论著

文章编号:1000-5404(2005)10-1036-03

雄激素受体基因多态性与前列腺癌关系的研究

刘元丰,江 军,王洛夫,王亚林,张 尧 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所泌尿外科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨前列腺癌与雄激素受体基因多态性(ARStuI)的关系。**方法** 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)分析的方法,对81例前列腺癌患者及90例同龄老年非前列腺癌男性ARStuI进行检测,分析ARStuI与前列腺癌之间的关系。**结果** 前列腺癌患者和对照组中S1等位基因所占比例分别为12.3%和3.3%,差别具有显著意义($P=0.040$);S1基因型与进展期(C、D期)肿瘤、高分级肿瘤(Gleason评分≥7)及高危险性肿瘤(进展期肿瘤或高分级肿瘤)均无显著性差异;S1在存在骨转移的患者中的比例为28.0%,而在无骨转移的患者中则为5.4%,其统计学差异具有显著意义($P=0.008$)。**结论** 前列腺癌的易感性可能与ARStuI有关。

关键词:前列腺癌;雄激素受体基因;ARStuI;多态性
中图法分类号:R392.11; R394.2; R737.25 **文献标识码**:A

Association of genetic polymorphisms in the androgen receptor ARStuI with prostate cancer

LIU Yuan-feng, JIANG Jun, WANG Luo-fu, WANG Ya-lin, ZHANG Yao (Department of Urology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To explore the association of the genetic polymorphisms in the androgen receptor ARStuI with prostate cancer (PC). **Methods** The genetic polymorphisms in the androgen receptor ARStuI were measured in 81 cases with PC and 90 matched controls by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), and their associations with PC were determined. **Results** The frequency of S1 genotype was 12.3% in the cases with prostate cancer, 3.3% in the matched controls ($P=0.040$). No significant associations were found between S1 allele and disease status, Gleason grade or disease progression. S1allele was more frequent amongs patients without the presence of bone metastsis (28.0% *vs* 5.4%, $P=0.008$). **Conclusion** The susceptivity to prostate cancer may be related to the genetic polymorphisms in the androgen receptor ARStuI.

Key words: prostate cancer; androgen receptor gene; ARStuI; polymorphism

前列腺是雄激素依赖性器官,雄激素受体(androgen receptor, AR)处于雄激素作用途径的关键环节,在前列腺癌(prostate cancer, Pca)的发生、发展中起着重要作用。AR基因与Pca易感性的研究一直是近年来研究的热点,有研究[1]表明,AR基因中存在着一种单核苷酸多态性(ARStuI),该多态性在前列腺癌的的发生、发展过程中可能具有重要作用,但目前国外对ARStuI与前列腺癌关系的研究并不深入,暂时少见中国人群的相关报道。为此,我们与重庆地区各大医院的泌尿外科合作,开展了对中国汉族老年男性的ARStuI的研究,探讨ARStuI与前列腺癌的患病风险以及肿瘤的生物学特性的关系。

1 材料与方法

1.1 临床资料

本组81例患者来自重庆地区各大医院泌尿外科(2000-2004年),所有患者均经组织学确诊为前列腺癌,其中前列腺癌患者Ⅰ~Ⅱ期46例,Ⅲ~Ⅳ期35例,Gleason评分7分以上37例,7分以下44例;对照组90例来自我院近1年来的非前列腺癌患者(前列腺增生或慢性前列腺炎)。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取 经患者同意抽取4 ml静脉血,采用小剂量血液基因组DNA提取试剂盒(华舜公司)提取血液基因组DNA, -20 ℃保存。

1.2.2 目的基因的PCR扩增 参照文献[1]合成引物5′-

作者简介:刘元丰(1976-),男,重庆市长寿区人,硕士研究生,主要从事前列腺癌基因治疗方面的研究。电话:(023)61896329
通讯作者:江 军,电话:(023)68757364
收稿日期:2004-12-29;修回日期:2005-04-09

