

### 【临床研究】

通信作者:韩亦非(1977-),男,陕西汉中,学士,主管检验师,主要从事临床检验工作;E-mail:44623827@qq.com。

乳腺癌是女性常见的癌症类型,近年来,其发病率呈上升趋势<sup>[1]</sup>。根据 2015 年发布的全球癌症统计数据,全世界共有 170 万人被诊断患有乳腺癌,其中 52.19 万人死于该病<sup>[2]</sup>。乳腺癌的发病与遗传、环境因素等多方面有关<sup>[3-4]</sup>,单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)在乳腺癌的发生和发展中起重要作用<sup>[5]</sup>。CYP19A1 基因编码的酶是细胞色素 P450 超家族的成员,其催化过程涉及药物代谢、胆固醇、类固醇和其他脂质合成的许多反应<sup>[6]</sup>。CYP19A1 蛋白质定位于内质网,并催化雌激素生物合成的最后步骤<sup>[7]</sup>。据报道,CYP19A1 基因多态性与雌激素受体阳性乳腺癌患者的生存率有相关性<sup>[8]</sup>。然而,关于 CYP19A1 基因多态性与乳腺癌患病风险相关性的研究结果并不一致<sup>[9]</sup>。本研究旨在探讨 CYP19A1 基因上 rs4646、rs6493487、rs1062033、rs17601876 和 rs3751599 共 5 个 SNP 与乳腺癌患病风险的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 3 月至 2018 年 3 月汉中市中心医院收治的女性乳腺癌患者为研究对象,入选条件:(1)经组织病理学检查确诊为乳腺癌;(2)未接受过放射治疗、化学治疗。排除条件:(1)并发其他类型肿瘤;(2)语言障碍、难以交流者;(3)受试者之间无血缘关系。本研究共纳入乳腺癌患者 300 例(乳腺癌组),年龄 41 ~ 78 (59.55 ± 8.65)岁;绝经 206 例,未绝经 94 例;生育次数 1 ~ 6 (3.2 ± 1.3)次。另选择同期体检健康女性作为对照,入选条件:(1)既往无肿瘤、慢性疾病、严重代谢性疾病及内分泌失调等病史;(2)受试者之间无血缘关系。排除条件:(1)有家庭乳腺癌病史;(2)语言障碍、难以交流者。该研究共纳入健康者 300 例(对照组),年龄 41 ~ 78 (58.45 ± 9.45)岁;绝经 205 例,未绝经 95 例;生育次数 1 ~ 6 (3.5 ± 1.5)次。2

表 1 2 组最小等位基因频率比较

Tab.1 Comparison of the minimum allele frequency between the two groups

SNP	等位基因	最小等位基因频率		P(HWE)	OR(95% CI)	P
		乳腺癌组	对照组			
rs4646	A/C	0.256	0.315	0.983	0.764(0.643 ~ 0.952)	0.011
rs6493487	G/A	0.237	0.293	0.749	0.798(0.635 ~ 0.931)	0.005
rs1062033	G/C	0.475	0.435	0.086	1.205(0.989 ~ 1.567)	0.106
rs17601876	A/G	0.272	0.348	0.945	0.713(0.573 ~ 0.896)	0.001
rs3751599	A/G	0.073	0.068	0.999	1.137(0.984 ~ 1.976)	0.542

2.2 2 组受试者 CYP19A1 基因上 5 个候选 SNP 的基因型频率比较 结果见表 2。乳腺癌组 CYP19A1 基因上 rs4646 位点的 AA 基因型、rs6493487 位点的 AG 和 GG 基因型、rs17601876 位

点受试者的年龄、月经情况及生育次数比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。本研究符合医学伦理学规定,并通过医院伦理委员会批准,患者均签署知情同意书。

1.2 试剂与仪器 全血基因组纯化试剂盒、DNA 扩增试剂盒(德国 Thermo fisher 公司),GeneAmp 9700 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪(美国 ABI 公司);电泳仪(美国 Bio-rad 公司),ABI 3500 dx 测序仪(美国 ABI 公司)。

1.3 血样采集及 DNA 提取 采集受试者外周静脉血 5 mL,置于乙二胺四乙酸二钾抗凝管中, -70 ℃冰箱保存;采用全血 DNA 纯化试剂盒进行 DNA 提取,操作步骤严格按照说明书进行。

