

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2011.00886

人染色体 8p11(*CHRNA3-CHRNA6*)区域基因多态性与 中国汉族人群肺癌易感性的相关性

张晓博¹, 赵振宏¹, 陈红岩¹, 王久存¹, 钱吉¹, 杨亚军¹, 魏庆义², 黄建³, 卢大儒¹

1. 复旦大学生命科学学院遗传工程国家重点实验室, 上海 200433;

2. 美国德州大学 M.D.Anderson 癌症中心流行病学系, 休斯顿 TX 77030-3721;

3. 上海交通大学基础医学院生物化学与分子细胞生物学系, 上海 200025

摘要: 为探讨人染色体 8p11(*CHRNA3-CHRNA6*)区域基因多态性与中国汉族人群肺癌遗传易感性之间的关系, 文章采用病例-对照研究, 对 784 例肺癌患者和 782 例性别、年龄、籍贯频数与之相匹配的健康对照中该区域 6 个标签 SNP 位点进行基因分型, 并统计分析其基因型频率分布与肺癌易感性的关系, 以及吸烟在其中的影响。结果发现 rs16891561 位点 *TT* 基因型在 60 岁以上人群(校正 OR=0.42, 95% CI=0.20-0.88; $P=0.022$)、女性人群(校正 OR=0.34, 95% CI=0.13-0.87; $P=0.025$)、非吸烟人群中(校正 OR=0.32, 95% CI=0.13-0.79; $P=0.013$)对肺癌发生具有保护效应; rs4236926 位点 *TT* 基因型在 60 岁以上人群(校正 OR=0.48, 95% CI=0.23-0.99; $P=0.048$)、非吸烟人群(校正 OR=0.32, 95% CI=0.13-0.80; $P=0.014$)中对肺癌发生具有保护效应, 这两种保护效应主要是与腺癌相关。对这两个位点进行累积效应分析发现, 含有 3~4 个变异等位基因型的非吸烟者罹患肺癌的风险显著降低(校正 OR=0.29, 95% CI=0.11-0.71; $P=0.007$), 并且, 含有 3~4 个变异等位基因型的个体累计吸烟量 (“包·年”平均数=13.2)与其他个体相比显著降低。由此可见人染色体 8p11(*CHRNA3-CHRNA6*)区域基因多态性与中国汉族人群肺癌易感性和吸烟行为相关。

关键词: 8p11; *CHRNA3*; *CHRNA6*; 单核苷酸多态性; 肺癌易感性

Human chromosome 8p11 (*CHRNA3-CHRNA6*) region gene polymorphisms and susceptibility to lung cancer in Chinese Han population

ZHANG Xiao-Bo¹, ZHAO Zhen-Hong¹, CHEN Hong-Yan¹, WANG Jiu-Cun¹, QIAN Ji¹,
YANG Ya-Jun¹, WEI Qing-Yi², HUANG Jian³, LU Da-Ru¹

1. State key laboratory of Genetic Engineering, The Institute of Genetics, School of Life Sciences, Fudan University, Shanghai 200433, China;

2. Department of Epidemiology, The University of Texas M.D. Anderson Cancer Center, Houston, Texas, TX 77030-3721, USA;

3. Department of Biochemistry and Molecular Cell Biology, Basic Medical College, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200025, China

Abstract: To investigate the association between chromosome 8p11 (*CHRNA3-CHRNA6*) polymorphisms and lung cancer susceptibility in Chinese Han population, we genotyped 6 tag SNPs variants of this region among 784 patients with lung cancer and 782 age- and sex-matched cancer-free control participants to screen for any risk-associated SNPs. The results

收稿日期: 2011-04-14; 修回日期: 2011-05-11

基金项目: 上海市科委重点项目(编号: 09JC1402200), 上海市国际合作项目(编号: 10410709100)和上海市重点学科建设项目(编号: B111)资助

作者简介: 张晓博, 在读硕士研究生, 专业方向: 肿瘤分子流行病学。E-mail: zhangxb.fdu@gmail.com

通讯作者: 卢大儒, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 肿瘤分子流行病学。E-mail: drlu@fudan.edu.cn

黄建, 博士, 副教授, 研究方向: 肿瘤分子生物学。E-mail: jyhuang@shsmu.edu.cn

revealed that rs16891561 *TT* genotype had a protective effect against lung cancer in people over 60 years old (adjusted OR=0.42, 95% CI=0.20-0.88; $P=0.022$), female groups (adjusted OR=0.34, 95% CI=0.13-0.87; $P=0.025$), and non-smoking people (adjusted OR=0.32, 95% CI=0.13-0.79; $P=0.013$). Additionally, rs4236926 *TT* genotype had a protective effect against lung cancer in people over 60 years old (adjusted OR=0.48, 95% CI=0.23-0.99; $P=0.048$) and non-smoking people (adjusted OR=0.32, 95% CI=0.13-0.80; $P=0.014$). According to pathological type of lung cancer, these two SNPs were associated with adenocarcinomas susceptibility. As to cumulative effect of rs4236926 and rs16891561, in non-smokers strata, lung cancer risk was significantly reduced in those who had 3-4 mutant alleles (adjusted OR=0.29, 95% CI=0.11-0.71; $P=0.007$). Furthermore, people containing 3-4 mutant alleles had lower level of smoking doses (mean pack-year=13.2) compared with others. In conclusion, 8p11 (*CHRNA3-CHRNA6*) polymorphisms are related to smoking behavior and lung cancer susceptibility in Chinese Han population.

