

云南省汉族肿瘤患者 *UGT1A1* * 6 及 *SLCO1B1* 基因多态性分布*

潘欣, 殷家福, 高杰, 孔树佳

(云南省肿瘤医院 药剂科, 云南 昆明 650118)

[摘要] 目的: 探究尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1 基因(*UGT1A1* * 6)和溶质载体有机阴离子转运蛋白家族成员 1B1 基因[*SLCO1B1* (388A > G)]在云南省汉族肿瘤患者中的分布情况。方法: 收集 122 例云南省汉族肿瘤患者外周血, 采用数字荧光分子杂交技术对 *UGT1A1* * 6 和 *SLCO1B1* (388A > G) 进行基因分型, 统计基因型频率和等位基因频率, 分析不同临床特征间的基因型分布差异及不同人群间的基因型分布差异。结果: *UGT1A1* * 6 基因分型位点的基因型分为野生型 GG、突变杂合子 GA 及突变纯合子 AA, *SLCO1B1* (388A > G) 基因分型位点的基因型分为野生型 AA、突变杂合子 AG 及突变纯合子 GG; 在云南汉族肿瘤患者中, *UGT1A1* * 6 和 *SLCO1B1* (388A > G) 两个基因位点的突变频率较高, *UGT1A1* * 6 等位基因的频率为 G (77.87%) 和 A (22.13%), *SLCO1B1* (388A > G) 等位基因的频率为 A (27.05%) 和 G (72.95%); 云南汉族肿瘤患者的 *UGT1A1* * 6 和 *SLCO1B1* (388A > G) 基因型频率在性别、年龄、不同肿瘤部位及与其他肿瘤患者的分布差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论: 云南省汉族肿瘤患者 *UGT1A1* * 6 和 *SLCO1B1* (388A > G) 两个基因位点的突变频率较高, 与部分临床特征无关。

[关键词] 肿瘤; 基因多态性; 汉族; 尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶 1A1 基因; 溶质载体有机阴离子转运蛋白家族成员 1B1 基因; 云南

[中图分类号] R730.2; R329.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)09-1059-05

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.09.014

Distribution of *UGT1A1* * 6 and *SLCO1B1* Gene Polymorphisms in Tumor Patients in Yunnan Han Nationality

PAN Xin, YIN Jiafu, GAO Jie, KONG Shujia

(Department of Pharmacology, Yunnan Cancer Hospital, Kunming 650118, Yunnan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the genotype distribution of uridine diphosphate glucuronyl transferase 1A1 gene *UGT1A1* * 6 and solute carrier organic anion transporter family member 1B1 gene *SLCO1B1* (388A > G) in tumor patients in Yunnan Han nationality. **Methods:** 122 carcinoma patients of Yunnan Han nationality were included in this study, peripheral blood was collected, and digital fluorescence molecular hybridization assay was used for genotyping *UGT1A1* * 6 and *SLCO1B1* (388A > G). The allelic and genotypic frequencies were calculated. The genotype distribution differences among different clinical features and genotype distribution differences among different groups of people. **Results:** Genotype of gene type site of *UGT1A1* * 6 were wild type GG, mutation heterozygote GA and mutation heterozygote AA; genotype of gene type site of *SLCO1B1* (388A > G) were wild type AA, mutation heterozygote AG and mutation homozygote GG. In tumor patients of Yunnan Han nationality, mutation frequency of both *UGT1A1* * 6 and *SLCO1B1* (388A > G) genotypes were relatively

*[基金项目] 云南省教育厅科学研究项目(2015Y155)

网络出版时间:2019-09-16 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190916.2137.014.html>

high, *UGT1A1* * 6 allele frequency was G (77.87%) and A (22.13%), *SLCO1B1* (388A > G) allele frequency was A (27.05%) and G (72.95%). There was no significant difference in the distribution of *UGT1A1* * 6 and *SLCO1B1* (388A > G) genotypes among cancer patients in Yunnan Han population compared with other patients in terms of gender, age, different tumor location ($P > 0.05$).

Conclusion: Mutation frequency of *UGT1A1* * 6 and *SLCO1B1* (388A > G) in Yunnan Han patients with tumors is relatively high.

