

文章编号:1004 - 616X(2002)02 - 0101 - 06

论著 ·

O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶基因多态性与肿瘤易感性的关系

刘汝青^{1,2}, 庄志雄¹, 何春华¹, 何云³

(1. 中国预防医学科学院深圳研究中心, 广东 深圳 510020; 2. 中山医科大学公共卫生学院环境卫生教研室, 广东 广州 510080; 3. 中山医科大学公共卫生学院劳动卫生教研室, 广东 广州 510080)

【摘要】目的:探讨中国南方汉族人群 O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(MGMT) 基因 5 个外显子的多态性与肿瘤易感性的关系。**方法:**采用聚合酶链式反应(PCR)-单链构象多态性(SSCP)-DNA 直接测序法对 100 例正常人和 88 例肿瘤患者外周血白细胞进行 MGMT 基因多态性研究。**结果:**正常人群和肿瘤患者第 3 外显子第 84 位密码子的第 1 个碱基 C 被 T 所取代, 导致错义突变(CTT → TTT), 氨基酸由亮氨酸(Leu)变成了苯丙氨酸(Phe); 第 4 外显子第 94 位密码子的第 3 个碱基 C 被 T 所取代, 导致同义突变(TTC → TTT, 均编码 Phe)。这 2 个位点的多态性在 2 组人群中的检出率差异不存在统计学意义($P > 0.05$)。同时在肿瘤患者中还检测到 MGMT 基因第 5 外显子第 200 位密码子的第 2 个碱基 G 被 C 取代, 即 GGC → GCC, 所编码的氨基酸由甘氨酸变为缬氨酸, 这一多态不存在于正常对照中。**结论:**MGMT 基因第 3、4、5 外显子上存在着多态性, 其中第 3、4 外显子的多态改变与肿瘤形成的关系较弱, 而第 5 外显子的多态仅见于肿瘤患者, 可能与肿瘤的形成有关。

【关键词】O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(MGMT); 基因多态性; 肿瘤

中图分类号:R394.3;Q354 文献标识码:A

RELATIONSHIP BETWEEN GENETIC POLYMORPHISMS OF HUMAN O⁶-METHYL GUANINE-DNA METHYL TRANSFERASE (MGMT) GENE AND SUSCEPTIBILITY TO TUMORS

LIU Ru-qing^{1,2}, ZHUANG Zhi-xiong¹, HE Chun-hua¹, HE Yun³

者体内酶促及非酶促系统活力增强, 间接清除体内自由基, 减轻氧化损伤程度, 因此, Li₂CO₃ 具有一定的抗遗传、抗氧化损伤作用, 同时可降低抗肿瘤药物的骨髓毒作用。Li₂CO₃ 临床应用前景广阔, 其临床应用药剂量、周期及远期疗效有待于进一步深入研究。

致谢:参加此工作尚有李全芳、李炳福在此一并致谢。

参考文献:

- 1 杨毅勇, 张向东. 微量元素锂的生物学、药效学和毒性作用 J. 国外医学 医学地理分册, 1999, 20(3): 112 ~ 116.
- 2 张爱华, 张桥. 锂铍镉 3 种金属化合物的诱变作用研究 J. 微量元素与健康研究, 1995, 12(5): 3 ~ 5.
- 3 张爱华, 黄晓欣, 陆爽, 等. 碳酸锂的抗诱变作用及抗癌作用机理研究 J. 国外医学 临床生物化学与检验学分册, 1999, 20(增刊): 142 ~ 143.
- 4 张爱华, 黄晓欣, 罗鹏, 等. 碳酸锂对荷瘤鼠的抑瘤防瘤及抗氧化作用研究 J. 卫生研究, 1998, 27(2): 77 ~ 80.
- 5 包兴才. 碳酸锂升白细胞作用机理及临床应用进展 J. 中国医院药学杂志, 1990, 10(1): 277.
- 6 吴易元, 蔡冬坡, 杨旭皓, 等. 锂对免疫系统的调节作用 J. 中国肿瘤, 1996, 5(7): 32.
- 7 黄晓欣, 张爱华, 罗鹏, 等. 碳酸锂对环磷酰胺的抑瘤防瘤及毒副作用的影响 J. 癌变 畸变 突变, 1998, 10(2): 85 ~ 89.
- 8 孟紫强, 张连珍. 应用单细胞凝胶电泳技术研究细胞 DNA 损伤的原理方法 J. 癌变 畸变 突变, 1998, 10(6): 377 ~ 382.
- 9 罗鹏, 张爱华, 洪峰, 等. 燃煤污染型砷中毒患者体内氧化与抗氧化系统损伤的观察 J. 中国地方病学杂志, 2000, 19(1): 10 ~ 12.
- 10 张遵真, 衡正昌, 廖艳, 等. 慧星试验检测间接诱变剂对小鼠睾丸细胞的 DNA 损伤 J. 癌变 畸变 突变, 2001, 13(1): 4 ~ 7.

