

南京地区青年乳腺癌患者 GSTM1、GSTT1 基因多态性与易感性的初步研究 *

范 滨¹ 唐金海^{2△} 吴建中³ 王 卓³ 薛 琰³

(1 徐州医学院研究生院 江苏 徐州 221004 ; 2 江苏省肿瘤医院普外科 江苏 南京 210009 ;

3 江苏省肿瘤医院科研科 江苏 南京 210009)

摘要 目的: 研究 GSTM1、GSTT1 基因多态性与乳腺癌遗传易感性的关系。方法: 应用 PCR 技术检测乳腺癌组和对照组人群 GSTM1 和 GST T1 基因。结果: GSTM1 和 GSTT1 基因缺失率在乳腺癌组分别为 63.4%(59/93)和 54.8%(51/93), 对照组分别为 39.3%(35/89)和 33.7%(30/89), 两组比较, 差异有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。结论: GSTM1 和 GST T1 缺失为乳腺癌遗传易感因素。

关键词 乳腺癌; GSTM1; GSTT1; 基因多态性

中图分类号: R737.9 **文献标识码**: A **文章编号**: 1673-6273(2012)25-4813-03

A Preliminary Study on the Relationship between Genetic Polymorphism of Glutathione-S transferases T1, M1 genes and Susceptibility of Young Female Breast Cancer in Nanjing Area*

FAN Bin¹, TANG Jin-ha^{2△}, WU Jian-zhong³, WANG Zhuo³, XUE Lian³

(1 Xuzhou Medical College, Jiangsu Xuzhou 221004 China; 2 Department of General Surgery, Jiangsu Cancer Hospital, Jiangsu, Nanjing 210009, China; 3 Department of scientific research, Jiangsu cancer hospital, Jiangsu, Nanjing, 210009, China)

ABSTRACT Objective: To examine the relationship of genetic polymorphisms of glutathione S-transferase (GST) including GSTM1 and GSTT1 and the susceptibility to breast cancer. **Methods:** A case-control study was designed and the absence of GSTM1 and GSTT1 genes were detected with PCR technique in 93 cases and 89 controls. **Results:** The results showed that the ratios of GSTM1 null genotype in cases was 63.4%(59/93) and the ratios of GSTT1 null genotype in cases was 54.8%(51/93), while, those of controls were 39.3%(35/89) or 33.7%(30/89), $P<0.05$. **Conclusion:** GSTM1 and GSTT1 null may be an important host risk factor for breast cancer.

Key words: Breast cancer; GSTM1; GSTT1; Genetic polymorphism

Chinese Library Classification(CLC): R737.9 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)25-4813-03

前言

乳腺癌是女性常见恶性肿瘤之一,发病率越来越高^[1],有跃居女性恶性肿瘤首位的趋势,特别是近年来乳腺癌患者逐步年轻化,新增许多 80 后 90 后罹患者,乳腺癌成为一种生物-心理-社会综合作用的疾病而备受关注。谷胱甘肽-S-转移酶(GST)基因在体内可编码诸多解毒酶类,这些酶类对内源性和外源性致癌物质(多环芳烃类)均有一定的灭活清除作用。GST 基因缺失是否为乳腺癌遗传易感因素各种观点不一^[2,9-13]。本实验旨在探讨 GSTM1 和 GSTT1 基因缺失与青年乳腺癌易感性的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2010.10-2012.2 在我院住院治疗,经病理确诊为乳腺

癌患者 93 例,其中 期 22 例 期 58 例 期 11 例 期 2 例,平均年龄 40 岁,其中新辅助化疗 32 例,术后放疗 43 例。另收集同期非乳腺癌患者血标本 89 例作对照组。

1.2 标本收集和 DNA 提取

收集两组患者含 EDTA 抗凝剂血标本约 3mL,2000rpm 离心分离上层血浆,每份血浆样品取 1mL 备用,余者放 -80℃ 冻存储用,采用 QIAamp 试剂盒分别抽提两组样本血浆 DNA,操作方法按试剂盒说明书。

