文章编号:1000-5404(2009)09-0847-03

论著

贲门癌家族史阳性患者比较基因组杂交变化特征

常志伟[1],王立东[1],秦艳茹[1],李苹娟[1],郭 涛[1],李吉林[2],常志军[3],范宗民[1],何 欣[1],王 苒[1],宋 昕[1] ([1]河南省食管癌重点开放实验室,郑州大学第一附属医院,郑州大学基础医学院,郑州 450052;[2]林州市姚村食管癌医院病理科,河南 林州 456592;[3]林州市中心医院胸外科,河南 林州 450092)

摘 要:目的 探讨河南食管贲门癌高发区贲门癌肿瘤家族史阳性/阴性患者基因组变化特征。**方法** 应用比较基因组杂交技术分析 14 例贲门癌家族史阳性和 28 例贲门癌肿瘤家族史阴性患者染色体基因组变化。**结果** 贲门癌家族史阳性患者 DNA 拷贝数扩增高于阴性(>20%)者的染色体部位为 20p(FH+ 50% 与 FH- 21%),5p(FH+ 50% 与 FH- 18%),6q(FH+ 43% 与 FH- 18%),16q(FH+ 36% 与 FH- 14%);贲门癌家族史阳性患者 DNA 拷贝数丢失高于阴性(>20%)者为 4q(FH+ 43% 与 FH- 14%)($P>0.05$)。1q、3q、6q/p、7p、8q、13q/p、20q/p 染色体部位 DNA 拷贝数扩增和 1p、17q/p、19p 染色体部位 DNA 拷贝数丢失在贲门癌家族史阳性和阴性患者中均超过 20%($P>0.05$)。**结论** 20p、5p、6q、16q、4q、17q、18q、9p、22q 可能存在与贲门癌遗传高易感性相关的关键基因;而 1q/p、3q、6q/p、7p、8q、13q/p、20q/p、17q/p、19p 可能存在与环境因素相关的贲门癌关键基因。

关键词: 贲门癌;比较基因组杂交;遗传易感性;家族史
中图法分类号: R394-33; R394.5; R735.2 **文献标识码:** A

Characteristics of variation in comparative genomic hybridization from gastric cardia adenocarcinoma patients with family history

CHANG Zhi-wei[1], WANG Li-dong[1], QIN Yan-ru[1], LI Ping-juan[1], GUO Tao[1], LI Ji-ling[2], CHANG Zhi-jun[3], FAN Zong-min[1], HE Xin[1], WANG Ran[1], SONG Xin[1] ([1]Henan Key Laboratory for Esophageal Cancer Research, First Affiliated Hospital, College of Basic Medicine, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052; [2]Department of Pathology, Yaocun Esophageal Cancer Hospital, Linzhou 456592, Henan Province; [3]Department of Thoracic Surgery, Linzhou Central Hospital, Linzhou 450092, Henan Province, China)

Abstract: Objective To characterize the profile of chromosomal imbalances in gastric cardia adenocarcinoma (GCA) with or without family history (GCA FH+ or GCA FH-) in Linzhou, Henan province, and to provide molecular basis to identify the related genes to GCA hereditary susceptibility. **Methods** Comparative genomic hybridization (CGH) was used to examine 14 cases with GCA FH+ and 28 cases with GCA FH-. **Results** More frequent DNA copy number gains were observed in GCA FH+ than in GCA FH-. Those with the frequency over 20% were as follows: 20p (FH+ 50% *vs* FH- 21%), 5p (FH+ 50% *vs* FH- 18%), 6q (FH+ 43% *vs* FH- 18%), 16q (FH+ 36% *vs* FH- 14%, $P>0.05$). More frequent DNA copy number losses were seen in GCA FH+ than in GCA FH-. Those >20% were as follows: 4q (FH+ 43% *vs* FH- 14%, $P>0.05$). Frequent DNA copy number gains in 1q, 3q, 6q/p, 7p, 8q, 13q/p, 20q/p and frequent DNA copy number losses in 1p, 17q/p, 19p were both frequent in GCA FH+ and GCA FH- (>20%, $P>0.05$). **Conclusion** Frequent DNA copy number gains on chromosome 20p, 5p, 6q, and 16q and losses on chromosome 15q in GCA FH+ indicate that these chromosome sites may harbor the genes related with GCA high susceptibility. The similar frequent DNA copy number gains or losses on chromosome 1q/p, 3q, 6q/p, 7p, 8q, 13q/p, 20q/p, 17q/p and 19p in GCA FH+ and GCA FH- suggest that genes located in these chromosome sites may be related with environmental risk factors in gastric cardia carcinogenesis.

