

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2017.01.016

甲状腺乳头状癌相关基因单核苷酸多态性研究进展*

张玲玲¹ 综述 朱坤兵² 崔文^{3Δ} 审校

(¹ 济南大学山东省医学科学院医学与生命科学学院, 济南 250022; ² 济宁医学院附属医院, 济宁 272067;

³ 济宁医学院法医学与医学检验学院, 济宁 272067)

摘要 目的 甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤, 其中发病率最高的病理类型是甲状腺乳头状癌 (thyroid papillary carcinoma, PTC)。PTC 的发生是由多基因相互作用、多种环境因素协同作用的结果, 与 PTC 发生发展相关的基因有 BRAF、BCL-2、ATM 等基因。由于个体间肿瘤遗传易感性存在差异因而导致每个人对恶性肿瘤的反应也不一样。随着基因组检测技术的发展, 全基因组关联研究 (genome-wide association studies, GWAS) 成为了肿瘤遗传易感性的重要研究手段。近年来, 国内外研究工作人员开展了对 PTC 的 GWAS 并取得一些成果。本文从遗传学角度对 PTC 各个单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 位点在不同人群里的验证实验以及相关基因 SNP 的研究进展作一综述。

关键词 单核苷酸多态性; 甲状腺乳头状癌; 遗传易感性; 突变点

中图分类号: R363.2+5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-9760(2017)02-063-05

The research progress of the related gene single nucleotide polymorphisms in thyroid papillary carcinoma

ZHANG Lingling¹, ZHU Kunbing², CUI Wen³

(¹ School of Medicine and Life Sciences, University of Jinan & Shandong Academy of Medical Sciences, Jinan 250022, China; ² Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272029, China;

³ Institute of Forensic Medicine and Laboratory Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China)

Abstract: Thyroid cancer is the most common endocrine system malignant tumor, and the frequency of the highest pathological types is thyroid papillary carcinoma. The occurrence of thyroid papillary carcinoma is attributed to the interaction of multiple genes and many environmental factors. The identified genes associated with thyroid papillary carcinoma have a mutated BRAF gene, BCL-2 gene, ATM gene, etc. The different individuals in a similar environment of their reactivity is different, which is due to the tumor genetic susceptibility. With the development of genetic testing technology, genome-wide association studies have become an important research means of tumor genetic susceptibility. In recent years, researchers at home and abroad have carried out the genome-wide association study of thyroid papillary carcinoma and achieved some results. The review describes from the perspective of genetics two sides: the confirmation experiment in each SNP loci in different populations and the research progress of thyroid papillary carcinoma of the related gene single nucleotide polymorphisms.

Keywords: Single nucleotide polymorphisms; Thyroid papillary carcinoma; Genetic susceptibility; Change point

甲状腺癌是内分泌系统最常见的恶性肿瘤。近年来, 我国甲状腺癌的发病率呈明显上升趋势。

甲状腺癌的病理分型有分化型甲状腺癌、髓样甲状腺癌、未分化型甲状腺癌 3 种, 其中大部分分化型甲状腺癌是甲状腺乳头状癌 (thyroid papillary carcinoma, PTC)。目前对甲状腺癌病因及发病机制仍不很清楚。有研究表明; 高碘、辐射暴露、慢性淋

* [基金项目] 山东省教育厅山东省高等学校科技计划 (J13LK14)

Δ [通信作者] 崔文, E-mail: cuiwenmd@163.com

巴细胞性甲状腺炎、口服避孕药等因素对甲状腺癌的发病有一定的促进作用,但并不是暴露于这些致病因素的人群都会导致甲状腺癌的发生,这种个体差异是由肿瘤遗传易感性所决定的。目前关于甲状腺癌与肿瘤遗传易感性的研究主要是基于全基因组关联研究 (genome-wide association studies, GWAS),国外研究者采用此策略成功找到了 PTC 的遗传易感位点。近年来国内外的研究人员在 GWAS 的基础之上展开了与 PTC 发生发展相关基因的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNP) 位点之间的一系列研究工作,并取得了突破性的进展。

