

• 论 著 •

CYP2B6 基因多态性与成年人急性髓系白血病易感性的相关性*

陈宗云¹, 叶晓艺², 王若涛¹, 郭建峰¹

福建医科大学附属闽东医院: 1. 检验科; 2. 肾内科, 福建宁德 355000

摘要:目的 探讨 CYP2B6 基因多态性与成年人急性髓系白血病(AML)易感性的相关性。方法 选取 87 例首次确诊 AML 的患者作为 AML 组, 191 例健康体检者作为对照组, 运用 Sanger 测序法对 CYP2B6 785A>G 与 516G>T 两个单核苷酸多态性位点进行基因分型。结果 CYP2B6 785A>G 位点在显性模型下 (AG+GG *vs.* AA, $P<0.05$, $OR=5.34$, 95% CI : 4.05~7.04) 和携带等位基因 G (G *vs.* A, $P<0.05$, $OR=2.22$, 95% CI : 1.46~3.37) 均会增加患 AML 的风险。CYP2B6 516G>T 位点在显性模型下 (GT+TT *vs.* GG, $P>0.05$, $OR=0.70$, 95% CI : 0.41~1.19) 和携带等位基因 T (G *vs.* T, $P>0.05$, $OR=0.73$, 95% CI : 0.47~1.15) 均与 AML 患病风险无关。结论 CYP2B6 785A>G 位点携带等位基因 G 可能会增加 AML 患病风险。

关键词:急性髓系白血病; CYP2B6; 基因多态性; 易感性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.04.006 **中图法分类号:**R733.71

文章编号:1673-4130(2021)04-0412-04 **文献标志码:**A

The relationship between the polymorphism of CYP2B6 gene and the susceptibility of acute myeloid leukemia in adults*

CHEN Zongyun¹, YE Xiaoyi², WANG Ruotao¹, GUO Jianfeng¹

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Nephrology, Mindong Hospital, Fujian Medical College, Ningde, Fujian 355000, China

Abstract: **Objective** To discuss the susceptibility of gene polymorphism of CYP2B6 to the acute myeloid leukemia (AML) in adults. **Methods** Using Sanger sequencing technology to identify the genotypes of 785A>G and 516G>T of CYP2B6 in 87 first-diagnosed AMI patients (AMI group), meanwhile 191 healthy volunteers were enrolled as the control group. **Results** CYP2B6 785A>G in the dominant model (AG+GG *vs.* AA, $P<0.05$, $OR=5.34$, 95% CI : 4.05–7.04) and with allele G (G *vs.* A, $P<0.05$, $OR=2.22$, 95% CI : 1.46–3.37) both increased the risk of AML. CYP2B6 516G>T did not affect the risk of AML in the dominant model (GT+TT *vs.* GG, $P>0.05$, $OR=0.70$, 95% CI : 0.41–1.19) or with allele T (G *vs.* T, $P>0.05$, $OR=0.73$, 95% CI : 0.47–1.15). **Conclusion** CYP2B6 785A>G with allele G might increase the risk of AML in adults.

Key words: acute myeloid leukemia; CYP2B6; gene polymorphism; susceptibility

急性髓系白血病(AML)是成年人最常见的急性白血病类型,是急性白血病中发病最多且患者生存率最低的异质性疾病^[1-2]。有研究显示,AML 在全球范围的发病率为 1.62/10 万,我国 AML 的发病率呈上升趋势^[3]。AML 发病机制目前还不清楚,可能的原因是环境暴露和遗传易感性之间的相互作用。参与药物吸收、分布、代谢、排泄(ADME)的基因存在显著

的个体及地域差异,与许多疾病的易感性有关^[4]。大多数 ADME 基因属于细胞色素 P450(CYP450)家族,编码最重要的代谢同工酶,这些同工酶负责大多数异生物质的生物转化。CYP2B6 是 CYP450 家族中重要的药物代谢酶,CYP2B6 的基因多态性导致对毒性物质处理的个体差异可能是白血病易感性的影响因素之一^[5]。已发现 CYP2B6 单核苷酸多态性(SNP)

