

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2015.05.011

论著 · 临床研究

RAD50 基因多态性与儿童急性淋巴细胞白血病的相关性

李雯 徐之良

(武汉大学人民医院儿科, 湖北 武汉 430060)

[摘要] **目的** 探讨 RAD50 基因的 SNP 位点 (rs17166050) 的多态性与我国中部地区儿童急性淋巴细胞白血病 (ALL) 的相关性。**方法** 177 例来自湖北武汉或其周边地区的 ALL 患儿和 232 例健康儿童作为研究对象。177 例患儿中, 标危 66 例, 中危 69 例, 高危 42 例。利用 PCR-RFLP 的方法检测 RAD50 基因 SNP 位点多态性, 研究该多态性与 ALL 易感性及临床危险度的相关性。**结果** ALL 组的 RAD50 基因 SNP 位点的基因型 (AA、GA、GG) 分布与对照组相比差异有统计学意义 ($P=0.038$), 且 G 等位基因与 ALL 易感性显著相关 ($OR=1.459$, 95%CI: 1.034~2.057, $P=0.031$); 但在 ALL 组中, 该 SNP 位点的多态性与 ALL 的危险度不相关。**结论** RAD50 基因的 SNP 位点 (rs 17166050) 的多态性与儿童 ALL 的易感性相关, 但与其危险度分层不具有相关性。
[中国当代儿科杂志, 2015, 17(5): 469-471]

[关键词] 白血病; RAD50 基因; 多态性; 危险度; 儿童

Association between polymorphism of RAD50 gene and acute lymphoid leukemia in children

LI Wen, XU Zhi-Liang. Department of Pediatrics, People's Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China (Xu Z-L, Email: zlx-rm@163.com)

Abstract: Objective To investigate the association between single nucleotide polymorphism (SNP) (rs17166050) in RAD50 gene and acute lymphoid leukemia (ALL) in children. **Methods** A total of 177 ALL children from Wuhan and surrounding areas and 232 healthy children were selected. The numbers of standard-risk, medium-risk, and high-risk children were 66, 69, and 42, respectively. The genotypes of SNP in RAD50 gene were determined using PCR-RFLP, and the relationship of the RAD50 polymorphism with ALL susceptibility and clinical risk was analyzed. **Results** The genotype (AA, GA, and GG) distribution of SNP in RAD50 gene showed significant differences between the ALL and control groups ($P=0.038$), and G allele was significantly associated with ALL susceptibility ($OR=1.459$, 95% CI: 1.034-2.057, $P=0.031$). However, the SNP was not associated with the risk stratification of ALL. **Conclusions** The SNP (rs17166050) in RAD50 gene is associated with the susceptibility to ALL in children, but is not associated with the risk stratification of ALL.
[Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(5): 469-471]

Key words: Leukemia; RAD50 gene; Polymorphism; Risk; Child

白血病是造血系统的一种恶性肿瘤, 是最常见的儿科肿瘤疾病, 其中急性淋巴细胞白血病 (ALL) 约占儿童白血病的 80%^[1]。越来越多的研究表明, 遗传易感性可能与肿瘤的形成有关^[2]。RAD50 基因、MRE11 基因以及 NBN 基因编码的 3 个蛋白组成 MRN 复合体, 该复合体具有修复双

链 DNA, 维持基因组稳定的功能^[3]。研究发现该复合体异常可导致毛细血管扩张性共济失调样病 (AT-LD), 以及增加癌症发生的风险^[4-5], 且国外 Maria 研究组发现 MRN 复合体 3 个基因异常可能与儿童白血病相关^[6], 国内未见 RAD50 基因多态性与白血病相关性的报道。本研究以我国中部

[收稿日期] 2014-10-28; [接受日期] 2014-12-21

[作者简介] 李雯, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 徐之良, 男, 主任医师。

地区儿童 ALL 患儿为研究对象,探讨 RAD50 基因 SNP 位点 rs17166050 (c.551+19G>A) 多态性与儿童 ALL 的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2012 年 6 月至 2014 年 6 月在我院儿科住院的 ALL 患儿 177 例为研究对象,232 名健康儿童作为对照组。ALL 组的纳入标准:符合中华医学会儿科学分会血液学组制定的《儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第三次修订草案)》^[7] 诊断为 ALL 的患儿;年龄 <14 岁。对照组的入选标准:年龄 <14 岁;体检未发现异常的儿童,排除各系统的疾病。

