

ĐA HÌNH NUCLEOTIDE ĐOẠN ĐIỀU KHIỂN CỦA MATRIX METALLOPROTEINASE-2 (MMP-2) Ở MỘT SỐ BỆNH NHÂN UNG THƯ Vòm MŨI HỌNG

Nguyễn Thị Ngọc Hà¹, Phan Thị Phi Phi², Nông Văn Hải³

¹Trường Đại học Y khoa, Đại học Thái Nguyên

²Trường Đại học Y Hà Nội

³Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam

TÓM TẮT

Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) được xem như đóng vai trò quan trọng trong xâm lấn và di căn ung thư, bởi khả năng phân hủy mạnh chất nền ngoại bào và màng đáy. Theo một số nghiên cứu mới đây, đa hình đơn nucleotide (-1306C/T) trong promoter *MMP-2* làm phá vỡ vị trí gắn nhân tố phiên mã Sp1, vì thế gây giảm biểu hiện gen *MMP-2*. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân tích đa hình trong promoter của gen *MMP-2* ở một số bệnh nhân ung thư vòm mũi họng (UTVMH) người Việt Nam, hướng tới việc xác định mối liên quan giữa tính đa hình và tình trạng di căn trong UTVMH. DNA tổng số được tách chiết từ mô sinh thiết vòm họng của 9 bệnh nhân UTVMH và 3 mẫu máu người khỏe mạnh. Sử dụng cặp mồi *MMP-2*F và *MMP-2*R chúng tôi đã nhân thành công đoạn promoter *MMP-2* có kích thước 295 bp. Sản phẩm PCR sau đó được gắn vào vector pCR[®] 2.1, biến nạp vào chủng vi khuẩn *E. coli*. Các dòng plasmid tái tổ hợp được tiến hành đọc trình tự cả 2 chiều. Kết quả thu được: ngoài điểm -1306C/T đã được công bố trên ngân hàng gen, chúng tôi còn thấy xuất hiện 4 điểm -1235T/C, -1339T/C, -1440T/C và -1456T/C chưa thấy được công bố trong bất kỳ tài liệu nào. Có thể đây là những vị trí đa hình trên vùng promoter *MMP-2* của những bệnh nhân UTVMH người Việt Nam có khả năng dẫn đến sự thay đổi về biểu hiện gen *MMP-2*, một trong những yếu tố liên quan đến di căn ung thư vòm mũi họng.

Từ khóa: Đa hình, *MMP-2* promoter, ung thư vòm mũi họng

MỞ ĐẦU

Ung thư vòm mũi họng (UTVMH) là một bệnh phổ biến trong các bệnh ung thư ở nước ta và thường gặp nhất trong các ung thư vùng đầu mặt, nó có đặc điểm xâm lấn và di căn cao hơn các ung thư vùng đầu mặt cổ khác (Lê Chính Đại *et al.*, 2004; Nguyễn Bá Đức *et al.*, 2004). Để xâm lấn và di căn được, các tế bào ung thư phải trải qua nhiều bước liên tiếp, trong đó sự phá vỡ chất nền ngoại bào và màng cơ bản là bước quyết định cho các tế bào ung thư rời khỏi tổn thương nguyên phát, xâm lấn các tổ chức lân cận và đi tới tổ chức xa hơn (Matrisian *et al.*, 1994). Gần đây, nhiều tài liệu đã đề cập đến vai trò các matrix metalloprotein (MMPs)- một họ các enzyme tiêu protein, đóng vai trò quan trọng trong việc phân hủy chất nền ngoại bào và màng cơ bản. Trong đó, MMP2 được xem như enzyme chủ chốt cho quá trình này, bởi chúng có khả năng phân hủy mạnh collagen type IV, một trong những thành phần quan trọng của chất nền ngoại bào và màng đáy (Nagase *et al.*, 1999; Curan *et al.*, 2000)