Key words: gastric cardia adenocarcinoma; comparative genomic hybridization; hereditary susceptibility; family history

---

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)(2006AA02A403);国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2007CB516812);河南省食管癌重点开放实验室基金(20050227)
Supported by the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program, 2006AA02A403); the Special Fund for Prophase Research of the National Basic Research Program (973 Program, 2007CB516812) and the Foundation for Henan Key Laboratory for Esophageal Cancer Research (20050227)
作者简介: 常志伟,男,河南省林州市人,博士,主要从事食管癌和贲门癌癌变机制和防治方面的研究。E-mail: changzw110@163.com
通信作者: 王立东,电话:(0371)66658335,E-mail: ldwang@zzu.edu.cn
收稿日期: 2009-01-14;**修回日期:** 2009-02-23

与食管癌相似,贲门癌家族聚集现象也非常明显[1],提示除环境因素外,遗传因素在贲门癌的发生中也起重要作用,但目前对导致贲门癌高易感性的分子机制尚不清楚。比较基因组杂交技术(comparative genomic hybridization,CGH)可以探测恶性肿瘤的染色体基因组扩增和丢失[2],对肿瘤整个基因组的变化进行筛选,但应用CGH技术来探测贲门癌家族史阳/阴性患者染色体基因组改变特征的报道较少。本研究利用CGH技术分析河南林州市贲门癌家族史阳性和阴性患者染色体基因组改变,寻找和定位与贲门癌遗传高易感性发生相关的染色体部分,以加深对贲门癌高易感性癌变机制的了解。

1 材料与方法

1.1 研究对象

14例贲门癌家族史阳性和28例贲门癌家族史阴性患者,男性29例,女性13例,年龄37~55(56±8)岁,均为食管贲门癌高发区河南省林州中心医院2001年9月至2002年3月手术患者。术中切除的贲门癌标本迅速放入液氮中,然后储存于-80 ℃冰箱中备用。患者术前均未进行过放疗和化疗。手术切除标本病理学检查证实均为贲门腺癌。贲门癌家族史阳性(gastric cardia adenocarcinoma with family history, GCA FH+)指连续3代内发生≥2例贲门癌的家庭。贲门癌家族史阴性(gastric cardia adenocarcinoma without family history,GCA FH-)指连续3代内≤1例贲门癌同时也无其他恶性肿瘤患者[3]。

1.2 DNA抽提

常规酚/氯仿/异丙醇抽提DNA。参照组DNA来自正常胎盘(患者知情同意,并经郑州大学伦理学委员会批准)。

1.3 原发性肿瘤DNA的比较基因组杂交

比较基因组杂交的步骤参照文献[2]。主要步骤:常规外周血淋巴细胞培养,制备分裂中期淋巴细胞玻片。1 μg肿瘤组织DNA和1 μg正常参照组DNA分别用Spectrum-Green-dUTP和Spectrum Red-dUTP(Vysis,Downers Grove公司)标记。标记好的肿瘤基因组DNA探针和正常参照组探针杂交于制备好玻片上,湿盒内37 ℃孵育3 d,DAPI进行染色。

1.4 数字图像分析

应用装有Sensys相机的Zeiss Axiop Lan 2显微镜,Quip s CGH程序(Vysis,Downers Grove公司)进行图像分析,每例应用5个分裂中期象细胞产生的荧光比率进行综合分析。DNA序列拷贝数扩增和丢失的分析阈值分别为肿瘤/正常参照比率>1.25或<0.75,高拷贝数的扩增为肿瘤/正常参照比率>1.50。

1.5 统计学分析

采用SPSS 13.0统计软件,组间比较利用χ^2检验和Fisher精确概率法。

2 结果

2.1 贲门癌家族史阳性/阴性患者常见DNA拷贝数扩增和丢失部位

贲门癌家族史阳性患者发生DNA拷贝数扩增最高的部位是20p(7/14,50%)和5p(7/14,50%),以下依次为20q(6/14,43%),6q(6/14,43%),8q(5/14,36%),6p(5/14,36%),7p(5/14,36%),7q(5/14,36%),16p(5/14,36%),16q(5/14,36%),13p(4/14,29%),13q(4/14,29%)。贲门癌家族史阳性患者发生DNA拷贝数丢失最高的部位是1p(6/14,43%),4q(6/14,43%)和17p(6/14,43%),以下依次为19p(5/14,36%),17q(5/14,36%),19q(4/14,29%),4p(4/14,29%)。

贲门癌家族史阴性患者发生DNA拷贝数扩增最高的部位是8q(10/28,36%)和12q(10/28,36%),以下依次为13q(9/28,32%),3q(9/28,32%),20q(8/28,29%),6p(8/28,29%)。贲门癌家族史阴性患者发生DNA拷贝数丢失最高的部位是1p(11/28,39%)和19p(11/28,39%),以下为17p(10/28,36%)。