Keywords: 8p11; *CHRNA3*; *CHRNA6*; single nucleotide polymorphism; lung cancer susceptibility

肺癌是威胁人类健康和生命最严重的恶性肿瘤之一,其发病率和致死率高居各种癌症之首。在我国,肺癌发病率和死亡率在男性恶性肿瘤中居首位,在女性中居第2位^[1]。肺癌是由基因和环境共同作用导致的复杂疾病,尽管其发病机制至今尚未完全阐明,但流行病学调查显示,吸烟是引发肺癌最主要的环境危险因素,吸烟者罹患肺癌的风险是非吸烟者的20倍。但是,虽然80%~90%的肺癌发生与吸烟相关,吸烟者中仅有10%~15%的人会发生肺癌^[2~4],这表明个体间存在肺癌易感性的差异,而这种差异来自于个体的遗传多态性。目前,单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)与肺癌易感性关系的研究是肺癌研究领域的一个热点。随着全基因组关联研究(Genome-wide association study, GWAS)的发展,目前已经筛选到一些与肺癌易感性相关的染色体区域,包括人染色体15q24-25、5p15.33、6p21、8p11等区域^[5~9]。染色体8p11区域含有编码神经型乙酰胆碱受体亚基的*CHRNA3*基因和*CHRNA6*基因。*CHRNA3-CHRNA6*基因以“tail-to-tail”的方式定位于8号染色体短臂,分别编码神经型尼古丁乙酰胆碱受体的3亚基6亚基^[9]。Thorgeirsson等^[8]研究发现,8p11(*CHRNA3-CHRNA6*)区域的rs6474412位点与个体起始吸烟行为和每天的吸烟量相关($P=1.4 \times 10^{-8}$),且该位点T等位基因会显著增加其携带者罹患肺癌的风险(OR=1.12, 95% CI=1.05-1.20; $P=0.0006$)。Zeiger等^[6]对1056例混合人群样本的研究表明,*CHRNA3*(rs4950、rs13280604、rs4954、hCV25772398)和*CHRNA6*(rs2304297)都与未成年人

早期的吸烟行为相关;Saccone等^[7]对1050例尼古丁依赖个体和879例非尼古丁依赖的欧洲个体进行了研究,发现位于8p11(*CHRNA3-CHRNA6*)区域的位点rs13277254与尼古丁依赖性显著相关。

以上这些结果主要是在高加索人群中发现的,目前在中国汉族人群中还未见有关人染色体8p11(*CHRNA3-CHRNA6*)区域基因多态性与肺癌易感性以及与吸烟行为关联研究的报道。因此,本研究选取了覆盖该区域的6个tag SNP位点进行研究,以探讨该区域遗传多态性在中国汉族人群中是否与肺癌易感性相关。

1 材料和方法

1.1 研究对象

本研究中肺癌患者来自2009年1月到2009年9月在泰州第一人民医院和上海长海医院病理组织学确诊的新发肺癌患者,纳入标准为:病理组织学确诊的新发肺癌患者;无其他器官恶性肿瘤史;无性别、年龄及病理类型的限制,共784例患者纳入研究。对照样本来自同一时期相应社区健康体检者,其籍贯分布地区(城乡)、性别、年龄(± 5 岁)与病例频数匹配,共782例对照纳入研究,所有人群均为汉族人群。本研究经复旦大学生命科学学院伦理委员会批准,流行病学调查资料收集及血液样本采集均经研究对象知情同意,遵守伦理学的各项规定。

1.2 方法

1.2.1 8p11(*CHRNA3-CHRNA6*)区域 SNP 位点选择

SNP位点的选择采取tag SNP策略,我们基于

HapMap 数据库 期数据, 设置最小等位基因频率 (Minor allele frequency, MAF) 0.05, 关联强度 r^2 0.8。在染色体 8p11 区从 42 671 719 bp 到 42 742 776 bp 共 71 kb 区域内选取 6 个 tag SNP, 覆盖了 *CHRNA6* 基因区域。

1.2.2 8p11(*CHRNA6*)区域 SNP 位点基因分型

用抗凝枸橼酸葡萄糖(Anticoagulant citrate dextrose, ACD)抗凝的采血管收集研究对象的外周静脉血 3~5 mL, 保存于-20 °C 冰箱中。采用天根生化公司血液基因组 DNA 提取试剂盒抽(目录号 DP319)提基因组 DNA。

基因分型采用基于连接酶检测反应(Ligase detection reaction, LDR)原理的基因分型方法, 由上海天昊生物科技有限公司完成分型, 该技术基本原理是采用连接酶连接反应的高特异性实现对 SNP 位点等位基因的识别, 然后通过连接探针末段引入不同长度的非特异序列以及通过连接酶加接反应获得位点对应的不同长度连接产物, 利用标记荧光的通用引物对连接产物进行 PCR 扩增, 通过荧光毛细管电泳对扩增产物进行电泳分离, 最后通过对电泳图谱的分析获取各个 SNP 位点的基因型。分型成功率 99%, 准确率 99.6%。

