

MUC6 基因多态性与幽门螺旋杆菌感染的关联性研究*

高芳¹, 秦金东¹, 马立聪^{1,2}, 刘得利¹, 李晶晶³, 贾彦彬^{1,2△}

(1. 包头医学院, 内蒙古包头 014040; 2. 包头医学院第二附属医院内蒙古消化病研究所, 内蒙古包头 014030; 3. 包钢第三职工医院检验科, 内蒙古包头 014010)

[摘要] **目的** 探讨 MUC6 基因的常见多态性与幽门螺旋杆菌(*H. pylori*)感染的相关性。**方法** 选取 2008 年 9 月至 2010 年 6 月包头医学院第一附属医院体检者 281 例为研究对象。采用酶联免疫吸附试验检测 *H. pylori* 的感染情况; TaqMan 法对 6 个 Tag-SNP 进行基因分型; 评估各基因型、等位基因及单体型与 *H. pylori* 感染的关系。**结果** 所有检测 SNP 位点的等位基因在 *H. pylori* 感染阳性和阴性人群中的分布差异无统计学意义($P>0.05$), 基因型与 *H. pylori* 感染无关联, 各单体型在 *H. pylori* 感染阳性和阴性人群中的分布差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** MUC6 基因的常见 SNP 可能在 *H. pylori* 感染的发生中不起主要作用。

[关键词] MUC6; 多态性, 单核苷酸; 螺杆菌, 幽门; 关联**[中图分类号]** R34 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2019)06-0949-04

Correlation between MUC6 gene polymorphism and helicobacter pylori infection*

GAO Fang¹, QIN Jindong¹, MA Licong^{1,2}, LIU Deli¹, LI Jingjing³, JIA Yanbin^{1,2△}

(1. Baotou Medical College, Baotou, Inner Mongolia Autonomous Region 014040, China;

2. Inner Mongolia Institute of Digestive Diseases, Second Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou, Inner Mongolia Autonomous Region 014030, China; 3. Department of Clinical Laboratory, Third Worker Hospital of Baogang Group, Baotou, Inner Mongolia Autonomous Region 014010, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation between the common polymorphisms of the MUC6 gene and Helicobacter pylori (*H. pylori*) infection. **Methods** A total of 281 persons undergoing the physical examination in the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College from September 2008 to June 2010 were selected as the study subjects. The *H. pylori* infection situation was tested by ELISA method, and 6 Tag-SNPs conducted the genotyping by using the TaqMan method. Then the relationship between various genotypes, alleles and haplotypes with *H. pylori* infection was evaluated. **Results** The distribution of alleles in all detected SNP loci had no statistical difference between the positive population and negative population with *H. pylori* infection ($P>0.05$). Genotypes were not associated with *H. pylori* infection. There was no significant difference in the distribution of monomers between positive and negative populations ($P>0.05$). **Conclusion** The common SNP in MUC6 gene might not make a major role in *H. pylori* infection.

[Key words] MUC6; polymorphism, single nucleotide; helicobacter pylori; association

幽门螺旋杆菌(*H. pylori*)是一革兰阴性菌, 选择性地寄居在胃黏膜层, 引起浅表性胃炎, 增加人体发生萎缩性胃炎、肠上皮化生及胃癌的风险^[1]。1994 年, 世界卫生组织把 *H. pylori* 定为胃的 I 类致癌原。大量的研究表明: *H. pylori* 感染引发的慢性炎症与胃癌的发生和发展关系密切^[2-3]。

