

# 人肾细胞癌组织常染色体和性染色体 STR 基因座变异分析\*

高双全, 丁宇, 张莹, 李银珍, 黄俊仙, 何桂清 (粤北人民医院病理科, 广东韶关 512026)

**摘要:** 目的: 探讨人肾细胞癌组织常染色体、X及Y染色体短串联重复序列 (STR) 及性别基因座变异情况。方法: 选取2015年1月~2020年1月收治的74例肾细胞癌患者为研究对象, 通过对患者癌组织及癌旁正常组织样本DNA进行PCR扩增并进行STR分型。比较不同年龄、性别、临床分期及病理分级患者STR位点变异的差异性。结果: 74例样本中共检测到234次突变, 其中常染色体检测到160次突变, 包括等位基因增加34次, 变更12次, 杂合等位基因完全性丢失36次, 部分丢失78次; X染色体检测到56次突变, 包括等位基因增加17次, 变更23次, 杂合等位基因完全性丢失6次, 部分丢失10次; Y染色体检测到10次突变, 包括等位基因增加2次, 变更7次, 杂合等位基因部分丢失1次。年龄 $\geq 45$ 岁组患者组织样本STR位点变异率显著高于18~44岁组 ( $P < 0.05$ )。结论: 人肾细胞癌组织易发生等位基因变异, 并可能在年龄较大患者中发生, 进行STR分析时需谨慎判定。

**关键词:** 人肾细胞癌; 常染色体; 性染色体; 短串联重复序列

随着医学技术的发展, 短串联重复序列 (Short Tandem Repeats, STRs) 已广泛运用于法医遗传学领域中, 通过STR分析法得到的STR分型图谱在个体识别、亲缘鉴定中起着关键作用<sup>[1]</sup>, 但该方式以同一个体不同组织细胞中DNA序列一致性为首要前提。随着肿瘤发病率逐年上升, 对非正常组织进行个体识别的比例逐渐增多, 而这将对检验以及结果判定要求更高<sup>[2]</sup>。肾细胞癌是一类常见泌尿系统恶性肿瘤, 占肾脏恶性肿瘤的80%~90%, 且其死亡率居泌尿系统肿瘤首位<sup>[3-4]</sup>。基于此, 本研究分析人肾细胞癌组织常染色体、X及Y染色体STR及性别基因座变异情况, 为肾细胞癌组织作为鉴定样本提供相关依据。现报道如下:

## 1 资料与方法

### 1.1 研究样本

选取2015年1月~2020年1月我院收治的74例肾细胞癌患者为研究对象。其中男38例, 女36例; 平均年龄 $43.57 \pm 6.64$ 岁。收集患者癌组织及癌旁正常组织, 冷冻保存。

### 1.2 检测方法

取适量癌组织及癌旁组织, 根据DNA提取试剂盒 (Takara公司, 日本) 操作步骤提取组织DNA。采用PowerPlex 21 System (Promega公司, 美国)、ArgusX-12试剂盒 (Qiagen公司, 德国) 和AmpFLSTR Yfiler试剂盒 (Thermo Fisher Scientific公司, 美国) 扩增A-STR、X-STR以及Y-STR基因座。产物通过3130XL遗传分析仪 (AB公司, 美国) 检测, 并通过Genotyper3.2.1软件分析得到组织STR分型。对比统一来源的肿瘤组织及癌旁组织STR分型, 出现STR分析变异样本需再次检测一次进行确认, 并判断是否发生Aadd、Anew、LOH或pLOH。pLOH根据峰高比值 $< 0.5$ 或 $> 2.0$ 来进行判断。

### 1.3 统计学分析

采用Excel及SPSS21.0软件进行分析处理。采用 $\chi^2$ 检验比较不同年龄、性别、临床分期及病理分级患者STR位点变异的差异性,  $P < 0.05$ 时表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 突变情况统计

74例样本中共31例样本检测到234次突变, 占样本总数41.89%。

### 2.2 常染色体突变情况统计

74例样本在17个常染色体基因座检测到160次突变, 包括等位基因增加34次, 变更12次, 杂合等位基因完全性丢失36次, 部分丢失78次。见表1。

表1 常染色体突变情况统计

基因座	Aadd	Anew	LOH	pLOH	合计
D1S1656	5	1	5	10	21
D13S317	2	1	5	9	17
CSF1PO	2	2	4	9	17
D3S1358	4	1	4	8	17
D5S818	1	2	3	7	13
FGA	2	1	4	6	13
vWA	3	1	3	6	13
PentaD	2	1	2	4	9
D8S1179	2	1	2	4	9
D16S539	2	0	0	4	6
PentaE	2	0	1	3	6
D12S391	2	0	2	2	6
D19S433	2	0	0	2	4
TH01	0	0	1	2	3
D21S11	2	0	0	1	3
D7S820	1	0	0	1	2
TOPX	0	1	0	0	1
合计	34	12	36	78	160

### 2.3 X染色体突变情况统计

74例样本中在10个X染色体基因座共检测到56次突变, 包括等位基因增加17次, 变更23次, 杂合等位基因完全性丢失6次, 部分丢失10次。见表2。

\*基金项目: 韶关市卫生计生科研项目 (编号: Y20137)。

表2 X染色体突变情况统计

基因座	Aadd	Anew	LOH	pLOH	合计
DXS10101	3	4	1	2	10
DXS10135	4	3	0	2	9
DXS10148	3	3	0	1	7
DXS10101	2	2	1	1	6
DXS7132	1	3	2	0	6
DXS10079	1	2	2	1	6
DXS10074	2	2	0	1	5
DXS7423	0	1	0	2	3
HPRTB	1	2	0	0	3
DXS8378	0	1	0	0	1
合计	17	23	6	10	56

