

# 单核苷酸位点 C19007T 多态性与宫颈癌易感性的相关性分析\*

吴世木, 陈俊, 杨瑞宾, 韦入翠, 陆红, 陈瑞连 (贵州省兴义市人民医院检验科 562400)

**【摘要】目的** 探讨核苷酸切除修复交叉互补基因 1(ERCC1)单核苷酸多态性(SNP)位点 C19007T 与宫颈癌易感性的相关性。**方法** 选择 48 例宫颈癌患者(宫颈癌组)和 48 例无宫颈病变的健康者(对照组),采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术分析 C19007T 位点多态性,运用 Logistic 回归模型分析 C19007T 位点多态性与宫颈癌易感性的相关性。**结果** C19007T 位点扩增片段酶切后可产生 CC、CT 和 TT 三种基因型;宫颈癌组 CC、CT 和 TT 基因型频率分别为 52.08%、33.33%、14.58%,对照组分别为 64.58%、31.25%、4.17%,基因型频率组间比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );宫颈癌组 C、T 基因频率分别为 68.75%、31.25%,对照组分别为 80.21%、19.79%,组间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ );加性遗传模型下,C19007T 位点多态性预测宫颈癌的比值比达到 3.78( $P < 0.05$ )。**结论** 宫颈癌的发生与 ERCC1 基因 C19007T 位点多态性存在一定相关性,C19007T 位点基因型 TT 和等位基因 T 可增加宫颈癌的易感性,该位点可作为宫颈癌风险预测的指标。

**【关键词】** 宫颈癌; 单核苷酸多态性; 核苷酸切除修复交叉互补基因 1; C19007T

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.04.027 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)04-0495-02

宫颈癌是最常见的妇科恶性肿瘤之一。虽然近年来宫颈癌的病死率有所下降,但其发病率却呈上升趋势<sup>[1]</sup>。加强宫颈癌早期风险预测,对于降低其发病率具有重要意义<sup>[2]</sup>。宫颈癌的发生与 DNA 损伤修复能力异常相关。核苷酸切除修复交叉互补基因 1(ERCC1)是一种重要的 DNA 损伤修复基因。已有研究发现,ERCC1 基因单核苷酸多态性(SNP)位点突变可导致 ERCC1 表达水平的异常,从而影响肿瘤易感性<sup>[3]</sup>。本研究探讨了 ERCC1 基因 C19007T 位点与宫颈癌易感性的关系,以及为宫颈癌早期风险预测提供新的指标,现将研究结果报道如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2011 年 3 月至 2013 年 6 月本院妇科收治的宫颈癌患者 48 例纳入宫颈癌组,所有患者均经组织病理学检查确诊,年龄 39~56 岁,平均(43.72±9.64)岁;组织学类型包括鳞癌 35 例(72.92%),腺癌 6 例(12.50%),腺鳞癌 5 例(10.42%),其他 2 例(4.17%);按国际妇科肿瘤组织(FIGO)2000 年临床分期标准,临床病理分期为 I 期 30 例(62.50%),II 期 15 例(31.25%),III 期 2 例(4.17%),IV 期 1 例(2.08%)。同期于本院接受健康体检,且未检出宫颈病变的健康女性 48 例纳入对照组,年龄 38~55 岁,平均(44.29±8.95)岁。所有入选对象均为汉族。受试对象年龄分布比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。

## 1.2 方法

**1.2.1 提取基因组 DNA** 采用一次性真空乙二胺四乙酸二钾抗凝采血管采集所有受试对象晨起空腹静脉血 3~5 mL,采用 TIANamp 试剂盒提取血液基因组 DNA,于-80℃保存。

**1.2.2 基因分型** 通过 Ensembl 数据库查找 C19007T 位点序列,利用 Primer Premier 5.0 软件设计聚合酶链反应(PCR)扩增引物,上游引物序列为 3'-ACT TGT GAA GGA CGG GAG T-5',下游引物序列为 3'-GTC ACA AGA CCT GAC

