乙醛脱氢酶 2 基因多态性与胃癌患病风险的相关性研究

薛淑慧
(北京中医药大学孙思邈医院 消化内科, 陕西 铜川 727000)

[摘 要] **目的**: 研究乙醛脱氢酶 2(*ALDH*2)基因多态性与胃癌患病风险的关联性。**方法**: 346 例胃癌患者作为病例组,350 例同期健康人群作为对照组;采用 PCR-RFLP 方法对 2 组人群的 *ALDH*2 基因单核苷酸多态性(SNP)位点 rs886205、rs441、rs4646778、rs671 及 rs2839702 的基因型进行检测,比较 5 个位点的最小等位基因频率(MAF)、基因型频率在 2 组人群中的分布差异,采用多因素 *Logistic* 回归分析 5 个 SNP 位点的 MAF、基因型频率及不同遗传模型下 5 个 SNP 位点与胃癌患病的相关性。**结果**: 5 个 SNP 位点中,仅 rs671 位点等位基因 A 与增加胃癌的患病风险具有相关性(*OR* = 1. 54, 95 % *CI* 为 1. 27 ~ 1. 91, *P* = 0. 001);通过比较各位点的基因型频率, rs886205 位点的 AG 基因型、rs441 位点的 CC 基因型、rs4646778 的 AA 基因型与降低胃癌的患病风险相关(*P* < 0. 05),而 rs671 的 AA 和 AG 基因型与增加胃癌的患病风险相关(*P* < 0. 05);在隐性模型下,rs441 的最小等位基因 C 和 rs4646778 的最小等位基因 A 与降低胃癌患病风险具有相关性(*P* < 0. 05),而 rs671 的最小等位基因 A 在 3 个遗传模型下都与增高胃癌患病风险显著相关(*P* < 0. 05)。**结论**: *ALDH*2 基因的 rs886205、rs441、rs4646778 及 rs671 位点与胃癌的患病风险具有相关性。

[关键词] 胃肿瘤; 乙醛脱氢酶 2; 单核苷酸多态性; 回归分析; 危险因素
[中图分类号] R735. 2 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2018)07-0807-05
DOI:10. 19367/j. cnki. 1000-2707. 2018. 07. 014

Correlation of Genetic Polymorphism in *ALDH*2 with Risk of Gastric Cancer

XUE Shuhui
(*Department of Gastroenterology, Sun Simiao Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Tongchuan 727000, Shanxi, China*)

[**Abstract**] **Objective**: To investigate the association between genetic polymorphism in *ALDH*2 and risk of gastric cancer. **Methods**: A total of 346 gastric cancer patients and 350 healthy controls were enrolled in Beijing university of Chinese medicine hospital of sun simiao from June 2013 to June 2016. Blood samples were collected. The genotypes of rs886205, rs441, rs4646778, rs671 and rs2839702 were detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polumorphism (PCR-RFLP) method, and the association between SNPs with gastric cancer was evaluated by SPSS 21. 0. **Results**: By comparing the allele frequencies of SNPs, we found the rs671 were significantly associated with an increased risk of gastric cancer (*OR* = 1. 54, 95% *CI*, 1. 27 ~ 1. 91, *P* = 0. 001). By comparing the genotype frequencies of SNPs, we found the AG genotype of rs886205, CC genotype of rs441, AA genotype of rs4646778 were associated with decreased risk of gastric cancer; in contrast, AA and AG genotypes of rs671 were associated with increased risk of gastric cancer (*P* < 0. 05). In the genetic model analysis, we found that the minor allele "C" of rs441 and the minor allele "A" of rs4646778 were associated with decreased risk of gastric cancer under recessive model (*P* < 0. 05). The minor allele "A" of rs671 was associated with increased risk gastric cancer under dominant, recessive and ad-

网络出版时间:2018 - 07 - 18 网络出版地址:http://kns. cnki. net/kcms/detail/52. 1164. R. 20180718. 1502. 006. html

ditive models ($P<0.05$). **Conclusion**: The rs886205, rs441, rs4646778 and rs671 in *ALDH2* were associated with risk of gastric cancer.

