

现象主要发生在 0.06/30° 型号锉中。此类锉是直径和锥度最大的一种型号, 本研究中发现该型号锉出现的损坏往往是整只锉嵌顿于根管中或手柄与锉分离, 手柄与锉分离的原因是预备时锉被突然吸入到根管下段时术者将其向上提拉, 手柄向上的拉力与锉的旋转向下的力相反而造成。如术者不能及时向上提拉, 则锉就被旋转力吸入根管下段而造成嵌顿。有部分嵌顿锉能通过反转手机将卡住的锉松动后用持针器取出, 其余的少数嵌入根管上的 2/3, 而大部分则嵌入根管全段。我们总结分析其原因有以下几点: (1) 使用过程中在锉上施加了较大的力量, 即“啄击力”过大; (2) 没能正确选择适应证, 对于 II 型或 IV 型根管需要谨慎选择机用镍钛锉, 即横截面类似 C 型根管的扁根管, 使用此类大锥度、粗直径的锉易发生嵌顿。(3) 根管弯曲度判断不准确, 目前临床上多参照 X 线片来判定根管弯曲度, 由于 X 线片仅是二维影像, 与实际的根管情况会存在一定差异, 由此导致选择初锉型号失误, 如在弯曲根管使用此型号锉作为初锉易发生嵌顿或折断。(4) 根管口预敞不足或未作预敞。根管口预敞不足与跳号使用镍钛锉有类似错误; 而预备前有效使用 GG 钻将根管口敞开可以减少后续机用镍钛锉预备根管时导致金属疲劳的拉压应力。(5) 本研究中所使用的电动低转速马达没有控制扭矩功能, 所以当锉上的扭

矩因操作者施力过大而增加时, 此种马达无反转功能, 导致器械旋入根管深部造成嵌顿或折断。本组仅通过肉眼判断器械是否变形, 如果使用高倍放大镜观察, 器械变形数目会增加。临床使用中如果经历一次较大程度地拉压应力过程, 如预备极度弯曲根管或发生前述向上提拉异常旋入镍钛锉的情况, 即使没看到器械变形, 也应抛弃不用。

3.3 从本文总结的结果看, 器械折断多发生在磨牙, 上颌前牙未发现折断器械。各种型号的锉均有可能发生折断, 折断部位可位于根管的各部位, 这提醒广大临床医师在使用过程中要对所有根管一视同仁, 克服急于求成的情绪, 规范操作, 不能掉以轻心, 操作上最好选择可控制扭矩和转速的电动马达。

参考文献

- 1 彭彬, 沈雅, 樊明文. 镍钛合金根管器械折断的临床特点及防治[J]. 中华口腔医学杂志, 2006, 41(1): 309-311.
- 2 Schneider SW. A comparison of canal preparations in straight and curved root canals[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol, 1971, 32(2): 271-275.
- 3 Haikel Y, Serfaty R, Bateman G, et al. Dynamic and cyclic fatigue of engine-driven rotary nickel-titanium endodontic instruments[J]. J Endod, 1999, 25(6): 434-440.
- 4 徐琼, 樊明文, 范兵, 等. 机用镍钛器械预备弯曲根管的临床应用[J]. 华西口腔医学杂志, 2005, 23(4): 286-291.

[收稿日期 2010-06-24][本文编辑 宋卓孙 刘京虹]

课题研究·论著

细胞色素 P4501A1、谷胱甘肽转硫酶基因多态性与儿童急性淋巴细胞白血病的相关性研究

姜烈君, 覃桂芳

基金项目: 广西卫生厅科研课题(编号: Z2007143)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院检验科细胞室