收稿日期: 2001-08-17; 修订日期: 2001-10-12

作者简介: 刘汝青(1975-), 女, 广东省中山市人, 助教, 硕士, 现中山医科大学任教, 研究方向为毒理学。

Tel: 020-87331596, E-mail: liuruqing@163.net

(1. The Shenzhen Research Center of the Chinese Academy of Preventive Medicine, Shenzhen 518020, China; 2. Department of Environmental Health, the School of Public Health, Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China; 3. Department of Occupational Health, the School of Public Health, Sun Yat-Sen University of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

【Abstract】 Purpose : To investigate the polymorphisms of exons 1 ~ 5 in human O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) gene and their relationship with the susceptibility to tumors. **Methods :** The polymorphisms of exons 1 ~ 5 were analyzed with polymerase chain reaction (PCR)-single strand conformation polymorphism (SSCP) and DNA sequencing in 188 Chinese Han people (100 healthy people and 88 tumor patients). **Results :** A polymorphism of exon 3, a C-to-T missense mutation, was detected at the first base of codon 84 (CTT TTT, Leu Phe), and a polymorphism of exon 4, a C-to-T same sense mutation, was found at the third base of codon 94 (TTC TTT, both encode Phe). There was no statistical significance of the polymorphisms of the two sites between the two groups ($P < 0.05$). Besides, there was a missense mutation of exon 5 in the tumor people, that is, a G-to-C change of the second base at codon 200 (GGC GCC, Gly Ala). This polymorphism didn't exist in the normal people. **Conclusion :** There were the polymorphisms of exons 3, 4 and 5 in MGMT gene. The relationship between the polymorphism of exon 3 or 4 and tumorigenesis might be weak. The polymorphism of exon 5 only existed in the tumor people, which indicated that the polymorphism might be correlated with carcinogenesis.

【Key words】 O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase; genetic polymorphism; tumor

人 O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶 (O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT) 基因全长约 170 kb, 由 5 个外显子组成。其中第 1 外显子为转录的起始区, 第 2 ~ 5 外显子为编码区, 第 5 个外显子的半胱氨酸 Cys-145 为其活性位点¹。MGMT 是承担 DNA 损伤直接修复最重要的酶, 对保护细胞免受烷化剂损害, 防止细胞癌变和死亡具有极为重要的作用。使 DNA 修复蛋白的数量或活性改变的基因多态性是造成不同个体间 DNA 修复能力差异的主要原因之一。研究表明, MGMT 基因的多个外显子均存在多态性, 但在不同种族、不同人群中, 其多态性表现在不同的外显子上^{2~5}。因此, 探讨 MGMT 基因外显子的多态性, 对进一步明确该基因的功能及其与肿瘤易感性的关系有重要意义。因为 MGMT 基因存在于体内多种组织中, DNA 烷基化损伤导致的致突变、致癌效应并没有组织特异性, 当正常 DNA 修复功能变化时, 人体内各种器官组织都有可能发生突变的积累, 肿瘤易感性都会升高⁶。目前国内外还没有研究发明该基因与何种肿瘤的关系密切, 因此本研究选取了消化、呼吸和生殖 3 大系统的 6 大类肿

