

论著·临床研究

儿童传染性单核细胞增多症与急性淋巴细胞白血病 GST 基因遗传多态性研究

李玉华¹ 文飞球² 肖智辉¹ 陈亦欣¹ 张朝霞¹ 陈俐丽¹

(1. 暨南大学附属第二临床医学院深圳市人民医院儿科, 广东 深圳 518020;

2. 深圳市儿童医院血液肿瘤科, 广东 深圳 518026)

[摘要] 目的 探讨谷胱甘肽硫转移酶基因 *GSTT1* 及 *GSTM1* 多态性与儿童传染性单核细胞增多症(IM)、儿童急性淋巴细胞白血病(ALL)易感性的关系。方法 采用多重 PCR 技术对 106 例 IM 患儿、41 例 ALL 患儿和 100 例非血液系统性疾病、非肿瘤疾病患儿外周血标本进行 *GSTT1* 和 *GSTM1* 基因多态性检测,分析不同基因型与儿童 IM、ALL 发病的关系。结果 IM 组 *GSTT1* 纯合缺失基因型频率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);携带 *GSTT1* 纯合缺失基因型的个体发生 IM 的风险是携带 *GSTT1* 非纯合缺失基因型个体的 2.186 倍。*GSTM1/GSTT1* 基因联合缺失型个体发生 IM 的风险是非联合缺失型个体的 4.937 倍。*GSTM1* 纯合缺失基因型在 ALL 组的分布频率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 *GSTM1* 纯合缺失基因型的患儿发生 ALL 的风险是携带 *GSTM1* 非纯合缺失基因型个体的 2.242 倍。*GSTM1/GSTT1* 基因联合缺失型个体发生 ALL 的风险是非联合缺失型个体的 8.552 倍。结论 *GSTT1* 或 *GSTM1* 纯合缺失基因型的儿童对 IM 或 ALL 易感性升高,当同时存在 *GSTT1* 和 *GSTM1* 纯合缺失时,IM 或 ALL 易感性更高。*GSTT1* 和 *GSTM1* 在 IM 及 ALL 致病过程中可能都发挥了作用。

[中国当代儿科杂志,2012,14(4):260-263]

[关键词] 传染性单核细胞增多症;急性淋巴细胞白血病;谷胱甘肽硫转移酶基因;儿童

[中图分类号] R725 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2012)04-0260-04

Genetic polymorphism of *GST* gene in children with infectious mononucleosis and acute lymphocytic leukemia

LI Yu-Hua, WEN Fei-Qiu, XIAO Zhi-Hui, CHEN Yi-Xin, ZHANG Zhao-Xia, CHEN Li-Li. Department of Pediatrics, Second Affiliated Hospital of Jinan Medical College, Jinan University, Shenzhen, Guangdong 518020, China (Wen F-Q, Email: fwen26@126.com)

Abstract: Objective To study the relationship between glutathione S-transferase genes *GSTT1* and *GSTM1* polymorphisms and the susceptibility to infectious mononucleosis (IM) and acute lymphocytic leukemia (ALL) in children. **Methods** The case-control study involved 106 children with IM, 41 children with ALL and a control group of 100 children with non-hematologic and nontumorous diseases. The genetic polymorphisms of *GSTT1* and *GSTM1* were detected with multiplex polymerase chain reaction (PCR). Distribution of the genotypes in the children was analyzed. **Results** The frequency of *GSTT1* null genotype in children with IM was significantly higher than in the control group ($P < 0.05$). The risk of IM in children carrying *GSTT1* null genotype was 2.186 times higher than in those carrying *GSTT1* non-null genotype. The children carrying both *GSTT1* and *GSTM1* null genotype had a higher risk of suffering from IM compared to those carrying only one of the null genotypes ($OR = 4.937$). The frequency of *GSTM1* null genotype in children with ALL was significantly higher than in the control group ($P < 0.05$). The risk of ALL in children carrying *GSTM1* null genotype was 2.242 times higher than in those in carrying *GSTT1* non-null genotype. Children carrying both *GSTT1* and *GSTM1* null genotype had a higher risk of suffering from ALL compared with those carrying only one of the null genotypes ($OR = 8.552$). **Conclusions** Children carrying *GSTT1* or *GSTM1* null genotype have a high risk of suffering from IM or ALL. Still more increased susceptibility to IM or ALL may occur in children who carry both *GSTT1* and *GSTM1* null genotype. *GSTT1* and *GSTM1* might play a potential role in the pathogenesis of both IM and ALL.

[Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14(4):260-263]

Key words: Infectious mononucleosis; Acute lymphoblastic leukemia; Glutathione S-transferase gene; Child

[收稿日期]2011-11-11; [修回日期]2011-12-22
[基金项目]深圳市科技局资助项目(编号:200701019)。
[作者简介]李玉华,女,硕士研究生,副主任医师。
[通信作者]文飞球,教授。

儿童传染性单核细胞增多症(infectious mononucleosis, IM)是EB病毒(epstein-barr virus, EBV)感染所致的急性传染病,其发病机制尚未完全阐明。近年的研究提示EBV对个体的影响存在不同的遗传易感性,与某些基因多态性有关^[1]。急性淋巴细胞白血病(acute lymphocytic leukemia, ALL)是造血系统的恶性增生性疾病,其发病因素可能与病毒、理化因素、遗传易感性等有关。谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferase, GST)是体内重要的解毒酶系,该酶系中许多成员的编码基因具有多态性,基因的变异可以改变相应的酶激活或灭活异源底物的能力,可能增加暴露个体罹患疾病的危险性。其中的*GSTT1*(编码 θ)、*GSTM1*(编码 μ)基因在人群中呈多态性分布。已证实*GSTT1*、*GSTM1*基因多态性与多种恶性肿瘤的易感性有关^[2-3]。然而,其在儿童IM发病中的作用尚不明确,本研究检测ALL与IM患儿*GSTT1*及*GSTM1*基因多态性,分析*GSTT1*及*GSTM1*基因多态性在对照组、IM组与ALL组间的差异,为深入了解二者在儿童IM、ALL致病机制中的作用、保护易感人群及针对性个体防治方面提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2008年10月至2010年12月在深圳市人民医院儿科住院治疗的、根据临床表现、外周血血液细胞形态及EBV抗体血清学检测确诊为IM的患儿106例为IM组,其中男56例,女50例,年龄2~14岁(中位年龄6.2岁)。2005年10月至2010年12月于深圳市人民医院儿科住院治疗、根据骨髓细胞形态学、免疫学检查及分子生物学检查确诊ALL的患儿,其中EBV抗体血清学检测阳性的患予以剔除,共41例为ALL组,其中男25例,女16例,年龄2~13岁(中位年龄5岁)。按住院号随机抽取与IM组儿童同期住院的非血液系统性疾病、非肿瘤疾病患儿100例为对照组,男55例,女45例,年龄1~14岁(中位年龄6.6岁)。

1.2 研究方法

在取得患儿家长知情同意的情况下抽取外周血5 mL, EDTA抗凝。提取基因组DNA,分光光度计测定纯度,定量后冰冻待用。利用多重等位基因特异聚合酶链式反应(PCR)方法检测*GSTT1*与*GSTM1*基因型,以白蛋白基因阳性为内参照,同时进行扩增。序列及扩增片段大小见表1。*GSTT1*的PCR反

应条件:94℃预变性5 min;然后按94℃变性45 s, 59℃退火1 min, 72℃延伸1 min,共30个循环;最后72℃再延伸7 min。*GSTM1*的PCR反应的条件:94℃预变性4 min;然后按94℃变性1 min, 59℃退火1 min, 72℃延伸1 min,共30个循环;最后72℃再延伸7 min。PCR产物经2%琼脂糖凝胶进行电泳,凝胶成像系统中成像。

表1 引物序列及扩增片段长度

基因类型	引物序列	片段大小(bp)
<i>GSTT1</i>	5'-TTGCTTACTGGTCCTCACATCTC-3'	480
	5'-TCACCGGATCATGGCCAGCA-3'	
<i>GSTM1</i>	5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC-3'	219
	5'-GTTGGGCTCAAATATACGGTGG-3'	
白蛋白	5'-GCCCTCTGTAACAAGTCTAC-3'	350
	5'-GCCCTAAAAGAAAATCGCAATC-3'	

