

· 临床研究 ·

AIP 基因在散发性泌乳素型垂体腺瘤中的单核苷酸多态性分析

胡业帅¹, 常永凯²

1. 首都医科大学三博脑科医院神经外科三病区, 北京 100093;

2. 首都医科大学附属复兴医院神经外科, 北京 100038

摘要: **目的** 探讨芳烃受体相互作用蛋白(AIP)基因在散发性泌乳素型垂体腺瘤中的单核苷酸多态性(SNPs)。**方法** 回顾性分析 2008 年 9 月至 2018 年 8 月收治的 43 例散发性泌乳素型垂体腺瘤患者(实验组)及 43 例健康人(对照组)的临床资料,并留取其外周血样本进行聚合酶链式反应,同时分别提取 AIP 基因外显子的 DNA 进行测序,对比分析两组样本中 AIP 基因的 SNPs 差异。所有实验均重复三次。**结果** 实验组中共有 8 例(18.6%)患者被检测出存在 5 种不同的 SNPs,分别为 7051C>T(第 4 外显子序列,由 C 突变为 T,其基因型为 CT 杂合型);7318C>A(第 5 外显子序列,由 C 突变为 A,其基因型为 CA 杂合型);7886A>G(第 6 外显子序列,由 A 突变为 G,其基因型为 AG 杂合型);8012G>C 及 8020G>C(第 6 外显子序列,由 G 突变为 C,其基因型为 GC 杂合型)。其所相应编码的氨基酸均无改变。对照组 43 例样本中均未检测出 SNPs。**结论** 尽管 AIP 基因的 SNPs 在散发性泌乳素型垂体腺瘤中被检测出,但由于该基因出现 SNPs 的概率较低,因而初步判定该基因的 SNPs 与该型肿瘤的发生无明显相关性。

关键词: 单核苷酸多态性; 芳烃受体相互作用蛋白基因; 垂体腺瘤; 泌乳素; 散发性

中图分类号: R 736.4 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2019)04-0501-04

Single nucleotide polymorphisms of AIP gene in sporadic prolactin-type pituitary adenoma

HU Ye-shuai*, CHANG Yong-kai

* The Third Ward of Neurosurgery Department, Sanbo Brain Hospital Capital Medical University, Beijing 100093, China

Abstract: Objective To investigate the single nucleotide polymorphisms(SNPs)of aryl hydrocarbon receptor interacting protein (AIP) gene in sporadic prolactin pituitary adenomas. **Methods** The clinical data of 43 patients with sporadic prolactin-type pituitary adenoma (experimental group) and 43 healthy volunteers (control group) admitted from September 2008 to August 2018 were retrospectively analyzed. Peripheral blood samples were collected for polymerase chain reaction. DNA in exons of AIP gene was extracted for sequencing. SNPs of AIP gene were analyzes and compared between two groups. All the experiments were repeated three times. **Results** In experimental group, 8 patients (18.6%) were identified to have five different SNPs; 7051C>T (exon-4 sequence, mutated from C to T, CT heterozygous genotype), 7318C>A (exon-5 sequence, mutated from C to A, CA heterozygous genotype), 7886A>G (exon-6 sequence, mutated from A to G, AG heterozygous genotype), 8012G>C and 8020G>C (exon 6 sequence, mutated from G to C, GC heterozygous genotype). No change was found in the corresponding coding amino acids. No SNPs in AIP gene were identified in control group. **Conclusions** Although SNPs of AIP gene can be detected in sporadic prolactin-type pituitary adenomas, low probability of SNPs appears in this gene. Therefore, it is judged preliminarily that mutations in AIP gene might not have an important role in the occurrence of sporadic prolactin-type pituitary adenomas.

Key words: Single nucleotide polymorphism; Aryl hydrocarbon receptor interacting protein; Pituitary adenoma; Prolactin; Sporadic