AAG ATA CTC-5',引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。采用 PCR-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)基因分型方法对 C19007T 位点多态性进行分型,扩增目标片段长度为 545 bp。PCR 扩增体系为 25 μL,包括 20 ng DNA 模板、0.25 μmol/L 引物、1 U Tag DNA 聚合酶、0.4 mmol/L dNTP 和 2 mmol/L MgCl<sub>2</sub>。PCR 扩增条件为 94℃ 2 min,94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 40 s 循环 35 次,72℃ 6 min。取 4 μL PCR 扩增产物,在 1% 琼脂糖凝胶中电泳,采用紫外分析仪检测 PCR 产物电泳结果。利用 1 U Bsr D I 限制性内切酶对 PCR 扩增产物进行酶切,37℃ 水浴过夜后,采用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测酶切结果。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理和统计学分析。采用拟和优度卡方检验分析 C19007T 位点在宫颈癌组和对照组中的基因型频率分布是否符合 Hardy-Weinberg 平衡法则,采用卡方检验比较两组基因和基因型频率的差异,采用 Logistic 回归模型分析 C19007T 位点基因和基因型频率与宫颈癌易感性的相关性;所有统计检验均为双侧检验, $P < 0.05$  为比较差异具有统计学意义。

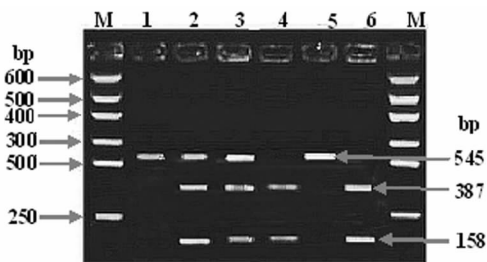
## 2 结果

**2.1 C19007T 位点酶切多态性和基因分型结果** 对照组和宫颈癌组检测结果均显示 C19007T 位点存在多态性。C19007T 位点扩增片段大小为 545 bp,Bsr D I 酶切后可产生 3 种基因型,分别是 CC、CT 和 TT。CC 基因型为 1 条片段,大小为 545 bp;TT 基因型为 2 条片段,大小分别为 158、387 bp;CT 基因型为 3 条片段,大小分别为 545、387、158 bp。见图 1。

**2.2 C19007T 位点等位基因和基因型频率分布** 宫颈癌组 CC、CT 和 TT 基因型频率分别为 52.08%、33.33%、14.58%,对照组分别为 64.58%、31.25%、4.17%,基因型频率组间比较差异具有统计学意义( $\chi^2 = 4.53, P < 0.05$ )。宫颈癌组 C、T 基因频率分别为 68.75%、31.25%,对照组分别为 80.21%、

\* 基金项目:贵州省黔西南州重点科研项目(2012-39)。

19.79%，基因频率分布组间比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 5.87, P < 0.05$ )。C19007T 位点等位基因和基因型频率分布，见表1。对 C19007T 位点的基因型分布进行 Hardy-Weinberg 平衡检测，卡方值分别为 0.637 和 0.654，*P* 值分别为 0.137 和 0.254，均符合 Hardy-Weinberg 平衡法则，且吻合度良好( $P > 0.05$ )，说明研究样本具有群体代表性。



注：M 为 DNA 分子标记物；1、5 为 CC 基因型；2、3 为 CT 基因型；4、6 为 TT 基因型。

图 1 C19007T 位点 PCR 扩增产物酶切片段电泳结果

表 1 C19007T 位点等位基因和基因型频率分布[n(%)]

组别	基因型			等位基因	
	CC	CT	TT	C	T
对照组	31(64.58)	15(31.25)	2(4.17)	77(80.21)	19(19.79)
宫颈癌组	25(52.08)	16(33.33)	7(14.58)	66(68.75)	30(31.25)

### 2.3 C19007T 位点多态性与宫颈癌易感性的相关性分析

在加性、显性和隐性三种遗传模型下，对总体样本 ERCC1 基因 C19007T 位点多态性与宫颈癌患病风险进行 Logistic 回归分析，结果见表 2。在加性遗传模型下，C19007T 位点多态性预测宫颈癌的比值比(OR)达到 3.78( $P < 0.05$ )，对性别、年龄、体质指数(BMI)进行校正后，C19007T 位点多态性预测宫颈癌的 OR 为 3.54( $P < 0.05$ )。在显性和隐性模型下，OR 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 2 不同遗传模型中 C19007T 位点多态性与宫颈癌易感性相关性分析