1 PTC 多态性研究

我国人群的甲状腺癌主要是 PTC,预后较好,5 年生存期较长。国内外研究人员对于 PTC 的遗传学研究目前主要致力于恶性肿瘤遗传易感性的摸索。对于甲状腺癌的遗传突变位点的研究,主要基于家系的连锁分析和基于散发病人的关联分析。连锁分析是基于家系的研究方法,在减数分裂时不发生基因重组而连锁遗传的特点。所谓关联分析,是以基因多态性为基础在散发病人中探究某种表型与遗传位点多态性之间的相关性。目前关于 GWAS 的具体研究是分步进行的,首先采用少量样本,研究全基因组范畴的 SNP,之后进行病例-对照分析,挑选出有意义的 SNP。随后,再次对第一步发现的候选 SNP 进行检测,然后再结合每一步的结果进行数据分析。SNP 标记,通常与疾病的发生发展、恶性肿瘤的变异机制、转移等有关系。随着越来越多的 SNP 位点被确认,对疾病尤其是恶性肿瘤的研究更为深入,而且近年来出现了许多新的检测 SNP 的方法,例如:快照多重单碱基延伸技术 (multiple single-base snapshot technology, Snapshot)、高分辨率溶解曲线技术 (high resolution dissolution curve technology, HRM)、单链构象多态性技术 (single-strand conformation polymorphism technology, SSCP) 等,以探究 PTC 与相关易感基因 SNP 之间的关系。

2 PTC 的 SNP 位点

2.1 rs944289

Rogounovitch 等^[1]对日本人群中 507 名散发 PTC 患者和 2766 名正常对照进行了 rs944289 基因

分型,并进行了病例-对照研究,结果提示该 SNP 位点与滤泡腺癌 (follicular adenoma, FA) 风险相关联。之后,在日本人群里对该位点再次进行确认,选取了 959 例滤泡性甲状腺癌 (follicular thyroid carcinoma, FTC)、535 例 PTC 病人和 2766 例正常对照对 rs944289 进行分型。Jones 等^[2]在英国人群中对 781 名 PTC 患者和 6122 名健康对照进行了 rs944289 的分型,结果表明在英国人群中该位点与 PTC 风险相关联。Pennamartinez 等^[3]在德国人群中选择 243 例分化型甲状腺癌患者和 270 例健康人进行了 rs944289 分型,结果表明在德国人群中 rs944289 在分化型甲状腺癌的发生中起到次要的作用。冯守昊等^[4]在中国华东地区中选取 845 例 PTC 患者、503 例甲状腺良性肿瘤 (thyroid benign node, TBN) 患者和 1005 例健康对照通过 SNAP 进行基因分型,结果发现 PTC 与 rs944289 之间有一定相关性。蒋永新等^[5]在中国云南汉族人群中选取 PTC 患者 88 例,92 例健康人作为对照组,在该项研究采用 Taq Man 探针方法对突变位点进行检测分析,结果发现 rs944289 基因携带 T 位点的人群其发生远处转移的概率远远高于携带 C 位点的人群。rs944289 CT 基因多态性与 PTC 的风险有关联。有研究表明,PTCSC3 基因可能成为 PTC 发生的易感基因^[6]。

2.2 rs965513

Rogounovitch 等^[1]进一步研究发现日本人群 rs965513 SNP 位点与 PTC 风险有相关性。之后,在日本人群中对甲状腺癌相关 SNP rs965513 (9q22.33, FoxE1) 进行基因分型,结果表明 rs965513 与 PTC 有较强的相关性。Jones 等^[2]也研究发现 rs965513 与 PTC 风险有显著的关联性。Pennamartinez 等^[3]进行了 rs965513 研究发现在德国人群中 FOXE-1 rs965513 与分化型甲状腺癌有较强的相关性,尤其是 A 等位基因与分化型甲状腺癌的发生有明显的关联^[3]。冯守昊等^[4]的实验结果显示在中国华东地区 rs965513 与 PTC 之间有相关性。

2.3 rs966423

冯守昊^[4]在中国华东地区人群中对 rs966423 和 rs2439302 进行确认实验,研究表明 rs966423 ($P = 1.688E-3$) 和 rs2439302 与 PTC 之间有一定的关联。