2.2 贲门癌家族史阳性/阴性患者DNA拷贝数扩增比较

贲门癌家族史阳性/阴性患者DNA拷贝数扩增均超过20%为1q(FH+ 21% 与 FH- 25%),3q(FH+ 21% 与 FH- 32%),6p(FH+ 43% 与 FH- 25%),6q(FH+ 43% 与 FH- 25%),7p(FH+ 36% 与 FH- 25%),8q(FH+ 36% 与 FH- 36%),13p(FH+ 29% 与 FH- 21%),13q(FH+ 29% 与 FH- 32%),20p(FH+ 50% 与 FH- 21%),20q(FH+ 43% 与 FH- 29%),但差异无统计学意义($P>0.05$)。贲门癌家族史阳性患者DNA拷贝数扩增高于阴性(>20%)者为20p(FH+ 50% 与 FH- 21%),5p(FH+ 50% 与 FH- 18%),6q(FH+ 43% 与 FH- 18%),16q(FH+ 36% 与 FH- 14%)($P>0.05$)。

2.3 贲门癌家族史阳性/阴性患者DNA拷贝数丢失比较

贲门癌家族史阳性/阴性患者DNA拷贝数丢失均超过20%者为1p(FH+ 43% 与 FH- 39%),17p(FH+ 43% 与 FH- 36%),17q(FH+ 36% 与 FH- 21%),19p(FH+ 36% 与 FH- 39%),但差异无统计学意义($P>0.05$)。贲门癌家族史阳性患者DNA拷贝数丢失高于阴性者(>20%)为4q(FH+ 43% 与 FH- 14%)($P>0.05$)。

3 讨论

本研究发现:20p、5p、6q、16q染色体部位DNA拷贝数扩增和4q染色体部位DNA拷贝数丢失在贲门癌家族史阳性患者高于贲门癌家族史阴性患者,提示这些染色体部位可能存在与贲门癌高易感性相关的关键基因。ITPA基因定位于20p,与DNA精确复制过程密切相关[4]。IRX2基因编码核苷酸交换因子,TRIO和NKD2基因参与调控发育进程,均定位于5p,异常表达可能与肿瘤发生、发展密切相关[5],AIM1基因定位于6q21,异常表达可能导致染色体异常和不稳定,与肿瘤发生可能相关[6],虽然4q染色体丢失与贲门癌高易感性相关,但还没有在4q发现明确的可能肿瘤相关基因,尚待进一步研究。这些可能的贲门癌高易感相关

基因，不同人群中表达异常，使不同易感人群对外界环境致癌因素反应不同，可能是贲门癌高发家族贲门癌高易感性发生的机制之一，进一步研究这些区域所定位的基因与贲门癌关系及在不同易感贲门癌患者中的表达情况，可能对加深了解贲门癌遗传高易感性发生机制具有重要作用。另外本研究还发现：1q、3q、6q/p、7p、8q、13q/p、20q/p 染色体部位 DNA 拷贝数扩增和 1p、17q/p、19p 染色体部位 DNA 拷贝数丢失在肿瘤家族史阳性和阴性贲门癌患者中均发生超过 20%，与以往研究基本一致[7]。定位于 20q13.2 的 CYP24 是公认的原癌基因[8]，EGFR、HGF、MET、CTSB 和 MYC 基因均位于 7、8 号染色体上，过度扩增参与贲门癌发生[9]，TP53 基因位于 17q，控制的 P53 蛋白可以调节细胞增生和恶性转化，贲门癌中存在 TP53 的失活[10]，这些异常区域所定位的基因异常表达可能与外界环境因素关系密切，可能是与环境因素相关的贲门癌关键基因，在外界致癌因素作用下发生表达改变而导致肿瘤发生。Array-CGH 技术相较 CGH 技术有更高的分辨率，但也只是精确到区域并未定位基因，而且代价昂贵。本实验室利用 CGH 技术进行粗筛，了解家族史阳性/阴性贲门癌染色体异常变化情况，为后继工作提供参考。

贲门癌的发生和演变是多因素共同作用的结果，涉及多种染色体异常的积累，与多个遗传染色体上的分子生物学改变有密切关系[11]。本研究发现贲门癌家族史阳性患者中多个染色体部位基因表达差异，进一步研究这些区域所定位的重要基因与贲门癌高易感性发生的关系，对加深贲门癌发生机制的认识有重要意义。

参考文献：

[1] Li J Y, Ershow A G, Chen Z J, *et al*. A case-control study of cancer of the esophagus and gastric cardia in Linxian[J]. Int J Cancer, 1989, 43(5): 755 - 761.

