

· 综 述 ·

分子生物标志物与肿瘤危险性评价

资晓林 俞顺章 董传辉

伴随分子生物学快速发展而出现的分子流行病学,为开展肿瘤流行病学研究提供了新的机遇和手段。它能应用分子生物标志物,对从危险因素暴露至肿瘤发病的连续过程中所发生的事件进行流行病学研究,并能准确地测量暴露、遗传易感性和生物学效应,从而大大地增强了应用流行病学开展对群体和个体肿瘤危险度评价的能力。对健康人可利用生物标志物测定来预报个体患癌危险度。而对人群调查有意义的生物标志物后,可了解暴露的严重程度以及预测出社区人群所处的危险度和预防的重点。分子生物标志物大致可分为暴露、遗传易感性和生物效应标志物三类。笔者就在肿瘤危险性评价过程中的三类分子生物标志物进展作一综述。

暴露生物标志物

随着对多阶段致癌过程的了解,提示致癌物可以通过不同的作用机制引起癌症。在危险性评价过程中应选择适当的生物标志物。有的致癌物是直接发挥作用,有的是通过代谢激活而发挥作用的。有人提议将化学致癌物分为与 DNA 相互作用的基因毒性致癌物与不与 DNA 相互作用的非基因毒性致癌物^[1,2]。基因毒性致癌物可以测量 DNA 或染色体改变作为合适的标志物;非基因毒性致癌物应选择细胞转化等标志物。

一、基因毒性致癌物暴露标志物:致癌物修饰 DNA 碱基包括烷基化嘌呤,黄曲霉毒素鸟苷加合物,顺-铂加合物,8-羟基脱氧鸟苷和多环芳烃来源加合物。加合物测定方法包括免疫方法,³²P 后标记和理化方法,后者依赖于象荧光、质谱和电化学等特性加以分析。通常免疫学方法对于烷基化加合物和黄曲霉毒素加合物是特异和敏感的^[3,4]。另一个常用于 DNA 加合物检测的方法是 ³²P 后标记技术,该法特别敏感,能在 1×10^{10} 个正常核酸中检测到 1 个加合物。DNA 加合物既可作为分子暴露标志物也可作为评价致癌物基因毒性的效应标志物。DNA 加合物的生物学意义必须依据加合物的来源、对于加合物的特异性、加合物在体内的持续时间和机体对加合物的修复能力进行评价。Ehrenber 首先使

用蛋白加合物作为人体暴露监测标志物^[5]。血红蛋白和血清白蛋白因为量较多且易于分离故被广泛研究。一些人体监测研究表明蛋白加合物可以作为暴露生物标志物^[6,7]。黄曲霉毒素白蛋白加合物已广泛用于肝癌流行病学研究^[8]。

二、非基因毒性致癌暴露生物标志物:非基因致癌物如环孢霉素、己烯雌酚和雌激素等。这类致癌物主要通过细胞毒性和促进有丝分裂致癌^[9]。非基因毒性致癌物被认为是不直接结合到 DNA 分子上而发挥作用的致癌物^[10]。

效应生物标志物

效应生物标志物是由在靶位置或类似靶位置的毒性反应所造成的不可逆的生物学反应。并且认为是病理上与癌症有关的生物标志物。在危险性评价过程中可用于直接危害的辨认和剂量反应评价。不同个体对同等剂量的化学致癌物有较大的变异。尽管个体中的致癌物危害可以用效应生物标志物更准确预示,但此类标志物并不是对单个病因特异的。对于从预防的角度来说,理想的效应标志物的效应最好是可逆的。然而某些不可逆效应的生物标志物在流行病学研究中仍然是有用的,它可提供早期干预的机会。由于只有有限的组织可用于日常的生物标志物分析,因此容易得到的组织常用作已知或主要的靶组织的替代物。某些情况下效应标志物在机制上不是与致癌物引起的危害直接有关,可能是伴随,或独立的效应。