ALL 组中,男 104 例,女 73 例,年龄 5 ± 3 岁(范围:3 个月~11 岁 9 个月)。对照组中,男 134 例,女 98 例,年龄 5 ± 4 岁(范围:6 个月~11 岁)。两组在性别、年龄方面比较差异无统计学意义。两组儿童户籍所在地均为湖北武汉或其周边地区。

ALL 组中,标危 66 例,中危 69 例,高危 42 例。其中融合基因阳性的患儿 60 例(33.9%),包括 TEL/AML1 42 例, E2A/PBX1 6 例, BCR/ABL 8 例, MLL/AF9 2 例, MLL/AF4 1 例, MLL-PTD 1 例。

1.2 RAD50 基因多态性分析

标本采集前得到两组儿童家属的知情同意以及医院医学伦理委员会的批准。两组儿童各取静脉血 2 mL,利用酚-氯仿抽提的方法提取基因组 DNA。以基因组为模板扩增含有 SNP 位点的 DNA 片段。设计的引物分别为:正向

GTTCAATAACTTAATGGACTACAAAGC, 反向 CGAGAAATGATCAGTTCTCTTGG。PCR 总反应体系为 25 μ L,含有 10 倍 PCR 反应缓冲液 2.5 μ L, 10 mM dNTP 混合液 1 μ L, 10 μ M 引物各 1 μ L, TAKARA Taq 酶 1 U;反应条件:94 $^{\circ}$ C 3 min 预变性,94 $^{\circ}$ C 30 s 变性,56 $^{\circ}$ C 30 s 退火,72 $^{\circ}$ C 30 s 延伸,共 35 个循环。取 5 μ L 扩增的产物利用内切酶 HindIII 进行酶切电泳分析。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 16.0 软件进行数据统计与分析。计数资料采用频数和百分率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RAD50 基因多态性与 ALL 的相关性

经检验,各组均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律。3 种基因型分布在 ALL 组和对照组之间差异有统计学意义($P=0.038$),其中 ALL 组 G 等位基因的频率高于对照组,说明 G 为易感等位基因($OR=1.459$, 95%CI: 1.034~2.057, $P=0.031$);且 GA 以及 GG 基因型的风险分别是 AA 基因型的 3.273 与 3.384 倍,见表 1。

2.2 RAD50 基因多态性与 ALL 临床危险度的相关性分析

以标危组为参考($OR=1.000$),中危组 GG 基因型比例与标危组相比差异无统计学意义($P=0.708$),高危组与标危组相比差异亦无统计学意义($P=0.209$),见表 2。

表 1 RAD50 基因多态性与 ALL 的相关性分析

组别	例数	基因型			等位基因
		AA	GA	GG	G
对照组	232	18(7.7)	77(33.2)	137(59.1)	351(75.6)
ALL 组	177	4(2.3)	56(31.6)	117(66.1)	290(81.9)
χ^2 值			6.552		4.662
OR(95%CI)		1.000	3.273(1.051~10.050)	3.384(1.256~11.675)	1.459(1.034~2.057)
P 值			0.038		0.031

表 2 RAD50 基因多态性与 ALL 临床危险度的相关性

[n (%)]

危险度	例数	GG	GA+AA	OR(95%CI)	P 值
标危	66	41(62)	25(38)	1.000	
中危	69	45(65)	24(35)	1.143(0.567~2.307)	0.708
高危	42	31(74)	11(26)	1.718(0.735~4.016)	0.209

3 讨论

白血病是儿童中最常见的一种恶性肿瘤,利用核型分析以及分子生物学的方法发现很多患者存在染色体异常(染色体拷贝数异常或断裂重组)。在人体内维持基因组 DNA 稳定取决于 DNA 损伤反应(DNA damage response, DDR)^[5],DDR 是一个功能性的网络,包括信号转导、细胞周期调控以及 DNA 修复等过程。DDR 控制着 DNA 双链的断裂及修复,该过程可以阻止体内基因组的改变以及癌症疾病的发生^[8];由 RAD50、MRE11 以及 NBN 组成的 MRN 复合体是 DDR 反应的核心组成部分。有研究表明 DDR 有关的基因发生突变会导致有遗传倾向的癌症以及其他严重疾病的发生^[9]。