垂体腺瘤是一种常见的颅内疾病,其人群发病率约为 16.7%^[1],约占颅内肿瘤的 15%^[2-3],其中散发

性泌乳素型垂体腺瘤是较常见的一类亚型,但其病因及发病机制尚不明确。近期国外报道,芳烃受体相互

作用蛋白 (aryl hydrocarbon receptor interacting protein, AIP) 基因的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) 可能与家族性泌乳素型垂体腺瘤的发生有关,但对散发性泌乳素型垂体腺瘤的研究尚未见诸报道。本研究对首都医科大学三博脑科医院、首都医科大学附属复兴医院神经外科于 2008 年 9 月至 2018 年 8 月收治的 43 例散发性泌乳素型垂体腺瘤患者及 43 例健康人进行了 AIP 基因 SNPs 的相关研究,现回顾性分析报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 实验组共 43 例,男 23 例(53.5%),女 20 例(46.5%);年龄为 20~48(35.6±5.6)岁;其中微腺瘤(直径<1 cm)7 例,大腺瘤(1 cm≤直径<3 cm)28 例,巨大腺瘤(直径≥3 cm)8 例。所有患者均被术后病理确诊为泌乳素型垂体腺瘤,且无家族病史,未进行任何治疗,实验室检查仅泌乳素高于正常水平,余激素均正常。另选择 43 例健康人为对照组,男 21 例(48.8%),女 22 例(51.2%);年龄为 18~51(33.1±4.0)岁;均无任何内分泌、家族性疾病及任何可能影响本研究的病史。两组一般资料比较无统计学差异(P 均>0.05)。本研究经医院伦理委员会批准,所有人员均已签署知情同意书。

1.2 泌乳素型垂体腺瘤患者临床特征 头痛 32 例,恶心呕吐 18 例,肢端肥大 19 例,头晕 14 例,视力、视野障碍 24 例,多尿或尿崩 14 例,体检发现且无明显症状者 3 例。

1.3 实验仪器和试剂 ABI3730xl 测序仪、PCR 仪: GeneAmpPCRSystem9700 (ABI 公司);全血基因组 DNA 磁珠提取试剂盒(深圳市易瑞生物技术有限公司);PCR 试剂盒(北京华大中生科技发展有限公司);PCR 引物、DNA 分子量 Marker(大连宝生物工程有限公司);RNA 酶(上海沪峰生物科技有限公司);Taq DNA 聚合酶(北京诺赛基因组研究中心有限公司)。

1.4 DNA 扩增、聚合酶链式反应(PCR) 分别抽取实验组和对照组对象的新鲜外周血 10 ml, -20℃ 保存,立即并用淋巴细胞分离液分离有核细胞,再用白细胞裂解液 50℃ 水浴 5 h,再以全血基因组 DNA 磁珠提取试剂盒提取基因组 DNA。

根据 AIP 基因序列(GenBank accession number Hs. 412433),利用大连宝生物工程有限公司设计的 PCR 引物进行扩增。引物序列见表 1。

PCR 反应总体积 15 μ l,包括 1 \times amplita PCR buffer、1 μ mol/L 引物、200 μ mol/L、各种 dNTP 和 0.5 μ l amplitaq 酶及双蒸水,镁离子浓度 2 mmol/L;PCR

表 1 AIP 基因 PCR 扩增引物序列

外显子	引物序列
第 1 外显子	正向,5'-CGC AGA GAA CCA ATC ACC AT-3' 反向,5'-AAA CCC AGA TAC CCG AGG AC-3'
第 2 外显子	正向,5'-AGG TGT AAG GTC AGG TGG TG-3' 反向,5'-CAG AGC AAG ACT CCA TCT CA-3'
第 3 外显子	正向,5'-CTG TGC TTA AAC GGA GTA GGG T-3' 反向,5'-AAC AGT GAA CAA GAC GGT GAA AA-3'
第 4~5 外显子	正向,5'-CTC TGC TGC TGG TGT GTG AT-3' 反向,5'-CAT TCA TGC TTC ATT GGC ACA-3'
第 6 外显子	正向,5'-ATG GTG CCA GGA GAC ATG AG-3' 反向,5'-AAC AGC CAC CCA AGT ACC A-3'

反应条件为 95℃ 预变性 5 min,然后进行 32 个循环,每个循环包括 95℃ 变性 30 s、55℃ 退火 30 s、72℃ 延伸 45 s,2% 琼脂糖凝胶电泳观察扩增产物。所有实验均重复 3 次。

1.5 测序比对 由北京诺赛基因组研究中心有限公司完成。

2 结果

实验组中共有 8 例患者(18.6%)被检测出存在 5 种不同的 SNPs,分别为 7051C>T(第 4 外显子序列,由 C 突变为 T,其基因型为 CT 杂合型)(图 1);7318C>A(第 5 外显子序列,由 C 突变为 A,其基因型为 CA 杂合型)(图 2);7886A>G(第 6 外显子序列,由 A 突变为 G,其基因型为 AG 杂合型)(图 3);8012G>C 及 8020G>C(第 6 外显子序列,由 G 突变为 C,其基因型为 GC 杂合型)(图 4、图 5)。所相应编码的氨基酸均无改变。对照组 43 例样本中均未检测出 SNPs。

