

• 论 著 •

转化生长因子基因多态性与多发性骨髓瘤的相关性

韩富秋,杨国东,王仕超,董海荣[△]
(呼和浩特市第一医院检验科,内蒙古呼和浩特 010030)

摘要:目的 探讨转化生长因子(TGF)基因单核苷酸多态性与多发性骨髓瘤(MM)的关系。方法 采用病例对照研究,选取多发性骨髓瘤患者 55 例和健康对照 55 例,采用聚合酶链反应(PCR)-连接酶检测反应(LDR)进行基因型、等位基因型检测,并进一步进行测序分型。结果 MM 患者 TGF 两位点基因型频率、等位基因频率、联合单倍体分型中各型的频率与对照组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 转化生长因子基因单核苷酸多态性与多发性骨髓瘤的发生以及亚型没有明显的相关性。
关键词:多发性骨髓瘤; 单核苷酸多态性; 转化生长因子基因
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.24.019 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)24-3554-02

Correlation between TGF gene polymorphism and multiple myeloma
Han Fuqiu, Yang Guodong, Wang Shichao, Dong Hairong[△]

(Department of Clinical Laboratory, Huhehaote Municipal First Hospital, Huhehaote, Neimenggu 010030, China)

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between transforming growth factor gene (TGF) single nucleotide polymorphism (SNP) and multiple myeloma (MM). **Methods** The case control study was performed, 55 patients with MM and 55 healthy controls were selected. The genotype and allele detections were performed by adopting the polymerase chain reaction (PCR) and the ligase detection reaction (LDR) respectively. Then the sequencing based typing was further conducted. **Results** There were no statistically significant differences in the two loci genotype frequencies, allele frequencies and genotype frequencies in joint haploid typing between the MM group and the control group($P>0.05$). **Conclusion** SNP of TGF gene has no obvious correlation with the occurrence of MM and subtypes.
Key words: multiple myeloma; single nucleotide polymorphism; transforming growth factor gene

多发性骨髓瘤(MM)是一种 B 细胞肿瘤,占血液系统恶性肿瘤的 15%和总的恶性肿瘤的 1%^[1],特点是浆细胞的克隆性增生和分泌,导致单克隆性免疫球蛋白过度产生^[2],从而导致一系列临床症状包括骨病变、贫血和终末器官肾脏疾病^[3]。MM 的病因是多方面的,包括炎症、氧化应激、遗传变异和单核苷酸多态性等^[4]。笔者旨在通过研究转化生长因子与 MM 的相关性,从遗传学角度阐明 MM 的发病机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例组来源于 2013 年 4 月至 2014 年 9 月协和医科大学附属医院 MM 患者,共 55 例,其中女 26 例,男 29 例。健康对照组 55 例,其中女 29 例,男 26 例。
1.2 方法 采用 Kit 法对受试对象的外周血进行基因组 DNA 的抽提,并检测总的 DNA 浓度、纯度和完整性,采用聚合酶链反应(PCR)扩增 SNP 位点所在片段,然后取 PCR 产物进行连接酶检测反应(LDR),取多重 LDR 产物进行测序分析。
1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据分析,组间均数比较采用 t 检验,组间频数比较用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 临床指标比较 MM 患者和健康者的临床资料对比见表 1。

表 1 MM 患者和正常对照的临床资料对比			
	MM 患者	健康者	P
男/女	26/29	29/26	0.25
年龄	56.9±14.75	38.18±13.07287	

续表 1 MM 患者和正常对照的临床资料对比

	MM 患者	健康者	P
白细胞($10^9/L$)	2.13±3.43	5.75±1.34	0.000
红细胞($10^{12}/L$)	2.45±0.72	5.20±0.78	0.000
血红蛋白(g/L)	74.93±19.65	157.36±11.67	0.000
淋巴细胞($10^9/L$)	19.76±13.95	37.38±5.81	0.000
中性粒细胞($10^9/L$)	48.98±28.72	54.84±7.08	0.001
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	35.09±36.87	25.67±7.79	0.000
天门冬氨酸氨基转移酶(U/L)	33.75±34.22	28.27±8.09	0.008
γ 谷氨酰转肽酶(U/L)	57.33±119.12	25.91±7.69	0.000
血沉(mmol)	32.85±18.24	11.59±5.87	0.000
CRP(mL/h)	5.85±6.26	1.77±0.82	0.000

2.2 DNA 电泳抽提全血基因组 DNA,并检测其完整性。样本电泳结果显示样本质量较为均一,样本浓度适中。

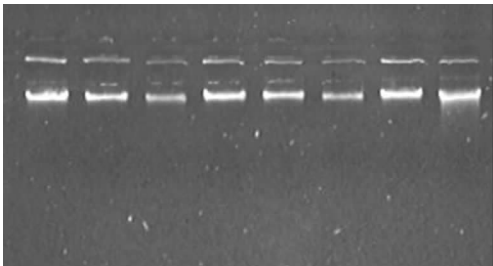
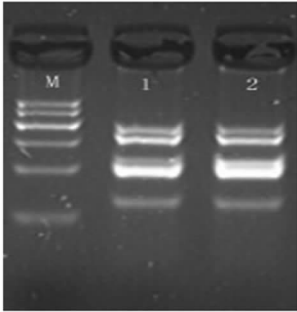


图 1 DNA 电泳图谱

作者简介:韩富秋,女,副主任检验师,主要从事医学检验工作。 [△] 通讯作者,E-mail: dhr_06@163.com。

2.3 多重 PCR 扩增 在 Perkin—Elmer Gene Amp PCR Systems 9600 仪器上设置扩增程序:95 ℃ 15 min 变性,94 ℃ 30 s,退火 56 ℃ 1 min 延伸,共 35 个循环 72 ℃ 1 min 延伸 72 ℃ 7 min 保存。



