

# gsp 癌基因在国人肢端肥大症患者垂体肿瘤中的表达

白祥军 雷霆 刘暎 薛德麟

**【摘要】**目的 观察 gsp 癌基因在国人肢端肥大症患者垂体肿瘤中的表达。方法 采用 PCR-DNA 直接序列分析方法,观察 18 例肢端肥大症患者垂体肿瘤组织中 gsp 癌基因的突变。结果 18 例病人中 6 例(33.3%)gsp 癌基因阳性,4 例位于编码 Gs 201 号密码子上(3 例为 CGT TGT,1 例为 CGT CAT),2 例位于编码 Gs 227 号密码子上(CAG CTG)。结论 gsp 癌基因在国人肢端肥大症患者垂体肿瘤中的表达率与国外一致,是垂体生长激素腺瘤发生的重要原因之一。

**【关键词】**肢端肥大症; gsp 癌基因; 垂体肿瘤

**The expression of gsp oncogenes in the pituitary tumors of chinese acromegalic patients** BAI Xiangjun, LEI Ting, LIU Kui, et al. Department of Neurosurgery, Tongji Hospital, Tongji Medical University, Wuhan 430030, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the expression of gsp oncogenes in the pituitary tumors of Chinese acromegalic patients. **Methods** The gsp oncogene mutation in the pituitary tumors of 18 cases of Chinese acromegaly was detected by using PCR-DNA direct sequencing analysis. **Results** Of the 18 cases, 6 were gsp positive: 4 mutations were at codon Gs 201 (3 cases with CGT TGT, 1 case with CGT CAT), 2 mutations at codon Gs 227 (CAG CTG). **Conclusion** The expression of gsp oncogenes in the pituitary tumors of chinese acromegalic patients was similar to that in foreign patients. Gsp oncogenes was one of the main causes of the growth hormone - secreting pituitary tumor development.

**【Key words】** Acromegaly; gsp oncogene; Pituitary tumor

gsp 癌基因是垂体生长激素(GH)腺瘤发生的重要原因之一,其在西方国家的发生率为 40%左右<sup>[1,2]</sup>,但在亚洲的日本其研究结果仅为 4.4%<sup>[3]</sup>,可能为种族不同所致。而在人口众多的中国,其地位如何目前尚不清楚。我们采用 PCR-DNA 直接序列分析,观察 gsp 癌基因在国人肢端肥大症患者垂体腺瘤组织中的表达。

## 对象与方法

1. 一般资料:选择 18 例肢端肥大症病人,其中男 12 例,女 6 例,年龄 18~54 岁。18 例病人均行影像学、血清 GH 水平和术后病理学诊断为垂体腺瘤,肿瘤的侵袭性以肿瘤是否侵蚀颅底、突破鞍膈或侵入海绵窦来确定。

2. PCR-DNA 序列分析:手术切下的肿瘤组织置入裂解缓冲液(1% SDS, 10 mmol/L Tris, 1 mmol/L EDTA, pH 9.0)中切碎,经蛋白酶消化后,用酚-氯仿-异戊醇(25:24:1)抽提 2 次,以 0.1 倍体积 3 mmol NaAc(pH 5.2)和 2.5 倍体积预冷的无水乙醇沉淀 DNA,提取的 DNA 经 PCR 扩增,引物序列为:5'-CCACCA GAGGACTCTGA GCCCTCTT-3' 和 5'-A GCGTGA GCCCA GCCGACCCTGA TCCCT-3'。PCR 产物用钠盐-乙醇沉淀,干燥后复溶于 20 μl 水中,在 1% 琼脂糖凝胶上电泳,切下所需要的 Gs-DNA 片段,并用 Qiaex 药盒(Diagen, Dusseldorf, 德国)提纯,提纯的 DNA 进一步用双脱氧序列分析药盒(Pharmacia, Freiburg, 德国)进行直接序列分析(标记 dNTP 为<sup>35</sup>S-dATP),序列分析产物注入 8% 聚丙烯酰胺凝胶进行电泳(60W, 3 h),电泳完毕,凝胶转在滤膜(Biorad, Munich, 德国)上,经干燥后,在 X 线胶片上进行 7 d 核素自显影,并读取 DNA 序列。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39670736)

