

· 论 著 ·

谷胱甘肽转硫酶 M1 和 T1 基因型与食管癌危险性: 病例 - 对照研究

林东昕¹ 唐永明² 陆士新¹ Fred F. Kadlubar²

摘要 为探讨参与致癌物代谢的谷胱甘肽转硫酶(GST)M1 和 T1 基因多型性与食管癌危险性的关系,以病例 - 对照分子流行病学方法,分析食管癌高发区河南林县的食管癌、食管上皮重度增生病例和性别、年龄配对的正常对照者(各 45 例)的 GSTM1 和 GSTT1 基因型分布的差异。基因组 DNA 来自研究对象的食管外科手术标本或细胞学检查获得的食管上皮细胞,以多重聚合酶链反应方法进行基因分型。结果:食管癌、食管上皮重度增生病例和正常对照组 GSTM1 基因缺失率分别为 44.4%、44.4% 和 46.7%;GSTT1 基因缺失率分别为 40.0%、37.8% 和 51.1%,差别均无显著性。然而,正常对照者中既是 GSTM1 阳性又是 GSTT1 阳性的基因型比例(22.2%)显著低于食管癌病例(40.0%)和食管上皮重度增生病例(37.8%),比值比(95% 可信限)分别为 4.20(1.23~14.36)和 2.64(0.84~8.30)。结果提示,GSTM1 或 GSTT1 基因多型性单独似乎与食管癌危险性无关,但两者的阳性基因型联合可能是食管癌的危险性因素。

关键词 食管癌 谷胱甘肽转硫酶 基因多型性 分子流行病学

Glutathione S - Transferase M1, T1 Genotypes and the Risk of Esophageal Cancer: A Case - Control Study Lin Dongxin*, Tang Yongming, Lu Shixin, et al. * Cancer Institute, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100021

Abstract To examine the association between genetic polymorphisms of glutathione S - transferase (GST) M1 and T1 and susceptibility to esophageal cancer, a multiplex polymerase chain reaction method was used to detect the presence or absence of the GSTM1 and GSTT1 genes in genomic DNA isolated from surgically removed esophageal tissues or scraped esophageal cells from cases with cancer (n = 45), cases with severe hyperplasia (n = 45), and sex/age matched normal controls (n = 45) from a high - risk area, Linxian, China. Results showed that the frequency of the GSTM1 - null genotype in cancer cases (44.4%) or hyperplasia cases (44.4%) was not significantly different from that in controls (46.7%). Similarly, no statistically significant differences were observed in the frequency of GSTT1 - null genotype in cancer cases (40.0%) or hyperplasia cases (37.8%) when compared with the controlled population (51.1%). However, the frequency of combined GSTM1 - nonnull and GSTT1 - nonnull genotypes in cases with cancer (40.0%) and cases with hyperplasia (37.8%) showed a significant increase compared to that in controls (22.2%). Persons with both GSTM1 and GSTT1 positive genotypes had 4 - fold risk in developing esophageal cancer (odds ratio, OR = 4.20; 95% confidence interval, CI = 1.23 - 14.36) and 2.6 - fold risk for hyperplasia (OR = 2.64; 95% CI = 0.84 - 8.30), respectively. These

1 中国医学科学院/协和医科大学 肿瘤研究所病因及癌变研究室 北京 100021

2 Division of Molecular Epidemiology, National Center for Toxicological Research, Jefferson, Arkansas 72079, USA

本研究部分由“九五”国家医学科技攻关项目(基金编号 96-906-01-06)资助

results suggest that combined GSTM1 - nonnull and GSTT1 - nonnull genotypes may act as risk factor in the development of esophageal cancer in Linxian population.

