

网络出版时间:2025-09-03 15:46:57 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20251028.1140.029

ALOX15 基因多态性与非贲门胃癌变的关联研究

褚宁^{1,2},董文杰¹,高芳³,李迎泽⁴,陈雅茹¹,张彬⁵,贾彦彬¹⁽¹⁾ 包头医学院基础医学与法医学院,包头 014040;⁽²⁾ 包头医学院第二附属医院检验科,包头 014030;⁽³⁾ 包头医学院医学技术与麻醉学院,包头 014040;⁽⁴⁾ 包头市肿瘤医院检验科,包头 014030;⁽⁵⁾ 包头医学院第一附属医院内分泌科,包头 014010)

摘要 目的 在包头汉族人群中,探讨花生四烯酸脂氧合酶-15(ALOX15)基因的单核苷酸多态性(SNP)与幽门螺杆菌(*H. pylori*)感染以及非贲门胃癌发病风险的关联性,为非贲门胃癌易感人群的筛查提供实验依据和数据支持。方法 收集458例非贲门胃癌病例和460例健康体检人群。分别采用¹⁴C尿素呼气试验(UBT)和酶联免疫吸附试验(ELISA)对460例健康体检人群进行*H. pylori*检测。采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法对ALOX15 rs2619112、rs2619118、rs2664593、rs7220870进行基因型检测,通过统计学方法分析SNP与*H. pylori*感染及非贲门胃癌发病风险的关联性。结果 *H. pylori*感染检测的阳性率为42.4%。ALOX15 rs2619112、rs2619118、rs2664593、rs7220870与*H. pylori*的感染无关联性。ALOX15 rs2619112、rs2664593、rs7220870与非贲门胃癌的发病风险无关联性。rs2619118 TT基因型的携带者相较于CC+CT基因型的携带者非贲门胃癌的发病风险增加[OR(95%CI)=1.512(1.110~2.060)]。ALOX15 rs2619112、rs2619118、rs2664593、rs7220870构建的单体型ACCC可降低非贲门胃癌的发病风险。ALOX15 rs2619112、rs2619118二阶交互作用与非贲门胃癌的发病风险相关($P<0.05$)。结论 ALOX15 rs2619112、rs2619118、rs2664593、rs7220870可能在*H. pylori*感染中不起主要作用。ALOX15 rs2619118 TT基因型是非贲门胃癌发病的危险因素。ALOX15 rs2619112、rs2619118、rs2664593、rs7220870构建的单体型ACCC降低了非贲门胃癌的发病风险。ALOX15 rs2619112、rs2619118的交互作用在非贲门胃癌的发生中起到了协同效应。

关键词 非贲门胃癌;幽门螺杆菌;花生四烯酸脂氧合酶-15;单核苷酸多态性;遗传易感性;关联研究

中图分类号 R 394.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2025)10-1865-09

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2025.10.012

中国是胃癌大国,总体发病率较高,非贲门胃癌和贲门胃癌的新发病例分别占全球新发病例的50%和70%^[1],可见,中国面临着沉重的胃癌疾病负担。胃癌的发生和发展受环境和遗传等多种因素影响。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是胃癌变尤其是非贲门胃癌变的强危险因素,并且有研究^[2]表明约有78.5%的非贲门胃癌病例是由*H. pylori*感染引起。

花生四烯酸脂氧合酶-15(arachidonate15-lipoxygenase, ALOX15)是脂氧合酶家族的成员之一。研究^[3]显示,ALOX15对胃癌的发生发展存在一定的抑制作用,ALOX15的mRNA和蛋白在胃癌组织中

的表达均低于癌旁的正常组织,同时,ALOX15的蛋白表达水平与胃癌中肿瘤的大小、淋巴结转移以及TNM分期呈负相关,可见ALOX15是胃癌分子遗传学研究的一个重要候选基因。但目前未见有关ALOX15基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与*H. pylori*感染以及非贲门胃癌发病风险的关联性报道。因此,在本研究中,针对包头地区汉族人群,分析ALOX15的SNP与*H. pylori*感染以及非贲门胃癌发病风险的相关性,为非贲门胃癌的预防策略制定以及早期诊断工作的开展提供数据支撑与理论依据。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取包头本地汉族人群共918例,其中将458例非贲门胃癌患者设置为病例组,且病例组样本均为2008—2024年间于包头市肿瘤医院经病理学确诊的非贲门胃癌病例;将460例正常体检人群设置为对照组,对照来源于包头医学院第一附属医院和第二附属医院。①病例组纳入标准:非

2025-06-27 接收

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(编号:2024MS08079);
包头医学院创新团队发展计划项目(编号:byextd-06);
包头医学院科学研究基金项目(编号:BYJJ-GDJY 202313)

作者简介:褚宁,女,硕士研究生;

贾彦彬,女,教授,硕士生导师,通信作者, E-mail:
jyb690318@hotmail.com

贲门胃癌患者为新发病例,未接受放射治疗和化学药物治疗,并且没有其他癌症病史。② 对照组纳入标准:所选样本无明显的胃部不适或胃部疾病史、无遗传病史、无肿瘤病史、同时未经过 *H. pylori* 清除治疗。除符合①②的纳入标准外,还要求病例组和对照组所有样本均为在包头市居住超过 5 年的汉族人群,且 3 代内未与其他民族通婚^[4]。每位参与者均已签署知情同意书,该研究获得包头医学院医学伦理委员会审查通过,批准文件编号为:包医伦审人体 2021 第(006)号。

1.2 方法

1.2.1 SNP 筛选 本研究从参考文献^[5-7]中共筛选出 4 个与疾病进行过关联性研究的 ALOX15 基因的 SNP 位点,分别为 rs2619112、rs2619118、rs2664593、rs7220870。这 4 个 SNP 在中国汉族人群中最小等位基因频率均 >0.05。

