

# 一个新硝基还原酶基因 NOR1 编码区单核苷酸多态及与鼻咽癌的关联分析\*

熊 炜<sup>1)\*\*</sup> 曾朝阳<sup>1)\*\*</sup> 肖炳焱<sup>1)</sup> 熊 芳<sup>2)</sup> 聂新民<sup>1)</sup> 范松青<sup>1)</sup>  
彭 聪<sup>1)</sup> 李伟芳<sup>1)</sup> 王 蓉<sup>1)</sup> 沈守荣<sup>3)</sup> 李小玲<sup>1)</sup> 李桂源<sup>1)\*\*\*</sup>

(<sup>1)</sup>中南大学湘雅医学院肿瘤研究所, 长沙 410078; (<sup>2)</sup>中南大学湘雅医院网络信息科, 长沙 410078;

(<sup>3)</sup>中南大学湘雅三医院消化内科, 长沙 410078)

**摘要** NOR1 基因是中南大学湘雅医学院肿瘤研究所克隆的一个鼻咽癌表达下调新基因, 生物信息学预测 NOR1 基因含有硝基还原酶结构域, 该基因可能参与亚硝胺类化学致癌物在体内的代谢过程, 从而与鼻咽癌的发生密切相关。通过采用病例-对照的研究方法, 利用测序技术对 144 名鼻咽癌患者和匹配的 144 名正常人 NOR1 基因编码区单核苷酸多态 (coding region single nucleotide polymorphisms, cSNPs) 进行基因分型, 关联分析结果显示所检测到的两个 cSNPs 之间存在连锁不平衡, 且均与鼻咽癌发病相关, 两个 cSNPs 及它们所组成的单倍型相对危险度分别为 1.36、1.64 和 1.37。两个 cSNPs 的多态性改变均使 NOR1 基因编码蛋白一级结构发生了变化, 这种改变可能影响 NOR1 基因编码蛋白的结构和功能。研究进一步支持了 NOR1 基因与鼻咽癌的发生发展可能存在密切的关系。

**关键词** 单核苷酸多态, NOR1 基因, 鼻咽癌, 关联分析

**学科分类号** R739.63

鼻咽癌 (nasopharyngeal carcinoma, NPC) 是东南亚及我国南方各省常见的一种恶性肿瘤<sup>[1]</sup>, 其发病具有明显的地域性和家族聚积现象, 流行病学调查发现 5% ~ 10% 的鼻咽癌患者有家族遗传史, 说明遗传因素在鼻咽癌的发生发展中起重要的作用。鼻咽癌的病因涉及 EB 病毒的感染、化学致癌物作用<sup>[2,3]</sup>及多种癌基因与抑癌基因结构和功能的改变<sup>[4~8]</sup>, 流行病学研究及体外实验表明, 硝基化合物如亚硝胺类对鼻咽组织具有相对的器官亲和性, 且与鼻咽癌的发生关系密切<sup>[9,10]</sup>。最近, 本研究室利用 cDNA 阵列技术在正常鼻咽上皮组织与鼻咽癌活检组织中筛查差异表达的表达序列标签 (expressed sequence tag, EST)。RNA 印迹证实后利用生物信息学及 cDNA 末端快速扩增 (rapid amplification of cDNA ends, RACE) 等手段, 克隆了一个新基因 NOR1 (GenBank 登录号 AF462348)。该基因在正常鼻咽上皮中高表达而在鼻咽癌活检组织及鼻咽癌细胞株中表达水平较低, 生物信息学预测 NOR1 基因含有硝基还原酶 (oxidoreductase, nitro) 的结构域, 该基因可能参与硝基化合物在体内由前致癌物向终致癌物的代谢, 从而与鼻咽癌的发生密切相关。