1.3 基因扩增与分型

PCR 反应体系:总反应体系 25μL,包括 1.0μL 样品 DNA,10× PCR buffer 3.0μL,4× dNTPs 3.0μL, MgCl₂ 2.5μL, Taq 酶 1.5U (0.3μL), GSTT1 β-actin 上下游引物各 1.0μL, GSTM1 上下游引物各 2.0μL, D.D.W. 7.5μL。PCR 反应条件:95℃ 5' {[95℃ 45" 62℃ 45" 72℃ 45"]× 35} 72℃ 7'

GSTT1(459bp) F 5'-TTCCTTACTGGTCCTCACATCTC

* 基金项目:国家自然科学基金项目(30840093);江苏省社会发展科技计划项目(BS2007077)

作者简介:范滨(1983-)男,普外科硕士,研究方向:甲状腺和乳腺疾病临床基础研究。

电话:15150546136, E-mail:390083351@qq.com

△通讯作者:唐金海,博士生导师,教授, E-mail:Tangjinhai369@163.com

(收稿日期:2012-03-06 接受日期:2012-03-31)

R5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA
β-acton(350bp) F 5'-GCCCTCTGCTAACAAGTCCTAC
R5'-GCCCTAAAAAGAAAATCGCCAATC
GSTM1(215bp) F 5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC
R5'- GTTGGGCTCAAATATACGGTGG

1.4 统计学分析

采用卡方检验进行统计学分析,应用 SPSS16.0 软件进行

数据处理,以 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

PCR 产物进行 2.0 % 的琼脂糖凝胶电泳,在紫外灯下观察结果,GSTM1 和 GSTT1 基因分正常型(non-null):在 459bp 和 / 或 215bp 处有条带,缺失型(null):无条带,统计结果见(表 1),病例组血浆 GST 基因突变率明显高于对照组。

表 1 GSTT1 和 GSTM1 基因多态性与乳腺癌的关系

Table 1 The relationship between the polymorphisms of GSTT1 and GSTM1 and the breast cancer

基因型 Genotype	对照组(Controls)		病例组(Cases)		OR	95 %CI
	例数(n)	%	例数(n)	%		
GSTT1 阳性型 Non-null	59	66.3%	42	45.2%	-	-
缺失型 Null	30	33.7%	51	54.8%	2.388	1.311~4.351
GSTM1 阳性型 Non-null	54	60.7%	34	36.6%	-	-
缺失型 Null	35	39.3%	59	63.4%	2.677	1.471~4.874

Note: GSTM $\chi^2=10.590$ $P=0.001$;GST $\chi^2=8.222$ $P=0.004$.

3 讨论

目前研究较多的 GST 基因家族是 GSTT1 和 GSTM1,分别属于 μ 和 θ 类,GSTM1 基因定位于人类染色体 1p13.3,GSTT1 基因定位于人类染色体 22q11.2^[3],GSTM1 具有 GSTM1*0、GSTM1*A 和 GSTM1*B 三种等位基因。GSTM1*0 为 GSTM1 纯合缺失型,据统计,白种人和亚裔人约半数存在 GSTM 缺失,黑种人该基因缺失者约为 27%,它不表达蛋白。GSTM1*A 和 GSTM1*B 为等位基因,编码的酶催化效力相同,PCR 扩增后目的片段相同。同理,GSTT1 也具有纯合缺失和非缺失两种基因型。

环境致癌物进入体内后,有 95 % 以上需经代谢激活酶激活,形成具有致癌活性的亲电子物质,激活的致癌物可被体内具有解毒功能的代谢灭活酶灭活,失去致癌性^[4]。GSTM1、GSTT1 为相解毒酶,通过催化还原型谷胱甘肽的巯基,使其与亲电子物质结合,保护 DNA 和蛋白质空间结构和生物学功能免受伤害。两者均有对外源性化学物质解毒的功能,主要参与多环芳烃类等化学致癌物灭活^[15],两基因缺失导致缺乏这种功能,因此可能与癌症易感性增加有关,据报道^[17-20]与肺癌、食管癌、鼻咽癌、乳腺癌、大肠癌、肝癌,等多种肿瘤遗传易感性相关。