2.4 rs10136427

Figlioli 等^[7]首次在印度人群中把从 GWAS 选

择出来的 45 个 SNP 进行研究。通过对 GWAS 和印度重复研究(2260 例病例组患者和 2218 例对照组)的联合分析可以为 rs10136427 (BATF 附近)和 rs7267944 (DHX35 附近)与分化型甲状腺癌之间的关联性提供有力的依据。

2.5 rs2910164

Wei 等^[8]收集中国汉族 1237 例甲状腺肿瘤患者以及 760 例健康人群的抗凝血,利用 Sequenome 质谱检测系统研究 rs2910164 多态性,并且收集和对比临床病理资料和遗传数据,结果表明:rs2910164 SNP 与 PTC 的发生无关联,rs2910164 与 PTC、甲状腺良性肿瘤患病风险没有相关性,但在甲状腺良性肿瘤向 PTC 转化过程中可能会有潜在性作用。

3 PTC 相关基因的 SNP

3.1 BRAF 基因

BRAF 基因是人类最重要的原癌基因之一,大约 8% 的人类肿瘤发生 BRAF 突变。师艺等^[9]在新疆地区中 178 例 PTC 中 BRAFV600E 基因点突变进行检测,突变率为 79.8% (142/178)。王冠等^[10]收集了 355 例 PTC 患者(247 名女性和 108 名男性)以及对照组 360 例的血样标本进行 DNA 抽提、Sequenome 质谱检测,对 BRAF 基因上的 SNP 位点进行基因检测,结果发现:所选取的 4 个 BRAF 基因 SNP 位点与 PTC 的发病率均无相关性。张强等^[11]为了研究 BRAF 基因 SNP 与 PTC 易感性之间的关系选取了 368 例 PTC 病人以及 564 例健康人应用 Taq Man-MGB 探针荧光实时定量 PCR 技术进行多态性分析得出 BRAF 基因的 4 个 SNP (rs1042179A/G、rs11762469A/T、rs17161747G/C、rs3748093T/A)与 PTC 发生发展无关联,但是在有家族史的人群中,rs17161747 相对于 GG 基因型,CG 基因型和 CG + CC 基因型是 PTC 发病危险因素。

3.2 ATM 基因

ATM 基因是一种肿瘤抑制基因,与细胞周期的调控、DNA 损伤后修复有关。Chang 等^[12]对 437 例 PTC 患者和 184 例正常对照通过探针检测技术对 ATM 基因的 5 个 SNP (Rs189037、rs664677、rs373759、rs664143、rs4585)进行基因分型。发现后 3 个位点存在着严重的等位基因关联现象。分析 ATM 的这 3 个 SNP 位点单倍体(C-A-G),(T-G-

T)和(C-G-T)时,在调整年龄性别之后(C-G-T) + /-相比(C-G-T) - /-有较低的 PTC 的患病风险。

3.3 TP53INP2 基因

TP53INP2 基因是调节自噬作用的重要因子,又名核辅助因子 DOR, DOR 是位于增殖细胞体核心的蛋白质,在肌肉、心脏和脑组织表达程度较高。贺梦子等^[13]通过运用大样本基因芯片数据分析甲状腺相关基因 TP53INP2 在外周血中的表达情况,该基因的表达量对 PTC 具有诊断意义。刘欣等^[14]运用激光解析电离飞行时间质谱技术对 TP53INP2 的 2 个 SNP (rs6060001、rs910870)进行分型,检测结果提示 rs910870 位点可能与 PTC 有关联。

3.4 Fas 基因

Fas 基因广泛表达与人类组织中,属于肿瘤坏死因子受体超家族,与细胞信号传递密切相关。Eun 等^[15]选取 94 例 PTC 患者和 364 例正常对照采用直接测序法对 Fas 和 FasL 两个基因的 5 个 SNP 位点进行基因分型,结果提示:Fas 的 3 个 SNP 位点(rs1571013、rs1800682、rs1468063)与 PTC 的发生有较强的关联,在 PTC 患者和正常对照在等位基因频率上存在较明显的差异性。另外, Fas rs1468063 可能与甲状腺肿瘤的多发性相关。

