

APC基因MCR区突变与大肠肿瘤患者临床发病的关系

冯莉芳, 赖仁胜, 刘丽, 谢玲, 吴晓斌, 张树鹏, 唐翔, 耿建祥

■背景资料

随着纤维结肠镜技术的发展 and 普及, 肠道肿瘤的检出率逐年增高, 并且需要进一步检查 APC 基因突变分析突变类型的临床意义。APC 基因突变, 是大肠肿瘤发生的早期分子事件, 但稳定于肿瘤发生发展的全过程, 检测 APC 基因突变情况已成为肿瘤分子遗传学研究的重要内容。APC 基因第 15 外显子突变率高, 多集中在 5' 端, 是 APC 基因突变密集区 (MCR)。

冯莉芳, 南京中医药大学 江苏省南京市 210029
赖仁胜, 刘丽, 谢玲, 吴晓斌, 张树鹏, 唐翔, 南京中医药大学附属医院细胞分子生物学实验室/病理科 江苏省南京市 210029
耿建祥, 江苏省南京市中医院病理科 江苏省南京市 210001
作者贡献分布: 此课题由赖仁胜设计; 研究过程由冯莉芳, 刘丽, 谢玲, 吴晓斌, 张树鹏及唐翔操作完成; 研究所用新试剂及病例材料由赖仁胜, 刘丽, 冯莉芳及耿建祥提供; 数据分析由冯莉芳与赖仁胜完成; 本论文写作由冯莉芳与赖仁胜完成。
通讯作者: 赖仁胜, 210029, 江苏省南京市汉中中路 155 号, 南京中医药大学附属医院病理科/细胞分子生物学实验室。
lairenshe@163.com
电话: 025-86617141-70309
收稿日期: 2008-07-19 修回日期: 2009-01-06
接受日期: 2009-01-12 在线出版日期: 2009-02-18

Correlation of APC MCR mutation with colorectal neoplasms

Li-Fang Feng, Ren-Sheng Lai, Li Liu, Ling Xie, Xiao-Bin Wu, Shu-Peng Zhang, Xiang Tang, Jian-Xiang Geng

Li-Fang Feng, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Ren-Sheng Lai, Li Liu, Ling Xie, Xiao-Bin Wu, Shu-Peng Zhang, Laboratory of Cytology and Molecular Biology/Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Jian-Xiang Geng, Department of Pathology of the Hospital Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Ren-Sheng Lai, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. lairenshe@163.com
Received: 2008-07-19 Revised: 2009-01-06
Accepted: 2009-01-12 Published online: 2009-02-18

Abstract

AIM: To explore relationship of codon 1493, 1367 and 1328 mutations in mutation cluster region (MCR) of exon 15 of Adenomatous polyposis coli (APC) gene in cases of colorectal neoplasm with the family history.

METHODS: The specimens were prepared for DNA extraction from 21 colorectal adenoma specimens, 16 colorectal carcinoma, 20 healthy germline groups with positive familial history and 8 healthy germline groups without family history. Then MCR of APC gene exon 15 were specifically

amplified and sequenced by ABI3100 Genetic Analyzer, and the codon mutations were statistically analyzed among the 4 groups and variation genotypes, and then tested with Chi-square.

RESULTS: The codon mutations of APC MCR from total samples were three variations: 1493(ACG>ACA), 63/69(91.3%); 1367(CAG>TAG), 1/69(1.4%) and 1328(CAG>TAG), 5/69(7.2%) Four genotypes such as 4478 (G→A), 4478 (G/A), 4096 (C/T) and 3979 (C/T) were found out. Significant differences ($P < 0.05$) were noted between the adenoma group and non-family history group on the analysis of 4478 (G→A) and (G/A), also noted between family history group and no family history group on the analysis of 4478 (G→A). The significant differences ($P < 0.05$) in pathogenic mutant phenotypes were involved between 4478 (G→A) with 4478 (G/A), 4096 (C/T) and 3979 (C/T), respectively, also between 4478 (G/A) with 4096 (C/T) and 3979 (C/T), but not between 4096 (C/T) and 3979 (C/T).