[**Key words**] gastric cancer; aldehyde dehydrogenase-2; single nucleotide polymorphisms; regression analysis; risk factors

酒精摄入是头颈癌、肝癌、乳腺癌、结直肠癌等癌症的危险因素[1]。然而,关于酒精摄入与胃癌患病风险关联的报道结论不一[2]。酒精的代谢主要是靠醇脱氢酶(alcohol dehydrogenases,ADH)将其转化为乙醛,再由乙醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenases,ALDH)将其氧化成无毒的乙酸酯。在ADH和ALDH同工酶中,ADH1B、ADH1C及ALDH2是主要的乙醇代谢酶。*ADH1B*,*ADH1C*和*ALDH2*基因的遗传多态性会不同程度影响酶的活性。据报道,活性*ADH1B*等位基因将乙醇代谢为乙醛,比非活性等位基因的速度快40倍,而活性*ADH1C*等位基因代谢比非活性等位基因快2.5倍。此外,具有非活性纯合子*ALDH2*基因型和杂合子基因型的轻度饮酒者分别比具有活性纯合子基因型的中度饮酒者的血液乙醛浓度平均峰值高出18倍和5倍[3],这些研究提示乙醇代谢酶的遗传多态性对酒精摄入与胃癌风险之间的关联研究具有重要意义。本研究以346例胃癌患者和350例正常对照人群作为研究对象,通过检测2组人群*ALDH2*基因的rs886205、rs441、rs4646778、rs671及rs2839702单核苷酸多态(SNP)位点的多态性,分析其与胃癌患病风险的关系,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料、试剂及仪器

1.1.1 一般资料 2013年6月~2016年6月就诊入院的胃癌患者346例作为病例组,纳入标准:均为原发性胃癌新发病例并经组织病理学确诊、未经过任何手术或放化疗,研究对象间3代无亲属关系。选择同期体检的健康人群350例作为对照组,既往无肿瘤病史、慢性病、严重代谢疾病或内分泌失调症等,精神状况良好,甲胎蛋白和癌胚抗原阴性,研究对象间3代无亲属关系。病例组男190例、女156例,平均(46.66±7.33)岁;对照组男185例、女165例,平均(47.53±8.46)岁;2组人群性别和年龄构成比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究获得所有研究对象的知情同意,符合伦理学的各项规定,并通过医院伦理委员会批准。

1.1.2 试剂与仪器 全血基因组纯化试剂盒(德国Thermo fisher公司)、限制性内切酶(德国Thermo fisher公司)、DNA扩增试剂盒(德国Thermo fisher公司)、GeneAmp PCR System 9700 PCR仪(美国ABI公司)、电泳仪(美国伯乐Bio-rad公司)。

1.2 方法

1.2.1 血样本采集及DNA提取 于清晨采集每位研究对象的外周静脉血5 mL,EDTA抗凝,采集当日置于-70 ℃低温冰箱保存,以备DNA提取。采用全血DNA纯化试剂盒提取全血DNA,按说明书进行操作。

1.2.2 基因分型 采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法检测基因多态性,根据基因组序列,设计PCR引物并选择适合的限制性内切酶,对*ALDH2*基因的rs886205、rs441、rs4646778、rs671及rs2839702多态位点进行检测,采用Primer 3 Software在线软件进行引物设计并合成(上海生工生物工程有限公司合成)。PCR反应体系为25.0 μL(包括DNA模板为50 ng、正反向引物各0.25 μL、dNTPs 0.5 μL、Taq聚合酶1 U、加入双蒸水至25 μL),扩增条件为95 ℃预变性10 min,95 ℃变性25 s、54 ℃退火15 s、72 ℃延伸30 s、共30个循环,72 ℃末端延伸10 min。PCR产物用1U限制性内切酶于37 ℃酶切2.5 h,酶切产物用EB染色的2.5%琼脂糖凝胶电泳进行基因型鉴定。

1.3 观察指标

计算2组人群中上述5个SNP位点的等位基因及基因型频数,在对照人群中频率最小的等位基因作为风险等位基因,其频率为最小等位基因频率(minor allele frequency,MAF)。采用精确检验exact test对对照组进行Hardy-Weinberg平衡检验,评估对照组的可靠性。比较各位点的等位基因频率在病例和对照两组中分布差异,采用多因素*Logistic*回归分析各位点与胃癌患病风险的关系。

1.4 统计学处理

数据应用Excel和SPSS 21.0软件进行统计分

析,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)描述,数据比较使用 t 检验,计数资料用率(%)表示,数据比较使用 χ^2 检验,各位点与胃癌患病风险的关系采用多因素 *Logistic* 回归分析,使用相对优势比(odds ratios,*ORs*)和 95 % 的置信区间(confidence intervals,95% *CI*)来进行评估,$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　5 个 SNP 位点的 MAF 与胃癌患病的相关性

