

瘤血供较丰,特别是壁层胸膜来源的 SFT,往往粘连致密,分离瘤体耗时较长,术中失血较多,应做好充分术前准备。有报道称单纯手术切除可治愈所有的良性 SFT 与 45% 的恶性 SFT^[8]。但也应该充分认识到 SFT 的潜在恶性,有些病理结果为良性者也不排除日后发生恶变或复发的可能。因此,完整的手术切除及术后长期的密切随访是非常必要的。

参考文献:

- [1] Soldano AC, Meehan SA. Cutaneous solitary fibrous tumor: a report of 2 cases and review of the literature[J]. *Am J Dermatopathol*, 2008, 30(1): 54-58.
- [2] 刘光, 丁华野, 皋岚湘, 等. 孤立性纤维性肿瘤[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2001, 17(5): 445-446.
- [3] 叶彤, 杨小庆. 巨大孤立性纤维性肿瘤三例[J]. *中华放射学杂志*, 2001, 35(8): 639-640.

· 短篇及病例报道 ·

雄激素受体基因 c. 528C>A 变异与雄激素不敏感综合征无关*

李 华¹, 马明义^{2△}, 杜 亭³, 雷 娟³, 章 维³, 张宇翔³

(1. 泸州医学院附属医院内分泌科, 四川泸州 646000; 2. 泸州医学院医学细胞生物学与遗传学教研室, 四川泸州 646000; 3. 泸州医学院临床医学系, 四川泸州 646000)

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2013.05.050

文献标识码: C

文章编号: 1671-8348(2013)05-0598-03

雄激素对男性个体发生、生长发育和生殖功能等都起着十分重要的作用。雄激素必须通过靶器官上特异的雄激素受体 (androgen receptor, AR) 而起作用。雄激素不敏感综合征 (androgen insensitivity syndrome, AIS) 是由于 AR 基因缺失、突变导致 AR 功能障碍或缺失引起雄激素的作用减弱或消失。遗传方式为 X-连锁隐性遗传, 发病率为出生男婴的 1/64 000 ~ 1/20 000^[1]。本研究通过对 AIS 个体家系成员 AR 基因突变的检测, 探讨 AIS 发病的分子病因。

1 资料与方法

1.1 病例 患者, 28 岁, 因男性发育不足, 无腋毛, 阴茎短小、阴毛稀疏来泸州医学院附属医院内分泌科求诊。性激素检查: 睾酮 (T) 升高 41.32 mmol/L, 卵泡刺激素 (FSH) 87.45 IU/L, 雌二醇 (E2) 106.43 pmol/L, 促黄体素 (LH) 升高 24.75 IU/L; 细胞遗传学检查核型为: 46, XY, 临床诊断该患者为 AIS。签署知情同意书后, 患者及其父母静脉各抽血 5 mL 供研究。

1.2 方法

1.2.1 外周血基因组 DNA 的提取 患者及其家系成员、150 名健康男性外周血基因组的 DNA 采用天根生化科技有限公司试剂盒提取, 操作按说明书进行。

1.2.2 聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 扩增 根据 GenBank 中 AR 基因序列 (NM 000044.3), 用 Primer

- [4] Mitchell JD. Solitary fibrous tumor of the pleura[J]. *Semin Thorac Cardiovasc Surg*, 2003, 15(3): 305-309.
- [5] Florello A, Vicidomini G, Santini M. Giant solitary fibrous tumor of the pleura; two case reports[J]. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2007, 55(7): 458-459.
- [6] Robinson LA. Solitary fibrous tumor of the pleura[J]. *Cancer Control*, 2006, 13(4): 264-269.
- [7] 邓波, 王如文, 蒋耀光, 等. 胸部孤立性纤维瘤的诊断与治疗[J]. *肿瘤*, 2008, 28(9): 805-808.
- [8] 李德生, 居来提·艾尼瓦尔. 肺部巨大孤立性纤维瘤临床病理分析[J]. *新疆医科大学学报*, 2010, 33(10): 1260-1261.

