

CASP8 基因 rs6723097 和 rs13113 位点与脑膜瘤易感性的关联研究

黄冠又¹ 冯浩² 王科¹ 郝淑煜¹ 万虹² 吴震¹ 张力伟¹ 张俊廷¹

1. 首都医科大学附属北京天坛医院神经外科, 北京 100050

2. 首都医科大学北京神经外科研究所, 北京 100050

摘要:目的 探讨中国人群 CASP8 基因多态性 rs6723097、rs13113 与脑膜瘤易感性的关系。方法 采用病例对照研究方法, 收集 205 例脑膜瘤患者和 195 例健康对照, 运用多重 SNaPshot 分型技术进行多态性检测, 比较基因型和等位基因在脑膜瘤组 and 对照组中的分布频率。分析 CASP8 基因 rs6723097 和 rs13113 与脑膜瘤临床表型的关联性。结果 CASP8 基因 rs6723097 位点基因型 GG、GT、TT 在脑膜瘤组分布频率为 23.4%、47.3%、29.3%, 在对照组中为 22.6%、51.3%、26.2%; rs13113 位点基因型 AA、AT、TT 在脑膜瘤组分布频率为 22.0%、49.8%、28.3%, 在对照组中为 24.1%、51.3%、24.6%。未见两位点多态与脑膜瘤发病风险存在关联 ($P > 0.05$)。多态性位点间的连锁不平衡检验显示 rs6723097 和 rs13113 位点呈连锁不平衡 ($D' = 0.901$)。在脑膜瘤不同临床表型之间, rs6723097 和 rs13113 位点基因型频率分布无明显统计学差异 ($P > 0.05$)。结论 在中国人群中 CASP8 基因 rs6723097 和 rs13113 位点遗传变异与脑膜瘤发病风险可能无关联。

关键词: 脑膜瘤; CASP8; 单核苷酸多态性

Association between polymorphisms of CASP8 rs6723097, rs13113 and susceptibility of meningioma

HUANG Guan-you¹, FENG Jie², WANG Ke¹, HAO Shu-yu¹, WAN Hong², WU Zhen¹, ZHANG Li-wei¹, ZHANG Jun-ting¹. 1. Department of Neurosurgery, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China. 2. The Beijing Neurosurgery Institution, Capital Medical University, Beijing 100050, China.

Abstract: Objective To investigate the association between two single nucleotide polymorphisms, rs6723097 and rs13113, of apoptosis regulatory gene CASP8 and the susceptibility to meningioma in Chinese population. **Methods** The study was designed as a case-control study. 205 meningioma patients and 195 healthy controls were collected. The SNPs (including rs6723097 and rs13113) of CASP8 gene were analyzed by Multiplex SNaPshot methods. The distributions of genotype frequencies and allele frequencies were calculated and compared in the meningioma group and control group. The relationship between different genotypes of the two SNPs (including rs6723097 and rs13113) and the clinical phenotypes of meningioma was analyzed. **Results** The genotype frequencies of GG, GT, TT of CASP8 rs6723097 were 23.4%, 47.3%, 29.3% in meningioma group and 22.6%, 51.3%, 26.2% in control group. The genotype frequencies of AA, AT, TT of CASP8 rs13113 were 22.0%, 49.8%, 28.3% in meningioma group and 24.1%, 51.3%, 24.6% in control group. No significant associations were found between these two polymorphisms and meningioma. Pairwise Linkage disequilibrium analyses showed that the polymorphic loci between rs6723097 and rs13113 were in strong Linkage disequilibrium ($D' = 0.901$). The SNPs (including rs6723097 and rs13113) of CASP8 gene showed no difference of genotype distribution in different clinical phenotypes of meningioma. **Conclusions** The genetic variation of CASP8 rs6723097 and rs13113 may not play an important role in the susceptibility of meningioma in Chinese population.

