·论 著·

肉碱棕榈酰转移酶1A基因多态性与肝细胞癌风险的相关性研究

念金梁，马子璐，姜东伯，张溪洋

【摘要】目的 探讨肉碱棕榈酰转移酶1A（CPT1A）基因多态性与肝细胞癌（HCC）风险的相关性。方法 收集2022年3月至2023年3月中国人民解放军空军军医大学第一附属医院收治的HCC患者350例（病例组），选取同期来院体检的健康志愿者350例设为对照组。对两组样本在MassArray平台对rs80356779、rs3019594和rs2846194 3个单核苷酸多态性（SNP）位点进行基因分型并进行统计分析。结果 rs80356779的最小等位基因A与HCC患病风险升高显著相关（$P<0.05$）。rs80356779和rs3019594位点的基因型频率分布在两组中差异有统计学意义（$P<0.05$）。rs80356779在显性和加性模型下分别增加了2.17和2.03倍的HCC患病风险（$P<0.05$），而rs3019594在隐形和加性模型下HCC的患病风险升高1.92和1.36倍（$P<0.05$）。结论 CPT1A基因多态性与HCC患病风险相关，提示rs80356779和rs3019594突变可作为HCC易感人群筛查的潜在位点。

【关键词】 肝细胞癌；肉碱棕榈酰转移酶1A；单核苷酸多态性；病例-对照研究；相关性分析
doi:10.3969/j.issn.1671-0800.2024.06.005
【中图分类号】 R589 【文献标志码】 A 【文章编号】 1671-0800(2024)06-0719-04

The correlation between carnitine palmitoyl transferase 1 A gene polymorphisms and risk of hepatocellular carcinoma

NIAN Jinliang, MA Zilu, JIANG Dongbo, ZHANG Xiyang (Military Medical Innovation Center of Chinese People's Liberation Army Air Force Military Medical University, Xi'an 710032, Shanxi, China)

【Abstract】**Objective** To explore the correlation between carnitine palmitoyl transferase 1A（CPT1A）gene polymorphism and the risk of liver cancer. **Methods** Three SNPS, rs80356779, rs3019594 and rs2846194, were genotyped and statistically analyzed using MassArray platform in a case-control cohort including 350 patients with hepatocellular carcinoma (HCC) and 350 healthy controls. **Results** The minimum allele A of rs80356779 was significantly associated with an increased risk of HCC ($P<0.05$). The genotype frequency distribution of rs80356779 and rs3019594 loci showed statistically significant differences between the two groups ($P<0.05$). In addition, rs80356779 increased the risk of HCC by 2.17 and 2.03 times in explicit and additive models, respectively ($P<0.05$), while rs3019594 increased the risk of HCC by 1.92 and 1.36 times in implicit and additive models ($P<0.05$). **Conclusions** CPT1A gene polymorphism is correlated with the risk of HCC, suggesting that rs80356779 and rs3019594 mutations can be used as potential screening sites for HCC susceptible populations.

【Key words】 Hepatocellular carcinoma; Carnitine palmitoyl transferase 1A; Single nucleotide polymorphism; Case-control study; Association study

[Modern Practical Medicine,2024,36(6):719-722]

肝细胞癌（hepatocellular carcinoma，HCC）约占原发性肝癌的90%，在恶性肿瘤致死病因中居第四位[1-2]。研究发现，个体的遗传易感性、持续大量饮酒及高脂饮食等不健康的生活方式共同作用下会导致肝癌风险增加[3]。肉碱棕榈酰转移酶I（carnitine palmitoyl transferase 1，CPT1）是长链脂肪酸在线粒体氧化的关键酶，其缺乏会引起脂肪酸β-氧化率下降，导致异常脂肪酸氧化和肿瘤能量代谢重编程[4]。

基金项目： 国家自然科学基金（82203733）；陕西省重点研发计划项目（2023-YBSF-273）

作者单位： 710032 西安，中国人民解放军空军军医大学基础医学院（念金梁、马子璐、姜东伯）；中国人民解放军空军军医大学军事医学创新中心（张溪洋）

通信作者： 张溪洋，Email：zhangxiyang199272@163.com

CPT1A 控制脂肪酸进入线粒体，可能是脂质分解代谢和调节细胞周期之间的枢纽，对肿瘤发生发展至关重要[5]。本研究选取 CPT1A 基因上 3 个单核苷酸多态性（single nucleotide polymorphism，SNP）位点，来分析该基因多态性与 HCC 风险的相关性，现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2022 年 3 月至 2023 年 3 月中国人民解放军空军军医大学第一附属医院收治的 HCC 患者 350 例（病例组），纳入标准：（1）病理组织学确诊为 HCC；（2）未经任何放疗或化疗。排除标准：（1）病例资料不完整者；（2）合并有其他心血管、消化及代谢类等疾病者。选取同期来院体检的健康志愿者 350 例设为对照组。本研究获得中国人民解放军空军军医大学第一附属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。