表 1 结果显示,5 个 SNP 位点全都符合 Hardy-Weinberg 平衡检验(P-HWE > 0.05),5 个 SNP 位点在染色体上的位置、等位基因、以及 MAF 等基本信息见表 1。进一步比较 5 个位点的等位基因频率在 2 组人群中的分布差异,并对年龄和性别进行校正,结果显示在等位基因模型下,5 个位点中仅 rs671 位点的等位基因 A 会显著增加胃癌的患病风险(OR = 1.54,95% *CI*,1.27 ~ 1.91,P = 0.001)。

2.2　5 个 SNP 位点的基因型频率与胃癌患病的相关性分析

表 2 列出 5 个 SNP 位点的基因型及病例组和对照组的基因型频数和频率,通过比较基因型频率在 2 组人群中的分布差异,并对年龄和性别进行校正。结果显示,参考基因型 rs886205 位点的 AG 基因型频率、rs441 位点的 CC 基因型频率、rs4646778 位点的 AA 基因型频率在病例组和对照组中存在差异($P < 0.05$),提示 rs886205、rs441 及 rs4646778 位点可能是胃癌患病的一个保护性位点;而 rs671 位点与胃癌的患病风险显著相关($P < 0.05$)。

表 1　病例组和对照组人群 5 个 SNP 位点的 MAF 与胃癌患病的相关性分析

Tab. 1　Correlation between MAF of 5 SNP loci and prevalence of gastric cancer in case group and control group

SNP ID	染色体位置	等位基因型	MAF		P-HWE	OR(95% *CI*)	P
			病例组	对照组			
rs886205	12q24.12	A/G	0.12	0.14	0.084	0.85(0.65 ~ 1.04)	0.091
rs441	12q24.12	C/T	0.28	0.28	0.052	0.98(0.86 ~ 1.15)	0.689
rs4646778	12q24.12	A/C	0.29	0.28	0.051	0.99(0.82 ~ 1.15)	0.720
rs671	12q24.12	A/G	0.20	0.13	0.619	1.54(1.27 ~ 1.91)	0.001
rs11066028	12q24.12	A/C	0.11	0.09	0.501	1.14(0.79 ~ 1.04)	0.922

表 2　病例组和对照组 5 个 SNP 位点的基因型频率对胃癌患病的相关性分析

Tab. 2　Correlation between genotype frequency of 5 SNP loci and prevalence of gastric cancer in case group and control group

SNP ID	基因型	病例组(n,%)	对照组 (n,%)	OR(95% *CI*)	P
rs886205	GG	268(77.4)	256(73.1)	1	
	AA	5 (1.4)	4 (1.2)	1.07(0.41 ~ 2.80)	0.886
	AG	73(21.2)	90(25.7)	0.77(0.60 ~ 0.98)	0.044
rs441	TT	173(50.0)	185(52.9)	1	
	CC	20 (5.8)	33 (9.4)	0.62(0.41 ~ 0.94)	0.026
	CT	153(44.2)	132(37.7)	1.23(0.99 ~ 1.53)	0.062
rs4646778	CC	173(50.0)	184(52.6)	1	
	AA	19 (5.5)	34 (9.7)	0.62(0.41 ~ 0.95)	0.026
	AC	154(44.5)	132(37.7)	1.24(0.98 ~ 1.54)	0.055
rs671	GG	226(65.3)	262(74.8)	1	
	AA	11 (3.1)	4 (1.2)	2.67(1.26 ~ 5.68)	0.010
	AG	109(31.6)	84(24.0)	1.54(1.21 ~ 1.96)	0.001
rs11066028	CC	283(81.8)	286(81.7)	1	
	AA	4 (1.2)	2 (0.6)	1.76(0.51 ~ 6.06)	0.366
	AC	59(17.0)	62(17.7)	0.95(0.72 ~ 1.27)	0.772

2.3 不同遗传模型下 5 个 SNP 位点与胃癌患病的相关性分析

通过无条件逻辑回归模型,引入显性、隐性和加性 3 种遗传模型,分别计算各位点等位基因的 *OR* 和 95% *CI*,衡量各位点风险等位基因对胃癌患病风险的效应大小,并按照性别、年龄修正。结果显示,在隐性模型下,rs441 的最小等位基因 C 与降低胃癌患病风险具有相关性(*OR* = 0.56,95% *CI* 为 0.37 ~ 0.85,*P* = 0.006),rs4646778 的最小等位基因 A 也与降低胃癌患病风险具有相关性(*OR* = 0.57,95% *CI* 为 0.36 ~ 0.88,*P* = 0.005);而 rs671 的最小等位基因 A 在 3 个遗传模型下都与增高胃癌患病风险显著相关(显性模型:*OR* = 1.61,95% *CI* 为 1.28 ~ 2.03,*P* = 0.001;隐性模型:*OR* = 2.37,95% *CI* 为 1.12 ~ 5.02, *P* = 0.024;加性模型:*OR* = 1.56,95% *CI* 为 1.27 ~ 1.93,*P* = 0.001)。见表 3。

