

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.16.015

青海地区藏族 FGFR2 基因多态性与乳腺癌的相关性研究*

沈国双¹, 郑方超², 曹成珠³, 姬发祥², 李进章², 王树燕², 赵久达^{2△}

(1. 青海大学附属医院乳腺甲状腺科, 西宁 810000; 2. 青海大学附属医院肿瘤内科, 西宁 810000; 3. 青海大学医学院, 西安 810000)

[摘要] **目的** 探讨成纤维细胞生长因子受体 2(FGFR2) 基因 rs2981582、rs1219648 和 rs2420946 位点基因多态性与青海地区藏族乳腺癌的相关性。**方法** 采用病例对照研究的方法, 收集青海地区 210 例藏族乳腺癌患者及 230 例藏族体检健康女性的外周血标本, 提取基因组 DNA, 以 Taqman-MGB 探针 PCR 法及测序方法对两组标本的 FGFR2 基因 rs2981582、rs1219648 和 rs2420946 位点进行统计分型, 分析其与青海地区藏族乳腺癌发病风险的关系。**结果** 藏族乳腺癌患者 rs 2981582 位点 CC、CT、TT 频率分别为 40.48%、39.05%、20.47%, 健康对照组为 36.09%、48.69%、15.22%, 藏族乳腺癌患者 rs1219648 位点 GG、AG、AA 频率分别为 24.76%、26.19%、49.05%, 健康对照组为 23.91%、47.39%、28.70%, 藏族乳腺癌患者 rs2420946 位点 CC、CT、TT 频率分别为 29.05%、45.24%、25.71%, 健康对照组为 30.87%、51.74%、17.39%。两组 rs2981582 和 rs2420946 各基因型位点基因型频率差异均无统计学意义($P>0.05$), 但存在于 rs1219648 位点的 AA 基因型其频率差异有统计学意义($P<0.05$), 与 GG 基因型比较, AA 基因型携带的女性发生乳腺癌的危险性增加[OR=1.65, 95%CI=(1.01, 2.69)]。**结论** FGFR2 rs1219648 AA 基因型与青海地区藏族女性乳腺癌发病风险有关。

[关键词] FGFR2; 基因多态性; 乳腺肿瘤; 藏族**[中图分类号]** R394.5**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)16-2209-03

The correlation study between FGFR2 gene polymorphisms and breast cancer in Qinghai Tibetan areas*

Shen Guoshuang¹, Zheng Fangchao², Cao Chengzhu³, Ji Faxiang², Li Jinzhang², Wang Shuyan², Zhao Jiuda^{2△}

(1. Department of Breast Thyroid Surgery, the Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining, Qinghai 810000, China; 2. Department of Medical Oncology, the Affiliated Hospital of Qinghai University, Xining, Qinghai 810000, China; 3. Medical College of Qinghai University, Xining, Qinghai 810000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between the fibroblast growth factor 2 (FGFR2) gene polymorphism (rs 2981582, rs 1219648, rs 2420946) and the breast cancer risk in Tibetan population, Qinghai province. **Methods** This is a case control study. Peripheral blood samples from 210 breast cancer patients and 230 healthy women in Qinghai area were collected. DNA samples were extracted from peripheral blood cells. FGFR2 gene polymorphism (rs 2981582, rs 1219648, rs 2420946) were typed by Taqman-MGB probe based on PCR and DNA sequencing, then analyzed its correlation with breast cancer in Tibetan population, Qinghai province. **Results** The genotype frequencies of rs 2981582 CC, CT and TT were 40.48%, 39.05% and 20.47% among the breast cancer patients while 36.09%, 48.69% and 15.22% among the controls. The genotype frequencies of rs 1219648 GG, AG and AA were 24.76%, 26.19% and 49.05% among the patients while 23.91%, 47.39% and 28.70% among the controls. The genotype frequencies of rs 2420946 CC, CT and TT were 29.05%, 45.24% and 25.71% among the patients while 30.87%, 51.74% and 17.39% among the controls. The genotype frequencies of all genetic loci had no significant difference between rs 2981582 and rs 2420946 ($P>0.05$). But the genotype frequencies of rs 1219648 AA have statistical sense ($P<0.05$), compared with GG, the incidence of breast cancer was remarkably increased with AA [OR=1.65, 95%CI=(1.01, 2.69)]. **Conclusion** This study shows that FGFR2 rs1219648 AA is related to breast cancer risk among Tibetan population.