1.3 基因型的判断

根据文献^[1],以出现白蛋白基因内参照片段(350 bp)为PCR扩增成功的标志。*GSTT1*非纯合缺失基因型(*GSTT1*^{(+/+)or(+/-)})与*GSTM1*非纯合缺失基因型(*GSTM1*^{(+/+)or(+/-)})的DNA模板经PCR扩增后分别产生480 bp与219 bp片段,而*GSTT1*纯合缺失基因型(*GSTT1*^(-/-))与*GSTM1*纯合缺失基因型(*GSTM1*^(-/-))无特异性片段,仅出现内参照片段。

1.4 统计学分析

采用SPSS 16.0软件进行统计学分析。组间基因型分布比较采用 χ^2 检验;应用多因素非条件logistic回归计算相对风险度的比值比(OR)和95%可信区间(CI)。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IM组与对照组*GSTT1*和*GSTM1*基因多态性分布情况比较

IM组与对照组性别、年龄差异无统计学意义(P>0.05)。*GSTT1*纯合缺失基因型在IM组的分布频率明显高于对照组,差异有统计学意义(P<0.05);携带*GSTT1*纯合缺失基因型的患儿发生IM的风险是携带*GSTT1*非纯合缺失基因型个体的2.186倍(OR=2.186, 95% CI: 1.251~3.821);*GSTM1*纯合缺失基因型在IM组和对照组的分布频率差异无统计学意义(P>0.05)。*GSTM1/GSTT1*基因联合缺失型个体发生IM的风险是非联合缺失型个体的4.937倍(OR=4.937, 95% CI: 2.455~9.928)。见表2。

表2 IM组与对照组 GSTT1 和 GSTM1 基因型分布比较 [例(%)]

组别	例数	GSTT1		GSTM1		双缺失
		null	Non-null	null	Non-null	
对照组	100	44(44.0)	56(56.0)	49(49.0)	51(51.0)	13(13.0)
IM组	106	67(63.2)	39(36.8)	56(52.8)	50(47.2)	45(42.5)
χ^2 值		7.64		0.30		22.07
P 值		<0.05		>0.05		<0.05

注:null 示纯合缺失基因型(*GSTT1/MI*^(-/-));Non-null 示非纯合缺失基因型(*GSTT1/MI*^(+/+)或^(+/-));双缺失示 *GSTT1*^(-/-) 伴有 *GSTM1*^(-/-)。

2.2 ALL组与对照组 GSTT1 和 GSTM1 基因多态性分布情况比较

ALL组与对照组性别、年龄差异无统计学意义($P > 0.05$)。*GSTT1* 纯合缺失基因型在 ALL组和对照组的分布频率差异无统计学意义($P > 0.05$);ALL组 *GSTM1* 纯合缺失基因型分布频率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。携带 *GSTM1* 纯合缺失基因型的患儿发生 ALL 的风险是携带 *GSTM1* 非纯合缺失基因型个体的 2.242 倍 ($OR = 2.242, 95\% CI: 1.042 \sim 2.821$)。*GSTM1/GSTT1* 基因联合缺失型个体发生 ALL 的风险是非联合缺失型个体的 8.552 倍 ($OR = 8.552, 95\% CI: 3.660 \sim 19.979$)。见表 3。

表3 ALL组与对照组 GSTT1 和 GSTM1 基因型分布比较 [例(%)]

组别	例数	GSTT1		GSTM1		双缺失
		null	Non-null	null	Non-null	
对照组	100	44(44.0)	56(56.0)	49(49.0)	51(51.0)	13(13.0)
ALL组	41	24(58.5)	17(41.5)	28(68.3)	13(31.7)	23(56.1)
χ^2 值		2.46		4.37		28.41
P 值		>0.05		<0.05		<0.05

注:null 示纯合缺失基因型(*GSTT1/MI*^(-/-));Non-null 示非纯合缺失基因型(*GSTT1/MI*^(+/+)或^(+/-));双缺失示 *GSTT1*^(-/-) 伴有 *GSTM1*^(-/-)。

2.3 IM组与 ALL组 GSTT1 和 GSTM1 基因多态性分布情况的比较

IM组与 ALL组性别、年龄差异无统计学意义($P > 0.05$)。*GSTT1* 纯合缺失基因型在 IM组和 ALL组的分布频率差异无统计学意义($P > 0.05$);*GSTM1* 纯合缺失基因型在 IM组和 ALL组的分布频率差异无统计学意义($P > 0.05$)。*GSTM1/GSTT1* 基因联合缺失型在 IM组和 ALL组的分布频率分别为 42.5%、56.1%,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4。