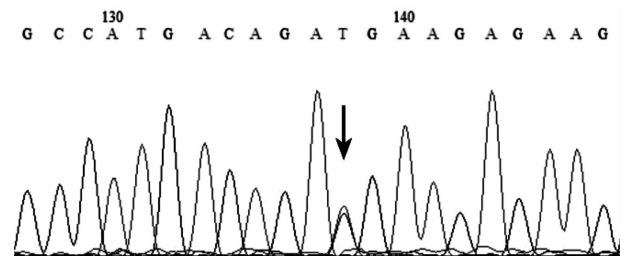


图 1 SNP 位点:7051C>T(第 4 外显子序列,由 C 突变为 T,其基因型为 CT 杂合型)

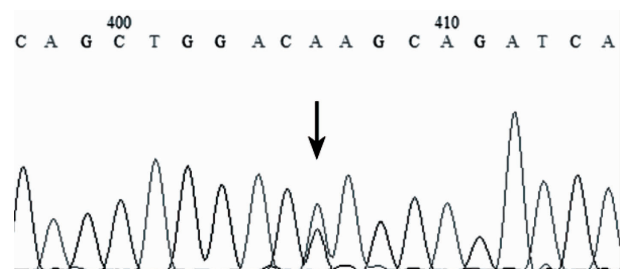


图 2 SNP 位点:7318C>A(第 5 外显子序列,由 C 突变为 A,其基因型为 CA 杂合型)

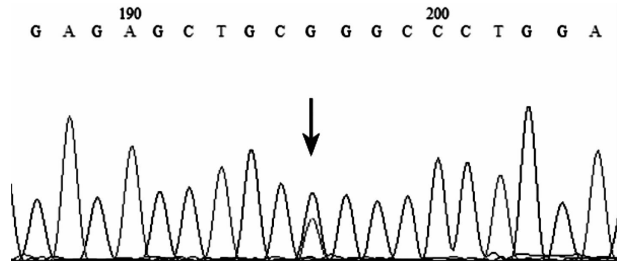


图 3 SNP 位点:7886A > G(第 6 外显子序列, 由 A 突变为 G,其基因型为 AG 杂合型)

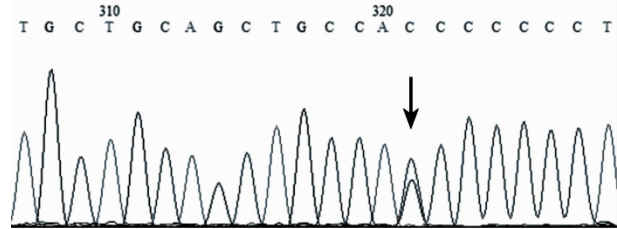


图 4 SNP 位点:8012G > C(第 6 外显子序列, 由 G 突变为 C,其基因型为 GC 杂合型)

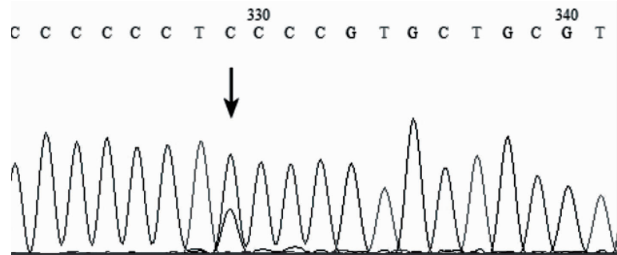


图 5 SNP 位点:8020G > C(第 6 外显子序列, 由 G 突变为 C,其基因型为 GC 杂合型)

3 讨论

泌乳素型垂体腺瘤可发于任何年龄,其主要危害包括异常泌乳、月经不规律、颅内压增高、视力下降、视野缺损等一系列病症^[4]。但其病因及发病机制尚不明确。

针对垂体腺瘤的病因及发病机制,国内外学者进行了深入研究,主要涉及基因遗传学层面(如 PETN 突变等)、细胞周期调控、基因突变、信号传导通路、生长因子及受体、激素因子等^[5-6],尽管近年这方面已经取得了部分有价值的成果,但目前对垂体腺瘤发生的分子机制仍没有质的突破。

AIP 基因定位在 11 号染色体上(11q13),负责编码含有 330 个氨基酸的 AIR 基因,后者功能可影响到热休克蛋白 90 二聚体^[7]。其 N 末端包含有一个非激活性的具有肽酰基脯氨酸的免疫亲和素 PK506 结合蛋白(FKBP-PPI),而 C 末端包含一个 TPR 区域及一个末端与芳烃受体(AHR)紧密结合的 α 螺旋,AIP 基因在细胞中起着调节 AHR 活性的作用^[8]。