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng sự biểu lộ quá mức *MMP-2* đã làm tăng khả năng xâm lấn và di căn ung thư (Kurahara *et al.*, 1999; O-Charoenrat *et al.*, 2001). Mặc dù đột biến soma của *MMP-2* trong ung thư chưa được công bố rõ, nhưng nhiều đa hình đơn nucleotide trong vùng promoter *MMP-2* đã được xác định. Trong số đó, C chuyển thành T ở vị trí -1306 của promoter *MMP-2* làm vị trí gắn của nhân tố phiên mã Sp1 (CCACC) sẽ bị phá vỡ, hệ quả là làm giảm hoạt động của promoter cũng như việc biểu hiện gen *MMP-2*. (Price *et al.*, 2001). Người ta đã đưa ra giả thuyết rằng *MMP-2* -1306C allele có thể làm tăng nguy cơ ung thư biểu mô bởi khả năng làm tăng mức độ biểu lộ *MMP-2* suốt đời. Một nghiên cứu dịch tễ học phân tử mới đây đã nhận thấy, sự xuất hiện thường xuyên kiểu gen *MMP-2* -1306CC cao hơn có ý nghĩa ở những bệnh nhân ung thư phổi so với những người khỏe mạnh bình thường (Zhou *et al.*, 2005). Như vậy, kiểu gen CC có thể liên quan tới sự sao chép và hoạt hóa enzyme *MMP-2* và thực sự ảnh hưởng tới khả năng sinh u và di căn của từng cá thể.

Trong bài báo này, chúng tôi tiến hành phân lập và xác định trình tự đoạn promoter của *MMP-2* ở một số bệnh nhân UTMH và trên người bình thường ở Việt Nam để tìm hiểu tính đa hình của gen này trên các đối tượng người Việt Nam bình thường và một loại bệnh lý ác tính là UTMH.

NGUYÊN LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

Nguyên liệu

DNA tổng số được tách chiết từ mẫu sinh thiết vòm của 9 bệnh nhân UTMH đã được chẩn đoán xác định và điều trị tại bệnh viện K Hà Nội từ năm 2001 đến năm 2003 được ký hiệu: 1FB, 3FB, 6FB, 10FB, 11FB, 12FB, 14FB, 17FB, 20FB và 3 mẫu máu của người khỏe mạnh (24Y, 25Y, 26Y).

Cặp mồi sử dụng để nhân đoạn promoter *MMP-2*, ký hiệu MMP-2F và MMP-2R, được đặt tổng hợp tại hãng IDT có trình tự như sau:

MMP-2F 5'- CTG ACC CCC AGT CCT ATC TGC C -3'

MMP-2R 5'- TGT TGG GAA CGC CTG ACT TCA G -3'

TA Cloning® Kit, vector pCR® 2.1 và tế bào khả biến chủng TOF10F được mua của hãng Invitrogen, Wizard®SV Gel and PCR clean-Up System (Promega).

Phương pháp

Kỹ thuật tách chiết DNA tổng số từ mẫu sinh thiết vòm đã cố định bằng formalin 10% và gắn trong block paraffin - được thực hiện theo protocol của Shi Shan-Rong (2002). Các kỹ thuật khác như tách DNA tổng số từ các mẫu máu, điện di kiểm tra và tách dòng được tiến hành theo Sambrook và Russell (2001) với một vài cải tiến nhỏ cho phù hợp với đặc trưng của mẫu nghiên cứu.

Đoạn promoter *MMP-2* được nhân lên bằng kỹ thuật PCR. Hỗn hợp phản ứng bao gồm ~100 ng DNA tổng số, 10 pM mỗi loại mồi, 0,625 đơn vị *Taq* DNA polymerase, 1× đệm PCR và 250 μM dNTP mỗi loại. PCR được tiến hành trên máy luân nhiệt với chu trình nhiệt như sau: 94°C trong 2 phút, 94°C trong 30 giây, 64°C trong 30 giây, 72°C trong 45 giây, lặp lại 35 lần từ bước 2, 72°C trong 7 phút, giữ ở 4°C. Sản phẩm PCR được giữ ở -20°C đến khi sử dụng.