瘤进行了初步的研究, 旨在检测中国南方汉族肿瘤病人中是否存在 MGMT 基因多态性, 初步探讨其与肿瘤易感性的关系, 为进一步的研究提供线索。

1 材料与方法

1.1 样本采集 随机收集 1997 ~ 2000 年在中山医科大学附属第一医院住院并经病理确诊的肿瘤患者外周血标本 88 例 (宫颈癌 14 例, 卵巢癌 10 例, 肠癌 11 例, 胃癌 10 例, 肝癌 13 例, 肺癌 30 例), 其中男 45 例, 女 43 例, 平均年龄为 (49.47 ± 12.40) 岁。从定期常规体检的人中随机挑选 100 名各系统全面检查均正常的健康者作为对照, 对照组的年龄、性别分布与病例组相近, 而且都是居住在广东省的汉族人, 见表 1。所有血液样本均用枸橼酸钠抗凝。

1.2 实验方法

1.2.1 DNA 制备 用经典酚-氯仿法抽提白细胞基因组 DNA, 溶于 1 × TE 缓冲液。紫外分光光度计检测浓度和纯度。光吸收值 (260 nm/280 nm) 在 1.8 ~ 2.0 之间, 认为 DNA 纯度合格。其余于 -20 °C 保存、备用。

表 1. 样本的人群特征

Table 1. Population characters of samples

Character	Control subject (n=100)	Tumor patient (n=88)	P value
Sex			
Male	53	45	0.457
Female	47	43	
* Age (year)	48.98 ±6.47	49.47 ±12.40	0.226
Smoking status (piece/day)			
>20	3	6	0.439
1~20	19	18	
0	78	64	
Drinking status			
Everyday drinking	6	4	0.053
Occasional drinking	23	9	
Never drinking	71	75	
Tumor family history			
Yes	6	8	0.421
No	94	80	

* t-test; Others: ²-test

1.2.2 MGMT 基因第 1~5 外显子聚合酶链反应-单链构象多态性 (polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism, PCR-SSCP) 分析 根据已确定的人 MGMT 基因 cDNA⁷ 和内含子/

外显子连接序列¹, 用 Williamstone 引物设计软件设计 MGMT 基因第 1~5 外显子的引物。引物及 PCR 反应物由加拿大真达公司合成。取 PCR 产物变性后上样于 8%~12% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶, 电泳, 银染。阳性结果样本进行 3~4 次 PCR-SSCP-银染重复试验。引物序列、预计产物大小和反应条件见表 2、3。

表 2. MGMT 基因外显子引物序列

Table 2. P rimer sequences of the exons of the MGMT gene

Exon	Primer sequence	Product
1	forward 5 aggtgctgagactgcctcagg 3	319 bp
	reverse 5 acactcaccaagtcgcaaagc 3	
2	forward 5 atacttactcagctgcagac 3	183 bp
	reverse 5 aggtacttggaaaaatggac 3	
3	forward 5 ctaagccctgttctcactttt 3	168 bp
	reverse 5 gaaaacgggatggtgaagag 3	
4	forward 5 accagacaggtgttattgaag 3	140 bp
	reverse 5 gaactcacaggattgcctctc 3	
5	forward 5 gacagtggctgccccctgt 3	319 bp
	reverse 5 cccaggacactgccacttct 3	

表 3. MGMT 基因外显子 PCR-SSCP 反应条件

Table 3. PCR-SSCP reactive conditions of the exons of the MGMT gene

Exon	PCR reactive conditions	Agarose gel	SSCP reactive condions
1	97 8 96 60 60 90 72 60 72 7 └── 35 cycles ──┘	1.50 %	120 V 100, 150 V 200, 180 V 180
2	95 5 94 45 57 45 72 60 72 7 └── 30 cycles ──┘	2.00 %	120 V 150, 150 V 210
3	95 5 94 45 57 45 72 60 72 7 └── 30 cycles ──┘	2.00 %	120 V 150, 150 V 210
4	95 5 94 40 55 40 72 40 72 7 └── 30 cycles ──┘	2.00 %	120 V 360
5	95 5 94 40 65 40 72 40 72 7 └── 30 cycles ──┘	1.50 %	150 V 210

1.2.3 DNA 序列测定 采用 ABI377 全自动基因分析仪(美国 Applied Biosystem. Inc. 公司)分别对 MGMT 基因各外显子 PCR-SSCP 分析异常的全部样本的 PCR 产物进行 DNA 序列测定。各类人群中各随机抽取 2 例 PCR-SSCP 分析无异常的样本进行同样的处理。