[Key words] FGFR2; gene polymorphism; breast neoplasms; Zang nationality

乳腺癌的发病率约占女性恶性肿瘤的 23%。以往乳腺癌在我国低发, 但近年发病逐年升高, 乳腺癌的发病已跃居于威胁女性健康的恶性肿瘤首位。乳腺癌病因尚不完全明确, 发病机制复杂, 研究普遍认为乳腺癌的发生、发展与基因和环境的共同作用有直接的联系。研究发现, FGFR2 基因 rs2981582、rs1219648 和 rs2420946 中等位点单核苷酸多态性与乳腺癌发病具有相关性^[1-2]。FGFR2 基因多态性的研究为临床预防和

治疗乳腺癌的提供了可能。目前, 尚未见 FGFR2 基因与藏族乳腺癌相关性的报道。本研究利用 Taqman-MGB 探针 PCR 法及测序方法检测青海地区藏族女性 FGFR2 基因 rs2981582、rs1219648 和 rs2420946 位点的多态性, 分析其与藏族地区乳腺癌发病的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 采集自 2008 年 10 月至 2014 年 10 月住院的

表 1 青海地区藏族 FGFR2 基因多态性与乳腺癌的关系[n(%)]

| 组别 | rs2981582 | | | rs1219648 | | | rs2420946 | | |
|-----------|---------------------------------------|------------|-----------|---------------------------------------|------------|------------|---------------------------------------|------------|-----------|
| | CC | CT | TT | GG | AG | AA | CC | CT | TT |
| 病例组 | 85(40.48) | 82(39.05) | 43(20.47) | 52(24.76) | 55(26.19) | 103(49.05) | 61(29.05) | 95(45.24) | 54(25.71) |
| 健康对照组 | 83(36.09) | 112(48.69) | 35(15.22) | 55(23.91) | 109(47.39) | 66(28.70) | 71(30.87) | 119(51.74) | 40(17.39) |
| OR(95%CI) | 0.715(0.472~1.083) 1.200(0.700~2.057) | | | 0.534(0.324~0.879) 1.651(1.012~2.692) | | | 0.929(0.601~1.437) 1.571(0.922~2.678) | | |
| P | 0.113 0.508 | | | 0.013 0.044 | | | 0.741 0.096 | | |

的 210 例藏族乳腺癌患者(病例组),各患者均就诊于青海大学附属医院,且他们之间无血缘关系。术后取活检,送往病理科,做病理组织学检验,入选的各患者此前都未行放疗或化疗,病例组平均年龄(54±6)岁。同期,采集本院健康体检的 230 例青海地区藏族女性外周血标本(健康对照组),平均年龄(53±6)岁,年龄与病例组匹配。获取的标本冷冻于液氮瓶中,然后调整液氮温度到-70℃备用。所有患者及健康的体检者均由试验的参与者或其家属签署了知情同意书,为求进一步完善试验,此项研究获得青海大学附属医院研究伦理委员会许可,审查合格予以进行试验研究。

1.2 方法

1.2.1 外周血基因组 DNA 的提取 外周血中基因组 DNA 的提取符合文献操作规范^[2]。

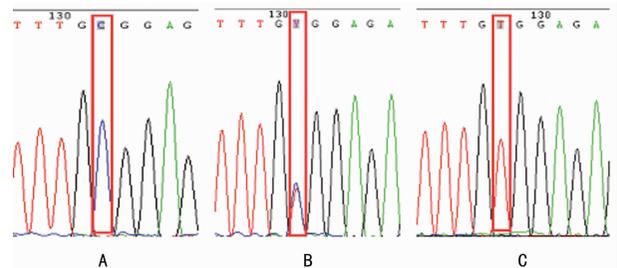
1.2.2 基因分型 以 FGFR2 的基因组序列(GenBank association number:NC_000010.10)为依据,分别设计了 FGFR2 基因扩增 rs2981582、rs1219648 和 rs2420946 的全套引物和探针。使用 Taqman-MGB 探针 PCR 法进行 SNP 分型。PCR 总反应体积为 5 μL,包括 100 ng/mL DNA 模板 1 μL,上下游引物分别 0.1 μL、0.1 μL, TaqMan 探针 0.1 μL, 2.5 μL 反应混合物,双蒸水 1.2 μL。在 ABI Prism 7900HT 型荧光定量 PCR 仪上反应,反应条件为:95℃ 温度下预变性 10 min;95℃ 变性 15 s,60℃ 循环 30 s,总共执行 40 个循环。仪器启动后自动收集荧光信号,应用 SDS 软件分析得出 SNP 的分型结果。结果分析:双盲法为前提,运用统计学中单纯随机法原理,选取样本中 10% 的病例个体,多次重复检验,结果显示完全一致。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件中的 Hardy-Weinberg 平衡对各个基因型的分布频率进行分析,采用 χ^2 检验表示健康对照组 FGFR2 基因 rs2981582、rs1219648 和 rs2420946 和青海藏族乳腺癌发病风险的关系。用风险比(OR)及 95%CI 来表示相对危险度。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