CONCLUSION: The most frequently present 4478 (G→A) of 1493 (ACG>ACA) is the phenotype of positive history group and adenoma group. In researches, APC MCR codon 1367 and 1328 genotyping are significantly present only in somatic cells of the colorectal cancer genetic phenotypes.

Key Words: Adenomatous polyposis coli; Familial adenomatous polyposis; Colorectal neoplasm; Mutation cluster region

Feng LF, Lai RS, Liu L, Xie L, Wu XB, Zhang SP, Tang X, Geng JX. Correlation of APC MCR mutation with colorectal neoplasms. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(5): 532-537

摘要

目的: 探讨 APC 基因的第 15 外显子 MCR 区 (mutation cluster region) 的 1493, 1367 和 1328 位突变与大肠肿瘤患者 (阳性家族史) 临床发病的关系。

方法: 共提取 65 例标本的基因组 DNA, 包括 21 例结肠腺瘤标本组和 16 例结肠腺癌标本组, 20 例家族史阳性组和 8 例无家族史组。PCR 特异性扩增 APC 基因的第 15 外显子 MCR 区, 经 ABI3100 基因测序仪测序, 对密码子突变情况按 4 个标

■同行评议者

杜祥, 教授, 复旦大学附属肿瘤医院病理科; 李瑗, 教授, 广西肿瘤医院研究所

本分组和基因变异类型进行统计分析。

结果: 检出APC基因的三种密码子突变, 即密码子1493(ACG>ACA), 突变的发生率为91.3%(63/69), 密码子1367(CAG>TAG), 1.4%(1/69)和密码子1328(CAG>TAG), 7.2%(5/69)。共检出4种碱基变化, 4478 (G→A), 4478 (G/A), 4096 (C/T)and 3979(C/T)。4478位碱基G→A和4478位碱基G/A分别在腺瘤组与无家族史组的比较有显著性差异($P<0.05$), 4478位碱基G→A在家族史阳性组与无家族史组的比较也有显著性差异($P<0.05$)。基于临床病理突变表型, 四种核苷酸变化间经 χ^2 检验比较发现有显著性差异($P<0.05$)的是: 4478位G→A型突变分别与4478位G/A型突变、4096位C/T型突变和3979位C/T型突变之间, 4478位碱基G/A型突变分别与4096位C/T型突变和3979位C/T型突变之间, 而4096位C/T型突变和3979位C/T型突变比较无显著性意义。

结论: 密码子1493(ACG>ACA)的4478位(G→A)突变为各组最高频发的同义突变, 与阳性家族史和腺瘤表型有关。密码子1367(CAG>TAG)和1328(CAG>TAG)仅为腺瘤表型的体细胞无义突变。

关键词: 腺瘤性息肉病基因; 家族性腺瘤性息肉病; 大肠肿瘤; MCR区

冯莉芳, 赖仁胜, 刘丽, 谢玲, 吴晓斌, 张树鹏, 唐翔, 耿建祥. APC基因MCR区突变与大肠肿瘤患者临床发病的关系. 世界华人消化杂志 2009; 17(5): 532-537

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/532.asp>

0 引言

腺瘤性息肉病基因(adenomatous polyposis coli), 亦称APC基因, 是抑癌基因, 与家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)密切相关。以往文献有关MCR密集突变区突变类型和频率报道不一, 特别是缺乏突变类型与肿瘤发病的临床关联的报道。本文研究在正常体检人群, 腺瘤患者, 以及腺瘤患者中分组测定APC基因的胚系和体细胞的突变情况, 并进行病理发病分析。

1 材料和方法

1.1 材料 我们收集2005-01/2008-11的62例检测病例的标本, 男45例, 女17例, 年龄24-80(平均50)岁, 其中3个病例各用了2种标本, 所以共65个标本。病例及标本的分组情况见表1。28例体检标本组包括家族史阳性者标本组和无家族史组, 家族史