一、染色体损伤:致突变物可导致染色体和染色单体畸变。染色单体畸变包括染色体断裂、内交换和外交换。而染色体畸变包括无着丝粒染色体片断、双着丝粒染色体和环形染色体。平衡易位和倒转也可发生。但如果没有显带分析则难以进行定量。不稳定畸变包括环染色体、无着丝粒片断和其它非对称重排,常导致细胞死亡。稳定性畸变有平衡易位、倒转和其它非对称重排,它们在分化时能转化后代细胞。因此稳定性畸变比不稳定性畸变更有生物学意义且可能导致癌症进展。Sorsa 等在一个接触基因毒性化合物的人群的前瞻性研究中,人群的淋巴细胞可观察到高的染色体畸变率并且似乎与癌症的危险性有联系^[11]。

二、姊妹染色体交换(SCE):SCE 被认为评价各种致

癌突变物比用染色体畸变方法更敏感、快速和简单的细胞遗传学方法。它也可用于检测和区分许多易于患癌的染色体脆性疾病。

三、微核:微核是由于无着丝粒染色体片断聚集或整个染色体在复制后期的移动期间被滞留所造成。因此存在微核认为有染色体畸变。French 和 Morley 等使用细胞松弛剂 B 能区分已经分化的微核^[12]。

四、非整倍体:非整倍体指个体细胞的染色体数目不是其种属的典型单倍体的多倍数。非整倍体一般可在人类癌症中发现^[13]。

五、癌基因激活和抑癌基因失活:癌基因激活刺激生长或抑癌基因失活解除生长限制,均可导致无法控制的癌细胞增生^[14]。Brandt-Rauf 的研究表明 18 个具有吸烟史的肺癌病人血清中发现 15 个病人中检测到 P21 ras 癌蛋白产物,在 18 个非吸烟的健康对照中没有检测到这种产物^[15]。P53 抑癌基因是最常见的癌症遗传改变,并且广泛存在于 P53 基因的保守密码子中。因此不同位点的肿瘤和不同病因环境能比较它们的突变谱。突变谱似乎在肠癌、肺癌、食管癌、乳腺癌、脑瘤和肝癌中不同。P53 基因发生在肝细胞肝癌的 249 密码子突变与黄曲霉毒素有关^[16]。

遗传易感性生物标志物

目前几乎所有的研究表明吸同样数量烟的个体中某些生物标志物的水平有高度差异。生物标志物的重要作用就是可以反映个体对环境生物反应的差异。因此它能增加流行病学病因研究的力度和提高定量评价危险度的准确性。癌症的易感性与以下几种因素有关。

一、代谢差异:由于大多数致癌物需要代谢激活,代谢激活能力高的个体其患癌的危险性也高。如 CYP450 2D6 是代谢异奎脲的药物酶,其强代谢者患肺癌危险性较低代谢者增加 4~6 倍^[17]。CYP450 1A1 是一个具有芳香烃羟化活性酶,催化多环芳烃(PHAs)氧化,该酶的诱导性与吸烟者中肺癌的高危险性有关^[18]。

二、DNA 修复:尽管基因毒性因子可以达到靶组织,但染色体断裂仍依赖于 DNA 修复机制的缺陷。在光敏性皮炎个体中由于 DNA 修复蛋白的遗传缺陷暴露紫外线后患皮肤癌的危险性增加^[19]。

三、异常的原癌基因或肿瘤抑制基因表达:癌症与遗传易感性或与调节肿瘤细胞生长分化终止的抑制基因的遗传突变有关。单个肿瘤抑制基因失活和功能改变可导致肿瘤发生的危险性增加。这些基因以隐性的形式遗传,丢失要表达的双拷贝的表现型。如病人遗传 RB 基因一个缺陷性等位基因加上一个在体细胞突变过

程中丢失的基因后,才引发视网膜母细胞瘤。

结 语

目前已有大量的生物标志物可供分子流行病学研究,这些包括暴露、生物效应和遗传易感性方面。在方法准确、可靠及可行的基础上,广泛应用这些生物标志物开展分子流行病学研究,将会大大推动流行病学的发展。