黏蛋白是一种在黏膜黏液层分布的高度糖基化的蛋白, 覆盖于上皮组织表面^[4], 对正常的胃黏膜起润滑和保护作用。研究表明, 正常胃黏膜的胃体颈黏

液细胞和腺体主要表达黏蛋白 MUC6^[5]。同时研究显示: *H. pylori* 感染还能够改变 MUC6 基因表达^[6]。而且, 在胃癌的发生过程中 MUC6 基因异常表达^[7]。然而, 这一相关性是否是 MUC6 基因多态性通过影响 *H. pylori* 感染引起的未见报道。本研究主要采用标记单核苷酸多态性(tag-single nucleotide polymorphism, Tag-SNP)途径, 研究在内蒙古包头地区汉族人群中, MUC6 基因多态性与 *H. pylori* 感染的关联性。

* 基金项目: 国家自然科学基金(30960169, 81250024, 81650017); 内蒙古自然科学基金(2017MS[LH]0807); 包头医学院科学研究基金项目(BYJJ-DF-201603)。作者简介: 高芳(1982-), 讲师, 硕士, 主要从事肿瘤分子生物学研究。△ 通信作者, E-mail: jyb690318@hotmail.com。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2008 年 9 月至 2010 年 6 月包头医学院第一附属医院体检者 281 例,其中女 61 例,男 220 例,年龄 26~85 岁,平均(59.10±11.57)岁。所有研究样本情况:在包头生活 5 年以上,汉族,互无血缘关系。排除高血压、糖尿病、萎缩性胃炎、不完全肠转化、胃及十二指肠溃疡等疾病,均无癌症病史。未做过 *H. pylori* 清除治疗及胃部手术。所有样本均提供 2 mL 血和知情同意书,经包头医学院伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 *H. pylori* 感染检测 采用 ELISA 检测血清抗 HP-CSAs IgG 抗体(*H. pylori* IgG 试剂盒购自芬兰 BIOHIT 公司)。*H. pylori* 感染阳性:血清 *H. pylori* IgG 抗体滴度大于或等于 30 EIU。

1.2.2 SNP 的选择 根据 HapMap 数据库(<http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov>)中中国人的数据,使用 Algorithm-Tagger-pairwise Tagging 软件筛选 Tag-SNP,其中参数 MAF>5%, $r^2>0.8$ 用于选择。

1.2.3 基因分型 基因组 DNA 从外周血白细胞中提取:蛋白酶 K 起消化作用,酚/氯仿提取,最后用乙醇沉淀。采用 TaqMan 法对筛选到的 6 个 SNP 进行基因分型,基因分型在北京诺赛基因组有限公司完成,操作按照生产厂商的说明进行(美国 Applied Bio-

systems 公司)。6 个 SNP 的基因分型的成功率达到 90%以上,实验设阴性和阳性对照,并随机抽取 5% DNA 结果好的样本进行重复检测基因型,结果 100% 一致。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析。对同一染色体上的不同位点进行连锁不平衡分析时,使用 Haploview 软件;单体型块的划分采用 D' 置信区间法。用非条件性 Logistic 回归计算比值比(odds ratio, OR)及其 95% 可信区间(confidence interval, CI),评价各等位基因、基因型及单体型与 *H. pylori* 感染的关联性。

2 结果

2.1 MUC6 各 SNP 位点等位基因与 *H. pylori* 感染的关系 在 281 例样本中,SNP rs10794282、rs10794279、rs11246386、rs10751638、rs11826309、rs10794359 的基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律($P>0.05$)。研究结果显示,所有检测 SNP 位点的等位基因在 *H. pylori* 感染阳性和阴性人群中的分布差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。由于有缺失的数据,因此列之和不及样本的等位基因总数。

2.2 MUC6 各 SNP 位点基因型与 *H. pylori* 感染的关系 SNP rs10794282、rs10794279、rs11246386、rs10751638、rs11826309、rs10794359 位点的基因型与 *H. pylori* 感染无关联,见表 2。