[**Key words**] tumor; gene polymorphism; Han nationality; uridine diphosphate glucuronyl transferase 1A1 gene; solute carrier organic anion transporter family member 1B1 gene; Yunnan

伊立替康(Irinotecan, CPT-11)是一种半合成水溶性喜树碱衍生物,除广泛用于晚期结直肠癌和小细胞肺癌的治疗外,在妇科肿瘤、胃癌等实体肿瘤的治疗中也取得了较好的疗效^[1]。CPT-11 的剂量限制性毒性主要为迟发性腹泻和中性粒细胞减少,两者的发生率分别可达到46%和30%,严重可导致死亡^[2]。临床研究表明,CPT-11 的不良反应表现出明显的个体差异,参与CPT-11 代谢和转运过程的酶的活性及基因多态性与不良反应相关。目前研究最多的尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶1A1(uridine diphosphate glucuronosyl transferase 1A1, *UGT1A1*)是CPT-11 代谢的关键酶,其编码基因多态性与CPT-11 导致的化疗相关性毒副反应密切相关^[3];而有机阴离子转运蛋白1B1(organic anion transport protein 1B1, *OATP1B1*)参与了CPT-11 的转运过程,其编码基因是溶质载体有机阴离子转运蛋白家族成员1B1基因(*solute carrier organic anion transporter family member 1B1*, *SLCO1B1*)。近年来*SLCO1B1* 基因多态性也日渐成为研究的热点。另有研究显示,*UGT1A1* 和*SLCO1B1* 基因多态性的分布在不同种族间存在明显差异^[4-5]。本研究分析*UGT1A1* * 6 和*SLCO1B1* (388A > G) 两个基因多态性位点在云南汉族肿瘤患者中的分布频率,以期对CPT-11 的个体化用药剂量提供一定的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集2016年8月-2018年8月在云南省肿瘤医院应用CPT-11 进行治疗的云南汉族肿瘤患者122例,其中男69例、女53例,25~89岁。纳入标准:云南籍汉族患者,相互间3代无血缘关系。所有入选患者均签署《知情同意书》,该项目通过医院伦理委员会审批。

1.2 主要仪器与试剂

TL998A 型荧光检测仪(西安天隆科技有限公司),低温高速离心机(德国Eppendorf)。核酸纯化试剂(耀金宝)、基因检测通用试剂(耀金分)、10×氯化铵溶液均由北京华夏时代基因科技发展有限公司提供。

1.3 方法

选用乙二胺四乙酸二钠抗凝采血真空管采集患者用药前外周静脉血3 mL,采用1×NH₄Cl 溶液提取血液白细胞,在白细胞沉淀中加入核酸纯化试剂40 μL,混匀后静置30 min,向相应的测序反应通用试剂中加入白细胞混悬液1.5 μL,置于TL998A 荧光检测仪中,采用数字荧光分子杂交的方法对其进行基因分型,该方法是在原位分子杂交基础上,用荧光标记探针,对标本DNA 进行原位杂交,若有待测SNP 位点碱基,则报告荧光信号。

1.4 统计学处理

采用SPSS 19.0 软件进行统计分析,计数资料以频数、率或比(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *UGT1A1* * 6 和 *SLCO1B1* (388A > G) 等位基因和基因型的分布

UGT1A1 * 6 基因分型位点的基因型分为野生型GG、突变杂合子GA及突变纯合子AA。*SLCO1B1* (388A > G) 基因分型位点的基因型分为野生型AA、突变杂合子AG及突变纯合子GG。在云南汉族肿瘤患者中,*UGT1A1* * 6 和*SLCO1B1* (388A > G) 两个基因位点的突变频率较高,*UGT1A1* * 6 等位基因的频率为G(77.87%)和A(22.13%),*SLCO1B1* (388A > G) 等位基因的频率为A(27.05%)和G(72.95%)。基因型分布见表1。

表 1 云南汉族肿瘤患者 *UGT1A1* *6 和 *SLCO1B1* (388A > G) 基因多态性分布

Tab. 1 Polymorphism distribution of *UGT1A1* *6 and *SLCO1B1* (388A > G) in cancer patients of Yunnan Han people

突变位点	基因型	占比(n,%)	等位基因	频率(%)
<i>UGT1A1</i> *6	GG	77(63.11)	G	77.87
	GA	36(29.51)	A	22.13
	AA	9 (7.38)		
<i>SLCO1B1</i> (388A > G)	AA	10 (8.20)	A	27.05
	AG	46(37.70)	G	72.95
	GG	66(54.10)		