Key words: meningioma; CASP8; single nucleotide polymorphism

基金项目: 首都医学发展科研基金(2009-1040); 卫生部行业科研专项基金(200902004)

收稿日期: 2011-11-20; 修回日期: 2012-04-05

作者简介: 黄冠又(1982-), 男, 在读硕士研究生, 主要从事脑膜瘤的基础和临床研究。

通讯作者: 张俊廷, 北京天坛医院神经外科中心主任, 博士研究生导师, 主要从事颅底及脑干肿瘤的临床及基础研究。

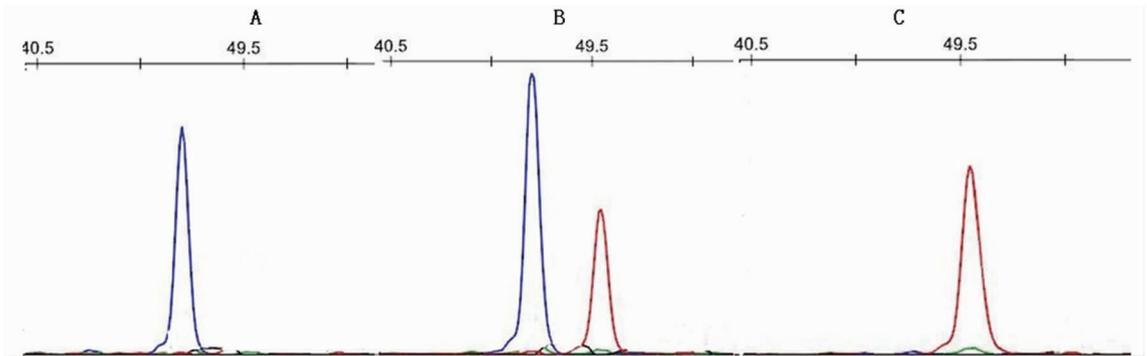


图1 CASP8 rs6723097 多态位点分型结果:A:GG型 B:GT型 C:TT型(蓝色峰图为G等位基因,红色峰图为T等位基因)

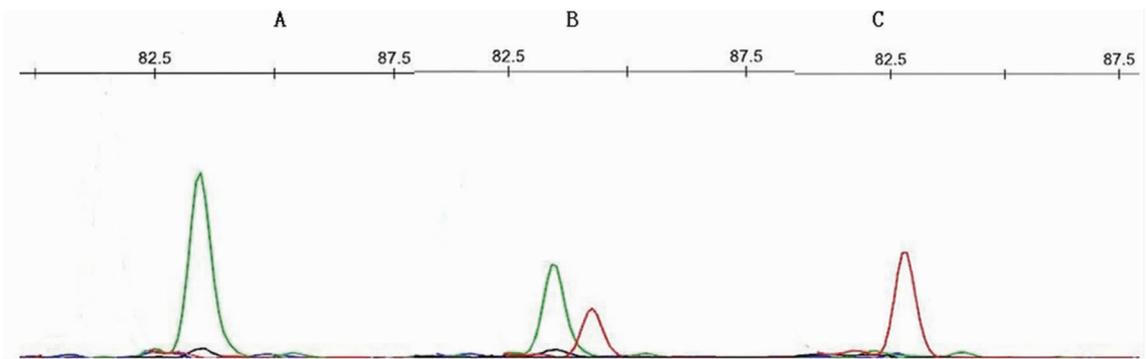


图2 CASP8 rs13113 多态位点分型结果:A:AA型 B:AT型 C:TT型(绿色峰图为A等位基因,红色峰图为T等位基因)

2.2 CASP8 基因 rs6723097 和 rs13113 在脑膜瘤组和对照组中的分布

2.2.1 CASP8 基因 rs6723097 基因型与等位基因频率的分布 对照组和脑膜瘤组 CASP8 rs6723097 基因型频率及等位基因频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡检验(对照组 $\chi^2 = 0.142, P = 0.707$; 脑膜瘤组 $\chi^2 = 0.521, P = 0.471$), 具有人群代表性。脑膜瘤组与对照组的基因型分布无显著性差异($P > 0.05$), G、T 等位基因频率在两组间差异也无统计学意义($P > 0.05$)。(见表1)。

2.2.2 CASP8 基因 rs13113 基因型与等位基因频率的分布

对照组和脑膜瘤组 CASP8 rs13113 基因型频率及等位基因频率分布符合 Hardy-Weinberg 平衡检验(对照组 $\chi^2 = 0.128, P = 0.720$; 脑膜瘤组 $\chi^2 = 0.000, P = 0.991$), 具有人群代表性。脑膜瘤组与对照组的基因型分布无显著性差异($P > 0.05$), A、T 等位基因频率在两组间差异也无统计学意义($P > 0.05$)。(见表2)。