1.4 SNP 分型 采用 Sanger 测序技术对 rs4646、rs6493487、rs1062033、rs17601876 和 rs3751599 位点进行基因分型。

1.5 统计学处理 应用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。定性资料采用相对数描述,组间比较采用 $\chi^2$ 检验;计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间比较采用  $t$  检验;采用逻辑回归分析候选 SNP 与乳腺癌患病风险的相关性;以相对优势比(odds ratio, OR)和 95 % 可信区间(confidence intervals, CI)表示 SNP 与患病风险的关系; $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组受试者 CYP19A1 基因上 5 个候选 SNP 的最小等位基因频率比较 结果见表 1。5 个候选 SNP 均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律( $P > 0.05$ )。乳腺癌组 CYP19A1 基因上 rs4646 位点的等位基因 C、rs6493487 位点的等位基因 G 及 rs17601876 位点的等位基因 A 频率低于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

点的 AG 和 AA 基因型频率低于对照组,而 rs1062033 位点的 GG 基因型频率高于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 2 2 组受试者 CYP19A1 基因上 5 个候选 SNP 的基因型频率比较

Tab.2 Comparison of the genotype frequencies of the five candidate SNP in CYP19A1 gene between the two groups

位点	基因型	乳腺癌组/例(%)	对照组/例(%)	OR(95% CI)	P
rs4646	CC	165(55.00)	142(47.33)	1.00	—
	AC	116(38.67)	127(42.33)	0.727(0.592~1.133)	0.057
	AA	19(6.33)	31(10.33)	0.572(0.332~0.931)	0.021
rs6493487	AA	175(58.33)	150(50.00)	1.00	—
	AG	108(36.00)	124(41.33)	0.754(0.422~0.998)	0.038
	GG	17(5.67)	26(8.67)	0.533(0.429~0.987)	0.019
rs1062033	CC	88(29.33)	90(30.00)	1.00	—
	GC	139(46.33)	159(53.00)	1.103(0.945~1.879)	0.137
	GG	73(24.33)	51(17.00)	1.532(1.012~2.839)	0.032
rs17601876	GG	158(52.67)	127(42.33)	1.00	—
	AG	121(40.33)	137(45.67)	0.673(0.355~0.815)	0.006
	AA	21(7.00)	36(12.00)	0.442(0.225~0.739)	0.001
rs3751599	GG	257(85.67)	260(86.67)	1.00	—
	AG	42(14.00)	39(13.00)	1.101(0.142~5.849)	0.176
	AA	1(0.33)	1(0.33)	1.102(0.885~1.438)	0.105

注:“—”为无数据。

**2.3 候选 SNP 在遗传模型下与乳腺癌患病风险的相关性** 结果见表 3。rs4646 和 rs6493487 在显性遗传模型和加性遗传模型下与降低乳腺癌患病风险有相关性( $P<0.05$ );rs1062033 在隐性遗传模型下

表 3 不同遗传模型下候选 SNP 与乳腺癌患病风险的相关性

Tab.3 Association between candidate SNPs and the risk of breast cancer under different genetic models

位点	显性模型		隐性模型		加性模型	
	OR(95% CI)	P	OR(95% CI)	P	OR(95% CI)	P
rs4646	0.754(0.582~0.961)	0.025	0.653(0.415~1.204)	0.065	0.762(0.607~0.953)	0.013
rs6493487	0.739(0.542~0.915)	0.012	0.669(0.414~1.112)	0.062	0.724(0.543~0.929)	0.004
rs1062033	1.354(0.813~1.567)	0.894	1.497(1.012~2.013)	0.002	1.342(0.981~1.956)	0.077
rs17601876	0.624(0.512~0.902)	0.001	0.533(0.346~0.819)	0.006	0.633(0.523~0.847)	0.002
rs3751599	1.011(0.653~1.766)	1.132	0.987(0.146~3.882)	1.101	1.113(0.762~1.548)	0.937

