文章编号:1000-5404(2005)10-1039-03

论著

GSTM1、GSTT1 基因多态性与中国人前列腺癌风险关系

王亚林,江 军,王洛夫,刘元丰 (第三军医大学大坪医院野战外科研究所泌尿外科,重庆 400042)

提 要:目的 检测谷胱甘肽巯基转移酶 GSTM1、GSTT1 基因多态性与中国人前列腺癌风险关系。**方法** 收集重庆地区前列腺癌血标本 81 例,50 岁以上对照组血标本 90 例,从外周血提取 DNA,采用聚合酶链反应(PCR)分析 GSTM1 及 GSTT1 无效基因型分布频率。**结果** GSTM1 无效基因型在前列腺癌和对照组分布频率分别为 54.3%、44.4%,两组间无显著统计学差异($P = 0.197$, $OR = 1.486$, 95% CI 为 0.813 ~ 2.718);GSTT1 无效基因型在前列腺癌和对照组中分布频率分别为 53.1%和 53.3%,两组间无显著统计学差异($P = 0.974$, $OR = 0.99$, 95% CI 为 0.543 ~ 1.807);GSTM1 无效基因型合并 GSTT1 无效基因型在两组中的分布频率为 30%。13.3%,两组间有显著差异($P = 0.034$, $OR = 2.314$, 95% CI 为 1.054 ~ 5.076)。**结论** GSTM1 无效基因型合并 GSTT1 无效基因型与重庆地区前列腺癌发病明显关联。GSTM1、GSTT1 无效基因型与前列腺癌发病风险间无明显相关。GSTM1、GSTT1 基因多态性与前列腺癌分期、分级无关。

关键词: 谷胱甘肽巯基转移酶;GSTM1;GSTT1;多态性;前列腺癌

中图法分类号: R345.5; R394.2; R737.25 **文献标识码:** A

Polymorphisms of glutathione-S-transferase genes GSTM1 and GSTT1 and prostate cancer risk in Chinese population

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

Abstract: Objective To observe the relationship between the glutathione S-transferase genes (GSTM1 and GSTT1) and the risk of prostate cancer (PCa) in Chinese population. **Methods** Blood samples from 81 prostate cancer patients and 90 controls with age above 50 in Chongqing were collected. DNA was extracted from each blood sample, the frequencies of GSTM1 and GSTT1 genotypes were analyzed using polymerase chain reaction (PCR). **Results** The frequencies of GSTM1 null in PCa was 54.3%, 44.4% in controls, suggesting no significant difference between them ($P = 0.197$, $OR = 1.486$, 95% $CI = 0.813 - 2.718$). The frequencies of GSTT1 null in PCa was 54.3%, 44.4% in controls, suggesting no significant difference between them ($P = 0.974$, $OR = 0.99$, 95% $CI = 0.543 - 1.807$). The combination of GSTM1 null with GSTT1 null gene type was significantly less in PCa than that of the controls ($P = 0.034$, $OR = 2.314$, 95% $CI = 1.054 - 5.076$). **Conclusion** Neither the GSTM1 null genotype nor the GSTT1 null genotype was associated with prostate-cancer risk, but the combination of them both had significant relationship with prostate cancer risk. No statistically significant associations were found between polymorphism of GSTM1 or GSTT1 with disease status and Gleason grade of PCa.

Key words: glutathione-S-transferase; GSTM1; GSTT1; polymorphism; prostate cancer

谷胱甘肽巯基转移酶(Glutathione S-transferases, GSTs)是体内生物转化最重要的Ⅱ相代谢酶之一,是细胞抗损伤、抗癌变的主要解毒系统。GSTM1、GSTT1 基因分别编码 GSTμ、GSTθ 两亚型,且具有基因多态性,其无效基因型,即缺失基因型(GSTM1 null 及 GSTT1 null)可引起相应的酶表达缺失或活性降低,导致解毒功能的改变,从而增加特定肿瘤发病率。GSTM1、GSTT1 基因多态性与多种肿瘤风险相关,国外有有关于 GSTM1、GSTT1 无效基因型与前列腺癌风险的研究报道,但结果因地域、种族差异并不相同。我们检测 81 例前列腺癌、90 例对照组 GSTM1、GSTT1 基因型分布,并探讨其与中国人前列腺癌发病风险的关系。