1.2.2 *H. pylori* 感染检测 ¹⁴C 标记的尿素呼气试验(urea breath test, UBT)是通过检测 *H. pylori* 产生的尿素酶分解尿素产生的¹⁴CO₂ 气体来判断 *H. pylori* 感染情况。而血清酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)是通过检测人血清中抗 *H. pylori* 特异性 IgG 抗体的方法,以评估是否感染 *H. pylori*^[8]。本研究选取这两种方法检测正常对照中 *H. pylori* 的感染情况,并且两种检测方法有一种为阳性即判定为 *H. pylori* 感染阳性。选用深圳中核海得威生物科技有限公司生产的¹⁴C UBT 试剂盒检测 *H. pylori* 感染情况。结果判定方法如下:测定呼气样本中¹⁴C 的放射性,结果以每分钟计数(counts per minute, CPM)表示。当 CPM ≥ 50 结果判定为阳性;CPM ≤ 25 结果判定为阴性;25 < CPM < 50 结果为不确定。选用泉州睿信生物科技有限公司生产的人 *H. pylori* IgG 抗体试剂盒检测 *H. pylori* 感染情况。结果判定方法如下:当阳性对照的吸光度(optical density, OD)平均值不低于 0.8,同时阴性对照的 OD 平均值不超过 0.2 时,则实验结果判定为有效。若样品 OD 值 < Cut off 值,结果判定为阴性;样品 OD 值 > Cut off 值,结果判定为阳性(Cut off = 阴性对照平均 OD 值 + 0.25)。

1.2.3 基因分型 本研究采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)方法对研究样本进行基因型检测。采用北京天根生化科技有限公司生产的人血液基因组 DNA 提取试剂盒提取 2 mL EDTA-K₂ 抗凝血的全基因组 DNA。

SNP 位点特异性引物由 Primer 3 在线网站设计并由上海生工生物工程有限公司按要求制备。然后通过 PCR 方法扩增得到目的 DNA。PCR 反应条件:第一程序段:94 ℃、5 min;第二程序段:94 ℃、30 s、60 ℃或 59 ℃、30 s、72 ℃、60 s,共 30 循环;第三程序段:72 ℃、5 min。再采用限制性内切酶分别对 ALOX15 rs2619112、rs2664593、rs2619118、rs7220870 的目的 DNA 进行酶切。酶切反应体系混匀离心后放置于限制性内切酶最适反应温度温育 50 min。详细的 PCR 反应体系和酶切体系见表 1。最后将酶切产物进行琼脂糖凝胶电泳,通过 Tanon-4200 化学发光成像仪分辨酶切片段的大小从而判断基因型。表 2 详细列出了 PCR 引物序列、反应温度、扩增片段长度和限制性内切酶种类、反应温度及酶切后片段的长度。PCR 反应电泳图见图 1,酶切反应电泳图见图 2。

表 1 PCR 反应体系和酶切体系

Tab.1 PCR reaction system and restriction enzyme digestion system

Item	PCR reaction	Enzymatic digestion
	system (μL)	reaction system (μL)
Total volume	25.0	10.0
2 × Taq PCR master mix	12.5	—
Upstream primer (5 μmol/L)	1.0	—
Downstream primer (5 μmol/L)	1.0	—
DNA template	2.0	—
ddH ₂ O	8.5	6.8
10 × NEB buffer	—	1.0
Restriction enzyme	—	0.2
PCR products	—	2.0

1.3 统计学处理 采用 SPSS 20.0 程序进行统计学分析。采用 Pearson χ^2 检验分析性别在病例组和对照组的分布有无差异,采用独立样本 *t* 检验分析年龄在病例组和对照组的分布有无差异。采用 Pearson χ^2 检验验证 ALOX15 不同 SNP 位点的基因型分布是否符合 Hardy Weinberg 平衡。采用非条件性 Logistic 回归分析来计算 4 种遗传模型下各基因型的比值比(OR)及其 95% 置信区间(95% CI)。计算贝叶斯信息准则(Bayesian information criterion, BIC)和赤池信息准则(Akaike information criterion, AIC)来评估最佳遗传模型。利用 SHEsis 在线软件构建 ALOX15 基因 SNP 的单体型,同时分析其与贲门胃癌和 *H. pylori* 感染的相关性。利用广义多因子降维法(generalized multifactor dimensionality reduction, GMDR)分析各 SNP 位点间的交互作用与

表2 各 SNP 位点引物序列、PCR 反应温度和扩增片段长度、限制性内切酶种类、反应温度及酶切后片段的长度

Tab.2 Primer sequences of each SNP locus, PCR reaction temperature and length of amplified fragments, types of restriction endonucleases, reaction temperature, and lengths of fragments after restriction enzyme digestion

SNP	Primer sequence (5'-3')	Amplification temperature(℃)	Amplification length (bp)	Restriction enzyme (U/μL)	Digestion temperature (℃)	Fragment of restriction enzyme digestion product (bp)
rs2619112	F: GTTGCATCCTTGGTGGTTG R: TCTTTCTCGCCCTTGTCTC	60	393	ALwN I (10)	37	AA:393; GG:105/288 AG:105/288/393
rs2664593	F: CCAATCAACTCCGCCTACC R: GCCCAAAGTCCGTGGTACA	59	249	Hae II (20)	37	CC:249; GG:71/178 CG:71/178/249
rs2619118	F: CTCAGGGAAGTCTCTCAGTCCT R: CTCCCAGTCTCTGGCTTTTG	60	200	Hha I (20)	37	TT:200; CC:91/109 CT:91/109/200
rs7220870	F: AGAGCTTCAAGGGGCAGAAT R: CGTGCCTTTAGATGGAGGTT	60	248	Ava II (10)	37	AA:248; CC:108/140 AC:108/140/248