病例组男 224 例，女 126 例；平均年龄（53.6±9.3）岁。对照组男 227 例，女 123 例；平均年龄（52.7±9.5）岁。两组性别比及年龄差异均无统计学意义（均 $P>0.05$）。

1.2 基因分型 两组均收集 5 ml 静脉血置于 EDTA 抗凝管中，采用 PureLink™ Pro 96 试剂盒（美国 Invitrogen）进行 DNA 提取。采用 Agena 在线工具（https://support.agenabio.com/s/online-tools）进行引物设计，本研究对 CPT1A 基因的 rs80356779、rs3019594 和 rs2846194 三个 SNP 位点进行研究，所用引物序列见表 1。利用 MassArray 平台（美国 Agena Bioscience）对 SNP 进行基因分型，用 MassArray 点样仪将制备好的引物延伸产物点到检测芯片的相应位置上。每个产物的点样量约为 25 nl（使寡核苷酸产物与芯片基质充分结合）将制备好的芯片放进质谱仪中，基因分型使用 MassARRAY RS1000 软件进行。

1.3 统计方法 数据采用 SPSS 26.0 软件分析。计量资料采用均数±标准差表示，采用 t 检验；计数资料采用 χ^2 检验。人群中频率最小的等位基因为风险等位基因，其频率为最小等位基因频率（minor allele frequency，MAF），分析单个 SNP 位点与 HCC 患病风险的相关性。等位基因/基因型频率分布采用 χ^2 检验。利用无条件的 Logistic 回归模型计算等位基因/基因型的相对优势比（*OR*）及其 95%的置信区间（95%*CI*）。$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 等位基因频率比较 3 个 SNP 位点在两组的 MAF 见表 2，均符合 HWE 平衡（$P>0.05$）。rs80356779 的最小等位基因 A 与 HCC 患病风险升高显著相关（$P<0.05$）。

2.2 基因型频率比较 3 个 SNP 基因型频率分布见表 3。两组 rs80356779 和 rs3019594 位点的基因型频率分布差异有统计学意义（均 $P<0.05$）。与 rs80356779-GG 基因型相比，GA 和 AA 的携带者 HCC 的患病风险分别升高 1.96 和 4.89 倍；与 rs3019594-CC 基因型相比，TT 基因型的携带者患 HCC 风险升高 1.99 倍。

2.3 不同遗传模型下 SNP 与 HCC 风险的相关性 分别在显性、隐形和加性模型下评估了各位点，见表 4。结果显示，rs80356779 在显性和加性模型下分别增加了 2.17 和 2.03 倍的 HCC 患病风险（均 $P<0.05$），而 rs3019594 在隐形和加性模型下 HCC 的 HCC 患病风险升高 1.92 和 1.36 倍（均 $P<0.05$）。

3 讨论

研究肝癌的遗传易感性不仅有助于理解肝癌的发病机制，同时也可为肝癌的早筛、早诊提供新靶

表 1 引物序列表

SNP	正向	反向	延伸
rs80356779	ACGTTGGATGAGTGTGAAAACTCACCTCCC	ACGTTGGATGTCAAAAACGGGAAGATGGGC	AAGGTGGGCCACGATC
rs3019594	ACGTTGGATGCTCACTCAGCAGCATGATTT	ACGTTGGATGTGGTGAGGATTGTTCTTCGG	GCATGATTTCTTTCA
rs2846194	ACGTTGGATGGTTGTTTACAGTGGTAGGGC	ACGTTGGATGGAGACACTTTTGTCTCTGGC	GTAGGGCTGGTCCAATA

表 2 两组等位基因频率比较

SNP	等位基因	病例组 MAF	对照组 MAF	HWE 平衡 P 值	*OR* 值（95%*CI*）	P 值
rs80356779	G＞A	0.05	0.02	0.14	2.331（1.258～4.320）	＜0.05
rs3019594	C＞T	0.49	0.44	0.83	1.202（0.974～1.483）	＞0.05
rs2846194	C＞T	0.24	0.22	0.12	1.093（0.852～1.404）	＞0.05