表1 CASP8 rs6723097 基因型与等位基因频率在两组中的比较

项目	脑膜瘤组(n=205)	对照组(n=195)	P 值	OR 值	95% CI
基因型(n%)					
GG	48(23.4)	44(22.6)	0.840	1.049	0.658 ~ 1.672
GT	97(47.3)	100(51.3)	0.428	0.853	0.576 ~ 1.263
TT	60(29.3)	51(26.2)	0.487	1.168	0.753 ~ 1.812
等位基因(n%)					
G	193(47.1)	188(48.2)	0.749	0.956	0.724 ~ 1.261
T	217(52.9)	202(51.8)	0.749	1.046	0.793 ~ 1.381

表2 CASP8 rs13113 基因型与等位基因频率在两组中的比较

项目	脑膜瘤组(n=205)	对照组(n=195)	P 值	OR 值	95% CI
基因型(n%)					
AA	45(22.0)	47(24.1)	0.609	0.886	0.556~1.411
AT	102(49.8)	100(51.3)	0.760	0.941	0.636~1.393
TT	58(28.3)	48(24.6)	0.405	1.208	0.774~1.887
等位基因(n%)					
A	192(46.8)	194(49.7)	0.410	0.890	0.674~1.174
T	218(53.2)	196(50.3)	0.410	1.124	0.851~1.483

2.3 配对连锁不平衡 (linkage disequilibrium, LD) 和单体型分析

CASP8 基因 2 个位点的配对连锁不平衡分析用 LD 统计量 D' 表示,采用 SHEsis 软件进行连锁不平衡检验。多态性位点间的连锁不平衡检验显示这 2 个多态性位点呈连锁不平衡(D' = 0.901),

在一个单体型块(haplotype block)中,可以构建 2 个多态性位点组成的单体型模式。运用 SHEsis 软件对 CASP8 基因位点 rs13113 和 rs6723097 位点进行单体型分析,表 3 共列出 4 种单体型。经 χ^2 检验,脑膜瘤组单体型与对照组相比,差异无明显统计学意义(P > 0.05)。

表3 CASP8 基因 rs13113 和 rs6723097 位点的单体型分析

单体型	脑膜瘤组	对照组	P 值	OR 值(95% CI)
AG	180.67(0.441)	180.67(0.441)	0.517	0.912(0.690~1.205)
AT	11.33(0.028)	13.26(0.034)	0.603	0.808(0.361~1.808)
TG	12.33(0.030)	7.26(0.019)	0.293	1.636(0.647~4.137)
TT	205.67(0.502)	188.74(0.484)	0.617	1.073(0.813~1.416)

2.4 CASP8 基因多态位点 rs6723097 和 rs13113 与脑膜瘤临床表型的关联

2.4.1 rs6723097 多态位点与脑膜瘤临床表型关联 将脑膜瘤患者按照不同的临床表型进行分层分析,因 GG 基因型例数较少,我们将 GG + GT 基

因型联合进行分析。将 205 例脑膜瘤患者按肿瘤大小、肿瘤侧边、WHO 分级、瘤周水肿程度及侵犯硬膜与否进行分组。结果显示:CASP8 基因多态 rs6723097 基因型分布与脑膜瘤的临床表型未见明显相关性(P > 0.05)。(见表 4)。

表4 CASP8 基因多态 rs6723097 与脑膜瘤临床表型的关系

分组	例数	基因型(n%)		P 值	OR(95% CI)
		GG + GT	TT		
肿瘤大小(cm)					
d ≤ 4.5	151	108(72.8)	43(27.2)		
d > 4.5	54	37(68.5)	17(31.5)	0.809	0.867(0.442~1.701)
肿瘤侧边					
左侧	89	63(70.8)	26(29.2)		
右侧	85	61(71.8)	24(28.2)	0.980	1.049(0.544~2.024)
其他	31	21(67.7)	10(32.3)	0.928	0.867(0.359~2.091)
WHO 分级					
I 级	186	131(71.0)	55(29.0)		
II 级 + III 级	19	14(78.9)	5(21.1)	0.974	1.176(0.404~3.422)
瘤周水肿程度					
无水肿	90	62(68.9)	28(31.1)		
轻度(0~2cm)	64	47(73.4)	17(26.6)	0.667	1.249(0.613~2.545)
中度(2~4cm)	37	28(75.7)	9(24.3)	0.584	1.405(0.587~3.366)
重度(4~cm)	14	8(57.1)	6(42.9)	0.574	0.602(0.191~1.899)
硬膜侵袭					
有	86	61(72.1)	25(27.9)		
无	119	84(71.4)	35(28.6)	0.919	0.984(0.534~1.810)