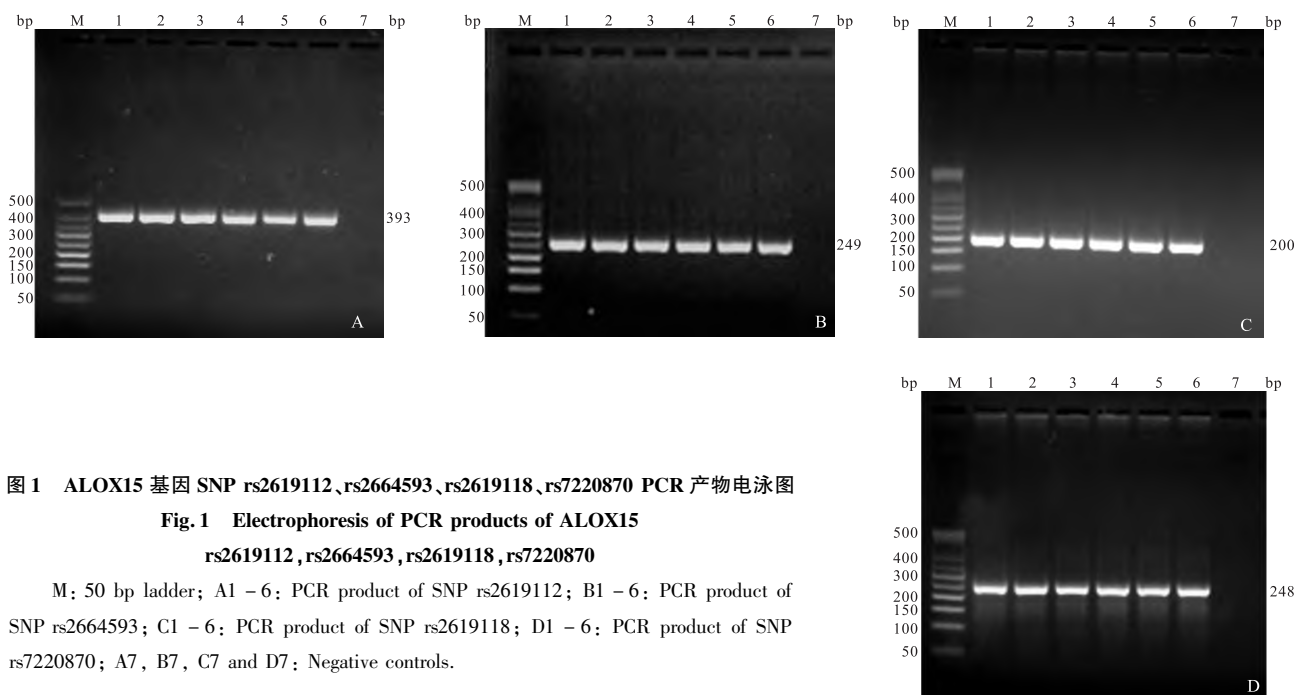


图1 ALOX15 基因 SNP rs2619112、rs2664593、rs2619118、rs7220870 PCR 产物电泳图

Fig.1 Electrophoresis of PCR products of ALOX15

rs2619112, rs2664593, rs2619118, rs7220870

M: 50 bp ladder; A1 - 6: PCR product of SNP rs2619112; B1 - 6: PCR product of SNP rs2664593; C1 - 6: PCR product of SNP rs2619118; D1 - 6: PCR product of SNP rs7220870; A7, B7, C7 and D7: Negative controls.

非贲门胃癌和 *H. pylori* 感染的关系^[9]。

2 结果

2.1 研究对象的一般情况 本研究中病例组和对照组的年龄和性别分布差异无统计学意义,见表3。对460例对照组样本进行 *H. pylori* 检测,其中 *H. pylori* 阳性样本195例,阳性率为42.4%。*H. pylori* 阳性组和 *H. pylori* 阴性组的年龄和性别分布差异

无统计学意义。见表4。

2.2 ALOX15 基因 SNP 与 *H. pylori* 感染风险的相关性

2.2.1 ALOX15 基因各 SNP 与 *H. pylori* 感染风险的关联性 ALOX15 rs2619112、rs2664593、rs2619118、rs7220870 的基因型在 *H. pylori* 阳性组和 *H. pylori* 阴性组的分布均符合 Hardy Weinberg 平衡。采用 Pearson χ^2 检验分析显示,所选SNP的基