Key words Esophageal cancer Glutathione S - transferase Genetic polymorphisms Molecular epidemiology

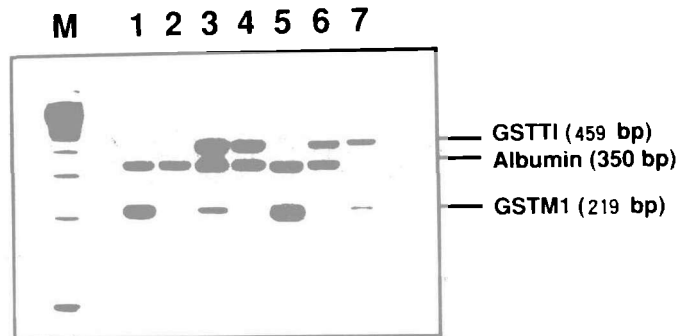
食管癌在我国一些地区十分常见,众多的研究表明其发生与环境致癌物有关。然而,即使在高风险地区也只有小部分人发病,提示在相似的暴露条件下,个人的易感性因素在发病过程中起重要作用。目前对影响食管癌发生的个人易感性因素还所知甚少。越来越多的研究表明,致癌物代谢酶基因多型性是癌症易感性的重要因素之一。谷胱甘肽转硫酶类(GSTs)参与致癌物代谢,是体内重要的解毒机制。其中 GSTM1 和 GSTT1 在人群中呈多型性分布,因基因缺失而无酶活性者颇为常见。GSTM1 和 GSTT1 基因缺失是一些癌症的危险因素^[1,2],但也有研究未能证实这种关系,甚至有相反的结果^[3,4]。人食管中是否有 GSTT1 表达还不清楚,但红细胞中有该酶活性。GSTM1 在正常食管和食管癌组织中均有表达,且有明显的个体差异^[5]。为此,我们用病例 - 对照分子流行病学方法,探讨了 GSTM1 和 GSTT1 基因多型性与食管癌以及食管上皮重度增生(癌前病变)之间的关系。

对象和方法

一、研究对象:病例和对照均为食管癌高

发区河南林县居民。食管癌和食管上皮重度增生病例(各 45 例)的诊断经组织病理学或细胞学检查确定。正常对照者无临床症状,食管上皮细胞学检查正常;其性别和年龄(允许相差 ± 5 岁)与病例配对。研究对象男性 51%,女性 49%;平均年龄癌病例组 55.3 (40~70)岁、食管上皮重度增生病例组 53.8 (35~65)岁、对照组 53.7(41~66)岁,差异无显著性($P > 0.05$)。这些资料表明,除观察因素外,其他主要因素基本均衡。

二、GSTM1 和 GSTT1 基因分型:按常规方法分离基因组 DNA,以多重聚合酶链反应(PCR)方法进行 GSTM1 和 GSTT1 基因分型^[6]。扩增 GSTM1 的引物序列为 5' GAACTCCCTGAAAAGCTAAAGC 和 5' GTTGGGCTCAAATATACGGTGG; 扩增 GSTT1 的引物序列为 5'TTCCTTACTGG TCCTCACATCTC 和 5'TCACCGGATCA TGGCCAGCA。同时以扩增白蛋白基因为内参照,所用引物为 5'GCCCTCTGCTAAC A A G T C C T A C / 5'GCCCTAAAAAGA AAATCGCCAATC。PCR 产物于 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,分析 GSTM1 和 GSTT1 基因型 (附图)。



附图 GSTM1、GSTT1 和白蛋白基因 PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳图谱
1~7 泳道为来自不同受试者的 DNA 样品。无 PCR 产物者表明基因缺失(基因阴性)。
M 泳道为 100bp 梯度的 DNA 分子量标志

三、统计分析:以 χ^2 检验分析 GSTM1 和 GSTT1 基因多型性与食管癌和食管上皮重度增生的关系;以比值比(OR)及其 95% 可信限(CI)表示关系的相对强度。

结 果

如附图所示, GSTM1 或 GSTT1 基因“阳性”者的 DNA 样品经 PCR 扩增后分别产生 219bp 或 459bp 产物,而纯合子基因缺失者则无相应的扩增产物。在本实验条件下,即使只有一个基因拷贝也能产生可测得出的 PCR 产物。所以“基因阳性”者包括有二个基因拷贝的纯合子和只有一个基因拷贝的杂合子,而“基因阴性”者则为纯合子基因

