

维生素 D 受体基因 Taq I 及 Fok I 位点多态性对女性高危型 HPV 感染易感性的影响

傅秀娟, 黄东标

【关键词】 维生素 D 受体; 基因多态性; 高危型人乳头瘤病毒; 女性

doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2025.01.024

【中图分类号】 R737.33 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2025)01-0087-03

美国疾病控制与预防中心数据显示, 18 ~ 59 岁男性成年人生殖器人乳头状病毒 (human papilloma virus, HPV) 患病率为 45.2%, 女性为 39.9%^[1-2]。其中, 高危型人乳头瘤病毒 (high-risk human papilloma virus, HR-HPV) 与宫颈肿瘤的发生和进展密切相关, 全球超过 70% 宫颈癌病例与 HPV 16、18 感染有关^[3]。研究表明, 血清维生素 D 浓度的降低与多种传染病的发病率增加存在显著相关性, 如结核、急性呼吸道感染、疟疾和 HIV^[4]等。维生素 D 的生物活性主要受维生素 D 受体 (vitamin D receptor, VDR) 调控。VDR 基因的多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 可能影响免疫反应, 从而增加某些病毒的感染风险^[5]。此外, VDR 的激活所引发的免疫调节和代谢作用将影响病毒感染的易感性和严重程度^[6-7]。本研究旨在探讨 VDR 基因 Taq I (rs731236)、Fok I (rs2228570) 位点多态性对女性 HR-HPV 感染易感性的影响, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2022 年 1—10 月磐安县人民医院收治的 HPV 阳性患者 (阳性组, $n=132$) 及 HPV 阴性患者 (阴性组, $n=130$), 纳入标准: (1) 年龄 18 ~ 80 岁; (2) 无认知功能障碍; (3) 有性生活史, 无宫颈或子宫切除手术史; (4) 月经正常, 月经来潮后 10 ~ 18 d 行各项检查; (5) 取检查样本前 48 h 未行阴道用药和阴道冲洗; (6) 取检查样本前 48 h 未有性生活;

(7) 取检查样本前未行宫颈醋酸或碘液涂抹。排除标准: (1) 有子宫切除或宫颈手术史者, (2) 哺乳期妇女。

本研究获得磐安县人民医院医学伦理委员会批准, 所有研究对象均同意参加本研究并签署书面知情同意书。

1.2 方法 (1) 维生素 D 浓度监测。留取两组外周血 2 ml 置于普通试管中送杭州迪安医学检验中心有限公司检测, 用质谱光检测血清 1, 25-二羟维生素 D₃ [1, 25-(OH)₂-D₃] 浓度。 (2) VDR 基因监测。①基因组 DNA 提取。抽取两组患者外周血 2 ml 置于 EDTA 抗凝管中, 采用植物基因组 DNA 提取试剂盒 (200), 擎科 TSP101-200 试剂盒提取 DNA, -80 °C 保存备用。②引物设计与合成, 均由融迪生物有限公司设计合成。③rs731236 及 rs2228570 目的基因的扩增和多态性位点测序。先采用以擎科金牌 Mix (green) 进行扩增, 在将扩增好的 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳, 之后用 Sanger 法测序: 用 DNA 凝胶回收试剂盒对 PCR 产物进行切胶回收, BDT 反应操作: 将离心完的反应板, 加入 38 μl 振荡均匀的 Ferrite Bead, 并用 Magical Buffer 进行漂洗纯化; 用 3730XL 对 PCR 产物进行测序; 从测序仪上拷贝出数据, 通过 Sequencing Analysis 5.2 分析峰图数据。④HPV 监测。采集患者宫颈上皮脱落细胞, 监测仪器为上海宏时医疗科技有限公司的全自动医用 PCR 分析系统, 型号为 SLAN96P, 试剂为上海之江生物科技股份有限公司的试剂盒, 所有操作均按仪器与试剂盒说明书进行。

1.3 统计方法 数据采用 SPSS 26.0 软件分析, 正态分布的计量资料采用均数±标准差表示, 采用 t 检验; 非正态分布计量资料以 $M (P_{25}, P_{75})$ 表示, 采用

基金项目: 浙江省卫生健康科技计划 (2022KY1347)

作者单位: 322300 浙江省磐安, 磐安县人民医院

通信作者: 傅秀娟, Email: fuxiujuanjr3@sina.com

Mann-Whitney *U* 检验。计数资料以例数表示,采用 χ^2 检验。采用 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验基因型频率。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组年龄比较 阳性组年龄为 48.0(40.2, 53.0) 岁,阴性组为 47.0(39.0, 52.0) 岁,差异无统计学意义 ($Z=0.77, P > 0.05$)。

2.2 VDR 基因位点基因型与等位基因频率分布 经 Hardy-Weinberg 遗传平衡检验, 两组 Taq I、Fok I 2 个位点基因型频率符合遗传平衡定律 ($\chi^2 \leq 0.76$, 均 $P > 0.05$)。两组 VDR 基因型 Fok I 位点基因型分布频率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.3 1,25-(OH)₂-D₃ 水平比较 阳性组 1,25-(OH)₂-D₃ 水平为 9.87 (8.10, 11.88) ng/ml, 阴性组为 10.80 (8.38, 13.88) ng/ml, 差异有统计学意义 ($Z=2.25, P < 0.05$)。