1.2.3 统计分析方法

病例组与对照组间性别、吸烟状况和各位点等位基因频率及基因型频率等分类变量采用卡方(χ^2)检验进行分析, 对于年龄等连续性变量采用 Student's *t* 检验进行分析; 应用 Haploview 软件(<http://www.broad.mit.edu/personal/jcbarret/haploview/>)进行拟和优度 χ^2 检验(Goodness-of-fit chi-square test)分析各 SNP 位点在病例和对照组中基因型频率的分布是否符合哈代-温伯格平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HEW); 以非条件 Logistic 回归法计算相对危险度比值比(Odd ratio, OR)和 95%置信区间(95% confidence interval, 95% CI); 以单因素方差分析比较不同个体累计吸烟量的差异。每天吸烟数量少于 1 支且吸烟时间少于 1 年为非吸烟者, 其余定义为吸烟者。累计吸烟量“包-年”的定义为: 每日吸烟支数/20 × 吸烟年数。若无特别说明, 统计分析均采用 SPSS17.0

进行, 所有的统计检验均为双侧概率检验。

2 结果与分析

2.1 研究对象基本资料

本研究包含了 784 例肺癌患者和 782 例健康对照, 所有研究对象年龄、性别、吸烟状态分布情况以及肺癌患者病理分型情况见表 1。病例组和对照组的平均年龄分别为 62.33±10.74 岁和 62.72±10.71 岁($P=0.476$), 病例中男性占 73.3%, 女性占 26.7%, 对照中男性占 71.6%, 女性占 28.4%($P=0.443$), 病例组和对照组年龄、性别均无统计学差异。病例和对照在吸烟状态上存在显著差异, 表现为病例组中比对照组中存在更多的吸烟者($P<0.001$), 说明吸烟是影响肺癌发生的重要环境风险因素。组织病理分型显示, 腺癌患者占总发病人数的 45.9%, 其次为鳞癌, 占总发病人数的 32.3%, 小细胞癌的比例为 9.4%, 大细胞癌等其他类型的癌占 12.4%。我们选取的样本平均发病年龄、肺癌患者性别比例以及组织病理分型比例均与以往报道基本相符。

表 1 所选变量在病例-对照组中的分布情况

	病例(784 例)		对照(782 例)		P^a
	例数	(%)	例数	(%)	
年龄(岁)					
60	319	40.7	317	40.5	0.476 ^b
> 60	461	58.8	465	59.5	
平均值±标准偏差	62.33±10.74		62.72±10.71		
性别					
男	575	73.3	560	71.6	0.443
女	209	26.7	222	28.4	
吸烟状况					
非吸烟者	224	28.6	373	47.7	< 0.001
吸烟者	537	68.5	409	52.3	
组织病理类型					
腺癌	360	45.9			
鳞癌	253	32.3			
腺鳞癌	15	1.9			
小细胞癌	74	9.4			
其他 ^c	82	10.5			

2.2 单位点分析结果

表 2 显示了本研究中全部 tag SNP 位点的基本信息, 包括 ID、染色体位置、最小等位基因频率、基因分型成功率等。所有位点在对照组中的等位基因频率分布符合 HWE 平衡, P 值均 >0.05 , 说明我们所选的人群各 SNP 位点基因频率分布处于平衡状态, 具有群体代表性。

在单位点分析中, 我们发现 rs4236926 位点的

基因型分布在病例和对照中存在差异($P=0.031$), 但经过性别、年龄、累计吸烟量的校正之后这一差异消失(表 3)。进一步对上述 6 个 SNP 位点按照年龄、性别、吸烟状况、肺癌病理分型进行分层分析发现, rs16891561(T>C)位点 TT 基因型在 60 岁以上人群(校正 $OR=0.42$, 95% $CI=0.20-0.88$; $P=0.022$)、女性人群(校正 $OR=0.34$, 95% $CI=0.13-0.87$; $P=0.025$)、非吸烟人群中(校正 $OR=0.32$, 95% $CI=0.13-0.79$; $P=0.013$)

表 2 8p11(*CHRNA3-CHRNA6*)位点信息与分型结果

SNP	碱基类型	基因	染色体上位置	MAF			分型成功率(%)	P (HEW) ^b	P^c
				病例	对照	数据库 ^a			
rs16891569	C>T	—	42599489	0.09	0.1	0.07	100	0.27	0.14
rs4236926	T>G	<i>CHRNA3</i>	42578059	0.22	0.23	0.18	100	0.12	0.29
rs4954	G>A	<i>CHRNA3</i>	42587796	0.13	0.14	0.18	100	0.31	0.70
rs9298628	C>T	<i>CHRNA6</i>	42605991	0.23	0.23	0.22	100	0.25	0.90
rs16891561	T>C	<i>CHRNA3</i>	42579739	0.22	0.23	0.22	99.9	0.20	0.43
rs16891604	C>A	<i>CHRNA6</i>	42618713	0.18	0.2	0.13	100	0.30	0.07

注: ^a MAF, 最小等位基因频率, 来自 HapMap 数据库; ^b 拟和优度 χ^2 检验 HWE 在对照组中的 P 值; ^c 病例组与对照组间等位基因分布频率差异的 χ^2 检验 P 值。

