



电子、语音版

·论著·

第10号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因多态性与脑膜瘤易感性关联研究

黄冠又¹, 郝淑煜², 冯洁³, 王亮², 张力伟², 张俊廷², 吴震²

1. 贵阳市第二人民医院神经外科, 贵州 贵阳 550081

2. 首都医科大学附属北京天坛医院, 北京 100070

3. 首都医科大学北京市神经外科研究所, 北京 100070

摘要:目的 研究中国人群中第10号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因(*PTEN*)单核苷酸多态性与脑膜瘤发病风险的关系。方法 选取2017年10月—2018年1月在北京天坛医院神经外科手术治疗的200例脑膜瘤患者为研究对象,应用SNaPshot基因分型技术对*PTEN*基因多态位点 rs2735343、rs701848 和 rs1234214 检测,分析*PTEN*基因多态性与脑膜瘤的易感性。结果 *PTEN*基因多态位点 rs2735343、rs701848 和 rs1234214 基因频率在脑膜瘤组和对照组基因型和等位基因频率分布无差异($P>0.05$)。单体型分析结果显示 CTC 单体型频率在脑膜瘤组和对照组之间差异有统计学意义($P<0.05$),CTC 单体型携带者发生脑膜瘤的风险增加($OR=1.366$, 95% $CI=1.034\sim1.805$, $P=0.028$)。结论 *PTEN* 基因多态性可能与脑膜瘤发病无关联,但 *PTEN* 基因 rs2735343、rs701848 和 rs1234214 构成的 CTC 单体型可能是中国人群脑膜瘤发病的危险因素。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(4): 42–46]

关键词:第10号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因;脑膜瘤;基因多态性;遗传易感性;单体型;连锁不平衡

中图分类号:R739.41

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2022.04.008

Association of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 gene polymorphisms with susceptibility to meningioma

HUANG Guan-You¹, HAO Shu-Yu², FENG Jie³, WANG Liang², ZHANG Li-Wei², ZHANG Jun-Ting², WU Zhen²

1. Department of Neurosurgery, The Second People's Hospital of Guiyang, Guiyang, Guizhou 550081, China

2. Department of Neurosurgery, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100070, China

3. The Beijing Neurosurgery Institution, Capital Medical University, Beijing 100070, China

Corresponding author: WU Zhen, Email: wuzhen1966@aliyun.com

Abstract: **Objective** To investigate the association of the single nucleotide polymorphisms of the phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 (*PTEN*) gene with the susceptibility to meningioma in the Chinese population. **Methods** A total of 200 patients with meningioma who underwent neurosurgery in Beijing Tiantan Hospital from October 2017 to January 2018 were enrolled as subjects. The SNaPshot genotyping technique was to detect *PTEN* gene polymorphisms at rs2735343, rs701848, and rs1234214 loci, and the association of *PTEN* gene polymorphisms with the susceptibility to meningioma was analyzed. **Results** There were no significant differences in the genotype and allele frequencies of the rs2735343, rs701848, and rs1234214 loci of the *PTEN* gene between the meningioma group and the control group ($P>0.05$). Haplotype analysis showed that there was a significant difference in the frequency of haplotype CTC between the meningioma group and the control group ($P<0.05$), and carriers of haplotype CTC had an increased risk of meningioma (odds

基金项目:国家自然科学基金(81802683,81872052);贵州省卫健委科学技术基金(gzwbkj2022-348)。

收稿日期:2022-05-11;修回日期:2022-07-28

作者简介:黄冠又(1982—),男,副主任医师,医学博士,研究方向为颅脑肿瘤的基础和临床。

通信作者:吴震(1966—),男,主任医师,医学博士,主要研究方向为颅底及脑干肿瘤基础和临床,Email: wuzhen1966@aliyun.com。

ratio = 1.366, 95% confidence interval: 1.034–1.805, $P = 0.028$). **Conclusions** *PTEN* gene polymorphisms may not be associated with the susceptibility to meningioma; however, the haplotype CTC comprised of rs2735343, rs701848, and rs1234214 may be a risk factor for meningioma in the Chinese population.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2022, 49(4): 42–46]

Keywords: phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10 gene; meningioma; gene polymorphism; genetic susceptibility; haplotype; linkage disequilibrium