近期赫尔辛基大学研究人员通过 DNA 芯片技术

对 3 个家族性垂体腺瘤患者进行研究,推断出 AIP 基因的缺失会导致垂体腺瘤的发生,尤其是泌乳素型和生长激素(GH)型垂体腺瘤^[7]。继发现该基因与垂体腺瘤关系密切以来,以下国家陆续有学者对 AIP 基因与垂体腺瘤发生之间的关系进行了研究:The Netherlands^[9], Belgium^[9-10], Italy^[9-11], France^[9-10], USA, Spain, Argentina, The Netherlands, Czech Republic^[10], Germany, Turkey, Canada^[11], Finland^[12], UK^[11,13-14], Brazil^[5,10], Ireland^[15]。

但目前国内关于 AIP 基因的 SNPs 与泌乳素型垂体腺瘤关系的研究尚未见报道,本研究回顾性分析 43 例散发性泌乳素型垂体腺瘤患者(实验组)及 43 例健康人(对照组)的临床及病理资料,并留取其外周血样本进行 PCR,同时分别提取 AIP 基因外显子的 DNA 进行测序,对比分析了两组样本中 AIP 基因的 SNPs 差异。实验组中共有 8 例(18.6%)患者被检测出存在 5 种不同的 SNPs(7051C > T、7318C > A、7886A > G、8012G > C、8020G > C);对照组 43 例均未检测出 SNPs。

尽管 AIP 基因的 SNPs 在散发性泌乳素型垂体腺瘤中被检测出,但由于该基因出现 SNPs 的概率较低,因而初步判定该基因 SNPs 与该型肿瘤的发生无明显相关性。本研究样本数量虽然较少,但依然在散发性泌乳素型垂体腺瘤中检测到 SNPs,因而推断,对与 AIP 基因相关的分子、遗传机制及信号传导通路进行研究,可为寻找泌乳素型垂体腺瘤病因及发病机制、拓宽肿瘤治疗途径提供更广泛的思路。

参考文献

- [1] Lim CT, Korbonsits M. Update on the clinicopathology of pituitary adenomas[J]. *Endocr Pract*, 2018, 24(5): 473-488.
- [2] Rostomyan L, Beckers A. Screening for genetic causes of growth hormone hypersecretion[J]. *Growth Horm IGF Res*, 2016(30/31): 52-57.
- [3] Demir H, Donner I, Kivipelto L, et al. Mutation analysis of inhibitory guanine nucleotide binding protein alpha (GNAI) loci in young and familial pituitary adenomas[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109897.
- [4] Wang S, Lin K, Xiao D, et al. The Relationship between posterior pituitary bright spot on magnetic resonance imaging (MRI) and post-operative diabetes insipidus for pituitary adenoma patients[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 6579-6586.
- [5] Toledo RA, Mendonca BB, Frago MC, et al. Isolated familial somatotropinoma; 11q13-loh and gene/protein expression analysis suggests a possible involvement of aip also in non-pituitary tumorigenesis[J]. *Clinics (Sao Paulo)*, 2010, 65(4): 407-415.

(下转第 508 页)