M:标志物;1:样本;2:样本。

图 2 多重 PCR 扩增图谱

2.4 PCR 产物的连接酶检测反应 在 Perkin—Elmer Gene Amp PCR Systems 9600 上设置如下程序:95 ℃ 2 min 变性,94 ℃ 30 s 退火,50 ℃ 2 min 连接共 35 个循环。

2.5 测序仪检测 应用 Genemapper 软件进行数据分析和基因分型。

2.6 基因型及等位基因频率分布比较 见表 2。

基因型及等位基因频率分布比较[n(%)]					
基因	基因型/ 等位基因	MT	NT	χ^2	P
Rs8105161	CC	10(0.182)	6(0.109)	1.23	0.54
	CT	20(0.364)	23(0.418)		
	TT	25(0.455)	26(0.473)		
	C	40(0.364)	35(0.318)		
	T	70(0.636)	75(0.682)		
Rs4803455	AA	8(0.145)	7(0.127)	0.59	0.74
	AC	28(0.509)	32(0.582)		
	CC	19(0.345)	16(0.291)		
	A	44(0.400)	46(0.418)		
	C	66(0.600)	64(0.582)		

MT:multiple myeloma;NT:normotensives。

2.7 数据分析 应用 Genemapper 软件进行数据分析和基因分型。见图 3,列举部分位点的分型截图。(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

3 讨 论

最近的研究表明,遗传倾向可能影响肿瘤患者的生存期、与治疗相关的症状以及与健康相关的生活质量^[5-6]。炎症是阐明肿瘤相关症状表达的候选机制^[7-8]。当前 MM 的候选基因研究热点有白细胞介素 6、肿瘤坏死因子以及生长转化因子等,本研究旨在通过研究生长转化因子与 MM 的相关性来阐明其发病机制。

生长转化因子(TGF)是一类具有多种生物学活性的细胞因子,参与调节细胞的增殖、分化、发育和凋亡等多种生命活动。TGF 对肿瘤的作用是极其复杂的。在空间方面,TGF 信号通路对肿瘤细胞自身的作用在肿瘤抑制和肿瘤发展机制中有重要意义,又能通过影响肿瘤的微环境(如成纤维细胞、免疫

细胞和细胞外基质)来促进或抑制肿瘤的发展和转移。在时相方面,TGF 在肿瘤的进展期可通过多种机制促进肿瘤的侵袭和转移。TGF 信号通路的复杂特性对肿瘤机制的研究和肿瘤的靶向治疗提供了全新的机遇和挑战。

笔者研究了北方地区人群 TGF 基因位点 rs8105161 与 rs4803455 多态性与 MM 的相关性,发现病例组与对照组间没有统计学意义($P>0.05$),所以在研究人群中,TGF 基因多态性与 MM 没有相关性。这与王皓等^[9]的研究结论相符,TGF 可能在 MM 发生中起到一定的作用,但该因子基因编码区多态性并不会影响血浆 TGF- β 1 的浓度,也与 MM 的发生以及亚型没有明确的相关性。本研究 MM 患者 CD4⁺CD25⁺CD127 低、CD4⁺CD25 高、CD127 低 T 细胞与 TGF- β 的表达水平无明显相关性,说明 TGF- β 或许不是导致 MM 患者体内调节性 T 细胞增加的重要或唯一因素。

综上所述,有许多因素如年龄、放射线、种族等都可能影响 MM 的发生、发展,单一的基因多态性并不足以导致 MM 的发病,所以有必要进行多因素的联合研究来进一步明确 MM 的发病机制。

参考文献

[1] Angtuaco EJ,Fassas AB,Walker R,et al. Multiple myeloma:clinical review and diagnostic imaging[J]. Radiology,2004,231(1):11-23.

[2] Kyle RA,Rajkumar SV. Multiple myeloma[J]. N Engl J Med,2004,351(18):1860-1873.

[3] Maclellann I,Drayson M,Dunn J. Multiple myeloma[J]. BMJ,1994(308):1033-1036.

[4] Stellrecht CM,Gandhi V. Myeloma antioxidant status:the good,the bad and the reactive[J]. Leuk Lymphoma,2009,50(5):691-693.

[5] Sprangers MA,Sloan JA,Barsevick A,et al. Scientific imperatives,clinical implications and theoretical underpinnings for the investigation of the relationship between genetic variables and patient-reported quality-of-life outcomes[J]. Qual Life Res,2010,19(1):1395-1403.

[6] Sprangers MA,Thong MS,Bartels M,et al. Biological pathways,candidate genes,and molecular markers associated with quality-of-life domains:an update[J]. Qual Life Res,2014,23(3):1997-2013.

[7] Cleeland CS,Bennett GJ,Dantzer R,et al. Are the symptoms of cancer and cancer treatment due to a shared biologic mechanism? A cytokine-immunologic model of cancer symptoms[J]. Cancer,2003,97(1):2919-2925.

[8] Maier SF,Watkins LR. Immune-to-central nervous system communicationand its role in modulating pain and cognition:implicationsfor cancer and cancer treatment[J]. Brain Behav Immun,2003,17(1):125-131.

[9] 王皓,杨再兴,高春芳,等. 转化生长因子- β 1 及其基因多态性与多发性骨髓瘤的关系研究[J]. 中国免疫学杂志,2006,22(7):650-653.

(收稿日期:2015-06-08)