表4 IM组与 ALL组 GSTT1 和 GSTM1 基因型分布比较 [例(%)]

组别	例数	GSTT1		GSTM1		双缺失
		null	Non-null	null	Non-null	
IM组	106	67(63.2)	39(36.8)	56(52.8)	50(47.2)	45(42.5)
ALL组	41	24(58.5)	17(41.5)	28(68.3)	13(31.7)	23(56.1)
χ^2 值		0.27		2.89		2.21
P 值		>0.05		>0.05		>0.05

注:null 示纯合缺失基因型(*GSTT1/MI*^(-/-));Non-null 示非纯合缺失基因型(*GSTT1/MI*^(+/+)或^(+/-));双缺失示 *GSTT1*^(-/-) 伴有 *GSTM1*^(-/-)。

3 讨论

GST 参与生物转化的 II 相代谢,催化还原型谷胱甘肽(由甘氨酸、谷氨酸和半胱氨酸组成的三肽)与亲电物质(各种环境致癌物、污染物、药物和其他宾主共栖物)发生轭合反应,从而降低该亲电物质的活性、加速其排泄,达到解毒的效果。其催化反应的底物包括致癌剂、化疗药物和氧化反应中产生的自由基等。*GSTT1*、*GSTM1* 基因多态性因种族和地域分布而有所差异,本研究结果显示,对照组中 *GSTT1*、*GSTM1* 纯合缺失基因型频率为 44.0%、49.0%,与国内相关文献报道相符^[4-5]。

GSTT1 纯合缺失基因型在 IM组和对照组的分布频率组间差异具有统计学意义;携带 *GSTT1* 纯合缺失基因型的患儿发生 IM 的风险是携带 *GSTT1* 非纯合缺失基因型个体的 2.186 倍;提示 *GSTT1* 纯合缺失基因型为儿童患 IM 的危险因素,*GSTT1* 纯合缺失基因型儿童 IM 易感性较高。分析原因可能是:① *GSTT1* 底物包括被氧化的脂质和 DNA 等。由于整个 *GSTT1* 基因编码区缺失,使其相应的 GST θ 同工酶活性减低甚至缺如,全身各器官特别是淋巴组织抵御活化的 T 细胞及 B 细胞的能力下降,更容易出现 IM 的各种临床表现;② 不同的 GST 最适宜底物不同,在机体生物转化过程中作用不一,*GSTT1* 不仅存在于肝脏中,还存在于红细胞中,使得红细胞成为一个解毒场所,在 IM 致病过程中,*GSTT1* 可能比 *GSTM1* 承担着更重要的角色^[6]。儿童 IM 组的 *GSTM1* 纯合缺失基因型分布频率与对照组之间比较差异无统计学意义,未发现 *GSTM1* 基因多态性与 IM 易感性之间有显著相关性。可能是因为 *GSTM1* 基因及其代谢底物在 IM 的发生过程中未发挥关键作用。*GSTM1/GSTT1* 基因联合缺失型个体发生 IM 的风险明显升高,考虑 *GSTT1* 与 *GSTM1* 可能存在协同作用。当 *GSTM1/GSTT1* 基因联合缺失时,体

