

多巴胺受体 D2 基因多态性与吸烟行为及肺癌风险的相关性

齐军 谭文 邢德印 缪小平 林东昕

【摘要】 目的 探讨多巴胺受体 D2(DRD2) 基因多态性在汉族人群中的分布及其与吸烟行为和肺癌风险的关系。方法 用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP) 分析方法, 检测 326 名正常人群和 326 例肺癌病人 DRD2 基因 TaqI A 和 TaqI B 多态频率。结果 在对照人群中, DRD2 A1 和 A2 等位基因频率分别为 41.3% 和 58.7%, B1 和 B2 基因频率分别为 43.6% 和 56.4%。DRD2 基因多态与吸烟与否和吸烟年数无明显相关。然而, 在日吸烟量 ≥ 25 支的吸烟者中, A2/A2 和 B2/B2 基因型频率分别为 42.5% 和 40.0%, 高于日吸烟量 < 25 支的吸烟者(26.1%; $P = 0.047$ 和 0.091)。肺癌病人中吸烟者的比例显著高于正常对照, 但两组的 DRD2 基因型频率差异无显著性。结论 DRD2 * A2/A2 基因型可能与吸烟成瘾性有一定关系, 但尚需更大样本量的独立研究加以证实。

【关键词】 多巴胺受体 D2; 吸烟行为; 肺肿瘤

Study on the association between smoking behavior and dopamine receptor D2 gene polymorphisms among lung cancer cases QI Jun, TAN Wen, XING Deyin, MIAO Xiaoping, LIN Dongxin. Cancer Institute & Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100021, China

【Abstract】 Objective To investigate the possible association between dopamine D2 receptor (DRD2) TaqI A and TaqI B genotypes as well as smoking behavior and the risk of lung cancer among Chinese Han people.

Methods PCR was used to perform genotyping on peripheral WBC DNA from 326 lung cancer patients and 326 age, sex and ethnicity-matched healthy controls. Subjects were interviewed to obtain relevant information and lifetime history of tobacco use. **Results** There were no statistically significant differences in the distribution of DRD2 genotypes between lung cancer cases and controls. The DRD2 genotypes and smoking status showed no correlation among cases and among controls as well. However, among controls, the frequency of the DRD2 * A2/A2 genotype in smokers who smoked ≥ 25 cigarettes/day appeared to be higher than that in those who smoked < 25 cigarettes/day (42.5% versus 26.1%, $P = 0.047$). A similar trend was also found for the DRD2 * B2/B2 genotype, which was linked to the DRD2 * A2/A2 genotype, although the difference was not significant (40.0% versus 26.1%, $P = 0.091$). In contrast to controls, no association was found between the DRD2 genotypes and smoking among lung cancer cases. **Conclusion** Our results suggested that DRD2 * A2/A2 genotype might be associated with a greater smoking intensity in Chinese. Further studies are needed to confirm this preliminary finding.

【Key words】 Dopamine D2 receptor; Smoking behavior; Lung neoplasms

香烟中的尼古丁是导致吸烟成瘾的主要物质。尼古丁进入脑组织产生的欣快效应与多巴胺酬报通路(dopamine reward pathway)有关,多巴胺酬报通路功能不敷者可能有吸烟依赖性倾向^[1]。多巴胺

通过多巴胺受体起作用,多巴胺受体有 2 种,即多巴胺受体 D1 和 D2。多巴胺受体 D2 基因(DRD2)位于染色体 11q22-23,有若干单核苷酸多态^[2,3]。在美国的若干研究发现,DRD2 的 TaqI A 和 TaqI B 等位基因多态(DRD2 * A1 或 * B1)与吸烟成瘾性有关^[4,6]。但英国的一个研究未能重复此种相关性^[7]。日本最近的研究显示,日本人吸烟成瘾性倾向与 DRD2 * A2 等位基因相关^[8]。上述资料提示,DRD2 基因多态与吸烟行为的关系并未肯定,而且可能存在人种的差异。吸烟是多种癌症和心、肺及血管疾病的病因,因此,揭示吸烟成瘾性的生物学机制对控制吸

基金项目:国家杰出青年科学基金资助项目(39825122)

作者单位:100021 北京,中国医学科学院协和医科大学肿瘤医院检验科(齐军),肿瘤研究所病因及癌变研究室(谭文、邢德印、缪小平、林东昕)

