

DOI:10.3724/SP.J.1008.2008.01289

IGF2R 基因多态性与结直肠癌和肝癌遗传易感性的相关性研究

朱忠政^{1,2*}, 丛文铭², Hou Li-fang³, 王爱忠¹, 何向蕾⁴, 朱冠山⁵

1. 解放军第 113 医院病理科, 宁波 315040

2. 第二军医大学东方肝胆外科医院病理科, 上海 200438

3. Department of Preventive Medicine Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, IL 60611, USA

4. 宁波市李惠利医院病理科, 宁波 315041

5. 阿斯利康中国创新中心, 上海 201203

[摘要] **目的:**探讨 IGF2R 基因第 2020 密码子多态(Asn2020Ser)与结直肠癌(CRC)和肝细胞癌(HCC)遗传易感性的关系。

方法:采用 TaqMan 方法检测 345 例 CRC 与 670 名对照以及 469 例 HCC 与 558 名对照的 IGF2R Asn2020Ser 基因型分布及差异。**结果:**IGF2R Asn2020Ser 基因型分布在 CRC-对照和 HCC-对照人群中均有显著性差异($P < 0.05$)。与 Asn/Asn 基因型相比, Asn/Ser、Ser/Ser 和 Ser 携带者(Asn/Ser 和 Ser/Ser 基因型)的 CRC 风险分别显著降至 0.71 倍(95% CI=0.54~0.94, $P=0.017$)、0.64 倍(95% CI=0.42~0.97, $P=0.036$)和 0.69 倍(95% CI=0.53~0.90, $P=0.008$)。类似的, Asn/Ser、Ser/Ser 和 Ser 携带者的 HCC 风险分别降至 0.68 倍(95% CI=0.52~0.89, $P=0.005$)、0.78 倍(95% CI=0.52~1.16, $P=0.212$)和 0.70 倍(95% CI=0.54~0.90, $P=0.006$)。**结论:**IGF2R 2020Ser 携带可能对中国人群罹患 CRC 和 HCC 具有保护作用。

[关键词] 结直肠肿瘤; 肝肿瘤; IGF2R 基因; 单核苷酸多态性; 疾病遗传易感性

[中图分类号] R 735 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2008)11-1289-04

Correlation between IGF2R polymorphism and genetic susceptibility to colorectal cancer and hepatocellular carcinoma

ZHU Zhong-zheng^{1,2*}, CONG Wen-ming², HOU Li-fang³, WANG Ai-zhong¹, HE Xiang-lei⁴, ZHU Guan-shan⁵

1. Department of Pathology, No. 113 Hospital of PLA, Ningbo 315040, China

2. Department of Pathology, Eastern Hepatobiliary Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200438

3. Department of Preventive Medicine, Feinberg School of Medicine, Northwestern University, Chicago, IL 60611, USA

4. Department of Pathology, Lihui Hospital, Ningbo 315041

5. Innovation Center China, AstraZeneca Global R&D, Shanghai 201203

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the possible association between codon 2020 polymorphism(Asn2020Ser) of IGF2R gene and the susceptibility to colorectal cancer(CRC) and hepatocellular carcinoma(HCC) in Chinese population. **Methods:** The IGF2R Asn2020Ser genotypes were determined by TaqMan assay in 345 CRC cases and 670 controls, and in 469 HCC cases and 558 controls. Odds ratios(OR) for cancer and 95% confidence intervals(CI) from unconditional logistic regression models were used to evaluate relative risks. Potential risk factors were included in the logistic regression models as covariates in the multivariate analyses on genotype and cancer risk. **Results:** The Ser allele of the IGF2R Asn2020Ser polymorphism was significantly associated with decreased risks of CRC and HCC. As compared with Asn/Asn genotype, Asn/Ser, Ser/Ser and Ser-allele carriers(Asn/Ser or Ser/Ser genotype) had significantly decreased risks of CRC, with the decrease being 0.71-fold(95% CI=0.54-0.94, $P=0.017$), 0.64-fold(95% CI=0.42-0.97, $P=0.036$) and 0.69-fold(95% CI=0.53-0.90, $P=0.008$), respectively. A similar decreased HCC risk was also shown, with the decrease being 0.68-fold(95% CI=0.52-0.89, $P=0.005$) for Asn/Ser genotype, 0.78-fold(95% CI=0.52-1.16, $P=0.212$) for Ser/Ser genotype, and 0.70-fold(95% CI=0.54-0.90,

[收稿日期] 2008-04-25 **[接受日期]** 2008-07-29

[基金项目] 国家自然科学基金(30470791); 南京军区医学科学技术研究“十一五”计划资助课题(06MA27). Supported by National Natural Science Foundation of China(30470791) and Medical Science and Technology Research Foundation for the “11th Five-Year” Program of PLA, Nanjing branch, China(06MA27).