1.3 数据处理及统计学分析

按文献 8 对群体数据作 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检测。不同群体间的比较用 ² 检验和 t 检验。统计学分析用 SPSS 软件包进行。P < 0.05 作为差异有显著性的检验标准。

2 结果

2.1 PCR 扩增结果

琼脂糖凝胶电泳结果显示 100 例正常人和 88 例肿瘤患者的 MGMT 基因第 1~5 外显子均得到成功扩增, PCR 反应产物均为单一区带。第 1 和 5 外显子的产物略大于 300 bp, 第 2~4 外显子的产物在 100~200 bp 之间, 大小与文献报道^{1,7} 相当。

2.2 SSCP 分析结果

第 3 外显子的 PCR 产物经 SSCP 分析发现 2 种稳定出现的带型: 15 例肿瘤患者(肺癌 4 例, 肝癌和

胃癌各 3 例,肠癌和宫颈癌各 2 例,卵巢癌 1 例)和 11 例正常人样本的 SSCP 结果异常,显示 3 条变性单链带(异常泳动带位于 2 条正常单链带的前方);其余肿瘤患者和全部正常人样本的 SSCP 结果显示 2 条变性单链带(异常泳动带位置在 2 条正常单链带的前方);其余 SSCP 结果显示 2 条变性单链带。第 4 外显子的 PCR 产物经 SSCP 分析亦发现 2 种稳定出现的带型:8 例肿瘤患者(肺癌 3 例,肠癌 2 例,肝癌、胃癌和卵巢癌各 1 例)和 5 例正常人样本的 SSCP 结果异常,显示 3 条变性单链带(异常泳动带位置在 2 条正常单

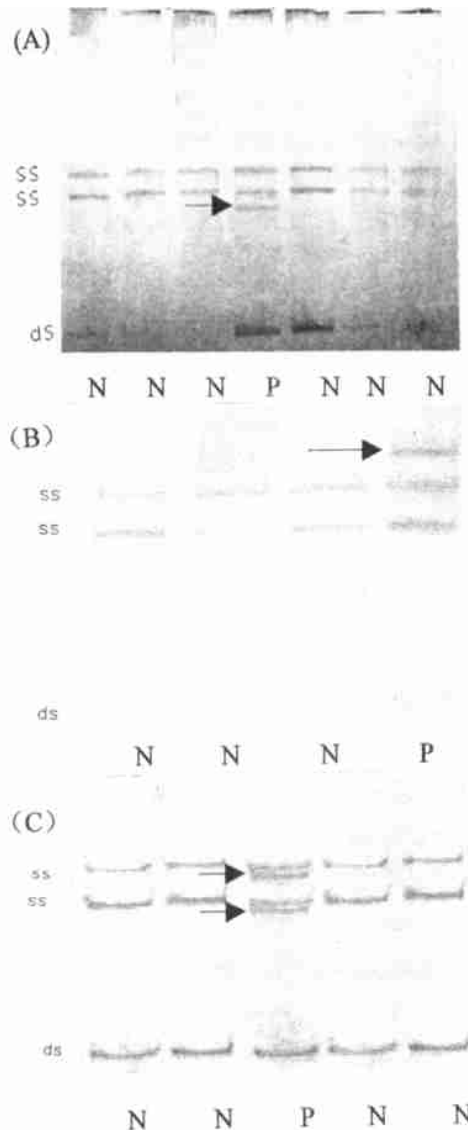


图 1. MGMT 基因第 3(A)、4(B)、5(C) 外显子 SSCP 电泳图
 Figure 1. SSCP electrophoresis of exons 3(A), 4(B) and 5(C) of MGMT gene
 N: normal type; P: polymorphism type; ss: normal single strand; ds: double single strand; Arrow: abnormal migration band

链带的后方);其余 SSCP 结果显示 2 条变性单链带。第 5 外显子的 PCR 产物经 SSCP 分析可见 2 种稳定出现的带型:5 例肿瘤患者(胃癌 2 例,肝癌、肠癌和

卵巢癌各 1 例)的 SSCP 结果异常,显示 4 条变性单链带(异常泳动带分别位于正常单链带的前方);其余肿瘤患者和全部正常人样本的 SSCP 结果显示 2 条变性单链带(见图 1)。第 1、2 外显子的 SSCP 分析均显示 2 条变性单链带,均不存在异常泳动带。