随着分子生物学的发展,信号转导通路已成为肿瘤发病机制和靶向治疗研究的热点。PI3K-AKT-mTOR通路是细胞活动最基本的信号途径,该通路在肿瘤发生发展过程中起重要作用。迄今为止,国内外尚未见有关该信号通路的基因多态性与脑膜瘤的关联性研究报道。第10号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten, *PTEN*)即*PTEN*基因,是一个具有蛋白性磷酸酯酶活性和脂性磷酸酯酶活性双重特性的抑癌基因,是人类癌症中最常见突变的抑癌基因之一^[1]。*PTEN*基因在细胞的生长、增殖、分化,调控神经干细胞的增殖以及神经元的成熟和凋亡等许多功能上起重要作用,并与肿瘤的发生和发展密切相关^[1-2]。rs1234214和rs2735343位点位于*PTEN*基因的内含子区,rs701848则位于*PTEN*基因的非翻译区,以上3个位点在*PTEN*基因中比较常见,具有调节蛋白表达作用,可能影响*PTEN*剪切,并且研究报道该3个位点与亚洲人群多种肿瘤的发生发展关系密切^[3]。因此,本研究选择以上3个位点,探讨*PTEN*基因单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与中国人群的脑膜瘤易感性的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2017年10月—2018年1月首都医科大学附属北京天坛医院神经外科住院的脑膜瘤患者200例(脑膜瘤组)。男54例,女146例;平均年龄(51.28±11.9)岁;均经手术切除及病理确诊;患者术前未接受放疗和化疗;肿瘤位于颅底135例,非颅底65例;根据中枢神经系统肿瘤WHO 2016年分类标准^[4],WHO I级169例,WHO II级27例,WHO III级4例。对照组为同期在北京天坛医院参加体检的无肿瘤及其他遗传疾病的人群200例。男51例,女149例;平均年龄(48.52±10.17)岁。两组间年龄、性别比,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。研究获首都医科大学附属北京天坛医院医学伦理委员会的批准。

1.2 *PTEN*基因组DNA提取和引物设计

所有受试者均知情同意,抽取外周静脉血5 mL(EDTA抗凝)并置于-20℃低温冰箱保存。采用生工生物工程(上海)股份有限公司的血液基因组DNA抽提试剂盒提取基因组DNA。应用在线引物设计软件Primer3(<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>)在需要检测的位点两侧设计引物。引物序列见表1。

表1 *PTEN*基因多态位点引物序列

SNP		引物序列(5'-3')	等位基因	产物片段/bp
rs2735343	正向	GTGGTGCAGGATCAAGGTGAAAA	G/C	248
	反向	CAGGATTTCGTCTGCCTTGGCC		
rs701848	正向	TTCATAGTGCTCCCCGAGTTG	C/T	91
	反向	TCGTATGCACTCTGGGCATATCA		
rs1234214	正向	TTTCAGTTGTATGGGTTAACTTTA	A/C	178
	反向	TGACTGCCTCATCTCCCTTCAAAA		

1.3 基因分型

PCR反应体系10 μL,包含1x GC-I buffer 2 μL, 3.0 mmol/L Mg^{2+} 2 μL, 0.3 mmol/L dNTP 2 μL, 1 u HotStarTaq连接酶2 μL,1 μL样本DNA和1 μL多重PCR引物。PCR反应条件:95℃预变性2 min,94℃变性20 s,65℃退火40 s(每循环-0.5℃),72℃延伸1.5 min,共11个循环;94℃变性20 s,59℃退火30 s,72℃延伸1.5 min,共24个循环,最后72℃条件延伸2 min,4℃保持。应用多重单碱基延伸SNP分型技术(Multiplex SNaPshot)进行基因分

型。延伸产物使用ABI PRISM 3730XL测序仪进行测序。

1.4 统计学方法

应用SHEsis在线软件进行Hardy-Weinberg(HWE)平衡检验分析和单体型(Haplotype)分析。采用SPSS 22.0统计软件进行 χ^2 检验或Fisher精确概率检验两组SNP位点基因型和等位基因频率分布差异。基因多态性与脑膜瘤的关联以非条件Logistic回归分析所得的比值比(odds ratio, OR)和置信区间(confidence interval, CI)表示。所有的统计检验均为双侧检验,以 $P<0.05$ 认为有统计学

意义。

2 结果

2.1 PTEN 基因多态性与脑膜瘤的发病风险

对 *PTEN* 3 个 SNP 位点 rs2735343、rs701848 和 rs1234214 在对照组中的基因型频率分布进行 Hardy-Weinberg 平衡检验,结果显示 *P* 值分别为 0.138、0.167、0.166,表明各基因型的分布频率符合 Hardy-Weinberg 平衡,说明对照组具有人群代表性。rs2735343、rs701848 和 rs1234214 各基因型和等位基因分布在脑膜瘤组和对照组之间相近(均 *P*>0.05)。经 Logistic 回归分析表明,在

