

## 宿主 p53 基因多态性与 HPV16 感染、宫颈癌发生发展的相关性

严志凌<sup>1)</sup>, 周红林<sup>2)</sup>, 张红平<sup>1)</sup>, 刘熙<sup>1)</sup>, 张芍<sup>1)</sup>, 尹春梅<sup>3)</sup>, 杨宏英<sup>1)</sup>

(1) 昆明医科大学第三附属医院, 云南省肿瘤医院, 云南昆明 650118; 2) 昆明医科大学第二附属医院, 云南昆明 650101; 3) 昆明医科大学, 云南昆明 650500)

**[摘要]** **目的** 研究宿主 p53 基因多态性 (p53 基因第 4 外显子 72 位密码子, rs1042522) 与 HPV16 感染、宫颈癌发生发展的相关性. **方法** 采用 TaqMan SNP Genotyping Assays 方法进行 p53 基因多态性 (p53 基因第 4 外显子 72 位密码子) 分析. **结果** p53 基因第 4 外显子 72 位密码子的基因型频率和等位基因频率在病例组与 HPV16 感染组、对照组之间差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 但基因型频率和等位基因频率在对照组与 HPV16 感染组之间无统计学差异,  $P$  值分别为 0.924 和 0.870. **结论** p53 基因第 4 外显子 72 位密码子突变与 HPV16 感染无明显相关性, 但是该突变与宫颈癌的发生有相关性.

**[关键词]** p53 基因; 多态性; HPV16; 宫颈癌

**[中图分类号]** R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2014) 05 - 0037 - 04

## Correlation of Host p53 Genetic Polymorphism with HPV16 Infection and Development of Cervical Cancer

YAN Zhi - ling<sup>1)</sup>, ZHOU Hong - lin<sup>2)</sup>, ZHANG Hong - ping<sup>1)</sup>, LIU Xi<sup>1)</sup>, ZHANG Shao<sup>1)</sup>, YIN Chun - mei<sup>3)</sup>, YANG Hong - ying<sup>2)</sup>

(1) The 3rd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Yunnan Tumor Hospital, Kunming Yunnan 650118; 2) The 2nd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650101; 3) Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the correlation of host p53 genetic polymorphism (the 4th Exon of 72 codon in p53 gene) with HPV16 infection and the development of cervical cancer. **Methods** The TaqMan SNP Genotyping Assays method was used to analyze the p53 gene polymorphism (p53 gene exon 4 of 72 codon). **Results** In the gene frequency of p53 gene SNP-rs1042522 and allele frequency, there were statistical differences between the case group and HPV16 infection group, the control group, with the  $P$ -value of 0.001 and  $< 0.001$  respectively, while no statistical differences between the control group and HPV16 infection group, with the  $P$ -value of 0.924 and 0.870 respectively. **Conclusion** There is no obvious correlation between the SNP-rs1042522 C/G mutation of the p53 gene and the HPV16 infection, but the mutation has some relevance to the occurrence of cervical cancer.

**[Key words]** p53 gene; Polymorphism; HPV16; Cervical cancer

宫颈癌已被世界卫生组织列为即乳腺癌之后威胁女性生命的第二大肿瘤。我国是世界上子宫颈癌高发区之一, 每年新增子宫颈癌患者在 13.15 万人左右, 病死率较高<sup>[1]</sup>。人乳头状瘤病毒感染是宫颈上皮内瘤变和宫颈癌的主要病因, 宫颈癌患者的人乳头状瘤病毒 (human papilloma virus,

HPV) 检出率达 93%, 其中 HPV16 型感染率超过 50%, 是 CIN 和宫颈癌中最常见的高危 HPV 亚型<sup>[2]</sup>。

p53 基因是重要的抑癌基因之一, 与细胞周期调控、细胞凋亡等重要生物学功能有关。HPV16 病毒——E6 蛋白与 p53 蛋白结合, 导致后者降

**[基金项目]** 云南省科技厅 - 昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目 (2013FB169)

**[作者简介]** 严志凌 (1978~), 女, 浙江镇海市人, 医学学士, 主治医师, 主要从事妇科肿瘤临床工作。

**[通讯作者]** 杨宏英. E-mail: jyahy@tom.com

解. 1987 年, Matlashewski 等<sup>[1]</sup>首先发现在人群中 p53 基因第 4 外显子第 72 位密码子 (rs1042522, G/C) 突变, 表达 2 种野生型 p53 蛋白: 含精氨酸残基 (ArgCGC) 和含脯氨酸残基 (ProCCC), 其分子生物学行为和功能则不完全相同.