单核苷酸多态 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 是随着人类基因组计划的实施而发展起来的

新一代遗传标记, 由于其分布广、密度高而被期望在对诸如癌症、糖尿病等多基因疾病的研究中起重要作用。当 SNP 位于基因的编码序列中时, 称为 cSNP (coding region SNP), 若 cSNP 引起蛋白质重要部位氨基酸的变异, 可导致其功能的改变; 位于基因调控序列中的 SNP 则可能影响基因表达的剂量。因此, 一般认为这两种 SNP 的生物学意义更为显著, 是基因组中决定人类表型多样性的核心信息<sup>[11]</sup>。为了进一步了解 NOR1 基因与鼻咽癌的关系, 我们从 dbSNP 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>) 中选取位于 NOR1 基因内的 cSNPs, 对 NOR1 基因单核苷酸多态与鼻咽癌发病的相关性进行了研究。

## 1 材料和方法

### 1.1 样品准备

本课题采用病例-对照 (case-control) 研究方法。144 名未经放疗和化疗处理的初诊鼻咽癌患者

\* 国家重点基础研究发展规划项目 (973) (G1998051008), 国家高技术“863”计划资助项目 (2001AA221031) 和国家自然科学基金资助项目 (30100027)。

\*\* 并列第一作者。\*\*\* 通讯联系人。

Tel: 0731-4805446, Fax: 0731-4805383

E-mail: Ligy@xymu.net

收稿日期: 2002-11-19, 接受日期: 2003-01-26

外周血样品取自湖南省肿瘤医院, 所有病例均经组织病理学确证, 除 1 例鼻咽腺样囊性癌和 2 例泡状核细胞癌外, 其余均为鼻咽低分化鳞状细胞癌. 患者平均年龄 ( $48.69 \pm 11$ ) 岁, 69.5% 为男性. 正常人外周血样品取自长沙市中心血站健康无偿献血员, 从 2 000 余名中依尽可能与病例组匹配的原则分层随机抽取 144 名, 平均年龄 ( $48.56 \pm 12$ ) 岁, 69.5% 为男性. 每份样品均取血 10 ml, 依常规酚-氯仿法抽提白细胞基因组 DNA.

## 1.2 方法

**1.2.1 cSNPs 位点及引物:** 在 dbSNP 中, NOR1 基因共有 3 个 cSNP 登录, 分别是位于第 6 外显子中的 ss2220003、ss3315410 和位于第 8 外显子中的 ss3211583 (图 1). ss2220003 和 ss3315410 相距仅 9 bp 故用一对引物 (正向引物 5'-ttgggtgct-aggaaatcag-3', 反向引物 5'-gtgacctcccttgacttgac-3') 就可以同时扩增、测序; ss3211583 位点所用引物序列为正向引物 5'-ttccctctgctactgac-gtg-3' 和反向引物 5'-tttcatcctgggtgggtatt-3'. 以上引物均由上海博亚生物技术公司合成.

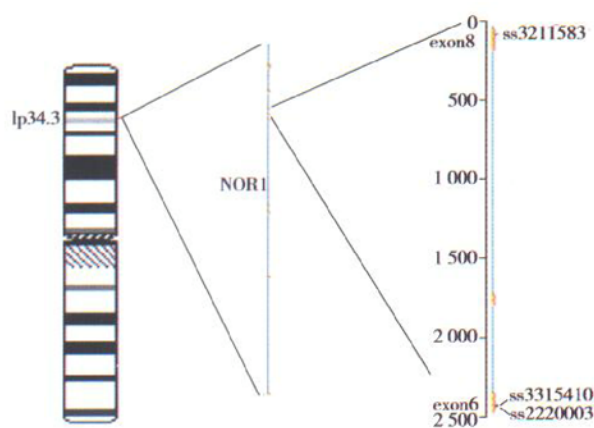


Fig. 1 Locations of SNPs in UBAP1 gene

**1.2.2 cSNPs 位点 PCR 扩增及测序:** PCR 反应总体积为 25  $\mu$ l, 包括 10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3)、50 mmol/L KCl、1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、dNTPs 各 0.2 mmol/L、引物各 0.8  $\mu$ mol/L、10 ng 基因组 DNA、1 U Hotstar Taq 酶 (Qiagen 公司). PCR 反应在 GeneAmp PCR system 9700 (PE Applied Biosystems) 上进行, 反应循环参数为: 首先 94  $^{\circ}$ C 12 min, 然后 94  $^{\circ}$ C 30 s、58  $^{\circ}$ C 30 s、72  $^{\circ}$ C 30 s (30 个循环), 最后 72  $^{\circ}$ C 7 min. PCR 产物经 384 Multiscreen filter plates (Millipore) 纯化, 用 ABI

PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit 做测序反应, 最后在 ABI 3100 DNA 测序仪 (PE Applied Biosystems) 上测序.