3 讨论

VDR 在很多组织中均表现出活跃的表达,已在超过 30 种不同的细胞类型中检测到其存在^[8], 包括女性生殖道^[9]。研究表明^[10], 在 VDR 无效突变的小鼠模型中,观察到子宫发育不全及卵泡发生的受损,进一步强调了该激素系统在女性生殖道中的关键作用。此外, 众多研究揭示, VDR 基因多态性不仅与钙磷代谢疾病相关,还参与多个靶基因的调控,影响炎症和免疫反应,进而影响机体的免疫功能^[11-12]。对于免疫受损的女性感染 HR-HPV 后,可能导致病毒持续存在,这可能进而引发尖锐湿疣、宫颈上皮内瘤变(CIN I / II / III),甚至宫颈癌。

VDR 基因位于 12q13.11 号染色体上,含多个多态性区域。VDR 基因的单个碱基突变在人群中有一定的发生频率, 可能导致 VDR 基因多态性的表达,而不同基因位点、基因型及等位基因频率则影响基因转录及蛋白表达, 其中一些与特定疾病的易感性及病毒感染有关^[13]。普遍认为 VDR 基因中 Apa I、Bsm I、Fok I、Taq I 是遗传因素的主要位点。Taq I 基因位点改变可能导致 VDR 蛋白质结构的改变,进而引起其受体蛋白在数目或活性上的差异,影响疾病的感染过程。Fok I 位点多态性使得变异个体的 VDR 表达量增加,从而能够结合更多的 1,25-(OH)₂-D₃, 进一步削弱机体对病毒复制的抑制作用,最终使病毒感染的慢性化^[14]。

Fok I 单核苷酸 SNP 位于 VDR 基因第二外显子,通过改变翻译起始密码子上游 10 个碱基对的 ACG 密码子形成额外的起始密码子^[15-16]。研究表明, Fok I 的 C 等位基因于乳腺癌^[17]和结直肠癌^[18]的易感性相关。国外学者发现, VDR 与多种妇科癌症可能存在关联,并可能增加卵巢癌的易感性^[9]。最近的研究显示, VDR 基因中 Fok I 和 Taq I 位点多态性与 HPV16 依赖性 CIN II 级和宫颈癌的高风险相关^[19-20]。Fok I 的 CC 基因型和 C 等位基因增加了宫颈癌变的发生^[20]。Fok I 等位基因增能通过将核苷酸从 T(ATG)转变为 C(ATG)而影响 mRNA 的表达水平,降低 VDR 基因转录速率,从而减少 VDR 蛋白的含量^[21],导致 VDR 活性的降低^[15]。本研究结果显示, Fok I 位点基因型在两组分布频率差异有统计学意义 ($P < 0.05$), HPV 阳性组的 TC 基因型频率分布高于阴性组 ($P < 0.05$),提示与 Fok I TT 基因型比较, TC 基因型可能增加女性 HPV 感染的风险。

表 1 两组 VDR 基因位点基因型与等位基因频率分布

基因位点	基因型/等位基因	例(%)		χ^2 值	<i>P</i> 值
		阳性组(<i>n</i> =132)	阴性组(<i>n</i> =130)		
Taq I rs731236	TT	120(90.9)	117(90.0)	0.02	> 0.05
	CC	0	2(1.5)		
	TC	12(9.1)	11(8.5)		
	T	252(99.2)	245(98.0)	0.61	> 0.05
	C	2(0.8)	5(2.0)		
Fok I rs2228570	CC	29(22.0)	34(26.2)	0.66	> 0.05
	TT	31(23.5)	48(36.9)	8.22	< 0.05
	TC	72(54.5)	48(36.9)	0.07	> 0.05
	C	130(49.2)	116(44.6)		
	T	134(50.8)	144(55.4)		

Taq I 位于第 9 外显子上,由 T-C 的突变使密码子 ATT 变为 ATC。关于 Taq I 多态性与疾病的关系,中国学者研究结果表明,Taq I 位点基因型影响着 CIN II 发生的风险^[19],国外的研究^[20]也指出该位点 C 等位基因在宫颈癌风险中具有重要作用。然而,本研究结果显示两组 VDR 基因的 Taq I 基因型分布及等位基因频率差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),表明 Taq I 可能不是影响高危型 HPV 易感性的关键 SNP 位点,这与陈晓晴等^[22]的研究结果一致。

研究发现^[23],维生素 D 水平与宫颈 HPV 感染存在相关性,低水平的维生素 D 增加 HPV 感染,并且维生素 D 水平与 HPV 病毒清除有一定的负相关性^[24]。本研究结果显示,HPV 阳性组 1,25-(OH)₂-D₃ 水平低于阴性组 ($P < 0.05$),提示低水平的维生素 D 可能增加 HPV 感染的可能性。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