阳性的纳入标准为HNPCC国际合作组织1999年修订的Amsterdam标准。腺瘤组织及腺癌组织的石蜡标本及他们的新鲜组织标本归为体细胞, 其余归为胚系。62例病例中有2个病例各用腺瘤石蜡标本和腺癌石蜡标本, 分别纳入腺瘤组和腺癌组进行统计, 1例分别纳入腺癌石蜡标本和病例本人的正常组织石蜡标本, 分别归为体细胞标本组和胚系标本组, 其余病例只选择一种标本。即65例标本中3例为新鲜组织、29例石蜡组织, 其中肠镜标本为17例、33例为2 mL外周静脉抗凝血, 提取他们的基因组DNA。血液和组织细胞基因组DNA提取试剂盒(Promega公司); 石蜡组织基因组DNA提取试剂盒(Omega公司); ABI金牌PCR扩增酶/HotStarPCR酶(Qiagen); PCR纯化试剂盒(V-gene公司); 3100POP6测序胶(美国ABI公司); ABI测序专用板(96孔); ABI 3100-Avant基因测序仪(美国ABI公司)。

1.2 方法

1.2.1 DNA模板的提取: 用基因组DNA提取试剂盒按照说明提取DNA。琼脂糖凝胶电泳检测DNA纯度, 再用eppendorf核酸定量仪测定dsDNA浓度[260 nm吸光率大于0.05以上(DNA含量大于2.0 g/L), 吸光率 A_{260}/A_{280} 比值1.6-1.8之间, 320 nm波长处吸光率接近为0]。

1.2.2 PCR扩增和纯化: (1)引物的设计与合成: 根据NCBI确定候选目的基因片断序列(GeneID: 324), 利用GenBank上提供的序列(NM_000038)使用Oligo软件设计引物(上海生工合成), 扩增片段长度为1286 bp, 涵盖MCR。引物共4对, 分别为APC1-F(上游引物): AAC CAA GAA ACA ATA CAG AC, APC1-R(下游引物): GTT GAA TTT TCT TCA GGA GC; APC2-F: AAG TTC CAG CAG TGT CAC AG, APC2-R: GAT AGC CCT GGA CAA ACC AT; APC3-F: TTG CCA GCT CCG TTC AGA GT, APC3-R: TGA GTG CTC TGA GCC TCG AT; APC4-F: TGA TGG AGA ACT AGA TAC AC, APC4-R: GAA GAT GAC TAT GAA GAT GA。(2)PCR反应: PCR反应体系(总体积20 μ L)置ABI-2700型扩增仪中95℃预变性15 min, 用Touchdown PCR, 94℃变性50 s, 63℃-58℃退火1 min, 72℃延伸1 min, 共循环10次, 94℃变性50 s, 57℃退火1 min, 72℃延伸1 min, 共循环30次, 最后于72℃延伸10 min。(4)PCR产物纯化: PCR产物上样于15 g/L琼脂糖凝胶电泳, 溴乙锭染色, 应用荧光凝胶自动显像分析系统观察PCR扩增产物是单一目的条带, 根据V-gene公

■研究前沿

APC基因与肠道肿瘤的关系的研究以往多集中在APC基因蛋白表达及基因突变的检测, 各种突变类型与肠道肿瘤发生发展的关系不甚明了, 检测或分析数据也不完全相同或不能重复。

■相关报道

房殿春 *et al* 采用多重PCR、DGGE电泳和DNA测序技术检测76例大肠癌APC基因15外显子突变;采用PCR为基础的方法检测MSI. 探讨APC基因突变在大肠癌发生中的作用及与临床病理参数和微卫星不稳定性(MSI)的关系, 76例大肠癌中检出APC基因15外显子突变29例, 突变率为38.2%; APC基因突变多见于左侧大肠癌, 但与肿瘤大小、分化程度、浸润深度和临床病理分期无显著相关. 高频率微卫星不稳定性(MSI-H)大肠癌APC基因突变率显著低于低频率微卫星不稳定性(MSI-L)和微卫星稳定(MSS)大肠癌($P<0.05-0.01$)

■创新盘点

本试验设计正常人群, 家族史阳性及腺瘤、腺癌的胚系和体细胞对比研究, 分析APC基因MCR区突变的演变和临床意义. 对于深理解APC基因突变并应用于临床分子诊断有开拓意义.