**1.2.3 测序结果分析:** 用 Phil Green 实验室发展的一套软件系统 Phred-Phrap-consed 进行 SNP 位点的自动识别. 测序结果 (\* .ab1 文件) 使用 Phred 软件自动识别各样品碱基序列<sup>[12,13]</sup>, Phrap 软件将各个样品的测序结果排列对齐, Polyphred 软件自动搜索 SNP 位点<sup>[14]</sup>, 最后由 Consed 软件展示 SNP 位点及峰型图<sup>[15]</sup>. 以上整套 4 种软件均在 Linux 操作系统上运行.

**1.2.4 统计分析:** 依文献 [16] 所述方法在 SPSS10.0 (SPSS Inc.) 软件上进行卡方检验、计算相对危险度和置信区间; 用 ARLEQUIN 软件 (<http://anthro.unige.ch/arlequin>) 进行位点间的连锁不平衡检验; PM-plus (<http://linkage.rockefeller.edu>) 软件计算单倍型频率并进行模式非依赖型相关分析 (model-free association analysis)<sup>[17,18]</sup>.

## 2 结 果

### 2.1 SNP 位点的基因分型

用测序法对全部 288 个样品均成功地完成了 3 个 SNP 的分型 (图 1), 我们随机抽取了 16 份 (6%) 样品以同一方向测序两次, 另随机抽取 16 份样品以不同方向各测序一次, 重复实验与第一次结果完全吻合, 说明我们的测序方法重复性好, 结果可靠. 在 ss3315410 位点我们没有检测到多态, 即未见 CT 或 CC 基因型, 所有样品均为 TT.

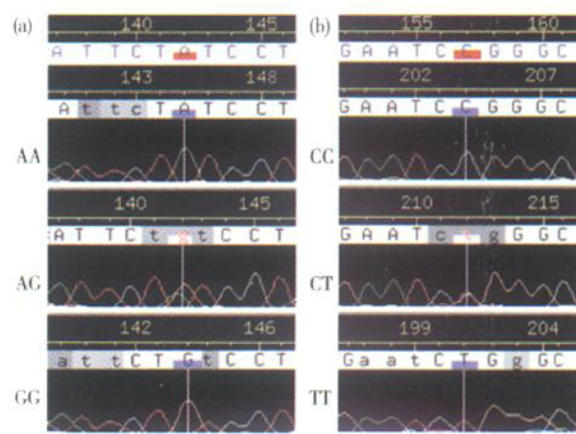


Fig. 2 Trace view of ss2220003A/G (a) and ss3211583C/T (b) in consed

Note: Reverse primers were used for sequencing, so the data show the antisense strands of NOR1 gene.

## 2.2 ss2220003 和 ss3211583 位点多态分布

两个位点病例和对照组中基因及基因型频率分

别列于表 1 和表 2, 基因型频率在病例和对照组之间均存在显著差异 ( $P < 0.05$ ).

**Table 1 Genotype and allele frequencies of ss2220003 among case and control subjects**

|                                   | Genotype    |            |                                   | Allele      |            |
|-----------------------------------|-------------|------------|-----------------------------------|-------------|------------|
|                                   | CC          | CT         | TT                                | C           | T          |
| Case                              | 102 (70.8%) | 40 (27.8%) | 2 (1.4%)                          | 244 (84.7%) | 44 (15.3%) |
| Control                           | 85 (59.0%)  | 56 (38.9%) | 3 (2.1%)                          | 226 (78.5%) | 62 (21.5%) |
| $\chi^2 = 9.733, v = 2, P < 0.01$ |             |            | $\chi^2 = 8.691, v = 1, P < 0.05$ |             |            |

$n = 144$ .