遗传模型	OR	95%置信区间		<i>P</i>	OR*	95%置信区间*		<i>P</i> *
		下限	上限			下限	上限	
显性模型	0.85	0.472	2.173	0.659	0.75	0.371	2.021	0.692
加性模型	3.78	0.711	3.401	0.039	3.54	0.837	3.175	0.041
隐性模型	0.94	0.622	1.498	0.355	0.78	0.459	1.520	0.217

注：\* 表示校正年龄、性别、BMI 后的 OR、95%置信区间和 *P* 值。

### 3 讨论

已有研究证实，宫颈癌的发生与人乳头瘤病毒(HPV)感染密切相关<sup>[4]</sup>。然而，仅有小部分的 HPV 感染者发生宫颈癌。因此，个体的遗传特征有可能是影响宫颈癌易感性的决定性因素<sup>[5]</sup>。SNP 是最为常见的一种遗传变异，也是导致个体间差异的遗传物质基础，例如对宫颈癌等恶性肿瘤的易感性差异。研究表明，DNA 损伤修复基因对于保证基因组的稳定性和避免 DNA 复制过程中发生碱基错配起着重要作用<sup>[6]</sup>。DNA 修复能力低下或缺陷可导致无法对受损 DNA 进行有效和及时修复，进而引起基因突变和细胞癌变，增加个体罹患肿

瘤的危险性。个体间 DNA 修复能力的差异主要取决于 DNA 修复基因的多态性，因而 DNA 修复基因的多态性可能是决定肿瘤易感性的重要因素<sup>[7]</sup>。ERCC1 基因是一种重要的 DNA 损伤修复基因，已有研究发现 ERCC1 基因 SNP 位点突变可改变 ERCC1 蛋白的表达水平，进而影响肿瘤易感性<sup>[8]</sup>。

本研究探讨了宫颈癌患者和健康者 ERCC1 基因 C19007T 位点的多态性，结果发现 C19007T 位点扩增片段酶切后可产生 CC、CT 和 TT 三种基因型，且宫颈癌患者和健康者 CC、CT 和 TT 基因型和基因频率比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )，表明宫颈癌患者和健康者 ERCC1 基因 C19007T 位点确实存在多态性；进一步对 C19007T 位点的多态性与宫颈癌易感性的进行相关性分析，结果发现 C19007T 位点多态性预测宫颈癌的 OR 达到 3.78( $P < 0.05$ )，表明 C19007T 位点多态性与宫颈癌的发生存在密切关系，其中 C19007T 位基因型 TT 和等位基因 T 有可能增加宫颈癌的易感性，因此，该位点可作为预测宫颈癌发病风险的指标，这与熊兴东等<sup>[9]</sup>的研究结果一致。

C19007T 位点突变可导致密码子 AAC 变为 AAT，尽管没有改变所编码的氨基酸(天冬酰胺)，但是 T 等位基因的存在可能会影响 mRNA 的稳定性，导致 ERCC1 19007T 的 mRNA 水平下降 50%<sup>[10]</sup>。在卵巢癌细胞系中，T 等位基因与 ERCC1 mRNA 低表达相关，提示 T 等位基因也可能降低 DNA 修复能力<sup>[11]</sup>。有研究报道，ERCC1 G19007A 位点的 TT 基因型或含 T 等位基因的单倍型均可显著增加食管癌、乳腺癌、肺癌等恶性肿瘤的发病风险<sup>[12]</sup>。

综上所述，笔者认为宫颈癌的发生与 ERCC1 基因 C19007T 位点多态性存在一定的相关性，C19007T 位点基因型 TT 和等位基因 T 可增加宫颈癌的易感性，该位点可作为宫颈癌风险预测的指标。

