

·综述 General review·

肝细胞癌相关单核苷酸多态性的研究进展

陆小华, 朱小庆, 茅国新

【摘要】 肝细胞癌是临床上最常见的恶性肿瘤之一。大量研究表明,遗传因素在肝细胞癌发病中发挥重要作用。单核苷酸多态性作为第 3 代遗传标记,是人类基因组中最常见的多态性表现形式,已成为研究肝细胞癌遗传易感性的重要手段。对其深入研究将有利于更好的采取预防、诊断和治疗措施。

【关键词】 肝细胞癌;单核苷酸多态性;遗传易感性

中图分类号:R735.7 文献标志码:A 文章编号:1008-794X(2013)-06-0520-05

Hepatocellular carcinoma-related single nucleotide polymorphisms: recent advances in research LU Xiao-hua, ZHU Xiao-qing, MAO Guo-xin. Department of Interventional Radiology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China

Corresponding author: ZHU Xiao-qing, E-mail: zhuxiaoqing664@163.com

【Abstract】 Clinically, hepatocellular carcinoma is one of the commonest malignancies. A large number of studies have shown that the genetic factor plays an important role in hepatocellular carcinoma pathogenesis. As the third generation of genetic marker, single nucleotide polymorphism is the commonest polymorphic form in human genome. At present, single nucleotide polymorphism has become an essential means for the study of the genetic susceptibility of hepatocellular carcinoma. Therefore, the further research into the single nucleotide polymorphism will be highly beneficial to the prevention, diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. (J Intervent Radiol, 2013, 22: 520-524)

【Key words】 hepatocellular carcinoma; single nucleotide polymorphism; genetic susceptibility

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是临床上最常见的恶性肿瘤之一,是严重威胁我国人民健康和生命的重大疾病之一。HCC 恶性程度高,起病隐匿、发展迅速,发现时多已至中晚期,疗效和预后较差。其主要致病因素包括 HBV/HCV 感染、黄曲霉毒素 B1(AFB1)暴露、酗酒和环境污染等。它的发生和演进是多因素、多基因和多阶段、多途径的复杂过程。大量流行病学研究表明,遗传因素在 HCC 发病中起重要作用。在 HCC 的病因中,遗传因素约占所有危险因素的 60%。单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)作为第 3 代遗传标记,是人类基因组中最常见的多态性表现形式,已成为研究 HCC 遗传易感性的重要手段。本文对 HCC 相关 SNP 的研究进展作一综述。

1 原癌基因和抑癌基因多态性

1.1 HBx 基因

在乙型肝炎病毒基因中,HBx 基因在 HCC 的发生过程中起主要作用。HBx 虽不是癌基因,但它是一个非特异性反式激活因子,可反式激活原癌基因 *C-myc*、*C-myb*,并能使抑癌基因 *p53* 突变、失活,在调节原癌基因蛋白所必需的致瘤性和抗凋亡能力中发挥关键作用。研究发现与 HCC 相关的 HBx 基因突变位点主要有 A1762T/G1764A、C1653T、T1753V 等。其中 A1762T/G1764A 双突变形式最为常见。李伟等^[1]研究发现 HCC 患者癌组织及癌旁组织 HBx A1762T/G1764A 双突变率分别为 93% 和 47%。倪秀莹等^[2]研究发现 HCC 组患者肝组织 A1762T/G1764A 双突变率为 85.7%,明显高于非 HCC 组(包括乙型病毒性肝炎和肝硬化)患者的双突变率 40.6%。

1.2 p53 基因

p53 是一个重要的抑癌基因,能通过诱导细胞周期停滞和 DNA 损伤后癌基因激活的细胞凋亡防止癌变。其多态性是 HCC 常见的基因改变之一。韩国一项包括了 287 例 HBV 相关性 HCC 患者和 296 例健康对照的研究^[3]以及 Sumbul 等^[4]针对土耳其人群的研究(病例组和对照组均为 119 例)均发现, p53 基因第 4 外显子的 72 位密码子发生 Arg→Pro 转换使 HCC 发生的风险显著增加。突变 p53 基因编码的蛋白可能会增加胰岛素样生长因子 II (IGF-II) 异常表达,使细胞增殖活性提高,导致细胞恶性转化,进而导致 HCC 发生。

