# *GSTP1*、*GSTM1* 基因多态性与顺铂导致骨髓抑制的相关性研究

郭书英，吴传亮，孙 慧，刘 卫*
解放军第 88 医院，山东 泰安 271000

**摘 要：目的** 考察顺铂致骨髓抑制与谷胱甘肽硫转移酶 P1（*GSTP1*）和谷胱甘肽硫转移酶 M1（*GSTM1*）基因多态性的关系。**方法** 用病例对照研究的方法考察以顺铂为主要化疗方案的 100 例癌症初治肿瘤化疗患者基因多态性与骨髓移植的相关性，白细胞计数和血小板的数量为指标判断是否发生了骨髓抑制以及骨髓抑制程度。提取 DNA 扩增测序法判断 *GSTP1*、*GSTM1* 基因型。**结果** *GSTP1* 的 3 种基因型 AA、AG、GG 型均存在，并且在 62 例发生骨髓抑制的病例中，*GSTP1* AG/GA 型的患者的分布明显高于 *GSTP1* AA 型患者。*GSTM1* 包含缺失（－）和非缺失（＋）2 种基因型，100 例病例中 *GSTM1*（＋）少于 *GSTM1*（－）。Logistic 分析结果表明 *GSTP1* AG/GG 型是顺铂致骨髓抑制的独立危险因素，*GSTM* 基因缺失虽不是顺铂致骨髓抑制的独立危险因素，但能促进 *GSTP1* AG/GG 型的作用，导致顺铂致骨髓抑制进一步加重。**结论** 顺铂导致的骨髓抑制程度与 *GSTP1* 基因多态性相关。

**关键词**：顺铂；骨髓抑制；*GSTP1*；*GSTM1*；基因多态性
**中图分类号**：R965 **文献标志码**：A **文章编号**：1674 - 5515(2018)09 - 2165 - 04
**DOI:** 10.7501/j.issn.1674-5515.2018.09.002

# Relationship between bone marrow suppression induced by cisplatin and *GSTP1* or *GSTM1* gene polymorphism

GUO Shu-ying, WU Chuan-liang, SUN Hui, LIU Wei
The 88th Hospital of PLA, Taian 271000, China

**Abstract: Objective** To investigate the relationship between bone marrow suppression induced by cisplatin and *GSTP1* or *GSTM1* gene polymorphism，**Methods** Case-control study was adopted to investigate 100 newly diagnosed cancer patients undergoing chemotherapy treated with cisplatin as chemotherapy regimen. WBC and PLT were determined as marrow suppression index. *GSTP1* and *GSTM1* genotypes were determined by PCR method. **Results** *GSTP1* had three genotypes as AA, AG, and GG gentype. Among 62 cases suffering from marrow suppression, distributions of *GSTP1* genotype AG/GA were higher significantly than those of *GSTP1* AA gentype. *GSTM1* included 2 genotypes as deletion (－) and non deletion (＋), and cases of *GSTM1* (＋) were less than *GSTM1* (－). Logistic analysis showed that *GSTP1* AG/GG type was an independent risk factor for cisplatin-induced myelosuppression. *GSTM* gene deletion was not an independent risk factor for cisplatin-induced myelosuppression, but it could promote the effect of *GSTP1* AG/GG type, leading to further aggravation of cisplatin-induced myelosuppression. **Conclusion** Cisplatin induced myelosuppression is associated with *GSTP1* gene polymorphism

**Key words**: cisplatin; bone marrow suppression; *GSTP1*; *GSTM1*; gene polymorphism

顺铂是临床常用抗肿瘤药，不良反应多，其中骨髓抑制最常见。铂类药物部分经谷胱甘肽硫转移酶 GSTs 代谢，被 GSTs 催化，与谷胱甘肽（GSH）形成复合物，促进铂类药物从胆汁或尿液中排出[1]。GSTs 活性与 *GSTs* 基因多态性有关，GSTs 活性降低导致铂类代谢受阻，不良反应增加。因此本实验观察了顺铂导致的骨髓抑制与 *GSTP1*、*GSTM1* 基因多态性的关系，以期为防治顺铂的不良反应提供临床依据。

## 1 对象和方法

### 1.1 一般资料

选取 2016 年 6 月—2017 年 10 月在解放军 88

**收稿日期**：2018-03-30
**作者简介**：郭书英（1964—），男，副主任药师，研究方向为药学。Tel: (0538)8839324 E-mail: 2491226336@qq.com
***通信作者** 刘 卫（1967—），主任药师。E-mail: liutrunk@163.com