作者简介: 姜烈君(1970-), 女, 本科, 硕士学位, 主管技师, 研究方向: 骨髓细胞形态学。E-mail: nndd_lz@163.com

【摘要】 目的 探讨生物代谢酶细胞色素 P4501A1、谷胱甘肽转硫酶 M1、T1 基因多态性与儿童急性淋巴细胞白血病(ALL)的相关性。方法 采用病例对照研究方法, 应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)技术对 89 例儿童 ALL 患儿以及 90 名健康对照者的 CYP1A1 *Msp* I 多态(T264C)、GSTM1 和 GSTT1 等基因的多态分布进行分析。结果 儿童 ALL 组的 CYP1A1 基因 *Msp* I 多态纯合子突变型(C 型)的频率与对照组差异有统计学意义($P < 0.05$), 携带纯合子突变型的儿童患 ALL 的危险度比杂合子突变型(B 型)与野生型(A 型)儿童的高($OR = 1.997, 95\% CI: 1.024 \sim 3.896$)。GSTM1 缺失型分布频率与对照组相比差

异有统计学意义($P < 0.05$, $OR = 2.709$, 95% $CI: 1.427 \sim 5.146$), GSTT1 缺失型分布频率与对照组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。同时携带 CYP1A1 C型、GSTM1、GSTT1 缺失型的联合基因型儿童患 ALL 的风险增加($OR = 2.235$, 95% $CI: 1.111 \sim 4.497$)。结论 CYP1A1 基因 *Msp* I 多态纯合子突变型(C型)、GSTM1 缺失型与儿童 ALL 的易感性可能相关, GSTT1 缺失型与儿童 ALL 易感性可能不相关;同时携带 CYP1A1 C型与 GSTM1、GSTT1 缺失基因型可能是儿童 ALL 发病的易感因素之一。

[关键词] 基因多态性; 细胞色素 P450; 谷胱甘肽转硫酶; 儿童急性淋巴细胞白血病

[中图分类号] R 733.73 [文献标识码] A [文章编号] 1674-3806(2010)09-0810-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2010.09.03

Association between the polymorphisms of cytochrome P4501A1 and glutathione S-transferase M1, T1 Genes and childhood acute lymphocytic leukemia JIANG Lie-jun, QIN Gui-fang. Department of laboratory, the People's Hospital of Guangxi zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To study the association between metabolic enzymes polymorphisms of cytochrome P4501A1 and glutathione S-transferase M1, T1 genotypes and childhood acute lymphocytic leukemia. **Methods** Using case-control methodology, 90 healthy controls and 89 patients with childhood ALL were studied. The frequencies of the genotypes were detected by PCR-RFLP techniques. **Results** Homozygous mutation(C) of CYP1A1 gene (*Msp* I polymorphisms) between patients and healthy controls were statistically significant ($P < 0.05$), the risk of ALL in the individuals with homozygous mutation was higher than that in individuals with heterozygote(B) and wild type(A) ($OR = 1.997$, 95% $CI: 1.024 \sim 3.896$). The null genotype of GSTM1 in childhood ALL group was significantly different from that in the controls ($P < 0.05$, $OR = 2.709$, 95% $CI: 1.427 \sim 5.146$). The null genotype of GSTT1 in childhood ALL group was not significantly different from that in the controls ($P > 0.05$). In the patients with homozygous mutation of CYP1A1 gene combined with the null genotype of GSTM1、GSTT1, the risk of childhood ALL was increased ($OR = 2.235$, 95% $CI: 1.111 \sim 4.497$). **Conclusion** These results indicated that homozygous mutation of CYP1A1 gene and the null genotype of GSTM1 alone might be associated with the susceptibility of childhood ALL. The null genotype of GSTT1 alone might not be associated with the susceptibility of childhood ALL. Homozygous mutation of CYP1A1 gene combined with the null genotype of GSTM1、GSTT1 might serve as a risk factor in the etiology of childhood ALL.