1.3 同源丢失性磷酸酶张力蛋白基因(PTEN)

PTEN 基因作为目前已知的唯一可使脂类去磷酸化的抑癌基因,广泛表达于人体正常组织细胞中。其突变可致磷酸酶活性下降,细胞恶性增殖和侵袭能力增强,同时抑制细胞凋亡,导致恶性转化加剧,从而诱发 HCC 形成。Ding 等^[5]对中国汉族 134 例 HCC 患者和 215 例健康对照者进行 PTEN 基因 rs10490920、rs532678、rs701848 SNP 和 rs34421660 插入/缺失单倍型关联分析发现,T-C-C-缺失单倍型降低 HCC 发生的风险 ($OR = 0.19, 95\% CI: 0.06 \sim 0.56$),而 T-T-T-插入单倍型则使 HCC 发生风险增加 ($OR = 1.63, 95\% CI: 1.14 \sim 2.33$)。

2 毒物代谢酶基因多态性

2.1 细胞色素 P450 基因

细胞色素 P450 (cytochrome P450, CYP450) 属于血红蛋白类酶,是微粒体混合功能氧化酶系中最重要的一族氧化酶。其在肝脏中含量最丰富,与肝脏疾病关系密切。乙醇可诱导肝细胞色素 P450 2E1 (CYP2E1),启动微粒体乙醇氧化途径,增加乙醛产量,并伴有氧自由基的产生,造成包括 DNA 在内的多种生物大分子损伤。叶新平等^[6]针对广西 300 例肝细胞癌和 292 例对照的调查显示,饮酒且携带突变 CYP2E1 基因者患 HCC 风险增加。Imaizumi 等^[7]针对日本人群 CYP450 基因 SNP (包括 CYP1A1、CYP1A2、CYP2A6、CYP2E1 等在内)的研究发现,携带 CYP1A2-3860G > A 突变基因型,且存在吸烟因素的慢性肝病患者发生 HCC 的风险显著增加。

2.2 环氧化物水解酶 1 基因(EPHX1)

EPHX1 属 II 相代谢酶,在机体各种器官和组织中均有表达,尤其在肝脏及肾脏中表达水平最高。其主要功能是催化各种具有活性的外源性环氧化物以及 I 相代谢过程中所产生的各种不稳定的环

氧化物水解,形成可溶性物质排出体外。风险基因型携带者由于对具有致癌作用的环氧化物代谢缓慢,从而造成 HCC 易感性增加。贺菽嘉等^[8]针对中国人群进行的研究发现,EPHX1 基因第 3 外显子的第 113 位密码子基因型为 His/His,且存在吸烟因素时发生 HCC 的风险显著增加。

3 DNA 修复基因多态性

3.1 X 线修复交叉互补组 1 基因(XRCC1)

XRCC1 基因编码的蛋白参与 DNA 损伤后单链断裂或碱基切除修复,若发生突变,可能会改变基因功能,影响个体肿瘤易感性。印度的 Kiran 等^[9]研究发现,XRCC1 基因的 Arg194Trp 和 Arg280His 突变均增加 HCC 的发病风险, OR 值及 95% CI 分别为 2.27 (1.01 ~ 5.08) 和 4.95 (2.48 ~ 9.89)。Pan 等^[10]通过对国内 202 例 HCC 患者与 236 例健康对照的研究发现,XRCC1 基因第 10 外显子的第 399 位密码子发生 Arg→Glu 转换,降低 DNA 修复能力,增加 HCC 易感性。携带 Arg/Glu 基因型,尤其是年龄 > 50 岁,有饮酒史者发生 HCC 的风险显著增加 ($OR = 1.95, 95\% CI: 1.14 \sim 3.57$)。

3.2 人类 8-羟基鸟嘌呤 DNA 糖苷酶基因(hOGG1)