据报道^[5]GSTM1 缺失可致绝经后妇女乳腺癌风险增加,有关一项针对亚裔人群的研究表明,GSTM1 缺失突变可导致女性乳腺癌风险增高^[6]。ZhongS 等认为 GSTM 缺失可能增加年龄较低的绝经妇女的乳腺癌风险,而在年龄较高的绝经后妇女中并未观察到类似现象。诸多研究多集中于绝经后女性,而随着乳腺癌年轻化趋势的加强,绝经前女性 GST 基因缺失与乳腺癌发病率的关系应该引起重视。本实验乳腺癌患者 GSTM1 和 GSTT1 基因缺失型的分布频率明显高于对照组,分别为 63.4%

和 54.8%,OR 分别 2.677(95%CI 1.311~4.351)和 2.388(95%CI 1.471~4.874)差异有统计学意义。提示年轻乳腺癌患者 GSTM1 和 GSTT1 基因缺失为相对高危因素。相反 Zheng^[7]等研究未发现 GSTM1 点突变导致个体乳腺癌风险增大。我们实验中对照组部分未患乳腺癌,但 GSTM1 和 GSTT1 基因存在不同程度缺失,可能与 Zheng 等有相似之处。另外,在本实验中尚有部分乳癌人群 GSTT1 和 GSTM1 未缺失,提示乳腺癌是多种基因^[8,14,16]综合作用的结果,是生物 - 心理 - 社会综合作用的产物,其他未知基因的变化,食品污染(肯德基,麦当劳等高雌激素含量的速食),心理的高压(升学、工作、婚姻),不良生活习惯(如夜生活增加,昼夜颠倒,以异为常),神经 - 内分泌 - 免疫系统长期紊乱而未得以及时纠正,积少成多,量变的积累势必引发质的突变,共同导致了青年乳腺癌患者的剧增。

此外,GST 是细胞修复,抗损伤抗癌变的重要酶系,并且和肿瘤化疗的耐药性有关,尚待进一步研究。

参考文献(References)

- [1] 杨玲,李连第,陈育德,等. 中国乳腺癌发病死亡趋势的估计与预测[J].中华肿瘤杂志,2006,28(6):438
Yang Ling, Li Lian-di, Chen Yu-de, et al. Time trends, estimates and projects for breast cancer incidence and mortality in China [J].Chin J Oncol, 2006,28(6):438(In Chinese)
- [2] Norppa H. Genetic-susceptibility, biomarker responses, and cancer [J]. Mutation Res, 2003, 544: 339-348
- [3] Hayes JD, Flanagan JU, Jows ey IR. Glutathi one transferases [J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2005, 45(3): 51
- [4] Slattery ML, Samowitz W, Ma K, et al. CYP1A1, cigarette smoking, and colon and rectal cancer[J]. Am J Epidemiol, 2004, 160: 842-852
- [5] Saloda LC, Blackston CR, Xue K, et al. Glutathione S-transferase M1 and P1 polymorphisms and risk of breast cancer and fibrocystic breast conditions in Chinese women [J]. Breast Cancer Res Treat, 2008,109