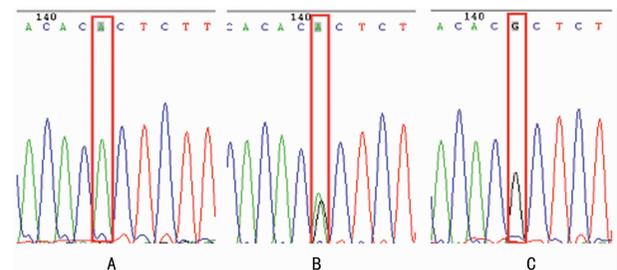
2.1 Hardy-Weinberg 平衡的检验结果 健康对照组的基因型分布频率经数据整理,分析显示符合 Hardy-Weinberg 平衡($\chi^2 = 1.50, P > 0.05$),表明人组样本具有群体代表性。

2.2 基因分型结果 在病例组患者与健康对照组中,检测了 FGFR2 基因 3 个 SNP 位点多态性,其基因频率见表 1。FGFR2 基因的 rs2981582、rs1219648 和 rs2420946 位点,分别以野生型 CC、GG 和 CC 基因型为参照,可见 rs1219648 位点 AA 基因型增加患乳腺癌的风险($P < 0.05$),而 rs2981582 和 rs2420946 位点各基因型均未增加乳腺癌风险($P > 0.05$)。另外,抽取 5% 病例测序验证,结果均符合,rs2981582、rs1219648 和 rs2420946 位点的测序,见图 1~3。



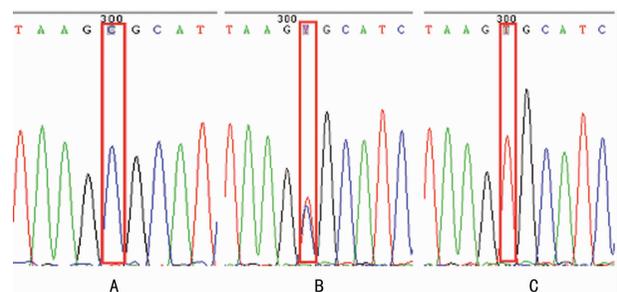
A: C/C 基因型 CC; B: T/C 杂合基因型 CT; C: T/T 基因型 TT。

图 1 rs2981582 位点测序图



A: A/A 基因型 AA; B: A/G 杂合基因型 AG; C: G/G 基因型 GG。

图 2 rs1219648 位点测序图



A: C/C 基因型 CC; B: T/C 杂合基因型 CT; C: T/T 基因型 TT。

图 3 rs2420946 位点测序图

3 讨论

乳腺癌的发生、发展是一个极为复杂的过程,目前认为环境和基因共同在乳腺癌的发生、发展中起了重要的作用^[3-4]。FGFR2 是新近发现的与乳腺癌发病有关的基因之一。FGFR2 来源于纤维母细胞生长因子受体家族,是一种蛋白质编码的基因,在胚胎生长和细胞的修复中发挥了重要的作用,尤其是在骨骼和血管中大量存在。FGFR2 在乳腺癌的肿瘤的生长中起着重要的作用,可以提供乳腺癌治疗的新方法的发展。2007 年 Easton 等^[2]利用全基因组关联研究(GWAS)发现了 5 个乳腺癌的易感区域,2015 年由 Michailidou 等^[5]对 12 万份标本研究发现 15 个新的易感区域,尽管有大量的此类研究,但与乳腺癌发病关系最密切的是位于 FGFR2(rs2981582)和 TNRC9

(rs3803662)基因上的多态性位点^[1]。之后国内外进行了一些有关 FGFR2 与乳腺癌发病风险的研究,且在 Hunter 等^[6]的研究中,选取的病例组 1 145 例和健康对照组的 1 142 例,表明 FGFR2 基因多态性与乳腺癌发病密切相关^[6]。

本研究发现,FGFR2 基因 rs2981582 和 rs2420946 多态性在病例组和健康对照组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而病例组患者 FGFR2 基因 rs1219648 和健康对照组 AA 基因型携带间差异有统计学意义($\chi^2 = 4.16, P < 0.05$)。病例组藏族乳腺癌 AA 基因型的女性发生的危险性增加 [OR=1.65, 95%CI(1.01, 2.69)]。