2.3 DNA 自动测序结果

经 DNA 自动测序仪分析与有关文献 1,7 比较发现,第 1、2 外显子的 DNA 序列与文献 1,7 一致,MGMT 基因的第 3~5 外显子均存在多态现象(表 4)。第 3 外显子 SSCP 结果异常者的第 125 位点(第 84 位密码子 CTT 中的第 1 个碱基)上同时存在着 C、T 碱基的杂合子突变,而 SSCP 结果正常者的第 125 位点上只存在 C 碱基。第 84 位密码子若由 CTT TTT,所编码的氨基酸就由亮氨酸(Leu)变为苯丙氨酸(Phe)。第 4 外显子 SSCP 结果异常者的第 8 位点(第 94 位密码子 TTC 中的第 3 个碱基)上同时存在着 C、T 碱基的杂合子突变,而 SSCP 结果正常者的第 8 位点上只存在 C 碱基。第 94 位密码子即使由 TTC TTT,所编码的氨基酸也不发生改变。所有检测样本的第 5 外显子的 5' 端内含子处均缺少 10 个碱基。第 5 外显子 SSCP 结果异常者的第 185 位点(第 200 位密码子 GGC 中的第 2 个碱基)上同时存在 G、C 碱基的杂合子突变,而 SSCP 结果正常者的第 185 位点上只存在 G 碱基。第 200 位密码子若由 GGC GCC,所编码的氨基酸就由甘氨酸(Gly)变为缬氨酸(Ala)。

表 4. MGMT 基因多态性

Table 4. Polymorphisms of the MGMT gene						
Exon	Codon	Nucleotide change		Amino acid change		Mutation
3	84	CTT	TTT	Leu	Phe	missense
4	94	TTC	TTT	Phe	Phe	same sense
5	200	GGC	GCC	Gly	Ala	missense

2.4 MGMT 基因多态性与肿瘤的关系

MGMT 基因第 3 外显子共检出 2 个等位基因 C、T,2 种基因型 CC、CT。第 4 外显子也检出 2 个等位基因 C、T,2 种基因型 CC、CT。中国南方汉族肿瘤患者和正常人群的 MGMT 基因第 3、4 外显子的

基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律 ($P > 0.05$)。2 组人群的 *MGMT* 基因第 3、4 外显子的基因型频率和等位基因频率的分布差异均不存在显著性 ($P > 0.05$)。*MGMT* 基因第 5 外显子共检出

2 个等位基因 G、C, 2 种基因型 GG、GC。其中, C 等位基因仅见于个别肿瘤患者, 其检出率与正常对照组相比, 差异存在统计学意义 ($P < 0.05$)。详见表 5。肿瘤的类型及其多态位点的情况见表 6。

表 5. *MGMT* 基因多态性与肿瘤的关系

Table 5. Relationship between the polymorphisms of the *MGMT* gene and the tumors

Group	n	Genotype frequency (%)						Allele frequency (%)					
		Exon 3		Exon 4		Exon 5		Exon 3		Exon 4		Exon 5	
		CC	CT	CC	CT	GG	GC	C	T	C	T	G	C
Control	100	89.0	11.0	95.0	5.0	100.0	0.0	94.5	5.5	97.5	2.5	100.0	0.0
Tumor patient	88	83.0	17.0	90.9	9.1	94.3	5.7	91.5	8.5	95.4	4.6	97.2	2.8
Gynecologic tumor	24	87.5	12.5	95.8	4.2	95.8	4.2	93.8	6.2	97.9	2.1	97.9	2.1
Digestive system	34	76.5	23.5	88.2	11.8	88.2	11.8	88.2	11.8	94.1	5.9	94.1	5.9
Lung cancer	30	86.7	13.3	90.0	10.0	100.0	0.0	93.3	6.7	95.0	5.0	100.0	0.0

1. P both > 0.5 in control people and tumor patients tested by Hardy-Weinberg equilibrium
2. No significant difference in either genotypes or allele frequencies of exon 3 or 4 of the *MGMT* gene was observed between control and tumor groups, and between controls and subjects with gynecologic tumors, digestive system tumors and lung cancer, respectively, by χ^2 -test ($P > 0.05$).
3. Significant differences in either genotypes or allele frequencies of exon 5 were found between control and tumor groups, and between controls and subjects with gynecologic tumors and digestive system tumors, respectively, tested by exact probabilities in 2×2 table ($P < 0.05$).