参 考 文 献

- 1 Weisburg JH, Williams GM. Carcinogen testing: current problems and new approaches. *Science*, 1991, 241:407.
- 2 Cohen SM, Ellwein LB. Cell proliferation in carcinogenesis. *Science*, 1990, 249:1007.
- 3 Wild CP, Montesano R. Immunological quantitation of human exposure to aflatoxins and N-nitrosamines. *Immunoassay for reace chemical analysis*, Banderlan M ed. Washinton, DC. American Chemical Society, 1991:215-228.
- 4 Groopman JD. Molecular dosimetry of human aflatoxin exposure. In Groopman JD & Skipper PL ed. *molecular dosimetry and human cancer-analytical, epidemiological and social considerations*. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1991:303-324.
- 5 Hisa MTS. Carcinogen-macromolecular adducts as biomarkers in human cancer risk assessment. *Biomed Environ Sci*, 1991, 4:112.
- 6 Farmer PB. Analytical approaches for the determination of protein-carcinogen adducts using mass spectrometry. In: Groopman JD & Skipper PL ed. *molecular dosimetry and human cancer-analytical, epidemiological and social considerations*. Boca Raton, Florida, CRC Press, 1991:189-210.
- 7 Wogan GN. Markers of exposure to carcinogens: methods for human monitoring. *J Am Coll Toxicol*, 1989, 8:871.
- 8 Wild CP, Huson GJ, Sabbion G, et al. Dietary intake of aflatoxins and the level of album-bound aflatoxin in peripheral blood in the Gambia, West Africa. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1992, 1:229.
- 9 Butterworth BE. Chemically induced cell proliferation in carcinogenesis. In Vainio H ed. *Mechanisms of carcinogenesis in risk identification*. Lyon, International Agency for Research on Cancer, 1991:279-305.
- 10 Ramel C. Genotoxic and nongenotoxic carcinogens: mechanisms of action and testing strategies. *Ibid*, 1991:195-209.
- 11 Sorsa M. Cytogenetic surveillance of workers exposed to genotoxic chemicals: preliminary experiences from a prospective cancer study in a cytogenetic cohort. *Teratog Carcinog Mutagen*, 1990, 10:215.
- 12 French & Morley AA. Measurement of micronuclei in

lymphocytes. *Mutat Res*, 1985, 147:29.

13 Dellarco V. *Aneuploidy: Etiology and mechanisms*, New York, London, Plenum Press, 1985:1-12.

14 Balmain A & Brown K. *Oncogen activation in chemical carcinogenesis*. *Adv Carcae Res*, 1988, 51:147.

15 Brand-Rauf PW. *Advances in cancer biomarkers as applied to chemical exposures: the ras oncogen and p21 protein and pulmonary carcinogenesis*. *J Occup Med*, 1991, 34:1181.

16 Hollstein M. *p53 mutations in human cancers*. *Science*, 1991, 253:49.

17 Wolf CR. *Relationship between the debrisoquine hydroxylase polymorphism and cancer susceptibility*. *Carcinogenesis*, 1992, 13:1035.

18 Blum M. *Molecular mechanisms of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans*. *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 1991, 88:5237.

19 Cleaver JE. *Xeroderma pigmentosum: A human disease in which an initial stage of DNA repair is defective*. *Ibid*, 1986, 63:428.

(收稿:1997-02-25 修回:1997-04-01)

丙型肝炎病毒基因分型与应用干扰素后 HCVRNA 阴转的研究

闫碧如¹ 韩文¹ 李变兰¹ 侯双弟¹ 王博文¹ 庄辉²

为了解太原地区丙型肝炎病人中 HCV 基因型分布,我们应用血清学分型法对 181 例丙型肝炎病人血清标本进行了分型。对血清学能够分型的 100 例阳性病例,又采用 RT-nPCR 法以 NS5b 酶切法作了对比检测。在两种方法对 HCV 基因分型后,选择了 30 例丙肝病例进行了 HCV 基因型与应用干扰素(IFN)后 HCVRNA 阴转的研究,现报告如下。