表 3　3 个遗传模型下 5 个 SNP 位点对胃癌患病的相关性分析

Tab. 3　Correlation between 5 SNP loci with gastric cancer in 3 genetic models

SNP ID	最小等位基因	显性模型		隐性模型		加性模型	
		OR(95% *CI*)	*P*	*OR*(95% *CI*)	*P*	*OR*(95% *CI*)	*P*
rs886205	A	0.78(0.62 ~ 1.00)	0.053	1.14(0.44 ~ 2.97)	0.789	0.82(0.65 ~ 1.03)	0.084
rs441	C	1.11(0.90 ~ 1.37)	0.337	0.56(0.37 ~ 0.85)	0.006	0.97(0.82 ~ 1.14)	0.686
rs4646778	A	1.12(0.91 ~ 1.37)	0.311	0.57(0.36 ~ 0.88)	0.005	0.97(0.81 ~ 1.15)	0.718
rs671	A	1.61(1.28 ~ 2.03)	0.001	2.37(1.12 ~ 5.02)	0.024	1.56(1.27 ~ 1.93)	0.001
rs11066028	A	0.99(0.75 ~ 1.30)	0.914	1.78(0.52 ~ 6.10)	0.360	1.01(0.78 ~ 1.31)	0.922

3　讨论

本研究共挑选了 5 个位于 *ALDH2* 基因上的 SNP 位点并检测其多态性,研究发现 rs886205、rs441 和 rs4646778 位点与降低胃癌的患病风险具有相关性,而 rs671 位点则与增加胃癌患病风险相关。进一步阐述了酒精代谢酶基因 *ALDH2* 的多态性与胃癌患病风险之间的相关性,为后续深入研究酒精摄入与胃癌风险提供线索。

ALDH2 基因位于染色体 12q24.12 位置,编码 ALDH2,参与酒精在人体内的分解代谢。*ALDH2* 基因的多态性在不同的人群中具有很大的差异[4-5],发生基因突变时,突变基因型个体内的酶活性大大降低,使得乙醛不能正常转化而堆积在体内,造成对人体的伤害[6]。现已有许多医疗机构提供 *ALDH2* 基因型的检测,使得每个受试者了解自己的基因型,从而可改变饮酒习惯,避免身体受伤害。*ALDH2* 基因多态性已被发现与多种疾病相关,包括食管癌、结直肠癌[7]、膀胱癌[8]、心肌梗塞和中风[9]、甚至毒品依赖等[10]。本研究通过病例-对照研究,检测 *ALDH2* 基因上 5 个 SNP 位点的多态性,揭示了 *ALDH2* 的多态性与胃癌患病风险之间的相关性,后续研究会用功能实验进一步探索显著的 SNP 与胃癌风险的关系。

在本研究发现的 4 个差异的位点中,rs671 是文献中研究较多的一个。2 项在日本和韩国人群中做的关联分析研究都报道非活性 *ALDH2*-rs671 等位基因和酒精摄入与胃癌风险之间的相互作用具有统计学意义[11-12]。另 1 项在中国人群进行的病例对照研究还表明,与饮酒量较小的活性 *ALDH2*-rs671 等位基因携带者相比,饮酒量较大的非活性等位基因携带者患胃癌风险更高[13],这都充分表明 rs671 位点是一个重要的胃癌风险位点。本研究结果也显示 rs671 的最小等位基因 A 在不同遗传模型下都与增高胃癌患病风险显著相关,与前人研究结果一致。rs886205 位点的多态性与 *ALDH2* 基因启动子区的甲基化调控相关[14],但文献报道在德国人群中 rs886205 位点与酒精依赖并无相关性[15],本研究发现 rs886205 是胃癌风险的一个保护性位点,但基于样本量和种类的限制性,此结果还需在后续的研究中进一步验证。rs441 和 rs4646778 位点文献报道的非常少,本研究发现这 2 个位点也与降低胃癌患病风险相关,这为 *ALDH2* 基因多态性的研究提供新线索。