调整性别、年龄因素后,不同遗传模型下,位点 rs701848 和 rs1234214 的多态性与脑膜瘤的发病风险不相关,rs2735343 位点在加性模型中,C 等位基因携带者发生脑膜瘤的风险降低(*OR*=0.612,95%*CI*=0.355~1.052),*P* 值接近有统计学意义(*P*=0.07)。见表 1。

2.2 PTEN 基因多态位点与脑膜瘤临床病理的关联分析

PTEN 3 个多态位点 rs2735343、rs701848 和 rs1234214 与脑膜瘤的 WHO 分级、肿瘤部位、肿瘤大小及瘤周水肿程度均无关联(见表 2)。

表 1 非条件 Logistic 回归分析不同遗传模型下 PTEN 基因多态位点与脑膜瘤易感性关联

SNP	基因型	例数		显性模型		隐性模型		加性模型	
		脑膜瘤组	对照组	OR(95%CI)	<i>P</i> 值	OR(95%CI)	<i>P</i> 值	OR(95%CI)	<i>P</i> 值
rs2735343	GG	52	69	0.724(0.466~1.124)	0.150	0.716(0.448~1.145)	0.163	0.612(0.355~1.052)	0.076
	GC	92	88						
	CC	56	43						
rs701848	CC	41	50	0.865(0.534~1.400)	0.555	0.896(0.582~1.379)	0.618	0.795(0.458~1.378)	0.413
	CT	92	90						
	TT	67	60						
rs1234214	AA	39	50	0.896(0.582~1.379)	0.618	0.805(0.495~1.309)	0.382	0.756(0.434~1.318)	0.324
	AC	94	90						
	CC	67	60						

表 2 脑膜瘤临床表型与 PTEN 基因多态性的关联

临床病理特征	rs2735343				rs701848				rs1234214			
	GG	GC	CC	P 值	CC	CT	TT	P 值	AA	AC	CC	P 值
WHO 分级												
WHO I 级	43	76	50	0.507	35	76	58	0.781	33	78	58	0.825
WHO II+III 级	9	16	6		6	16	9		6	16	9	
肿瘤部位												
颅底	35	59	42	0.386	28	57	51	0.167	26	59	51	0.197
非颅底	17	33	14		13	35	16		13	35	16	
肿瘤大小												
<4 cm	38	60	40	0.556	31	59	48	0.354	30	60	48	0.281
≥4 cm	14	32	16		10	33	19		9	34	19	
瘤周水肿												
无或轻度	38	68	40	0.943	32	67	47	0.668	30	69	47	0.745
中重度	14	24	16		9	25	20		9	25	20	

2.3 PTEN 基因多态性单体型分析

根据连锁不平衡分析结果显示,*PTEN* 基因 3 个多态位点 rs2735343、rs701848 和 rs1234214 存在明显连锁不平衡($D'>0.9$, $r^2>0.3$),由脑膜瘤组和对照组的 3 个多态位点组成一个单体型块(图 1),可进行单体型分析(见表 3)。单体型分析显示,*PTEN* 基因以单体型 CTC 为主,在脑膜瘤组中分布频率 51.0%,高于对照组中 43.5%,表明携带 CTC 单体型患者脑膜瘤发病风险增加 1.366 倍(*OR*=1.366,95%*CI*=1.034~1.805,*P*=0.028),其余单体型各组间

比较,差异无统计学意义(均 *P*>0.05)。见表 4。

表 3 PTEN 基因多态位点间配对连锁不平衡(LD)及 r²

SNP	rs2735343	rs701848	rs1234214
rs2735343	—	1.000	1.000
rs701848	0.748	—	1.000
rs1234214	0.740	0.990	—

注:粗体表示 *D'* 值

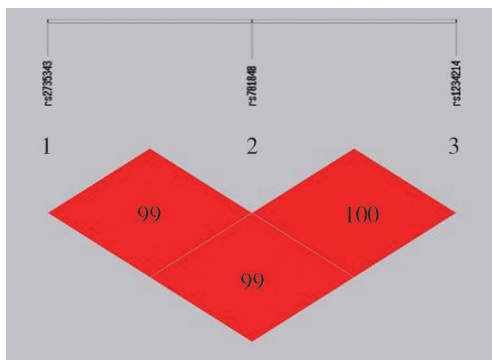


图1 *PTEN* 基因多态位点 rs2735343、rs701848 和 rs1234214 构成的连锁不平衡图

表4 *PTEN* 基因多态位点单体型分析

单体型	脑膜瘤组 (2n=400)	对照组 (2n=400)	P 值	OR(95%CI)
CTC	204(0.510)	174(0.435)	0.028	1.366(1.034~1.805)
GCA	172(0.430)	190(0.475)	0.224	0.841(0.636~1.112)
GTC	22(0.055)	36(0.090)	0.059	0.592(0.341~1.025)
GCC	2(0.005)	0(0.000)		

