun<sup>1</sup>, SHAO Shujuan<sup>2</sup>, SUN Bing<sup>3</sup> (1. Department of Anesthesiology, the 1<sup>st</sup> Hospital Affiliated to Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China; 2. Department of Histology and Embryology, Dalian 116044, Liaoning Province, China; 3. Department of Thoracic Surgery, the 1<sup>st</sup> Hospital Affiliated to Dalian Medical University, Dalian 116011, Liaoning Province, China)

Correspondence to: SUN Bing E-mail: junhan\_1981@126.com

[Abstract] **Background and purpose:** Lung cancer is one of the leading causes of cancer death in the world. The aim of this study was to evaluate whether Fas-670 G>A and Fasl-844 T>C polymorphisms were associated with the risk of lung cancer. **Methods:** Data from 400 lung cancer patients with specific histological diagnosis were collected from 2010 to 2015. Meanwhile, data from matched healthy controls with the same gender and  $\pm 5$  years were also collected. The genotypes of Fas-670 G>A and Fasl-844 T>C polymorphisms were determined by TaqMan fluorescent probe method, and the results were analyzed using SPSS 16.0 software. **Results:** A total number of 386 cases and 394 controls were successfully genotyped. Compared with AA genotype of *Fas* gene, the GA and GG genotype carriers had no significantly increased risk of lung cancer. The OR values were 1.05 (95%CI: 0.77-1.44) and 0.77 (95%CI: 0.81-1.99) respectively. Compared with TT genotype of *Fasl* gene, the CT and CC genotype carriers had significantly increased risk of lung cancer. The OR values were 1.37 (95%CI: 1.01-1.86) and 1.74 (95%CI: 1.09-2.77), respectively. **Conclusion:** Fasl-844 T>C polymorphism may be involved in lung cancer risk but not Fas-670 G>A polymorphism.

[Key words] *Fas* gene; *Fasl* gene; Polymorphism; Lung cancer; Susceptibility

肺癌是全球肿瘤相关性死亡的主要病因之一。有数据显示,2012年在全世界范围内新增肺癌患者达180万例,占全部肿瘤新发病例的13%。2012年死于肺癌的患者数达159万例,占全球肿瘤相关性死亡总人数的1/5,严重影响人们健康水平<sup>[1]</sup>。肺癌的发生是集环境、生活方式和遗传背景等多因素共同作用下的多阶段过程,然而其早期症状隐匿,缺乏有效早期诊断手段,导致大部分患者发现时已是中晚期。*Fas*及其受体基因*Fas1*是凋亡诱导家族的重要成员,可以直接启动细胞凋亡信号途径。*Fas*蛋白表达下调或者*Fas1*表达上调均可导致肿瘤的发生。在*Fas*和*Fas1*基因启动子区上存在着遗传多态性,可以影响其表达水平,进而影响肺癌患者的个体易感性。目前研究较多的是*Fas*-1377 G>A和*Fas1*-844 T>C基因多态性与肺癌易感性之间的关系,但是*Fas*-670 A>G与中国人肺癌易感性关系,以及和*Fas1*-844 T>C基因多态性的联合作用尚不清楚,本研究对此进行初步探讨。

## 1 资料和方法

### 1.1 研究对象

患者组选取大连医科大学附属第一医院2010—2015年具有明确病理诊断的早期肺癌患者400例,对照组选择同期的健康体检者,按照同性别,年龄 $\pm 5$ 岁进行匹配。按照WHO吸烟者定义,将连续或累积吸烟6个月或以上者定义为

吸烟者。

### 1.2 样本采集和DNA制备

所有实验对象均空腹采集静脉血5 mL,采用EDTA抗凝,混匀后于-70℃冰箱保存,并同时研究对象进行基本信息调查,包括年龄、性别及吸烟状况等。DNA的提取采用经典酚氯仿法进行DNA萃取,紫外分光光度法测定DNA的纯度和浓度,并将DNA浓度调整至50 ng/ $\mu$ L。