本研究采用 TaqMan SNP Genotyping Assays 方法对宫颈鳞癌患者、HPV16 感染者和正常健康人宿主 p53 基因多态性 (p53 基因第 4 外显子 72 位密码子) 进行分析, 探讨 p53 基因第 4 外显子 72 位密码子多态性与宫颈癌发生发展的相关性.

## 1 材料与方法

### 1.1 标本来源

在知情同意的原则下, 本研究随机选取 2011 年 01 月至 2013 年 06 月来自于云南省肿瘤医院 (昆明医科大学第三附属医院) 门诊、体检及住院女性患者共 380 人, 其中 HPV16 感染的宫颈鳞癌患者 131 人 (病例组), HPV16 感染患者 110 人 (感染组), 正常健康 139 人 (对照组).

### 1.2 HPV 病毒 DNA 提取、PCR 扩增和 HPV 分型检测

采用核酸分子导流杂交系统 (凯普生物科技有限公司), 检测占中国人群 HPV 感染 95% 的 21 种亚型. 操作步骤严格按照说明书进行.

### 1.3 宿主 DNA 提取

根据 HPV 分型结果, 采集外周血液 2 mL, DNA 提取用美国 QIAGEN 公司生产的 QIAamp DNA mini Kit (Cat.No.51306), 并按说明书进行.

### 1.4 宿主 p53 基因多态性基因分型

采用 TaqMan SNP Genotyping Assays 方法进行多态性检测. 根据 SNP 编号合成 TaqMan 探针及引物 (Applied Biosystems 公司). 以提取的基因组 DNA 为模板, 在 GeneAmp<sup>®</sup>PCR System 9600 上进行 PCR 扩增, 收集荧光. PCR 反应体积为 5  $\mu$ L、反应条件为: 94  $^{\circ}$ C 5min 预变性, 94  $^{\circ}$ C 30 s 变性, 62  $^{\circ}$ C 30 s 退火, 共 30 个循环, 72  $^{\circ}$ C 10 min 长延伸.

### 1.5 统计学分析

Hardy-Weinberg 平衡检验基因型频率的代表性.  $\chi^2$  检验检测宫颈鳞癌患者、HPV16 感染者、正常对照者 p53 基因第 4 外显子 72 位密码子多态性基因型、等位基因频率差异.  $P < 0.05$  为差异有统计学意义.

## 2 结果

### 2.1 宿主 p53 基因密码子 72 (SNP-rs1042522) 多态性的 Hardy-Weinberg 检验

Hardy-Weinberg 检验结果显示: 病例组、感染组和对照组符合 Hardy-Weinberg 检验不平衡 ( $P \geq 0.05$ ), 说明样品具有代表性.

### 2.2 宿主 p53 基因密码子 72 (SNP-rs1042522) 多态性在宫颈鳞癌患者、健康对照组和 HPV16 感染组中分布

病例组 p53 基因 SNP-rs1042522 位点的 G 和 C 等位基因频率分别为 66.0% 和 34.0%; GG、GC 和 CC 基因型频率分别为 45.8%、40.5% 和 13.7%; 对照组 G 和 C 等位基因频率分别为 48.9% 和 51.1%; GG、GC 和 CC 基因型频率分别为 27.3%、43.2% 和 29.5%; 感染组 G 和 C 等位基因频率分别为 48.2% 和 51.8%; GG、GC 和 CC 基因型频率分别为 25.5%、45.4% 和 29.1%. p53 基因 SNP-rs1042522 的基因型频率和等位基因频率在病例组与对照组之间差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 见表 1. p53 基因 SNP-rs1042522 的基因型频率和等位基因频率在病例组与 HPV16 感染组差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 见表 2. 但是, p53 基因 SNP-rs1042522 的基因型频率和等位基因频率在对照组与 HPV16 感染组之间差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ), 见表 3.

各组 p53 基因 SNP-rs1042522 C/G 等位基因与 HPV16 感染、宫颈癌发生的比值比, 与对照组相比病例组的 p53 基因 SNP-rs1042522 G 等位基因可增加宫颈癌发生风险 (OR 2.030, 95% CI 为 [1.434 ~ 2.873]), 与 HPV 感染组相比病例组的 P53 基因 SNP-rs1042522 G 等位基因可增加宫颈癌发生风险 (OR 2.092, 95% CI 为 [1.447 ~ 3.020]). 但是与 HPV 的感染组相比, 对照组的 p53 基因 SNP-rs1042522 G 等位基因不能增加 HPV 感染风险 (OR) 1.030, 95% (0.732 ~ 1.467).