[Key words] Gene polymorphism; Cytochrome P4501A1; Glutathione S-transferase; Childhood acute lymphocytic leukemia

急性淋巴细胞白血病(ALL)是儿童最常见的恶性肿瘤,其病因被解释为遗传因素与环境因素共同作用的结果。一些原致癌物质进入体内以后在细胞色素 P450(CYP1A1, CYP2D6)作用下被氧化激活转变成活性致癌物质,而这些致癌物质又在谷胱甘肽 S 转移酶(GSTM1, GSTT1)等催化下解毒。作为体内生物转化重要的 I 相、II 相代谢酶(CYP1A1、GSTM1、GSTT1)被认为是细胞抗损伤抗癌变的重要解毒系统。由基因多态性导致的个体间代谢酶活性的差异可赋予个体对环境致癌性具有不同的易感性。最近几年流行病学研究发现某些基因多态性与白血病发生明显相关,即存在有白血病发生相关的遗传易感(genetic susceptibility)因素^[1]。我们对 CYP1A1、GSTM1 和 GSTT1 基因多态性与儿童 ALL 发生遗传易感之间的关系进行了研究,报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象 为 2008-01 ~ 2010-01 本院门诊和住院

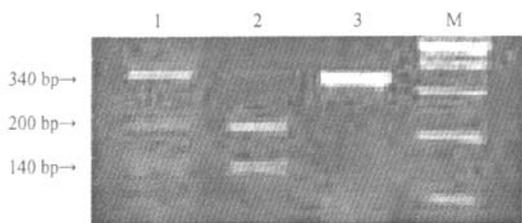
的 ALL 患儿 89 例,男 49 例,女 40 例,中位年龄 8 岁。ALL 的诊断和分型参照血液病诊断及疗效标准^[2]。所有患儿均有详细的病史记录,未接触潜在所致白血病的治疗或药物。90 例对照者为我院健康体检儿童,男 48 例,女 42 例,中位年龄 10 岁。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 的提取 用 BioFlux 生产的 Biospin 全血基因组试剂盒,按照试剂说明书提取 DNA。

1.2.2 代谢酶(CYP1A1、GSTM1、GSTT1)基因多态性检测 (1)CYP1A1 基因 *Msp* I 多态性检测:引物序列(5'-3'):上游 CAG TGA AGA GGT GTA GCC GCT;下游 TAG GAG TCT TGT CTC ATG CCT,片段长度 340 bp,PCR 反应体系 50 μ l,反应条件为 94 $^{\circ}$ C 5 min;94 $^{\circ}$ C 30 s、58 $^{\circ}$ C 30 s、72 $^{\circ}$ C 30 s(30 个循环);72 $^{\circ}$ C 7 min,扩增产物以限制性核酸内切酶 *Msp* I 酶切,2.0% 琼脂糖凝胶电泳分离。(2)GSTM1 GSTT1 基因检测:引物序列(5'-3'):GSTM1 上游

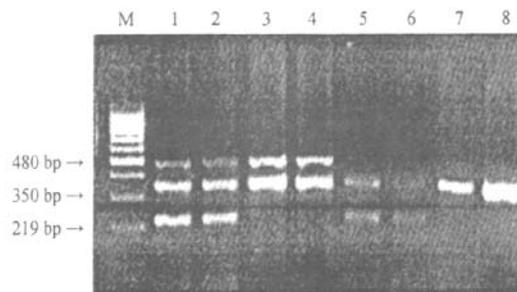
GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG C; 下游 GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G, 片段长度 219 bp。GSTT1 上游 TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC; 下游 TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA, 片段长度 480 bp。扩增白蛋白基因内对照: Albumin 上游 GCC CTC TGC TAA CAA GTC CTA C; 下游 GCC CTA AAA AGA AAA TCG CCA ATC, 片段长度 350 bp。PCR 反应体系 50 μ l, 反应条件为 94 $^{\circ}$ C 5 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 58 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s (30 个循环); 72 $^{\circ}$ C 7 min, 扩增产物以 2.0% 琼脂糖凝胶电泳分离。



注: 1 杂合子突变型(B型); 2 纯合子突变型(C型); 3 野生型(A型); M 100bp DNA ladder

图1 CYP1A1 基因 PCR-RFLP 琼脂糖凝胶电泳图谱

1.2.3 基因型判定 CYP1A1 经限制性内切酶 *Msp* I 酶切后可出现 3 种基因型: (1) 纯合子突变型(C 型) 呈现 200 bp 和 140 bp 两个片段; (2) 杂合子突变型(B 型) 呈现 340 bp, 200 bp 和 140 bp 三个片段; (3) 野生型(A 型) 个体仅呈现 340 bp 单一区带 (见图 1)。GSTM1、GSTT1 基因扩增产物电泳结果: 所有成功扩增的标本均显示 350 bp 的内对照条带。显示 219 bp 片段, 则 GSTM1 基因存在, 否则认为 GSTM1 基因缺失; 显示 480 bp DNA 片段, 则 GSTT1 基因存在, 否则认为 GSTT1 基因缺失 (见图 2)。