通讯作者:林东昕

烟,预防吸烟相关性疾病有重要意义。本研究的目的是探讨 DRD2 基因多态与中国人吸烟行为的关系。此外,由于我国肺癌有一半是吸烟引起的^[9],所以本研究也探讨 DRD2 基因多态性与肺癌风险的可能关系。

材料与方 法

1. 研究对象:326 名正常对照随机选自中国 5 个地区健康普查人群,其中北京 43 人,山东 77 人,四川 37 人,江苏 81 人,广东 88 人。这些正常对照的性别、年龄(± 5 岁)与肺癌病人频数配对。326 例肺癌病人是 1997 年 1 月至 2001 年 5 月在中国医学科学院肿瘤医院接受手术的患者,肺癌诊断经组织病理学证实。以问卷方式获得所有研究对象的年龄、性别、详细吸烟情况等资料。所有研究对象均为无亲属关系的汉族人。

2. DRD2 基因多态分析:基因组 DNA 分离自外周血淋巴细胞。DRD2 基因 TaqI A 和 TaqI B 多态分析采用 PCR-RFLP 方法检测^[6]。扩增含 TaqI A 多态位点的 PCR 引物序列为 AF 5'-CCGTCGACCCTTCCTGAGTGTGCATCA-3' 和 AR 5'-CCGTCGACGGCTGGCCAAGTTGTCTA-3',产物为 310 bp。扩增含 TaqI B 多态位点的 PCR 引物序列为 BF 5'-GATACCCACTTCAGGAAGTC-3' 和 BR 5'-GATGTGTAGGAATTAGCCAGG-3',产物为 459 bp。PCR 反应液含 1 μ g DNA 模板,0.5 μ mol/L 引物,0.2 mmol/L dNTP,1.5 mmol/L MgCl₂,1.5 U Taq DNA 聚合酶及其 1 \times 缓冲液。PCR 反应条件是 94 $^{\circ}$ C 变性 4 min 后进入 94 $^{\circ}$ C 30 s,58 $^{\circ}$ C 30 s 和 72 $^{\circ}$ C 30 s 循环,35 个循环后 72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。PCR 产物(10 μ l)与 5 U 限制性核酸内切酶 TaqI(New England Biolabs)于 65 $^{\circ}$ C 温育 3 h 后,在 2.5% 琼脂糖凝胶上电泳分离酶切产物鉴别基因型。TaqI A 的 A1/A1 多态基因型无酶切位点故只有一个 310 bp 片段,A2/A2 基因型被酶切为 180 bp 和 130 bp 两个片段,A1/A2 杂合基因型酶切后产生 310 bp、180 bp 和 130 bp 3 个片段。TaqI B 的 B1/B1 多态基因型不被酶切只有 459 bp 一个片段,B2/B2 基因型被酶切为 267 bp 和 192 bp 2 个片段,B1/B2 基因型酶切后产生 459 bp、267 bp 和 192 bp 3 个片段(图 1)。

3. 统计学分析:以 χ^2 检验分析 DRD2 基因型频率分布差异的显著性。用非条件性 logistic 回归方法计算的比值比(OR)及 95% 可信限(CI)表示相对