Sản phẩm PCR được tinh sạch bằng kit

Wizard®SV Gel and PCR clean-Up System (Promega), sau đó được gắn vào vector pCR® 2.1 và biến nạp vào tế bào *E. coli* chủng TOF 10F' theo quy trình của hãng sản xuất Invitrogen.

Xác định trình tự được thực hiện trên máy ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer với bộ kit BigDye® Terminator v3.1. Các thông số trình tự nucleotide và chất lượng đỉnh được thu thập, kiểm định bằng các phần mềm ABI Data Collection v2.0 và Sequencing Analysis Software v5.3. Trình tự đoạn promoter *MMP-2* của các mẫu bệnh UTMH và mẫu người bình thường người Việt Nam được so sánh với một số trình tự công bố trên các Ngân hàng trình tự gen Quốc tế EMBL(EBI)/Genbank/DBJ với mã số AJ298926 thông qua sử dụng các phần mềm phân tích như SeqScape® Software v2.6, BioEdit v7.0.9.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Nhân gen *MMP-2* promoter bằng kỹ thuật PCR

DNA tổng số đã được tách chiết, tinh sạch và kiểm tra nồng độ bằng quang phổ được dùng làm khuôn để nhân đoạn promoter *MMP-2*.

Để phân tích mức độ đa hình trong đoạn promoter của gen *MMP-2* ở một số bệnh nhân UTMH người Việt Nam, chúng tôi sử dụng cặp mồi MMP-2F và MMP-2R để nhân đoạn promoter dài 295 bp có chứa vị trí (-1306C→T) (Price *et al.*, 2001).

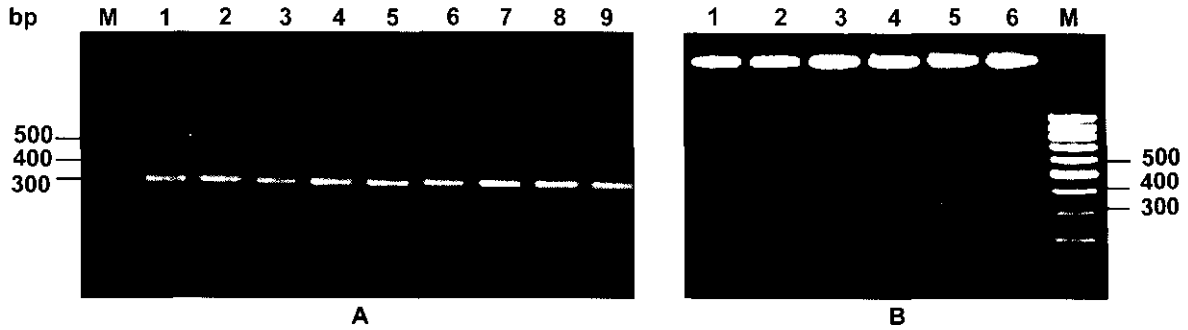
Kết quả điện di sản phẩm PCR (Hình 1A) cho thấy: Khi sử dụng cặp mồi MMP-2F và MMP-2R đều cho sản phẩm PCR đặc hiệu, rõ nét ở các mẫu nghiên cứu với kích thước khoảng 300 bp, hoàn toàn phù hợp với kích thước đoạn promoter *MMP-2* theo tính toán lý thuyết. Như vậy sản phẩm PCR được khuếch đại với số lượng đủ lớn để dùng cho các bước thí nghiệm tiếp theo.

Chọn dòng đoạn promoter *MMP-2* trong vector pCR®2.1

Để tạo cơ sở cho việc xác định trình tự đoạn promoter gen *MMP-2*, chúng tôi đã tiến hành tách dòng phân tử đoạn DNA này trong vector tách dòng pCR® 2.1. Sản phẩm ghép nối được biến nạp vào tế bào *E. coli* chủng TOF10F'. Các thể tái tổ hợp được kiểm tra bằng enzyme hạn chế *EcoRI*. Theo tính toán lý thuyết, các DNA plasmid mang gen quan tâm khi được cắt bằng *EcoRI* sẽ cho 2 băng với các kích thước

khoảng 3,9 kb (tương ứng với kích thước của vector) và khoảng 300 bp (tương ứng với kích thước đoạn gen được chèn vào). Điện di đồ (Hình 1B) cho thấy các kết quả thực nghiệm thu được hoàn toàn phù hợp với

tính toán lý thuyết. Như vậy, sản phẩm PCR nhân gen mã hóa *MMP-2* đã được tách dòng thành công. Các plasmid tái tổ hợp được tách chiết và tinh sạch với lượng lớn để sử dụng cho việc xác định trình tự.