[作者简介] 朱忠政, 博士, 副主任医师. E-mail: zzzhu1170@yahoo.com

* 通讯作者(Corresponding author).

$P=0.006$) for Ser-allele carriers, when compared with Asn/Asn genotype. **Conclusion:** The Ser allele of the IGF2R Asn2020Ser polymorphism is potentially one of the protective factors against CRC and HCC in Chinese population.

[KEY WORDS] colorectal neoplasms; liver neoplasms; IGF2R gene; single nucleotide polymorphism; genetic predisposition to disease

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2008, 29(11):1289-1292]

胰岛素样生长因子 2 受体 (insulin-like growth factor 2 receptor, IGF2R) 是近年来备受关注的潜在肿瘤抑制基因, 对正性生长因子 IGF2 降解和负性生长因子 TGF- β_1 激活具有重要作用^[1]。研究发现, 人群中 IGF2R 基因第 2020 位密码子具有 AAC/AGC 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP), 其编码的氨基酸分别为天冬酰胺 (Asn) 和丝氨酸 (Ser)。该 SNP 在肿瘤发生中的作用尚不清楚, 但其基因型分布具有明显的地域和种族差异, 在我国人群中具有良好的多态性。本研究在大样本基础上探讨了 IGF2R Asn2020Ser 与结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 和肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 发病风险的关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象 345 例 CRC 为宁波市解放军第 113 医院和李惠利医院 2003~2005 年间住院患者, 均经组织病理学确诊。其中男 198 例, 女 147 例, 年龄 25~85 岁, 中位年龄为 59 岁。CRC 组对象纳入标准包括: 汉族; 年龄 ≥ 25 岁; 组织病理学诊断为原发性结直肠腺癌; 术前未经放疗、化疗等治疗。剔除标准为家族性腺瘤性息肉病和遗传性非腺瘤性结直肠癌。对照组为同时期同一地区健康无血缘关系的汉族个体, 共 670 名。对照组与 CRC 组在性别、年龄、吸烟和饮酒方面保持均衡可比。

469 例 HCC 为第二军医大学东方肝胆外科医院 2003~2006 年间住院患者, 均经组织病理学确诊。其中男 400 例, 女 69 例, 患者年龄 28~79 岁, 中位年龄为 50 岁。HCC 组对象纳入标准包括: 汉族; 术前未经放疗、化疗等治疗。对照组为同时期同一地区健康无血缘关系的汉族个体, 共 558 例。对照组与 HCC 组在性别、年龄和 HBsAg 阳性率方面保持均衡可比。