风险度。累计吸烟量(包/年)的定义是每日吸烟支数 \times 吸烟年数 \div 20 支。所有统计分析均用 SAS 统计软件(6.12 版)计算。

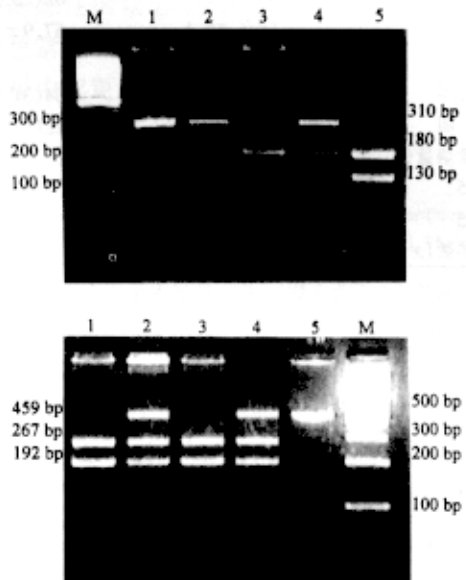


图 1 DRD2 基因 PCR 扩增产物的 TaqI A(上图)和 TaqI B(下图)酶切电泳图

图 1 DRD2 基因 PCR 扩增产物的 TaqI A(上图)和 TaqI B(下图)酶切电泳图

结 果

研究对象的性别、年龄和吸烟资料见表 1。正常对照的平均年龄(58.6 ± 6.1)岁,其中男性占 69.9%。肺癌病人的平均年龄(57.9 ± 10.3)岁,男性占 74.8%。病例与对照在性别构成和年龄分布上差异均无显著性。正常对照中吸烟者比例为 53.4%,而肺癌病人吸烟者占 68.1%,差异有非常显著性($P = 0.0001$)。此外,肺癌病人的平均吸烟年数(35.9 ± 20.3)年和累计吸烟量 > 25 包/年的比例(68.0%)显著高于对照[分别为(25.6 ± 16.6)年和 47.7%]($P < 0.001$)。在本研究中,累计吸烟量 > 25 包/年的个体发生肺癌的风险比不吸烟者高 2.7 倍(95% CI:1.81~3.90)。

在 326 名正常对照中,DRD2 * A 各基因型频率为 A2/A2 31.9%,A1/A2 53.7%,A1/A1 14.4%;DRD2 * B 各基因型频率为 B2/B2 29.4%,B1/B2 54.0%,B1/B1 16.6%;基因型分布符合 Hardy-

表1 研究对象的性别、年龄分布和吸烟状况

| | 正常对照 (n = 326) | 肺癌病例 (n = 326) |
|-------------------------|-------------------|-------------------|
| 性别 | | |
| 男性 | 228(69.9) | 244(74.8) |
| 女性 | 98(30.1) | 82(25.2) |
| 年龄($\bar{x} \pm s$) | 58.6 ± 6.1 | 57.9 ± 10.3 |
| 吸烟状况 | | |
| 不吸烟 | 152(46.6) | 104(31.9)* |
| 吸烟 | 174(53.4) | 222(68.1)* |
| 累计吸烟量(包/年) | | |
| < 25 | 91(52.3) | 71(32.0)* |
| ≥ 25 | 83(47.7) | 151(68.0)* |
| 吸烟年数($\bar{x} \pm s$) | 25.6 ± 16.6 | 35.9 ± 20.3* |

注: 括号外数字为人数, 括号内数字为构成比(%); * 与正常研究对象比较, $P < 0.001$

Weinberg 平衡定律。DRD2 * A1 和 DRD2 * B1 多态存在连锁不平衡关系, 在 652 个研究对象中, 94% 携带 A1/A1 基因型的个体是 B1/B1 基因型, 两者相关系数达 0.92 ($P < 0.0001$)。DRD2 基因多态与吸烟与否、日吸烟量以及吸烟年数关系的分析结果见表 2。在正常对照中, 吸烟者的 DRD2 * A2/A2 基因型频率为 29.9%, 非吸烟者为 34.2%, 差异无显著性 ($P = 0.40$); DRD2 * B2/B2 基因型频率在吸烟者和非吸烟者中分别为 29.3% 和 29.6% ($P = 0.95$)。这两种基因型频率在吸烟年数 < 20 年或 ≥ 20 年的吸

烟者中的分布差异也无显著性。然而, DRD2 * A2/A2 基因型者日吸烟量有增多的倾向, 42.5% 日吸烟量 ≥ 25 支的吸烟者是 A2/A2 基因型, 而该基因型在日吸烟量 < 25 支的吸烟者中只有 26.1%, 差异有显著性 ($P = 0.047$)。

在 326 例肺癌病人中, DRD2 A2/A2、A1/A2 和 A1/A1 基因型频率分别为 32.1%、48.5% 和 18.7%, DRD2 B2/B2、B1/B2 和 B1/B1 基因型频率分别为 31.6%、49.4% 和 19.0%, 与对照组比较差异均无显著性。携带 A2/A2 基因型或 B2/B2 基因型者发生肺癌的 OR 值分别为 1.02 (95% CI: 0.73 ~ 1.37) 和 1.08 (95% CI: 0.77 ~ 1.51), 提示 DRD2 基因多态本身与肺癌风险无关 (表 3)。我们进一步分析了肺癌病人中 DRD2 多态与吸烟行为的关系, 结果表明, 在吸烟与否、吸烟年数 < 20 年或 ≥ 20 年、日吸烟量 < 25 支或 ≥ 25 支的肺癌病人中, DRD2 * A 和 DRD2 * B 基因型分布差异均无显著性。