* 基金项目:福建省青年科研课题(2017-1-99);宁德市科技计划项目(20160190)。
作者简介:陈宗云,男,主管技师,主要从事血液病诊断的研究。
本文引用格式:陈宗云,叶晓艺,王若涛,等. CYP2B6 基因多态性与成年人急性髓系白血病易感性的相关性[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(4): 412-415

不同位点,如 G516T、C65T、C777A、A785G、C1459T、T983C^[6-7]。YUAN 等^[8]的研究显示,北方人群急性 AML 患者 CYP2B6 516G>T(rs3745274)位点具有更高的 GT 基因型频率,这可能是导致急性白血病学易感性的重要遗传因素。而对于南方人群,并没有详细的研究数据,而且未见国内学者对 CYP2B6 785A>G(rs2279343)位点的研究。本研究旨在探讨南方人群 CYP2B6 516G>T、CYP2B6 785A>G 两个 SNP 位点与 AML 易感性的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2016—2019 年在福建医科大学附属闽东医院血液科确诊的 87 例 AML 患者作为 AML 组,其中女 41 例、男 46 例,年龄(62.3±13.6)岁;另外,选取同期于本院体检的健康体检者 191 例作为对照组,其中女 93 例、男 98 例,年龄(62.4±11.8)岁;以上所选研究对象均无血缘关系。AML 组与对照组间性别构成、年龄比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经本院医学伦理委员会批准,并在研究开始前获得患者或家属的书面同意。

1.2 仪器与试剂 TD5A-WS 型台式低速离心机(长沙湘仪离心机仪器有限公司)、ETC811 型基因扩增仪、QT-1 型漩涡混合器(上海琪特分析仪器有限公司)、Mini-4lc 型微型离心机(珠海黑马医学仪器有限公司)、凝胶成像仪(上海培清科技有限公司)、FR-250 型电泳仪(上海复日科技有限公司);ABI3730XL 型全自动 DNA 测序仪(赛默飞世尔公司);全血基因组 DNA 提取试剂盒(亚能生物公司);PCR 扩增试剂、引物由福州尚亚生物技术有限公司合成。

1.3 方法

1.3.1 基因组 DNA 提取 在无菌条件下抽取研究对象外周静脉血或骨髓液 2 mL,待血液与抗凝剂充分混匀,采用全血基因组 DNA 提取试剂盒提取基因组 DNA。

1.3.2 引物设计与合成 用在线软件 Primer3 设计用于 CYP2B6 785A>G、CYP2B6 516G>T 两个位点检测的引物。见表 1。

表 1 SNP 位点的引物序列

RS 编码	引物序列(5′—3′)
rs2279343	上游:GAGAAGCACCGTGAAACCCCT
	下游:GCCTCTCTTTAGTCTTCCTAACTCTG
rs3745274	上游:ATAGCTGTGTTGCCTGGGTC
	下游:GCATTTCTGAGCCCCAAGA

1.3.3 PCR 扩增目的基因片段 PCR 扩增体系为 50.0 μL,含 2×PCR Mix 25.0 μL,上游、下游引物各

1.0 μL,模板 DNA 4.0 μL。PCR 循环条件:94 min;94 ℃ 45 s、58 ℃ 45 s、68 ℃ 55 s,30 个循环;68 ℃ 5 min;取 PCR 产物 5.0 μL,用 1.0%琼脂糖凝胶电泳检测。

1.3.4 PCR 产物直接测序 取 1.0 μL 纯化后的产物,与 0.5 μL GeneScan™ 120 LIZ 标准品,8.5 μL Hi-Di™ 甲酰胺混匀,95 ℃变性 5 min 后于测序仪进行检测。测序仪上收集的原始数据用 chromas 软件读取测序图谱并进行分析。

1.4 统计学处理 应用 SPSS20 软件对数据进行分析。计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,年龄、外周血常规参数的组间比较采用 t 检验;采用显性遗传模型和等位基因模型分析 CYP2B6 多态性与 AML 的患病风险;所有检验均为双侧,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AML 组与对照组部分常规血液检测指标的比较 AML 组外周血白细胞计数(WBC)水平高于对照组($P<0.05$);AML 组外周血血红蛋白(Hb)、血小板计数(PLT)水平低于对照组($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组常规血液检测指标的比较