3.5 lncRNA HOTAIR 基因

Hui 等^[16]为了探索 lnc RNA HOTAIR (long non-coding RNA HOX transcript antisense RNA)及其功能性的 SNP 与 PTC 之间的相关性,实验采用病例对照方法对实验人群分为 3 组:山东组(600 例 PTC 患者和 600 例正常对照)、江苏组(1000 例 PTC 患者和 1000 例正常对照)、吉林组(800 例 PTC 患者和 800 例正常对照),然后对这 3 组组成 SNP 位点(rs920778、rs1899663、rs4759314)进行基因分型。相比正常组织,HOTAIR 在 PTC 组织中的表达量较高。HOTAIR rs920778 基因变异是与 PTC 遗传易感性相关的 SNP 位点,发现在山东、江苏、吉林 3 地研究人群中 HOTAIR rs920778 TT 基因型与 CC 基因型的比值比分别是 1.88、1.25、1.61,提示功能性的 SNP 位点可能会影响 lnc RNA 的调控过程。

3.6 IL-17 基因

白介素-17 基因具有免疫调节作用,而且 IL-17 与受体结合后,可通过 MAP 激酶途径和 NF-KB 途径发挥其生物学功能。Lee 等^[17]采用双脱氧终止

法对 IL-17 相关基因 IL-17A、IL-17RA、IL-17RB 的 8 个 SNP 位点进行分型。结果表明:IL-17RA SNP rs4819554 和 IL-17RB SNP rs1025689 与 PTC 的发生无相关性,而且 IL-17RA SNP rs2275913 与 PTC 的多发性无关联。

3.7 XRCC1 基因

人类 XRCC1 基因是一种与 DNA 修复有关的基因,它的表达异常与恶性肿瘤的发生有关。Halkova 等^[18]选择 209 例 PTC 患者和 374 例健康人对 XRCC1 基因的 4 个 SNP 位点 (Arg399Gln、Arg280His、Arg194Trp、T-77C) 的等位基因和基因型分布进行检测,结果提示:XRCC1 T-77C SNP 对男性人群中罹患 PTC 有一定遗传倾向性,XRCC1 基因对 PTC 的发生有促进作用。王翥等^[19]对 XRCC1 基因位点进行检测研究不同基因型与分化型甲状腺癌之间的关系,研究发现 XRCC1 基因 136 位点多态性与分化型甲状腺癌的发生有关。

3.8 FOXE1、SERPINA5、FTO 基因

Sigurdson 等^[20]对来自德国临床中心的 422 例 PTC 患者、130 例 FTC 患者和 752 例正常对照对 1129 个候选基因进行重复试验,最终确认了与 PTC 相关基因 (FOXE1/HEMG1、SERPINA5、FTO、TICAM1、HSPA6、FTC) 的 SNP 位点,多基因突变可能会以复杂的方式增加甲状腺癌的风险性。

3.9 TERT-CLPTM1L 基因

Ge 等^[21]对 PTC 患者 2300 例和正常对照组 2300 例对 TERT-CLPTM1L 基因 15 个 htSNPs (haplotype-tagging single nucleotide polymorphisms) 分析,表明 TERT rs2736100 遗传变异与 PTC 的风险显著相关。同时数据证明 TERT rs2736100 SNP 成为 PTC 病因学研究中新型的遗传基因位点。

3.10 MET 基因

Ning 等^[22]为了检测甲状腺肿瘤病人中 MET SNPs 的性别差异和转移预后情况,实验选取了 858 例 PTC 患者、556 例结节性甲状腺肿患者和 896 例正常对照组进行研究,而且采用质谱法分型,按照性别分层分析得出:在女性甲状腺乳头状癌患者中,rs1621 基因分型与 PTC 有明显的相关性,而且 rs1621 AG 基因分型频率要远远高于正常对照组。然而,rs1621 基因分型的关联性分析表明不论男性和女性患者,该基因分型与肿瘤转移、预后没有相关性。