以问卷调查和病历记录方法取得所有研究对象的有关资料。本研究中所有研究对象均同意并填写知情同意书。

1.2 IGF2R 基因型分析 用于基因型分析的所有基因组 DNA 来源于研究对象的外周血白细胞。按常规蛋白酶 K、酚/氯仿法提取基因组 DNA。采用 TaqMan 方法检测研究对象的 IGF2R Asn2020Ser

基因型。引物和探针的设计用 Primer Express 软件 (Applied Biosystems, Foster City, CA) 完成。引物和探针的序列如下: 上游引物: 5'-CGG CTG CTC TCC TCT CTC A-3'; 下游引物: 5'-AAA GAG CCA ACC ATC GTC AAG-3'; 等位基因 Asn 特异性探针, 5'-FAM-CCT CGT CCA CAA CGG AGT CTC GT- MGB-3'; 等位基因 Ser 特异性探针, 5'-TET-CTC GTC CAC AGC GGA GTC TCG T- MGB-3'; 扩增片段长度 134 bp。PCR 扩增体系 (25 μ l) 中含: 1 \times TaqMan PCR master mix (Applied Biosystems, Foster City, CA), 1 μ l (50 ng/ μ l) 基因组 DNA, 1 μ mol/L 上游引物, 1 μ mol/L 下游引物, 0.2 μ mol/L FAM-标记探针, 0.2 μ mol/L TET-标记探针。扩增参数: 50 $^{\circ}$ C 预热 2 min, 95 $^{\circ}$ C 预变性 10 min, 然后 95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 62 $^{\circ}$ C 复性 1 min, 共 40 个循环。最后在 ABI 7700 上检测荧光信号。基因型分析用 Sequence Detector System 2.0 软件 (Applied Biosystems, Foster City, CA)。

1.3 统计学处理 以非条件 Logistic 回归法计算表示相对危险度的比值比 (OR) 及其 95% 可信区间 (CI)。OR 值均经相应混淆因素校正。数据统计用统计分析系统进行 (Stata, 9.0 版)。

2 结果

CRC 组和对照组中一级亲属 CRC 家族史阳性者分别占 11.0% 和 4.9% ($P < 0.001$, 表 1)。对照组 IGF2R Asn2020Ser 基因型分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律 ($P > 0.05$)。

与对照组相比, HCC 组有更多的 Anti-HCV 携带者和 HCC 家族史阳性者 ($P < 0.001$, 表 2)。对照组 IGF2R Asn2020Ser 基因型分布符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律 ($P > 0.05$)。

CRC 组中 2020Ser 等位基因频率显著低于对照组 (OR = 0.77, 95% CI = 0.63~0.93, $P = 0.008$)。与 Asn/Asn 基因型相比, Asn/Ser 和 Ser/Ser 基因型的 CRC 风险分别显著降低至 0.71 倍 (95% CI = 0.54~0.94, $P = 0.017$) 和 0.64 倍 (95% CI = 0.42~0.97, $P = 0.036$, 表 3)。将 Asn/Ser 和 Ser/Ser 基因型合并计算, 则其 CRC 发病风险与 Asn/Asn 相比显著降低至 0.69 倍 (95% CI = 0.53~

0.90, $P=0.008$)。

表 1 CRC 组和对照组多种混淆因素频率比较

Tab 1 Frequency distribution analysis of selected demographic and risk factors in CRC cases and controls

Index	[n(%)]		χ^2	P^*
	CRC	Control		
N	345	670		
Sex			0.042	0.837
Female	147(42.6)	290(43.3)		
Male	198(57.4)	380(56.7)		
Age(year)			0.190	0.663
≤ 60	178(51.6)	336(50.1)		
> 60	167(48.4)	334(49.9)		
Cigarette smoking			0.557	0.456
No	231(67.0)	464(69.3)		
Yes	114(33.0)	206(30.7)		
Alcohol consumption			0.314	0.575
No	263(76.2)	500(74.6)		
Yes	82(23.8)	170(25.4)		
Body mass index ($\text{kg} \cdot \text{m}^{-2}$)			0.785	0.376
≤ 22.9	196(56.8)	400(59.7)		
> 22.9	149(43.2)	270(40.3)		
CRC family history			12.979	< 0.001
No	307(89.0)	637(95.1)		
Yes	38(11.0)	33(4.9)		

* Two-sided χ^2 test; CRC: Colorectal cancer

HCC 和对照两组对象中 Asn2020Ser 等位基因和基因型分布差异均有统计学意义 (P 值分别为 0.029 和 0.020, 表 3)。与 Asn/Asn 基因型相比, Asn/Ser、Ser/Ser 基因型和 Ser 等位基因携带者

(Asn/Ser 和 Ser/Ser 基因型) 的 HCC 风险分别降至 0.68 倍 (95% CI=0.52~0.89, $P=0.005$)、0.78 倍 (95% CI=0.52~1.16, $P=0.212$) 和 0.70 倍 (95% CI=0.54~0.90, $P=0.006$) (表 3)。

表 2 HCC 组和对照组多种混淆因素频率比较

Tab 2 Frequency distribution analysis of selected demographic and risk factors in HCC cases and controls

