

• 论 著 •

GSTM1、GSTT1 基因多态性与白血病易感性的分析*

李 娟¹, 朱俊芳¹, 张 炜¹, 马海珍^{2△}

(兰州大学第一医院: 1. 中心实验室; 2. 血液科 730000)

摘要:目的 分析 GSTM1 缺失基因型与白血病遗传易感性的关系。方法 131 例白血病患者纳入病例组, 200 例体检健康者纳入对照组。采用巢式 PCR 检测 GSTM1、GSTT1 基因型。应用 χ^2 检验和精确概率法比较各基因型频率在病例组与对照组之间的差异, 用比值比(OR)及其 95% 的可信区间(CI)表示各基因型发生白血病的风险度。结果 病例组 GSTM1 缺失基因型频率与对照组比较, 差异有统计学意义($P=0.000 1$, 其 OR 值为 2.152, 95% CI 为 2.301~5.985); 在病例组与对照组中均未检测到 GSTT1 缺失基因型; CML、AML 与 ALL 组间进行 GSTM1 缺失基因型频率比较, 差异无统计学意义($P>0.05$)。结论 GSTM1 缺失基因型可能是白血病的重要危险因素。

关键词:白血病; GSTM1; GSTT1; 谷胱甘肽 S-转移酶

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.12.007

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)12-1610-02

Analysis on the association between leukemia susceptibility and gene polymorphism of GSTM1, GSTT1*

LI Juan¹, ZHU Junfang¹, ZHANG Wei¹, MA Haizhen^{2△}

(1. Centre for Molecular Biology; 2. Department of Hematology, the Frist Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between leukemia susceptibility and gene polymorphism of GSTM1, GSTT1. **Methods** A total of 131 leukemia patients were recruited into group of patients, and 200 healthy person were recruited into control group. GSTM1 and GSTT1 genotypes were determined by multiplex polymerase chain reaction. Chi-square test and Fisher's exact test was used to compare the differences between the group of patients and control group. **Results** GSTM1 null genotype frequency in group of patients was slightly higher than that of the control group ($P=0.000 1$, $OR=2.152$, $95\% CI=2.301-5.985$). There was no GSTT1 null genotype detected in group of patients and control group. Moreover, GSTM1 null genotype frequency showed a similar trend between CML, AML and ALL. **Conclusion** GSTM1 null genotype might be a risk factor of leukemia.

Key words: leukemia; GSTM1; GSTT1; glutathione S-transferase

白血病是一类起源于造血干细胞的恶性克隆性疾病, 国内外研究表明, 遗传因素、环境因素交互作用与白血病的发生及疾病的进展有关。代谢酶遗传多态性在对环境致癌物致突变过程中起着关键作用, 日益受到学者们的关注。人体的 II 相代谢酶谷胱甘肽 S-转移酶超家族(GSTs)可催化异生物素的 I 相代谢产物与谷胱甘肽(GSH)结合, 使其毒性降低, 且易于排出体外, 在细胞代谢解毒过程中起着重要作用^[1]。研究证实 GSTM1、GSTT1 基因多态性与肺癌、消化道肿瘤的易感性存在着一定的关系^[2-5]。本研究就 GSTM1、GSTT1 基因多态性与白血病易感性的关系进行了探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2010 年 6 月至 2012 年 5 月兰州大学第一医院住院初诊的 131 例白血病患者纳入病例组, 其中男 73 例, 女 58 例, 男女比例为 1.26 : 1.00。其中慢性髓细胞白血病(CML)组患者 32 例, 男 22 例, 女 10 例, 年龄 20~69 岁, 中位年龄 45 岁, 男女比例为 2.2 : 1.0; 急性髓细胞白血病(AML)组患者 70 例, 男 34 例, 女 36 例, 男女比例为 0.94 : 1.00; 急性淋巴细胞白血病(ALL)组患者 29 例, 男 16 例, 女 13 例, 男女比例为 1.23 : 1.00。另选择同期本院体检中心体检健康者 200 例纳入对照组, 其中男 134 例, 女 66 例, 年龄 17~81 岁, 中位年龄 40 岁。病例组与对照组性别差异无统计学意义($\chi^2=3.544, P=0.06$), 具有可比性。