表 1 病例及标本使用

标本分组	胚系标本			体细胞标本		临床肠道息肉数				病理诊断
	血液	石蜡正常组织	新鲜正常组织	石蜡肿瘤组织	新鲜肿瘤组织	单发	≤3	≤100	>100	
家族史阳性组	16	3	1	/	/	0	0	0	0	慢性炎、溃疡性结肠炎
无家族史组	8	0	0	/	/	0	0	0	0	慢性炎、无特殊病变
腺瘤组	6	0	0	14	1	14	2	3	2	管状腺瘤、绒毛状腺瘤、管状绒毛状腺瘤
腺癌组	3	1	0	11	1	8	3	4	1	溃疡型、浸润型

司提供的PCR清洁试剂盒(cat.No110310-25), 对PCR产物过柱纯化后进行测序反应.

1.2.3 测序反应: (1)反应体系: 1 μ L BigDye (2.5X)、1.5 μ L BigDye Seq Buffer(5X)、3 μ L 引物、1 μ L PCR纯化产物、3.5 μ L ddH₂O. (2)测序PCR热循环条件: 96 $^{\circ}$ C, 10 s(96 $^{\circ}$ C 10 s, 50 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 4 min), 共25个循环, 60 $^{\circ}$ C, 4 min, 4 $^{\circ}$ C保温. (3)测序产物纯化: 10 μ L反应体系, 96孔板, 酒精/EDTA/NaAc法. (4)基因测序: 上样至ABI 3100-Avant遗传分析仪进行电泳, Data collection 2.0软件自动进行数据处理和分析.

统计学处理 将测序结果用DNA sequencing analysis 5.1软件自动分析原始数据, 获得测序电泳图和序列, SeqScape分析软件与样品序列进行比对, 观察样本是否存在突变、缺失、多态性等改变; 采用 χ^2 检验进行数据分析.

2 结果

65例检测标本, 检出APC基因15外显子MCR区有63例突变, 突变率为96.9%(63/65), 共出现四种核苷酸突变类型, 突变发生次数为69次. 其中65次APC基因突变见于密码子1493位(ACG>ACA), 突变碱基为4478位, 有41例G转换为A(G→A)和22例为G与A杂合(G/A)两种; 其中见1例除了1493位突变, 还同时存在1367位密码子(CAG>TAG), 突变碱基为4096位, 为C与T杂合(C/T); 见5例除了1493位突变, 同时存在1328位密码子(CAG>TAG), 突变碱基为3979位, 为C与T杂合(C/T). 未发现颠换型突变(图1).

2.1 四组临床病理标本的APC基因MCR区突变情况 将65例APC基因检测标本按临床病理诊断结果分为腺瘤组、腺癌组和体检组, 体检组又分为家族史阳性组和无家族史组. 腺瘤组和腺癌组的突变率均为100%, 体检组的突变率为

92.9%(26/28), 未突变的两例全在无家族史组, 组间经 χ^2 检验比较差异无统计学意义($P>0.05$); 体细胞检测标本和胚系检测标本中除了两例无家族史标本全部发生了1493位突变, 体细胞检测中1例发生了1367位突变, 5例发生了1328位突变. 四种核苷酸突变类型分别在胚系组和体细胞组进行 χ^2 检验比较, 差别无显著性($P>0.05$, 表2).