缺失。

GSTM1 和 GSTT1 基因型在正常对照、食管上皮重度增生和食管癌病例组中的分布归纳于表 1 和表 2。在对照组中, GSTM1 基因阳性率和缺失率分别为 53.3% 和 46.7%, 而 GSTT1 基因阳性率和缺失率分别为 48.9% 和 51.1%。食管上皮重度增生和食管癌病例组的 GSTM1 基因阳性率分别为 55.6% 和 55.6%, 与对照组比较差别无显著性($P > 0.75$);这两组 GSTT1 基因阳性率分别为 60.0% 和 62.2%, 略高于对照组,但差别均无统计学显著性($P > 0.10$)。这些结果表明,单独的 GSTM1 或 GSTT1 基因型可能与食管癌危险性无关。

表 1 GSTM1 基因多型性与食管癌危险性的关系

	GSTM1(+)		GSTM1(-)		OR	95% CI
	例数	%	例数	%		
正常对照	24	53.3	21	46.7	1.00	-
重度增生病例	25	55.6	20	44.4	1.09	0.47~2.50
食管癌病例	25	55.6	20	44.4	1.09	0.47~2.50

表 2 GSTT1 基因多型性与食管癌危险性的关系

	GSTT1(+)		GSTT1(-)		OR	95% CI
	例数	%	例数	%		
正常对照	22	48.9	23	51.1	1.00	-
重度增生病例	28	62.2	17	37.8	1.72	0.74~3.98
食管癌病例	27	60.0	18	40.0	1.57	0.68~3.62

然而,基因之间可能存在联合作用。因此,我们进一步分析了 GSTM1 和 GSTT1 各种基因型联合与食管癌危险性的关系(表 3)。在对照组中, GSTM1 阳性/GSTT1 阳性率为 22.2% (10/45),而在食管癌病例组中这种基因型频率为 40.0% (18/45),差异有极显著性 ($\chi^2 = 5.94, P < 0.025$)。携带 GSTM1 阳性/GSTT1 阳性基因型者发生食管癌的危险性比携带 GSTM1 阳性/GSTT1

阴性者高 4 倍 (OR = 4.2; 95% CI = 1.23 ~ 14.36)。食管上皮重度增生组中 GSTM1 阳性/GSTT1 阳性基因型频率为 37.8% (17/45),虽然高于对照组,但差异未达到统计学显著性 ($\chi^2 = 2.83, P > 0.10$)。GSTM1 基因阴性者不论 GSTT1 基因阳性还是阴性都不增加食管癌的危险性,提示在联合作用中, GSTM1 基因似乎比 GSTT1 基因重要。

表 3 GSTM1 和 GSTT1 基因型联合与食管癌危险性的关系

	GSTM1(+)		OR(95% CI)	GSTM1(-)		OR(95% CI)
	GSTT1(+)	GSTT1(-)		GSTT1(+)	GSTT1(-)	
正常对照	10(22.2)	14(31.1)	1.00	12(26.7)	9(20.0)	1.00
重度增生病例	17(37.8)	9(20.0)	2.64(0.84~8.30)	10(22.2)	9(20.0)	0.83(0.24~2.89)
食管癌病例	18(40.0)	6(13.3)	4.20(1.23~14.36)*	9(20.0)	12(26.7)	0.56(0.17~1.90)

注:括号内数字为百分率(%); * $\chi^2 = 5.94, P < 0.025$

讨 论

本文报告 GSTM1 和 GSTT1 基因多型性与食管癌危险性的关系。在河南林县正常人群中, GSTM1 和 GSTT1 基因缺失率分别高达 46.7% 和 51.1%。文献报告 GSTM1 基因缺失率在西方人群中约为 50%^[1]。涉及我国本土居民的研究目前至少有两个, 分别报告 GSTM1 缺失率为 41% 和 47%^[7,8], 与我们的结果一致。不同人种的 GSTT1 基因缺失率有很大差别, 据报告为 10% ~ 65%^[9]。国内似乎尚无 GSTT1 基因多型性资料。Lee 等报告新加坡华人的 GSTT1 基因缺失率为 58%^[10], 与本研究结果(51%) 非常接近。