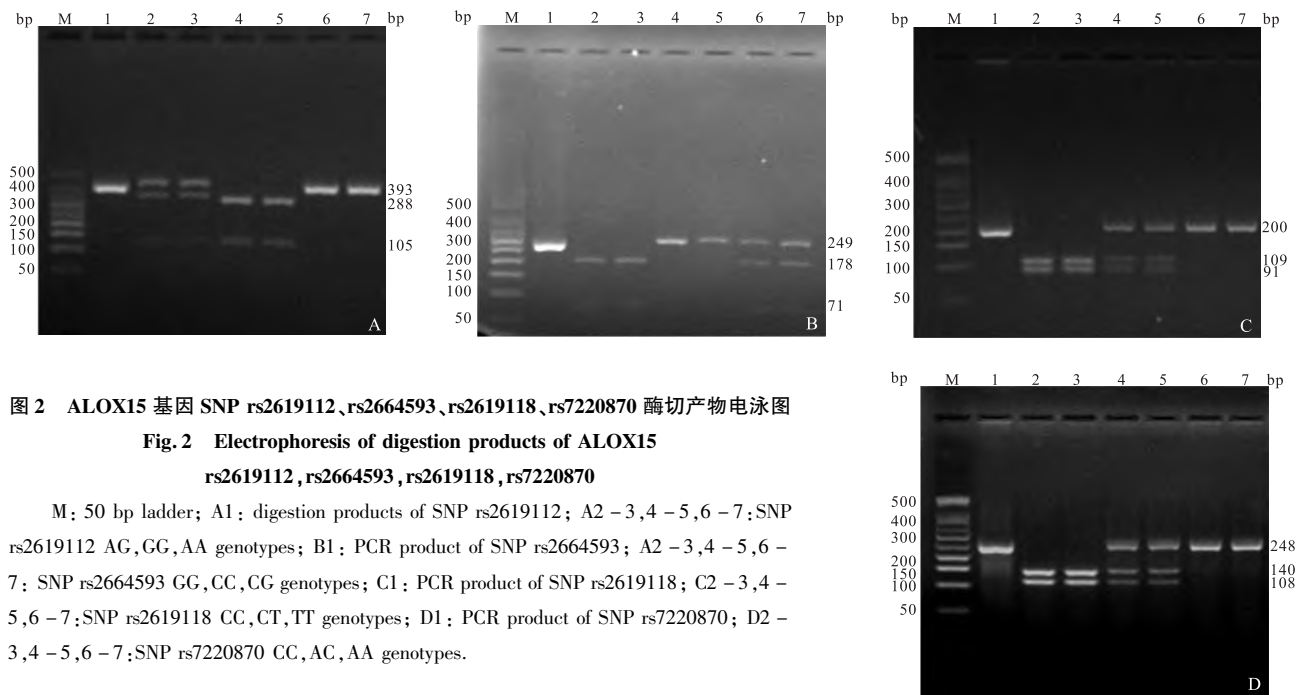


图2 ALOX15 基因 SNP rs2619112、rs2664593、rs2619118、rs7220870 酶切产物电泳图

Fig. 2 Electrophoresis of digestion products of ALOX15
rs2619112, rs2664593, rs2619118, rs7220870

M: 50 bp ladder; A1: digestion products of SNP rs2619112; A2-3, 4-5, 6-7: SNP rs2619112 AG, GG, AA genotypes; B1: PCR product of SNP rs2664593; A2-3, 4-5, 6-7: SNP rs2664593 GG, CC, CG genotypes; C1: PCR product of SNP rs2619118; C2-3, 4-5, 6-7: SNP rs2619118 CC, CT, TT genotypes; D1: PCR product of SNP rs7220870; D2-3, 4-5, 6-7: SNP rs7220870 CC, AC, AA genotypes.

表3 对照组和病例组研究对象一般情况[$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

Tab. 3 General information of the research subjects in the control group and the case group[$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

Variable	Type	Control group($n = 460$)	Case group($n = 458$)	χ^2 value	t value	P value
Gender	Male	323 (70.2)	327 (71.4)	0.155		0.694
	Female	137 (29.8)	131 (28.6)			
Age	Age range(Years)	22 - 95	25 - 89		0.131	0.896
	Average age(Years)	61.93 $\pm$ 11.484	62.02 $\pm$ 10.110			

表4 *H. pylori* 阳性组和阴性组研究对象一般情况[$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

Tab. 4 General information of the research subjects in the *H. pylori*⁺ positive group and the *H. pylori*⁻ negative group[$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

Variable	Type	<i>H. Pylori</i> ⁻ ($n = 265$)	<i>H. Pylori</i> ⁺ ($n = 195$)	χ^2 value	t value	P value
Gender	Male	187 (70.6)	136 (69.7)	0.036		0.849
	Female	78 (29.4)	59 (30.3)			
Age	Age range(Years)	25 ~ 93	22 ~ 95		0.777	0.438
	Average age(Years)	61.57 $\pm$ 12.104	62.42 $\pm$ 10.593			

因型和等位基因频率在 *H. pylori* 阳性组和 *H. pylori* 阴性组间的差异无统计学意义($P > 0.05$)。采用非条件性 Logistic 回归分析显示,在 4 种遗传模型中, ALOX15 rs2619112、rs2619118、rs2664593、rs7220870 均与 *H. pylori* 感染无相关性。见表 5。

2.2.2 ALOX15 单体型与 *H. pylori* 感染风险的相关性 以 *H. pylori* 感染为结局变量对 ALOX15 rs2619112、rs2619118、rs2664593、rs7220870 构建单体型,共构建单体型 5 个(频率 $< 3\%$ 不计),均与 *H. pylori* 感染无相关性。见表 6。

2.2.3 SNP-SNP 对幽门螺杆菌感染的交互作用分析 ALOX15 rs2619112、rs2619118、rs2664593、

rs7220870 之间的交互作用与 *H. pylori* 的感染无相关性。见表 7。

2.3 ALOX15 基因 SNP 与非贲门胃癌发病风险的相关性

2.3.1 ALOX15 基因各 SNP 与非贲门胃癌发病风险的相关性 ALOX15 rs2619112、rs2619118、rs2664593、rs7220870 的基因型分布在对照组和病例组均符合 Hardy Weinberg 平衡。ALOX15 rs2619112、rs2664593、rs7220870 与非贲门胃癌的发病风险无相关性。rs2619118 位点在隐性和超显性遗传模型下与非贲门胃癌的发病风险相关,其中隐性遗传模型为最佳遗传模型。在隐性遗传模型下,

表 5 各 SNP 与 *H. pylori* 感染风险的相关性
Tab.5 Correlation between each SNP and the risk of *H. pylori* infection