作者简介:王亚林(1976-),男,天津市宝坻县人,硕士研究生,医师,主要从事前列腺基因治疗方面的研究。电话:(023)68719487

通讯作者:江 军,电话:(023)68757364

收稿日期:2005-01-10;修回日期:2005-02-15

1 材料与方法

1.1 材料

收集重庆地区前列腺癌患者外周血液标本及临床资料81例,50岁以上非前列腺癌男性外周血标本及临床资料90例;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。小剂量血液DNA提取试剂盒为华舜公司产品,*Taq*™、引物均购自大连宝生物公司。

1.2 方法

1.2.1 DNA提取 取前列腺癌及非前列腺癌两组血标本各1 ml,采用小剂量血液DNA提取试剂盒分别提取DNA,-20 ℃保存(按试剂盒说明操作)。

1.2.2 引物选择及PCR扩增 GSTM1:5′-CTGCCCTACTTG-ATTGATGGG-3′及5′-CTGGATTGTAGCAGATCATGC-3′,GSTT1:5′-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC-3′及5′-TCACCGGATCATGGCCA-GCA-3′。内对照采用β-珠蛋白片段:5′- GAAGAGCCAAGGA-CAGGTAC-3′和5′-CAACTTCATCCACGTTCACC-3′。反应体系为50 μl。包括*Taq*™ 1.25 U,模板DNA 1 μg,10×缓冲液5 μl,2.5 mmol/L dNTPs 6 μl,25 mmol/L $MgCl_2$ 4 μl,10 mmol/L引物各1 μl(以上试剂均为TaKaRa公司产品)。PCR扩增条件均为:94 ℃预变性5 min;94 ℃变性45 s,62 ℃退火45 s,72 ℃延伸45 s,循环33次;最后72 ℃延伸5 min。

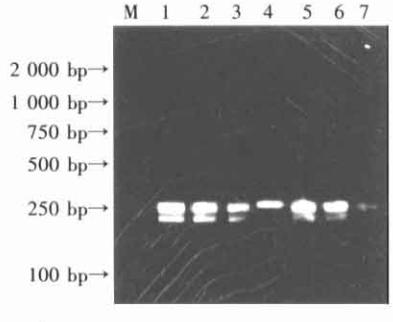
1.2.3 电泳、分析PCR产物 经2%琼脂糖凝胶电泳分离,电压为4 V/cm,根据电泳结果判断基因类型。

1.3 统计学处理

应用SPSS 10.0统计软件包,采用χ^2检验分析各基因型频率分布差异,并结合病检资料分析GSTM1、GSTT1基因多态性与前列腺癌风险相关性及与分期、分级的关系。

2 结果

GSTM1、GSTT1基因多态性均表现为无效基因的存在,经PCR扩增、电泳后,无效基因(null)不被扩增,电泳中无条带。阴性对照电泳为268 bp条带,GSTM1(a/b)为215 bp,GSTT1野生型为480 bp(图1,2)。

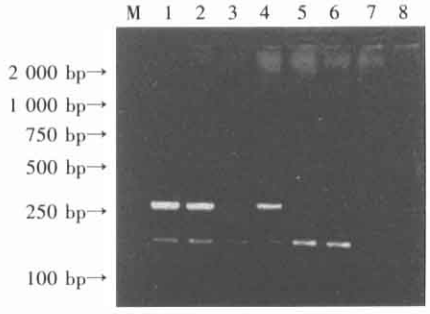


M: DL2000 marker; 1,2,3,5,6,7: GSTM1(a/b); 4: GSTM1(null)

图1 PCR检测GSTM1基因型(2%琼脂凝胶)

Fig 1 GSTM1 genotype detected by PCR (2% agarose gel)