表 1 各 SNP 位点等位基因与 *H. pylori* 感染的关联分析

SNP	等位基因	<i>H. pylori</i> (+)[n(%)]	<i>H. pylori</i> (-)[n(%)]	χ^2	<i>P</i>	OR(95%CI) [#]
rs10794282	T	133(62.1)	197(68.4)	2.131	0.144	1
	A	81(37.9)	91(31.6)			1.148(0.953~1.383)
rs10794279	C	198(81.1)	270(85.4)	1.850	0.174	1
	T	46(18.9)	46(14.6)			1.169(0.934~1.463)
rs11246386	C	162(68.1)	228(72.2)	1.087	0.297	1
	T	76(31.9)	88(27.8)			1.107(0.921~1.331)
rs10751638	G	149(63.7)	187(60.3)	0.635	0.426	1
	C	85(36.3)	123(39.7)			0.932(0.782~1.111)
rs11826309	T	177(74.4)	227(71.8)	0.442	0.506	1
	C	61(25.6)	89(28.2)			0.943(0.779~1.141)
rs10794359	C	126(52.5)	188(59.1)	2.436	0.119	1
	T	114(47.5)	130(40.9)			1.148(0.969~1.360)

[#]:平衡性别和年龄因素

表 2 各 SNP 位点基因型与 *H. pylori* 感染的关联分析

SNP	基因型	<i>H. pylori</i> (+)[n(%)]	<i>H. pylori</i> (-)[n(%)]	χ^2	<i>P</i>	OR(95%CI) [#]
rs10794282	TT	41(38.7)	65(45.1)	2.538	0.281	1
	AT	51(48.1)	67(46.5)			1.212(0.709~2.074)
	AA	14(13.2)	12(8.3)			1.971(0.839~4.631)

续表 2 各 SNP 位点基因型与 *H. pylori* 感染的关联分析

SNP	基因型	<i>H. pylori</i> (+)[n(%)]	<i>H. pylori</i> (-)[n(%)]	χ^2	P	OR(95%CI) [#]
rs10794279	CC	80(65.6)	116(73.4)	2.017	0.365	1
	CT	38(31.1)	38(24.1)			1.455(0.851~2.488)
	TT	4(3.3)	4(2.5)			1.462(0.355~6.031)
rs11246386	CC	53(44.5)	86(54.4)	3.804	0.149	1
	CT	56(47.1)	56(35.4)			1.651(0.994~2.745)
	TT	10(8.4)	16(10.1)			1.025(0.433~2.429)
rs10751638	GG	46(39.3)	56(36.1)	0.773	0.680	1
	CG	57(48.7)	75(48.4)			0.928(0.548~1.569)
	CC	14(12.0)	24(15.5)			0.713(0.331~1.534)
rs11826309	TT	68(56.7)	79(50.3)	2.063	0.356	1
	CT	46(38.3)	64(40.8)			0.822(0.498~1.358)
	CC	6(5.0)	14(8.9)			0.496(0.180~1.367)
rs10794359	CC	28(23.3)	57(35.8)	5.379	0.068	1
	CT	70(58.3)	74(46.5)			1.973(1.123~3.465)
	TT	22(18.3)	28(17.6)			1.628(0.791~3.349)

[#]:平衡了性别和年龄因素

2.3 MUC6 单体型与 *H. pylori* 感染的关系 对 MUC6 基因不同位点进行连锁不平衡分析,发现 rs10794359-rs11826309(Block 1)之间存在强连锁不平衡,构成单体型区域。分析结果显示各单体型在 *H. pylori* 感染阳性和阴性人群中的分布差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 MUC6 基因单体型与 *H. pylori* 感染的关系

Block 1	<i>H. pylori</i> (+)(%)	<i>H. pylori</i> (-)(%)	χ^2	P	OR(95%CI)
CC	0.283	0.302	0.253	0.615	1
TT	0.489	0.419	2.745	0.098	1.461(0.966~2.210)
CT	0.228	0.279	1.854	0.173	1.212(0.772~1.903)