医院收治的癌症初治肿瘤化疗患者 100 例为研究对象，其中男 64 例，女 36 例，年龄 45～65 岁。化疗前 ECOG 评分 0～2 分。其中鳞状上皮食管癌手术后化疗 64 例，不适于靶向治疗的非小细胞肺癌 21 例，宫颈癌 9 例，卵巢癌 4 例，黑色素瘤 2 例。实验方案经解放军第 88 医院医学伦理委员会通过，患者均知情同意，并签订知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1** 治疗和分组 所有患者静脉注射顺铂注射液（江苏豪森药业股份有限公司，规格 30 mg/支）15 mg/m$^2$，1 次/d，连用 5 d。其中使用顺铂注射液 1～3 个周期没有出现骨髓抑制的患者人群为对照组，共 38 例；发生骨髓抑制或骨髓抑制严重的患者人群为实验组，共 62 例。采集化疗前和化疗后 1～3 个周期的血样，记录白细胞计数和血小板的数量，对比判断是否发生骨髓抑制以及骨髓抑制程度。

**1.2.2** PCR 扩增 Blood Gen Mini Kit 血液基因组柱式小量 DNA 提取试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司，PCR Master Mix（含染料）购自加拿大 abmGood 生物科技有限公司。*GSTP1*、*GSTM1* 的上下游引物委托北京六合华大基因科技有限公司合成，见表 1。

**表 1 *GSTP1* 和 *GSTM1* 的上下游引物**

**Table 1 Forward primers and reverse primers of *GSTP1*and *GSTM1***

| 位置 | *GSTP1* 引物序列 | *GSTM1* 引物序列 |
|---|---|---|
| 上游 | 5’-CCTTCCACGCACATCCTCT-3’ | 5'-GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGCTCT-3' |
| 下游 | 5’-CCCGTTACTTGGCTGGTTGA-3’ | 5'-CTTGGGCTCAAATATACGGTGGAG-3' |

取实验对象静脉血 2 mL，使用血液 DNA 小量抽提试剂盒提取 DNA。PCR 反应体系：2×Taq MGOTer Mix（含染料）37.5 μL、正反向引物各 3 μL、模板 DNA 5 μL、双蒸水 26.5 μL；94 ℃预变性 2 min，38 循环（94 ℃ 30 s；60 ℃ 30 s；72 ℃ 20 s），72 ℃延伸 2 min。4 ℃保存。

**1.2.3** PCR 产物测序 PCR 产物的一部分送至深圳华大生物科技有限公司进行测序。测序结果使用 Chromas 软件进行图谱分析，判断 *GSTP1* 基因型。另一部分行琼脂糖凝胶进行电泳，在凝胶图像分析系统中观察并判断 *GSTM1* 基因型。

### 1.3 统计学分析

使用 $\chi^2$ 检验分析 *GSTP1* 基因多态性。以使用顺铂后是否发生骨髓抑制为应变量，Logistic 单因素分析并确定 *GSTM1*、*GSTP1* 基因的多态性是否是导致骨髓抑制发生的独立危险因素。

## 2 结果

### 2.1 *GSTP1* 基因多态性

*GSTP1* 的 3 种基因型均存在，其中 *GSTP1* 基因型为 AA 型者 62 例，AG 型 32 例，GG 型 6 例，见图 1，各基因型的分布见表 2。结果表明实验对象的基因分布符合哈代温伯格平衡规律，具有人群代表性。

### 2.2 *GSTM1* 基因多态性

*GSTM1* 包含缺失（－）和非缺失（＋）2 种基因型，100 例患者病例中有 *GSTM1*（＋）33 例，*GSTM1*（－）67 例。*GSTM1* 电泳图见图 2。