本实验中GSTM1(null)在前列腺癌患者中分布频率为54.3%,非前列腺癌组中为44.4%;经χ^2检验,GSTM1无效基因型在前列腺癌及非前列腺癌中分布频率无明显差异($P>0.05$,$OR=1.486$ 95% CI为0.813~2.718),即:GSTM1基因多态性与前列腺癌发病风险无明显相关。GSTT1(null)基因分布频率在前列腺癌组中为53.1%,非前列腺癌组中为53.3%。GSTT1无效基因型在前列腺癌及非前列腺癌中分布频率无明显差异($P>0.05$,$OR=0.99$,95% CI为0.543~1.807),即:GSTT1基因多态性与前列腺癌发病风险无明显关联。值得注意的是GSTM1、GSTT1均为无效基因型的高风险基因在前列腺及对照组中分布有显著差异。即其基因型与癌发病风险显著关联($P<0.05$,$OR=2.314$,95% CI为1.054~5.076)。



M: DL2000 marker; 1,2,4: GSTT1 (wild type); 3,5,6,7,8: GSTT1 (null)

图2 PCR检测GSTT1基因型(2%琼脂凝胶)

Fig 2 GSTT1 genotype detected by PCR

联系病理检验结果,分析GSTM1、GSTT1缺失基因型与肿瘤细胞分期、分级关系。由表1可见GSTM1、GSTT1缺失基因型均与细胞分期、分级无明显关联。

表1 各基因型与前列腺癌分期、分级关系

Tab 1 Associations of each gene type with disease status and Gleason grade of PCa

	Gleason grade		P	OR	Disease status		P	OR
	≥7(37)	<7(44)			Ⅰ-Ⅱ(46)	Ⅲ-Ⅳ(35)		
GSTM1(a/b)	18	19			21	16		
GSTM1(null)	19	25	0.623	0.802	27	17	0.674	1.21
GSTT1(wild type)	17	21			24	14		
GSTT1(null)	20	23	0.873	1.704	27	17	0.867	0.926
GSTM1/T1 (null)	9	12	0.312	0.589	13	8	0.582	1.33

GSTM1/T1 (null) represents the high risk genotype with both GSTM1 (null) and GSTT1 (null)

3 讨论

致癌因子在某种遗传素质下,通过体内代谢而活化或失活,而体内代谢酶系统的差异,是直接影响癌易感性的基础之一。GST作为具有强有力催化效应的Ⅱ相代谢酶,可催化多种致癌化合物(或其代谢中间体)的亲电子中心与还原型谷胱甘肽(GSH)相轭合,促进其代谢、分解,从而阻断其致癌作用,是细胞抗损伤、抗癌变的主要解毒系统。其基因多态性的存在常引起个体对肿瘤的易患性不同。

GSTM1 有 3 个等位基因定位于染色体 1p13.3，GSTM1null（缺失）、GSTM1a 和 GSTM1b；GSTM1a 和 b 的区别是一个碱基对的替换，没有证据表明其功能上有差别，GSTM1 和 GST-μ 显型具有 94% 以上的一致性。GSTT1 定位于染色体 22q11.2，GSTT1null 基因型可致表达缺失，GSTT1 基因型和显型一致性超过 95%。GSTM1、GSTT1 分布频率具有明显的种族差异，Cotton 等[1]统计：GSTM1 无效基因型在非洲、亚洲、欧洲人群分布频率分别为：23% ~ 48%、33% ~ 63% 及 39% ~ 62%；而 GSTT1 无效基因型在非洲、亚洲、欧洲人群分布频率分别为 15% ~ 26%、16% ~ 64% 及 10% ~ 21%。国内曾有研究检测 GSTM1、GSTT1 无效基因型在普通人群中的分布频率，结果均在 39% ~ 49% 左右，且未发现苗族、土家族与汉族间存在显著差异[2]。