3.11 CAPZB 基因

Feng 等^[23]在 870 例 PTC 患者和 513 例 TBN 患者对 CAPZB 基因的 2 个 SNP 位点 (rs10917468 和 rs12045440) 分析以确认单核苷酸多态位点不同的基因分型对 PTC 和 TBN 的意义,在研究中检测到 rs12045440 与甲状腺肿瘤患者血清 TSH 水平有明显的相关性。

3.12 Bcl-2 基因

B 淋巴细胞瘤-2 基因,简称 Bcl-2 是一种原癌基因,具有抑制凋亡的作用。肖晓岚等^[24]选取 78 例 PTC 患者作为病例组和 92 例健康志愿者作为正常对照组,分析结果表明病例组 Bcl-2 基因-938 C/A 位点基因型频率明显低于对照组,Bcl-2 基因的高表达量与淋巴结的转移有关联。

4 小结和展望

正是由于 SNP 位点遍及人类全基因组中,这就为科研工作者发现疾病突变位点,认识疾病以及深层次研究疾病提供了一个方向,因此如何进行甲状腺癌易感基因多态性或靶位点的研究,成为我们以后研究的主要目标。SNP 与肿瘤遗传易感性的相互关系是当前肿瘤学研究的热点,当已经确定的 SNP 等位基因或基因型的频率差异与 PTC 之间的相关性,是否可以将这个 SNP 作为 PTC 的分子遗传学标记。判断 PTC 的易感危险程度,建立有效的预警,继而达到一级预防的目的,并为进一步的分子靶向治疗和药物开发提供研究基础。SNP 遗传标记的确定为遗传性疾病的研究奠定了基础,但是 SNP 的研究确实出现了一些问题,即难以发现对于多种 SNP 作用的复杂性疾病,需要多学科多领域的研究人员参与进来共同完成此难题。

参考文献:

- [1] Rogounovitch TI, Bychkov A, Takahashi M, et al. The common genetic variant rs944289 on chromosome 14q13.3 associates with risk of both malignant and benign thyroid tumors in the Japanese population[J]. *Thyroid*, 2015, 25 (3): 333-340. DOI: 10.1089/thy.2014.0431.
- [2] Jones AM, Howarth KM, Martin L, et al. Thyroid cancer susceptibility polymorphisms: confirmation of loci on chromosomes 9q22 and 14q13, validation of a recessive 8q24 locus and failure to replicate a locus on 5q24[J]. *J Med Genet*, 2012, 49 (3): 158-163. DOI: 10.1136/jmedgenet-2011-100586.