[2] 熊　玮，钱桂生，黄桂君. 原发性肺癌染色体比较基因组杂交研究[J]. 第三军医大学学报，2006，28(4)：351 - 353.

[3] 常志伟，王立东，王宁博，等. 家族史阳性和阴性食管癌患者癌组织中 FHIT 和 BRCA2 及 MLH1 的表达变化[J]. 中华肿瘤防治杂志，2006，13(18)：1371 - 1174.

[4] Porta J, Kolar C, Kozmin S G, *et al*. Structure of the orthorhombic form of human inosine triphosphate pyrophosphatase[J]. Acta Crystallogr Sect F Struct Biol Cryst Commun, 2006, 62(Pt 11): 1076 - 1081.

[5] Adamowicz M, Radlwimmer B, Rieker R J, *et al*. Frequent amplifications and abundant expression of TRIO, NKD2, and IRX2 in soft tissue sarcomas[J]. Genes Chromosomes Cancer, 2006, 45(9): 829 - 838.

[6] Araki K, Nozaki K, Ueba T, *et al*. High expression of Aurora-B/Aurora and Ipll-like midbody-associated protein (AIM-1) in astrocytomas [J]. J Neurooncol, 2004, 67(1 - 2): 53 - 64.

[7] Wang L D, Qin Y R, Fan Z M, *et al*. Comparative genomic hybridization: comparison between esophageal squamous cell carcinoma and gastric cardia adenocarcinoma from a high-incidence area for both cancers in Henan, northern China[J]. Dis Esophagus, 2006, 19(6): 459 - 467.

[8] Mimori K, Tanaka Y, Yoshinaga K, *et al*. Clinical significance of the overexpression of the candidate oncogene CYP24 in esophageal cancer [J]. Ann Oncol, 2004, 15(2): 236 - 241.

[9] Vissers K J, Riegman P H, Alers J C, *et al*. Involvement of cancer-activating genes on chromosomes 7 and 8 in esophageal (Barrett's) and gastric cardia adenocarcinoma[J]. Anticancer Res, 2001, 21(6A): 3813 - 3820.

[10] Varis A, Puolakkainen P, Savolainen H, *et al*. DNA copy number profiling in esophageal Barrett adenocarcinoma: comparison with gastric adenocarcinoma and esophageal squamous cell carcinoma[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2001, 127(1): 53 - 58.

[11] 吕　钢，徐惠绵，王亚晖，等. MMP-7、E-cadherin 和 VEGF 与贲门癌生物学行为的关系[J]. 重庆医学，2008，37(14)：1559 - 1562.

（编辑　龙　亮）

（上接 846 页）

溪蟹史，肺吸虫抗体阳性，肺吸虫病诊断确立。肺吸虫的致病作用主要由童虫和成虫在宿主体内窜行和寄居时对组织造成机械性破坏、虫体代谢产物对宿主化学刺激及虫体异性蛋白引起过敏反应[1]。其病理变化主要为机械性刺激引起的异物肉芽肿反应，血中嗜酸性粒细胞增多，局部嗜酸性粒细胞聚集，虫体在体腔浆膜面寄居、移行引起浆膜的纤维素性炎症，渗出液可机化而引起腹腔内脏的相互黏连、胸腔黏连甚至胸腔闭锁[2,3]。该患者开胸手术所见与胸部 CT 检查表现一致，右胸脏壁层胸膜增厚明显，病理证实壁层胸膜纤维结缔组织增生，右侧因脏层胸膜上纤维束缚膨胀不全形成液气胸。本例患者病程 3 年，未及时治疗，临床表现为大量血性胸腔积液，右胸腔广泛纤维增生并黏连，同时并发脓胸和顽固性液气胸。提示肺吸虫病引起的胸腔积液如不及时治疗，其渗出液可形成机化性血胸并引发感染，损害肺组织，通过吡喹酮治疗及手术处理可治愈。

关键词：肺吸虫病；胸腔积液；机化性血胸
中图法分类号：R561.506　　**文献标识码**：B

参考文献：

[1] 陈兴保，吴观陵，孙　新，等. 现代寄生虫病学[M]. 北京：人民军医出版社，2002：613 - 623.

[2] Sasaki M, Kamiyama T, Yano T, *et al*. Active hepatic capsulitis caused by Paragonimus westermani infection[J]. Intern Med, 2002, 41(8): 661 - 663.

[3] Meehan A M, Virk A, Swanson K, *et al*. Severe pleuropulmonary paragonimiasis 8 years after emigration from a region of endemicity[J]. Clin Infect Dis, 2002, 35(1): 87 - 90.

（编辑　吴培红）