注: M 100 bp DNA ladder; 1, 2 GSTM1 (+) GSTT1 (+); 3, 4 GSTM1 (-) GSTT1 (+); 5, 6 GSTM1 (+) GSTT1 (-); 7, 8 GSTM1 (-) GSTT1 (-)

图2 GSTM1 与 GSTT1 琼脂糖凝胶电泳图谱

1.3 统计学方法 应用 SPSS13.0 统计软件包进行数据统计分析, 采用多因素非条件 Logistic 回归计算相对风险度的比数比 (OR) 和 95% 可信区间 (CI), 组间基因型分布比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CYP1A1 和 GSTM1、GSTT1 基因多态及其与儿

表 1 两组 CYP1A1、GSTM1、GSTT1 基因型分布频率比较 [n(%)]

分 组	例数	CYP1A1		GSTM1		GSTT1	
		A 型 + B 型	C 型	非缺失型	缺失型	非缺失型	缺失型
对照组	90	71(78.9)	19(21.1)	41(45.6)	49(54.4)	46(51.1)	44(48.9)
ALL 组	89	58(65.2)	31(34.8)	21(23.6)	68(76.4)	35(39.3)	54(60.7)
$\hat{O}R$	-	1.997		2.709		1.613	
$\hat{O}R$ 95% CI	-	1.024 ~ 3.896		1.427 ~ 5.146		0.891 ~ 2.919	
χ^2	-	4.185		9.532		2.509	
P	-	0.041		0.002		0.113	

2.2 CYP1A1 和 GSTM1、GSTT1 联合基因型与儿童 ALL 发生风险 CYP1A1 (C 型)、GSTM1、GSTT1 缺失型的联合基因型个体患 ALL 的风险增加 ($P <$

童 ALL 发生的风险 儿童 ALL 组 CYP1A1 基因 *Msp* I 多态纯合子突变型(C 型) 频率与对照组相比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), GSTM1 缺失型分布频率与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), GSTT1 缺失型分布频率与对照组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

0.05), 风险度是其他联合基因型个体的 2.279 倍。见表 2。

表2 两组 CYP1A1 和 GSTM1、GSTT1 联合基因型的组间比较[n(%)]

组别	例数	CYP1A1(C型)、GSTM1、GSTT1 缺失型	其他联合基因型	OR	OR 95% CI	χ^2	P
对照组	90	16(17.8)	74(82.2)	2.235	1.111~4.497	5.213	0.022
ALL	89	29(32.6)	60(67.4)				

3 讨论

3.1 CYP1A1 是 I 相代谢酶 CYP450 家族的一员,其基因位于 15 号染色体上,主要代谢多环芳烃类致癌剂。最早发现的 CYP1A1 多态位点为 3' 端非编码区 6235T/C 点突变,形成 *Msp* I 切割位点。有 3 种基因型即野生型(A 型)、杂合子突变型(B 型)、纯合子突变型(C 型)。日本一研究认为^[3]高诱导基因型(C 型)CYP1A1 酶具有较强的活化多环芳烃的能力,最终使体内致癌物的浓度升高,从而增加癌变的可能性;非诱导基因型(A 型或 B 型)的人活化多环芳烃的能力相对较低。故不易发生癌变,CYP1A1 高诱导基因型(C 型)与肺癌的患病率呈正相关。张娟等^[4]报道携带 CYP1A1 突变等位基因者患成人急性白血病的危险性可能增加。本研究结果表明 CYP1A1 基因 *Msp* I 多态纯合子突变型(C 型)与儿童 ALL 的易感性可能相关,纯合子突变型(C 型)的个体发生 ALL 的风险增加 2.314 倍。因此,推测 CYP1A1 纯合子突变型儿童可能对环境致癌物更敏感,从而增加了其患 ALL 的危险性。