表 3 8p11(*CHRNA3-CHRNA6*)区域 11 个 SNP 基因型分布

SNP	基因型	P^a	非条件逻辑回归	
			OR(95% CI) ^b	P^c
rs16891569	CC	0.323	1(reference)	
	CT		0.85(0.64-1.13)	0.267
	TT		0.95(0.21-4.43)	0.950
rs4236926	GG	0.031	1(reference)	
	GT		1.08(0.87-1.35)	0.492
	TT		0.65(0.39-1.08)	0.095
rs4954	AA	0.782	1(reference)	
	GA		1.01(0.79-1.29)	0.957
	GG		0.89(0.44-1.82)	0.749
rs9298628	CC	0.157	1(reference)	
	CT		1.14(0.92-1.43)	0.237
	TT		0.84(0.52-1.36)	0.471
rs16891561	CC	0.062	1(reference)	
	CT		1.08(0.86-1.35)	0.500
	TT		0.65(0.39-1.10)	0.107
rs16891604	CC	0.196	1(reference)	
	CA		0.87(0.69-1.09)	0.220
	AA		0.78(0.46-1.35)	0.376

注: ^a 病例组与对照组中各 SNP 位点基因型频率分布 χ^2 检验的 P 值; ^b OR, 比值比; 95% CI, 95% 置信区间; ^c 校正年龄、性别、累计吸烟量的非条件逻辑回归分析 P 值。

对肺癌发生具有保护效应, 按病理类型分层分析结果显示, 这种保护效应主要体现为对腺癌的保护性(校正 $OR=0.46$, 95% $CI=0.22-0.93$; $P=0.031$); rs4236926 (T>G)位点 TT 基因型在 60 岁以上人群(校正 $OR=0.48$, 95% $CI=0.23-0.99$; $P=0.048$)、非吸烟人群中(校正 $OR=0.32$, 95% $CI=0.13-0.80$; $P=0.014$)对肺癌发生具有保护效应, 并且这种保护性也主要体现在对腺癌的保护(校正 $OR=0.47$, 95% $CI=0.23-0.95$; $P=0.036$) (表 4)。

2.3 rs4236926、rs16891561 两位点累积效应与肺癌易感性分析

由于 rs4236926、rs16891561 两位点在肺癌易感性分层分析中具有一致的趋势, 都对女性人群和非吸烟人群具有保护效应, 因此我们对这两个位点累积效应与肺癌易感性的关系进行了分析, 结果发现, 在非吸烟人群中, 含有 3~4 个变异等位基因的个体与不含变异等位基因的个体相比存在极其显著的统计学差异(校正 $OR=0.29$, 95% $CI=0.11-0.70$; $P=0.007$), 两个位点累积变异对于肺癌易感性具有更加显著的保护效应(表 5)。但是, 在非吸烟者中没有发现这两个位点与肺癌易感性之间存在相关性。

表 4 rs4236926 和 rs16891561 位点基因型分布与肺癌易感性分层分析

		rs4236926				rs16891561			
		GT vs.GG		TT vs.GG		CT vs.CC		TT vs.CC	
	例数 (病例/对照)	OR(95% CI) ^a	P ^b	OR(95% CI) ^a	P ^b	OR(95% CI) ^a	P ^b	OR(95% CI) ^a	P ^b
年龄(岁)									
≤60	319/317	1.18(0.83-1.66)	0.356	0.94(0.45-1.94)	0.859	1.10(0.78-1.55)	0.597	1.12(0.53-2.40)	0.765
> 60	461/465	1.03(0.77-1.39)	0.828	0.48(0.23-0.99)	0.048	1.08(0.81-1.45)	0.607	0.42(0.20-0.88)	0.022
性别									
男	575/560	1.14(0.87-1.49)	0.344	0.78(0.43-1.43)	0.425	1.17(0.89-1.53)	0.263	0.91(0.49-1.70)	0.767
女	209/222	1.03(0.69-1.54)	0.903	0.42(0.16-1.12)	0.084	0.96(0.64-1.43)	0.837	0.34(0.13-0.87)	0.025
吸烟状况									
非吸烟者	224/373	1.08(0.75-1.55)	0.685	0.32(0.13-0.80)	0.014	1.04(0.72-1.49)	0.849	0.32(0.13-0.79)	0.013
吸烟者	537/409	1.11(0.84-1.46)	0.467	0.99(0.51-1.96)	0.987	1.13(0.86-1.49)	0.379	1.09(0.54-2.16)	0.817
组织病理类型									
腺癌	360/782	1.00(0.77-1.32)	0.976	0.47(0.23-0.95)	0.036	0.99(0.98-1.00)	0.923	0.46(0.22-0.93)	0.031
鳞癌	253/782	1.15(0.81-1.63)	0.429	1.27(0.62-2.61)	0.512	1.17(0.83-1.65)	0.383	1.29(0.62-2.71)	0.500

注: ^a MAF, 最小等位基因频率, 来自 HapMap 数据库; ^b 拟和优度 χ^2 检验 HWE 在对照组中的 P 值; ^c 病例组与对照组间等位基因分布频率差异的 χ^2 检验 P 值。