Hình 1. Điện di sản phẩm PCR và sản phẩm cắt DNA plasmid từ một số mẫu nghiên cứu trên gel agarose 2%. **A:** M: Thang DNA chuẩn 100 bp; 1 - 9: Sản phẩm PCR của đoạn promoter *MMP-2* từ 9 mẫu tương ứng là 1FB, 3FB, 6FB, 10FB, 11FB, 12FB, 14FB, 17FB, 20FB. **B:** 1 - 6: Sản phẩm cắt DNA plasmid tương ứng với các dòng: 3FB, 6FB, 14FB, 17FB, 25Y, 24Y; M: 50 bp.

Xác định trình tự và phân tích tính đa hình trên promoter của gen *MMP-2*

Trình tự nucleotide đoạn promoter gen *MMP-2* được xác định theo cả hai chiều bằng mồi M13F và M13R. Sau khi xử lý số liệu bằng các phần mềm chuyên dụng, chúng tôi thu được trình tự đoạn promoter của gen *MMP-2* có chiều dài 295 bp. Kết quả so sánh trình tự của các mẫu nghiên cứu so sánh với trình tự trên GenBank có mã số AJ298926 được thể hiện trên hình 2, cho thấy có sự thay đổi nucleotide ở 4 trong 12 mẫu nghiên cứu, -1235T→C ở mẫu 11FB; -1339T→C và -1306C→T ở mẫu 17FB, -1440T→C ở mẫu 3FB và -1456T→C ở mẫu 6FB (Hình 2, Hình 3).

Trong 5 vị trí đa hình, mẫu 17FB có vị trí -1306C→T phù hợp với kết quả trong các nghiên cứu đã công bố trước đây (Price *et al.*, 2001; Zhou *et al.*, 2004; O-Charoenrat *et al.*, 2006). Theo Qin và đồng tác giả (1999) và Price *et al.*, (2001): khi C chuyển thành T ở vị trí -1306 trên promoter *MMP-2* đã phá vỡ vị trí gắn Sp1 (một nhân tố phiên mã được biểu hiện khá thường xuyên, nó gắn với các yếu tố giàu GC/GT và có vai trò quan trọng trong điều hòa gen *MMP-2*), làm giảm hoạt hóa promoter với allele T. Những trường hợp có kiểu gen *MMP-2*-1306CC có thể làm tăng khả năng phát triển và di căn ung thư hơn những trường hợp có kiểu gen

