

• 临床研究 •

NF- κ B1 基因启动子区插入/缺失(ATTG)多态性与膀胱移行细胞癌易感性的关系*

邓显忠, 廖 波, 余晓东, 崔 曙, 姜 果[△]

(川北医学院附属医院泌尿外科, 四川南充 637000)

摘 要:目的 了解核因子- κ B1(NF- κ B1)基因启动子区插入/缺失(ATTG)多态性与膀胱癌易感性的关系。方法 采用聚合酶链反应(PCR)及聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 207 例膀胱移行细胞癌患者(膀胱癌组)和 228 例健康者(对照组)的 NF- κ B1 基因型, 并进行对比分析。结果 膀胱癌组的 ATTG2 等位基因频率(65.2%)明显高于对照组(56.1%, $P=0.006$, $OR=1.465$), 膀胱癌组 ATTG2 等位基因频率是 ATTG1 等位基因频率的近两倍。结论 NF- κ B1 基因启动子区的多态性与膀胱癌移行细胞的易感性有关。

关键词:核因子- κ B; 多态性; 膀胱癌

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.16.015

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)16-1598-03

Association of insertion/deletion(ATTG) polymorphism in the promoter region of NF- κ B1 gene with susceptibility to transitional cell carcinoma of bladder

Deng Xianzhong, Liao Bo, Yu Xiaodong, Cui Shu, Jiang Guo[△]

(Department of Urology, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China)

Abstract: Objective To understand the association of insertion/deletion(ATTG) polymorphism in the promoter region of NF- κ B1 gene with susceptibility to transitional cell carcinoma of bladder. **Methods** Polymerase chain reaction and polyacrylamide gel electrophoresis were employed to detect NF- κ B1 genotypes in 207 patients with transitional cell carcinoma of bladder (bladder carcinoma group) and 228 healthy people (control group), and these NF- κ B1 genotypes were comparatively analyzed. **Results** The frequency of ATTG2 allele in bladder carcinoma group(65.2%) was significantly higher than that of ATTG2 in control group(56.1%, $P=0.006$, $OR=1.465$). In the bladder carcinoma group, the frequency of ATTG2 allele was nearly twice higher than that of ATTG1 allele. **Conclusion** Polymorphism in the promoter region of NF- κ B1 gene is associated with susceptibility to transitional cell carcinoma of bladder.

Key words: nuclear factor-kappa B; polymorphism; bladder carcinoma

膀胱癌是泌尿系统常见的恶性肿瘤之一,发病率在中国居第 10 位,国内外报道膀胱癌的发病率和死亡率逐年增加^[1-2]。其病因尚未完全清楚,可能与种族、环境、基因和饮食等相关^[3]。核因子- κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)是控制凋亡、细胞生长、免疫反应及转录调节的重要因子。一些研究证实 NF- κ B 具有抗凋亡和致癌作用^[4-5]。NF- κ B1 基因启动子区域-94 位点插入/缺失(ATTG)多态性可导致启动子活性降低, NF- κ B1 表达下调^[6], Riemann 等^[7]认为这与膀胱癌的复发有显著相关性。本文将通过病例对照研究的方法探讨 NF- κ B1 基因-94 位点 ATTG 插入/缺失多态性是否与膀胱癌易感性相关。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2007 年 3 月至 2009 年 12 月在本院泌尿外科住院的膀胱移行细胞癌患者 207 例作为膀胱癌组,均经膀胱镜活检确诊,无放、化疗及其他肿瘤病史。本院体检中心健康志愿者 228 例作为对照组。统计研究对象的年龄、性别及吸烟史。Taq DNA 聚合酶、连接酶等购自上海生物工程有限公司,PCR 引物购自 Promega 公司(北京)。

1.2 基因分析 采集研究对象静脉血 5 mL,置于肝素钠血浆真空采血管内抗凝保存。酚-氯仿法提取外周血白细胞基因组 DNA,用 Low DNA Mass Ladder(NEB 公司,美国)进行 DNA 定量,并稀释至 20 ng/ μ L, -20 °C 保存备用。聚合酶链反应