1.2 检测方法

1.2.1 白血病诊断及疗效判断标准 白血病诊断及诱导治疗后第一疗程的完全缓解(CR1), 以《血液病诊断及疗效准》作为诊断和疗效判断标准。

1.2.2 基因组 DNA 提取 采集白血病患者乙二胺四乙酸二钠(EDTA-Na₂)抗凝骨髓 2 mL, 用常规酚氯仿法提取骨髓细胞基因组 DNA 并测定 DNA 的水平和纯度, 低温保存。

1.2.3 GSTM1 及 GSTT1 多态基因型的确定 采用巢式 PCR 检测 GSTM1 和 GSTT1 基因的纯合缺失。引物序列参照文献[6], 由上海生工生物工程技术有限公司合成。GSTM1 基因上、下游引物序列为: F5'-GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C-3'; R5'-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G-3'。GSTT1 基因上、下游引物序列为: F5'-TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC-3'; R5'-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3'。该反应以-globin 为阳性内对照, 其上、下游引物序列为: F5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3'; R5'-GAA GAG CCA AGG ACA GGT AC-3'。PCR 反应条件, 94℃ 预变性 4 min 后进入热循环, 94℃ 1 min, 55℃ 45 s, 72℃ 1 min, 72℃ 10 min, 共 35 个循环。GSTM1 和 GSTT1 基因型结果分析: GSTM1 PCR 产物为 219 bp; GSTT1 PCR 产物为 480 bp; -globin PCR 产物为 268 bp。2% 琼脂糖凝胶电泳进行结果判读 GSTM1 缺失基因型为 268、480 bp; GSTT1 缺失基因型为 268、219 bp; GSTM1 及 GSTT1 联合缺失基因型为 268 bp。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行数据处理及统计

* 基金项目: 甘肃省兰州市科技局自然科学基金项目(2011-2-46)。

作者简介: 李娟, 女, 副主任检验师, 主要从事罕见病及肿瘤遗传学的研究。 △ 通讯作者, E-mail: mahaizhen-2008@163.com。

学分析,计数资料以例数及百分率表示,采用 χ^2 检验和精确概率法比较各基因型频率在病例组与对照组之间的差异,用比值比(OR)及其 95% 的置信区间(CI)表示各基因型发生白血病的风险度。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 病例组与对照组基因型分布比较 对照组中 200 例健康者中 115 例(57.5%)为 GSTM1 未缺失基因型,85 例(42.5%)为 GSTM1 缺失基因型;病例组中 131 例白血病患者 35 例(26.7%)为 GSTM1 未缺失基因型,96 例(73.3%)为 GSTM1 缺失基因型,两组基因型频率分布差异有统计学意义($\chi^2 = 30.27, P = 0.0001$),两组 GSTM1 基因型的分布频率见表 1。

表 1 病例组与对照组 GSTM1 位点基因型分布频率比较[n(%)]

组别	GSTM1 未缺失	GSTM1 缺失	χ^2	P	OR(95%CI)
对照组	115(57.5)	85(42.5)			
病例组	35(26.7)	96(73.3)	30.27	0.0001	2.152(2.301~5.985)

2.2 各组基因型分布比较 70 例 AML 患者 20 例(28.6%)为 GSTM1 未缺失基因型,50 例(71.4%)为 GSTM1 缺失基因型,对照组与 AML 组基因型频率分布差异有统计学意义($\chi^2 = 20.962, P = 0.0001$);29 例 ALL 患者中 6 例(20.7%)为 GSTM1 未缺失基因型,23 例(79.3%)为 GSTM1 缺失基因型,对照组与 AML 组基因型频率分布差异有统计学意义($\chi^2 = 13.771, P = 0.0002$);32 例 CML 患者中 9 例(28.1%)为 GSTM1 未缺失基因型,23 例(71.9%)为 GSTM1 缺失基因型,对照组与 AML 组基因型频率差异有统计学意义($\chi^2 = 9.567, P = 0.0020$)。CML、AML、ALL 组与对照组中 GSTM1 基因型的分布频率见表 2。

表 2 各组 GSTM 位点多态基因型分布频率比较[n(%)]

组别	GSTM1 未缺失	GSTM1 缺失	χ^2	P	OR(95%CI)
对照组	115(57.5)	85(42.5)			
AML 组	20(28.6)	50(71.4)	20.962	0.0001	3.908(2.134~7.158)
ALL 组	6(20.7)	23(79.3)	13.771	0.0002	5.186(2.023~13.30)
CML 组	9(28.1)	23(71.9)	9.567	0.0020	3.458(1.522~7.852)