**Table 2 Genotype and allele frequencies of ss3211583 among case and control subjects**

|                                   | Genotype   |            |                                   | Allele      |             |
|-----------------------------------|------------|------------|-----------------------------------|-------------|-------------|
|                                   | AA         | AG         | GG                                | A           | G           |
| Case                              | 54 (37.5%) | 84 (58.3%) | 6 (4.2%)                          | 192 (66.7%) | 96 (33.3%)  |
| Control                           | 50 (34.7%) | 81 (56.3%) | 13 (9.0%)                         | 181 (62.8%) | 107 (37.2%) |
| $\chi^2 = 8.570, v = 2, P < 0.05$ |            |            | $\chi^2 = 1.891, v = 1, P > 0.05$ |             |             |

$n = 144$ .

## 2.3 两个 SNPs 位点的相对危险度

计算了两个 SNPs 位点的相对危险度 (表 3), ss2220003 位点基因型 CT 和 CC 的相对危险度分别为 1.04 和 1.36 (95% 置信区间分别为 1.002~1.083 和 1.013~1.835), 也就是说, 在所检测人

群中 SNP ss2220003 位点基因型为 CT 和 CC 的个体患鼻咽癌的百分率分别是 CC 基因型的 1.04 和 1.36 倍. ss3211583 位点基因型 AG 和 AA 的相对危险度分别为 1.61 和 1.64.

**Table 3 Relative risks associated with genotypic variants of two SNPs loci**

| ss2220003 |               |                         |  | ss3211583 |               |                         |  |
|-----------|---------------|-------------------------|--|-----------|---------------|-------------------------|--|
| Genotype  | Relative risk | 95% Confidence interval |  | Genotype  | Relative risk | 95% Confidence interval |  |
| TT        | 1.00          |                         |  | GG        | 1.00          |                         |  |
| CT        | 1.04          | 1.002~ 1.083            |  | AG        | 1.61          | 0.694~ 3.747            |  |
| CC        | 1.36          | 1.013~ 1.835            |  | AA        | 1.64          | 0.683~ 3.957            |  |

## 2.4 两个 SNPs 位点单倍型与鼻咽癌的关联

经检验, 两个 cSNPs 位点间存在连锁不平衡, 连锁不平衡值  $D' = -0.645$  ( $\chi^2 = 11.17, v = 3, P < 0.05$ ). 在关联分析中, 由多个位点构成的单倍型比单个位点更可靠, 我们用 PM-plus 软件分别计算了病例和对照人群中两个位点所组成的单倍型

及频率, 并用模式非依赖型分析方法 (Model-free analysis) 对鼻咽癌与两个 SNPs 位点进行了关联分析 (表 4), 结果表明两个位点与鼻咽癌发病存在相关, 卡方检验达到极显著水平 ( $P < 0.01$ ) 单倍型 AC 的相对危险度为 1.37.

**Table 4 Estimated haplotype frequencies and Chi-square test of two SNPs of NOR1 gene**

| Haplotype                         | Case  | Control | Relative risk | 95% Confidence interval |
|-----------------------------------|-------|---------|---------------|-------------------------|
| AT                                | 0.129 | 0.191   | 1.00          |                         |
| GC                                | 0.309 | 0.347   | 1.17          | 0.991~ 1.377            |
| GT                                | 0.024 | 0.024   | 1.24          | 0.988~ 1.557            |
| AC                                | 0.538 | 0.438   | 1.37          | 0.983~ 1.903            |
| $\chi^2 = 11.58, v = 3, P < 0.01$ |       |         |               |                         |

AT represents the haplotype ss2220003A-ss3211583T; GC represents the haplotype ss2220003G-ss3211583C; GT represents the haplotype ss2220003G-ss3211583T; AC represents the haplotype ss2220003A-ss3211583C.  $n = 288$ .