(polymerase chain reaction, PCR)及聚丙烯酰胺凝胶电泳检测 NF- κ B1 基因-94 位点 ATTG 插入/缺失的多态性。引物序列如下:正向 5'-TGG ACC GCA TGA CTC TAT CA-3';反向 3'-GGC TCT GGC TTC CTA GCA G-5'。PCR 反应体系 50 μ L,包括 5 μ L 10 \times PCR 缓冲液,1.5 mmol/L MgCl₂, 0.25 mmol/L dNTPs, 0.5 μ mol/L 引物,100 ng 染色体 DNA,1.5 U Taq DNA 聚合酶。PCR 扩增条件:94 °C 预变性 5 min,然后分别 94、62、72 °C 延伸 45 s,并进行 36 个循环,最后 72 °C 延伸 10 min。用 6% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离出 PCR 产物 4 μ L, 1.5 g/L 硝酸银染色。随机选取 10% 样本进行二次测量,并与前次测定结果比较以控制分析质量。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件, NF- κ B1 基因中-94 位点 ATTG 插入/缺失多态性频率通过直接计数获得,膀胱癌组和对照组基因型分布差异、性别比例和是否有抽烟习惯采用 χ^2 检验进行检测,而年龄和烟龄指数用 t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$,用比值比(odds ratio, OR)和可信区间(confidence interval, CI)表示各种基因型与膀胱癌危险度的相关性。

2 结 果

膀胱癌组和对照组的一般情况见表 1。可见膀胱癌组和对照组在年龄、性别和抽烟习惯方面比较,差异无统计学意义。成功分离 3 种 NF- κ B1 基因-94 位点 ATTG 插入/缺失

* 基金项目:四川省教育厅重点项目(08za167)。 [△] 通讯作者, Tel:13890709899; E-mail:cburology@163.com。

多态性的基因型,包括 ATTG1/ATTG1、ATTG1/ATTG2 和 ATTG2/ATTG2。膀胱癌组和对照组的基因型分布符合哈代-温伯格平衡定律,二者比较,并无明显差异,但 NF-κB1 基因-94 位点 ATTG 的插入/缺失多态性的基因型及等位基因存在差异。见表 2。

膀胱癌组和对照组中出现 ATTG2 等位基因的频率分别是 65.2%和 56.1%,膀胱癌组明显高于对照组($P=0.006$, $OR=1.465$)。两组的 ATTG1/ATTG1、ATTG1/ATTG2 基因表达频率并无明显差异。膀胱癌组 ATTG2/ATTG2 基因型与对照组 ATTG2/ATTG2 基因型相比,差异有统计学意义($P=0.009$, $OR=2.218$,95%CI 为 1.202~3.767)。NF-κB1 基因-94 位点 ATTG 的插入/缺失多态性与膀胱癌具有相关性,

ATTG2是膀胱移行细胞癌的重要危险因素。

表 1 两组研究对象年龄、性别和吸烟史比较		
变量	膀胱癌组	对照组
性别[n(%)]		
男	168(81.2%)*	181(79.4%)
女	39(18.8%)*	47(20.6%)
年龄(±s,岁)	62.3±8.0*	61.5±8.2
抽烟习惯[n(%)]		
无	43(20.8%)*	56(24.6%)
有	164(79.2%)*	172(75.4%)
烟龄指数(±s)	40.4±9.07*	39.0±9.7

* : $P>0.05$,与对照组比较;烟龄指数=每天抽烟包数×烟龄。

表 2 丙组研究对象 NF-κB1 基因多态性的等位基因和基因型分布

变量	膀胱癌组[n(%)]	对照组[n(%)]	P	OR	95%CI
NF-κB1-94 基因					
ATTG1/ATTG1	26(12.6)	46(20.2)	1.000(参考)		
ATTG1/ATTG2	92(44.4)	108(47.4)	>0.050	1.507	0.865~2.627
ATTG2/ATTG2	89(43.0)	74(32.5)	0.009	2.218	1.202~3.767
NF-κB1-94 等位基因					
ATTG1	144(34.8)	200(43.9)	0.006	1.465	1.114~1.927
ATTG2	270(65.2)	256(56.1)			

3 讨 论

有研究表明 NF-κB1 基因多态性与口腔鳞状细胞癌^[8]、鼻咽癌^[9]、结肠直肠癌^[10]和多发性骨髓瘤^[11]相关,徐洁等^[12]的研究也表明 NF-κB1 基因在胆脂瘤组织中的激活可能是中耳胆脂瘤上皮细胞过度增殖的一个原因。目前,基因与膀胱癌发生的关系越来越受到关注,因此,人们开始对基因的多态性与膀胱癌的相关性进行研究^[13-14]。