该基因编码蛋白可特异性切除 DNA 氧化损伤产生的具有高致突变性的 8-羟基鸟嘌呤 (8-oxoG),从而使损伤得以修复。Ji 等^[11]对山东省 500 例 HCC 患者及 507 例健康对照者的研究发现,与 hOGG1-326Ser/Ser 野生基因型相比,hOGG1-326Ser/Cys 及 Cys/Cys 突变基因型增加了 HCC 发生的风险 ($OR = 2.14, 95\% CI: 1.57 \sim 2.91$)。Yuan 等^[12]对四川省 350 例 HCC 患者和 400 例健康对照者的研究亦发现,hOGG1 Ser326Cys 突变显著增加 HCC 发生的风险。

3.3 着色性干皮病基因 D(XPD)

XPD 作为一种剪切修复基因,参与核苷酸的切除修复及基础转录。目前,在该基因 SNP 与疾病易感性关联的研究中,以 751 位点研究最多。该位点 A ~ C 突变可导致相应 Lys→Gln 转换。杂合子、突变纯合子均可降低碱基切除修复能力,与 HCC 易感性相关。国内 Long 等^[13]进行的一项病例对照研究(618 例 HCC 和 712 例对照)发现,XPD-751 杂合突变型 Lys/Gln 和纯合突变型 Gln/Gln 较野生型 Lys/Lys 均增加 HCC 的发病风险, OR 分别为 1.75 (95% $CI: 1.30 \sim 2.37$) 和 2.47 (95% $CI: 1.62 \sim 3.76$)。

4 白细胞介素基因多态性

4.1 白细胞介素-6(IL-6)

IL-6 是一种多效性细胞因子,与多种肿瘤的发生、发展关系密切,其可干预细胞的黏附性和活力、肿瘤特异性抗原的表达及肿瘤细胞的增殖等,影响肿瘤的进展。意大利的 Falletti 等^[14]对 219 例肝硬化后肝移植患者进行一项 IL-6 SNP (包括-1363G > T, -597G > A, -572G > C, -174G > C 和 +2954G > C) 与 HCC 易感性的研究发现,IL-6-597G > A/-174G > C 双突变的个体发生 HCC 的风险显著增加。

4.2 白细胞介素-8(IL-8)

IL-8 作为一种多功能的趋化因子,在新生血管形成、炎症反应等多种生理病理过程中发挥作用。Chien 等^[15]针对台湾人群 IL-8 -251T/A、+781C/T、+1633C/T、+2767A/T 位点 SNP 与 HCC 遗传易感性的关联研究发现,IL-8 +781TT 基因型较 CC 基因型发生 HCC 的风险显著降低 ($OR = 0.346, 95\%CI: 0.132 \sim 0.909$),提示 +781TT 基因型可能是 HCC 的保护因素。目前针对该基因 SNP 与 HCC 易感性关联的研究较少,有待进一步研究。

4.3 白细胞介素-10(IL-10)

IL-10 基因启动子中有多个 SNP 位点,研究表明这些位点多态性在体外会影响 IL-10 的表达,从而影响 IL-10 的生物学功能。Tseng 等^[16]以 208 例 HBV 相关 HCC 患者和 344 例 HBV 携带者作为对照的研究发现,IL-10 -592CC 基因型个体较 IL-10 -592AC 和 AA 基因型个体患 HCC 的风险增加;与 IL-10 -1927AC 和 CC 基因型比较,IL-10 -1927AA 基因型个体更易罹患 HCC。单倍型分析发现,IL-10 C592-A1927 单倍型的个体 HCC 发病风险是 A592-C1927 个体的 2.6 倍 ($95\%CI: 1.3 \sim 4.9$)。另外, Qiu 等^[17]针对广西地区人群的研究发现,与 IL-10 -819CC 基因型相比,TT 基因型增加 HCC 发生的风险。而与 IL-10 -592CC 基因型相比,AA 基因型可能是 HCC 的保护因素。

4.4 白细胞介素-12(IL-12)

IL-12 处于细胞免疫的中心地位,具有较强的抗感染、抗肿瘤作用。许多研究证实其参与 HCC 的发生发展。刘莉等^[18]以江苏省 538 例 HCC 患者及 535 例健康对照为研究对象,研究 IL-12A rs2243115、rs568408 和 IL-12B rs3212227 位点 SNP 与 HCC 遗传易感性的关联,发现携带 IL-12A rs568408GA 或 AA 突变基因型的个体较 GG 野生