2.2 四种APC基因15外显子MCR区核苷酸变化情况 由表可见, 腺瘤组和体检的两组以G→A转换为主, 腺癌组以G/A杂合较多. 密码子1367位和1328位都是无义突变, 即是腺瘤和腺癌体细胞检测标本组. 四种核苷酸变异情况在四组间的差异分别经 χ^2 检验比较, 发现有显著性意义($P<0.05$)的是: 4478位碱基G→A在腺瘤组与无家族史组以及家族史阳性组与无家族史组, 4478位碱基G/A在腺瘤组与无家族史组以及在腺癌组与无家族史组. 四种核苷酸变化间经 χ^2 检验比较, 发现4478位碱基G→A型突变分别与4478位碱基G/A型突变、4096位C/T型突变和3979位C/T型突变比较有显著性意义($P<0.05$), 4478位碱基G/A型突变分别与4096位C/T型突变和3979位C/T型突变比较有显著性意义($P<0.05$), 而4096位C/T型突变和3979位C/T型突变比较无显著性意义($P>0.05$, 表3).

3 讨论

APC基因位于染色体5q21, 长度为10.4 kb. APC基因所产生的无功能的截短蛋白的移码突变(68%)或无义突变(30%), 也称为截短型突变(truncated mutation), 主要分布在编码序列区前1/2, 前者包括: 无义突变、错义突变和拼接错误, 后者包括: 缺失和插入. 点突变大多数为C→T的转变, 且大部分集中在CpG和CpA位点上^[1]. 研究发现, APC基因最靠近5'端的突变(在外显子

表 2 四组临床病理标本的APC基因MCR区突变

分组	参加检测	发生突变	胚系检测					体细胞检测				
			参加检测	1493位突变		1367位突变	1328位突变	参加检测	1493位突变		1367位突变	1328位突变
				G→A	G/A				G→A	G/A		
腺瘤组	21	21	6	6	0	0	0	15	8	7	0	1
腺癌组	16	16	4	2	2	0	0	12	5	7	1	4
家族史阳性组	20	20	20	17	3	0	0	/	/	/	/	/
无家族史组	8	6	8	3	3	0	0	/	/	/	/	/

■应用要点
APC基因MCR区突变与大肠肿瘤临床发病关联分析有助于进一步认识APC基因各种主要突变类型与大肠肿瘤的发生关系,准确分析APC基因的突变及正确认识APC基因的临床意义,丰富了肠道肿瘤的遗传学研究基础,及对分子靶向药物的开发也有着重要意义。

表 3 四种APC基因15外显子MCR区核苷酸变化

密码子	碱基	核苷酸变化	发生突变	腺瘤组突变	腺癌组突变	家族史阳性组	无家族史组	突变类型	胚系组		体细胞组	
1493	4478	G→A	41	14	7	17	3	T1493T	38	28	27	13
		G/A	22	7	9	3	3	T1493T				
1367	4096	C/T	1	0	1	0	0	Q1367X		0		1
1328	3979	C/T	5	1	4	0	0	Q1328X		0		5