(收稿日期: 2012-09-22 修回日期: 2012-10-25)

5.0 软件设计引物, 对 AR 基因的全部 8 个外显子及外显子和内含子交界区分别进行扩增, PCR 扩增产物送测序。引物合成和测序均由上海 Invitrogen 公司完成。外显子 1 扩增片段为 2 100 bp, 除用正向和反向引物测序外, 还设计了两条测序引物, 以期将该片段测通。引物序列、退火温度、扩增片段的大小及测序引物序列见表 1。扩增条件及参数: PCR 反应体系为 50 μL, 其中 dNTP 10 pmol/L, MgCl₂ 1.5 mmol/L, 0.2 μg 基因组 DNA, 引物 10 pmol, TaKaRa Taq 酶 2 U。PCR 扩增反应在 PTC-200 型热循环仪 (MJ Research) 上进行, 扩增参数: 冷启动, 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 55~59 °C 复性 30 s, 72 °C 延伸 30 s 至 2 min, 35 个循环, 最后 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离, 溴乙啶染色, Gel Doc1000 凝胶成像分析系统观察并保存电泳结果。

1.2.3 AR 基因外显子 1 c. 528C>A 变异在健康男性中的检测 c. 528C>A 变异导致了该处限制性核酸内切酶 AluI 酶切位点的消失, 用 Primer 5.0 软件设计一对引物, F: 5'-AGC TGC CCC ATC CAC GTT GTC C-3'; R: 5'-GGA AGT GGG AGC CCC CGA GG-3', 扩增片段为 187 bp, 内切酶 AluI 购置于 NEB, 酶切产物经 3% 琼脂糖凝胶电泳分离, 溴乙啶染色, Gel Doc1000 凝胶成像分析系统观察并保存电泳结果。酶切后野生型片段为: 133 bp+54 bp; 突变型为: 187 bp。

表 1 雄激素受体基因各外显子及 c. 528C>A 位点 PCR 扩增条件和测序引物

位点	退火温度(°C)	PCR 引物序列 5'→3'	片段大小(bp)	测序引物
Exon 1	57 °C	F: GTG TGT CTT CTT CTG CAC GAG AC R: CCT CGA GTA CCA GGA GGT AGT GAG	2 100	F、测序引物 2*、测序引物 3 [△] 和 R

* 基金项目: 四川省教育厅大学生创新性实验资助项目 (10ZB122)。作者简介: 李华 (1973~), 主治医师, 博士, 主要从事糖尿病胰岛素抵抗及大血管病变研究。△ 通讯作者, E-mail: luyimamingyi@163.com。

续表 1 雄激素受体基因各外显子及 c. 528C>A 位点 PCR 扩增条件和测序引物

位点	退火温度(°C)	PCR 引物序列 5'→3'	片段大小(bp)	测序引物
Exon 2	59	F:GCT CAG TCA CAC CCT ACA ACC AT	518	F
		R:GAA ACC AGG GAA CTA GCA AGT ACA		
Exon 3	57	F:GTT TGG TGC CAT ACT CTG TCC AC	363	F
		R:TGG TCC CCT TGG AAG CAT CA		
Exon 4	55	F:TTT AGA GTC TGT GAC CAG GGA G	482	F
		R:GGC TGG TCC ATA GGA GCG T		
Exon 5	55	F:TTT GAG CAG CTC AGG GAA GTA GG	506	F
		R:TAC TGG ATT GGC TGG CTG GG		
Exon 6	55	F:TGC CTC CCC CAT TGT GTT C	596	R
		R:GAG GGG GAA TGA AGA AGG GA		
Exon 7	55	F:CCA AGT AGA TGG TTC CCT GTG	370	F
		R:CAA CAG GTG GTG CCA GAC TC		
Exon 8	59	F:CCA CCT CCT TGT CAA CCC TG	589	R
		R:TCC CGT GGC ATA AGA TAA GTA AA		
c. 528C>A	55	F:AGC TGC CCC ATC CAC GTT GTC C	187	
		R:GGA AGT GGG AGC CCC CGA GG		

* :5'-CCC CAA GCC CAT CGT AGA GG-3';△:5'-CTT CGG GGG GAT TGC ATG TA-3'.

2 结 果

AR 基因 8 个外显子 PCR 扩增的电泳结果, 见图 1。
c. 528C>A 位点突变型和野生型男性 AluI 酶切后电泳结果, 见图 2。
c. 528C>A 位点突变型和野生型男性测序结果, 见图 3。