2.4.2 rs13113 多态位点与脑膜瘤临床表型关联

将脑膜瘤患者按照不同的临床表型进行分层分析,因 AA 基因型例数较少,我们将 AA + AT 基因型联合进行分析。将 205 例脑膜瘤患者按肿瘤大

小、肿瘤侧边、WHO 分级、瘤周水肿程度及侵犯硬膜与否进行分组。CASP8 多态性 rs13113 的基因型分布与脑膜瘤的临床表型未见明显相关性 ($P > 0.05$)。(见表 5)。

表 5 CASP8 基因多态 rs13113 与脑膜瘤临床表型的关系

分组	例数	基因型(n%)		P 值	OR(95% CI)
		AA + AT	TT		
肿瘤大小(cm)					
d≤4.5	151	110(72.8)	41(27.2)		
d>4.5	54	37(68.5)	17(31.5)	0.668	0.811(0.412~1.597)
肿瘤侧边					
左侧	89	62(69.7)	27(30.3)		
右侧	85	64(75.3)	21(24.7)	0.510	1.327(0.680~2.590)
其他	31	21(67.7)	10(32.3)	0.979	0.915(0.380~2.201)
WHO 分级					
I 级	186	1132(71.0)	54(29.0)		
II 级 + III 级	19	15(78.9)	4(21.1)	0.640	1.534(0.487~4.833)
瘤周水肿程度					
无水肿	90	63(70.0)	27(30.0)		
轻度(0~2cm)	64	46(71.9)	18(28.1)	0.942	1.095(0.540~2.222)
中度(2~4cm)	37	29(78.4)	8(21.6)	0.460	1.554(0.630~3.834)
重度(4~cm)	14	9(64.3)	5(25.7)	0.905	0.771(0.236~2.517)
硬膜侵袭					
有	86	62(72.1)	24(27.9)		
无	119	85(71.4)	34(28.6)	0.958	0.968(0.522~1.793)

3 讨论

CASP8 在细胞凋亡调控过程中起关键作用,但其遗传变异与肿瘤易感性的关系所知甚少。目前研究较多的与肿瘤易感性相关的 CASP8 基因多态性主要有 D302H, -652 6N del 和 Ex14-271A > T^[3]。CASP8 D302H 多态性与乳腺癌发病风险研究较多。CASP8 D302H 是低度外显性遗传变异,在其编码区存在一个引起氨基酸非同义改变的变异。有报道显示 CASP8 D302H 变异和 CASP10 基因 V401I 多态存在交互协同作用,导致欧洲白种人乳腺癌的发病风险降低相关^[4],但在亚洲人群中 CASP8 D302H 的频率非常低,根据 HapMap 计划发布数据,D302H 和 V401I 在欧洲白人和黑人均有一定杂合度,但在亚洲人群中并不存在这一遗传变异,提示这两个 SNPs 在中国人群中可能不是致病性的遗传变异。而 CASP8 rs6723097 和 rs13113 基因多态在各种人群中杂合度都较高,根据 NCBI dbSNP 数据显示 rs13113 欧洲人群中 T 等位基因频率在亚洲、非洲撒哈拉及欧洲白人人群中分别是 54.2%、90.9%、65.9%;而 rs6723097 中 T 等位基因频率在中国人群、非洲撒哈拉及欧洲人群中分

别是 46.5%、12.8%、58.8%。这两种遗传变异在大多数人群中存在,所以有可能与肿瘤易感性相关,并且可能具有一定生物学功能。

本研究首次在中国人群中进行 CASP8 基因多态性与脑膜瘤的关联研究,选取了杂合度较高的 rs13113 和 rs6723097 两个多态性位点,结果显示这 2 个位点在脑膜瘤组和正常对照组中,基因型和等位基因频率分布均无显著性差异 ($P > 0.05$)。虽然 CASP8 基因 rs6723097 和 rs13113 这 2 个位点之间具有强连锁不平衡 ($D' > 0.8$),但是单体型在脑膜瘤组和对照组中差异无统计学意义 ($P > 0.05$),仍需扩大样本量及多位点联合分析进行深入研究。另外,这 2 个位点的基因型分布与脑膜瘤的临床表型也无相关性。这与其他学者的研究结果有较大差异,说明 CASP8 基因多态性与肿瘤发病风险的关系并不明确。