Index	[n(%)]		χ^2	P^*
	HCC	Control		
N	469	558		
Sex			0.005	0.942
Female	69(14.7)	83(14.9)		
Male	400(85.3)	475(85.1)		
Age(year)			0.017	0.897
≤ 50	241(51.4)	289(51.8)		
> 50	228(48.6)	269(48.2)		
Cigarette smoking			0.648	0.421
No	264(56.3)	328(58.8)		
Yes	205(43.7)	230(41.2)		
Alcohol consumption			0.387	0.534
No	304(64.8)	372(66.7)		
Yes	165(35.2)	186(33.3)		
HBsAg			0.019	0.890
Negative	80(17.1)	97(17.4)		
Positive	389(82.9)	461(82.6)		
Anti-HCV			18.469	< 0.001
Negative	432(92.1)	546(97.8)		
Positive	37(7.9)	12(2.2)		
HCC family history			18.894	< 0.001
No	423(90.2)	540(96.8)		
yes	46(9.8)	18(3.2)		

* Two-sided χ^2 test; HCC: Hepatocellular carcinoma

表 3 IGF2R Asn2020Ser 频率分布及其与 CRC 和 HCC 风险

Tab 3 Frequency distribution of IGF2R Asn2020Ser polymorphism and its association with risks of CRC and HCC

IGF2R Asn2020Ser	CRC n(%)	Control n(%)	Adjusted OR (95% CI)*	P^*	HCC n(%)	Control n(%)	Adjusted OR (95% CI)**	P^{**}
Genotype								
Asn/Asn	162(47.5)	260(38.8)	1.00		225(48.4)	222(39.8)	1.00	
Asn/Ser	139(40.8)	314(46.9)	0.71(0.54-0.94)	0.017	182(39.1)	260(46.6)	0.68(0.52-0.89)	0.005
Ser/Ser	40(11.7)	96(14.3)	0.64(0.42-0.97)	0.036	58(12.5)	76(13.6)	0.78(0.52-1.16)	0.212
Asn/Ser+Ser/Ser	179(52.5)	410(61.2)	0.69(0.53-0.90)	0.007	240(51.6)	336(60.2)	0.70(0.54-0.90)	0.006
Allele								
Asn	463(67.9)	834(62.2)	1.00		632(68.0)	704(63.1)	1.00	
Ser	219(32.1)	506(37.8)	0.77(0.63-0.93)	0.008	298(32.0)	412(36.9)	0.81(0.67-0.98)	0.029

* Adjusted for sex, age, cigarette smoking, alcohol consumption, body mass index and CRC family history; ** Adjusted for sex, age, cigarette smoking, alcohol consumption, HBsAg, Anti-HCV and HCC family history; CRC: Colorectal cancer; HCC: Hepatocellular carcinoma

3 讨论

在人类的许多肿瘤中 IGF2R 都起着抑癌基因的作用^[1]。IGF2R 的缺乏或结构缺陷会引起细胞外促有丝分裂的 IGF2 水平增高,降低细胞内负生长调节因子 TGF- β_1 的水平,并促进蛋白水解酶的分泌。这些分子效应会促进细胞的增殖,使细胞逃避凋亡,并促进浸润和转移。研究显示,HCC 中 IGF2R 基因座位有高频率的杂合性缺失(LOH),并且在相当比例的存留等位基因中存在点突变^[2-3]。在胃肠道恶性肿瘤中也有一定比例的存留 IGF2R 等位基因的突变^[4]。在 IGF2R LOH 且存留等位基因失活的结肠癌细胞中导入外源的野生型 IGF2R,能显著降低细胞生长率并且促进凋亡的发生^[5]。这些研究结果提示,IGF2R 与包括 HCC、CRC 等在内的多种肿瘤的发生密切相关。