检测项目	<i>n</i>	WBC($\times 10^9/L$)	Hb(g/L)	PLT($\times 10^9/L$)
AML 组	87	86.2±48.7	65.4±24.5	38.8±32.2
对照组	191	6.2±1.19	132.3±17.2	234.6±60.2
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 CYP2B6 785A>G、CYP2B6 516G>T 两个位点基因型 利用 Sanger 测序对 CYP2B6 785A>G、516G>T 位点进行基因分型,结果显示 785A>G 位点有 3 种基因型:AA、AG、GG,516G>T 位点有 3 种基因型:GG、GT、TT。

2.3 CYP2B6 785A>G、516G>T 基因多态性与 AML 患病风险的分析 本研究中 CYP2B6 785A>G 位点的 3 种基因型 AA、AG、GG 的分布频率在对照组中分别为 69.3%、28.4%、2.3%,在 AML 组中分别为 53.2%、35.4%、13.4%。CYP2B6 516G>T 位点 3 种基因型 GG、GT、TT 的分布频率在对照组中分别为 57.1%、38.7%、4.2%,在 AML 组中分别为 65.7%、32.2%、2.3%。CYB2B6 785A>G、516G>T 位点基因型在对照组人群中的分布符合哈迪-温伯格平衡定律($P>0.05$),表明所选研究人群具有群体代表性。若 CYP2B6 785A>G 位点的基因型为显性模型(携带 G 的基因型)会增加 AML 的患病风险(AG+GG vs. AA, $P<0.05$, $OR=5.34$, 95% $CI:4.05\sim7.04$),等位基因 G 会增加 AML 患病风险(G vs. A, $P<0.05$, $OR=2.22$, 95% $CI:1.46\sim3.37$)。

CYP2B6 516G>T 位点的基因型是否为显性模型(携带 T 的基因型)与 AML 患病风险无关(GT+TT *vs.* GG, $P>0.05$, $OR=0.70$, 95%CI: 0.41~1.19), 等

位基因类型与 AML 风险无关(G *vs.* T, $P>0.05$, $OR=0.73$, 95%CI: 0.47~1.15)。见表 3。

表 3 CYP2B6 785A>G、516G>T 基因多态性与 AML 的相关性分析

SNP 位点	基因型	AML 组 (<i>n</i> =87)	对照组 (<i>n</i> =191)	基因型的比较		等位基因的比较	
				<i>P</i>	<i>OR</i> (95%CI)	<i>P</i>	<i>OR</i> (95%CI)
CYP2B6 785A>G	AA	46(53.2)	132(69.3)	<0.001	5.34(4.05~7.04)	<0.001	2.22(1.46~3.37)
	AG	29(35.4)	54(28.4)				
	GG	12(13.4)	5(2.3)				
CYP2B6 516G>T	GG	57(65.8)	109(57.1)	0.180	0.70(0.41~1.19)	0.170	0.73(0.47~1.15)
	GT	28(32.2)	74(38.7)				
	TT	2(2.3)	8(4.2)				

注:基因型的比较为 AG+GG *vs.* AA 或 GT+TT *vs.* GG;等位基因的比较为 G *vs.* A 或 G *vs.* T。

3 讨 论

CYP450 又称肝微粒体混合功能氧化酶,主要参与药物体内 I 相代谢反应,负责许多药物的生物转化。CYP450 广泛存在于肝、肠、皮肤、鼻上皮、肺、肾等部位^[9]。CYP450 超家族基因多态性对于包括药物、毒物和致癌物在内的许多物质的生物转化有非常重要的影响^[10]。CYP2B6 是 CYP450 家族中重要的药物代谢酶,参与多种内源性和外源性物质的合成和代谢^[11]。CYP2B6 基因定位在 19q1—13.2,全长 28 kb,包含 9 个外显子,编码的蛋白质由 491 个氨基酸组成。CYP2B6 基因有高度多态性,有 38 个已知的变异等位基因和多个亚等位基因。其中,CYP2B6 516G>T、785A>G 遗传多态性在中国汉族人群中较为常见,其突变率为 18.4%^[12]。致癌物代谢酶的多态性可能影响酶活性,进而导致原癌基因激活或失活。已知 CYP1A1、CYP2D6、CYP2E1 的几种 SNP 位点基因型是急性白血病的危险因素^[13-14]。近年来 CYP2B6 多态性的研究主要集中在对抗肿瘤药物环磷酰胺、止痛药物美沙酮、抗反转录病毒药物依法韦仑等的药物动力学影响方面^[15-18]。CYP2B6 多态性与急性白血病易感性的关系尚未得到充分的研究。