NF-κB家族包括 5 个成员:p50/p105、p65/RelA、c-Rel、RelB 及 p52/p100,其中 p50/p105 和 p65/RelA 异源二聚体为其主要构成形式,分别由 NF-κB1 和 RelA 基因编码^[15]。有研究表明当 NF-κB 进入细胞核后可调节相关基因的转录过程^[16]。体外培养皮肤黑色素瘤细胞过程中,下调 NF-κB 的表达可有效抑制黑色素瘤细胞的增殖^[17-19],这一实验提示 NF-κB 的下调可抑制癌细胞生长,NF-κB 有调控细胞增殖的作用。NF-κB/I-κB 家族成员在染色体的部分区域频繁表达可改变肿瘤的构成,NF-κB 与肿瘤生长密切相关^[20]。已有研究表明有部分膀胱肿瘤能获得激活 NF-κB 的能力,从而保护肿瘤细胞,使之不会凋亡和死亡,同时可通过上调细胞因子表达而诱发副肿瘤综合征^[21]。

Lin 等^[8]的研究证实 NF-κB1 基因-94 位点 ATTG 插入/缺失多态性与习惯咀嚼槟榔的老年男性(>50 岁)的口腔上皮鳞状细胞癌易感性相关($P=0.003$, $OR=1.78$),本研究参考其研究方法对 NF-κB1 基因启动子区插入/缺失(ATTG)多态性与膀胱移行细胞癌易感性的关系进行了研究,结果显示膀胱移行细胞癌与 NF-κB1 基因中-94 位点 ATTG 的插入/缺失多态性具有明显相关性,ATTG2 个体患膀胱癌的危险性是 ATTG1 个体的 1.465 倍($P=0.006$),ATTG2 纯合子个体较 ATTG1 纯合子个体有更高的膀胱癌易感性($P=0.009$, $OR=2.218$)。ATTG2 多态性在 NF-κB1 基因启动子区十分常见,

这可能对人群中膀胱癌的预测有一定意义。同时,本研究表明膀胱癌组患者的 ATTG2 等位基因频率明显高于对照组,且膀胱癌组 ATTG2 等位基因频率是 ATTG1 等位基因频率的近两倍,由此可认为 NF-κB 的激活与膀胱癌的发生、发展相关。

参考文献:

[1] Yang L, Parkin DM, Li LD, et al. Estimation and projection of the national profile of cancer mortality in China: 1991-2005[J]. Br J Cancer, 2004, 90(11): 2157-2166.

[2] Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics, 2008 [J]. CA Cancer J Clin, 2008, 58(2): 71-96.

[3] Cohen SM, Shirai T, Steineck G. Epidemiology and etiology of premalignant and malignant urothelial changes[J]. Scand J Urol Nephrol Suppl, 2000(205): 105-115.

[4] Beg AA, Sha WC, Bronson RT, et al. Embryonic lethality and liver degeneration in mice lacking the RelA component of NF-kappa B[J]. Nature, 1995, 376 (6536): 167-170.

[5] Neiman PE, Thomas SJ, Loring G. Induction of apoptosis during normal and neoplastic B-cell development in the bursa of Fabricius[J]. Proc Natl Acad Sci USA. , 1991, 88 (13): 5857-5861.

[6] Karban AS, Okazaki T, Panhuysen CI, et al. Functional annotation of a novel NFKB1 promoter polymorphism that increases risk for ulcerative colitis [J]. Hum Mol Genet, 2004, 13(1): 35-45.

[7] Riemann K, Becker L, Struwe H, et al. Insertion/deletion polymorphism in the promoter of NFKB1 as a potential molecular marker for the risk of recurrence in superficial