表 6. 肿瘤的类型及其多态位点出现的情况

Table 6. Types of tumors and their polymorphisms

Type	No.	No. of polymorphisms		
		Exon 3	Exon 4	Exon 5
Carcinoma of cervix	14	2	0	0
Ovarian malignant tumor	10	1	1	1
Intestine cancer	11	2	2	1
Stomach cancer	10	3	1	2
Liver cancer	13	3	1	1
Lung cancer	30	4	3	0

The polymorphisms of exons 4 and 5 existed simultaneously in one liver cancer patient.

3 讨论

本研究在中国南方汉族肿瘤人群中检出了人 *MGMT* 基因的 3 个多态位点, 这 3 个位点的多态均表现为杂合子突变。其中 1 个多态位点位于第 3 外显子上, 表现为第 84 位密码子的第 1 个碱基由 C → T, 从而使 CTT 被 TTT 所取代, 编码的氨基酸由亮氨酸 Leu 转变为苯丙氨酸 Phe, 其检出率与文献报道相当³。另 1 个多态位点位于第 4 外显子上, 表现为第 94 位密码子的第 3 个碱基由 C → T, 密码子由 TTC → TTT, 均编码 Phe, 为同义突变。还有 1 个位

于第 5 外显子上, 表现为第 200 位密码子的第 2 个碱基由 G → C, 从而使 GGC → GCC, 编码的氨基酸由甘氨酸 Gly 转变为缬氨酸 Ala。后 2 种多态性改变至今未见类似报道, 是新发现的多态性。在本研究中, 肿瘤患者和正常人群的这 3 个位点的基因型频率分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡, 说明样本数据具有良好的代表性。

近年来, *MGMT* 基因多态性与肿瘤的关系的研究已受到国内外专家学者的重视。最先被检测到的 *MGMT* 基因多态现象发现于日本居民。1995 年 Imai 等² 发现在 12 例年轻癌症患者中有 3 例的 *MGMT* 基因第 5 外显子 160 位密码子由 GGA → AGA, 从而使 Gly 被 Arg 所取代, 其检出率与对照组相比差异无显著性, 他们估计约 15% 的人存在这种基因多态性。1996 年 Otsuka 等³ 报道了 *MGMT* 基因第 3 外显子第 65 位和第 84 位密码子的多态性改变(前者使 Trp 被 Cys 取代, 后者使 Leu 被 Phe 取代), 此外, 他们还发现第 3 和第 5 外显子上均存在着同义突变(171 C → T, 579 G → A), 这些多态性改变在结肠癌患者和正常对照组中的检出率差异均无显著性。1998 年王立东等⁴ 证实在中国食管癌患者中存在第 3 外显子 Leu-84 → Phe 的多态现象, 其检出率

为正常对照组差异无显著性。本研究在肺癌、宫颈癌、卵巢癌、肠癌、胃癌和肝癌等肿瘤患者中也检出了 Leu-84 phe 的多态现象,并检出了一个新的多态位点——第 4 外显子的第 94 位密码子的第 3 个碱基 C 被 T 取代。这 2 个多态位点在肿瘤患者中的检出率与正常对照组相比差异均不存在显著性 ($P > 0.05$),提示这 2 种多态与肿瘤的发生可能没有显著的关联。虽然以上的研究都没有得出有显著性差异的结果,但并不表明 *MGMT* 基因的多态性与肿瘤易感性无关,出现这种情况的原因可能是因为分析的样本量较小,或者是有关的多态位点在 *MGMT* 基因其他的外显子或非编码区上,也有可能与所研究的肿瘤无关,但与别的肿瘤有关。