SNP	Genetic model	Genotype	<i>H. pylori</i> ⁻ [<i>n</i> (%)]	<i>H. pylori</i> ⁺ [<i>n</i> (%)]	<i>OR</i> (95% <i>CI</i>)	<i>P</i> value	AIC	BIC
rs2619112	Co-dominant	GG	82 (30.9)	69 (35.4)	1		634.294	650.819
		AG	135 (50.9)	86 (44.1)	0.757 (0.498 – 1.152)	0.194		
		AA	48 (18.1)	40 (20.5)	0.989 (0.583 – 1.677)	0.966		
	Dominant	GG	82 (30.9)	69 (35.4)	1		633.386	649.911
		AG + AA	183 (69.1)	126 (64.6)	0.818 (0.552 – 1.211)	0.316		
	Recessive	GG + AG	217 (81.8)	155 (79.4)	1		633.984	650.509
		AA	48 (18.1)	40 (20.5)	1.165 (0.729 – 1.859)	0.523		
	Hyper-dominant	GG + AA	130 (49.1)	109 (55.9)	1		632.296	648.821
		AG	135 (50.9)	86 (44.1)	0.760 (0.524 – 1.103)	0.148		
rs2664593	Co-dominant	CC	181 (68.3)	136 (69.7)	1		634.286	650.811
		CG	75 (28.3)	53 (27.2)	0.942 (0.621 – 1.429)	0.777		
		GG	9 (3.4)	6 (3.1)	0.903 (0.313 – 2.603)	0.851		
	Dominant	CC	181 (68.3)	136 (69.7)	1		634.291	650.816
		CG + GG	84 (31.7)	59 (30.3)	0.938 (0.628 – 1.400)	0.753		
	Recessive	CC + CG	256 (96.6)	189 (96.9)	1		634.365	650.890
		GG	9 (3.4)	6 (3.1)	0.919 (0.321 – 2.631)	0.875		
	Hyper-dominant	CC + GG	190 (71.7)	142 (72.8)	1		634.321	650.846
		CG	75 (28.3)	53 (27.2)	0.946 (0.625 – 1.432)	0.792		
rs2619118	Co-dominant	CC	67 (25.3)	50 (25.6)	1		634.371	650.896
		CT	147 (55.5)	105 (53.8)	0.953 (0.611 – 1.485)	0.830		
		TT	51 (19.2)	40 (20.5)	1.050 (0.603 – 1.828)	0.862		
	Dominant	CC	67 (25.3)	50 (25.6)	1		634.380	650.904
		CT + TT	198 (74.7)	145 (74.4)	0.978 (0.639 – 1.495)	0.917		
	Recessive	CC + CT	214 (80.8)	155 (79.5)	1		634.270	650.795
		TT	51 (19.2)	40 (20.5)	1.086 (0.683 – 1.727)	0.728		
	Hyper-dominant	CC + TT	118 (44.5)	90 (46.2)	1		634.254	650.779
		CT	147 (55.5)	105 (53.8)	0.932 (0.643 – 1.352)	0.712		
rs7220870	Co-dominant	CC	180 (67.9)	138 (70.8)	1		633.644	650.169
		AC	77 (29.1)	54 (27.7)	0.918 (0.607 – 1.389)	0.686		
		AA	8 (3.0)	3 (1.5)	0.493 (0.128 – 1.897)	0.304		
	Dominant	CC	180 (67.9)	138 (70.8)	1		633.988	650.513
		AC + AA	85 (32.1)	57 (29.2)	0.878 (0.587 – 1.314)	0.527		
	Recessive	CC + AC	257 (97.0)	192 (98.5)	1		633.309	649.834
		AA	8 (3.0)	3 (1.5)	0.506 (0.132 – 1.934)	0.319		
	Hyper-dominant	CC + AA	188 (70.9)	141 (72.3)	1		634.297	650.822
		AC	77 (29.1)	54 (27.7)	0.938 (0.621 – 1.416)	0.761		

表 6 ALOX15 单体型与 *H. pylori* 感染的相关性
Tab.6 Correlation between ALOX15 haplotypes and *H. pylori* infection

Haplotype	<i>H. pylori</i> ⁻ [<i>n</i> (%)]	<i>H. Pylori</i> ⁺ [<i>n</i> (%)]	OR(95% CI)	<i>P</i> value
ACCC	204.97(38.7)	139.20(35.7)	0.888(0.675 – 1.168)	0.394
ATCC	15.51(2.9)	17.50(4.5)	1.570(0.782 – 3.153)	0.201
GCCC	68.16(12.9)	53.92(13.8)	1.097(0.746 – 1.612)	0.638
GTCC	144.33(27.2)	112.33(28.8)	1.093(0.815 – 1.466)	0.551
GTGA	77.75(14.7)	50.21(12.9)	0.866(0.590 – 1.270)	0.460

TT 基因型相较于 CC + CT 基因型的携带者非贲门胃癌的发病风险增加。见表 8。

2.3.2 ALOX15 单体型与非贲门胃癌发病风险的相关性 以非贲门胃癌为结局变量对 ALOX15

rs2619112、rs2619118、rs2664593、rs7220870 构建单体型,共构建 5 个单体型(频率 < 3% 不计),其中 ACCC 单体型可降低非贲门胃癌的发病风险。见表 9。

表 7 SNP-SNP 对 *H. pylori* 感染的交互作用分析Tab. 7 Analysis of the interaction of SNP - SNP on *H. pylori* infection

Model	Training accuracy	Testing accuracy	CV consistency	<i>P</i> value
rs2619118	0.534 2	0.534 8	10/10	0.171 9
rs2619112-rs2619118	0.551 0	0.506 8	9/10	0.377 0
rs2619112-rs2664593-rs2619118	0.562 2	0.462 6	9/10	0.945 3
rs2619112-rs2664593-rs2619118-rs7220870	0.568 6	0.438 6	10/10	0.989 0