表 5 rs4236926-rs16891561 累积效应与肺癌易感性分析

基因型	非吸烟者		吸烟者	
	OR(95% CI) ^b	P ^c	OR(95% CI) ^b	P ^c
0 ^a	1(reference)		1(reference)	
1-2 ^a	0.76(0.53-1.09)	0.138	0.82(0.63-1.07)	0.148
3-4 ^a	0.29(0.11-0.71)	0.007	1.10(0.53-2.25)	0.804

注: ^a 0,1-2,3-4 代表 rs4236926-rs16891561 位点的变异等位基因个数;
^b OR,比值比; 95% CI,95%置信区间; ^c 校正年龄、性别、累计吸烟量后非条件逻辑回归分析 P 值。

2.4 rs4236926、rs16891561 两位点与累计吸烟量(包-年)相关性分析

为了进一步探究吸烟是否在 rs4236926、rs16891561 两位点与肺癌的关联性之间发挥作用,我们分析了这两个位点与个体累计吸烟量的关系,结果发现,携带 3~4 个变异等位基因的个体“包-年”平均数为 13.2,显著低于不携带变异等位基因的个体(“包-年”平均数=21.65)和携带 1~2 个变异等位基因的个体(“包-年”平均数=21.13),P 值分别为 0.007 和 0.012(表 6)。

表 6 rs4236926-rs16891561 两位点与个体累计吸烟量相关性的单因素方差分析

基因型	“包-年”平均数	P ^b	
0 ^a	21.65	1-2 ^a	0.70
		3-4 ^a	0.007
1-2 ^a	21.13	0 ^a	0.70
		3-4 ^a	0.012
3-4 ^a	13.2	0 ^a	0.007
		1-2 ^a	0.012

注: ^a 0,1-2,3-4 代表 rs4236926-rs16891561 位点的变异等位基因个数;
^b 单因素方差分析 P 值。

3 讨论

本研究通过病例-对照研究,探讨了 8p11(*CHRNA3-CHRNA6*)区域基因多态性与中国汉族人群肺癌易感性的关系。研究发现,rs4236926 位点的 TT 纯合子基因型对 60 岁以上人群和非吸烟人群具

有保护效应;rs16891561 位点的 TT 纯合子基因型对 60 以上的人群、女性人群、非吸烟人群具有保护效应。两者的保护效应均体现在腺癌。由于这两个位点在分层分析中都显示出对非吸烟人群的保护效应,我们对这两个位点与肺癌易感性进行了累积效应分析,结果发现,在非吸烟者当中携带 3~4 个变异等位基因的个体与不含变异等位基因的个体相比,罹患肺癌的风险显著降低。此外,本研究还发现该区域与个体累计吸烟量相关,携带 3~4 个变异等位基因型的个体与不含变异等位基因型的个体及含有 1~2 个变异等位基因型的个体相比具有更低的“包-年”平均数。

CHRNA3-CHRNA6 基因属于神经型尼古丁乙酰胆碱受体(Neural nicotinic acetylcholine receptors, *nAChRs*)基因家族,*nAChRs* 基因是研究尼古丁依赖性吸烟行为的热点基因。*nAChRs* 属于配体门离子通道超家族,在中枢神经系统和外周神经系统均有表达,该受体是由 α 亚基和 β 亚基组成的 5 聚体蛋白,其中 α 亚基包括 9 种类型($\alpha 2-\alpha 10$), β 亚基包括 3 种类型($\beta 2-\beta 4$),每一种亚基都由不同的基因编码。*CHRNA3-CHRNA6* 基因“尾尾相连”定位于染色体 8p11 区域形成一个基因簇,分别编码 *nAChRs* 的 $\beta 3$ 亚基和 $\alpha 6$ 亚基^[9,10]。目前的研究表明 *nAChRs* 基因与个体的吸烟行为如尼古丁依赖等相关。吸烟是引起肺癌的重要外界因素,尽管越来越多的人已经意识到吸烟的危害性,但仍有许多人持续吸烟,这主要是因为吸烟可以导致尼古丁依赖性。尼古丁是烟草中的重要成分,尼古丁依赖性研究吸烟行为的一个重要指标^[7,11]。Zeiger 等^[6]对 1056 例混合人群样本的研究表明 *CHRNA3*(rs4950、rs13280604、rs4954、hCV25772398)和 *CHRNA6*(rs2304297)都与未成年人早期的吸烟行为及对烟草的反应相关,其中 rs4950 位点、rs2304297 位点、rs13280604 位点均与我们研究发现的阳性位点 rs16891561 存在连锁关系(r^2 值分别为 0.874、0.872、0.874),但是本研究在中国汉族人群中未发现 rs4954 位点与累计吸烟量相关。Saccone 等^[7]在欧洲人群中对 1 050 例尼古丁依赖个体和 879 例非尼古丁依赖个体进行了研究,发现位于 8p11(*CHRNA3-CHRNA6*)区域的位点 rs13277254 与