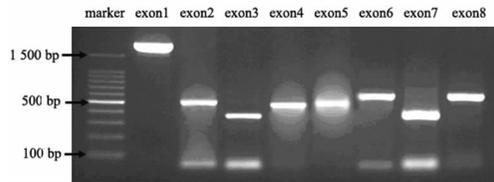


图 1 AR 基因 8 个外显子 PCR 扩增的电泳结果

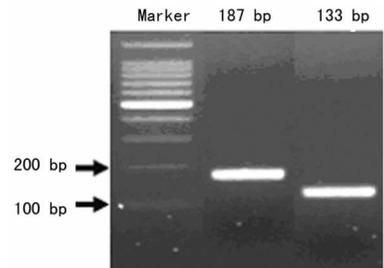


图 2 c. 528C>A 位点突变型和野生型男性 AluI 酶切后电泳结果

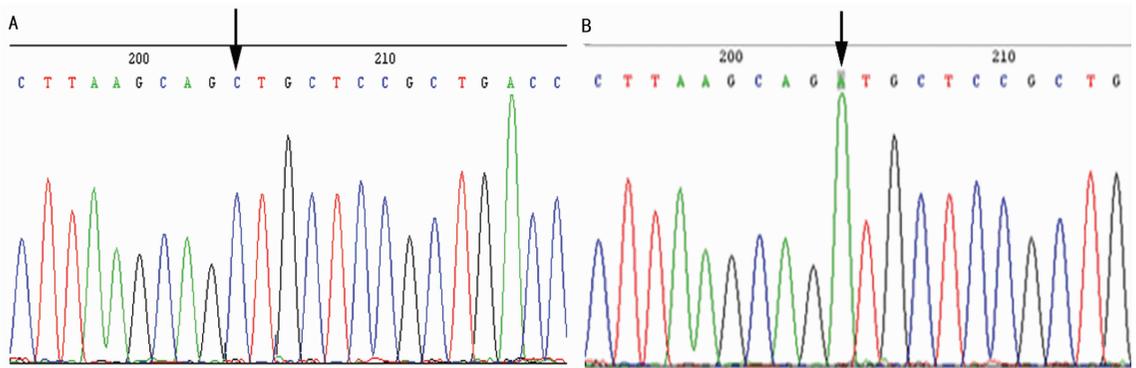


图 3 c. 528C>A 位点突变型和野生型男性测序结果

3 讨 论

AR 基因是一单拷贝的 X 染色体基因。AIS 可分为完全型雄激素不敏感综合征 (complete androgen insensitivity syndrome, CAIS) 和部分型雄激素不敏感综合征 (partial androgen insensitivity syndrome, PAIS)。CAIS 的临床表现较为特异, 诊断和鉴别较为容易。PAIS 的临床诊断和鉴别较为困难, 容易与其他病因所致的男性性发育异常混淆。在 AR 基因克隆之前, 测定外阴皮肤成纤维细胞对雄激素的结合力一直作为诊断 AIS 的金标准, 但随后的研究发现了 AR 结合力正常的 AIS^[2-3], 因此 AR 基因分子检测是诊断 PAIS 患者较为准确

的方法。迄今, 人类基因组突变数据库收录了 AIS 患者 AR 基因的 343 条突变。AR 基因外显子 2~8 是 AIS 的突变“热区”^[4]。目前国内文献对 AR 基因突变的筛查仅筛查外显子 2~8^[5-6], 虽外显子 1 的突变较罕见, 但也有外显子 1 突变导致 AIS 的病例报道^[7-9]。

本研究发现一 PAIS 患者外显子 1 存在 c. 528C>A 变异, 该变异由他母亲传递而来, 查阅相关生物信息学数据库证实该变异还未见报道。c. 528C>A 变异虽未导致氨基酸的改变, 但由于近年来的研究表明该类变异有可能影响 mRNA 的稳定性和外显子的剪接^[10], 因患者拒绝提供外阴皮肤成纤维细胞, 为评估该变异是否是 AIS 的致病病因, 作者用限制性片段长度

多态分析法对 150 名健康男性 AR 基因 c.528C>A 变异进行检测,结果发现该变异在健康男性中也存在,频率很低(3/150),所以该变异并不是该患者致病的病因,该患者致病位点的探寻还有待于进一步研究。

目前报道的 AIS 患者的突变多位于外显子上,但基因诊断中常发现有相当数量的 PAIS 患者全部外显子检测均未见异常,这些患者发病的病因很有可能是内含子深处的变异导致 AR 基因 mRNA 的错误剪接或剪接效率改变所致,但相关的研究获得病人外阴皮肤成纤维细胞是关键。每一条新的 AR 基因功能性变异的发现都将丰富 AR 基因的突变谱,为诊断和预防 AIS 患者的出生提供理论依据和可能。

参考文献:

- [1] Joshi RR, Rao S, Desai M. Etiology and clinical profile of ambiguous genitalia an overview of 10 years experience [J]. Indian Pediatr, 2006, 43(11):974-979.
- [2] Amrhein JA, Meyer WJ 3rd, Jones HW Jr, et al. Androgen insensitivity in man: evidence for genetic heterogeneity[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1976, 73(3):891-894.
- [3] Quigley CA, Friedman KJ, Johnson A, et al. Complete deletion of the androgen receptor gene: definition of the null phenotype of the androgen insensitivity syndrome and determination of carrier status[J]. J Clin Endocrinol Metab, 1992, 74(4):927-933.
- [4] Brown TR. Human androgen insensitivity syndrome[J]. J Androl, 1995, 16(4):299-303.
- [5] 张蔚,李修琪.雄激素受体基因剪接受点突变 G3346→T

引起一例完全型雄激素不敏感综合征[J].中华医学遗传学杂志,2001,18(1):14-16.