## 3 讨论

目前, 宫颈癌已被世界卫生组织列为即乳腺癌之后威胁女性生命的第二大肿瘤. 约有 50% 的子宫颈癌病例可归咎于高危型人乳头状瘤病毒 16 型 HPV 的持续感染. HPV16 编码的 E6 蛋白与宿主 p53 蛋白结合并降解 p53 蛋白, 使 p53 丧失细胞周期调控、诱导凋亡和 DNA 修复功能, 这是宫颈癌发生的主要机制<sup>[4,5]</sup>.

1998 年 Storey 等<sup>[6]</sup>首次通过宫颈癌研究提出宿主 p53 基因密码子 72 Arg/Arg 基因型较 Arg/Pro 和 Pro/Pro 基因型更容易导致 HPV16 E6 蛋白所介导的

表 1 p53 基因 SNP-rs1042522 C/G 基因型和等位基因频率与宫颈癌发生相关性的分析结果 [n (%)]

Tab. 1 The correlation of p53 gene (SNP-rs1042522 C/G) genotype and allele frequency with the occurrence of cervical cancer [n (%)]

组 别	基因型			等位基因	
	GG	GC	CC	G	C
病例组	60(45.8)	53(40.5)	18(13.7)*	173(66.0)	89(34.0)*
对照组	38(27.3)	60(43.2)	41(29.5)	136(48.9)	142(51.1)

与对照组比较, \* $P < 0.05$ .

表 2 p53 基因 SNP-rs1042522 C/G 基因型和等位基因频率与 HPV16 感染、宫颈癌发生相关性的分析结果 [n (%)]

Tab. 2 The correlation of p53 gene (SNP-rs1042522 C/G) genotype and allele frequency with HPV16 infection and cervical cancer [n (%)]

组 别	基因型			等位基因	
	GG	GC	CC	G	C
病例组	60(45.8)	53(40.5)	18(13.7)	173(66.0)	89(34.0)
HPV16 感染组	28(25.5)*	50(45.4)*	32(29.1)*	106(48.2)*	114(51.8)*

与病例组比较, \* $P < 0.05$ .

表 3 p53 基因 SNP-rs1042522 C/G 基因型和等位基因频率与 HPV16 感染相关性的分析结果 [n (%)]

Tab. 3 The correlation of p53 gene (SNP-rs1042522 C/G) genotype and allele frequency with HPV16 infection [n (%)]

组 别	基因型			等位基因	
	GG	GC	CC	G	C
对照组	38(27.3)	60(43.2)	41(29.5)	136(48.9)	142(51.1)
HPV16 感染组	28(25.5)	50(45.4)	32(29.1)	106(48.2)	114(51.8)

p53 蛋白的降解, Arg/Arg 纯合基因型妇女发生宫颈癌的危险性是 Pro/Arg 杂合型妇女的 7 倍. 随后, Jee SH 等<sup>[7-9]</sup>分析世界范围内的 70 项研究得出结论: p53 基因 72 位密码子 Arg/Arg 基因型与 Arg/Pro 基因型比例在 HPV16 阳性宫颈癌中的分布有差异.

尽管有大量研究报道 p53 基因多态性与宫颈癌密切相关, 但目前还未有报道宿主 p53 基因多态性是否与 HPV 感染及宫颈癌发生发展相关. 从本研究的结果来看, 宿主 p53 基因 SNP-rs1042522 的基因型频率和等位基因频率在病例组与对照组之间有统计学差异,  $P$  值分别为 0.001 和  $< 0.001$ , 其中 G 等位基因可增加宫颈癌发生风险 (OR) 2.030, 95% CI 为 (1.434-2.873). 同时, 该位点的基因型频率和等位基因频率在病例组与 HPV16 感染组之间也有统计学差异,  $P$  值分别为 0.001 和  $< 0.001$ , G 等位基因同样可增加宫颈癌发生风险 (OR) 2.092, 95% CI 为 (1.447-3.020). 但是, 该位点的基因型频率和等位基因频率在对照组与 HPV16 感染组之间无统计学差异,  $P$  值分别为 0.924 和 0.870, G 等位基因不能增加 HPV 感染风

险 (OR) 1.030, 95% [0.732-1.467]. 以上结果再次说明, 该位点的突变对与 HPV16 的感染没有作用, 但对于 HPV16 感染后, 该位点的突变与 HPV16 感染引起的宫颈癌密切相关.