尼古丁依赖性显著相关, rs13277254(G>A)位点 A 等位基因相对于 G 等位基因可使尼古丁依赖性程度增加 39%(校正 OR=1.39, 95% CI=1.18-1.64; $P=6.04 \times 10^{-4}$), 该位点位于 *CHRNA6* 基因的 5'端, 可能参与调控该基因簇的表达。rs13277254 与本研究发现阳性位点 rs16891561 也存在连锁关系($r^2=0.874$)。Thorgeirsson 等^[8]对 12 篇 GWAS 研究做了 meta 分析, 发现 8p11(*CHRNA6*)区域 rs6474412 (C>T)位点 T 等位基因与个体日吸烟量(Cigarettes smoked per day, CPD)相关(effect size=0.29 CPD, $P=1.4 \times 10^{-8}$), 随后他们在 2019 例肺癌患者和 40 509 例健康对照人群中研究该位点多态性与肺癌易感性的关系, 并将他们的实验结果与 IARC 机构的 GWAS 结果^[12]合并进行 meta 分析, 发现 rs6474412 位点 T 等位基因可显著增加其携带者罹患肺癌的风险(OR=1.12, 95% CI=1.05-1.20; $P=0.0006$)。该位点与我们研究中发现的 rs16891561 位点之间存在连锁关系($r^2=0.808$), 进一步支持了 rs16891561 位点与肺癌易感性之间的相关性。rs4236926、rs16891561 这两个位点都位于 *CHRNA6* 基因的 1 号内含子区, 我们猜测其多态性可能会影响该基因的转录效率或者影响 mRNA 的剪接方式, 但是目前并没有相关文献报道, 这个猜测需要进一步的功能研究来验证。

nAChRs 基因在肺泡上皮细胞、肺的神经内分泌细胞中均有表达^[13], 外源尼古丁作为 *nAChRs* 的配体可以促进癌细胞的生长, 尼古丁促进肺癌细胞的生长就像雌性激素促进乳腺癌细胞的生长一样^[14], 还有一些零星的报道支持尼古丁可促进癌细胞增殖、迁移、肿瘤血管生成, 以及诱导凋亡抑制基因 *Bcl-2* 过表达, 从而抑制肺癌细胞凋亡^[15-18]。Lam 等^[18]在对非小细胞肺癌患者的研究中发现, 非吸烟患者比吸烟患者具有更高的 *CHRNA6* 基因表达量, 提示该基因在肺癌发生过程中发挥功能的途径可能与吸烟暴露情况和尼古丁依赖性有关。但是 Pratesi 等^[19]在裸鼠身上移植了人的小细胞肺癌细胞, 并用尼古丁对裸鼠加以处理, 并没有发现其可以促进肺癌细胞的生长。Waldum 等^[20]对大鼠进行了长达两年的实验, 他们定期用一定浓度的尼古丁药剂喂养大鼠, 最后测得这些大鼠血浆中尼古丁的浓度为对照组

的两倍, 但处理组大鼠并没有表现出比对照组大鼠有更高的罹患任何种类肿瘤, 包括肺癌的风险。到目前为止, 人们并没有确凿的证据可以说明尼古丁能够直接促进肺癌的发生。本研究虽发现 rs4236926、rs16891561 位点的变异型等位基因在吸烟行为和肺癌易感性方面具有一致的保护效应, 但是该区域与肺癌发病的相关性主要体现在非吸烟人群中, 因此吸烟是否在中国汉族人群中 *CHRNA6* 基因与肺癌易感性的关联之间发挥了作用还有待于进一步研究。

参考文献(References):

- [1] 姚成云, 黄新恩, 黎超, 李艳, 许红霞, 沈洪兵. 在晚期非小细胞肺癌中 XRCC1 和 XPD 基因多态性的联合和铂类化疗的关系. 徐州医学院学报, 2010, 30(6): 391-395.
- [2] Hammond EC, Seidman H. Smoking and cancer in the United States. *Prev Med*, 1980, 9(2): 169-173.
- [3] Mattson ME, Pollack ES, Cullen JW. What are the odds that smoking will kill you? *Am J Public Health*, 1987, 77(4): 425-431.
- [4] Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Thun MJ. Cancer statistics, 2009. *CA Cancer J Clin*, 2009, 59(4): 225-249.
- [5] Thorgeirsson TE, Geller F, Sulem P, Rafnar T, Wiste A, Magnusson KP, Manolescu A, Thorleifsson G, Stefansson H, Ingason A, Stacey SN, Bergthorsson JT, Thorlacius S, Gudmundsson J, Jonsson T, Jakobsdottir M, Saemundsdottir J, Olafsdottir O, Gudmundsson LJ, Bjornsdottir G, Kristjansson K, Skuladottir H, Isaksson HJ, Gudbjartsson T, Jones GT, Mueller T, Gottsäter A, Flex A, Aben KKH, de Vegt F, Mulders PFA, Isla D, Vidal MJ, Asin L, Saez B, Murillo L, Blondal T, Kolbeinnsson H, Stefansson JG, Hansdottir I, Runarsdottir V, Pola R, Lindblad B, van Rij AM, Dieplinger B, Haltmayer M, Mayordomo JJ, Kiemeny LA, Matthiasson SE, Oskarsson H, Tyrfinsson T, Gudbjartsson DF, Gulcher JR, Jonsson S, Thorsteinsdottir U, Kong A, Stefansson K. A variant associated with nicotine dependence, lung cancer and peripheral arterial disease. *Nature*, 2008, 452(7187): 638-642.
- [6] Zeiger JS, Haberstick BC, Schlaepfer I, Collins AC, Corley RP, Crowley TJ, Hewitt JK, Hopfer CJ, Lessem J, McQueen MB, Rhee SH, Ehringer MA. The neuronal nicotinic receptor subunit genes (*CHRNA6* and *CHRNA3*) are associated with subjective responses to tobacco. *Hum*