- [6] 田秦杰,黄尚志,郁琦,等.完全型雄激素不敏感综合征中雄激素受体基因突变的检测与分析[J].生殖医学杂志,1995,4(4):196-200.
- [7] Lagarde WH, Blackwelder AJ, Mingos JT, et al. Androgen receptor exon 1 mutation causes androgen insensitivity by creating a phosphorylation site and inhibiting melanoma antigen-A11 activation of N/C interaction-dependent transactivation[J]. J Biol Chem, 2012, 287(14):10905-10915.
- [8] Hannema SE, Scott IS, Hodapp J, et al. Residual activity of mutant androgen receptors explains wolffian duct development in the complete androgen insensitivity syndrome[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2004, 89(11):5815-5822.
- [9] Choong CS, Quigley CA, French FS, et al. A novel missense mutation in the amino-terminal domain of the human androgen receptor gene in a family with partial androgen insensitivity syndrome causes reduced efficiency of protein translation[J]. J Clin Invest, 1996, 98(6):1423-1431.
- [10] Wang GS, Cooper TA. Splicing in disease: disruption of the splicing code and the decoding machinery[J]. Nat Rev Genet, 2007, 8(10):749-761.

(收稿日期:2012-10-18 修回日期:2012-11-22)

(上接第 596 页)

3 讨论

过敏性疾病(哮喘、咳嗽变异性哮喘、过敏性鼻炎、荨麻疹/湿疹)是机体对外界致敏物质产生的一种不正常的免疫反应,其病因复杂,发病机制不甚明了,绝大多数患者不能明确变应原,皮肤点刺试验是一种过敏性疾病的体内特异性诊断方法,进行皮肤点刺试验的目的是查明过敏性疾病的过敏原,其对于过敏性疾病的诊断、治疗和预防具有极重要的意义^[1]。

108 例患儿进行皮肤点刺试验,52 例皮试阳性,皮试阳性率 48.1%,这表明儿童过敏性疾病约一半由过敏原所致。哮喘患儿过敏原检测阳性率最高,为 54.3%,这表明儿童哮喘过敏原致病的可能性更大。且年龄越大,阳性率越高,与文献相符^[2]。年龄越小,其过敏原阳性率越低,考虑其变应原可能与病毒感染致气道变应性炎症有关,所以尽管其过敏原阳性率不高,但发病率并不比学龄后儿童低^[3]。荨麻疹/湿疹阳性率最低,表明过敏原可能参与其发病过程,但其他因素可能起更重要的作用。常见过敏原结果分析表明,尘螨是引起儿童过敏性疾病的主要变应原,其中粉尘螨阳性率最高 42.6%,户尘螨 37%。近年来,蟑螂、家蝇阳性率逐渐增高,本研究中分别达到 21.3%和 20.3%,与文献相符^[4]。

过敏原皮试阳性的患儿,应尽量避免与这些过敏原接触。对于吸入组阳性的患儿,特别是尘螨阳性的患儿,应尽量不用地毯、多晒被褥、枕头、床垫等,清洁居家卫生,保持干燥通气。

对于食物组阳性的患儿,从食物中严格去除过敏食物是目前唯一有效的治疗方法^[5],今后生活中应尽量避免该食物的食用,减少过敏性疾病的发生。

皮肤点刺试验,价格低廉、操作简单、安全,引起全身反应可能性小,诊断特异、敏感、准确度高,目前在国内外得到广泛应用,是一种对过敏性疾病的诊断很适用、有效的方法。目前基层医院开展很少,特别是县级医院,此方法值得推广。

参考文献:

- [1] Wainsten BK, Yee A, Jelley D, et al. Combining skin prick immediate skin application and specific-IgE testing in the diagnosis of peanut allergy in children[J]. Pediatr Allergy Immunot, 2007, 18(3):231-239.
- [2] 茹凉,张卫平,吐尔逊娜依·玉山.儿童哮喘过敏原检测及临床意义[J].临床儿科杂志,2007,1(25):26-29.
- [3] 张先华,李云.小儿哮喘变应原皮试影响因素分析[J].中华综合临床医学杂志,2004,6(2):2-3.
- [4] 李秀芳,白莉莉.口服螨苗对儿童咳嗽变异性哮喘的免疫治疗[J].中国医学研究与临床,2006,4(1):17-18.
- [5] 赵京.婴幼儿和儿童食物过敏的诊断及治疗管理[J].国外医:儿科学分册,2001,3(26):105-106.

(收稿日期:2012-09-17 修回日期:2012-10-21)