表 3　两组基因型频率比较（n=350）　　例（%）

SNP	基因型	病例组	对照组	*OR* 值（95% *CI*）	*P* 值
rs80356779	GG	321（91.71）	336（96.00）	1	＜0.05
	GA	24（6.86）	13（3.71）	1.96（1.01 ～ 3.93）	
	AA	5（1.43）	1（0.29）	4.89（1.56 ～ 42.68）	
rs3019594	CC	104（29.71）	109（31.14）	1	＜0.05
	TC	149（42.57）	171（48.86）	1.04（0.71 ～ 1.52）	
	TT	97（27.72）	70（20.00）	1.99（1.16 ～ 3.41）	
rs2846194	CC	209（59.71）	218（62.29）	1	＞0.05
	CT	117（33.43）	110（31.43）	1.12（0.81 ～ 1.54）	
	TT	24（6.86）	22（6.28）	1.16（0.63 ～ 2.14）	

表 4　不同遗传模型下 SNP 与肝癌风险的相关性　　例（%）

SNP	模型	基因型	病例组	对照组	*OR* 值（95% *CI*）	*P* 值
rs80356779	显性	GG	321（91.71）	336（96.00）	1	＜0.05
		GA-AA	29（8.39）	14（4.00）	2.17（1.12 ～ 4.21）	
	隐性	GG-GA	345（98.57）	349（99.71）	1	＞0.05
		AA	5（1.43）	1（0.29）	4.66（0.53 ～ 40.65）	
	加性	/	/	/	2.03（1.13 ～ 3.65）	＜0.05
rs3019594	显性	CC	104（29.71）	109（31.14）	1	＞0.05
		TC-TT	246（70.39）	241（68.96）	1.11（0.76 ～ 1.62）	
	隐性	CC-TC	253（72.29）	280（80.00）	1	＜0.05
		TT	97（27.71）	70（20.00）	1.92（1.25 ～ 2.94）	
	加性	/	/	/	1.36（1.05 ～ 1.78）	＜0.05
rs2846194	显性	CC	209（59.71）	218（62.29）	1	＞0.05
		CT-TT	1 41（40.39）	132（37.71）	1.12（0.83 ～ 1.53）	
	隐性	CC-CT	326（93.14）	328（93.71）	1	＞0.05
		TT	24（6.86）	22（6.29）	1.11（0.61 ～ 2.04）	
	加性	/	/	/	1.09（0.86 ～ 1.40）	＞0.05

点[6-7]。近年来，代谢重编程已成为肿瘤相关领域研究的热点[8-10]，本研究以脂肪酸代谢的限速酶 CPT1A 为切入点，在病例-对照样本中对 3 个候选 SNP 进行基因分析，发现 CPT1A 的 rs80356779 和 rs3019594 位点与 HCC 患病风险升高显著相关。该结果揭示了 CPT1A 基因多态性与 HCC 风险的相关性，为 HCC 的易感人群早筛提供新线索。

CPT1A 是脂肪酸代谢中的关键限速酶，能够调节长链脂肪酸进入线粒体进行脂肪酸β氧化。多项研究指出，CPT1A 是肿瘤进展的重要驱动因素，涉及肿瘤细胞生长、转移和干性维持等。Tang 等[11]通过体内外实验证实，CPT1 是鼻咽癌细胞中脂肪酸氧化异常激活的决定因素，CPT1A 的周期性激活会增加核苷代谢中间体的含量，从而促进鼻咽癌细胞的细胞周期进程。近期，Ma 等[12]通过组学、特异性敲除 CPT1A 小鼠模型和临床分析等手段，揭示了 CPT1A 能够与肿瘤相关巨噬细胞中的左旋肉碱互作，驱动肺癌细胞的铁死亡抗性和 $CD8^+$ T 细胞失活，提示临床可通过靶向肿瘤干细胞的铁死亡易感性来提高肺癌免疫治疗的疗效。此外，Yang 等[13]发现 LPL/FABP4/CPT1 分子轴的激活对于肝癌细胞的干性维持至关重要，可能驱动非酒精性脂肪肝炎向 HCC 进展。本研究通过病例-对照样本的基因分型分析，揭示了 CPT1A 基因的多态性与 HCC 风险显著相关，为后续的功能实验奠定基础。

本研究共对 CPT1A 上 3 个 SNP 位点进行基因分型。其中，rs80356779 是一个错义突变，能够导致 Pro 突变为 Leu，研究表明该突变能够影响饮食和脂肪酸的水平 [14]。本研究表明 rs80356779 的 GA 和 AA 基因型可能导致 HCC 患病风险升高，这可能是由于该位点突变的携带者脂肪酸代谢异常，从而导致患病风险升高。rs3019594 位于 CPT1A 基因的内含子，研究表明该位点与血清中红细胞δ-5 去饱和酶水平相关 [15]。本研究表明 rs3019594- TT 基因型的携带者患 HCC 风险比野生纯合基因型升高 1.99 倍，然而其作用机制还有待进一步探索。此外，rs2846194