### 3 讨 论

基因组多态性研究是后基因组时代的一个重要研究领域, 据估计在人类基因组中约 90% 以上的多态形式是 SNP. 截止到 2002 年 10 月 12 日, 在 dbSNP 中登录的 SNP 已达到 4 873 188 个 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP>), 也就是说, 平均每 700 bp 左右就存在一个 SNP. SNP 多态系统由于其极高的密度和便于高通量分析等优点受到越来越多的关注, 人们已寄希望于它来定位肿瘤、精神疾患、心血管疾病和糖尿病等一系列多基因复杂疾病的主基因<sup>[19]</sup>, 并最终攻克这些现代医学的难题.

鼻咽癌是高发于东南亚及我国南方的一种恶性肿瘤, 其地理和家族聚集现象表明遗传因素在鼻咽癌发病中起着重要的作用, 寻找鼻咽癌易感基因不仅对鼻咽癌发生发展机理的阐明有重大学术意义, 而且可以为实现鼻咽癌的早期基因诊断和治疗奠定基础, 有着重大的临床应用价值. 有关学者试图利用定位克隆策略克隆鼻咽癌的易感基因, 并取得一定的进展<sup>[20, 21]</sup>. 但鼻咽癌作为一种多基因遗传病, 发病过程中需要许多因子共同参与, 其性状变异往往不遵从经典的孟德尔遗传规律, 其基因型-表型间关系错综复杂, 而且涉及基因与环境间的互作, 沿用传统的单基因疾病致病基因定位克隆策略能否最终取得成功还很难说. 因此, 利用表型克隆策略, 比较鼻咽癌组织与正常鼻咽上皮 DNA、mRNA 及蛋白质等不同水平上的差异, 克隆鼻咽癌相关基因, 然后深入研究基因功能, 并采用关联分析的方法利用 SNP 等遗传标记研究基因与鼻咽癌遗传易感性间的关系, 不失为寻找鼻咽癌易感基因的一种有效途径<sup>[4~8, 22]</sup>.

NOR1 基因是本实验室新克隆的鼻咽癌相差异表达基因. 本文采用测序法首次对 NOR1 基因编码区的单核苷酸多态位点进行准确、高效的基因分型, 并就 cSNPs 与鼻咽癌的相关性进行了分析, 结果表明所检测到的两个 cSNPs 之间存在连锁不平衡, 两个 cSNPs 及它们所组成的单倍型均与鼻咽癌存在明显相关, 它们的最高相对危险度分别为 1.36、1.64 和 1.37, 研究进一步支持了 NOR1 基因与鼻咽癌的发生发展可能存在密切的关系. 结合该基因可能参与亚硝胺类化学致癌物在体内代谢过程的功能, 可以认为该基因极可能在鼻咽癌的遗传易感性与环境因素 (化学致癌物) 协同作用中起到纽带作用, 如果能得到更多的试验支持, 不仅可以

探讨鼻咽癌发病过程中遗传因素的作用, 而且还可以解释遗传因素与环境间的互作, 对鼻咽癌病因发病学研究有着重要的意义.

ss2220003 和 ss3211583 分别位于 NOR1 基因的第 6 和第 8 外显子中, 在基因组上相距约 2.4 kb, 在 mRNA 水平上表现为 814 T> C 和 1077 G> A, 从而使 NOR1 基因编码蛋白质一级结构发生了 261 Ile> Thr (非极性氨基酸> 极性氨基酸) 和 349 Gly> Arg (非极性氨基酸> 带正电荷氨基酸) 变化. 其中 349 Gly> Arg 还改变了蛋白质的等电点, 349 Gly 的 NOR1 表达产物预测等电点 (theoretical pI) 为 5.78 而 349Arg 的表达产物预测等电点为 5.93. 这两个位点的多态对编码蛋白的空间结构和生物学功能有什么样的影响, 以及与鼻咽癌发生发展的关系值得深入研究.