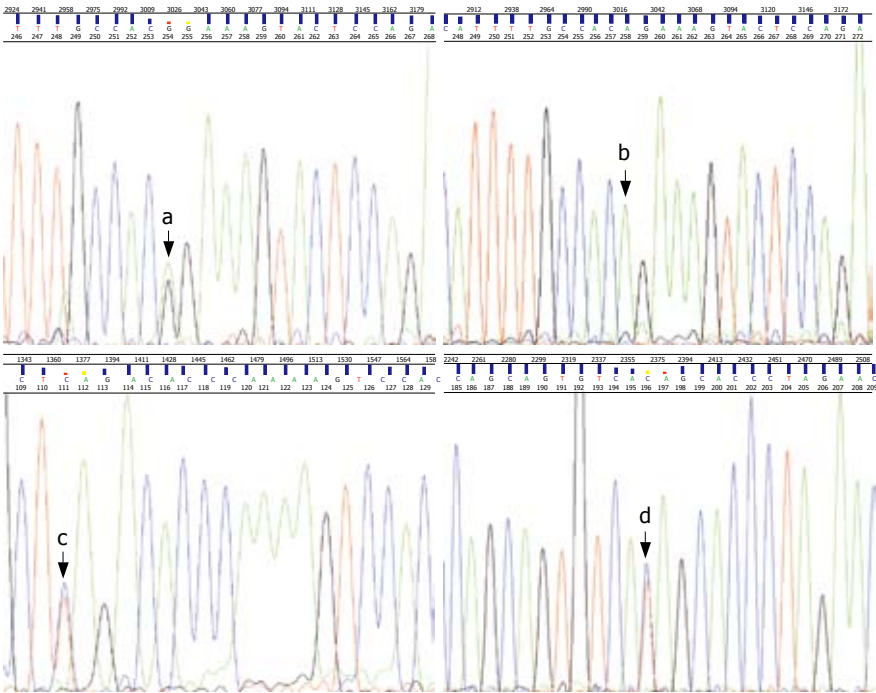


图 1 APC基因突变. 箭头所示为突变位点. a 箭头: 4478位G与A杂合(G/A); b箭头: 4478位G转换为A(G→A); c箭头: 1367位C与T杂合(C/T); d箭头: 1328位C与T杂合(C/T).

4或更近侧)产生轻型肿瘤表型, 而靠近3'端MCR的突变产生重型表型^[2]. 针对突变的研究方法有多重连接依赖性探针扩增(multiplex ligation-dependent probe amplification, MLPA)、聚合酶链反应-单链构象多态性分析(PCR-SSCP)、PCR-变性高效液相色谱技术(DHPLC)、变性梯度凝胶电泳(DGGE)、DNA直接测序(direct sequence)、截短蛋白检测(protein truncation

test, PTT)、微卫星标记PCR-LOH(loss of heterozygosity)分析方法等. 但上述对APC基因的生物学意义和技术方法的研究缺乏临床病理和循证医学大样本资料的验证, 对密码子1493位、1367位和1328位在正常与疾病患者群检出的频率和临床相关的外显率均有不同的报道.
本研究应用DNA直接测序技术检测65例包括正常体检组、腺瘤组和腺癌组的APC基

■名词解释

胚系突变:即生殖细胞突变或生殖系突变,可以携带父母遗传物质的各种突变,本文特指由血液、正常黏膜细胞发生的生殖遗传性突变。

因第15外显子MCR区突变情况,以期研究其发生频率、临床病理外显意义和碱基变化类型与临床病理标本之间的关系。65例标本中发生突变的有63例,总突变率为96.9%(63/65),且都发生了1493位密码子碱基替换,是同义突变(synonymous mutation),变异的发生率为91.3%(63/69),如此高的变异率在国内外文献中未见报道。另1例除了存在密码子1493同义突变,同时存在Q1367X,即密码子CAG从编码谷氨酰胺(Glutamine, Q)变为终止密码子TAG,为无义突变。认定其从正常细胞启动为癌细胞的始动遗传性致病基因属性。故对该例胚系进行检测,选择病理诊断不含腺瘤或腺癌组织的针对其正常黏膜石蜡标本再进行测序,结果仅有4478(G/A),未发现1367位密码子突变,即Q1367X可能是正常细胞启动为癌细胞的始动致癌属性的第二次突变,而4478(G/A)可能是体细胞第2次突变的伴随现象或是与其他临床病理过程相关的基础性突变。还有5例多发性息肉半腺癌存在4478位两种突变,同时存在Q1328X无义突变,突变的发生率为7.2%(5/69)。此5例标本的所属病例有共同点,即息肉数多,或癌变不止一处。同一FAP病例腺瘤阶段和腺癌阶段都存在1328位密码子无义突变,此病例全结肠布满息肉,其中三处癌变,此病例应该是家族性腺瘤性息肉病患者。终止密码无义突变的1367位和1328位密码子产生截短型蛋白,不能正常地发挥生理功能,导致细胞-细胞、细胞间质之间黏附作用以及接触抑制信号传递的改变,引起细胞分裂与细胞死亡之间的平衡失调,以致生长失控,成为形成结直肠癌的分子因素之一。腺瘤组中还有1例为全肠弥漫性息肉超过百余枚,病理诊断为高级别上皮内肿瘤,APC基因MCR区测序中只发现了4478位的同义突变,家族史中未有FAP现象,但文献报道20%的FAP病例无家族史^[3],不能排除其也存在其他的病理性突变如MYH基因因素等。