表 8 各 SNP 与非贲门胃癌发病风险的相关性

Tab. 8 Correlation between each SNP and the risk of non - cardia gastric cancer

SNP	Genetic model	Genotype	Control group [<i>n</i> (%)]	Case group [<i>n</i> (%)]	OR(95% CI)	<i>P</i> value	AIC	BIC
rs2619112	Co-dominant	GG	151(32.8)	171(37.3)	1		1 277.638	1 296.927
		AG	221(48.0)	214(46.7)	0.854(0.640 - 1.140)	0.284		
		AA	88(19.1)	73(15.9)	0.730(0.499 - 1.067)	0.105		
	Dominant	GG	151(32.8)	171(37.3)	1		1 278.360	1 297.648
		AG + AA	309(67.1)	287(62.6)	0.819(0.624 - 1.074)	0.149		
	Recessive	GG + AG	372(80.8)	385(84.0)	1		1 278.785	1 298.074
		AA	88(19.1)	73(15.9)	0.799(0.568 - 1.125)	0.199		
	Hyper-dominant	GG + AA	239(51.9)	244(53.2)	1		1 280.283	1 299.571
		AG	221(48.0)	214(46.7)	0.949(0.732 - 1.229)	0.690		
rs2664593	Co-dominant	CC	317(68.9)	294(64.2)	1		1 277.575	1 296.864
		CG	128(27.8)	142(31.0)	1.198(0.899 - 1.596)	0.217		
		GG	15(3.3)	22(4.8)	1.576(0.802 - 3.097)	0.187		
	Dominant	CC	317(68.9)	294(64.2)	1		1 278.124	1 297.413
		CG + GG	143(31.1)	164(35.8)	1.238(0.940 - 1.629)	0.128		
	Recessive	CC + CG	445(96.7)	436(95.2)	1		1 279.050	1 298.339
		GG	15(3.3)	22(4.8)	1.491(0.763 - 2.914)	0.242		
	Hyper-dominant	CC + GG	332(72.2)	316(69.0)	1		1 279.299	1 298.588
		CG	128(27.8)	142(31.0)	1.168(0.879 - 1.552)	0.285		
rs2619118	Co-dominant	CC	117(25.4)	117(25.5)	1		1 277.938	1 297.226
		CT	252(54.8)	217(47.4)	0.864(0.631 - 1.183)	0.361		
		TT	91(19.8)	124(27.1)	1.371(0.943 - 1.992)	0.098		
	Dominant	CC	117(25.4)	117(25.5)	1		1 280.442	1 299.730
		CT + TT	343(74.6)	341(74.5)	0.997(0.740 - 1.342)	0.983		
	Recessive	CC + CT	369(80.2)	334(72.9)	1		1 273.506	1 292.794
		TT	91(19.8)	124(27.1)	1.512(1.110 - 2.060)	0.009		
	Hyper-dominant	CC + TT	208(45.2)	241(52.6)	1		1 275.414	1 294.702
		CT	252(54.8)	217(47.4)	0.743(0.573 - 0.964)	0.025		
rs7220870	Co-dominant	CC	318(69.1)	298(65.1)	1		1 277.616	1 296.905
		AC	131(28.5)	140(30.5)	1.143(0.859 - 1.522)	0.360		
		AA	11(12.4)	20(4.4)	1.932(0.910 - 4.103)	0.086		
	Dominant	CC	318(69.1)	298(65.1)	1		1 278.692	1 297.981
		AC + AA	142(30.9)	160(34.9)	1.204(0.914 - 1.587)	0.186		
	Recessive	CC + AC	449(97.6)	438(95.6)	1		1 277.702	1 296.991
		AA	11(12.4)	20(4.4)	1.856(0.878 - 3.921)	0.105		
	Hyper-dominant	CC + AA	329(71.5)	318(69.5)	1		1 279.935	1 299.224
		AC	131(28.5)	140(30.5)	1.109(0.835 - 1.473)	0.477		

2.3.3 SNP-SNP 对非贲门胃癌发病风险的交互作用分析 在非贲门胃癌发病风险中,rs2619112 和 rs2619118 的二阶交互作用与非贲门胃癌发病风险相关。见表 10。

3 讨论

铁死亡是一种铁依赖性的脂质过氧化物过量积累所引发的细胞死亡形式,是细胞代谢和氧化还原

表 9 ALOX15 单体型与非贲门胃癌发病风险的相关性

Tab.9 Correlation between ALOX15 haplotypes and the risk of non - cardia gastric cancer

Haplotype	Control group[<i>n</i> (%)]	Case group[<i>n</i> (%)]	OR(95% CI)	<i>P</i> value
ACCC	344.07(37.4)	296.17(32.3)	0.807(0.664 – 0.980)	0.030
ATCC	32.96(3.6)	46.22(5.0)	1.445(0.915 – 2.282)	0.113
GCCC	122.28(13.3)	139.34(15.2)	1.184(0.910 – 1.541)	0.207
GTCC	256.61(27.9)	236.02(25.8)	0.907(0.736 – 1.117)	0.357
GTGA	127.60(13.9)	154.10(16.8)	1.272(0.985 – 1.643)	0.065

表 10 SNP-SNP 对非贲门胃癌发病风险的交互作用分析

Tab.10 Analysis of the interaction of SNP - SNP on the risk of non-cardia gastric cancer

Model	Training accuracy	Testing accuracy	CV consistency	<i>P</i> value
rs2619118	0.539 3	0.512 8	10/10	0.171 9
rs2619112-rs2619118	0.552 1	0.547 7	10/10	0.001 0
rs2619112-rs2664593-rs2619118	0.565 8	0.540 6	8/10	0.054 7
rs2619112-rs2664593-rs2619118-rs7220870	0.574 4	0.537 0	10/10	0.054 7

稳态不平衡的结果。有文献^[10]报道与铁死亡相关的多个基因与胃癌的诊断、治疗以及预后密切相关。ALOX15 是导致铁死亡的关键基因之一,其可以参与调节胃癌细胞的铁死亡。癌症相关的成纤维细胞的外泌体 miR-522 是 ALOX15 的潜在抑制剂,它可以通过调控 ALOX15 间接调控胃癌细胞的铁死亡,最终影响顺铂和紫杉醇的敏感性^[11]。有研究者^[12]通过研究 ALOX15 对 BGC823 细胞铁死亡的作用显示,通过上调 ALOX15 的蛋白表达水平可以促进胃癌细胞铁死亡的发生。因此,ALOX15 基因可能与胃癌的发生发展密切相关,是胃癌变分子遗传学重要的候选基因,本研究从 DNA 层面探讨 ALOX15 基因多态性与非贲门胃癌以及 *H. pylori* 感染的相关性。