- [3] Penna-Martinez M, Epp F, Kahles H, et al. FOXE1 association with differentiated thyroid cancer and its progression [J]. *Thyroid*, 2014, 24 (5) : 845-851. DOI: 10. 1089/thy. 2013. 0274.
- [4] 冯守昊. 乳头状甲状腺癌的遗传易感性的研究[D]. 上海: 复旦大学, 2013.
- [5] 蒋永新, 刘(岑鸟), 陈灿, 等. FOXE1、CDKN1B 基因多态性与云南汉族人甲状腺乳头状癌的相关性研究 [C]. 全国肿瘤病因学和肿瘤流行病学学术会议论文集, 2013: 40-40.
- [6] Jendrzewski J, He H, Radomska HS, et al. The polymorphism rs944289 predisposes to papillary thyroid carcinoma through a large intergenic noncoding RNA gene of tumor suppressor type [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109 (22) : 8646-8651. DOI: 10. 1073/pnas. 1205654109.
- [7] Figlioli G, Köhler A, Chen B, et al. Novel Genome-Wide Association Study-Based Candidate Loci for Differentiated Thyroid Cancer Risk [J]. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2014, 99 (10) : E2084-E2092. DOI: 10. 1210/jc. 2014-1734.
- [8] Wei WJ, Wang YL, Li DS, et al. Association between the rs2910164 polymorphism in pre-Mir-146a sequence and thyroid carcinogenesis [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8 (2) : e56638. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0056638.
- [9] 师艺, 刘铭, 马志萍, 等. 新疆地区甲状腺乳头状癌中 BRAF V600E 基因的表达及意义 [J]. *临床与实验病理学杂志*, 2016, 32 (8) : 887-890. DOI: 10. 13315/j. cnki. cjcep. 2016. 08. 011.
- [10] 王冠. BRAF 基因多态性与乳头状甲状腺癌遗传易感性的研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2014.
- [11] 张强. BRAF 基因单核苷酸多态性与甲状腺乳头状癌易感性的关系 [D]. 天津: 天津医科大学, 2011.
- [12] Song CM, Kwon TK, Park BL, et al. Single nucleotide polymorphisms of ataxia telangiectasia mutated and the risk of papillary thyroid carcinoma [J]. *Environ Mol Mutagen*, 2015, 56 (1) : 70-76. DOI: 10. 1002/em. 21898.
- [13] 贺梦子. 基于生物信息学的甲状腺癌生物标志物的筛选及验证 [D]. 长春: 吉林大学, 2015.
- [14] 刘欣, 李双, 林雪君, 等. ITGA3、TP53INP2 和 AXIN2 基因多态性与甲状腺乳头状癌发病的关联性分析 [J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2014, 40 (2) : 384-388. DOI: 10. 13481/j. 1671-587x. 20140232.
- [15] Eun YG, Lee YC, Kim SK, et al. Single nucleotide polymorphisms of the Fas gene are associated with papillary thyroid cancer [J]. *Auris Nasus Larynx*, 2015, 42 (4) : 326-331. DOI: 10. 1016/j. anl. 2015. 02. 001.
- [16] Zhu H, Lv Z, An C, et al. Onco-lncRNA HOTAIR and its functional genetic variants in papillary thyroid carcinoma [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31969. DOI: 10. 1038/srep31969.
- [17] Lee YC, Chung JH, Kim SK, et al. Association between interleukin 17/interleukin 17 receptor gene polymorphisms and papillary thyroid cancer in Korean population [J]. *Cytokine*, 2015, 71 (2) : 283-288. DOI: 10. 1016/j. cyto. 2014. 11. 011.
- [18] Halkova T, Dvorakova S, Sykorova V, et al. Polymorphisms in selected DNA repair genes and cell cycle regulating genes involved in the risk of papillary thyroid carcinoma [J]. *Cancer Biomark*, 2016, 17 (1) : 97-106. DOI: 10. 3233/CBM-160622.
- [19] 王翡, 刘雪梅. XRCC1 基因多态性与分化型甲状腺癌风险的相关性 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2016, 25 (30) : 3307-3309, 3312. DOI: 10. 3969/j. issn. 1008-8849. 2016. 30. 001.
- [20] Sigurdson AJ, Brenner AV, Roach JA, et al. Selected single-nucleotide polymorphisms in FOXE1, SERPINA5, FTO, EVPL, TICAM1 and SCARB1 are associated with papillary and follicular thyroid cancer risk: replication study in a German population [J]. *Carcinogenesis*, 2016, 37 (7) : 677-684. DOI: 10. 1093/carcin/bgw047.
- [21] Ge M, Shi M, An C, et al. Functional evaluation of TERT-CLPTM1L genetic variants associated with susceptibility of papillary thyroid carcinoma [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 26037. DOI: 10. 1038/srep26037.
- [22] Ning L, Yu Y, Liu X, et al. Association Analysis of MET Gene Polymorphism with Papillary Thyroid Carcinoma in a Chinese Population [J]. *Int J Endocrinol*, 2015, 2015: 405217. DOI: 10. 1155/2015/405217.
- [23] Feng S, Lin S, Zou J, et al. Association between rs12045440 Polymorphism in the CAPZB Intron and Serum TSH Concentrations in Chinese Thyroid Tumor Patients [J]. *International Journal of Endocrinology*, 2015, 2015: 1-7. DOI: 10. 1155/2015/250542.
- [24] 肖晓岚, 陈集敏, 陈献珊. Bcl-2 基因多态性及其蛋白表达与甲状腺乳头状癌的关系研究 [J]. *中国临床研究*, 2016, 29 (4) : 433-436. DOI: 10. 13429/j. cnki. cjcr. 2016. 04. 001.

(收稿日期 2016-11-28)

(责任编辑: 石俊强)