### 1.3 基因分型

采用TaqMan荧光探针法进行基因分型,按照试剂盒说明进行操作,结果在ABI 7500基因分析仪上进行检测。采用SDS 2.2.1进行基因分型结果判定。总的反应体系为10  $\mu$ L,包括:2 $\times$ Master Mix 5  $\mu$ L, DNA 1  $\mu$ L, 80 $\times$ 探针引物0.2  $\mu$ L, 双蒸水3.8  $\mu$ L。反应条件为:95℃预变性10 min, 92℃变性30 s, 60℃退火延伸1 min,共45个循环。质量控制采取随机抽取10%的样品进行重复检测的方法。*Fas*-670 G>A和*Fas1*-844 T>C基因多态性检测探针和引物设计序列见表1。

### 1.4 统计学处理

采用SPSS 16.0软件进行统计分析,用Pearson  $\chi^2$ 进行分类资料的相关统计分析,两样本*t*检验比较两组连续变量的差异,logistic回归分析进行校正分析。相对风险采用比值比(OR)及其95%可信区间(CI)进行表示。

表1 *Fas*-670 G>A和*Fas1*-844 T>C基因多态性检测探针和引物设计序列

Tab. 1 The probes and primer sequences in detecting gene polymorphisms of *Fas*-670 G>A and *Fas1*-844 T>C

Gene polymorphism	Probe	Primer sequence
<i>Fas</i> -670 G>A	5'-FAM-CATTCCAGAAACGTC-3'	5'-CTATGGCGCAACATCTGTACTTTT-3'
	5'-VIC-CATTCCAGGAACGTC-3'	5'-GTCCATGTTGTGGCTGCAA-3'
<i>Fas1</i> -844 T>C	5'-FAM-CTTTGTATTTTACAATGTT-3'	5'-CCTGGGTGACAGAGTGAGACT-3'
	5'-VIC-TTTGTATTTTCGCAATGTT-3'	5'-AGGCTGCAAACCAGTGGA-3'

## 2 结果

### 2.1 纳入研究对象基本特征

患者组分型失败14例,对照组分型失败6例,因此共有386例肺癌患者和394例健康对照纳入到最终的分析中。患者组男性274例,女性112例,平均年龄58.1岁;对照组男性286例,女性108例,平均年龄57岁。两组间年龄和性别分布差异无统计学意义( $P<0.05$ )。患者组吸烟者286例,对照组235例,患者组显著高于对照组(表2)。

### 2.2 Fas-670 A>G和Fasl-844 T>C基因型的分布及其与肺癌易感性之间的关系

*Fas*和*Fasl*基因各基因型在患者组和对照组中的分布见表3。*Fas*基因的AA、AG和GG基因型在对照组中的分布频率分别为40.4%、46.7%和12.9%,符合遗传平衡定律( $\chi^2=0.04$ ,  $P=0.84$ ),与实验组频率分布差异无统计学意义( $\chi^2=1.52$ ,  $P=0.47$ );*Fasl*基因的TT、TC和CC

基因型在对照组中的分布频率分别为52.5%、37.3%和10.2%,符合遗传平衡定律( $\chi^2=3.22$ ,  $P=0.07$ ),在实验组中的分布频率分别为38.1%、46.6%和15.3%,与实验组频率分布差异有统计学意义( $\chi^2=7.49$ ,  $P=0.02$ )。

Fas-670 A>G和Fasl-844 T>C与肺癌易感性之间的关系见表3。与*Fas*基因的AA基因型携带者相比,GA和GG基因型携带者肺癌发病风险未显著增加,按照隐性遗传模型进行比较,亦未发现GG基因型携带者肺癌易感性显著高于AA+GA基因型携带者。与*Fasl*基因TT基因型携带者相比,CT和CC基因型携带者患肺癌的风险显著升高,调整年龄、性别和吸烟状态后,OR值分别为1.37和1.74。

### 2.3 Fas-670 A>G和Fasl-844 T>C联合作用

经分析发现,同时携带Fas-670 GG基因型和Fasl-844 C等位基因个体肺癌易感性是携带Fas-670 A等位基因和Fasl-844 TT基因型个体的1.96倍(95%CI: 1.16~3.32,表4)。