GSTM1 对致癌物多环芳烃环氧化物有很强的解毒作用, 因此多数研究发现 GSTM1 基因缺失主要是与吸烟有关的癌症的危险性因素。在西方, 吸烟和饮酒可能是食管癌的主要病因因素, 然而, 流行病学调查表明林县人的食管癌高发与吸烟无关。本研究没有发现 GSTM1 基因缺失是食管癌的危险因素, 提示该基因产物可能不涉及导致食管癌的致癌物的解毒代谢。众多研究表明, 膳食中高水平的致癌性亚硝胺是林县食管癌的可疑病因, 然而, GSTM1 对特定亚硝胺是否有解毒作用尚不清楚。GSTT1 主要催化天然的和一些工业合成的卤代烷烃类的结合代谢。与 GSTM1 相似, GSTT1 基因多型性可能与癌症易感性有关。例如, 有报告表明头颈部肿瘤病人中 GSTM1 和 GSTT1 基因共同缺失率显著高于对照^[2]; GSTT1 基因缺失可能影响结肠癌的发生年龄^[11]。但我们的结果表明 GSTT1 基因缺失与林县人群的食管癌易感性无关。

本研究没有发现 GSTM1 和 GSTT1 基因缺失是食管癌的易感性因素, 相反, 既是 GSTM1 阳性又是 GSTT1 阳性的基因型可能是食管癌的易感性因素(OR = 4.2, 95% CI

= 1.23 ~ 14.36)。GSTs 催化谷胱甘肽与亲电子的化合物结合, 在多数情况下是一种解毒机制。然而 GSTs 对某些化合物特别是卤代烃类又具有激活作用。例如, GSTT1 催化的 1,2-二溴乙烷 GSH 结合物可与 DNA 形成加合物而具有遗传毒性^[12]。因此, GSTM1/GSTT1 阳性基因型与食管癌危险性的正相关关系并不难理解, 因为携带此种基因型的人可能具有激活一些外源性和(或)内源性致癌物的能力。

参 考 文 献

- 1 林东昕. 代谢多态和 DNA 修复多态与癌症易感性. 癌症, 1997, 16: 396.
- 2 Trizna Z, Clayman GL, Spitz R, et al. Glutathione S-transferase genotypes as risk factors for head and neck cancer. *Am J Surgery*, 1995, 170: 499.
- 3 To - Figueras J, Gené M, Gómez - Catalón J, et al. Glutathione S - transferases M1 (GSTM1) and T1 (GSTT1) polymorphisms and lung cancer risk among Northwestern Mediterraneans. *Carcinogenesis*, 1997, 18 : 1529.
- 4 Chen C, Madeleine M, Lubinski C, et al. Glutathione S - transferase M1 genotypes and the risk of anal cancer: A population - based case - control study. *Cancer Epidemiol, Biomarkers & Prev*, 1996, 5: 985.
- 5 Nakajima T, Wang R - S, Nimura Y, et al. Expression of cytochrome P450s and glutathione S - transferases in human esophagus with squamous - cell carcinomas. *Carcinogenesis*, 1996, 17: 1477.
- 6 Arand M, Muhlbauer R, Hengstler J, et al. A multiplex polymerase chain reaction protocol for the simultaneous analysis of the glutathione S - transferase GSTM1 and GSTT1 polymorphisms. *Anal Biochemistry*, 1996, 236: 184.
- 7 McGlynn KA, Rosvold EA, Lustbader ED, et al. Susceptibility to hepatocellular carcinoma is associated with genetic variation in the enzymatic detoxification of aflatoxin B₁. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 1995, 92: 2384.
- 8 边建超, 王金兵, 吴燕, 等. GSTM1 空白基因型与原发性肝细胞癌遗传易感性的研究. *中华医学遗传学杂志*, 1996, 13: 353.
- 9 Nelson HH, Wiencke JK, Christiani DC, et al. Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted

genotype of glutathione S - transferase theta. *Carcinogenesis*, 1995, 16:1243.