- Mol Genet*, 2008, 17(5): 724–734.
- [7] Saccone NL, Saccone SF, Hinrichs AL, Stitzel JA, Duan W, Pergadia ML, Agrawal A, Breslau N, Gruzca RA, Hatsu-kami D, Johnson EO, Madden PA, Swan GE, Wang JC, Goate AM, Rice JP, Bierut LJ. Multiple distinct risk loci for nicotine dependence identified by dense coverage of the complete family of nicotinic receptor subunit (*CHRN*) genes. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2009, 150B(4): 453–466.
- [8] Thorgeirsson TE, Gudbjartsson DF, Surakka I, Vink JM, Amin N, Geller F, Sulem P, Rafnar T, Esko T, Walter S, Gieger C, Rawal R, Mangino M, Prokopenko I, Mägi R, Keskitalo K, Gudjonsdottir IH, Gretarsdottir S, Stefansson H, Thompson JR, Aulchenko YS, Nelis M, Aben KK, den Heijer M, Dirksen A, Ashraf H, Soranzo N, Valdes AM, Steves C, Uitterlinden AG, Hofman A, Tönjes A, Kovacs P, Hottenga JJ, Willemsen G, Vogelzangs N, Döring A, Dahmen N, Nitz B, Pergadia ML, Saez B, De Diego V, Lezcano V, Garcia-Prats MD, Ripatti S, Perola M, Ket-tunen J, Hartikainen AL, Pouta A, Laitinen J, Isohanni M, Huei-Yi S, Allen M, Krestyaninova M, Hall AS, Jones GT, van Rij AM, Mueller T, Dieplinger B, Haltmayer M, Jonsson S, Matthiasson SE, Oskarsson H, Tyrfinsson T, Kiemeny LA, Mayordomo JI, Lindholt JS, Pedersen JH, Franklin WA, Wolf H, Montgomery GW, Heath AC, Mar-tin NG, Madden PA, Giegling I, Rujescu D, Järvelin MR, Salomaa V, Stumvoll M, Spector TD, Wichmann HE, Metspalu A, Samani NJ, Penninx BW, Oostra BA, Boomsma DI, Tiemeier H, van Duijn CM, Kaprio J, Gulcher JR; ENGAGE Consortium, McCarthy MI, Pelto-nen L, Thorsteinsdottir U, Stefansson K. Sequence vari-ants at *CHRNA3-CHRNA6* and *CYP2A6* affect smoking behavior. *Nat Genet*, 2010, 42(5): 448–453.
- [9] Hoft NR, Corley RP, McQueen MB, Schlaepfer IR, Huiz-inga D, Ehringer MA. Genetic association of the *CHRNA6* and *CHRNA3* genes with tobacco dependence in a nation-ally representative sample. *Neuropsychopharmacology*, 2009, 34(3): 698–706.
- [10] Picciotto MR, Caldarone BJ, Brunzell DH, Zachariou V, Stevens TR, King SL. Neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit knockout mice: physiological and behav-ioral phenotypes and possible clinical implications. *Pharmacol Ther*, 2001, 92(2–3): 89–108.
- [11] Jarvis MJ. Why people smoke. *BMJ*, 2004, 328(7434): 277–279.
- [12] Hung RJ, McKay JD, Gaborieau V, Boffetta P, Hashibe M, Zaridze D, Mukeria A, Szeszenia-Dabrowska N, Lis-sowska J, Rudnai P, Fabianova E, Mates D, Bencko V, Foretova L, Janout V, Chen C, Goodman G, Field JK, Liloglou T, Xinarianos G, Cassidy A, McLaughlin J, Liu G, Narod S, Krokan HE, Skorpen F, Elvestad MB, Hveem K, Vatten L, Linseisen J, Clavel-Chapelon F, Vineis P, Bueno-de-Mesquita HB, Lund E, Martinez C, Bingham S, Rasmuson T, Hainaut P, Riboli E, Ahrens W, Benhamou S, Lagiou P, Trichopoulos D, Holcátová I, Merletti F, Kjaer-heim K, Agudo A, Macfarlane G, Talamini R, Simonato L, Lowry R, Conway DI, Znaor A, Healy C, Zelenika D, Boland A, Delepine M, Foglio M, Lechner D, Matsuda F, Blanche H, Gut I, Heath S, Lathrop M, Brennan P. A sus-ceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetyl-choline receptor subunit genes on 15q25. *Nature*, 2008, 452(7187): 633–637.
- [13] Minna JD. Nicotine exposure and bronchial epithelial cell nicotinic acetylcholine receptor expression in the patho-genesis of lung cancer. *J Clin Invest*, 2003, 111(1): 31–33.
- [14] Spindel ER. Is nicotine the estrogen of lung cancer? *Am J Respir Crit Care Med*, 2009, 179(12): 1081–1082.
- [15] Wong HPS, Yu L, Lam EKY, Tai EKK, Wu WKK, Cho CH. Nicotine promotes colon tumor growth and angiogenesis through β -adrenergic activation. *Toxicol Sci*, 2007, 97(2): 279–287.
- [16] Al-Wadei HAN, Plummer HK, Schuller HM. Nicotine stimulates pancreatic cancer xenografts by systemic in-crease in stress neurotransmitters and suppression of the inhibitory neurotransmitter γ -aminobutyric acid. *Carcino-genesis*, 2009, 30(3): 506–511.
- [17] Zhang T, Lu H, Shang X, Tian YH, Zheng CY, Wang SW, Cheng HH, Zhou RJ. Nicotine prevents the apoptosis in-duced by menadione in human lung cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 342(3): 928–934.
- [18] Lam DCL, Girard L, Ramirez R, Chau WS, Suen WS, Sheridan S, Tin VPC, Chung LP, Wong MP, Shay JW, Gazdar AF, Lam WK, Minna JD. Expression of nicotinic acetylcholine receptor subunit genes in non-small-cell lung cancer reveals differences between smokers and nonsmokers. *Cancer Res*, 2007, 67(10): 4638–4647.
- [19] Pratesi G, Cervi S, Balsari A, Bondiolotti G, Vicentini LM. Effect of serotonin and nicotine on the growth of a human