-1306TC hay -1306TT (Yu *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2004; O-Charoenrat *et al.*, 2006). Tuy nhiên, chúng tôi mới chỉ bước đầu xác định được vị trí đa hình của đoạn promoter *MMP-2* trên một số trường hợp và chưa đủ số mẫu để xác định được tần suất các allele trên các bệnh nhân UTVMH ở các giai đoạn bệnh khác nhau hay với tình trạng di căn ung thư trên lâm sàng. Ngoài ra, trong các mẫu bệnh nghiên cứu, chúng tôi còn thấy xuất hiện một số điểm đa hình chưa thấy công bố trên ngân hàng gen, đó là các điểm: -1235T→C, -1339T→C, -1440T→C và -1456T→C. Phải chăng đây là những vị trí đa hình trên đoạn promoter *MMP-2* có thể dẫn đến sự thay đổi về biểu hiện gen *MMP-2* - một trong những yếu tố liên quan đến tiến triển và di căn ung thư trên những bệnh nhân UTVMH người Việt Nam. Đặc biệt trên 3 mẫu chứng mà chúng tôi nghiên cứu không thấy có sự thay đổi nào về trình tự các nucleotide trên đoạn promoter của gen *MMP-2* so với trình tự đã được công bố. Do nghiên cứu đầu tiên của chúng tôi trên người Việt Nam với số mẫu còn hạn chế, nên chúng tôi mới chỉ đưa ra một số nhận xét về sự thay đổi trình tự các nucleotide trên promoter của gen *MMP-2*. Những điểm thay đổi này có thể là các đa hình giữa các cá thể trong quần thể của người Việt Nam bình thường hay có liên quan gì đến bệnh lý? Đây là vấn đề đang được tiếp tục nghiên cứu.

```

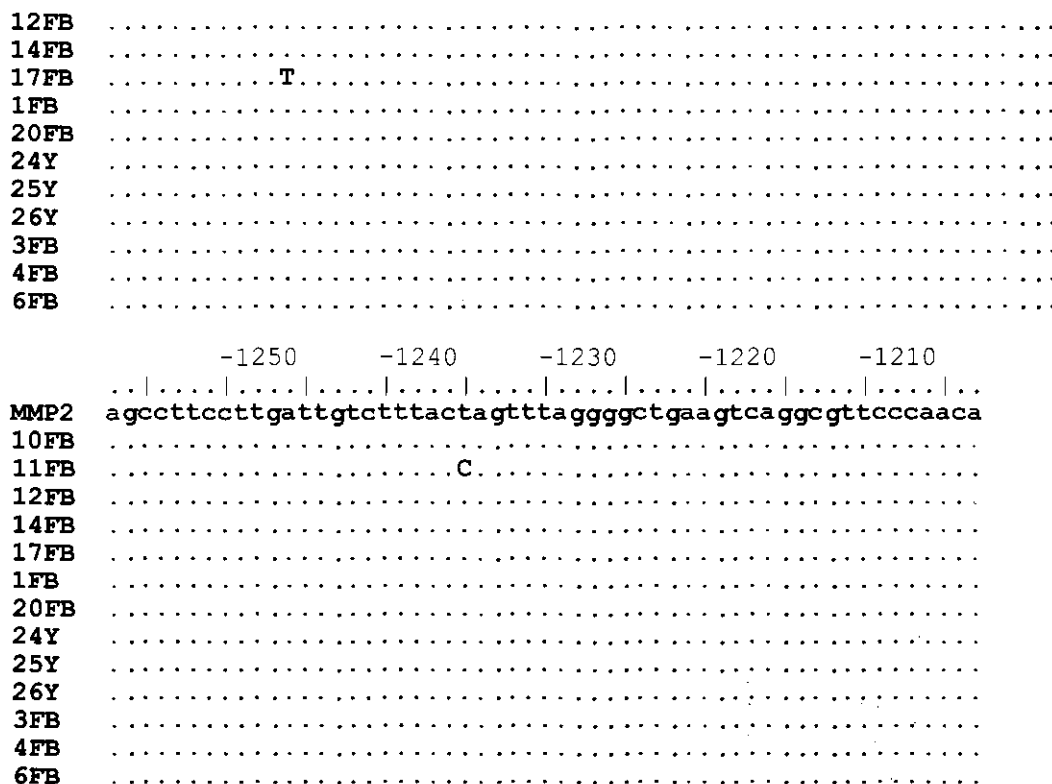
1          -1490      -1480      -1470      -1460      -1450      -1440