CACAGGCTACCTGGTCCTGG-3′ 和 5′-CTGCCTTACACAACTCCTTG-GC-3′。反应体系（采用宝生物公司的 Ex *Taq* 酶）：4 μl dNTP（各 2.5 mmol/L），引物 1、2 各 1 μl（20 μmol/L），0.25 μl *Taq* 酶（5 U/ul），4 μl 反应缓冲剂（Mg^{2+} Free），1～5 μl 模板 DNA（0.1～1 μg），加水补足反应体积 50 μl。PCR 扩增参数为 95 ℃预变性 4 min；35 个循环：94 ℃变性 45 s，55 ℃复性 45 s，72 ℃延伸 60 s；72 ℃ 5 min。PCR 产物于 4 ℃保存。

1.2.3　PCR 产物纯化　　PCR 产物在 2% 琼脂糖凝胶上电泳，证实有目的基因片断（416 bp）后，对产物进行纯化（试剂盒来自 OMEGA Bio-tek 公司，按试剂盒说明操作）。

1.2.4　限制性内切酶（*Stu* Ⅰ）酶切鉴定　　酶切体系为 *Stu* Ⅰ 1 μl、DNA 小于 1 μg、10×M 反应缓冲液 2 μl、加水补足 20 μl；37 ℃反应 3 h；酶切产物以 3% 琼脂糖凝胶电泳鉴定。

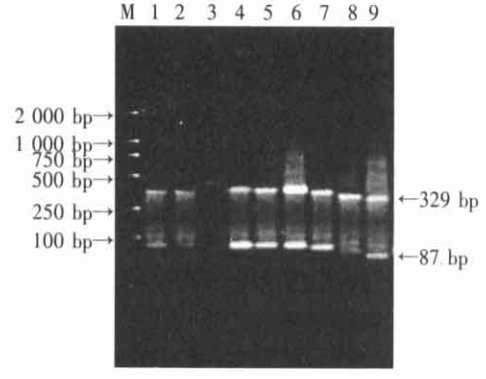
1.3　统计学处理

运用 SPSS 11.0 软件分析，采用 χ^2 检验。

2　结果

2.1　PCR 产物的酶切结果

S1 基因型即 AR 基因的 cDNA 中不存在限制性内切酶 *Stu*Ⅰ的酶切位点，电泳结果为在 416 bp 处见一条带（样品 3）；S2 型则相反，电泳结果为在 329 及 87 bp 处各见一条带（其余样品）（图 1）。



M：DL2000 marker；7：S1；1,2,3,4,5,6,8,9：S2

图 1　PCR-RFLP 检测 ARStuI（3% 琼脂糖凝胶）

Fig 1　ARStuI polymophism detected by PCR-PFLP（3% agarose gel）

2.2　前列腺癌的易感性与 ARStuI 的关系

本实验中 S1 基因型在前列腺癌患者组中的分布频率为 12.3%（10/81），对照组则为 3.0%（3/87），两者相比较，统计学差异具有显著意义（$P=0.040$），相对危险度（relative risk，RR）为 4.1，95% 可信区间（confidence interval，CI）为 1.083～15.409。

与临床及病理检查结果相联系，我们分析了与前列腺癌的进展的相关参数与 ARStuI 的关系，结果如表 1 所示：S1 基因型与进展期（C、D 期）肿瘤、高分级肿瘤（Gleason 评分≥7）及高危险性肿瘤（进展期肿瘤或高分级肿瘤）均无显著性差异，但 S1 基因型在存在骨转移的患者的分布频率远远高于在无骨转移的患者，统计学差异具有显著意义（$P=0.008$），RR 为 6.9，95% CI 为 1.6～29.4。

表 1　前列腺癌的 4 个参数与 ARStuI 的关系

Tab 1　Association of ARStuI polymorphism with four outcome parameters among patients with prostate cancer

	Total	S2, n(%)	S1, n(%)	P	RR	95% CI
Gleason grade						
High grade (≥7)	37	30(81.1)	7 (18.9)	0.173	3.2	0.8－13.4
Low grade (<7)	44	41(93.2)	3 (6.8)			
Disease status						
Advanced (C-D)	35	28(80.0)	7(20.0)	0.092	3.6	0.9－13.4
Localized (A-B)	46	43(93.5)	3(6.5)			
Bone metastasis						
Presence	25	18(72.0)	7(28.0)	0.008	6.9	1.6－29.4
Absence	56	53(94.6)	3(5.4)			
Disease progression						
High risk	60	51(85.0)	9(15.0)	0.440	3.5	0.4－29.7
Low risk	21	20(95.2)	1(4.8)			