- (1):143-155
- [6] Yu KD, Di GH, Fan L, et al. A functional polymorphism in the promoter region of GSTM1 implies a complex role for GSTM1 in breast cancer[J]. FASEB J, 2009,23(7):2274-2287
- [7] Zheng TZ, Holford TR, Zahm SH. Cigarette smoking, glutathione-S-transferase M1 and T1 genetic polymorphisms and breast cancer risk (United States) [J]. Cancer Causes Control, 2002,13(7):637-645
- [8] Costa S, Pinto D, Pereira D, et al. DNA repair polymorphisms might contribute differentially on familial and sporadic breast cancer susceptibility: a study on a Portuguese population [J]. Breast Cancer Res Treat, 2007, 103(2): 209-217
- [9] Robert Millikan, Gary Pittman, Chiu-Kit Tse, et al. Glutathione S-Transferases M1, T1, and P1 and Breast Cancer. Cancer Epidemiology [J]. Biomarkers & Prevention, 2000,9:567-573
- [10] Kathleen M. Egan. Genetic Polymorphisms in GSTM1, GSTP1, and GSTT1 and the Risk for Breast Cancer: Results from the Shanghai Breast Cancer Study and Meta-Analysis [J]. Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention, 2004, 13:197-204
- [11] Christine B. Ambrosone, Carol Sweeney, Brian F. Coles, et al. Polymorphisms in Glutathione S-Transferases (GSTM1 and GSTT1) and Survival after Treatment for Breast Cancer [J]. Cancer research, 2001,61:7130-7135
- [12] Olga L. van der Hel, Petra H. M. Peeters, David W. Hein, et al. GSTM1 null genotype, red meat consumption and breast cancer risk (The Netherlands) [J]. Cancer Causes and Control, 2004, 15:295-303
- [13] N. Roodi, W. D. Du Pont, J. H. Moore, et al. Association of homozygous wild-type glutathione S-transferase M1 (GSTM1) genotype with increased breast cancer risk [J]. Cancer Res, 2004,64:1233-1236
- [14] Spurdle AB, Deans AJ, Duffy D, et al. No evidence that CDKN1B (p27) polymorphisms modify breast cancer risk in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers [J]. Breast Cancer Res Treat, 2009,115 (2): 307-313
- [15] Zhang S, Lei P, Liu X, et al. The aryl hydrocarbon receptor as a target for estrogen receptor-negative breast cancer chemotherapy [J]. Endocr Relat Cancer, 2009, 835-844
- [16] Gao CM, Tang JH, Cao HX, et al. MTHFR Polymorphisms, dietary folate intake and breast cancer risk in Chinese women [J]. J Hum Genet, 2009,54 7: 414-418
- [17] Sorensen M, Raasehou-Nielsen O, Braseh-Andersen C, et al. Interactions between GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms and smoking and intake of fruit and vegetables in relation to lung cancer [J]. Lung Cancer, 2007, 55(2):137-144
- [18] Capoluongo E, Almadori G, Concolino P, et al. GSTT1 and GSTM1 allelic polymorphisms in head and neck cancer Patients from Italian Lazio Region [J]. Clin Chim Acta, 2007, 376(1-2):174-178
- [19] Oniki K, Ueda K, Hori M, et al. Glutathione-S-transferase (GST) M1 null genotype and combined GSTM1 and GSTT1 null genotypes as a risk factor for alcoholic mild liver dysfunction [J]. Clin Pharmacol Ther, 2007, 81(5): 634-635
- [20] Khadang B, Fattahi MJ, Talei A, et al. Polymorphism of TP53 codon 72 showed no association with breast cancer in Iranian women [J]. Cancer Genet Cytogenet, 2007, 73(1):35-42

(上接第 4808 页)

- [19] Wang X, Wang Q, Hu W, et al. Regulation of phorbol ester-mediated TRAF1 induction in human colon cancer cells through a PKC/RAF/ERK/ NF- κ B-dependent pathway [J]. Oncogene, 2004, 23(10): 1885-1895
- [20] Ding Q, Wang Q, Evers BM. Alterations of MAPK activities associated with intestinal cell differentiation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2001, 284(2):282-288
- [21] Barault L, Veyrie N, Jooste V, et al. Mutations in the RAS-MAPK, PI(3)K (phosphatidylinositol-3-OH kinase) signaling network correlate with poor survival in a population-based series of colon cancers [J]. Int J Cancer, 2008, 122(10):2255-2259
- [22] Wang YK, Zhu YL, Qiu FM, et al. Activation of Akt and MAPK pathways enhances the tumorigenicity of CD133+ primary colon cancer cells [J]. Carcinogenesis, 2010, 31(8):1376-1380
- [23] Fang JY, Richardson BC. The MAPK signalling pathways and colorectal cancer [J]. Lancet Oncol, 2005, 6(5):322-327