综上所述, 本研究发现宿主 p53 基因密码子 72 位多态性的等位基因频率和基因型频率在宫颈癌患者与感染病例和正常人有明显差异, 在感染病例和正常人中无明显差异, 研究结果提示 p53 基因密码子 72 位突变与 HPV16 感染无明显相关性, 但是该突变与宫颈癌的发生有相关性.

#### [参考文献]

- [1] 杨玲, 皇甫小梅, 张思维, 等. 中国 20 世纪 70 年代与 90 年代子宫颈癌死亡率及其变化趋势[J]. 中国医学科学院学报, 2003, 25(4): 386-390.
- [2] WALBOOMERS J M, JACOBS M V, MANOS M M, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide [J]. J Pathol, 1999, 189(1): 12-19.
- [3] MATLASHEWSKI G J, TUCK S, PIM D, et al. Primary structure polymorphism at amino acid residue 72 of human

- p53 [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 1987, 7 (2): 961 - 963.
- [4] MIWA K, MIYAMOTO S, KATO H, et al. The role of p53 inactivation in human cervical cell carcinoma development [J]. *Br J Cancer*, 1995, 71(2): 219 - 226.
- [5] CROOK T, TIDY J A, VOUSDEN K H. Degradation of p53 can be targeted by HPV E6 sequences distinct from those required for p53 binding and trans-activation [J]. *Cell*, 1991, 67(3): 547 - 556.
- [6] STOREY A, THOMAS M, KALITA A, et al. Role of a p53 polymorphism in the development of human papillomavirus-associated cancer [J]. *Nature*, 1998, 393 (6 682): 229 - 234.
- [7] JEE S H, WON S Y, YUN J E, et al. Polymorphism p53 codon-72 and invasive cervical cancer: a meta-analysis [J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2004, 85(3): 301 - 308.
- [8] 胡文惠, 杨梅, 赵玲. 宫颈癌淋巴结转移的危险因素及预后分析 [J]. *海南医学院学报*, 2009, 10 (5): 475 - 477.
- [9] 朱艳, 周敏. 宫颈环形电切术联合保妇康栓治疗宫颈上皮内瘤变的临床研究 [J]. *海南医学院学报*, 2011, 12 (8): 1 111 - 1 113.  
(2014 - 02 - 10 收稿)

(上接第 36 页)

到一份好工作, 寄希望于子女通过接受好的教育而获得一定的社会地位, 特别是一些农村的父辈们对其子女受教育后留在城里而实现家族命运的转变有着较为特定的心理期望, 这无疑会影响到学生的择业标准。

综上所述, 应加强就业指导、引导学生理性分析就业形势、培养学生正确的人生观和就业观、让学生早接触临床。通过政府、学校、家庭等多部门联动, 建立促进学生基层就业的体系, 逐步充实我国基层, 尤其是中西部医疗护理人才队伍。

#### [参考文献]

- [1] 徐婷婷, 蒋萍, 陈戈. 就业指导对实习护生求职的影响 [J]. *护士进修杂志*, 2008, 23(23): 2 128 - 2 129.
- [2] 雷巍巍, 胡国庆, 王利群, 等. 高职护生就业趋向的调查研究 [J]. *现代护理*, 2007, 13(9): 814 - 816.
- [3] 张迪, 吉文晶, 丁亚媛. 对南京市医学院校护生社区护理就业意向的调查研究 [J]. *护理研究*, 2008, 22 (11): 2 848 - 2 849.
- [4] 敬媛媛, 阴新强, 何茜, 等. 川北医学院医学生毕业后基层就业意向调查 [J]. *中国循证医学杂志*, 2013, 13(3): 286 - 295.
- [5] 叶晓晓, 戴轶智, 李珂, 等. 护理本科生心理期望与就业矛盾的心理调查与调适 [J]. *云南社会主义学院学报*, 2012, (3): 64 - 65.
- [6] 朱钱锋, 施成良, 周娟仙, 等. 中职护理专业毕业生的择业观与就业指导研究 [J]. *卫生职业教育*, 2009, 27 (4): 84 - 86.
- [7] 敖琴英, 唐四元, 刘文捷. 不同学历层次毕业护生择业情况调查分析 [J]. *护理学报*, 2010, 17(12A): 4 - 7.
- [8] HOWKINS E, EWENS A. How students experience professional socialisation [J]. *International Journal of Nursing Studies*, 1999, 36(1): 41 - 49.
- [9] STAGG P, GREENHILL J, WORLEY P. A new model to understand the career choice and practice location decisions of medical graduates [J]. *Rural and Remote Health*, 2009, 9(4): 12 - 45.  
(2014 - 02 - 15 收稿)