3 讨论

脑膜瘤是起源于蛛网膜帽状细胞的良性肿瘤,其发生和发展的机制还不十分明确。研究表明其发病可能与生活方式、环境因素及基因、遗传易感性等多种因素相互作用有关。分子遗传学的研究表明,脑膜瘤除 *NF2* 基因突变和22号染色体缺失外,还见其他复杂的染色体改变,如染色体1p,6q,9q,10q,14q,17p和18q的缺失突变和染色体1q,9q,12q,15q,17q和20q重排等,是非典型性脑膜瘤和恶性脑膜瘤进展和复发的重要事件,这提示脑膜瘤的发生和发展过程中可能存在多个肿瘤抑癌基因变异^[5-7]。

PTEN 基因是一种重要的抑癌基因,参与细胞迁移、生长和细胞周期调控等多种重要细胞过程^[1]。*PTEN* 基因位于染色体10q23.3上,由9个外显子和8个内含子组成,编码403个氨基酸蛋白,该蛋白具有脂质磷酸酶活性,可拮抗PI3K/AKT信号转导通路,最终逆转该通路引起的肿瘤细胞增殖和肿瘤发生过程^[8]。*PTEN* 编码序列中发现了多种遗传改变,包括错义、无义和移码突变;剪接位点变异体、缺失和插入等。研究发现在胶质母细胞瘤、子宫内膜癌、乳腺癌和前列腺癌等恶性肿瘤中存在 *PTEN* 基因点突变,而 *PTEN* 基因功能的缺失可能与这些肿瘤的形成和发展有关^[9]。

因此,*PTEN* 基因多态性在不同肿瘤中发挥的作用不同,不同人群对 *PTEN* 基因多态性的易感性也存在差异,目前关于 *PTEN* 基因多态性与肿瘤的关系报道较少。Xu 等^[10] 研究发现,*PTEN* 基因多态性与食管鳞癌密切相关,

位于内含子区的 rs2735343 和位于非编码区的 rs701848 位点的等位基因分布与食管鳞癌具有相关性,能增加其发病风险,可能通过调节 *PTEN* 基因的表达影响肿瘤的发生。一项国内关于 *PTEN* 基因 IV S4 多态位点 (rs3830675) 与肿瘤易感性的 Meta 分析研究显示, *PTEN* 基因 IVS4 多态性能降低亚洲人群消化道肿瘤的发病风险,是肿瘤发病的保护性因素^[11]。而 Li 等^[12] 对 *PTEN* 基因多态性与乳腺癌的发病风险研究显示, rs701848 多态位点基因型 TC, CC 和 TC/CC 能增加乳腺癌发病风险, C 等位基因可能是乳腺癌发病的危险因素。

关于抑癌基因 *PTEN* 在脑膜瘤中的表达,国内外报道较少。Ma 等^[13] 研究发现,低表达 *PTEN* 与脑膜瘤恶性程度密切相关,并且表达水平越低,患者生存期越短。Joachim 等^[14] 报道 25 例恶性脑膜瘤中 2 例发生 *PTEN* 缺失,肖冠英等^[15] 研究 *PTEN* 的表达情况与良性脑膜瘤复发和演进的关系中,显示 *PTEN* 在良性复发组及高级别组中的脑膜瘤呈高表达, *PTEN* 表达可能与良性脑膜瘤的复发和演进有关。国外有报道在 AKT1-mTOR 和 Hedgehog-Gli 信号途径中,非 *NF2* 基因突变型脑膜瘤存在体细胞突变,这些信号通路可能存在交互影响,与脑膜瘤的发生发展有关^[16-17]。目前尚不清楚 *PTEN* 基因与脑膜瘤发生相关的分子遗传学基础。