### 2.3 Logistic 回归分析

分别以 *GSTP1*、*GSTM1*、体质量指数（BMI）为自变量，是否有骨髓抑制为因变量，多因素 Logistic

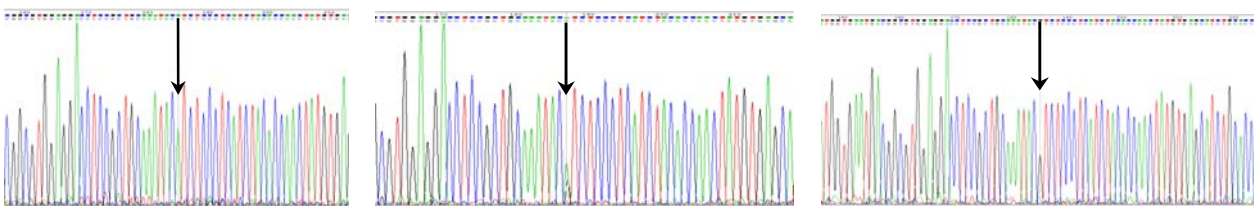


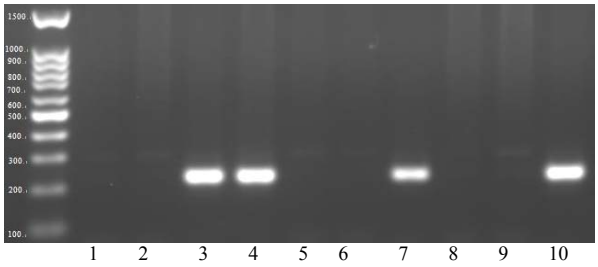

**图 1 *GSTP1* (rsl695) 313 基因测序**

**Fig. 1 *GSTP1* (rsl695) 313 sequencing**

表 2 *GSTP1*(rsl695)313 基因多态性在实验人群中的分布

Table 2 Distribution of *GSTP1*(rsl695)313 polymorphism in experiment population

| 基因 | 实际频数 | 理论频数 | 基因频率 |
|---|---|---|---|
| AA | 62 | 60.84 | 0.62 |
| AG | 32 | 34.32 | 0.32 |
| GG | 6 | 4.84 | 0.06 |




3、4、7、10 为野生型；1、2、5、6、8、9 为缺失型

wild type: 3,4,7,10; Null type: 1,2,5,6,8,9

图 2 *GSTM1* 电泳图

Fig. 2 *GSTM1* electrophoresis

回归分析确定导致骨髓抑制的独立危险因素。见表 3。结果表明，*GSTP1* AG/GG 型是顺铂致骨髓抑制的独立危险因素，*GSTM* 基因缺失虽不是顺铂致骨髓抑制的独立危险因素，但能促进 *GSTP1* AG/GG 型的作用，导致顺铂致骨髓抑制进一步加重，而 BMI 不是顺铂致骨髓抑制的危险因素。

## 3 讨论

GSTs 是主要的 II 相代谢酶，其表达水平与抗肿瘤药的疗效密切相关[2]。*GSTP1* 基因检测可用于指导合理使用抗肿瘤药[3]。*GSTP1* 313A 表达较高，肿瘤细胞对化疗药物耐受性较高，患者预后较差[4]，其机制是 *GSTP1* 313A 表达高效的 GSTs，抗肿瘤药代谢较快，机体表现为较高的耐受性。相反，*GSTP1* 313G 表达低效的 GSTs，导致抗肿瘤药代谢减慢，机体表现为对抗肿瘤药的高敏感性和毒性增加。相关的研究表明，*GSTP1* 313G 等位基因可以在化疗过程中增加肿瘤患者骨髓抑制的风险[5-6]。对 72 例使用 CHOP 方案治疗的非霍杰金淋巴瘤患者的研究表明[7]，*GSTP1* AG/GG 基因型比 *GSTP1* AA 基因型更具有血小板毒性的倾向（30.8% *vs* 8.7%）。更有研

表 3 影响骨髓抑制发生的 Logistic 回归分析

Table 3 Muti-factors Logistic Regression analysis for marrow suppression

| 因素 | β | SE | Wals | *P* | OR | 95% CI |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *GSTP1* AG/GG | 1.022 | 0.431 | 7.510 | 0.006 | 2.779 | 1.400～7.594 |
| *GSTM1*（－） | −0.017 | 0.427 | 0.956 | 0.328 | 0.983 | 0.658～3.503 |
| *GSTP1* AA &*GSTM1*(－) | −0.478 | 0.419 | 1.302 | 0.254 | 0.620 | 0.273～1.410 |
| *GSTP1* AA &*GSTM1*（＋） | −0.887 | 0.487 | 3.316 | 0.069 | 0.412 | 0.158～1.070 |
| *GSTP1* AG/GG & *GSTM1*(－) | 1.212 | 0.459 | 4.858 | 0.028 | 3.360 | 1.119～6.769 |
| *GSTP1* AG/GG & *GSTM1*（＋） | 0.847 | 0.738 | 1.319 | 0.251 | 2.333 | 0.550～9.906 |
| BMI | −0.080 | 0.231 | 0.120 | 0.729 | 0.923 | 0.404～2.474 |