### 参考文献

- [1] 李琦, 胡昌华, 张婧. 宫颈脱落细胞 RASSF1A 基因甲基化在宫颈癌中的临床意义[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(12): 1518-1519.
- [2] 焦夕琴. 宫颈癌患者白细胞抗原-DRB1 与-DQB1 与人乳头瘤病毒 16 感染的关系[J]. 检验医学与临床, 2012, 9(8): 957-958.
- [3] Ivansson EL, Juko-Pecirep I, Gyllensten UB. Interaction of immunological genes on chromosome 2q33 and IFNG in susceptibility to cervical cancer[J]. Gynecol Oncol, 2010, 116(3): 544-548.
- [4] Tibaldi C, Giovannetti E, Vasile E, et al. Correlation of CDA, ERCC1 and XPD polymorphisms with response and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(6): 1797-1803.
- [5] 王宁, 张扬, 张淑兰. TNF- $\alpha$  基因 rs1800629 位点多态性与汉族人群子宫颈癌发生风险无关[J]. 中国医科大学学报, 2012, 41(8): 730-733.
- [6] 洪小山, 曾俐琴, 罗喜平. hEXO1A238G 基因多态性与宫颈癌的易感相关性研究[J]. 广东医学, 2012, 33(2): 188-191.

影响<sup>[7-8]</sup>。

氟芬那酸丁酯软膏还有较强的镇痛作用。其镇痛机制是因为前列腺素是导致疼痛的重要炎性介质之一,前列腺素生成增多即可导致疼痛感应器更加敏感,也可促进缓激肽等炎性介质的致疼痛作用,氟芬那酸丁酯软膏可抑制前列腺素的生成,从而发挥镇痛作用。

氟芬那酸丁酯软膏也具有止痒作用。其止痒的机制是因为组织胺是导致瘙痒的最主要的炎性介质,前列腺素可以降低组织胺致瘙痒的阈值,氟芬那酸丁酯软膏抑制前列腺素的生成,从而具有止痒的功效。

氟芬那酸丁酯软膏治疗唇炎的优势在于该软膏作用于皮肤黏膜浅层,在皮肤黏膜 200~600 μm 处的吸收量最大,且在用药后 24 h 之内,皮肤黏膜对氟芬那酸丁酯的吸收量持续增加,用药后 24 h 时,吸收量可达到峰值,而且大约 93% 左右的被皮肤黏膜所吸收的药物仍以原型存在。氟芬那酸丁酯软膏治疗唇炎的另一优势是不影响创面的愈合,不会对皮肤黏膜的正常生理活动造成影响,不会对皮肤黏膜内的朗格汉斯细胞等免疫细胞的免疫反应进程产生影响。除此外,氟芬那酸丁酯软膏为“油包水”剂型,有一定的抗角化作用,同时因为“油包水”的特殊作用,还可缓解皮脂腺功能减退等引起的皮肤黏膜干燥症状。目前,氟芬那酸丁酯软膏已应用于湿疹、神经性皮炎、激素依赖性皮炎等疾病的治疗<sup>[9-15]</sup>。

本研究结果显示,经过为期 14 d 的治疗后,研究组患者唇部黏膜充血、肿胀、皲裂、脱屑、灼痛明显改善,皮损面积减少,且治疗总有效率亦高于对照组( $P < 0.05$ )。

综上所述,氟芬那酸丁酯软膏结合中药口服治疗剥脱性唇炎临床疗效良好,可有效控制病情,无类似于皮质类固醇激素的不良反应,值得临床推广应用。

参考文献

[1] 赵辩. 中国临床皮肤病学[M]. 南京:江苏科学技术出版社,2010:1310-1311.  
 [2] 中国人民解放军总后勤部卫生部. 临床疾病诊断依据治愈好转标准[M]. 2 版. 北京:人民军医出版社,1998:641.  
 [7] Al-Minawi AZ, Lee YF, Hakansson D, et al. The ERRC1/XPF endonuclease is required for completion of homologous recombination at DNA replication forks stalled by inter strand cross links[J]. Nucleic Acids Res, 2011, 37(19):6400-6413.  
 [8] Fernandes MS, Carneiro F, Oliveira C, et al. Colorectal cancer and RASSF family-A special emphasis on RASSF1A[J]. Int J Cancer, 2013, 132(2):251-258.  
 [9] 熊兴东, 古李中, 曾俐琴, 等. DNA 修复基因 ERCC1 C19007T 多态与宫颈癌发生的相关性研究[J]. 实用妇产科杂志, 2010, 26(4):286-289.  
 [10] Nexø BA, Vogel U, Olsen A, et al. A specific haplotype of