也是位于CPT1A的内含子，研究发现该位点与降低的妊娠糖尿病风险相关[16]。在本研究中并未发现该位点的基因型频率在肝癌人群和健康人群中的差异。

本研究具有一定的局限性。首先，研究对象仅为居住于中国西北地区的汉族人群，该结果是否适用于其他地区和民族仍需进一步验证。其次，本研究由于有限的资料，未能评估SNP与生活方式的交互作用对HCC风险的影响。本研究结果仍需细胞和动物实验进行进一步功能性验证。

综上所述，CPT1A基因多态性与HCC患病风险相关，提示CPT1A的rs80356779和rs3019594位点突变可能作为HCC易感人群筛查的潜在位点。

利益冲突 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明 念金梁：实验操作、论文撰写；马子璐：数据整理、统计学分析；张溪洋、姜东伯：研究指导、论文修改、经费支持

参 考 文 献

[1] GANESAN P, KULIK L M. Hepatocellular carcinoma: New developments[J]. Clin Liver Dis, 2023, 27(1): 85-102.

[2] ALAWYIA B, CONSTANTINOU C. Hepatocellular carcinoma: A narrative review on current knowledge and future prospects[J]. Curr Treat Options Oncol, 2023, 24(7): 711-724.

[3] YANG W S, ZENG X F, LIU Z N, et al. Diet and liver cancer risk: A narrative review of epidemiological evidence[J]. Br J Nutr, 2020, 124(3): 330-340.

[4] NGO J, CHOI D W, STANLEY I A, et al. Mitochondrial morphology controls fatty acid utilization by changing CPT1 sensitivity to malonyl-CoA[J]. EMBO J, 2023, 42(11): e111901.

[5] SCHLAEPFER I R, JOSHI M. CPT1A-mediated fat oxidation, mechanisms, and therapeutic potential[J]. Endocrinology, 2020, 161(2): bqz046.

[6] ZHANG X Y, WANG Z, TANG W, et al. Ultrasensitive and affordable assay for early detection of primary liver cancer using plasma cell-free DNA fragmentomics[J]. Hepatology, 2022, 76(2): 317-329.

[7] ZHANG H, FU L W. The role of ALDH2 in tumorigenesis and tumor progression: Targeting ALDH2 as a potential cancer treatment[J]. Acta Pharm Sin B, 2021, 11(6): 1400-1411.

[8] BIAN X, LIU R, MENG Y, et al. Lipid metabolism and cancer[J]. J Exp Med, 2021, 218(1): e20201606.

[9] LUO M H, YAN J J, HU X Y, et al. Targeting lipid metabolism for ferroptotic cancer therapy[J]. Apoptosis, 2023, 28(1): 81-107.

[10] LIU L L, MO M, CHEN X H, et al. Targeting inhibition of prognosis-related lipid metabolism genes including CYP19A1 enhances immunotherapeutic response in colon cancer[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2023, 42(1): 85.

[11] TANG M, DONG X, XIAO L B, et al. CPT1A-mediated fatty acid oxidation promotes cell proliferation via nucleoside metabolism in nasopharyngeal carcinoma[J]. Cell Death Dis, 2022, 13(4): 331.

[12] MA L, CHEN C, ZHAO C X, et al. Targeting carnitine palmitoyl transferase 1A (CPT1A) induces ferroptosis and synergizes with immunotherapy in lung cancer[J]. Signal Transduct Target Ther, 2024, 9(1): 64.

[13] YANG H R, DENG Q M, NI T, et al. Targeted Inhibition of LPL/FABP4/CPT1 fatty acid metabolic axis can effectively prevent the progression of nonalcoholic steatohepatitis to liver cancer[J]. Int J Biol Sci, 2021, 17(15): 4207-4222.

[14] SENFTLEBER N, JORGENSEN M E, JORSBOE E, et al. Genetic study of the Arctic CPT1A variant suggests that its effect on fatty acid levels is modulated by traditional Inuit diet[J]. Eur J Hum Genet, 2020, 28: 1592-1601.

[15] VORUGANTI V S, HIGGINS P B, EBBESSON S O, et al. Variants in CPT1A, FADS1, and FADS2 are associated with higher levels of estimated plasma and erythrocyte delta-5 desaturases in Alaskan eskimos[J]. Front Genet, 2012, 3: 86.

[16] REN Q W, GUO M Z, YANG F F, et al. Association of CPT1A gene polymorphism with the risk of gestational diabetes mellitus: A case-control study[J]. J Assist Reprod Genet, 2021, 38(7): 1861-1869.

收稿日期：2024-04-01

（本文编辑：钟美春）