small cell lung cancer xenograft. *Anticancer Res*, 1996, 16(6B): 3615-3619.

[20] Waldum HL, Nilsen OG, Nilsen T, Rørvik H, Syversen U,

Sandvik AK, Haugen OA, Torp SH, Brenna E. Long-term effects of inhaled nicotine. *Life Sci*, 1996, 58(16): 1339-1346.

•综合信息•

中国医学界专家欢迎基因测序技术走入临床——记“北京同仁医院基因测序技术临床应用学术研讨会”

由中华医学会北京分会检验分会主办，首都医科大学附属北京同仁医院承办，Life Technologies 公司协办的“北京同仁医院基因测序技术临床应用学术研讨会”近日在京召开。300 多位医学领域的专家、学者、临床医生、检验病理医生及媒体代表共聚北京同仁医院，共同探讨了基因测序技术在临床医学的发展和应用。

专家高度肯定基因测序的临床意义

北京同仁医院韩德民院长认为，基因检验不仅应帮助提升疾病诊疗的效果，而且应为健康监测与疾病预防提供强大支持，通过基因测序对可能引起的疾病进行提前干预，从而达到降低疾病发生的目的。目前，我国医疗领域的基因测序应用刚刚起步，同仁医院正在组织一批综合学科人才，为下一步疾病基因测序技术的临床应用做准备。

中华医学会北京分会会长金大鹏对本次学术研讨会给予了极高的肯定，呼吁医学界应当以“使科学技术让人民享用”为己任。

基因测序帮助江苏省中医院提升疗效

江苏省中医院使用 Life Technologies 的基因测序设备进行临床治疗已经有八年的时间，积累了 6000 多例临床病例。该院病理科主任医师赖仁胜教授在研讨会上作了“临床医学基因规范检测应用”专题演讲。他认为，常见恶性肿瘤使用基因测序和靶向药物治疗效果最明显。目前癌症化疗总体有效率在 30-40% 左右，而通过基因测序筛选出获益病人，通过靶向治疗可以将有效率提高到 80%。

此外，基因测序还可以帮助纠正医疗健康认识方面的一些误区。例如，吸烟致癌说是不科学的，如果通过基因测序发现一个人的基因是尼古丁依赖基因，他就需要吸烟；反之，如果他的基因是尼古丁致癌基因，他就不能吸烟。孕妇是否需要补充叶酸，也要进行相应的基因测序，盲目地补充叶酸就很可能导致中老年后的健康问题。

基因测序已成为北京同仁医院解决疑难病原的重要手段

北京同仁医院检验科主任医师鲁辛辛在研讨会上做了“微生物基因测序技术的临床应用”的专题演讲。她说，在临床诊断上，基因测序是最精确的方法，是目前公认的微生物鉴定分类的金标准，可以对非培养的原始标本直接进行测序分析。她介绍了北京同仁医院检验科如何利用毛细管凝胶电泳技术解决临床疑难病原的鉴定问题；以及全基因组鸟枪测序法、多位点序列分析在病原微生物研究中的应用等议题。鲁辛辛还向与会者介绍了应用比较广泛的第二代基因测序系列产品，其中 Life Technologies 新推出的 Ion Torrent 个人化操作基因组测序仪采用了创新的半导体芯片技术，测序速度快，且具有极高的扩展性，应用简单，造价不高，预测在临床上会有比较好的应用前景。

Life Technologies 演绎基因测序技术革命

Life Technologies 大中华区高级市场总监刘京雪博士介绍说，Life Technologies 非常看好中国的市场前景，公司总部在今年年初将大中华区提升为与美国、欧洲、亚太及日本区平级的四大区之一就是明显的例证。他表示 Life Technologies 将继续努力与中国医学界及有关政府部门紧密合作，为中国的医疗与医改事业作出贡献。

(李明君)