在本研究中,对照组共检出 *H. pylori* 阳性样本 195 例,阳性率为 42.4%。一项综合了中国 1990—2019 年间 412 项研究的荟萃分析显示,中国人群 *H. pylori* 感染率约为 44.2%,其中内蒙古地区的感染率为 41%^[13]。本研究所得阳性率与荟萃分析结果基本一致,但因为检测方法及生活条件的不同可能会存在一些偏差。本研究为了避免低估 *H. pylori* 感染率采用了两种方法联合检测。因为 UBT 只能检测 *H. pylori* 的现实感染,而易受多种因素的影响。ELISA 法虽然既可以检测现实感染,又可以检测既往感染,且不受消化道出血和抗生素的影响,但是在 *H. pylori* 的早期感染中,由于抗体未达到检测阈值,则会出现假阴性的结果^[8]。

rs2619118 位于 ALOX15 的内含子区。本研究表明,TT 基因型的携带者比 CC + CT 基因型的携带者罹患非贲门胃癌的可能性更高,是非贲门胃癌发

病的危险因素。但该实验未发现 SNP 与 *H. pylori* 感染具有相关性。目前,针对 rs2619118 与疾病关联性的研究较少。在有关男性后代肥胖以及女性初潮年龄和绝经年龄的研究中,均未发现 rs2619118 与相关疾病的关联性^[6,14]。从本研究结果以及其他相关研究结果可以观察到,同一 SNP 对不同疾病的影响会有所差异,即使在同一疾病中,SNP 在疾病不同发展阶段所起的作用也会有所差异。

有文献^[5]报道 rs2619112 携带的 AG 基因型可以增加罹患直肠癌的风险。rs2619112 的 A 等位基因是冠状动脉粥样硬化性心脏病的独立危险因素,携带该等位基因的中青年和男性患者患病的危险性更高^[15]。rs7220870 的 AC/AA 基因型在 ≥65 岁的参与者中可能增加了砖茶型氟骨症的发病风险^[7]。而 rs2664593 与卵巢癌的发病风险无相关性^[16]。然而在本研究中 rs2619112、rs7220870、rs2664593 与 *H. pylori* 感染以及与非贲门胃癌的发病风险均无关联性。再次提示同一 SNP 对不同疾病的影响会有所差异。

本研究结果还表明所选 SNP 构建的 ACCC 单体型可以降低非贲门胃癌的发病风险,ALOX15 rs2619112 和 rs2619118 的交互作用在非贲门胃癌的发生中起到了协同作用。目前关于这些 SNP 的单体型及交互作用与疾病发病风险方面的研究报道较少,因此,本研究结果还需要进一步确证,以全面揭示其在胃癌变等疾病发生发展过程中的潜在影响,为后续医学研究提供更为坚实可靠的依据。

胃癌是一个高度临床异质性的疾病,根据解剖结构可划分为非贲门胃癌和贲门胃癌两大类^[17]。非贲门胃癌与贲门胃癌在病理组织学特征、发病原

因以及流行病学上均存在显著差异,而贲门胃癌与食管癌在诸多方面存在显著的相似性。因此,本研究为避免由于研究对象的临床异质性对研究结果造成影响,选择非贲门胃癌作为研究对象。本研究存在一定的局限性。在样本选取方面仅纳入包头地区汉族人群,样本量较小,缺乏地域及民族多样性。本研究仅分析 ALOX15 基因的 4 个 SNP,未全面研究所有位点,这在一定程度上限制了研究结论的全面性。同时鉴于胃癌患者的 *H. pylori* 感染状况可能受到疾病进展和治疗的影响^[18],本次研究仅对 460 例正常体检人群的 *H. pylori* 感染情况进行检测。因此,未来应当运用前瞻性研究,扩大样本量和人群范围,并深入分析 ALOX15 基因多态性与 *H. pylori* 感染、非贲门胃癌发病风险及胃癌肿瘤大小、淋巴结转移以及 TNM 分期的相关性。