2.2 *UGT1A1* *6 和 *SLCO1B1* (388A > G) 位点基因型分布的哈迪 - 温伯格平衡分析

UGT1A1 *6 位点的基因型分布符合哈迪 - 温伯格平衡 ($P = 0.117$), 杂合度和期望杂合度分别为 0.295 和 0.345; *SLCO1B1* (388A > G) 位点的基因型分布也符合哈迪 - 温伯格平衡 ($P = 0.647$), 杂合度和期望杂合度分别为 0.377 和 0.395。

2.3 不同临床特征肿瘤患者 *UGT1A1* *6 基因型分布

不同性别和年龄的肿瘤患者 *UGT1A1* *6 基因型分布比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 且不同肿瘤发生部位的患者 *UGT1A1* *6 基因型分布差异也无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 云南汉族不同临床特征肿瘤患者 *UGT1A1* *6 基因型分布

Tab. 2 Genotypic distribution of *UGT1A1* *6 in cancer patients with different clinical characters

临床特征	n	基因型			χ^2	P
		GG	GA	AA		
性别						
男	69	47	17	5	1.910	0.385
女	53	30	19	4		
年龄(岁)						
<40	13	7	5	1	1.289	0.863
40~60	59	39	15	5		
≥60	50	31	16	3		
肿瘤部位						
结直肠癌	79	47	26	6	1.985	0.780
肺癌	21	15	4	2		
其他	22	15	6	1		

2.4 不同临床特征肿瘤患者 *SLCO1B1* (388A > G) 基因型分布

SLCO1B1 (388A > G) 的基因型频率在不同性

别、年龄、肿瘤发生部位等分组中的分布比较结果显示, 不同性别及年龄肿瘤患者 *SLCO1B1* (388A > G) 基因型比较, 差异无统计意义 ($P > 0.05$), 且不同部位肿瘤患者 *SLCO1B1* (388A > G) 基因型分布比较, 差异也无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

表 3 云南汉族不同临床特征肿瘤患者 *SLCO1B1* (388A > G) 基因型分布

Tab. 3 Genotypic distribution of *SLCO1B1* (388A > G) in cancer patients with different clinical characters

临床特征	n	基因型			χ^2	P
		AA	AG	GG		
性别						
男	69	7	26	36	0.844	0.656
女	53	3	20	30		
年龄(岁)						
<40	13	3	6	4	7.561	0.109
40~60	59	2	21	36		
≥60	50	5	19	26		
肿瘤部位						
结直肠癌	79	6	25	48	4.763	0.312
肺癌	21	2	9	10		
其他	22	2	12	8		

2.5 不同肿瘤人群 *UGT1A1* *6 和 *SLCO1B1* (388A > G) 等位基因频率分布

UGT1A1 *6 在云南汉族中的等位基因频率分别与中国河南肿瘤患者^[6]、日本肿瘤患者^[7]的等位基因频率进行比较后结果显示, 中国云南汉族、中国河南和日本肿瘤患者人群中 *UGT1A1* *6 等位基因频率比较相似, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4; 将中国云南汉族 *SLCO1B1* (388A > G) 的等位基因频率分别与中国上海肿瘤患者^[8]、日本肿瘤患者^[7]的等位基因频率进行比较后结果显示, 云南汉族肿瘤患者 *SLCO1B1* (388A > G) 等位基因频率与中国上海、日本肿瘤患者的频率均相似, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 4。

3 讨论

CPT-11 是一种无活性前体药, 在体内主要由羧酸酯酶 II 代谢为活性化合物 7-乙基-10-羟基喜树碱 (7-ethyl-10-hydroxycamptothecin, SN-38), SN-38 是 DNA 拓扑异构酶 I (Topo I) 抑制剂, 通过与细胞 DNA 形成裂解复合物导致 DNA 链断裂, 最终导致肿瘤细胞死亡而发挥抗肿瘤活性^[9]。SN-38 在发挥抗肿瘤活性的同时, 也可引起迟发性腹

表 4 *UGT1A1* * 6 位点和 *SLCO1B1* (388A > G) 位点等位基因在各群体中的分布

Tab. 4 Allelic distribution of *UGT1A1* * 6 and *SLCO1B1* (388A > G) sites in different populations