CYP2B6 785A>G 是第 5 外显子中的单核苷酸被替换,会导致在第 262 位的氨基酸(精氨酸)发生赖氨酸替换,并通过改变底物结合位点或选择性剪接来影响代谢活动^[19]。JUSTENHOVEN 等^[20]研究提示,CYP2B6 785A>G 在显性模型下会增加乳腺癌患病风险。KUROSAKI 等^[21]研究提示,CYP2B6 785A>G 位点的等位基因 G 会增加前列腺癌风险。这些研究说明 CYP2B6 基因多态性与肿瘤易感性有关。DARAKI 等^[22]的研究提示,CYP2B6 785A>G 位点的等位基因 G 会增加 AML 的患病风险。本研

究的结果与上述研究相似。

CYP2B6 516G>T 是第 4 外显子的单核苷酸被替换,进而导致在第 172 位的氨基酸(谷氨酰胺)发生组氨酸替换,从而使 CYP2B6 活性显著降低,并通过异常剪接影响代谢活性,导致正常 mRNA 转录物的水平降低,因此降低了功能性蛋白质的水平^[23]。BERKOZ 等^[24]研究表明,CYP2B6 516G>T 在显性模型下会增加 AML 的患病风险,等位基因 T 会增加 AML 的患病风险。DARAKI 等^[25]的研究也提示,CYP2B6 516G>T 位点的等位基因 T 会增加 AML 患病风险。本研究的结果显示,CYP2B6 516G>T 位点的 T 等位基因与 AML 发病风险无关,与上述报道不一致,可能与研究的样本量较小以及研究对象的遗传背景不同有关。

综上所述,CYP2B6 785A>G 位点在显性模型下及等位基因 G 均会增加 AML 患病风险。CYP2B6 516G>T 位点在显性模型下及等位基因 T 均与 AML 风险无关。

参考文献

[1] SINGH R, CADEDDU R P, FROBEL J, et al. The non-steroidal anti-inflammatory drugs Sulindac sulfide and Diclofenac induce apoptosis and differentiation in human acute myeloid leukemia cells through an AP-1 dependent pathway[J]. Apoptosis, 2011, 16(9): 889-901.

[2] KHASAWNEH M K, ABDEL-WAHAB O. Recent discoveries in molecular characterization of acute myeloid leukemia[J]. Curr Hematol Malig Rep, 2014, 9(2): 93-99.