基因型个体发生 HCC 的风险显著增高 ($OR = 1.35, 95\%CI: 1.03 \sim 1.79$)。Park 等^[19]研究 IL-12A +6400、+6624、+7003 位点 SNP 与 HBV 持续感染及 HCC 发生的相关性,并未发现这些位点 SNP 与之有关联。

5 生长因子基因多态性

5.1 表皮生长因子(EGF)

EGF 作为一种重要的细胞因子,参与促进细胞增殖、新生血管形成及促进肿瘤生长等多种生理病理活动。在肝脏再生修复过程中,其表达水平升高。Zhong 等^[20]进行的一项 Meta 分析显示,EGF 61 位点 GG 基因型发生 HCC 的风险增加,该位点 *A 基因型可能是 HCC 的保护因素。Li 等^[21]对国内 338 例慢性乙肝患者 (186 例 HCC 和 152 例肝硬化) 及 186 例健康对照的研究也发现,携带 EGF-61GG 基因型个体 EGF 编码蛋白表达水平明显高于 GA 或 AA 基因型。

5.2 血管内皮生长因子(VEGF)

VEGF 作为调控血管生成及维持血管通透性的重要因子,参与多种恶性肿瘤发生、发展、转移的各个步骤。意大利的 Giacalone 等^[22]通过对 96 例 HCC、79 例肝硬化及 162 例健康对照的研究发现,VEGF-A +936 *C 基因型个体发生 HCC 的风险增加。Wu 等^[23]进行一项包括 93 例 HCC 肝移植术后患者及 99 例对照的研究发现,VEGF rs3025035 CT 基因型是缩短无复发生存期的独立因素,表明 VEGF 基因 rs3025035 SNP 可能是 HCC 肝移植术后复发的潜在遗传标记。

5.3 转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)

HCC 患者癌组织和血浆中均有不同水平的 TGF- $\beta 1$ mRNA 表达。动物模型研究表明,在 HCC 发生过程中能分泌大量的 TGF- $\beta 1$,促进癌前期肝细胞异常增殖、分化。Qi 等^[24]对中国人群研究发现,慢性 HBV 感染者中,TGF- $\beta 1$ 的 -509 位点 TT 基因型者患 HCC 的风险低于 CC 基因型,而且病例组中携带 CC 基因型者血浆和 HCC 组织中 TGF- $\beta 1$ mRNA 水平高于 TT 基因型个体。但意大利 Falletti 等^[25]研究并未发现 TGF- $\beta 1$ 多态性与 HCC 相关联。

6 其他

6.1 肿瘤坏死因子 α (TNF- α)

TNF- α 是一种重要的细胞因子,参与抗感染和机体的免疫调节。近年来研究表明,TNF- α 基因启动子区 SNP 可影响 TNF- α 表达,导致不同个体对

某些疾病易感性和疾病进程的差异。土耳其的 Basturk 等^[26]研究发现, TNF- α -308*G 基因型频率在病例组中显著高于健康对照组。而宋韶芳等^[27]却发现-308 位点发生 G > A 转换后增加了 HCC 发生的风险, 认为 TNF- α -308 位点 *A 基因型可能是 HCC 的易感基因型, 与 Basturk 等^[26]的研究结果不同, 这可能与不同人群、不同遗传背景有关。

6.2 COX-2 基因

环氧化酶(Cyclooxygenase, COX)是催化花生四烯酸转化为前列腺素的关键酶。已知环氧化酶有两种 COX-1 和 COX-2 同工酶。其中 COX-2 是一种诱导酶, 正常状态下大多数组织中不表达或低表达, 而在多种肿瘤包括 HCC 组织中高表达。国内许东奎等^[28]通过对北京汉族人群的研究发现, COX-2 基因启动子-1195 位点 AA 基因型个体较 GG 基因型个体发生 HCC 的风险增加 1.57 倍 (95% CI: 1.01 ~ 2.44)。而范雪娇等^[29]对广西 780 例 HCC 患者及 780 例健康对照的研究并未发现该位点 SNP 与 HCC 遗传易感性有关联, 与土耳其的 Akkiz 等^[30]的研究结果一致。