综上,胃癌是一种由遗传和环境因素共同决定的复杂疾病,本研究通过检测 *ALDH2* 基因上的 5 个 SNP 位点的多态性,发现 rs886205、rs441 、rs4646778 及 rs671 位点与胃癌的患病风险相关。后续研究将在增大样本中验证这些位点与胃癌的相关性,同时采用功能实验证实 *ALDH2* 基因与胃癌的关联。

4　参考文献

[1] BOFFETTA P, HASHIBE M. Alcohol and cancer[J]. The Lancet. Oncology, 2006, 7 (2): 149 – 56.

[2] GHOSH S, BANKURA B, GHOSH S, et al. Polymorphisms in ADH1B and ALDH2 genes associated with the increased risk of gastric cancer in West Bengal, India [J]. Bmc Cancer, 2017, 17(1):782.

[3] HIDAKA A, SASAZUKI S, MATSUO K, et al. Genetic polymorphisms of ADH1B, ADH1C and ALDH2, alcohol consumption, and the risk of gastric cancer: the Japan Public Health Center-based prospective study[J]. Carcinogenesis, 2015, 36 (2): 223 – 31.

[4] QUILLEN E E, CHEN X D, ALMASY L, et al. ALDH2 is associated to alcohol dependence and is the major genetic determinant of "daily maximum drinks" in a GWAS study of an isolated rural chinese sample[J]. American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics, 2014, 165 (2): 103 – 110.

[5] EOM S Y, HWANG M S, LIM J A, et al. Exome-wide association study identifies genetic polymorphisms of C12orf51, MYL2, and ALDH2 associated with blood lead levels in the general Korean population[J]. Environmental Health A Global Access Science Source, 2017, 16 (1): 11.

[6] MATSUDA T, YABUSHITA H, KANALY R A, et al. Increased DNA damage in ALDH2-deficient alcoholics [J]. Chemical Research in Toxicology, 2006, 19 (10): 1374 – 1378.

[7] ZHONG Q, WU R R, ZENG Z M. Association of ADH1B Arg47His and ALDH2 Glu487Lys polymorphisms with risk of colorectal cancer and their interaction with environmental factors in a Chinese population[J]. Genetics & Molecular Research Gmr, 2016, 15 (3):16 – 19.

[8] MASAOKA H, ITO H, SOGA N, et al. Aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) and alcohol dehydrogenase 1B (ADH1B) polymorphisms exacerbate bladder cancer risk associated with alcohol drinking: Gene-environment interaction[J]. Carcinogenesis, 2016, 61 (6): S150 – S150.

[9] LIU X, WANG X, LIU L. MPS 08-09 The polymorphism in aldehyde dehydrogenase-2(ALDH2) gene is associated with myocardial infarction and stroke in a Chinese population[J]. Journal of Hypertension, 2016, 34(1) :262.

[10] ZHANG C, DING H, CHENG Y, et al. Genetic polymorphisms in ALDH2 are associated with drug addiction in a Chinese Han population[J]. Oncotarget, 2016, 8 (5):8597.

[11] MATSUO K, OZE I, HOSONO S, et al. The aldehyde dehydrogenase 2 (ALDH2) Glu504Lys polymorphism interacts with alcohol drinking in the risk of stomach cancer [J]. Carcinogenesis, 2013, 34 (7): 1510 – 1515.

[12] SHIN C M, KIM N, CHO S I, et al. Association between alcohol intake and risk for gastric cancer with regard to ALDH2 genotype in the Korean population[J]. International Journal of Epidemiology, 2011, 40 (4): 1047 – 1055.

[13] DING J H, LI S P, CAO H X, et al. Alcohol dehydrogenase-2 and aldehyde dehydrogenase-2 genotypes, alcohol drinking and the risk for esophageal cancer in a Chinese population[J]. Journal of Human Genetics, 2010, 55 (2): 97.

[14] PATHAK H, FRIELING H, BLEICH S, et al. Promoter polymorphism rs886205 genotype interacts with dna methylation of the ALDH2 regulatory region in alcohol dependence[J] . 2017, 52(3):269.

[15] NASSAB M H, RHEIN M, HEESE P, et al. No association between the ALDH2 promoter polymorphism rs886205, alcohol dependence, and risky alcohol consumption in a German population[J]. 2014, 25 (1): 197.

(2018-03-27 收稿,2018-06-21 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 冉海勇