### 2.3 Y染色体突变情况统计

38例样本中在6个Y染色体基因座检测到10次突变,包括等位基因增加2次,变更7次,杂合等位基因部分丢失1次。见表3。

表3 Y染色体突变情况统计

基因座	Aadd	Anew	pLOH	合计
YGATAH4	0	2	1	3
DYS385	1	1	0	2
DYS390	0	2	0	2
DYS456	0	1	0	1
DYS438	1	0	0	1
DYS392	0	1	0	1
合计	2	7	1	10

### 2.4 不同类别患者突变情况比较

STR位点变异在不同性别、临床分期及病理分级比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而年龄 $\geq 45$ 岁组患者组织样本STR位点变异率显著高于18~44岁组( $P < 0.05$ )。见表4。

表4 不同类别患者突变情况比较

组别	n	突变(例)	未突变(例)	$\chi^2$	P
性别(例)					
男	38	16	22	0.002	0.970
女	36	15	21		
年龄(岁)					
18~4	40	12	28	5.058	0.025
$\geq 45$ 岁	34	19	15		
临床分期					
I~II期	53	23	30	0.002	0.966
III~IV期	21	9	12		
病理分级					
I~II级	54	23	31	0.035	0.853
III~IV级	20	9	11		

## 3 讨论

法医鉴定工作过程中,可能会遇到一些特殊性案件,比如在医疗纠纷中对病理组织身源鉴定等,而肿瘤组织则往

往被作为重要的样本<sup>[5]</sup>。目前,国内外研究表明,在恶性肿瘤组织中,STR基因座等位基因较易出现变异,可能原因为DNA在复制过程中出现滑动,或者在复制以及修复时滑动链与互补链由于碱基错配而导致重复单位的缺失或者插入,主要类型包括Aadd、Anew、LOH和pLOH四类,而Aadd、Anew、LOH突变类型则可引起基因型的改变<sup>[6-8]</sup>。

本研究结果显示,74例肾细胞癌组织样本中共31例样本检测到234次突变,占样本总数的41.89%,而同一组织可能会发生多种类型或者基因型的突变,说明同一肾细胞癌组织中多个基因座可同时发生突变。在常染色体STR基因座变异分析中,pLOH的发生次数最多,但pLOH突变类型不会引起基因型改变,因此对结论准确性影响不大。而在X染色体中,74例样本中在10个X染色体基因座共检测到56次突变,其中Anew次数最多,达23次,提示在鉴定过程中,需谨慎判别。肿瘤组织中Y染色体突变的相关报道较少。本研究结果显示,在38例男性样本中6个Y染色体基因座检测到10次突变,相较于常染色体及X染色体突变次数较少,突变率较低,提示可作为一些涉及男性肿瘤患者的生物学材料鉴定的辅助信息。同时,本研究进一步将研究对象按照不同性别、年龄、临床分期及病理分级进行分组,探讨不同组别患者STR变异的差异性,结果显示,年龄 $\geq 45$ 岁组患者组织样本STR位点变异率显著高于18~44岁组( $P < 0.05$ ),表明较高年龄患者更易发生基因型的突变。

综上所述,人肾细胞癌组织易发生等位基因变异,并可能在年龄较大患者中发生。由于肿瘤的基因变异率发生较高,因此在个体识别、亲缘鉴定等案件中,需尽量避免选择肿瘤组织作为生物学样本,如必须采用,则需谨慎判别。同时,本研究也存在以下不足:(1)样本量较小;(2)未采用DNA定量分析;(3)肿瘤组织成分未进一步进行细分。因此,仍需后续研究加以探讨。

### 参考文献

- [1] Much M, Buza N, Hui P. Tissue identity testing of cancer by short tandem repeat polymorphism: pitfalls of interpretation in the presence of microsatellite instability[J]. Hum Pathol, 2014, 45(3): 549-555.
- [2] 孙丽娟, 李淑瑾, 付光平, 等. 妇科肿瘤和乳腺癌组织常染色体和X染色体STR的突变分析[J]. 中国法医学杂志, 2017, 32(4): 350-353, 358.
- [3] 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 等. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2019, 41(1): 19-28.
- [4] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [5] 钟巧娥, 王景舟, 王红梅, 等. 人肺癌组织19个常染色体STR及性别基因座变异分析[J]. 中国法医学杂志, 2015, 30(1): 45-48.
- [6] Press MO, Carlson KD, Queitsch C. The overdue promise of short tandem repeat variation for heritability[J]. Trends Genet, 2014, 30(11): 504-512.
- [7] 刘奇, 张海霞, 董婷婷, 等. 甲状腺乳头状癌组织常染色体和性染色体STR基因座变异分析[J]. 癌变畸变突变, 2019, 31(5): 373-378, 384.
- [8] 马若翔, 李永国, 朱英, 等. 肺癌组织中STR基因座变异规律的研究[J]. 中国癌症杂志, 2017, 27(5): 353-358.