..|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|..
MMP2      ctgacccccagtcctatctgcccccttccctaggtcggtccttactgacccctccagctcc
10FB      .....
11FB      .....
12FB      .....
14FB      .....
17FB      .....
1FB       .....
20FB      .....
24Y       .....
25Y       .....
26Y       .....
3FB       .....T.....
4FB       .....
6FB       .....C.....

          -1430      -1420      -1410      -1400      -1390      -1380
..|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|..
MMP2      atccctccacctgtgccccacctttttcagatagaaaaaactttcttctccagtgcctc
10FB      .....
11FB      .....
12FB      .....
14FB      .....
17FB      .....
1FB       .....
20FB      .....
24Y       .....
25Y       .....
26Y       .....
3FB       .....
4FB       .....
6FB       .....

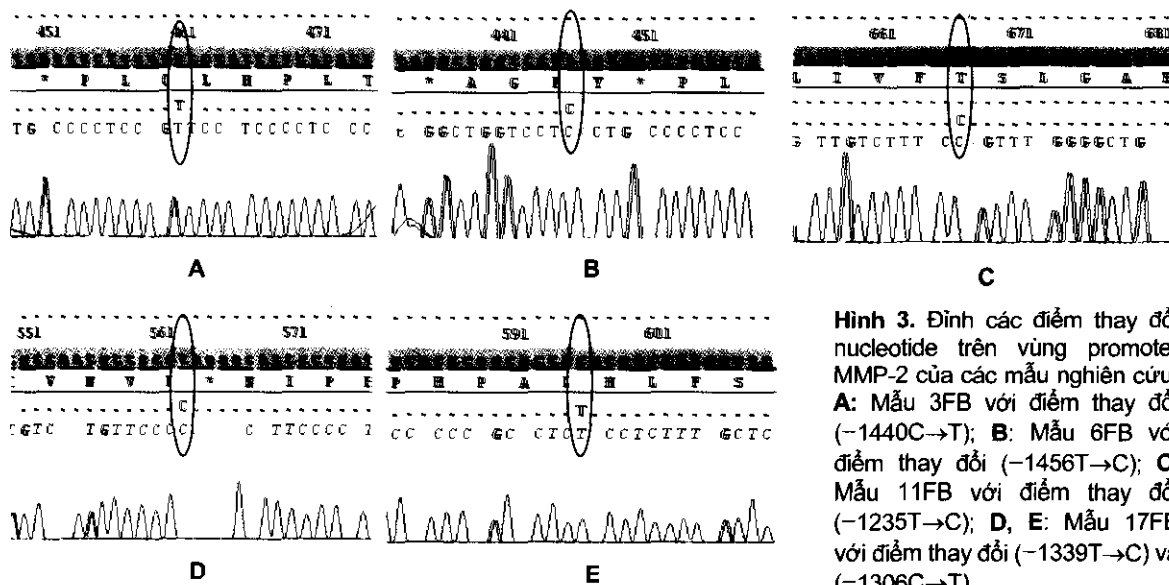
          -1370      -1360      -1350      -1340      -1330      -1320
..|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|..
MMP2      ttgctgtttttcatctctgtgggccattgtcaatgttccctaaaacattccccatattcccc
10FB      .....
11FB      .....
12FB      .....
14FB      .....
17FB      .....C.....
1FB       .....
20FB      .....
24Y       .....
25Y       .....
26Y       .....
3FB       .....
4FB       .....
6FB       .....

          -1310      -1300      -1290      -1280      -1270      -1260
..|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|...|..
MMP2      aaccagcactccacctcttttagctcttcaggtctcagctcagaagtcacttcttccagga
10FB      .....
11FB      .....