3 讨论

近年来,越来越多的研究表明,遗传因素在乳腺癌发生、发展中起重要作用。迄今为止,基于欧洲人群、非裔美人和东亚裔人群的全基因组关联研究已经确定了多个基因位点与乳腺癌患病风险相关<sup>[10-12]</sup>。然而,上述研究结果存在显著异质性,这可能与不同人群的遗传背景差异较大有关。因此,对乳腺癌患病风险位点的筛查仍然需要针对各个人群的精准研究。本研究对中国汉族人群 CYP19A1 基因多态性进行检测,探讨 CYP19A1 基因的多态性与乳腺癌患病风险的相关性。

绝经期对于女性雌激素的产生来源是一个分水岭,绝经期之后,女性的内源性雌激素产生从主要的卵巢来源转变为外周来源。CYP19A1 基因编码的芳香酶是催化雌激素生物合成过程中雄烯二酮和睾酮对雌酮和雌二醇的芳构化的最终和限速步骤的主要酶。研究显示,芳香酶直接影响乳腺中原位雌激

与增加乳腺癌风险有相关性( $P<0.05$ );而 rs17601876 在 3 个遗传模型下均与降低乳腺癌风险有相关性( $P<0.05$ )。

素的合成<sup>[13]</sup>,相对于正常乳腺组织,乳腺肿瘤组织中芳香酶表达水平显著升高<sup>[14]</sup>,表明 CYP19A1 基因在乳腺癌的发生和发展中的潜在作用。芳香酶在乳腺癌发病机制中的重要性也已得到证实,芳香酶抑制剂已应用于治疗绝经后乳腺癌<sup>[15]</sup>。此外,还有研究表明,芳香酶抑制剂可能比雌激素受体调节剂更能够有效地减缓肿瘤进展<sup>[16]</sup>。总之,CYP19A1 基因与乳腺癌的发生、发展密切相关。

本研究从 SNP 的角度研究 CYP19A1 基因与乳腺癌的相关性,主要检测了 rs4646、rs6493487、rs1062033、rs17601876 和 rs3751599 共 5 个 SNP。MAZZUCA 等<sup>[9]</sup>研究显示,CYP19A1 基因的 rs4646 位点多态性变异可能影响基于芳香酶抑制剂疗法的乳腺癌患者出现相关不良反应的易感性。SHAO 等<sup>[17]</sup>认为,CYP19A1 基因的 rs4646 位点多态性与早期乳腺癌的无进展生存期有关,并且,其 AA 基因型携带者的预后可能与绝经状态有关。本研究结果显示,rs4646 多态性与降低乳腺癌风险有相关性,笔

者推测,rs4646 可能是乳腺癌早期筛查与预测预后的一个潜在标志物。KOPP 等<sup>[18]</sup> 研究显示,CYP19A1 基因的 rs6493487 位点多态性与性激素结合球蛋白水平有相关性。然而,遗传决定的性激素水平差异并不能明确表示与乳腺癌风险相关联。本研究结果显示,rs6493487 多态性与降低乳腺癌患病风险相关,但该结果需要在更大样本研究中进一步验证。关于 rs1062033 和 rs17601876 多态性的报道较少,本研究结果显示,rs1062033 多态性与增加乳腺癌患病风险有相关性,rs1062033 可能成为潜在的乳腺癌早期筛查易感性位点;rs17601876 多态性与降低乳腺癌患病风险相关,然而其具体机制仍待进一步探索。HAO 等<sup>[19]</sup> 研究显示,rs3751599 位点多态性与人类身高具有相关性,而无其他研究报道其与疾病发生、发展的相关性,本研究也未发现 rs3751599 与乳腺癌发生的相关性。

综上所述,CYP19A1 基因上的 rs4646、rs6493487、rs17601876 位点多态性与降低乳腺癌患病风险相关,而 rs1062033 位点多态性与增加乳腺癌患病风险相关。

参考文献:

[1] 周世繁. 扶正消瘤汤辅助化疗对乳腺癌患者术后肿瘤标志物水平及免疫功能的影响[J]. 世界中医药,2017,12(7):1544-1546,1550.

[2] FERLAY J,SOERJOMATARAM I,DIKSHIT R,et al. Cancer incidence and mortality worldwide:sources,methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. *Int J Cancer*,2015,136(5):E359-E386.

[3] 刘韬,雷喜锋. 乳腺癌初次手术患者希望水平及其影响因素调查分析[J]. 解放军预防医学杂志,2017,35(10):1261-1263.