目前学界普遍认为研究基因多态性最有可能揭示肿瘤易感性的本质。HCC 的发病机制十分复杂, 其发生、发展和转移与多种基因的突变、细胞信号传导通路和新生血管增生异常等因素密切相关。HCC 的发生绝非单一分子事件, 只有当多种基因同时发生改变、协同作用, 方可增加发生 HCC 的危险性。分析易感基因的某种基因型、单倍型频率在 HCC 患者与正常对照人群中的分布差异, 只能确定某基因型或单倍型个体对 HCC 的易感性。这类基因多态性仅是 HCC 遗传机制中的诸多作用因素之一。目前国内外仍在进行关于 HCC 遗传易感性的研究, 若加强基因与基因之间以及基因与环境因素交互作用的研究, 构建 HCC 易感基因单体型图, 将有助于增加对 HCC 的认识, 有利于更好的在基因组医学水平上采取预防、诊断和治療措施。

【参考文献】

- [1] 李 伟, 刘传苗, 赵守松. 原发性肝细胞癌患者肝组织中乙型肝炎病毒 X 基因的变异 [J]. 实用医学杂志, 2009, 25: 180 - 182.
- [2] 倪秀莹, 王 涛, 杨 伟, 等. 乙型肝炎病毒 A1762T/G1764A 突变与原发性肝细胞癌的关系 [J]. 中国现代普通外科进展, 2011, 14: 59 - 61, 74.
- [3] Yoon YJ, Chang HY, Ahn SH, et al. MDM2 and p53 polymorphisms are associated with the development of hepatocellular carcinoma in patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. Carcinogenesis, 2008, 29: 1192 - 1196.
- [4] Sumbul AT, Akkiz H, Bayram S, et al. p53 codon 72 polymorphism is associated with susceptibility to hepatocellular carcinoma in the Turkish population: a case-control study [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39: 1639 - 1647.
- [5] Ding J, Gao Y, Liu R, et al. Association of PTEN polymorphisms with susceptibility to hepatocellular carcinoma in a Han Chinese population [J]. DNA Cell Biol, 2011, 30: 229 - 234.
- [6] 叶新平, 彭 涛, 刘唐威, 等. ALDH2 和 CYP2E1 基因多态性及饮酒习惯与肝细胞癌易感性的关系 [J]. 卫生研究, 2010, 39: 42 - 45.
- [7] Imaizumi T, Higaki Y, Hara M, et al. Interaction between cytochrome P450 1A2 genetic polymorphism and cigarette smoking on the risk of hepatocellular carcinoma in a Japanese population [J]. Carcinogenesis, 2009, 30: 1729 - 1734.
- [8] 贺菽嘉, 顾永耀, 林文珍, 等. EPHX1 基因多态性与原发性 HCC 易感性的关系 [J]. 肿瘤, 2008, 28: 125 - 128.
- [9] Kiran M, Saxena R, Chawla YK, et al. Polymorphism of DNA repair gene XRCC1 and hepatitis-related hepatocellular carcinoma risk in Indian population [J]. Mol Cell Biochem, 2009, 327: 7 - 13.
- [10] Pan HZ, Liang J, Yu Z, et al. Polymorphism of DNA repair gene XRCC1 and hepatocellular carcinoma risk in Chinese population [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2011, 12: 2947 - 2950.
- [11] Ji L, Zeng X, Li L, et al. Interaction between the single-nucleotide polymorphism of DNA repair gene hOGG1 and HBV infection and its susceptibility to hepatocellular carcinoma [J]. Wei Sheng Yan Jiu, 2011, 40: 705 - 708.
- [12] Yuan T, Wei J, Luo J, et al. Polymorphisms of base-excision repair genes hOGG1 326cys and XRCC1 280His increase hepatocellular carcinoma risk [J]. Dig Dis Sci, 2012, 57: 2451 - 2457.
- [13] Long XD, Ma Y, Zhou YF, et al. XPD codon 312 and 751 polymorphisms, and AFB1 exposure, and hepatocellular carcinoma risk [J]. BMC Cancer, 2009, 9: 400.
- [14] Falletti E, Fabris C, Toniutto P, et al. Interleukin-6 polymorphisms and gender: relationship with the occurrence of hepatocellular carcinoma in patients with end-stage liver disease [J]. Oncology, 2009, 77: 304 - 313.
- [15] Chien MH, Yeh CB, Li YC, et al. Relationship of interleukin-8 gene polymorphisms with hepatocellular carcinoma susceptibility and pathological development [J]. J Surg Oncol, 2011, 104: 798 - 803.
- [16] Tseng LH, Lin MT, Shau WY, et al. Correlation of interleukin-10 gene haplotype with hepatocellular carcinoma in Taiwan [J]. Tissue Antigens, 2006, 67: 127 - 133.
- [17] Qiu XQ, Bei CH, Yu HP, et al. Study on the relationship between single-nucleotide polymorphisms in IL-6, IL-10 genes and HBV-related hepatocellular carcinoma [J]. Zhonghua Liu