2.3 3 类白血病患者基因型分布比较 CML 组分别与 AML、ALL 组基因型频率分布比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.002, P = 0.963; \chi^2 = 0.454, P = 0.500$)。

3 讨 论

本研究结果显示,对照组中 GSTM1 缺失基因型频率为 42.5%,与国内报道上海地区健康人群 GSTM1 的缺失率为 49.1% 相一致^[7]。131 例白血病患者中 96 例(73.3%)为 GSTM1 缺失基因型,病例组 GSTM1 缺失基因型明显高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2 = 30.27, P = 0.0001, OR = 2.152, 95\% CI: 2.301 \sim 5.985$),本研究结果也显示携带 GSTM1 缺失基因型的个体发生白血病的危险性比携带 GSTM1 未缺失基因型的个体增加 2.152 倍。对病例组进行了进一步的分层研究,结果显示 AML、ALL、CML 组分别与对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$),OR 值分别为 3.908、

5.186、3.458。表明 GSTM1 缺失基因型可能是白血病的重要危险因素。国内一项对苯引起的白血病研究结果发现,苯白血病患者中 GSTM1 缺失基因型的频率(73.53%)明显高于对照组(46.88%),且是苯白血病的易感因素之一($OR = 3.15, 95\% CI: 0.56 \sim 17.62$)^[8],与本研究结果相一致。本研究将 CML 组分别与 AML、ALL 组基因型频率分布比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),表明 GSTM1 缺失基因型与白血病分型无相关性。本研究结果与袁慧等^[9]报道的谷胱甘肽转硫酶基因与急性白血病易感性的 Meta 分析的结果相一致。

谷胱甘肽转硫酶是重要的 II 相代谢酶,可结合各种亲电子化合物,包括环境致癌物及其中间产物,使其水溶性增加,起到解毒的作用。具有 GSTM1 缺失基因型的个体体内缺乏酶活性,对外来毒物的解毒功能降低,可能成为白血病的重要遗传学危险因素之一。由于本研究样本量较小,不能排除偏倚和混杂因素的影响,期望更多学者关注谷胱甘肽转硫酶基因与白血病发病风险的研究,通过大样本的验证,为白血病的防治提供科学依据。

参考文献

- [1] Zhang XM, Lin Je, Wu XF, et al. Association between GSTM1 copy number, promoter variants and susceptibility to urinary bladder cancer[J]. Int J Mol Epidemiol Genet, 2012, 3(3): 228-236.
- [2] Yang HY, Yang SY, Liu J, et al. The association of GSTM1 deletion polymorphism with lung cancer risk in chinese population: evidence from an updated meta-analysis[J]. Sci Rep, 2015, 5(1): 9392.
- [3] Wang YD, Yang HY, Wang HY. The association of GSTT1 deletion polymorphism with lung cancer risk among Chinese population: evidence based on a cumulative meta-analysis[J]. Onco Targets Ther, 2015, 8(1): 2875-2882.
- [4] Bishehsari F, Mahdavinia M, Vacca M, et al. Epidemiological transition of colorectal cancer in developing countries: Environmental factors, molecular pathways, and opportunities for prevention[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(20): 6055-6072.
- [5] 沈靖, 王润田, 徐希平. 代谢酶基因多态性与环境暴露互作用的分析方法及其应用[J]. 中华流行病学杂志, 2001, 22(1): 61-64.
- [6] Mehmet T, Sena EA, Comez O, et al. CYP1A1, GST gene polymorphisms and risk of chronic myeloid leukaemia[J]. Swiss Med Wkly, 2008, 138(1/2): 12-17.
- [7] 林国芳, 马晴雯, 查永林, 等. 上海“本地人”正常人群 GSTT1 和 GSTM1 基因型多态性研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2001, 13(1): 10-12.
- [8] 王文静, 李昌吉, 龙云芳, 等. 苯白血病患者 GST- μ 基因缺失情况分析[J]. 职业卫生与病伤, 2000, 15(4): 193-195.
- [9] 袁慧, 王金权. 谷胱甘肽转硫酶基因与急性白血病易感性的 Meta 分析[J]. 现代预防医学, 2004, 31(3): 322-323.