### 参 考 文 献

- 1 Hildesheim A, Levine P H. Etiology of nasopharyngeal carcinoma: a review. *Epidemiol Rev*, 1993, **15** (2): 466~ 485
- 2 Armstrong R W, Armstrong M J, Yu M C, *et al.* Salted fish and inhalants as risk factors for nasopharyngeal in Malaysian Chinese. *Cancer Res*, 1983, **43** (6): 2967~ 2970
- 3 Poirier S, Bouvier G, Malaveille C, *et al.* Volatile nitrosamine levels and genotoxicity of food samples from high-risk areas for nasopharyngeal carcinoma before and after nitrosation. *Int J Cancer*, 1989, **44** (6): 1088~ 1094
- 4 熊 炜, 曾朝阳, 李桂源, 等. 泛肽相关蛋白基因 UBAP1 单核苷酸多态性及与鼻咽癌的相关研究. *生物化学与生物物理进展*, 2002, **29** (5): 766~ 770  
Xiong W, Zeng Z Y, Li G Y, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2002, **29** (5): 766~ 770
- 5 熊 炜, 曾朝阳, 李小玲, 等. NGX6 基因单核苷酸多态性及与鼻咽癌的相关研究. *生物化学与生物物理学报*, 2002, **34** (4): 512~ 515  
Xiong W, Zeng Z Y, Li X L, *et al.* *Acta Biochim Biophys Sin*, 2002, **34** (4): 512~ 515
- 6 余 鹰, 谢 奕, 李桂源, 等. 一个新鼻咽癌抑瘤候选基因的克隆及其功能初步分析. *生物化学与生物物理进展*, 2000, **27** (3): 319~ 324  
Yu Y, Xie Y, Li G Y, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2000, **27** (3): 319~ 324
- 7 余 鹰, 朱诗国, 李桂源, 等. BRD7 单核苷酸多态性及鼻咽癌易感性分析. *生物化学与生物物理进展*, 2001, **28** (4): 568~ 572  
Yu Y, Zhu S G, Li G Y, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2001, **28** (4): 568~ 572
- 8 向娟娟, 余 鹰, 李桂源, 等. 一个有假基因特点的鼻咽癌相关基因的分离和克隆. *生物化学与生物物理进展*, 2002, **29** (1): 51~ 55  
Xiang J J, Yu Y, Li G Y, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2002, **29** (1): 51~ 55
- 9 Chen Z C, Pan S C, Yao K T. Chemical transformation of human embryonic nasopharyngeal epithelial cells *in vitro*. *IARC Sci Publ*, 1991, (105): 434~ 438
- 10 Zou X N, Lu S H, Liu B. Volatile N-nitrosamines and their precursors in Chinese salted fish: a possible etiological factor for NPC in China. *Int J Cancer*, 1994, **59** (2): 155~ 158

- 11 Cargill M, Altshuler D, Ireland J, *et al.* Characterization of single-nucleotide polymorphisms in coding regions of human genes. *Nat genet*, 1999, **22** (3): 231~ 238
- 12 Ewing B, Hillier L, Wendt M C, *et al.* Base-calling of automated sequencer traces using Phred. I. Accuracy assessment. *Genome Res*, 1998, **8** (3): 175~ 185
- 13 Ewing B, Green P. Base-calling of automated sequencer traces using Phred. II. Error probabilities. *Genome Res*, 1998, **8** (3): 186~ 194
- 14 Nickerson D A, Tobe V O, Taylor S L. PolyPhred: automating the detection and genotyping of single nucleotide substitutions using fluorescence-based resequencing. *Nucleic Acids Res*, 1997, **25** (14): 2745~ 2751
- 15 Gordon D, Abajian C, Green P. Consed: a graphical tool for sequence finishing. *Genome Res*, 1998, **8** (3): 195~ 202
- 16 方积乾. 医学统计学与电脑实验. 第二版. 上海: 上海科学技术出版社, 2001. 309~ 326  
Fang J Q. Medical Statistics and Computerized Experiment. 2nd. Shanghai: Shanghai Scientific and Technological Publishers, 2001. 309~ 326
- 17 Curtis D, Sham P C. Model-free linkage analysis using likelihoods. *Am J Hum Genet*, 1995, **57** (3): 703~ 716
- 18 Zhao J H, Sham P C. Faster allelic association analysis using unrelated subjects. *Human Heredity*, 2002, **53** (1): 36~ 41
- 19 Kruglyak L. Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *Nat genet*, 1999, **22** (2): 139 ~ 144
- 20 Feng B J, Huang W, Shugart Y Y, *et al.* Genome wide scan for familial nasopharyngeal carcinoma reveals evidence of linkage to chromosome 4. *Nature Genetic*, 2002, **31** (4): 395~ 399
- 21 Henderson B E, Louie E, SooHoo J J, *et al.* Risk factors associated with nasopharyngeal carcinoma. *N Engl J Med*, 1976, **295** (20): 1101~ 1106
- 22 贺智敏, 袁建辉, 王水良, 等. 细胞色素 P450 2E1 基因与鼻咽癌易感性分析. *癌症*, 1999, **18** (5): 517~ 519  
He Z M, Yuan J H, Wang S L, *et al.* *Chin J Cancer*, 1999, **18** (5): 517~ 519