- bladder cancer[J]. *Int J Clin Pharmacol Ther*, 2007, 45(8):423-430.
- [8] Lin SC, Liu CJ, Yeh WI, et al. Functional polymorphism in NFkB1 promoter is related to the risks of oral squamous cell carcinoma occurring on older male areca(betel) chewers[J]. *Cancer Lett*, 2006, 243(1):47-54.
- [9] Zhou B, Rao L, Li Y, et al. A functional insertion/deletion polymorphism in the promoter region of NFkB1 gene increases susceptibility for nasopharyngeal carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2009, 275(1):72-76.
- [10] Lewander A, Butchi AK, Gao J, et al. Polymorphism in the promoter region of the NFkB1 gene increases the risk of sporadic colorectal cancer in Swedish but not in Chinese populations[J]. *Scand J Gastroenterol*, 2007, 42(11):1332-1338.
- [11] Berenson JR, Ma HM, Vescio R. The role of nuclear factor-kappaB in the biology and treatment of multiple myeloma[J]. *Semin Oncol*, 2001, 28(6):626-633.
- [12] 徐洁, 李朝军, 李增鹏, 等. 核因子- κ B 在中耳胆脂瘤中的表达[J]. *重庆医学*, 2007, 36(3):198-201.
- [13] Mittal RD, Srivastava DS, A M, et al. Genetic polymorphism of drug metabolizing enzymes (CYP2E1, GSTP1) and susceptibility to bladder cancer in North India[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2005, 6(1):6-9.
- [14] Srivastava DS, Mishra DK, Mandhani A, et al. Association of genetic polymorphism of glutathione S-transferase M1, T1, P1 and susceptibility to bladder cancer[J]. *Eur Urol*, 2005, 48(2):339-344.
- [15] Chen F, Castranova V, Shi X, et al. New insights into the role of nuclear factor-kappaB, a ubiquitous transcription factor in the initiation of diseases[J]. *Clin Chem*, 1999, 45(1):7-17.
- [16] Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-kappaB: a pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases[J]. *N Engl J Med*, 1997, 336(15):1066-1071.
- [17] Sunwoo JB, Chen Z, Dong G, et al. Novel proteasome inhibitor PS-341 inhibits activation of nuclear factor-kappa B, cell survival, tumor growth, and angiogenesis in squamous cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(5):1419-1428.
- [18] Loercher A, Lee TL, Ricker JL, et al. Nuclear factor-kappaB is an important modulator of the altered gene expression profile and malignant phenotype in squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(18):6511-6523.
- [19] Yang J, Pan WH, Clawson GA, et al. Systemic targeting inhibitor of kappaB kinase inhibits melanoma tumor growth[J]. *Cancer Res*, 2007, 67(7):3127-3134.
- [20] Baeuerle PA, Henkel T. Function and activation of NF-kappa B in the immune system[J]. *Annu Rev Immunol*, 1994, 12:141-179.
- [21] Sumitomo M, Tachibana M, Ozu C, et al. Induction of apoptosis of cytokine-producing bladder cancer cells by adenovirus-mediated IkappaBalpha overexpression[J]. *Hum Gene Ther*, 1999, 10(1):37-47.

(收稿日期:2010-11-18 修回日期:2011-02-13)

(上接第 1597 页)

- 中的应用进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2006, 27(9):812-813.
- [5] 刘雪梅, 于华凤, 张洪霞. 儿童肾功能损害不同时期血清胱抑素 C 的变化及意义[J]. *山东医药*, 2008, 48(28):76-77.
- [6] 黄赤兵, 张银甫, 冯嘉瑜, 等. 用地尔硫卓提高他克莫司在肾移植中的应用效能[J]. *重庆医学*, 2008, 27(14):1522-1524.
- [7] Polyak MM, Arrington BO, Stubenbord WT, et al. The influence of pulsatile preservation on renal transplantation in the 1990s[J]. *Transplantation*, 2000, 69(2):249-258.
- [8] Costabile RA, Mammen T, Hwang K. An overview and expert opinion on the use of alprostadil in the treatment of sexual dysfunction[J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2008, 9(8):1421-1429.
- [9] 李风, 肖亚, 王平贤. 环孢菌素 A 代以他克莫司延缓移植肾慢性失功临床研究[J]. *重庆医学*, 2009, 38(17):2139-2141.
- [10] Nemes B, Zádori G, Gelley F, et al. Can a cutoff value for cystatin C in the operative setting be determined to predict kidney function after liver transplantation[J]. *Transplant Proc*, 2010, 42(6):2323-2326.
- [11] Lebkowska U, Malyszko J, Lebkowska A, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin C could predict renal outcome in patients undergoing kidney allograft transplantation: a prospective study[J]. *Transplant Proc*, 2009, 41(1):154-157.
- [12] 罗敏琪, 尹小菁, 宋志兴, 等. 联合检测血清胱抑素 C 与微量清蛋白/肌酐比值对早期肾损害的诊断价值[J]. *广东医学*, 2010, 31(3):358-360.
- [13] 于志勇, 董明华, 宋丽艳. 血清胱抑素 C 对 ICU 危重患者急性肾损伤的诊断价值[J]. *山东医药*, 2010, 50(29):32-33.
- [14] Hojs R, Bevc S, Ekart R, et al. Serum cystatin C as an endogenous marker of renal function in patients with chronic kidney disease[J]. *Ren Fail*, 2008, 30(2):181-186.
- [15] Christensson A, Ekberg J, Grubb A, et al. Serum cystatin C is a more sensitive and more accurate marker of glomerular filtration rate than enzymatic measurements of creatinine in renal transplantation[J]. *Nephron Physiol*, 2003, 94(2):19-27.
- [16] 李梅. 血清胱抑素 C 测定的临床应用进展[J]. *检验医学与临床*, 2009, 6(22):1966-1968.

(收稿日期:2010-11-12 修回日期:2011-04-10)