参考文献

- [1] Chavda SJ, Yong K. Multiple myeloma[J]. Br J Hosp Med (Lond), 2017, 78(2): C21 - C27.
- [2] 庄韵, 金志超, 季鸥, 等. 皮下硼替佐米治疗多发性骨髓瘤疗效和安全性的系统评价和 Meta 分析[J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33(9): 841 - 844.
- [3] 李慧娉, 高大. 沙利度胺联合硼替佐米治疗多发性骨髓瘤的临床效果[J]. 热带医学杂志, 2017, 17(5): 626 - 629.
- [4] Paludo J, Mikhael JR, LaPlant BR, et al. Pomalidomide, bortezomib, and dexamethasone for patients with relapsed lenalidomide-refractory multiple myeloma[J]. Blood, 2017, 130(10): 1198 - 1204.
- [5] 刘涛, 赵一. FLT3-ITD 在多发性骨髓瘤中的表达及对 Notch mRNA 水平的调节作用[J]. 中国临床研究, 2018, 31(11): 51 - 54.
- [6] 范文霞. 硼替佐米联合方案治疗多发性骨髓瘤的疗效分析[D]. 重庆: 第三军医大学, 2015.
- [7] 高丽霞, 贾晓玲, 胡军, 等. 硼替佐米在多发性骨髓瘤患者维持治疗中的疗效观察[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(4): 1101 - 1104.
- [8] 徐丽丽, 邱慧颖, 胡晓霞, 等. 含硼替佐米的联合化疗方案治疗初诊多发性骨髓瘤患者的疗效比较[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(5): 448 - 450.
- [9] Rajkumar SV. Multiple myeloma: 2014 Update on diagnosis, risk-stratification, and management[J]. Am J Hematol, 2014, 89(10): 998 - 1009.
- [10] 郭冬梅, 李纯璞, 杜书静, 等. 以硼替佐米为主的化疗方案治疗多发性骨髓瘤效果观察[J]. 山东医药, 2015, 55(36): 77 - 79.
- [11] 梁贲隐, 任汉云, 岑溪南, 等. 硼替佐米为基础的化疗方案治疗多发性骨髓瘤患者的疗效及预后因素分析[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35(3): 225 - 230.
- [12] 刘辉, 傅琤琤, 薛胜利, 等. 硼替佐米皮下注射治疗多发性骨髓瘤患者的疗效及安全性研究[J]. 中华血液学杂志, 2013, 34(10): 868 - 872.
- [13] Mohty M, Malard F, Mohty B, et al. The effects of bortezomib on bone disease in patients with multiple myeloma[J]. Cancer, 2014, 120(5): 618 - 623.
- [14] Petrucci MT, Giraldo P, Corradini P, et al. A prospective, international phase 2 study of bortezomib retreatment in patients with relapsed multiple myeloma[J]. Br J Haematol, 2013, 160(5): 649 - 659.
- [15] Zeng Z, Lin J, Chen J. Bortezomib for patients with previously untreated multiple myeloma: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Ann Hematol, 2013, 92(7): 935 - 943.
- [16] 董月华, 徐风华, 赵丽君. 含硼替佐米的 BDT/BCD/BAD 化疗方案治疗初诊多发性骨髓瘤[J]. 实用医药杂志, 2016, 33(4): 298 - 301.
- [17] 王珂. 含硼替佐米的不同联合化疗方案治疗初诊多发性骨髓瘤的临床分析[D]. 郑州: 郑州大学, 2016.
- [18] 沈静, 刘卓刚, 杨威. 硼替佐米联合不同化疗药物治疗多发性骨髓瘤疗效和安全性的 Meta 分析[J]. 现代肿瘤医学, 2016, 24(21): 3469 - 3475.

收稿日期: 2018-08-07 修回日期: 2018-09-05 编辑: 王宇

(上接第 503 页)

- [6] Asa SL, Casar-Borota O, Chanson P, et al. From pituitary adenoma to pituitary neuroendocrine tumor (PitNET): an International Pituitary Pathology Club proposal[J]. Endocr Relat Cancer, 2017, 24(4): C5 - C8.
- [7] Agustsson TT, Baldvinsdottir T, Jonasson JG, et al. The epidemiology of pituitary adenomas in Iceland, 1955-2012: a nationwide population-based study[J]. Eur J Endocrinol, 2015, 173(5): 655 - 664.
- [8] Hu Y, Yang J, Chang Y, et al. SNPs in the aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene associated with sporadic non-functioning pituitary adenoma[J]. Exp Ther Med, 2016, 11(3): 1142 - 1146.
- [9] Daly AF, Jaffrain-Rea ML, Ciccarelli A, et al. Clinical characterization of familial isolated pituitary adenomas[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006, 91(9): 3316 - 3323.
- [10] Daly AF, VanbellinPRLen JF, Khoo SK, et al. Aryl hydrocarbon receptor-interacting protein gene mutations in familial isolated pituitary adenomas: analysis in 73 families[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2007, 92(5): 1891 - 1896.
- [11] DiGiovanni R, Serra S, Ezzat S, et al. AIP Mutations are not identified in patients with sporadic pituitary adenomas[J]. Endocr Pathol, 2007, 18(2): 76 - 78.
- [12] Georgitsi M, Heliövaara E, Paschke R, et al. Large genomic deletions in AIP in pituitary adenoma predisposition[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2008, 93(10): 4146 - 4151.
- [13] Igreja S, Chahal HS, Akker SA, et al. Assessment of p27 (cyclin-dependent kinase inhibitor 1B) and aryl hydrocarbon receptor-interacting protein (AIP) genes in multiple endocrine neoplasia (MEN1) syndrome patients without any detectable MEN1 gene mutations[J]. Clin Endocrinol (Oxf), 2009, 70(2): 259 - 264.
- [14] Ozfirat Z, Korbonits M. AIP gene and familial isolated pituitary adenomas[J]. Mol Cell Endocrinol, 2010, 326(1/2): 71 - 79.
- [15] Chahal HS, Stals K, Unterländer M, et al. AIP mutation in pituitary adenomas in the 18th century and today[J]. N Engl J Med, 2011, 364(1): 43 - 50.

收稿日期: 2018-10-15 修回日期: 2018-11-06 编辑: 石嘉莹