究指出，与 *GSTP1* AA 基因型比较，*GSTP1*（rs1695）AG/GG 基因型更有可能导致 III～IV 级嗜中性粒细胞细胞毒性（OR＝6.111，95% CI：1.526～24.469，*P*＜0.05）[8]。如使用蒽环类联合紫杉醇治疗的 70 例患者中，*GSTP1*（rs1695）AG/GG 基因型与 AA 基因型比较，中性粒细胞抑制作用更强（OR＝9.25，95% CI：2.903～29.522，*P*＜0.01）[9]。*GSTP1* 所具有的 3 个基因型都与药物在体内的代谢、疗效和毒性有关。骨髓抑制最明显的体现就是嗜中性粒细胞的减少，这就说明患者使用化疗的药物后出现骨髓抑制的可能性与其本身合并的 *GSTP1*（rsl695）基因型具有相关性。

*GSTM1* 基因型表达 GST-u 同功酶，保护细胞免受有毒物质损害。*GSTM1* 缺失基因型（－）不能表达 GST-u 同工酶，属于无效的基因型。这种多态性对癌症和炎症类疾病的易感性以及化疗药物疗效和不良反应具有显著影响。但本研究的结果不能说明 *GSTM1* 基因多态性与顺铂导致的骨髓抑制有关。

本研究结果表明，*GSTP1* 基因多态性与顺铂导致的骨髓抑制有相关性，与 GSTM1 313A 比较，*GSTP1* 313G 等位基因携带者更容易发生顺铂导致的骨髓抑制（OR＝2.779）。*GSTM1* 基因型虽然不

是应用顺铂后出现骨髓抑制的独立危险因素，但与 *GSTP1* AG/GG & *GSTM1*（＋）携带者（OR＝2.333）比较，*GSTP1* AG/GG &*GSTM1*（－）基因型能进一步提高顺铂导致的骨髓抑制（OR＝3.360）。

**参考文献**


[1] Hinds D A, Stuve L L, Nilsen G B, *et al*. Whole-genome patterns of common DNA variation in three human populations [J]. *Science*, 2005, 307(5712): 1072-1079.

[2] Stacy A Q, Andrew F O. *GSTM1, GSTT1*, and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Am J Epidemiol*, 2001, 154(2): 95-105.

[3] 陈 坤, 蒋沁婷, 马新源, 等. 谷脱甘肤转移酶 T1 和 Ml 基因多态性及吸烟与结直肠癌关系的对照研究 [J]. 中华肿瘤杂志 2004, 26(11): 645-648.

[4] 林东晰, 唐永明, 陆士新, 等. 谷胱甘肽转硫酶 Ml 和 T1 基因型与食管癌危险性：病例一对照研究 [J]. 中华流行病学杂志, 1998, 19(4): 195-199.

[5] Long X D, Ma Y, Wei Y P, *et al*. The polymorphisms of GSTM1, GSTT1, HYL1*2, and XRCC1, and aflatoxin B1-related hepatocellular carcinoma in Guangxi population, China [J]. *Hepatol Res*, 2006, 36(l): 48-55.

[6] Schneider J, Bernges U, Philipp M, *et al*. *GSTM1*, GSTT1, and *GSTP1* polymorphism and lung cancer risk in relation to tobacco smoking [J].*Cancer Lett*, 2004, 208(1): 65-74.

[7] Yang Q, Shu X O, Ruan Z X, *et al*. Genetic polymorphisms in glutathione-S-transferase carcinoma [J]. *Cancer*, 2005, 103(1): B52.

[8] 田慎之, 张建国, 肖 琪, 等. *GSTM1*、GSTT1 及 *GSTP1* 基因多态性与广东地区汉族人群喉癌遗传易感性关系的研究 [J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2011, 25(5): 204-210.

[9] 祁娅妮. 谷胱甘肽硫转移酶基因多态性与非霍奇金淋巴瘤临床特征及化疗关系的初步研究 [D]. 太原: 山西医科大学, 2012.