王立东等⁴发现有 2.0% 的食管癌患者的第 5 外显子的第 143 位密码子发生错义突变,使 ATC(异亮氨酸)变为 GTC(缬氨酸)。这种变化与第 178 位密码子上的多态改变同时存在,后者使 AAG(赖氨酸)变为 AGG(精氨酸)。这种多态性的改变只见于食管癌患者,在其对照组中没有发现这种多态,提示这种多态性的改变可能与食管癌的发生有关。1999 年, Rusin 等⁵在波兰肺癌患者的 *MGMT* 基因 59 bp 增强子区也检出了 3 个多态位点, 1034 A G、1099 C T 和 79 G T,而在正常对照组中没有发现这类多态,提示增强子区的这 3 个多态位点可能与肺癌的发生有关。本研究还发现了另 1 个新的多态位点,第 5 外显子的第 200 位密码子由 GGC(甘氨酸)变为 GCC(缬氨酸)。这种多态在中国汉族正常人群和肺癌患者中均未检出,但存在于另一些肿瘤患者中(卵巢癌 1/10、肠癌 1/11、胃癌 2/10、肝癌 1/13)。由于样本例数太少,不能肯定第 200 位密码子的这种多态是否与上述肿瘤的形成有关,但因其仅见于肿瘤患者,故不能排除这种可能性。这一研究结果为进一步的研究提供了极为有意义的线索和方向。

结合本研究结果和有关文献,我们发现 *MGMT* 基因的多态性主要表现为同义突变和错义突变,而且多为单个碱基的变异。点突变所致的单一氨基酸替换,如果发生在关键区域,可显著改变蛋白质的结构和功能。弄清楚 *MGMT* 基因变异的特征是理解其多态现象意义的关键。Inoue 等用生物学方法证实

V1 蛋白 (Leu84Phe) 与野生型蛋白有着相类似的酶学和生理化学特征,其与肿瘤形成的关系较弱⁹。第 4 外显子的多态性表现为同义突变,没有引起所编码氨基酸的改变,一般认为没有病理意义。这些进步说明这 2 个多态位点与肿瘤易感性的关系较弱。而第 200 位密码子多态现象的功能意义有待进一步的探讨,可能因此而使 *MGMT* 的结构发生变化,修复功能发生障碍,从而有利于环境烷化剂对细胞的毒害作用,有利于突变和肿瘤的发生。

参考文献:

- 1 Nakatsu Y, Hattori K, Hayakawa H, *et al.* Organization and expression of the human gene for O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase J. *Mutat Res*, 1993, 293: 119 ~ 132.
- 2 Imai Y, Oda H, Nakatsuru Y, *et al.* A polymorphism at codon 160 of human O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase gene in young patients with adult type cancers and functional assay J. *Carcinogenesis*, 1995, 16: 2441 ~ 2445.
- 3 Otsuka M, Abe M, Nakabeppu Y, *et al.* Polymorphism in the human O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase gene detected by PCR-SSCP analysis J. *Pharmacogenetics*, 1996, 6: 361 ~ 363.
- 4 王立东, 邹建湘, 洪钧言, 等. 食管癌患者 O⁶-烷剂鸟嘌呤-DNA 烷基转移酶基因多态性研究 J. *华人消化杂志*, 1998, 6: 560 ~ 563.
- 5 Rusin M, Samojedny A, Harris C, *et al.* Novel genetic polymorphisms in DNA repair genes; O⁶-methylguanine-DNA methyltransferase (*MGMT*) and N⁷-methylpurine-DNA glycosylase (*MPG*) in lung cancer patients from Poland J. *Hum Mutat*, 1999, 14: 269 ~ 270.
- 6 Modrich P, Lahue R. Mismatch repair in replication fidelity, genetic recombination, and cancer biology J. *Annu Rev Biochem*, 1996, 65: 101 ~ 133.
- 7 Tano K, shiota S, Collier J, *et al.* Isolation and structural characterization of a cDNA clone encoding the human DNA repair protein for O⁶-alkylguanine J. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, 87: 3253 ~ 3259.
- 8 Hou YP, Drinz M, Stack M. Comparison of different tests for deviation from Hardy-Weinberg equilibrium of AMFLP population data A. Bar W, Fiori A, Rossio U. *Advances in Ferersic Heamo genetics 5 M*. Berlin, Heideberg, New York: Springer-Verlag, 1994. 511 ~ 514.
- 9 Inoue R, Abe M, Nakabeppu Y, *et al.* Characterization of human polymorphic DNA repair methyltransferase J. *Pharmacogenetics*, 2000, 10: 59 ~ 66.