[3] 郭盾, 肖红霞. 泻黄散加减治疗剥脱性唇炎 160 例分析[J]. 中国药物与临床, 2004, 4(1):25.  
 [4] 郑蓉. 唇炎的中医辨证治疗[J]. 四川中医, 2006, 24(8):81.  
 [5] 钟赣生. 中药学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2012:192-193.  
 [6] 藤村一, 鹤见介登, 久木浩平. 2-(3-三氟甲基苯胺基)苯甲酸丁酯(HF-264)局部给药治疗抗炎作用[J]. 医用药理, 1979, 17(6):1033-1042.  
 [7] Hitoshi K, Noritake O, Akira O. Clinical effect of HF-264 ointment on atopic dermatitis[J]. Nishi Nihon Hifuka, 1981, 43(2):261-264.  
 [8] Mitsuaki U, Junko M. Clinical experience of HF-264 ointment[J]. Nishi Nihon Hifuka, 1981, 43(2):268-271.  
 [9] 陈晓旭, 李秀岩, 陈国羽, 等. 氟芬那酸丁酯软膏在皮肤科的临床应用[J]. 航空航天医学杂志, 2012, 23(8):977-979.  
 [10] 陶靓. 氟芬那酸丁酯软膏临床应用[J]. 海峡药学, 2012, 24(7):199-201.  
 [11] 李玉良, 彭圣焯. 氟芬那酸丁酯软膏联合肤痒颗粒治疗阴囊激素依赖性皮炎临床观察[J]. 中国皮肤性病杂志, 2010, 24(11):1078-1080.  
 [12] 陈洪岩. 氟芬那酸丁酯软膏治疗皮炎湿疹类皮肤病 58 例疗效观察[J]. 皮肤病与性病, 2010, 32(2):26-27.  
 [13] 颜潇潇, 刘国华, 王振华, 等. 氟芬那酸丁酯软膏治疗慢性湿疹疗效观察[J]. 中国麻风皮肤病杂志, 2010, 26(3):226-227.  
 [14] 路永红, 周谦. 氟芬那酸丁酯软膏治疗 36 例神经性皮炎[J]. 中华皮肤科杂志, 2007, 40(6):388.  
 [15] 何志新, 王家璧, 冯永山, 等. 氟芬那酸丁酯软膏治疗皮炎湿疹的临床观察[J]. 临床皮肤科杂志, 2004, 33(1):52-53.

(收稿日期:2013-09-28 修回日期:2013-11-14)

(上接第 496 页)

[7] Al-Minawi AZ, Lee YF, Hakansson D, et al. The ERRC1/XPF endonuclease is required for completion of homologous recombination at DNA replication forks stalled by inter strand cross links[J]. Nucleic Acids Res, 2011, 37(19):6400-6413.  
 [8] Fernandes MS, Carneiro F, Oliveira C, et al. Colorectal cancer and RASSF family-A special emphasis on RASSF1A[J]. Int J Cancer, 2013, 132(2):251-258.  
 [9] 熊兴东, 古李中, 曾俐琴, 等. DNA 修复基因 ERCC1 C19007T 多态与宫颈癌发生的相关性研究[J]. 实用妇产科杂志, 2010, 26(4):286-289.  
 [10] Nexø BA, Vogel U, Olsen A, et al. A specific haplotype of

single nucleotide polymorphisms on chromosome 19q13. 2-3 encompassing the gene RAI is indicative of postmenopausal breast cancer before age 55[J]. Carcinogenesis, 2011, 24(5):899-904.  
 [11] 李华, 郭红燕, 孙瞳. Fas 和 Fas 配体基因启动子单核苷酸多态性与子宫肿瘤的发病风险[J]. 中华肿瘤杂志, 2009, 31(1):38-41.  
 [12] Deligeorgiou E, Christopoulos P, Aravantinos L, et al. Human papilloma Virus molecular profile and mechanisms of cancerogenesis: a review[J]. Eur J Gynsecol Oncol, 2012, 30(2):128-132.

(收稿日期:2013-09-24 修回日期:2013-11-28)