3 讨 论

目前,*H. pylori* 感染是全球范围内一个严峻的公共卫生问题^[8]。孙文峰等^[9]的研究发现,丹东地区 *H. pylori* 感染率为 68.61%,建立良好的饮食习惯可有效地预防。值得关注的是,绝大多数人感染了 *H. pylori*,都不会出现恶心、胃胀、胃疼等不适症状,也不会发展成胃溃疡和胃癌。归其原因,主要从不同菌株的特异性、环境因素和宿主易感性三方面来解释^[10]。BLASER^[11]的研究表明:在胃癌的发生过程中,宿主遗传因素发挥了关键性的作用。但个体从感染 *H. pylori* 到胃癌的发生是一个多步骤的过程:经过了萎缩性胃炎,肠化生,胃十二指肠溃疡等阶段;人一旦发生了萎缩性胃炎,*H. pylori* 就失去了定植的土壤,其感染率反而降低,肠化生、胃十二指肠溃疡亦之。除

此之外,人们一旦有萎缩性胃炎等胃部炎症时,就滥用抗生素,间接使 *H. pylori* 感染率下降。为了避免结果的偏移,因此把萎缩性胃炎、肠化生和胃十二指肠溃疡患者排除在研究外。

黏蛋白是一组高分子量的糖蛋白,形成天然的保护屏障:“黏液-碳酸氢盐屏障”,可有效地保护胃黏膜。在生理条件下,黏蛋白存在组织特异性表达,其中 MUC2、MUC3 和 MUC4 主要在肠道中占优势,而 MUC1、MUC5AC 和 MUC6 主要在胃中表达。MUC6 是正常胃黏液中的一种分泌性黏蛋白,*H. pylori* 感染可改变胃黏膜上皮黏液的分泌,直接决定胃黏液屏障的保护效果。*H. pylori* 定植宿主后,可产生许多有害物质如细胞毒素、黏附素、尿素酶等损害正常胃黏膜细胞,同时 MUC6 表达增加并伴随 MUC5AC 的水平下调,减弱了胃黏液蛋白的保护作用,加重了胃部炎症反应^[12]。

H. pylori 感染与基因单核苷酸多态性的关联性增加,值得关注^[13-14]。大量的研究表明,在胃癌变的过程中,*H. pylori* 感染后可导致 MUC1、MUC5AC 和 MUC6 等基因发生变异^[15-17]。

MUC6 基因位于 11 号染色体,短臂 15 区 5 带^[18],共 33 个外显子,是胃癌分子遗传学研究的重要候选基因之一。REIS 等^[19]研究显示在胃癌发生过程中 MUC6 基因表达异常,可能与胃癌有关。此外,汪荣泉等^[20]的研究发现,胃癌患者 *H. pylori* 感染可导致胃黏膜组织中 MUC6 黏蛋白表达下调,提示破坏胃黏膜的保护屏障。因此,在本研究中采用 TaqMan

法探讨了 MUC6 基因多态性与 *H. pylori* 感染的关系。结果显示:包头地区汉族人群中 MUC6 SNP rs10794282、rs10794279、rs11246386、rs10751638、rs11826309、rs10794359 与 *H. pylori* 感染无显著关联。同时,各单体型在 *H. pylori* 感染阳性和阴性人群中的分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。在 JIA 等^[21]的研究中,没有数据表明 MUC6 常见 SNP 与 *H. pylori* 感染相关,这与本研究是一致的。当然,还需扩大样本量进一步证实本研究。