一、材料与方法:181 例丙型肝炎病人血清采自本院 1995 年 2 月至 1996 年 7 月住院病人。其中 30 例应用 IFN 治疗(男 14 例,女 16 例,年龄 21~62 岁)。α-2b IFN(美国 Kenilworth 先灵葆雅公司)3×10⁶ IU,每周肌注 3 次,共 6 个月。该 30 例病人乙型肝炎病毒(HBV)标志及 HBVDNA、抗-HAVIgM、抗-HDV、抗-HEV 均为阴性,但 HCVRNA 及抗-HCV 均为阳性。病例诊断按 1995 年全国病毒性肝炎学术会议制订的诊断标准。抗-HCV 检测应用 ELISA 法,试剂盒购自上海实业科华生物技术有限公司。HCV 血清学分型应用 EIA 法,试剂盒由北京医科大学微生物系提供。HCV 基因分型试剂盒由北京医科大学肝病研究所提供,应用 RT-nPCR 法,然后对其扩增产物进行 HCV NS5b 酶切分型。

二、结果:50 例丙肝血清学分型 1 型(基因 II/1b 型)占 76%(38/50),血清学 2 型(基因 III/2a 型)占 18%(9/50),1、2 混合型(基因 II/III 型)占 2%(1/50);酶切分型 II/1b 型占 78%(39/50),III/2a 型占 20%(10/50),II/III 混合型占 2%(1/50)。血清学分型和酶切分型法的总符合率为 96.0%(48/50),其中 II/1b 型符合率为 97.4%(38/

39),III/2a 型符合率为 90%(9/10),II/III(1、2)型 1 例符合。应用 IFN 治疗 30 例丙肝中,有 II/1b 型 20 例(急性 11 例,慢性 9 例);III/2a 型 10 例(急性 6 例,慢性 4 例)。经 IFN 治疗 3 个月后,II/1b 型 HCVRNA 阴转率为 25%(5/20),III/2a 型 HCVRNA 阴转率 50%(5/10);IFN 治疗 6 个月后,II/1b 型 HCVRNA 阴转率为 35%(7/20),III/2a 型阴转率为 90%(9/10),后者显著高于前者(P<0.05)。

三、讨论:近年来,应用 IFN 治疗丙肝虽有一定的疗效,但仍不十分满意,仅有约 50% 左右病例有一定效果,而有相当比例的丙肝病人用 IFN 治疗后,HCVRNA 不阴转;另一部分丙肝病人虽然在 IFN 治疗期间 HCVRNA 可阴转,但停药后反跳重现阳性。因此,研究影响 IFN 疗效的因素极为重要。据报道,IFN 治疗丙肝的疗效受多种因素影响,如 HCV 基因型、病毒准种及其变异、感染的持续时间、血清中 HCV 含量、IFN 剂量及疗程、感染者的免疫状况等。本研究结果表明:太原地区丙肝病人中 HCV 基因型分布以 II/1b 为主,占 76%~78%;III/2a 型次之,占 18%~20%;II/III(1、2)混合型极少,仅占 2%,这与北京等地报道基本一致。分析 HCV 基因型与 IFN 疗效的关系表明:用 IFN 治疗丙肝病人 6 个月后,HCVRNA 阴转率为 53.3%(16/30),其中 HCV II/1b 基因型的阴转率为 35%(7/20),III/2a 基因型为 90%(9/10),后者显著高于前者;无论是 II/1b 基因型抑或 III/2a 基因型,用 IFN 治疗 6 个月后,急性丙肝的 HCVRNA 阴转率均高于慢性丙肝;无论是哪一个基因型急性和慢性丙肝,IFN 治疗 6 个月后 HCVRNA 阴转率均高于治疗 3 个月者。本研究结果提示,IFN 治疗丙型肝炎的疗效与 HCV 基因型、感染类型及疗程长短有关。

(收稿:1997-04-10 修回:1997-06-23)

1 太原市传染病医院 030012

2 北京医科大学