RAD50 基因位于 5 号染色体 5q31 区域,该基因编码的蛋白与 MRE11 以及 NBN 基因编码的蛋白组成 MRN 复合体,行使修复双链 DNA 的功能,对维持基因组及其端粒的稳定有重要意义。有研究表明 RAD50 基因 SNP 位点(rs17166050)G 等位基因与克罗恩病的易感性相关^[10];且有研究发现该基因突变导致患乳腺癌的风险增加^[11]。

本研究结果显示,ALL 患儿含有 GG 基因型的比例高于对照组,且相对于 AA 基因型,GG 基因型患儿患 ALL 的风险提高了 3.38 倍,推测该 SNP 位点的多态性影响 RAD50 行使正常的功能。Mosor 等^[6]研究发现,SNP 位点 rs17166050(c.551+19G>A)的 A 等位基因可降低患白血病的风险,本研究结果与之一致。该 SNP 位点位于 RAD50 基因 4 号内含子上,该位点多态性可能影响该基因转录的 RNA 的剪接过程,但国外研究者证实该位点不影响 RNA 剪接过程,G 和 A 等位基因转录的 RNA 长度一致^[5];但对 RAD50 基因的表达有影响;含有 G 等位基因的 RAD50 表达量高于 A 等位基因,推测高表达 RAD50 可能影响 MRN

复合体形成,DNA 受损不能及时修复,导致疾病发生。

根据患者发病的年龄、初诊时的临床特点、遗传学特点以及早期治疗反应情况,把患儿划分为标危、中危和高危 3 种类型。本研究发现 RAD50 基因中该位点 GG 基因型的 ALL 患儿高危的风险更大,相对于标危患儿,GG 基因型高危风险提高了 1.718 倍,但该结论不具有统计学意义,今后将收集大样本做进一步的验证。

综上所述,RAD50 基因上的 SNP 位点(rs17166050)的多态性可能与我国中部地区儿童 ALL 的易感性相关,其机制尚需进一步研究。

[参 考 文 献]

- [1] Pui CH, Relling MV, Downing JR, et al. Acute lymphoblastic leukemia[J]. N Engl J Med, 2004, 350(15): 1535-1548.
- [2] Chatterton Z, Morenos L, Saffery R, et al. DNA methylation and miRNA expression profiling in childhood B-cell acute lymphoblastic leukemia[J]. Epigenomics, 2010, 2(5): 679-708.
- [3] Williams GJ, Lees-Miller SP, Tainer JA. Mre11-Rad50-Nbs1 conformations and the control of sensing, signaling, and effector responses at DNA double-strand breaks[J]. DNA Repair (Amst), 2010, 9(12): 1299-1306.
- [4] Kuroda S, Urata Y, Fujiwara T. Ataxia-telangiectasia mutated and the Mre11-Rad50-NBS1 complex: promising targets for radiosensitization[J]. Acta Med Okayama, 2012, 66(2): 83-92.
- [5] Travis HS, John HJ. The MRE11 complex: starting from the ends[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2011, 12(2): 90-103.
- [6] Mosor M, Ziolkowska-Suchanek I, Nowicka K, et al. Germline variants in MRE11/RAD50/NBN complex genes in childhood leukemia[J]. BMC Cancer, 2013, 13: 457.
- [7] 中华医学会儿科学会血液学组. 儿童急性淋巴细胞白血病诊疗建议(第三次修订草案)[J]. 中华儿科杂志, 2006, 44(5): 392-395.
- [8] Berardinelli F, di Masi A, Antoccia A. NBN gene polymorphisms and cancer susceptibility: a systemic review[J]. Curr Gemomics, 2013, 14(7): 425-440.
- [9] Jackson SP, Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease[J]. Nature, 2009, 461(7267): 1071-1078.
- [10] Onnie C, Fisher SA, King K, et al. Sequence variation, linkage disequilibrium and association with Crohn's disease on chromosome 5q31[J]. Genes Immun, 2006, 7(5): 359-365.
- [11] Damiola F, Pertesi M, Oliver J, et al. Rare key functional domain missense substitutions in MRE11A, RAD50, and NBN contribute to breast cancer susceptibility: results from a Breast Cancer Family Registry case-control mutation-screening study[J]. Breast Cancer Res, 2014, 16(3): R58.

(本文编辑: 邓芳明)