作者单位:430030 武汉,同济医科大学附属同济医院神经外科

### 结 果

1. 18 例肿瘤中 6 例(33.3%)具有 gsp 癌基因突变,其结果如下:201 密码子 4 例:3 例 CGT→TGT, 1 例 CTG→CAT;227 密码子 2 例:CAG→CTG。

2. gsp 癌基因阳性和阴性肿瘤在性别、年龄、肿瘤大小、血清 GH 水平和肿瘤的侵袭性上差异无显著性( $P>0.05$ )。

### 讨 论

细胞内 cAMP 水平的持续升高被认为是 GH 细胞异常增生和 GH 过度分泌的原因,这一概念已经在动物实验中得到证实。生物化学和分子生物学研究表明,垂体 GH 腺瘤细胞内腺苷酸环化酶(AC)具有持续的活性,这是由于编码刺激性 G 蛋白  $\alpha$  亚单位( $G_s$ )的基因存在突变所致,突变的  $G_s$  基因称为 gsp 癌基因<sup>[1,2]</sup>。正常情况下,激动剂激活受体后使 G 蛋白从无活性的  $G_s$ -GDP 转化为活性的  $G_s$ -GTP,激活 AC,cAMP 产生,发挥生物学效应。由于 G 蛋白  $\alpha$  亚基具有内在的 GTP 酶活性,能够水解 GTP,使  $G_s$ -GTP 转化为非活性状态  $G_s$ -GDP,中止 AC 活性。而部分垂体 GH 腺瘤  $G_s$  基因发生点突变,这些突变主要发生在编码  $G_s$  基因的 201 号密码子上,CGT 替换成 TGT 或 CAT(精氨酸→半胱氨酸或组氨酸),少部分发生在 227 号密码子上,CAG 替换成 CGG 或 CTG(谷氨酰胺→精氨酸或亮氨酸),所有这些氨基酸替换,造成  $G_s$  内在的 GTP 酶活性下降,AC 活性增高,cAMP 过度产生,导致细胞增生和 GH 分泌。

有关 gsp 癌基因的研究,Landis 等<sup>[1]</sup>报道其在肢端肥大症垂体腺瘤中的发生率为 40%,继之以后

的报道,gsp 癌基因在西方病人的发生率为 30%~40%。本研究 18 例病人中有 6 例发生突变,占 33.3%,4 例突变位点在编码  $G_s$  基因的 201 号密码子上(CGT→TGT 或 CAT),2 例位于 227 号密码子上(CAG→CTG),发生率与西方研究结果一致,突变位点也与西方基本一致,明显高于日本(4.4%)的研究结果,国内有报道采用 PCR 单链构象多肽性分析方法发现  $G_s$  第 8 外显子突变率为 26.2%<sup>[4]</sup>,稍偏低,但该文作者认为此法存在假阴性。我们的研究结果表明,gsp 癌基因的发生似乎不存在种族的差异,这一结果也得到了韩国学者 Yang 等<sup>[5]</sup>最近研究结果的支持。gsp 癌基因阳性和阴性肿瘤在临床生物学特征上差异无显著性,这与国外研究结果相同。因此,gsp 癌基因仍然是国人、亚洲人乃至全球人群垂体 GH 腺瘤发生的重要原因之一。

### 参 考 文 献

- 1 Landis CA, Master SB, Spada A, et al. GTPase inhibiting mutations activity the alpha chain of  $G_s$  and stimulate adenylyl in human pituitary tumors. *Nature*, 1989,340:692-693.
- 2 Lei T, Adams EF, Buchfelder M. Relationship between kinase C and adenylyl cyclase activity in the regulation of growth hormone secretion by human pituitary somatotrophinomas. *Neurosurgery*, 1993,39:569-570.
- 3 Hosoi E, Yokogoshi Y, Hosoi E, et al. Analysis of the  $G_s$  gene in growth hormone-secreting pituitary adenomas by the polymerase chain reaction-direct sequencing method using paraffin embeded tissue. *Acta Endocrinologica*, 1993,129:301-303.
- 4 朱涛,杨淑源,孙银水. 垂体生长激素腺瘤中  $G_s$  基因突变的 PCR-SSCP 分析. *中国神经外科杂志*,1997,13:247-248.
- 5 Yang IM, Park S, Ryu M, et al. Characteristics of gsp-positive growth hormone-secreting pituitary tumors in Korean acromegaly patients. *Eur J Endocrinol*, 1996,134:720-721.

(收稿日期:1999-03-21)