3　讨论

肿瘤的发生是在个体遗传素质的基础上，尤其是在个体对肿瘤的遗传易感性基础上，致癌因子引起细胞遗传物质结构或功能异常的结果。雄激素受体（androgen receptor，AR）是前列腺上皮细胞生长、分化及恶性转化等信号传递系统的交叉点，与前列腺癌（prostate cancer，Pca）的发生、发展有关的信息均要通过 AR 往下游或相互间传递，其基因多态性就对该肿瘤的遗传易感性产生重要影响。

AR 基因定位于 X 染色体的 q11-12，其中第一外显子的可变性大，编码 AR 的 N 端转录激活区（transcriptional activation domain，TAD），已经发现的基因多态性大多位于该区域，如（CAG）n 和（GGC）n 重复序列多态性，这两种多态性可能是通过影响 AR 的活性、刺激前列腺上皮细胞的过度增生进而促进前列腺癌的发生[3,4]。近年来，AR 基因的另一种多态性 ARStuI 正日益受到重视，该多态性是一种单核苷酸多态性，定位于第一外显子的第 211 密码子（G1733A），S1 基因型即 AR 基因的 cDNA 中不存在限制性内切酶 StuI 的酶切位点，S2 型则相反。该基因多态性与前列腺癌的关系最早由 Lu 等[1]报道，研究中发现，S1 在美国黑人中的比例为 13%（S2 为 87%），该基因多态性与（CAG）n 和（GGC）n 连锁不平衡[5,6]；在 65 岁以下的美国黑人中，S1 患前列腺癌的风险较 S2 高 3 倍左右[7,8]，且与高分化肿瘤（Gleason 评分≥7）具有显著相关性，而与进展期肿瘤无关（C、D 期），同时发生转移的年龄较 S2 晚[2]。由上述报道可以看出，ARStuI 在前列腺癌的发生、发展过程中可能具有重要作用，但目前对该基因多态性的研究还很少，且研究人群也仅限于美国黑人，因

此对 ARStuI 在前列腺癌的关系还需作进一步的研究。

我们的研究结果显示，S1 在我国重庆地区汉族前列腺癌患者中的比例为 12.3%（S2 所占比例为 87.7%），低于美国黑人的比例[2]，也许这是我国汉族人群前列腺癌发病率低于美国黑人的原因之一；S1 在对照组中的比例则为 3.3%，与病例组相比较，统计学差异具有显著意义（$P=0.040$），其患前列腺癌的危险性较 S2 高 4 倍左右（$RR=4.1$），说明 S1 基因型与前列腺癌的危险性具有显著相关性。为了了解 ARStuI 在前列腺癌进展过程中的作用，我们还对 S1 基因型与高分级肿瘤（Gleason 评分 $\geqslant 7$）、进展期肿瘤（C 期或 D 期）、高危险性肿瘤（高分级肿瘤或进展期肿瘤）以及骨转移的相关性也进行了研究，结果显示，S1 基因型与前三者之间均无显著相关性，这点与文献报道不一致，原因还不清楚，也许是 S1 基因型与这两者之间的相关性具有种族差异性所致，而 S1 基因型在存在骨转移的患者的分布频率无无骨转移的患者中差异则具有显著的统计学意义（$P=0.008$），其发生骨转移的危险性较 S2 高 7 倍左右（$RR=6.9$）。

本实验的结果表明，S1 基因型与前列腺癌的危险性具有显著相关性，可以作为前列腺癌高危人群的标志之一，在临床中用于监测高危人群，这对于前列腺癌的早期发现、早期诊断、早期治疗，进而提高该肿瘤的疗效具有一定价值。

参考文献：

[1] Lu J, Danielsen M. A Stu I polymorphism in the human androgen receptor gene(AR)[J]. Clin Genet, 1996, 49(6): 323-324.

[2] Medeiros R, Vasconcelos A, Costa S, *et al*. Steroid hormone genotypes ARStuI and ER325 are linked to the progression of human prostate cancer [J]. Cancer Genet and Cytogenet, 2003, 141(2): 91-96.