[3] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

- [4] POLIMANTI R, PIACENTINI S, MANFELLOTTO D, et al. Human genetic variation of CYP450 superfamily: analysis of functional diversity in worldwide populations [J]. *Pharmacogenomics*, 2012, 13(16): 1951-1960.
- [5] AYDIN S M, HATIRNAZ O, ERENDOY N, et al. Role of CYP2D6, CYP1A1, CYP2E1, GSTT1, and GSTM1 genes in the susceptibility to acute leukemias [J]. *Am J Hematol*, 2006, 81(3): 162-170.
- [6] TURPEINEN M, ZANGER U M. Cytochrome P450 2B6: function, genetics, and clinical relevance [J]. *Drug Metabol Drug Interact*, 2012, 27(4): 185-197.
- [7] ZANGER U M, KLEIN K. Pharmacogenetics of cytochrome P450 2B6 (CYP2B6): advances on polymorphisms, mechanisms, and clinical relevance [J]. *Front Genet*, 2013, 4: 24.
- [8] YUAN Z H, LIU Q, ZHANG Y, et al. CYP2B6 gene single nucleotide polymorphisms and leukemia susceptibility [J]. *Ann Hematol*, 2011, 90(3): 293-299.
- [9] MARTIGNONI M, GROOTHUIS G M, DE KANTER R. Species differences between mouse, rat, dog, monkey and human CYP-mediated drug metabolism, inhibition and induction [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2006, 2(6): 875-894.
- [10] ISIN E M, GUENGERICH F P. Complex reactions catalyzed by cytochrome P450 enzymes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1770(3): 314-329.
- [11] MIKSYS S, LERMAN C, SHIELDS P G, et al. Smoking, alcoholism and genetic polymorphisms alter CYP2B6 levels in human brain [J]. *Neuropharmacology*, 2003, 45(1): 122-132.
- [12] KHARASCH E D, REGINA K J, BLOOD J, et al. Methadone pharmacogenetics: CYP2B6 polymorphisms determine plasma concentrations, clearance, and metabolism [J]. *Anesthesiology*, 2015, 123(5): 1142-1153.
- [13] BELSON M, KINGSLEY B, HOLMES A. Risk factors for acute leukemia in children: a review [J]. *Environ Health Perspect*, 2007, 115(1): 138-145.
- [14] EYADA TK, EL GHONEMY E G, EL GHOROURY E A, et al. Study of genetic polymorphism of xenobiotic enzymes in acute leukemia [J]. *Blood Coagul Fibrinolysis*, 2007, 18(5): 489-495.
- [15] HELSBY N A, YONG M, VAN KAN M, et al. The importance of both CYP2C19 and CYP2B6 germline variations in cyclophosphamide pharmacokinetics and clinical outcomes [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2019, 85(9): 1925-1934.
- [16] MING Z, YONGQIANG Z, ZIJIN Z, et al. Severe and prolonged cyclophosphamide-induced hepatotoxicity in a breast cancer patient carrying a CYP2B6 * 7 variant [J]. *Pharmacogenomics*, 2019, 20(16): 1119-1124.
- [17] VICTORRI V C, VERSTUYFT C, BOUQUIE R, et al. Relevance of CYP2B6 and CYP2D6 genotypes to methadone pharmacokinetics and response in the OPAL study [J]. *Br J Clin Pharmacol*, 2019, 85(7): 1538-1543.
- [18] ALGHAMDI W A, ANTWI S, ENIMIL A, et al. Population pharmacokinetics of efavirenz in HIV and TB/HIV coinfecting children: the significance of genotype-guided dosing [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2019, 74(9): 2698-2706.
- [19] LANG T, KLEIN K, FISCHER J, et al. Extensive genetic polymorphism in the human CYP2B6 gene with impact on expression and function in human liver [J]. *Pharmacogenetics*, 2001, 11(5): 399-415.
- [20] JUSTENHOVEN C, PENTIMALLI D, RABSTEIN S, et al. CYP2B6 * 6 is associated with increased breast cancer risk [J]. *Int J Cancer*, 2014, 134(2): 426-430.
- [21] KUROSAKI T, SUZUKI M, ENOMOTO Y, et al. Polymorphism of cytochrome P450 2B6 and prostate cancer risk: a significant association in a Japanese population [J]. *Int J Urol*, 2009, 16(4): 364-368.
- [22] DARAKI A, KAKOSAIU K, ZACHAKI S, et al. Polymorphisms and haplotypes of the CYP2B6 detoxification gene in the predisposition of acute myeloid leukemia (AML) and induction of its cytogenetic abnormalities [J]. *Cancer Genet*, 2016, 209(11): 525-533.
- [23] XU C, OGBURN ET, GUO Y, et al. Effects of the CYP2B6 * 6 allele on catalytic properties and inhibition of CYP2B6 in vitro; implication for the mechanism of reduced efavirenz metabolism and other CYP2B6 substrates in vivo [J]. *Drug Metab Dispos*, 2012, 40(4): 717-725.
- [24] BERKOZ M, YALIN S. Association of CYP2B6 G15631T polymorphism with acute leukemia susceptibility [J]. *Leuk Res*, 2009, 33(7): 919-923.
- [25] DARAKI A, ZACHAKI S, KOROMILA T, et al. The G(5)(1)(6)T CYP2B6 germline polymorphism affects the risk of acute myeloid leukemia and is associated with specific chromosomal abnormalities [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e88879.

(收稿日期: 2020-04-19 修回日期: 2020-09-27)