GSTM1、GSTT1 无效基因型与多种肿瘤风险相关联。已有研究表明 GSTM1 无效基因型与肺、膀胱、乳腺、结肠癌的高风险有关，而 GSTT1 无效基因与直、结肠癌和骨髓增生异常综合征的易患率升高有关。Kidd 等[3]对芬兰 206 例前列腺癌及 194 例非前列腺癌 GSTM1、GSTT1 分布频率进行研究，发现 GSTM1 无效基因型与前列腺癌呈反相关，GSTT1 无效基因型与前列腺癌风险无相关性。Kote[4]、Beer[5]、Nakazato 等[6]分别通过对高加索人、美国、日本人的研究未发现 GSTM1、GSTT1 基因缺失与前列腺癌具有相关性，Medeiros 等[7]也报道了欧洲南部地区 GSTM1，GSTT1 无效基因与前列腺癌风险无明显关联，国内少有相关文献报道。

我们的实验结果表明 GSTM1、GSTT1 无效基因型与我国重庆地区前列腺癌发病率无明显关联，但是与国外研究不同，前列腺癌患者 GSTM1 无效基因分布频率相对于对照组呈增高倾向 $OR = 1.565$（95% CI 为 0.554 ~ 4.42），且 GSTM1（null）合并 GSTT1（null）高风险基因与前列腺癌发病风险呈现正相关（$P < 0.05$，$OR = 0.2.314$，95% CI 为 1.054 ~ 5.076）。另外 GSTM1（null）、GSTT1（null）、GSTM1（null）合并 GSTT1（null）高风险基因分布频率均与前列腺癌分期、分级无明显相关。分析原因，考虑为 GST 不同亚型间代谢的底物范围交叉，相互之间具有补偿作用，GSTM1（null）合并 GSTT1（null）高风险基因型不能被其它 GST 亚型完全补偿，易患性增高。GST 不同亚型的底物选择范围及相互间的催化补偿作用目前还不清楚，需进一步研究探讨，此问题的明确将对前列腺癌的预防和基因治疗起重大的推动作用。

参考文献：

[1] Cotton S C, Sharp L, Little J, *et al*. Brockton N Glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer: a HuGE review[J]. Am J Epidemiol, 2000, 151(1): 7 - 32.

[2] 邬洪梁，陈迈群，周四保，等. 湖南土家族、苗族人群 $GstM_1$ 基因多态性研究[J]. 湖南医学，2001，18(1)：17 - 19.

[3] Kidd L C, Woodson K, Taylor P R, *et al*. Polymorphisms in glutathione-S-transferase genes (GST-M1, GST-T1 and GST-P1) and susceptibility to prostate cancer among male smokers of the ATBC cancer prevention study [J]. Eur J Cancer Prev, 2003, 12(4): 317 - 320.

[4] Kote Jarai Z, Easton D, Edwards S M, *et al*. Relationship between glutathione S-transferase M1, P1 and T1 polymorphisms and early onset prostate cancer[J]. Pharmacogenetics, 2001, 11(4): 325 - 330.

[5] Beer T M, Evans A J, Hough K M, *et al*. Polymorphisms of GSTP1 and related genes and prostate cancer risk[J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2002, 5(1): 22 - 27.

[6] Nakazato H, Suzuki K, Matsui H, *et al*. Association of genetic polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (GSTM1, GSTT1 and GSTP1) with familial prostate cancer risk in a Japanese population[J]. Anticancer Res, 2003, 23(3C): 2897 - 2902.

[7] Medeiros R, Vasconcelos A, Costa S, *et al*. Metabolic susceptibility genes and prostate cancer risk in a southern European population: the role of glutathione S-transferases GSTM1, GSTM3, and GSTT1 genetic polymorphisms [J]. Prostate, 2004, 58(4): 414 - 420.

（编辑　薛国文）

参考文献类型及标识

根据 GB 3469 规定，以单字母方式标识以下各种参考文献类型：

参考文献类型	专著	论文集	报纸文章	期刊文章	学位论文	报告	标准	专利
文献类型标识	M	C	N	J	D	R	S	P

对于专著，论文集中的析出文献，其文献类型标识建议采用单字母“A”；对于其他未说明的文献类型，建议采用单字母“Z”。

对于数据库（database）、计算机程序（computer program）及电子公告（electronic bulletin board）等电子文献类型的参考文献，建议以下列双字母作为标识：

电子参考文献类型	数据库	计算机程序	电子公告
电子文献类型标识	DB	CP	EB

本刊编辑部