Rajaraman 等^[5]学者报道 CASP8 D302H 和 CASP8 Ex14-271A > T (rs13113) 与脑膜瘤发病有关,其中 Ex14-271A > T 突变基因与脑膜瘤的发病风险降低相关,而 CASP8 D302H 的突变却增加脑膜瘤发病风险,并且多态性位点间连锁不平衡检验

显示这2个多态位点间具有绝对的连锁不平衡 ($D' = 1.0, r^2 = 0.12$), 单倍体分析显示这两个位点的单倍体 C-T 增加脑膜瘤的发病风险。Bethke 等^[6] 在北欧五个研究中心进行大样本病例对照研究, 包括 631 例脑膜瘤患者和 637 例健康对照, 发现芬兰人群 CASP8 D302H 的变异能增加脑膜瘤发病风险 ($OR = 2.48; 95\% CI = 0.95 \sim 6.43$), 但总体人群中 D302H 与脑膜瘤易感性并无相关性 ($OR = 1.16; 95\% CI = 0.87 \sim 1.53; P = 0.31$)。Bethke 认为 D302H 变异可能会影响 caspase-8 前体分子自动裂解成活性的 caspase-8, 以及 CASP8/FADD 凋亡调控基因 (CFLAR) 的表达, 而且脑膜瘤的细胞谱系不同于乳腺癌, 因此 D302H 可能不是脑膜瘤的易感位点, 但 CASP8 D302H 的低外显度遗传变异能增加胶质瘤的发病风险, 可能与 CASP8 基因超甲基化在胶质瘤中起作用有关^[7]。国内研究较多的 CASP8 多态位点是 -652 6N del。孙瞳等^[8] 进行大样本的多种常见恶性肿瘤的病例-对照研究, 发现 CASP8-652 6N del 等位基因与多种常见肿瘤的发生风险降低相关, 其中包括肺癌、食管癌、宫颈癌、乳腺癌等, 原因可能是启动子区的激活转录因子 652 6N del 遗传变异可以破坏 CASP8 基因启动子去中激活转录因子 Sp1 的结合位点, 影响该基因的转录活性, 降低 CASP8 基因的凋亡活性。

本研究没有发现 CASP8 基因遗传变异与脑膜瘤发病风险具有相关性, 说明来自不同民族和地区的研究对象得到的结果各异, 可能与遗传因素的地域性和种族性有关^[9]。另外, 对于不同的暴露因素, 凋亡调控蛋白有可能在细胞凋亡过程发挥不同作用, 因此需深入研究, 寻找 CASP8 基因中具有生物学功能的多态位点, 进一步明确这些遗传变异与

脑膜瘤发病风险的相关性, 为脑膜瘤的个体化防治提供重要的研究基础。

参 考 文 献

- [1] Fulda S. Caspase-8 in cancer biology and therapy. *Cancer Lett*, 2009, 281(2):128-133.
- [2] Sabbatini M, Comi C, Chiocchetti A, et al. Signals of apoptotic pathways in several types of meningioma. *Pathol Oncol Res*, 2011, 17(1):51-59.
- [3] Ming Y, Jingrong Y, Sheng W, et al. CASP8 polymorphisms contribute to cancer susceptibility: evidence from a meta-analysis of 23 publications with 55 individual studies. *Carcinogenesis*, 2010, 31(5):850-857.
- [4] Cantor SB, Bell DW, Ganesan S, et al. BACH1, a novel helicase-like protein, interacts directly with BRCA1 and contributes to its DNA repair function. *Cell*, 2001, 105(1):149-160.
- [5] Rajaraman P, Wang SS, Rothman N, et al. Polymorphisms in apoptosis and cell cycle control genes and risk of brain tumors in adults. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2007, 16(8):1655-1661.
- [6] Bethke L, Sullivan K, Webba E, et al. CASP8 D302H and meningioma risk: An analysis of five case-control series. *Cancer Lett*, 2009, 273(2):312-315.
- [7] Bethke L, Sullivan K, Webb E, et al. The common D302H variant of CASP8 is associated with risk of glioma. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2008, 17(4):987-989.
- [8] Sun T, Gao Y, Tan W, et al. A six-nucleotide insertion-deletion polymorphism in the CASP8 promoter is associated with susceptibility to multiple cancers. *Nature Genetics*, 2007, 39(5):605-613.
- [9] 黄冠又, 冯洁, 郝淑煜, 等. 脑膜瘤的易感基因研究进展. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2011, 38(2):178-182.