

P2X7 基因多态性与急性白血病的相关性研究

张凌岩, 李颖, 仲春红, 徐功立

关键词: P2X7 基因; 单核苷酸多态性; 白血病; 急性

中图分类号: R733.7 文献标识码: D

文章编号: 1000-8578(2005)12-0808-01

0 引言

P2X7 基因位于 12 号染色体, 有 13 个外显子, 其编码产物是一种选择性离子通道型嘌呤能受体, 在造血细胞及免疫细胞中介导 ATP 诱导的细胞凋亡。发生在 P2X7 基因外显子 13 的单核苷酸多态性可以导致 P2X7 受体功能明显改变, 其杂合性改变可使 P2X7 受体功能下降 50%, 而纯合性改变可使其功能完全丧失^[1]。为探讨 P2X7 基因 1513 A

C 多态性在急性白血病中的意义, 我们对 24 例急性白血病患者及 42 例正常对照进行了检测及分析。

1 材料与方法

1.1 病例 急性白血病患者 24 例, 其中 AML 15 例, ALL 9 例; 男 14 例, 女 10 例, 中位年龄 31 岁。正常对照 42 例, 男 23 例, 女 19 例, 中位年龄 33 岁。患者标本取自骨髓 2 毫升, 对照者标本取自外周血 5 毫升。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 常规酚/氯仿法提取基因组 DNA。

1.2.2 PCR 扩增基因组 DNA

引物序列为: 上游引物 5'-ACTCCTAGATCCAGGGATAGCC-3', 下游引物 5'-TCACTCTTCGGAAACTCTTCC-3'。每份样本反应体系为 25μl, 组成如下: 10 × 缓冲液 2.5 μl, 4 × dNTP (20mM) 0.25 μl, 上游引物及下游引物各

0.5 μM, MgCl₂ (50mM) 0.75 μl, Ampli Taq Gold DNA 聚合酶 (Applied Biosystem) 1.25 u, DNA 25ng。PCR 条件为: 预变性 95 °C 5 分钟; 变性 94 °C 1 分钟, 退火 62 °C 1 分钟, 延伸 72 °C 1 分钟, 33 个循环; 最后 72 °C 延伸 10 分钟。

1.2.3 测序

应用 BigDye Terminator Sequencing Kit (ABI, USA) 及 ABI 3100 型 DNA 测序仪进行双向 DNA 测序。

1.3 统计学分析 Fisher's exact test。

2 结果

测序结果见图 1 所示。3 例白血病患者基因型为 A/C, 其中 AML 2 例, ALL 1 例。患者与正常对照 C 等位基因频率的差异有显著性 (P = 0.046), 见表 1。

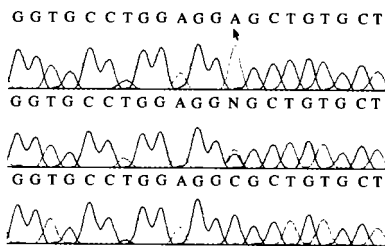


图 1 DNA 测序结果: 从上至下分别为 A/A、A/C 及 C/C 基因型

3 讨论

P2X7 基因的外显子 12 及 13 编码一个长达 240 个氨基酸的细胞内 C 末

端, 这一结构与其功能密切相关。一般认为 P2X7 受体可介导细胞凋亡, 但也有学者发现该受体同时具有诱导凋亡及促进增殖两种作用^[1,2]。Adinolfi 等^[3]报道 P2X7 受体在进展性 CLL (chronic lymphocytic leukemia, 慢性淋巴细胞白血病) 的表达明显高于惰性 CLL, 提示 P2X7 在高表达时有促进细胞增殖的作用。Wiley 等^[4]报道 P2X7 基因 1513A

C 多态性在 CLL 患者中的阳性率是正常对照的 3 倍, 提示 C 等位基因可能与 CLL 的发生有密切关系。但 Thunberg 等^[5]发现 CLL 患者该 SNP 阳性率低于正常对照, 且阳性者的生存期较阴性者显著延长, 提示 C 等位基因是预后良好的因素。我们的研究结果显示在这一组急性白血病患者中 P2X7 基因 1513A/C 阳性率明显低于正常对照, 与 Thunberg 的研究结果相似。本研究结果提示在急性白血病中 P2X7 受体可能主要发挥促进细胞增殖作用, 而 P2X7 基因 1513A/C 多态性可能与急性白血病的发生呈负相关。

参考文献:

[1] Gu BJ, Zhang W, Worthington RA, et al. A Glu-496 to Ala polymorphism leads to loss of function of the human P2X7 receptor [J]. J Biol Chem, 2001, 276(14): 11135-11142.

[2] Baricordi OR, Melchiorri L, Adinolfi E, et al. Increased proliferation rate of lymphoid cells transfected with the P2X7 (7) ATP receptor [J]. J Biol Chem, 1999, 274(47): 33206-33208.

[3] Adinolfi E, Melchiorri L, Falzoni S, et al. P2X7 receptor expression in evolutive and indolent forms of chronic B lymphocytic leukemia [J]. Blood, 2002, 99(2): 706-708.

[4] Wiley JS, Dao Ung LP, Gu BJ, et al. A loss-of-function polymorphic mutation in the cytosolic P2X7 receptor gene and chronic lymphocytic leukaemia: a molecular study [J]. Lancet, 2002, 359(9312): 1114-1119.

[5] Thunberg U, Tobin G, Johnson, et al. Polymorphism in the P2X7 receptor gene and survival in chronic lymphocytic leukaemia [J]. Lancet, 2002, 360(9349): 1935-1939.

表 1 急性白血病患者及正常对照者 P2X7 基因 1513 位点基因型

组别	A/A	A/C	C/C	C 等位基因频率*
患者 n=24	21(87.5%)	3(12.5%)	0	0.063
对照 n=42	26(61.9%)	15(35.7%)	1(2.4%)	0.202

* P = 0.046

收稿日期: 2004-12-31; 修回日期: 2005-03-18
作者单位: 250021 济南, 山东省立医院血液科

[编辑: 刘红武]