```



Hình 2. So sánh trình tự nucleotide đoạn promoter MMP-2 của 12 mẫu với trình tự chuẩn trên ngân hàng Genbank có mã số AJ298926.



Hình 3. Định các điểm thay đổi nucleotide trên vùng promoter MMP-2 của các mẫu nghiên cứu. **A:** Mẫu 3FB với điểm thay đổi (-1440C→T); **B:** Mẫu 6FB với điểm thay đổi (-1456T→C); **C:** Mẫu 11FB với điểm thay đổi (-1235T→C); **D, E:** Mẫu 17FB với điểm thay đổi (-1339T→C) và (-1306C→T).

KẾT LUẬN

Chúng tôi đã nhân thành công đoạn promoter *MMP-2* với kích thước 295 bp trên 9 bệnh nhân UTMH và 3 đối tượng chứng khỏe mạnh người Việt Nam, đồng thời đã đọc và phân tích trình tự đoạn promoter này ở cả 12 mẫu nghiên cứu. Trong các trình tự đọc được chúng tôi đã phát hiện thấy 5 điểm thay đổi nucleotide ở trên 4 bệnh nhân UTMH. Trong đó, ngoài điểm -1306C/T đã được công bố trên ngân hàng gen, chúng tôi còn thấy xuất hiện 4 điểm -1235T/C, -1339T/C, -1440T/C và -1456T/C chưa thấy được công bố trong bất kỳ tài liệu nào. Những vị trí đa hình trên đoạn promoter *MMP-2* của những bệnh nhân UTMH người Việt Nam có thể dẫn đến sự thay đổi về biểu hiện gen *MMP-2* - một trong những yếu tố liên quan đến di căn ung thư vòm mũi họng.

Lời cảm ơn: Công trình này được thực hiện tại Phòng thí nghiệm trọng điểm Công nghệ gen, Viện Công nghệ sinh học với sự hỗ trợ kinh phí từ các đề tài của phòng Công nghệ ADN ứng dụng, Viện Công nghệ sinh học. Xin chân thành cảm ơn Ths. Nguyễn Đăng Tôn, KS. Vũ Hải Chi đã giúp đỡ chúng tôi trong quá trình thực hiện đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Curan S, Murray GI (2000) Matrix metalloproteinase: molecular aspects of their roles in tumour invasion and metastasis. *Eur J Cancer* 36: 1621-1630.
- Kurahara S, Shinohara M, Ikebe T, Nakamura S, Beppu M, Hiraki A, Takeuchi H, Shirasuna K (1999) Expression of MMPs, MT-MMP, and TIMPs in squamous cell carcinoma of the oral cavity: correlations with tumor invasion and metastasis. *Head Neck* 21(7): 627-638
- Lê Chính Đại (2004) So sánh hiệu quả các phác đồ điều trị phối hợp hóa - xạ trị bệnh ung thư vòm mũi họng giai đoạn II, IV (M0) tại Bệnh viện K Hà Nội (2001 - 2003). *Tạp chí Y học thực hành* 54(1): 317-325.
- Matrisian LM, Wright J, Newell K, Witty JP (1994) Matrix-degrading metalloproteinases in tumor progression. *Princess Takamatsu Symp* 24: 152-161.
- Miao X, Yu C, Tan W, Xiong P, Liang G, Lu W, Lin D (2003) A functional polymorphism in the matrix metalloproteinase-2 gene promoter (-1306C/T) is associated with risk of development but not metastasis of gastric adenocarcinoma. *Cancer Res* 63: 3987-3990.
- Nguyễn Bá Đức, Nguyễn Chấn Hùng, Huỳnh Quyết Thắng, Nguyễn Duy Thăng, Lại Phú Thường, Nguyễn Văn Vy, Phó Đức Mẫn, Tôn Thất Cầu, Vũ Hồ, Nguyễn Lam Hòa, Nguyễn Hoài Nga (2004) Kết quả bước đầu nghiên cứu dịch tễ học mô tả một số bệnh ung thư tại 6 vùng địa lý Việt Nam giai đoạn 2001 - 2003. *Tạp chí Y học thực hành* 49(8): 11-14.
- Nagase H, Woessner JF Jr (1999) Matrix metalloproteinases. *J Biol Chem* 274(31): 21491-21494.
- O-Charoenrat P, Khantapura P (2006) The role of genetic polymorphisms in the promoters of the matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 genes in head and neck cancer. *Oral Oncol* 42(3): 257-267.
- O-Charoenrat P, Rhys-Evans PH, Eccles SA (2001) Expression of matrix metalloproteinases and their inhibitors correlates with invasion and metastasis in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 127(7): 813-820.
- Price SJ, Greaves DR, Watkins H (2001) Identification of novel, functional genetic variants in the human matrix metalloproteinase gene. *J Biol Chem* 276(10): 7549-7558.
- Qin H, Sun Y, Benveniste EN (1999) The transcription factor Sp1, Sp3, and AP-2 are required for constitutive matrix metalloproteinase-2 gene expression in astrogloma cell. *J Biol Chem* 274(41): 29130-29137.
- Sambrook J, Russell DW (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 3rd Edition, Cold Spring Haror Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.
- Shi SR, Datar R, Liu C, Wu L, Zhang Z, Cote RJ, Taylor CR (2002) DNA extraction from archival formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. *J Histochem Cytochem* 50(8): 1005-1011.
- Zhai Y, Qiu W, Dong XJ, Zhang XM, Xie WM, Zhang HX, Yuan XY, Zhou GQ, He FC (2008) Functional polymorphisms in the promoters of MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, MMP-12 and MMP-13 are not associated with hepatocellular carcinoma risk. *Gut* 56: 445-447.
- Zhou G, Zhai Y, Cui Y, Qiu W, Yang H, Zhang X, Dong X, He Y, Yao K, Zhang H, Peng Y, Yuan X, Zhi L, Zhang X, He F (2007) Functional polymorphisms and haplotypes in the promoter of the *MMP2* gene are associated with risk of nasopharyngeal carcinoma. *Hum Mut* 28(11): 1091-1097.
- Zhou Y, Yu C, Miao X, Wang Y, Tan W, Sun T, Zhang X, Xiong P, Lin D (2005) Functional haplotypes in the promoter of matrix metalloproteinase-2 and lung cancer susceptibility. *Carcinogenesis* 26(6): 1117-1121.