## Studies of Association Between Nasopharyngeal Carcinoma and Single-Nucleotide Polymorphisms in NOR1, a Novel Oxidoreductase Domain-containing Protein Gene\*

XIONG Wei<sup>1)\*\*</sup>, ZENG Zhao-Yang<sup>1)\*\*</sup>, XIAO Bing-Yi<sup>1)</sup>, XIONG Fang<sup>2)</sup>, NIE Xin-Min<sup>1)</sup>,  
FAN Song-Qing<sup>1)</sup>, PENG Cong<sup>1)</sup>, LI Wei-Fang<sup>1)</sup>, WANG Rong<sup>1)</sup>, SHEN Shou-Rong<sup>3)</sup>,  
LI Xiao-Ling<sup>1)</sup>, LI Gu-Yuan<sup>1)\*\*\*</sup>

<sup>1)</sup> Cancer Research Institute, Xiangya Medical School of Central South University, Changsha 410078, China;

<sup>2)</sup> Department of Network and Information, Xiang-Ya Hospital, Central South University, Changsha 410078, China;

<sup>3)</sup> Department of Gastroenterology, 3rd Xiang-Ya Hospital, Central South University, Changsha 410078, China)

**Abstract** Nasopharyngeal carcinoma (NPC) is a rare malignancy tumor in most parts of the world, while with high incidence rate in the south of China. NOR1, a NPC down-regulated gene, was newly-cloned using cDNA micro-array. NOR1 gene has an oxidoreductase domain predicted by bioinformatics. The latest results suggest that the NOR1 gene may participate in the metabolism of chemical carcinogen such as nitrosamine *in vivo*. Genotype of coding region single nucleotide polymorphisms (cSNPs) in NOR1 gene were performed by sequencing in 144 unrelated NPC subjects and 144 control subjects which matched in age, sex and residence. Association analysis suggests that there is linkage disequilibrium between the 2 cSNPs, both of them associated with NPC. And the relative risk of 2 cSNPs and their haplotypes were 1.36, 1.64 and 1.37 respectively. Both of the two SNPs could change the sequence of NOR1 protein, which might influence its structure and function. The results indicated that the SNPs in NOR1 gene may play a certain role in carcinogenesis and development of NPC.

**Key words** single nucleotide polymorphism, NOR1 gene, nasopharyngeal carcinoma, association analysis

\* This work was supported by grants from The Special Funds for Major State Basic Research of China (G1998051008), The State 863 High Technology R&D Project of China (2001AA221031) and The National Natural Science Foundation of China (30100027).

\*\* These authors contributed equally to this work.

\*\*\* Corresponding author. Tel: 86-731-4805446, Fax: 86-731-4805383, E-mail: Ligy@public.cs.hn.cn

Received: November 19, 2002 Accepted: January 26, 2003