地区	n	<i>UGT1A1</i> * 6 位点等位			$P^{(1)}$	n	<i>SLCO1B1</i> (388A > G) 位点等位		$P^{(1)}$
		基因频率 (%)		A			基因频率 (%)		
		G	A				A	G	
中国云南汉族	122	77.9	22.1		122	27.10	72.90		
中国河南	141	69.5	30.5	0.144	200	24.25	75.75	0.611	
日本	133	77.4	22.6	0.935	133	27.80	72.20	0.890	

注：⁽¹⁾与云南汉族比较。

泻和粒细胞减少等不良反应；随后 SN-38 在 *SLCO1B1* 基因编码的 *OATP1B1* 协助下转运到肝脏细胞，经 *UGT1A1* 醛酸化为无活性的 SN-38 葡萄糖苷酸 (SN-38G) 而排出体外，CPT-11 的体内分布和不良反应有明显的个体差异。目前研究认为，*UGT1A1* 基因突变可引起 *UGT1A1* 酶活性降低或缺失，细胞毒性产物 SN-38 蓄积，导致不良反应的发生。*UGT1A1* 基因位于人类 2 号染色体 2q37，已知该基因的突变位点多达 50 多种，目前研究较多的是位于该基因启动子区的 *UGT1A1* * 28 和 *UGT1A1* * 6 两个基因多态性位点。*UGT1A1* 基因启动子区存在大量 TA 碱基重复序列，最常见的为 6 个 TA 重复序列，即 TA6/TA6 或 * 1/* 1；*UGT1A1* * 28 为 7 个 TA 重复序列，包括纯合突变型 (TA7/TA7 或 * 28/* 28) 和杂合突变型 (TA6/TA7 或 * 1/* 28)。*UGT1A1* * 6 的多态性表现为 211G > A，形成 G/G、A/G 和 A/A 这 3 种基因型^[7]。研究显示，*UGT1A1* 基因多态性在高加索人、非洲人和亚洲人群之间存在明显的人种差异，*UGT1A1* * 28 纯合突变在高加索人群和非洲人群中分布较高，分别占人群的 10% ~ 15% 和 12% ~ 27%，在亚洲人群中突变率仅为 1.2% ~ 4.7%^[10]；*UGT1A1* * 6 在亚洲人群中的突变频率可达 13% ~ 23%，且目前只在亚洲人群中发现^[11]。本研究中 *UGT1A1* * 6 位点 A 等位基因发生频率为 22.13%，突变频率与中国河南、日本肿瘤患者人群中 *UGT1A1* * 6 等位基因频率比较相似，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。来向阳等^[12] 研究认为，不同性别、年龄的肿瘤患者 *UGT1A1* * 6 位点基因型分布无差异，但不同肿瘤部位的基因型分布有差异。在本研究中，未发现 *UGT1A1* * 6 位点在性别、年龄及不同肿瘤部位的基因型分布差异。

SLCO1B1 基因长约 109 kb，位于 12 号染色体短臂上，由 14 个外显子和 1 个非编码外显子组成，主要负责编码特异性分布于肝细胞基底膜外侧的

有机阴离子转运蛋白 *OATP1A1*。近年来多个研究提出，*OATP1A1* 参与了 CPT-11 活性代谢产物 SN-38 的运输，其编码基因 *SLCO1B1* 的基因多态性可显著影响 *OATP1B1* 的转运活性^[12]，药物代谢能力下降，CPT-11 蓄积而导致不良反应的发生。目前已发现 40 余个 *SLCO1B1* 的单核苷酸多态性^[13]，其中 *SLCO1B1* 388A > G 和 521T > C 研究最多，在亚洲人种也最为常见。这两个位点在不同种族人群中的分布存在很大差异。已有研究报道，*SLCO1B1* (388A > G) 在高加索人、非洲人和亚洲人中的突变频率分别为 30% ~ 45%、70% ~ 80%、60% ~ 90%^[14-15]。本研究中，云南汉族患者 *SLCO1B1* (388A > G) 位点的 G 等位基因发生频率为 72.95%，突变频率与中国河南、日本肿瘤患者人群中 *SLCO1B1* (388A > G) 等位基因频率比较相似，未发现分布差异。另外，本研究未发现 *SLCO1B1* (388A > G) 位点在性别、年龄以及不同肿瘤部位的基因型分布差异。