参 考 文 献

- [1] VANDYNE E A, HENLEY S J, SARAIYA M, et al. Trends in human papillomavirus-associated cancers - United States, 1999-2015[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2018, 67(33): 918-924.
- [2] NUNES E M, TALPE-NUNES V, SICHEROL. Epidemiology and biology of cutaneous human papillomavirus[J]. Clinics, 2018, 73 (suppl 1): e489s.
- [3] CUBIE H A. Diseases associated with human papillomavirus infection[J]. Virology, 2013, 445(1/2): 21-34.
- [4] 姜姗姗,孙曙光.维生素 D 的研究进展[J].中国医学创新,2020,17 (7):167-172.
- [5] LAPLANAM, ROYO J L, FIBLA J. Vitamin D receptor polymorphisms and risk of enveloped virus infection: A meta-analysis[J]. Gene, 2018, 678: 384-394.
- [6] SHAWI H R S, ANVARI E, FATEH A. Role of FokI rs2228570 and Tru9I rs757343 Polymorphisms in the Mortality of Patients Infected with Different Variants of SARS-CoV-2[J]. Arch Med Res, 2023, 54(4): 310-318.
- [7] CHAROENNGAM N, JAROENLAPNOPPARAT A, METTLER S K, et al. Genetic variations of the vitamin D metabolic pathway and COVID-19 susceptibility and severity: Current understanding and existing evidence[J]. Biomedicine, 2023, 11(2): 400.
- [8] WANG Y J, ZHU J G, DELUCA H F. Where is the vitamin D receptor[J]. Arch Biochem Biophys, 2012, 523(1): 123-133.
- [9] DEUSTER E, JESCHKE U, YE Y, et al. Vitamin D and VDR in gynecological cancers-a systematic review[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(11): 2328.
- [10] YOSHIZAWA T, HANDA Y, UEMATSU Y, et al. Mice lacking the vitamin D receptor exhibit impaired bone formation, uterine hypoplasia and growth retardation after weaning[J]. Nat Genet, 1997, 16(4): 391-396.
- [11] SAMUEL S, SITRIN M D. Vitamin D's role in cell proliferation and differentiation[J]. Nutr Rev, 2008, 66(10 Suppl 2): S116-S124.
- [12] 杨绍心,员丽,张卫星,等.婴幼儿肺部感染与维生素 D 受体基因多态性相关的危险因素[J].中华医院感染学杂志,2021,31(5): 773-777.
- [13] APAYDIN M, BEYSEL S, EYERCI N, et al. The VDR gene FokI polymorphism is associated with gestational diabetes mellitus in Turkish women[J]. BMC Med Genet, 2019, 20(1): 82.
- [14] 葛婕,韩国荣.VDR 基因多态性与 HBV 宫内感染的相关性[J].中国妇幼健康研究,2009,20(3):338-340.
- [15] GLEBA J J, KLOPOTOWSKA D, BANACH J, et al. Polymorphism of VDR gene and the sensitivity of human leukemia and lymphoma cells to active forms of vitamin D[J]. Cancers, 2022, 14(2): 387.
- [16] KHAN M I, BIELECKA Z F, NAJM M Z, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms in breast and renal cancer: Current state and future approaches (review)[J]. Int J Oncol, 2014, 44(2): 349-363.
- [17] KAZEMI S M, ESMAIELI-BANDBONI A, VEISI MALEKSHAHI Z, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of breast cancer in Iranian women[J]. Ann Med Surg, 2022, 73: 103150.
- [18] MESSARITAKIS I, KOULOURIDI A, SFAKIANAKI M, et al. The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in colorectal cancer risk[J]. Cancers, 2020, 12(6): 1379.
- [19] LI D Y, LIU Y, KONG D Y, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and the risk of CIN2+ in Shanxi population[J]. Biomed Res Int, 2022, 2022: 6875996.
- [20] PHUTHONG S, SETTHEETHAM-ISHIDA W, NATPHOPSUK S, et al. Genetic polymorphisms of vitamin D receptor gene are associated with cervical cancer risk in northeastern thailand[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2020, 21(10): 2935-2939.
- [21] SILVA-RAMKREZ B, SAENZ-SAENZ C A, BRACHO-VELA L A, et al. Association between vitamin D receptor gene polymorphisms and pulmonary tuberculosis in a Mexican population[J]. Indian J Tuberc, 2019, 66(1): 70-75.
- [22] 陈晓晴,杜兵,陈向南,等.维生素 D 受体基因多态性与高危型人乳头状瘤病毒感染的关系研究[J].中国卫生检验杂志,2020,30 (18):2194-2196.
- [23] SHIM J, PEREZ A, SYMANSKI E, et al. Association between serum 25-hydroxyvitamin D level and human papillomavirus cervicovaginal infection in women in the United States[J]. J Infect Dis, 2016, 213 (12): 1886-1892.
- [24] EL-ZEIN M, KHOSROW-KHAVAR F, BURCHELL A N, et al. Association of serum 25-hydroxyvitamin D with prevalence, incidence, and clearance of vaginal HPV infection in young women[J]. J Infect Dis, 2021, 224(3): 492-502.

收稿日期:2024-09-13

(本文编辑:钟美春)