10 Lee EJD, Wong JYY, Yeoh PN, et al. Glutathione S - transferase - θ (GSTT1) genetic polymorphism among Chinese, Malays and Indians in Singapore. *Pharmacogenetics*, 1995, 5:332.

11 Chenevix - Trench G, Young J, Coggan M, et al. Glutathione S - transferase M1 and T1 polymorphisms: susceptibility to colon cancer and age of onset. *Carcinogenesis*, 1995, 16:1655.

12 Koga N, Inskeep PB, Harris TM, et al. S - [2 - (N⁷ - guanyl)ethyl]glutathione, the major DNA adduct formed from 1, 2 - dibromoethane. *Biochemistry*, 1986, 25 : 2192.

(收稿:1998-01-06 修回:1998-02-17)

血清总胆固醇与脑中风关系的 Meta 分析

蔡全才 薛广波

脑中风与冠心病具有一些共同的危险因素,虽然血清总胆固醇(TSC)与冠心病的关系已经明确,但与脑中风的关系仍不十分清楚。作者采用 Meta 分析方法对 TSC 与脑中风关系进行了研究。

一、资料和方法:计算机检索 MEDLINE(1966~1997 年 6 月)光盘数据库以及中文 CBM(1983~1997 年 6 月)、CMCC(1995~1996 年)光盘数据库。检索策略:主题词 Cerebrovascular Disorders 与主题词 cholesterol 的交集。纳入标准:①论文形式发表;②队列研究设计;③研究对象为非脑中风、非冠心病人群。对纳入论文进行逐篇复习,摘录有关资料。结果有 5 篇文献共含有 7 个队列研究满足纳入标准被收进本文的 Meta 分析中。分析方法:以相对危险度(RR 值)作为每个研究结果的研究效应测量指标。齐性检验公式为 $Q = \sum W_i (y_i - \bar{y}_w)^2$, Q 值近似服从 $\nu = K - 1$ 的 χ^2 分布。检验结果若 $P > \alpha$,说明各研究结果间具有一致性,可以进行合并分析。加权合并方法: $y_i = \ln(RR_i)$ 。当 $Q \leq K - 1$ 时,采用固定效应模型进行计算。当 $Q > K - 1$ 时,采用随机效应模型进行计算。

二、结果:暴露于高 TSC 发生脑中风(包括全部

类型)的合并 RR 值为 1.1053,95% CI 为 1.0673~1.1446。暴露于高 TSC 发生缺血性脑中风的合并 RR 值为 1.1979,95% CI 为 1.0643~1.3481。出血性脑中风组各研究结果之间存在严重的不一致,故未能进行 RR 值合并。

三、讨论:文献报道,在 TSC 与脑中风关系的队列研究中,研究终点为脑中风发病的研究结果较研究终点为脑中风死亡的意义更大。所以,在本研究的文献纳入标准中规定研究对象为非脑中风、非冠心病人群。纳入标准规定以论文形式发表的队列研究能保证较准确地从文章的表中或正文中抽取数据。笔者对 7 个队列研究 RR 值进行合并的结果表明,TSC 与脑中风(包括全部类型)或缺血性脑中风之间无联系或者仅有微弱的正相关,说明 TSC 不是一个独立的危险因素,这与美国和欧洲的研究报告相一致。单一研究往往由于样本含量不足以及地区、人种差异等因素对结果可靠性会造成一定的影响,而 Meta 分析可以减少这一影响。作者由于没有查找未出版的文献,可能有遗漏阴性出版物的偏倚。同时,由于缺血性脑中风可能早期死于冠心病或隐性脑梗塞,也可造成 TSC 与缺血性脑中风之间仅有弱相关或无相关。因此,目前对 TSC 与脑中风关系的认识仍然是初步的,有待于进一步研究。

(收稿:1997-12-10)

作者单位:第二军医大学卫生勤务学系流行病学教研室 上海 200433