3.2 GSTs 属于人体 II 相代谢酶,主要催化还原性谷胱甘肽与亲电子物质间的结合反应,使其失去 DNA 结合活性,它是细胞抗损伤抗癌变的主要解毒系统。GSTs 家族包括 4 个主要成员(α, θ, μ, π), μ 族中的 GSTM1 基因(位于 1p13.3)和 θ 族中的 GSTT1 基因(位于 22q11.2)在人群中分布呈遗传多态性。GSTs 基因的多态性改变,导致相应的同工酶活性改变,机体对各种潜在致癌物的代谢能力也存在差异。有学者^[5]发现,GSTM1 纯合子缺失者的肺、胎盘、外周血白细胞中存在高水平的 PAH-DNA 加合物,显著高于有 GSTM1 基因存在者,其遗传物质更易于发生恶性转化。Pakakasama 等^[6]发现 GSTM1 null 型比例在 107 例 CML 患者和 320 例正常对照之间差异有统计学意义(OR 1.7;95% CI : 1.0~2.7),而与 GSTT1 差异无统计学意义,实验说明 GSTM1 null 型可能增加儿童 ALL 的风险。本研究结果表明 GSTM1 基因缺失与儿童 ALL 的易感性可能相关,GSTT1 缺失与儿童 ALL 的易感性可能不

相关,与张利^[7]等报道相似。ALL 儿童的 GSTY1 纯合子缺失率虽然增加,但与对照组之间差异无统计学意义。可能是因为 GSTT1 基因及其代谢底物在儿童 ALL 的发生过程中未发挥关键作用。但是 GSTs 代谢底物广泛,不同亚型之间可能存在交叉,表现为 GSTM1、GSTT1 基因协同作用。

3.3 携带 CYP1A1 纯合子突变基因型、GSTM1、GSTT1 缺失基因型的个体发生 CML 的风险增加 2.279 倍,说明 CYP1A1 基因 *Msp* I 多态纯合子突变型与 GSTT1 和 GSTM1 纯合子同时缺失可预测儿童 ALL 高危发生个体,是儿童 ALL 的重要遗传易感因素。由于本研究只是一个小样本研究,必须承认其研究结果的局限性,而且基因多态性还因种族和地域分布而有所差异,另外同一致癌物可能存在多条代谢途径,本研究结果还需在大量的人群中联合多种代谢酶深入研究进一步加以验证。

参考文献

- 1 杨友,颜崇淮,沈晓明,等. 儿童白血病发病的基因-环境相互作用研究进展[J]. 国际儿科学杂志,2007,34(2):117-120.
- 2 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 第2版. 北京:科学出版社,1998:184-186.
- 3 Kiyohara C, Wakai K, Mikami H, et al. Risk modification by CYP1A1 and GSTM1 polymorphisms in the association of environmental tobacco smoke and lung cancer: a case-control study in Japanese nonsmoking women[J]. Int J Cancer, 2003, 107(1):139-144.
- 4 张娟,浦跃朴,尹立红,等. 基因多态性与成人急性白血病易感性关系的研究[J]. 肿瘤,2005,25(4):346-350.
- 5 Rojas M, Cascorbi I, Alexandrov K, et al. Modulation of benzo [A] pyrene diolepoxide-DNA adduct levels in human white blood cells by CYP1A1, GSTM1 and GSTT1 polymorphism[J]. Carcinogenesis, 2000,21(1):35-41.
- 6 Pakakasama S, Mukda E, Sasanakul W, et al. Polymorphisms of drug-metabolizing enzymes and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Am J Hematol, 2005,79(3):202-205.
- 7 张利,王军,冯建飞,等. 谷胱甘肽 S-转移酶 M1/T1 基因多态性与儿童急性淋巴细胞白血病的关联性[J]. 实用儿科临床杂志,2008,23(3):195-197.

[收稿日期 2010-04-26][本文编辑 谭毅 黄晓红]