表2 纳入研究对象基本特征

Fig. 2 The characteristics of the patient group and control group

Parameter	Patient group	Control group	$\chi^2$	P value
Total n	386	394		
Age/year $\bar{x}\pm s$	58.1 $\pm$ 8.5	57.0 $\pm$ 9.4	1.73	0.08
Gender n(%)				
Male	274(71.0)	286(72.6)	0.25	0.62
Female	112(29.0)	108(27.4)		
Smoking n(%)				
No	100(25.9)	159(40.4)	18.35	<0.01
Yes	286(74.1)	235(59.6)		
Pathological type n(%)				
Squamous carcinoma	255(66.1)			
Adenocarcinoma	103(26.7)			
Others	28(7.3)			
Staging n(%)				
I	116(30.1)			
II	95(24.6)			
III <sub>A</sub>	175(45.3)			

表 3 Fas-670 A&gt;G和FasL-844 T&gt;C与肺癌易感性之间的关系

Fig. 3 The relationship between the distribution of Fas-670 A&gt;G and FasL-844 T&gt;C, and lung cancer susceptibility

Parameter	Patient group	Control group	OR(95%CI)	P value	OR(95%CI) <sup>*</sup>	P value <sup>*</sup>	n(%)
Fas-670 A>G							
AA	147(38.1)	159(40.4)	1.0				
GA	180(46.6)	184(46.7)	1.06(0.78-1.43)	0.72	1.05(0.77-1.44)	0.74	
GG	59(15.3)	51(12.9)	1.25(0.81-1.94)	0.31	1.27(0.81-1.99)	0.29	
AA+GA	327(84.7)	343(87.1)	1.0				
GG	59(15.3)	51(12.9)	1.21(0.81-1.82)	0.35	1.24(0.82-1.87)	0.32	
FasL-844 T>C							
TT	167(43.3)	207(52.5)	1.0				
CT	164(42.5)	147(37.3)	1.38(1.02-1.87)	0.04	1.37(1.01-1.86)	0.04	
CC	55(14.2)	40(10.2)	1.70(1.08-2.69)	0.02	1.74(1.09-2.77)	0.02	
CT+CC	219(56.7)	187(47.5)			1.45(1.09-1.93)	0.01	

\*: Adjusted by age, gender, and smoking condition

表 4 Fas-670 A&gt;G和FasL-844 T&gt;C联合作用

Tab. 4 The function of the combination of Fas-670 A&gt;G and FasL-844 T&gt;C

Fas-670 A>G	FasL-844 T>C	Patient group	Control group	OR(95%CI) <sup>*</sup>	P value	n(%)
AA+GA	TT	152(39.4)	183(46.4)	1.0		
AA+GA	CT+CC	175(45.3)	160(40.6)	1.32(0.97-1.78)	0.08	
GG	TT	15(3.9)	24(6.1)	0.75(0.38-1.49)	0.41	
GG	CT+CC	44(11.4)	27(6.9)	1.96(1.16-3.32)	0.01	

\*: Adjusted by age, gender, and smoking condition

### 3 讨 论

细胞凋亡和增殖失衡是肿瘤形成的重要作用机制之一。*Fas*基因及其受体基因*FasL*是凋亡诱导家族的重要成员,两者的相互作用可以直接启动细胞凋亡信号途径。一般情况下,*Fas*在多种组织细胞中表达稳定,*FasL*表达非常局限,只有在受到外界刺激下其表达水平才会迅速增加。基于此原因,本研究探索了Fas-670 A>G和FasL-844 T>C多态位点与肺癌易感性之间的关系,结果发现,FasL-844 CT和CC基因型携带者患肺癌风险显著增高,Fas-670 A>G多态可能与肺癌易感性无关,但是同时携带Fas-670 GG和FasL-844 CT/CC基因型的个体易感性更高。

Fas-670 G等位基因在健康人中的频率为

0.36,与我国之间的研究报道结果一致<sup>[2-3]</sup>,显著低于韩国以及我国台湾省的数据<sup>[4-5]</sup>,FasL-844 C等位基因在健康人中的频率为0.29,与我国以往的研究报道结果相似<sup>[2-5]</sup>。Fas-670 A>G和FasL-844 T>C多态各基因型在对照组的分布均符合遗传平衡定律,表明本研究的对照组具有较好的代表性。