本研究中腺瘤组和腺癌组的突变率均为100%(37/37),体检组的突变率高达92.9%(26/28),未突变的两例在无家族史组,APC基因突变率在四组间经 χ^2 检验比较差异无统计学意义($P>0.05$),说明APC基因突变在健康人群和肿瘤人群中都是普遍存在的分子事件。但突变的类型差异与肿瘤和癌变有关,比如广泛存在的1493密码子同义突变有两种碱基变异方式,其中4478(G→A)在家族史和腺瘤中更多($P<0.05$)。

而4478(G/A)在散发性腺癌中多见,他们虽然属生化意义上同义突变但仍存在上述临床发病学的不同意义。

四种核苷酸变化情况在四组间的差异分别经 χ^2 检验比较,发现有显著性意义($P<0.05$)的是:4478位碱基G→A提示血液检测阳性者可能有腺瘤的风险和阳性家族史意义。4478位碱基G/A阳性者除了腺瘤风险尚注意有癌变趋势的风险。1493位密码子有G→A和G/A两种生化意义的同义突变,但临床分组有统计学意义。四种核苷酸变化间经 χ^2 检验比较突变频率4478(G→A)>4478(G/A)>3979(C/T)>4096(C/T)($P<0.05$)。腺瘤组和体检组以G→A转换(14/22和21/27)为主,腺癌组以G/A杂合(9/21)较多,不排除G/A杂合方式也是体细胞二次突变中存在的主要方式,值得在活检组织中进行分子病理检测,而且腺癌组织4478位G→A转换频率(7/16)低于腺瘤组织(14/22),提示癌变机制中1493位G→A突变可能并非癌变的主要相关方式,而是意义未明的SNP位点。健康体检病例中家族史阳性组的4478位G→A转换发生率高达17/20,而无家族史组显示该位点的发生率低至3/8,说明该位点与结直肠癌史有关。

分析本研究检出的无义突变仅在体细胞中1例发生了1367位突变,5例发生了1328位突变,都是截短型C/T型突变,说明1367位和1328位的无义突变可能是致癌的信号通路有重要意义。本研究中只有腺瘤和腺癌体细胞检测才发现了无义突变。提示选择胚系检测或体细胞检测来发现无义突变是有重大区别的。

关于密码子1493位、1367位和1328位的相关文献报道各有不同。杨吉龙 *etal*^[4]采用PCR-DHPLC-Sequence的方法分析韧带样型纤维瘤病中石蜡组织APC基因的突变,2例伴有FAP的韧带样型纤维瘤病中没有检出突变,而散发性病例中检出APC基因的体细胞突变,均为碱基转换或颠换,没有出现截短突变,共出现5种突变,突变率为26.1%(18/69),其中1493(ACG>ACA)与本研究中的突变类型相同。Wallis *etal*^[5]应用变性梯度凝胶电泳(DGGE)、截短蛋白检测(protein truncation test, PTT)、DNA直接测序(direct sequence)的方法,检测分析190例无亲缘关系的FAP患者和15例非FAP患者的APC基因的突变情况。1例发生了1493位密码子移码突变,突变多集中在碱基1395-1493段的序列,突变率87%。叶建新 *et al*^[6]应用聚合酶链反应-单链构象多态性

分析(PCR-SSCP)、DNA直接测序及微卫星标记PCR-LOH分析方法, 检测分析40例散发性结直肠癌大肠黏膜的APC基因的突变和杂合缺失. 所有突变均发现在第15外显子, 其中MCR区突变占76.3%(29/38), 共发现包括1367位密码子(CAG→TAG)的无义突变的5种突变. 袁平 *et al*^[7]经微解剖分离提取15例正常黏膜腺体、34例隐窝异常病灶(aberrant crypt foci, ACF)、15例腺瘤和35例结直肠癌组织进行DNA测序, 检测APC第15外显子MCR区的突变, 发现癌22.9%(8/35)和腺瘤26.7%(4/15)APC基因突变率相近. 有文献报道当突变发生在密码子1250以后, 通常位于外显子15G区的突变, 特别是密码子1309、1328突变常导致严重的临床表现, 如患者有大量息肉和更高癌变的风险^[8].