[4] 付朝红,刘丹娜,段方方,等. 晚期三阴性乳腺癌核苷酸切除修复交叉互补基因1表达与化学治疗效果的关系[J]. 新乡医学院学报,2017,34(10):904-907.

[5] JIN T,CAO W,ZUO X,et al. IL-1RN gene polymorphisms are associated with breast cancer risk in a Chinese Han population[J]. *J Gene Med*,2017,19(12):1-6.

[6] PANDEY A V,KEMPNA P,HOFER G,et al. Modulation of human CYP19A1 activity by mutant NADPH P450 oxidoreductase[J]. *Mol Endocrinol*,2007,21(10):2579-2595.

[7] CRIDER A,THAKKAR R,AHMED A O,et al. Dysregulation of estrogen receptor beta (ER $\beta$ ),aromatase (CYP19A1),and ER co-activators in the middle frontal gyrus of autism spectrum disorder subjects[J]. *Mol Autism*,2014,5(1):46.

[8] KULKARNY V,QUALLS C,ELLIS M,et al. Genetic polymorphism at Val80 (rs700518) of the CYP19A1 gene is associated with aromatase inhibitor associated bone loss in women with ER<sup>+</sup> breast cancer[J]. *Bone*,2013,55(2):309-314.

[9] MAZZUCA F,BOTTICELLI A,MAZZOTTI E,et al. CYP19A1 genetic polymorphisms rs4646 and osteoporosis in patients treated with aromatase inhibitor-based adjuvant therapy[J]. *Eurasian J Med*,2016,48(1):10-14.

[10] GARCIA-CLOSAS M,COUCH F J,LINDSTROM S,et al. Genome-wide association studies identify four ER negative-specific breast cancer risk loci[J]. *Nat Genet*,2013,45(4):1-2.

[11] EASTON D F,POOLEY K A,DUNNING A M,et al. Genome-wide association study identifies novel breast cancer susceptibility loci[J]. *Nat Genet*,2007,42(6):504-507.

[12] HUNTER D J,KRAFT P,JACOBS K B,et al. A genome-wide association study identifies alleles in FGFR2 associated with risk of sporadic postmenopausal breast cancer[J]. *Nat Genet*,2007,39(7):870-874.

[13] MAGGIOLINI M,BONOFIOLIO D,PEZZI V,et al. Aromatase overexpression enhances the stimulatory effects of adrenal androgens on MCF7 breast cancer cells[J]. *Mol Cell Endocrin*,2002,193(1/2):13-18.

[14] IRAHARA N,MIYOSHI Y,TAGUCHI T,et al. Quantitative analysis of aromatase mRNA expression derived from various promoters (I.4,I.3,PII and I.7) and its association with expression of TNF- $\alpha$ ,IL-6 and COX-2 mRNAs in human breast cancer[J]. *Int J Cancer*,2006,118(8):1915-1921.

[15] MOURIDSEN H T,ROBERT N J. Benefit with aromatase inhibitors in the adjuvant setting for postmenopausal women with breast cancer[J]. *Med Gene Med*,2005,7(3):20.

[16] DOWSETT M,CUZICK J,WALE C,et al. Retrospective analysis of time to recurrence in the ATAC trial according to hormone receptor status:an hypothesis-generating study[J]. *J Clin Oncol*,2005,23(30):7512-7517.

[17] SHAO X,GUO Y,XU X,et al. The CYP19 RS4646 polymorphism is related to the prognosis of stage I - II and operable stage III breast cancer[J]. *PLoS One*,2015,10(3):e0121535.

[18] KOPP T I,JENSEN D M,RAVN-HAREN G,et al. Alcohol-related breast cancer in postmenopausal women:effect of CYP19A1,PPARG and PPARGC1A polymorphisms on female sex-hormone levels and interaction with alcohol consumption and NSAID usage in a nested case-control study and a randomised controlled trial[J]. *BMC Cancer*,2016,16:283.

[19] HAO Y,LIU X,LU X,et al. Genome-wide association study in Han Chinese identifies three novel loci for human height[J]. *Hum Genet*,2013,132(6):681-689.

( 本文编辑:徐自超 英文编辑:徐自超 )