到目前为止,已有许多关于Fas-1377 G>A和FasL-844 T>C基因多态性与肿瘤易感性关系的研究报道<sup>[2-6]</sup>,但是只有少量的文章关于Fas-670 A>G多态性与肺癌易感性关系的研究。Fas-670位点位于该基因的启动子区,A碱基被G碱基替代后导致*Fas*基因启动子活性降低,进而使基因的表达减弱,导致Fas介导的细胞凋亡功能减弱,增加肿瘤发生风险<sup>[7]</sup>。Shao

等<sup>[8]</sup>在研究中发现, Fas-670 AG或者GG基因型携带者具有更高的前列腺癌易感性。然而,在我国台湾省报道的一项关于宫颈癌的研究中发现, Fas-670 A等位基因携带者具有更高的易感性<sup>[5]</sup>。本研究未发现该多态性与肺癌易感性显著相关,这与之前的肺癌研究结果一致<sup>[4]</sup>。Fasl-844位点同样位于基因的启动子区, T碱基被C碱基替代后导致Fasl基因启动子活性升高进而基因表达增强,肿瘤发病风险升高。Park等<sup>[4]</sup>的研究发现, Fasl-844 C>T多态与韩国人肺癌发病风险无关。然而,在我国南方地区的研究发现, CC基因型携带者肺癌易感性显著升高<sup>[9]</sup>,于此相同,本研究发现,校正年龄、性别和吸烟状态后, CT和CC基因型携带者发病风险分别是TT基因型携带者的1.37和1.74倍。这些不同结果可能是因为:第一,不同人种的遗传背景不同,各等位基因频率在不同的人群中的分布不同;第二,不同肿瘤类型的发病机制不同,基因多态性在不同肿瘤类型中发挥的作用亦不相同。

本研究进一步分析了在肺癌易感性中, Fas-670 G>A和Fasl-844 T>C基因多态性的联合作用,同时携带Fas-670 GG基因型和Fasl-844 C等位基因个体肺癌易感性是携带Fas-670 A等位基因和Fasl-844 TT基因型个体的1.96倍,表明两者在肺癌的发生中可能存在联合作用。

综上所述, Fasl-844 T>C可能与肺癌易感性相关, Fas-670 G>A可能与肺癌易感性无关,

本研究的结果尚需更大样本量的研究进一步验证。

#### [参 考 文 献]

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] SUN T, MIAO X, ZHANG X, et al. Polymorphisms of death pathway genes Fas and Fasl in esophageal squamous-cell carcinoma [J]. J Natl Cancer Inst, 2004, 96(13): 1030-1036.
- [3] LI Y, HAO YL, KANG S, et al. Genetic polymorphisms in the Fas and Fasl genes are associated with epithelial ovarian cancer risk and clinical outcomes [J]. Gynecol Oncol, 2013, 128(3): 584-589.
- [4] PARK S H, CHOI J E, KIM E J, et al. Polymorphisms in the Fas and Fasl genes and risk of lung cancer in a Korean population [J]. Lung Cancer, 2006, 54(3): 303-308.
- [5] LAI H C, LIN W Y, LIN Y W, et al. Genetic polymorphisms of Fas and Fasl (CD95/CD95L) genes in cervical carcinogenesis: An analysis of haplotype and gene-gene interaction [J]. Gynecol Oncol, 2005, 99(1): 113-118.
- [6] ZHANG W, LI C, WANG J, et al. Functional polymorphisms in Fas/Fasl system contribute to the risk of occurrence but not progression of gastric cardiac adenocarcinoma [J]. Hepatogastroenterology, 2012, 59(113): 141-146.
- [7] SIBLEY K, ROLLINSON S, ALLAN J M, et al. Functional Fas promoter polymorphisms are associated with increased risk of acute myeloid leukemia [J]. Cancer Res, 2003, 63(15): 4327-4330.
- [8] SHAO P, DING Q, QIN C, et al. Functional polymorphisms in cell death pathway genes Fas and Fas ligand and risk of prostate cancer in a Chinese population [J]. Prostate, 2011, 71(10): 1122-1130.
- [9] ZHANG X, MIAO X, SUN T, et al. Functional polymorphisms in cell death pathway genes FAS and FASL contribute to risk of lung cancer [J]. J Med Genet, 2005, 42(6): 479-484.

(收稿日期: 2016-01-29 修回日期: 2016-03-31)