参考文献

- [1] OSMAN H A, HASAN H, SUPPIAN R, et al. Evaluation of the Atlas helicobacter pylori stool antigen test for diagnosis of infection in adult patients[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(13):5245-5247.
- [2] 曾丽妮,练海燕,王文卿.改良序贯疗法补救治疗幽门螺旋杆菌感染的临床疗效[J].*世界华人消化杂志*, 2015, 23(36):5894-5897.
- [3] CHUAN X, ZHEN Y, YI H, et al. Expression of c-Met and hepatocyte growth factor in various gastric pathologies and its association with Helicobacter pylori infection[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(5):6151-6155.
- [4] KIM Y S, GUM J, BROCKHAUSEN I. Mucin glycoproteins in neoplasia[J]. *Glycoconj*, 1996, 13(5):693-707.
- [5] REIS C A, DAVID L, NIELSEN P A, et al. Immunohistochemical study of MUC5AC expression in human gastric carcinomas using a novel monoclonal antibody[J]. *Int J Cancer*, 1997, 74(4):112-121.
- [6] YARON N. Helicobacter pylori and gastric mucin expression: A systematic review and meta-analysis[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(31):9430-9436.
- [7] OK K S, KIM G H, PARK D Y, et al. Magnifying endoscopy with narrow band imaging of early gastric cancer: correlation with histopathology and mucin phenotype[J]. *Gut Liver*, 2016, 10(4):532-541.
- [8] TONKIC A, TONKIC M, LEHOURS P, et al. Epidemiology and diagnosis of helicobacter pylori infection[J]. *Helicobacter*, 2012, 17(1,SD):1-8.
- [9] 孙文峰,柳晓琳.丹东地区 650 名居民幽门螺旋杆菌感染检测结果及影响因素分析[J].*现代预防医学*, 2016, 43(24):4511-4515.
- [10] TAJIMA K. Challenging epidemiological strategy for paradoxical evidence on the risk of gastric cancer from Helicobacter pylori infection[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2002, 32(8):275-276.
- [11] BLASER M J. Helicobacter pylori and gastric diseases[J]. *BMJ*, 1998, 316(7143):1507-1510.
- [12] 刘志峰,郝理华,何祖惠.幽门螺杆菌感染对患儿胃黏液蛋白表达的影响[J].*实用儿科临床杂志*, 2008, 23(7):516-518.
- [13] ZHAO Y, WANG J W, TANAKA T, et al. Association between HLA-DQ genotypes and haplotypes vs Helicobacter pylori infection in an Indonesian population[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(4):1247-1251.
- [14] CAO X Y, JIA Z F, CAO G F, et al. DNMT3a rs1550117 polymorphism association with increased risk of Helicobacter pylori infection[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(10):5713-5718.
- [15] WANG R Q, FANG D C. Effects of Helicobacter pylori infection on mucin expression in gastric carcinoma and pericancerous tissues[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2006, 21(2):425-431.
- [16] REIS C A, DAVID L, CORREA P, et al. Intestinal metaplasia of human stomach displays distinct patterns of mucin (MUC1, MUC2, MUC5AC, and MUC6) expression[J]. *Cancer Res*, 1999, 59(5):1003-1007.
- [17] VINALL L E, KING M, NOVELLI M, et al. Altered expression and allelic association of the hypervariable membrane mucin MUC1 in Helicobacter pylori gastritis[J]. *Gastroenterology*, 2002, 123(1):41-49.
- [18] PIGNY P, GUYONNET-DUPERAT V, HILL A S, et al. Human mucin genes assigned to 11p15.5: identification and organization of a cluster of genes[J]. *Genomics*, 1996, 38(3):340-352.
- [19] REIS C A, DAVID L, CARVALHO F, et al. Immunohistochemical study of the expression of MUC6 mucin and co-expression of other secreted mucins (MUC5AC and MUC2) in human gastric carcinomas[J]. *J Histochem Cytochem*, 2000, 48(3):377-388.
- [20] 汪荣泉,房殿春.幽门螺杆菌感染导致胃黏膜黏蛋白的异常表达[J].*解放军医学杂志*, 2003, 28(11):987-990.
- [21] JIA Y, PERSSON C, HOU H, et al. A comprehensive analysis of common genetic variation in MUC1, MUC5AC, MUC6 genes and risk of stomach cancer[J]. *Cancer Causes Control*, 2010, 21(2):313-321.

(收稿日期:2018-10-13 修回日期:2018-12-24)