- Xing Bing Xue Za Zhi, 2011, 32: 510 - 513.
- [18] 刘莉, 刘政, 徐研, 等. IL-12 基因多态性与原发性肝细胞 HCC 遗传易感性的关联研究[J]. 南京医科大学学报, 2010, 30: 34 - 38.
- [19] Park JS, Cheong JY, Kang JK, et al. Association of interleukin-12 gene polymorphism with persistence of hepatitis B virus infection and hepatocellular carcinoma [J]. Korean J Gastroenterol, 2007, 50: 313 - 318.
- [20] Zhong JH, You XM, Gong WF, et al. Epidermal growth factor gene polymorphism and risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. PLoS One, 2012, 7: e32159.
- [21] Li Y, Xie Q, Lu F, et al. Association between epidermal growth factor 61A/G polymorphism and hepatocellular carcinoma susceptibility in Chinese patients[J]. Liver Int, 2010, 30: 112 - 118.
- [22] Giacalone A, Montalto G, Giannitrapani L, et al. Association between single nucleotide polymorphisms in the cyclooxygenase-2, tumor necrosis factor- α , and vascular endothelial growth factor-A genes, and susceptibility to hepatocellular carcinoma [J]. OMICS, 2011, 15: 193 - 196.
- [23] Wu LM, Xie HY, Zhou L, et al. A single nucleotide polymorphism in the vascular endothelial growth factor gene is associated with recurrence of hepatocellular carcinoma after transplantation[J]. Arch Med Res, 2009, 40: 565 - 570.
- [24] Qi P, Chen YM, Wang H, et al. -509C > T polymorphism in the TGF- β 1 gene promoter, impact on the hepatocellular carcinoma risk in Chinese patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. Cancer Immunol Immunother, 2009, 58: 1433 - 1440.
- [25] Falletti E, Fabris C, Toniutto P, et al. TGF- β 1 genotypes in cirrhosis: relationship with the occurrence of liver cancer [J]. Cytokine, 2008, 44: 256 - 261.
- [26] Basturk B, Karasu Z, Kilic M, et al. Association of TNF- α -308 polymorphism with the outcome of hepatitis B virus infection in Turkey[J]. Infect Genet Evol, 2008, 8: 20 - 25.
- [27] 宋韶芳, 郜艳晖, 陈思东. TNF- α -308 位点基因多态性与环境因素在 HCC 发生中的交互作用[J]. 广东药学院学报, 2009, 25: 196 - 201.
- [28] 许东奎, 张雪梅, 赵平, 等. COX-2 基因启动子区单核苷酸多态与 HCC 遗传易感性的关系 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2008, 14: 840 - 843.
- [29] 范雪娇, 仇小强, 余红平, 等. COX-2 基因单核苷酸多态性与肝细胞癌关联的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2011, 18: 405 - 409.
- [30] Akkiz H, Bayram S, Bekar A, et al. Functional polymorphisms of cyclooxygenase-2 gene and risk for hepatocellular carcinoma [J]. Mol Cell Biochem, 2011, 347: 201 - 208.

(收稿日期:2012-11-19)

(本文编辑:俞瑞纲)