本研究中,笔者对中国人群 *PTEN* 基因 3 个多态位点进行基因分型,其中 rs1234214 和 rs2735343 均位于内含子区,能促进转录并调控基因的表达, rs701848 位点位于 *PTEN* 基因 3'UTR 区,为潜在的启动子区域,可影响基因的转录和翻译。研究结果发现脑膜瘤组和对照组之间无论等位基因分布和基因型频率均无统计学差异,并且不同临床病理特征脑膜瘤的 *PTEN* 基因多态性各位点基因型分布差异也无统计学意义,提示上述 3 个多态位点与脑膜瘤的发病风险无关联,位于内含子区和非翻译区的位点可能不影响氨基酸编码,在蛋白的功能改变上不起主要作用。但通过单体型和连锁不平衡进行分析,脑膜瘤组与正常对照组相比, CTC 单体型分布差异明显,结果显示 CTC 单体型频率分布在脑膜瘤组高于对照组,增加脑膜瘤发病风险,提示该单体型或与其相关联的多态性位点可能存在协同效应,增加了 *PTEN* 的转录或表达水平,从而增加脑膜瘤的发病风险。笔者推测位于内含子区的 rs1234214 位点附近的遗传改变可能在与 3'UTR 区的位点 rs701848 遗传变异影响下,共同作用于 *PTEN* 基因转录和翻译过程,进而影响 *PTEN* 蛋白的表达和功能作用。虽然位点 rs1234214 和 rs701848 不直接影响氨基酸编码和蛋白功能,但这 2 个位点能构成较强的连锁不平衡,构成的单体型 CTC 可能导致 *PTEN* 基因活性降低,引起 PI3K/AKT 信号转导通路的异常激活,最终增加患脑膜瘤的发病风险。

参 考 文 献

- [1] MASSON GR, WILLIAMS RL. Structural mechanisms of *PTEN* regulation[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2020, 10(3): a036152.
- [2] 任安艳, 葛汝丽, 王洪财. 基因修饰的神经干细胞与帕金森病[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2022, 49(1): 68-72.
- [3] SONG DD, ZHANG Q, LI JH, et al. Single nucleotide polymorphisms rs701848 and rs2735343 in *PTEN* increases cancer risks in an Asian population[J]. Oncotarget, 2017, 8(56): 96290-96300.
- [4] LOUIS DN, PERRY A, REIFENBERGER G, et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary[J]. Acta Neuropathol, 2016, 131(6): 803-820.
- [5] SALLES D, SANTINO SF, MALINVERNI ACM, et al. Meningiomas: a review of general, histopathological, clinical and molecular characteristics[J]. Pathol Res Pract, 2021, 223: 153476.
- [6] PAWLOSKI JA, FADEL HA, HUANG YW, et al. Genomic biomarkers of meningioma: a focused review[J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(19): 10222.
- [7] 张浩宇, 李达, 郝淑煜, 等. 侵袭性脑膜瘤的分子生物学研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2013, 40(3): 248-251.
- [8] NGEOW J, ENG C. *PTEN* in hereditary and sporadic cancer[J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2020, 10(4): a036087.
- [9] ÁLVAREZ-GARCIA V, TAWIL Y, WISE HM, et al. Mechanisms of *PTEN* loss in cancer: it's all about diversity[J]. Semin Cancer Biol, 2019, 59: 66-79.
- [10] XU X, CHEN G, WU L, et al. Association of genetic polymorphisms in *PTEN* and additional gene - gene interaction with risk of esophageal squamous cell carcinoma in Chinese Han population[J]. Dis Esophagus, 2016, 29(8): 944-949.
- [11] GAO XR, DUAN HX, ZHU ZS. Association between *PTEN* IVS4 polymorphism and cancer risk: a meta-analysis[J]. Cancer Biomark, 2013, 13(6): 465-470.
- [12] LI X, ZHANG RS, LIU ZK, et al. The genetic variants in the *PTEN*/PI3K/AKT pathway predict susceptibility and CE(A)F chemotherapy response to breast cancer and clinical outcomes [J]. Oncotarget, 2017, 8(12): 20252-20265.
- [13] MA JP, ZHANG Y, CHEN LP, et al. Low expression of phosphatase and tensin homolog and high expression of Ki-67 as risk factors of prognosis in cranial meningiomas[J]. World Neurosurg, 2020, 136: e196-e203.
- [14] JOACHIM T, RAM Z, RAPPAPORT ZH, et al. Comparative analysis of the *NF2*, *Tp53*, *PTEN*, *KRAS*, *NRAS* and *HRAS* genes in sporadic and radiation-induced human meningiomas[J]. Int J Cancer, 2001, 94(2): 218-221.
- [15] 肖冠英, 赵宋礼, 苏展敏, 等. DJ-1、*PTEN*的表达与良性脑膜瘤复发和演进的关系[J]. 中国医学工程, 2015, 23(9): 12-13, 15.
- [16] TOLAND A, HUNTOON K, DAHIYA SM. Meningioma: a pathology perspective[J]. Neurosurgery, 2021, 89(1): 11-21.
- [17] YOUNGBLOOD MW, MIYAGISHIMA DF, JIN L, et al. Associations of meningioma molecular subgroup and tumor recurrence [J]. Neuro Oncol, 2021, 23(5): 783-794.

责任编辑:王荣兵