与我们的研究结果比较, 上述文献APC MCR突变区的突变率均较低, 可能与采用的标本和检测方法差异有关. 我们着重结合胚系、腺瘤和腺癌的临床病理背景初步分析了上述突变外显意义, 需要在临床诊断应用中进一步做

循证医学的观察和验证.

4 参考文献

- 1 黄凯. APC基因在肿瘤研究中的进展. 实用医技杂志 2003; 10: 404-407
- 2 刘晓蓉, 单祥年, Friedl W, Uhlhaas S, 李金田, Propping P, 王亚平. 应用蛋白截短技术检测APC基因胚系突变. 遗传学报 2005; 32: 903-908
- 3 师英强, 蔡宏, 莫善兢, 傅红, 杜春燕. 大肠家族性腺瘤性息肉病的治疗. 外科理论与实践 2003; 8: 193-194
- 4 杨吉龙, 王坚, 周晓燕, 侯英勇, 朱雄增. 韧带样型纤维瘤病Wnt通路中APC/ β -catenin基因异常. 中国癌症杂志 2006; 16: 859-863
- 5 Wallis YL, Morton DG, McKeown CM, Macdonald F. Molecular analysis of the APC gene in 205 families: extended genotype-phenotype correlations in FAP and evidence for the role of APC amino acid changes in colorectal cancer predisposition. *J Med Genet* 1999; 36: 14-20
- 6 叶建新, 许东坡, 李心翔. 散发性结、直肠癌APC基因杂合缺失和突变的研究. 中华实验外科杂志 2004; 21: 1209-1277
- 7 袁平, 孙孟红, 张锦生, 朱雄增, 施达仁. 结直肠粘膜隐窝异常病灶K-ras、APC基因突变的研究. 中华病理学杂志 2001; 30: 35-38
- 8 胡念平, 詹文华, 晏仲舒, 郭漫红, 吕新生. 家族性腺瘤性息肉病的基因型与表现型的关系初探. 中山大学学报(自然科学版) 2000; 39: 214-217

编辑 李军亮 电编 何基才

■同行评价

本文探讨APC基因MCR区突变与大肠肿瘤临床发病关联情况, 设计及实验方法合理, 结果明确, 讨论中肯, 有一定的学术价值.

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T_{1/2}不能写成tl/2或T_{1/2}, V_{max}不能V_{max}, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*), *Ilex pubescens* Hook, *et Arn.var.glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数K; 一些统计学符号(如样本数n, 均数mean, 标准差SD, F检验, t检验和概率P, 相关系数r); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如N, O, P, S, d, l)如n-(normal, 正), N-(nitrogen, 氮), o-(ortho, 邻), O-(oxygen, 氧, 习惯不译), d-(dextro, 右旋), p-(para, 对), 例如n-butyl acetate(醋酸正丁酯), N-methylacetanilide(N-甲基乙酰苯胺), o-cresol(邻甲酚), 3-O-methyl-adrenaline(3-O-甲基肾上腺素), d-amphetamine(右旋苯丙胺), l-dopa(左旋多巴), p-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写in vitro, in vivo, in situ; Ibid, et al, po, vs; 用外文字母代表的物理量, 如m(质量), V(体积), F(力), p(压力), W(功), v(速度), Q(热量), E(电场强度), S(面积), t(时间), z(酶活性, kat), t(摄氏温度, °C), D(吸收剂量, Gy), A(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), c(浓度, mol/L), φ (体积分数, mL/L), w(质量分数, mg/g), b(质量摩尔浓度, mol/g), l(长度), b(宽度), h(高度), d(厚度), R(半径), D(直径), T_{max}, C_{max}, V_d, T_{1/2} CI等. 基因符号通常用小写斜体, 如ras, c-myc; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.(常务副总编辑: 张海宁 2009-02-18)