人群中 IGF2R 基因 DNA 序列存在多态性,这种多态性改变可能修饰基因表达和(或)功能,从而与肿瘤遗传易感性有关。然而 IGF2R 基因多态与肿瘤发病风险关系的研究尚不多见。有研究报道,位于 3'非翻译区的一短串联重复序列多态与口腔鳞癌的发生和非小细胞肺癌的进展有关^[6-7]。Savage 等^[8]报道,IGF2R 基因内多个 SNP 与骨肉瘤的发病风险有关,这是目前唯一探讨 IGF2R 基因内 SNP 与肿瘤发病风险关系的报道,但该研究未涉及 Asn2020Ser,很可能是该多态在其所研究的美国人群中的多态性过低(较小等位基因频率 $<5\%$)^[9-10]。我们大样本基础上的统计分析结果显示,IGF2R 2020Ser 显著降低 CRC 和 HCC 的发病风险。目前 IGF2R 2020Asn \rightarrow Ser 多态性改变在肿瘤发生中的确切作用及机制尚不清楚。Zhong 等^[11]报道,杂合性 Asn/Ser 基因型携带者的外周血单核细胞表达 2 种等位基因相应的 mRNA。蛋白水平研究显示,Asn2020Ser 位于胞外区 15 个部分重复结构域中的第 14 个结构域内。然而目前结构域 14 的生物学功能尚不清楚,因此 Asn2020Ser 的生物学意义尚难推测。有关该 SNP 的功能学研究值得进行。

综上所述,IGF2R 基因 2020Ser 等位基因是中国人群重要的 CRC 和 HCC 遗传保护分子,可作为这 2 种肿瘤发病风险的筛选指标。鉴于多种恶性肿瘤可能存在共同的遗传学基础,有必要进行 IGF2R Asn2020Ser 与其他肿瘤发病风险关系的研究。

[参考文献]

- [1] Hébert E. Mannose-6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor expression and tumor development[J]. *Biosci Rep*, 2006,26:7-17.
- [2] Oka Y, Waterland R A, Killian J K, Nolan C M, Jang H S, Tohara K, et al. M6P/IGF2R tumor suppressor gene mutated in hepatocellular carcinomas in Japan[J]. *Hepatology*, 2002, 35: 1153-1163.
- [3] Jang H S, Kang K M, Choi B O, Chai G Y, Hong S C, Ha W S, et al. Clinical significance of loss of heterozygosity for M6P/IGF2R in patients with primary hepatocellular carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14: 1394-1398.
- [4] Souza R F, Appel R, Yin J, Wang S, Smolinski K N, Abraham J M, et al. Microsatellite instability in the insulin-like growth factor II receptor gene in gastrointestinal tumours[J]. *Nat Genet*, 1996, 14: 255-257.
- [5] Souza R F, Wang S, Thakar M, Smolinski K N, Yin J, Zou T T, et al. Expression of the wild-type insulin-like growth factor II receptor gene suppresses growth and causes death in colorectal carcinoma cells[J]. *Oncogene*, 1999, 18: 4063-4068.
- [6] Kotsinas A, Evangelou K, Sideridou M, Kotzamanis G, Constantinides C, Zavras A I, et al. The 3' UTR IGF2R-A2/B2 variant is associated with increased tumor growth and advanced stages in non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Lett*, 2008, 259: 177-185.
- [7] Zavras A I, Pitiphat W, Wu T, Cartsos V, Lam A, Douglass C W, et al. Insulin-like growth factor II receptor gene-167 genotype increases the risk of oral squamous cell carcinoma in humans[J]. *Cancer Res*, 2003, 63: 296-297.
- [8] Savage S A, Woodson K, Walk E, Modi W, Liao J, Douglass C, et al. Analysis of genes critical for growth regulation identifies insulin-like growth factor 2 receptor variations with possible functional significance as risk factors for osteosarcoma[J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007, 16: 1667-1674.
- [9] Petry C J, Ong K K, Wingate D L, Brown J, Scott C D, Jones E Y, et al. Genetic variation in the type 2 insulin-like growth factor receptor gene and disparity in childhood height[J]. *Growth Horm IGF Res*, 2005, 15: 363-368.
- [10] Killian J K, Oka Y, Jang H S, Fu X, Waterland R A, Sohda T, et al. Mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor 2 receptor(M6P/IGF2R) variants in American and Japanese populations[J]. *Hum Mutat*, 2001, 18: 25-31.
- [11] Zhong X, Hemmi H, Shimatake H. A common polymorphism in exon 40 of the human mannose 6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor gene[J]. *Mol Cell Probes*, 1999, 13: 397-400.

[本文编辑] 尹 荼