综上所述，本研究通过对 122 例云南汉族肿瘤患者的 CPT-11 代谢相关基因 *UGT1A1* 和 *SLCO1B1* 的研究发现，云南汉族肿瘤患者 *UGT1A1* * 6 基因分布情况与我国河南、日本肿瘤患者的分布频率一致。*SLCO1B1* (388A > G) 基因分布情况与我国上海、日本肿瘤患者的分布频率一致。另外，在本研究中，未发现 *UGT1A1* * 6 和 *SLCO1B1* (388A > G) 位点在不同性别、年龄以及肿瘤部位的基因分布差异。本研究样本量较小，尚需要大量样本的临床资料进一步补充，且有必要进一步在云南健康人群中进一步进行基因检测，为我省日后更大样本量 *UGT1A1* 和 *SLCO1B1* 相关位点突变频率的研究以及建立基因数据库提供有意义的数据库。

4 参考文献

[1] TAKAHARA N, NAKAI Y, ISAYAMA H, et al. Uridine

- diphosphate glucuronosyl transferase 1 family polypeptide A1 gene (*UGT1A1*) polymorphisms are associated with toxicity and efficacy in irinotecan monotherapy for refractory pancreatic cancer. [J]. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 2013, 71 (1):85-92.
- [2] 杨孟丹,张颖. *UGT1A1* 基因多态性与伊立替康临床用药安全性及疗效的关系[J]. *现代肿瘤医学*, 2017,25(2):252-256.
- [3] 王琼,肖葛琼. *UGT1A1* 基因多态性与伊立替康治疗结肠直肠癌疗效及安全性的关系[J]. *浙江中西医结合杂志*, 2018,28(3):193-197.
- [4] 来向阳,衡雪源. 中国部分地区肿瘤患者 *UGT1A1* *28 和 *UGT1A1* *6 位点基因多态性分布的差异研究[J]. *中国全科医学*, 2016,19(30):3705-3710.
- [5] 唐斌,黄丹. 南昌地区汉族原发性高脂血症人群中 *SLCO1B1* 基因的分布[J]. *中国现代医生*, 2014, 52(34):1-3;7.
- [6] 王晓飞,马超. 恶性肿瘤患者 *UGT1A1* 基因多态性与伊立替康所致严重不良反应的关系 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2018,40(8):594-599.
- [7] ONOUE M, TERADA T. *UGT1A1* *6 polymorphism is most predictive of severe neutropenia induced by irinotecan in Japanese cancer patients [J]. *International Journal of Clinical Oncology*, 2009,14(2):136-142.
- [8] HUANG L,ZHANG T. *SLCO1B1* and *SLC19A1* gene variants and irinotecan-induced rapid response and survival: a prospective multicenter pharmacogenetics study of metastatic colorectal cancer[J]. *PloS one*, 2013,8(10):563-564.
- [9] 刘静,刘杨,赵福友,等. *UGT1A1* 基因多态性与伊立替康治疗晚期胃肠道肿瘤不良反应和疗效的相关性分析[J]. *蚌埠医学院学报*, 2017,42(8):1017-1021.
- [10] 莫怡. 广西壮族转移性结肠直肠癌患者 *UGT1A1* 基因多态性与伊立替康化疗个体反应差异的相关性研究 [D]. 南宁:广西医科大学, 2016.
- [11] TEH L K, HASHIM H, ZAKARIA Z A, et al. Polymorphisms of *UGT1A1* *6, *UGT1A1* *27 & *UGT1A1* *28 in three major ethnic groups from Malaysia[J]. *The Indian Journal of Medical Research*, 2012, 136(2):249-259.
- [12] 来向阳,衡雪源. 中国部分地区肿瘤患者 *UGT1A1* *28 和 *UGT1A1* *6 位点基因多态性分布的差异研究[J]. *中国全科医学*, 2016,19(30):3705-3710.
- [13] GONG I Y, KIM R B. Impact of genetic variation in oatp transporters to drug disposition and response [J]. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 2013,28(1):4-18.
- [14] 杨凡,张梅. 药物转运体有机阴离子转运多肽 1B1 基因多态性的研究进展[J]. *医药导报*, 2013,32(10):1329-1333.
- [15] PASANEN M K, NEUVONEN P J, NIEMI M. Global analysis of genetic variation in *SLCO1B1* [J]. *Pharmacogenomics*, 2008,9(1):19-33.

(2019-05-20 收稿,2019-08-10 修回)
中文编辑:刘平;英文编辑:赵毅