内 *GSTM1/GSTT1* 编码产物活性较单一缺失者更低,发生 IM 的风险更高。

本研究显示 *GSTM1* 纯合缺失基因型在 ALL 组和对照组的分布频率组间差异有统计学意义;携带 *GSTM1* 纯合缺失基因型的患儿发生 ALL 的风险升高;*GSTT1* 纯合缺失基因型在 ALL 组和对照组的分布频率组间差异无统计学意义;*GSTM1/GSTT1* 基因联合缺失型个体发生 ALL 的风险升高。提示 *GSTM1* 基因多态性与 ALL 易感性显著相关,与文献报道一致^[2]。当 *GSTM1/GSTT1* 基因联合缺失时,ALL 易感性更强。考虑原因为:*GSTM1* 基因代谢底物包括多环芳香族碳氢化合物 (PAH)、烟草、环氧化物等,这些物质均可以与机体 DNA 结合,形成 DNA 加合物,从而引起细胞遗传物质损伤,引发恶性肿瘤的发生^[7]。研究发现,*GSTM1* 纯合子缺失者的肺、精子、外周血白细胞存在高水平的 PAH-DNA 加合物,显著高于 *GSTM1* 杂合基因存在者,其遗传物质更易发生恶性转化^[8]。有关 *GSTT1* 缺失基因型是肿瘤易感基因的研究结果并不完全一致,张利等^[2] 研究结果表明,*GSTT1* 纯合缺失基因型与 ALL 发生无关;Chan 等^[9] 的研究结果提示,*GSTT1* 纯合缺失型女孩发生 ALL 的风险增高 ($OR = 2.20$; $P = 0.027$)。本研究结果显示 *GSTT1* 纯合缺失基因型在 ALL 组和对照组分布频率组间比较差异无统计学意义,但发现 *GSTT1* 纯合缺失基因型在 ALL 组中分布频率 (58.5%) 高于对照组 (44.0%),提示 *GSTT1* 缺失基因型在 ALL 发病中也可能发挥一定的作用,其基因型分布频率与对照组比较差异未达统计学意义可能与样本量小及其他因素有关。当 *GSTM1/GSTT1* 基因联合缺失时,发生 ALL 风险比单一 *GSTM1* 缺失时更高,亦提示 *GSTM1* 和 *GSTT1* 基因编码产物很可能存在协同作用。

IM 组与 ALL 组在 *GSTT1* 基因缺失、*GSTM1* 基因缺失及 *GSTM1/GSTT1* 基因联合缺失的组间差异均无统计学意义,提示 *GSTM1/GSTT1* 基因编码产物在 IM 及 ALL 发病过程中可能都发挥了作用,两

者可能存在共同的发病机制。*GSTT1/GSTM1* 基因联合缺失可能在共同机制中发挥一定作用,考虑可能与 *GSTT1/GSTM1* 基因编码蛋白在 EBV 感染及引起 B 细胞转化过程中有一定作用有关,但未见有相关文献报道,这方面仍需进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] 张朝霞,张铁庠,文飞球,陈亦欣,周克英. 儿童传染性单核细胞增多症患者 GST 基因遗传多态性的研究[J]. 中国现代医学杂志,2009,19(2):227-230.
- [2] 张利,王军,冯建飞,王宏,朱绍先,张欣欣. 谷胱甘肽 S-转移酶 M1/T1 基因多态性与儿童急性淋巴白血病的关联性[J]. 实用儿科临床杂志,2008,23(3):195-197.
- [3] 宋东奎,邢东亮,张莉蓉,蒋欣,乔保平. 谷胱甘肽 S-转移酶基因多态性与膀胱癌易感性关系[J]. 中华泌尿外科杂志,2008,29(2):80-83.
- [4] 李晓婷,袁燕莉,夏惜情,于宝柱,张铁娟,刘欧,等. 中国人群谷胱甘肽转移酶 M1 和 T1 的基因多态性分析:系统综述及吉林省结核涂阳人群研究[J]. 中华流行病学杂志,2009,30(5):502-506.
- [5] 任文博,范志亮,郭艳芬,李春岩,卜晖. 河北省健康人群谷胱甘肽硫转移酶 T1、M1 基因多态性的研[J]. 脑与神经疾病杂志,2009,17(2):88-92.
- [6] Ye Z, Song H. Glutathione s-transferase polymorphisms (*GSTM1*, *GSTP1* and *GSTT1*) and the risk of acute leukaemia: a systematic review and meta-analysis[J]. Eur J Cancer, 2005, 41(7): 980-989.
- [7] Garte S, Taioli E, Raimondi S, Paracchini V, Bincova B, Sram RJ, et al. Effects of metabolic genotypes on intermediary biomarkers in subjects exposed to PAHS: results from the EXPAH study [J]. Mutat Res, 2007, 620(1-2): 7-15.
- [8] Weiserbs KF, Jacobson JS, Begg MD, Wang LW, Wang Q, Agrawal M, et al. A cross-sectional study of polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts and polymorphism of glutathione S-transferases among heavy smokers by race/ethnicity [J]. Biomarkers, 2003, 8(2): 142-155.
- [9] Chan JY, Ugrasena DG, Lum DW, Lu Y, Yeoh AE. Xenobiotic and folate pathway gene polymorphisms and risk of childhood acute lymphoblastic leukaemia in Javanese children [J]. Hematol Oncol, 2011, 29(3): 116-123.

(本文编辑:邓芳明)