本研究结果 FGFR21219648 基因与藏族乳腺癌有相关性与 Andersen 等^[7]的研究一致。Andersen 等^[7]通过研究 869 例乳腺癌和 808 例对照组后发现,FGFR21219648 增加美国女性乳腺癌发病风险,且与既往雌激素及孕激素治疗无关。与此同时, Saadatian 等^[8]选取了 100 例患病女性乳腺癌患者组和 100 例健康的伊朗健康女性进行试验研究,同样证实了 rs1219648 增加了伊朗女性乳腺癌的发病。而 FGFR2 基因 rs2981582 和 rs2420946 与藏族乳腺癌不存在相关性,与国内 Liang 等^[9],国外 Raskin 等^[10]研究不一致,以上两位研究者的结论都是有相关性。分析原因可能为:(1)病例选择的局限性。本课题选择的样本乳腺癌均来自于本院,对照组来自于本院体检健康人群,提示选择偏倚的存在。(2)样本量偏小。由于藏族乳腺癌患者少,本课题选取的总体例数相对较小,而在国外,如 Michailidou 等^[5]的研究样本量较大,因此也可能导致统计学上的差异。(3)FGFR2 的基因多态性与肿瘤的关系,在不同种族和民族可能有差异。本研究选择的人群为青海藏族,而其他作者选择的是中国汉族或者国外人群。(4)病例选择上年龄区间的问题,病例组选择的是(54±6)岁的藏族乳腺癌患者,健康对照组选择的是(54±6)岁的健康藏族人,所以在病例年龄的选择上具有一定的局限性,下一步可考虑扩大试验组年龄范围。(5)未进行区域饮食环境的划分,在 Murillo-Zamora 等^[11]的研究中发现,rs2981582 单基因多态性与乳腺癌的发病相关,且与饮酒有相关性,并且酒精和乳腺癌发病有高度的相关性有其他充分的证据^[12-13],为以后增加酒精饮食组和非酒精饮食组的划分提供数据依据。

综上所述,本研究发现存在 FGFR2 rs1219648 基因多态性的青海藏族女性,乳腺癌的发病相应的显著增加,由于不同种族的遗传背景,以及饮食存在差异,再者,由于病例对照试验的局限性,需要以后扩大样本量及增加与其他人群年龄组的对照研究,才能为以后乳腺癌的防治提供更多临床的依据。

参考文献

[1] Garcia-closas M, Hall P, Nevanlinna H, et al. Heterogeneity of breast cancer associations with five susceptibility loci by clinical and pathological characteristics [J]. *PLoS Genetics*, 2008, 4(4): e1000054.

[2] Easton DF, Pooley KA, Dunning AM, et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer suscepti-

bility loci [J]. *Nature*, 2007, 447(7148): 1087-1093.

- [3] 赵洪猛, 张斌, 姚慧, 等. FGFR2 基因多态性与乳腺癌易感性的相关性研究 [J]. *中国肿瘤临床*, 2010, 37(11): 626-629.
- [4] Basse C, Arock M. The increasing roles of epigenetics in breast cancer: Implications for pathogenicity, biomarkers, prevention and treatment [J]. *Int J Cancer*, 2015, 137(12): 2785-2794.
- [5] Michailidou K, Beesley J, Lindstrom S, et al. Genome-wide association analysis of more than 120,000 individuals identifies 15 new susceptibility loci for breast cancer [J]. *Nature Genetics*, 2015, 47(4): 373-380.
- [6] Hunter DJ, Kraft P, Jacobs KB, et al. A genome-wide association study identifies alleles in FGFR2 associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer [J]. *Nature Genetics*, 2007, 39(7): 870-874.
- [7] Andersen SW, Trentham-Dietz A, Figueroa JD, et al. Breast cancer susceptibility associated with rs1219648 (fibroblast growth factor receptor 2) and postmenopausal hormone therapy use in a population-based United States study [J]. *Menopause*, 2013, 20(3): 354-358.
- [8] Saadatian Z, Ghahsouran J, Ghajzadeh MA, et al. Association of rs1219648 in FGFR2 and rs1042522 in TP53 with premenopausal breast cancer in an Iranian Azeri population [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(18): 7955-7958.
- [9] Liang J, Chen P, Hu Z, et al. Genetic variants in fibroblast growth factor receptor 2 (FGFR2) contribute to susceptibility of breast cancer in Chinese women [J]. *Carcinogenesis*, 2008(29): 2341-2346.
- [10] Raskin L, Pinchev M, Arad C, et al. FGFR2 is a breast cancer susceptibility gene in Jewish and Arab Israeli populations [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008, 17(5): 1060-1065.
- [11] Murillo-Zamora E, Moreno-Macias H, Ziv E, et al. Association between rs2981582 polymorphism in the FGFR2 gene and the risk of breast cancer in Mexican women [J]. *Arch Med Res*, 2013, 44(6): 459-466.
- [12] Beasley JM, Coronado GD, Livaudais J, et al. Alcohol and risk of breast cancer in Mexican women [J]. *Cancer Causes Control*, 2010, 21(6): 863-870.
- [13] Huang YL, Chou WC, Hsiung CN, et al. FGFR2 regulates Mre11 expression and double-strand break repair via the MEK-ERK-POU1F1 pathway in breast tumorigenesis [J]. *Hum Mol Genet*, 2015, 24(12): 3506-3517.

(收稿日期: 2015-12-08 修回日期: 2016-02-22)