Zhou Y, Yu C, Miao X, Tan W, Liang G, Xiong P, Sun T, Lin D (2004), Substantial reduction in risk of breast cancer associated with genetic polymorphisms in the promoters of the matrix metalloproteinase-2 and tissue inhibitor of metalloproteinase-2 genes. *Carcinogenesis* 25(3): 399-404.

Yoshizaki T, Sato H, Furukawa M (2002) Recent advance in the regulation of matrix metalloproteinase-2

activation: From basic research to clinical implication. *Oncol Rep* 9: 607-611.

Yu C, Pan K, Xing D, Liang G, Tan W, Zhang L, Lin D (2002) Correlation between a Single Nucleotide Polymorphism in the Matrix Metalloproteinase-2 Promoter and Risk of Lung Cancer. *Cancer Res* (62): 6430-6433.

GENETIC POLYMORPHISMS IN THE MATRIX METALLOPROTEINASE-2 (MMP-2) PROMOTER IN SOME NASOPHARYNGEAL CARCINOMA PATIENTS

Nguyen Thi Ngoc Ha¹, Phan Thi Phi Phi², Nong Van Hai^{3,*}

¹*Thainguyen Medical University*

²*Hanoi Medical University*

³*Institute of Biotechnology, VAST*

SUMMARY

Matrix Metalloproteinase-2 (MMP-2) has been shown to play an important role in cancer invasion and metastasis because of their capability to degrade or break down both extracellular matrix and basement membrane. According to recent studies, single nucleotide polymorphism (-1306C/T) in *MMP-2* promoter abolishes the Sp1-binding site, a transcription factor, and thus may down regulate expression of gene *MMP-2*. In this study, we analyzed polymorphisms in the *MMP-2* promoter in some Vietnamese nasopharyngeal carcinoma (NPC) patients, approaching the association between the polymorphisms in *MMP-2* promoter and the metastasis of NPC. Total genomic DNA was isolated and purified from the paraffin block of 9 NPC patients and 3 blood samples of healthy people. *MMP-2* promoter was amplified by using a pair of primers MMP-2F and MMP-2R. The PCR products of about 295 bp in length were ligated to the pCR[®]2.1 vector, and then transformed into *E. coli* cells. The purified recombinant plasmids were used for sequencing of the inserts in both directions. The result is that excepting -1306C/T in *MMP-2* promoter was reported in GenBank, we found four sites -1235T/C, -1339T/C, -1440T/C and -1456T/C that have been not public in any database. Perhaps, these are polymorphisms in the *MMP-2* promoter region of the Vietnamese nasopharyngeal carcinoma patients that may result in changes of the expression of gene *MMP-2*, one of key factors related to the metastasis of NPC.

Keywords: *MMP-2 promoter, nasopharyngeal carcinoma, polymorphisms*

* Author for correspondence: Tel/Fax: 84-4-38363222; E-mail: vhnong@ibt.ac.vn