[3] Strom S S, Gu Y, Zhang H, *et al*. Androgen receptor polymorphisms and risk of biochemical failure among prostatectomy patients[J]. Prostate, 2004, 60(4): 343-351.

[4] Ding D, Xu L, Menon M, *et al*. Effect of GGC (glycine) repeat length polymorphism in the human androgen receptor on androgen action[J]. Prostate, 2004, 62(2): 133-139.

[5] Irvine R A, Yu M C, Ross R, *et al*. The CAG and GGC microsatellites of the androgen receptor gene are in linkage disequilibrium in men with prostate cancer[J]. Cancer Res, 1995, 55(9): 1937-1940.

[6] Voigt K D, Bartsch W. Intratissular androgens in benign prostatic hyperplasia and prostatic cancer[J]. J Steroid Biochem, 1986, 25(5B): 749-757.

[7] Ross R K, Pike M C, Coetzee G A, *et al*. Androgen metabolism and prostate cancer: establishing a model of genetic susceptibility[J]. Cancer Res, 1998, 58(20): 4497-4504.

[8] Ribeiro M L, Santos A, Carvalho-Salles A B, *et al*. Allelic frequencies of six polymorphic markers for risk of prostate cancer[J]. Braz J Med Biol Res, 2002, 35(2): 205-213.

（编辑 张大春）

（上接 1035 页）

75 例老年口腔疾病患者就诊时间，早期就诊率为 32%，晚期为 68%，认知水平、畏惧程度、治疗及恢复满意程度（均以第 2 列指标为例），分别为 43%、31%、32%，由此看出大部分老年人对口腔疾病不重视，认知水平普遍较差，部分患者对治疗有畏惧感，主要惧怕牙钻、拔牙钳等器械，仅有 1/3 的患者在治疗及后期保健中能与医生配合达到满意的效果。

3 讨论

绝大多数患者认知水平较差，在晚期患者中表现特别明显，典型的错误认识有：自己年龄大了，牙齿自然是会变差，因此牙坏了也不用太在意。早期患者对口腔治疗畏惧心理不明显，而且治疗后多数能够积极配合且效果较好，但晚期患者普遍不太愿意到医院就诊，且治疗后需复诊的多数不能配合。

根据老年患者在诊疗过程中不同的心理特点[2]，将其分为 3 类：自尊心理增强，顾虑和害怕，缺乏相关知识，对专科治疗不重视。

自尊心理增强的心理：老年人自尊心强，特别是在知识层次较高的大学里，有很多教授、老干部，在过去的教学科研工作中都很有成就，长期习惯于大们敬重、服从他们。患病后更使得自尊心理增强，认为理应得到他人的关怀和照顾。对医院的规章制度难以适应，对医务人员的言行极为敏感，尤其是对年轻的医务人员持怀疑态度，稍有不慎，就可引起老年人的不满，甚至拒绝治疗。此时应耐心地讲清有关治疗与修复的目的和方法，用言行来取得老年患者的信任和配合。

顾虑、害怕的心理：口腔医务人员要细心体会老年人的特殊心理与耐受性差的特点，耐心地为其解释各种检查治疗的必要性、可靠性、安全性，使他们消除顾虑和害怕的心理取得合作。

缺乏相关知识、对专科治疗不重视：很多老年患者对口腔疾病知识的认知不足，既便是在高校具有高学历的教师也存有欠缺。其认为人已经老了，有没有牙没关系。事实上很多老年患者因为牙缺失，常伴有胃肠道疾病，消化吸收不好，营养不良导致身体虚弱。再次，治疗老年口腔疾病患者时，应针对其自尊心强，顾虑和害怕的心理特点，采用适当的治疗措施。

关键词：老年口腔疾病；心理

中图法分类号：R787　　文献标识码：B

参考文献：

[1] 章和平，李　萍．老年口腔疾病现状调查与预防展望[J]．现代口腔医学杂志，1995，9(2)：102-104.

[2] 杨燕萍．老年患者的心理分析及护理对策[J]．卫生职业教育，2004，22(22)：147-148.

（编辑 刘洪斌）