参考文献

- [1] He F, Wang S, Zheng R, et al. Trends of gastric cancer burdens attributable to risk factors in China from 2000 to 2050[J]. *Lancet Reg Health West Pac*, 2024, 44: 101003. doi:10.1016/j.lanwpc.2023.101003.
- [2] Yang L, Kartsonaki C, Yao P, et al. The relative and attributable risks of cardia and non-cardia gastric cancer associated with *Helicobacter pylori* infection in China: a case-cohort study[J]. *Lancet Public Health*, 2021, 6(12): e888 – e896. doi:10.1016/S2468-2667(21)00164-X.
- [3] 陈冬梅,林 芬,李建英. 15-脂氧合酶-1 对胃癌细胞周期的影响及其机制研究[J]. *胃肠病学和肝病学杂志*, 2010, 19(9): 826 – 9. doi:10.3969/j.issn.1006-5709.2010.09.017.
- [3] Chen D M, Lin F, Li J Y. Effect of 15-Lipoxygenase-1 on cell cycle of gastric carcinoma and its mechanism[J]. *Chin J Gastroenterol Hepatol*, 2010, 19(9): 826 – 9. doi:10.3969/j.issn.1006-5709.2010.09.017.
- [4] 杨 霞,董文杰,高 芳,等. VGLL4 基因多态性与非贲门胃癌遗传易感性的关系[J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(4): 636 – 9. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.04.024.
- [4] Yang X, Dong W J, Gao F, et al. Association analysis between SNPs in VGLL4 and risk of non-cardia gastric cancer[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2022, 57(4): 636 – 9. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.04.024.
- [5] Kleinstein S E, Heath L, Makar K W, et al. Genetic variation in the lipoxygenase pathway and risk of colorectal neoplasia[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2013, 52(5): 437 – 49. doi:10.1002/gcc.22042.
- [6] Ke Y H, Xiao W J, He J W, et al. Association of ALOX15 gene polymorphisms with obesity-related phenotypes in Chinese nuclear families with male offspring[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2012, 33(2): 201 – 7. doi:10.1038/aps.2011.167.
- [7] Chu Y, Liu Y, Guo N, et al. Association between ALOX15 gene polymorphism and brick-tea type skeletal fluorosis in Tibetans, Kazaks and Han, China[J]. *Int J Environ Health Res*, 2021, 31(4): 421 – 32. doi:10.1080/09603123.2019.1666972.
- [8] Sabbagh P, Mohammadnia-Afrouzi M, Javanian M, et al. Diagnostic methods for *Helicobacter pylori* infection: ideals, options, and limitations[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2019, 38(1): 55 – 66. doi:10.1007/s10096-018-3414-4.
- [9] 王巧巧,高 芳,董文杰,等. TAZ 基因多态性与非贲门胃癌的关系[J]. *安徽医科大学学报*, 2023, 58(11): 1854 – 8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.11.009.
- [9] Wang Q Q, Gao F, Dong W J, et al. Association of TAZ gene polymorphisms with non-cardia gastric cancer[J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2023, 58(11): 1854 – 8. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.11.009.
- [10] 李瑞林,张彩虹,刘 刚,等. 铁死亡与胃癌的研究进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2023, 44(3): 351 – 5. doi:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.03.019.
- [10] Li R L, Zhang C H, Liu G, et al. Research progress of ferroptosis and gastric cancer[J]. *Int J Lab Med*, 2023, 44(3): 351 – 5. doi:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.03.019.
- [11] Zhang H, Deng T, Liu R, et al. CAF secreted miR-522 suppresses ferroptosis and promotes acquired chemo-resistance in gastric cancer[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 43. doi:10.1186/s12943-020-01168-8.
- [12] 彭 瑶,邓丹萍,容 婷,等. ALOX15 对 BGC823 细胞铁死亡的作用研究[J]. *医学信息*, 2024, 37(7): 69 – 72, 88. doi:10.3969/j.issn.1006-1959.2024.07.012.
- [12] Peng Y, Deng D P, Rong T, et al. Effect of ALOX15 on ferroptosis in BGC823 cells[J]. *Med Inf*, 2024, 37(7): 69 – 72, 88. doi:10.3969/j.issn.1006-1959.2024.07.012.
- [13] Ren S, Cai P, Liu Y, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in China: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2022, 37(3): 464 – 70. doi:10.1111/jgh.15751.
- [14] Xiao W, Ke Y, He J, et al. Association of ALOX12 and ALOX15 gene polymorphisms with age at menarche and natural menopause in Chinese women[J]. *Menopause*, 2012, 19(9): 1029 – 36. doi:10.1097/gme.0b013e31824e6160.
- [15] Çolakoğlu M, Tunçer S, Banerjee S. Emerging cellular functions of the lipid metabolizing enzyme 15-lipoxygenase-1[J]. *Cell Prolif*, 2018, 51(5): e12472. doi:10.1111/cpr.12472.
- [16] White K L, Schildkraut J M, Palmieri R T, et al. Ovarian cancer risk associated with inherited inflammation-related variants[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(5): 1064 – 9. doi:10.1158/0008-5472.CAN-11-3512.
- [17] Hess T, Maj C, Gehlen J, et al. Dissecting the genetic heterogeneity of gastric cancer[J]. *EBioMedicine*, 2023, 92: 104616. doi:10.1016/j.ebiom.2023.104616.
- [18] Ma L C, Tian X Y, Gao F, et al. Association analysis between SNPs in LATS1 and LATS2 and non-cardia gastric cancer[J]. *BMC Gastroenterol*, 2020, 20(1): 155. doi:10.1186/s12876-020-01250-x.

An association study between ALOX15 gene polymorphisms and non-cardia gastric carcinogenesis

Chu Ning^{1,2}, Dong Wenjie¹, Gao Fang³, Li Yingze⁴, Chen Yaru¹, Zhang Bin⁵, Jia Yanbin¹

(¹School of Basic Medicine and Forensic Medicine, Baotou Medical College, Baotou 014040 ;

²Dept of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014030;

³School of Medical Technology and Anaesthesia, Baotou Medical College, Baotou 014040;

⁴Dept of Clinical Laboratory, Baotou Tumor Hospital, Baotou 014030;

⁵Dept of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014010)

Abstract Objective To explore the association between single nucleotide polymorphism (SNP) in the arachidonate 15-lipoxygenase (ALOX15) gene and *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection as well as the risk of non-cardia gastric cancer in Baotou Han population, and to provide experimental evidence and data support for the screening of susceptible population for non-cardia gastric cancer. **Methods** A total of 458 cases with non-cardia gastric cancer and 460 healthy examination people were collected. The ¹⁴C urea breath test (UBT) and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) were used to detect *H. pylori* infection in the 460 healthy individuals. The genotypes of ALOX15 rs2619112, rs2619118, rs2664593, rs7220870 were detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, and the association of SNP with *H. pylori* infection as well as the risk of non-cardia gastric cancer was statistically analyzed. **Results** The positive rate of *H. pylori* infection was 42.4%. ALOX15 rs2619112, rs2619118, rs2664593, and rs7220870 had no association with *H. pylori* infection. ALOX15 rs2619112, rs2664593, and rs7220870 were not associated with the risk of non-cardia gastric cancer. Compared with the carriers of (CC + CT) genotype, the carriers of rs2619118 TT genotype had an increased onset risk of non-cardia gastric cancer [OR (95% CI) = 1.512 (1.110 - 2.060)]. The haplotype ACCC constructed by ALOX15 rs2619112, rs2619118, rs2664593, and rs7220870 could reduce the onset risk of non-cardia gastric cancer. The second-order interaction of ALOX15 rs2619112 and rs2619118 was associated with the risk of non-cardia gastric cancer ($P < 0.05$). **Conclusion** ALOX15 rs2619112, rs2619118, rs2664593, rs7220870 may not play a major role in *H. pylori* infection. ALOX15 rs2619118 TT genotype is a risk factor for the development of non-cardia gastric cancer. The haplotype ACCC constructed by ALOX15 rs2619112, rs2619118, rs2664593, and rs7220870 reduces the onset risk of non-cardia gastric cancer. The interaction of ALOX15 rs2619112 and rs2619118 has a synergistic effect in the development of non-cardia gastric cancer.

Key words non-cardia gastric cancer; *Helicobacter pylori*; arachidonate15-lipoxygenase; single nucleotide polymorphism; genetic susceptibility; association study

Fund programs Natural Science Foundation of Inner Mongolia Autonomous Region (No. 2024MS08079); Innovation Team Development Plan Project of Baotou Medical College (No. bycxt-d-06); Scientific Research Fund Project of Baotou Medical College (No. BYJJ-GDJY 202313)

Corresponding author Jia Yanbin, E-mail: jyb690318@hotmail.com