讨 论

吸烟行为虽然受个人的社会经济、教育背景和心理状态等环境因素的影响, 但越来越多的证据表明遗传因素也是决定吸烟行为的重要原因^[10]。多巴胺酬报系统在尼古丁成瘾的发生过程中有重要作

表2 正常对照和肺癌病例中 DRD2 基因型分布及其与吸烟行为的关系

| | 正 常 对 照 | | | | 肺 癌 病 例 | | | |
|----------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|--------------|---------------|
| | DRD2 * A 基因型 | | DRD2 * B 基因型 | | DRD2 * A 基因型 | | DRD2 * B 基因型 | |
| | A2/A2 | A1/A1 + A1/A2 | B2/B2 | B1/B1 + B1/B2 | A2/A2 | A1/A1 + A1/A2 | B2/B2 | B1/B1 + B1/B2 |
| 吸烟状况 | | | | | | | | |
| 不吸烟 (n = 152) | 52(34.2) | 100(65.8) | 45(29.6) | 107(70.4) | 33(31.7) | 71(68.3) | 30(28.8) | 74(71.2) |
| 吸烟 (n = 174) | 52(29.9) | 122(70.1) | 51(29.3) | 123(70.7) | 74(33.3) | 148(66.7) | 73(32.9) | 149(67.1) |
| 日吸烟量(支) | | | | | | | | |
| < 25 (n = 134) | 35(26.1) | 99(73.9) | 35(26.1) | 99(73.9) | 48(31.8) | 103(68.2) | 47(31.1) | 104(68.9) |
| ≥ 25 (n = 40) | 17(42.5)* | 23(57.5) | 16(40.0)# | 24(60.0) | 26(36.6) | 45(63.4) | 26(36.6) | 45(63.4) |
| 吸烟年数 | | | | | | | | |
| < 20 (n = 40) | 14(35.0) | 26(65.0) | 15(37.5) | 25(62.5) | 5(27.8) | 13(72.2) | 4(22.2) | 14(77.8) |
| ≥ 20 (n = 134) | 38(28.4) | 96(71.6) | 36(26.9) | 98(73.1) | 69(33.8) | 135(66.2) | 69(33.8) | 135(66.2) |

注: 括号外数字为人数, 括号内数字为构成比(%); * 与 < 25 支比较, $P = 0.047$; # 与 < 25 支比较, $P = 0.091$

表3 病例组和对照组 DRD2 基因型频率分布及其与肺癌风险的关系

| | DRD2 * A 基因型 | | | DRD2 * B 基因型 | | |
|------|---------------|-----------|-------------------|---------------|-----------|-------------------|
| | A1/A1 + A1/A2 | A2/A2 | OR#(95% CI) | B1/B1 + B1/B2 | B2/B2 | OR#(95% CI) |
| 对照 | 222(68.1) | 104(31.9) | 1.00 | 230(70.6) | 96(29.4) | 1.00 |
| 全部病例 | 219(67.2) | 107(32.8) | 1.02(0.73 ~ 1.37) | 223(68.4) | 103(31.6) | 1.08(0.77 ~ 1.51) |
| 鳞癌 | 114(68.3) | 53(31.7) | 0.95(0.63 ~ 1.43) | 114(68.3) | 53(31.7) | 1.04(0.69 ~ 1.58) |
| 腺癌 | 61(61.0) | 39(39.0) | 1.38(0.86 ~ 2.21) | 66(66.0) | 34(34.0) | 1.24(0.76 ~ 2.02) |
| 其他* | 44(74.6) | 15(25.4) | 0.78(0.41 ~ 1.48) | 43(72.9) | 16(27.1) | 0.92(0.49 ~ 1.73) |

注: 括号外数字为人数, 括号内数字为构成比(%); * 其他包括: 未分化癌 (n = 19)、血管癌 (n = 16)、混合细胞癌 (n = 24); # OR 和 95% CI 以 logistic 回归方法计算, 并经性别、年龄及吸烟量 (< 25 包/年和 ≥ 25 包/年) 校正

用,所以 DRD2 基因多态与吸烟行为的关系受到关注。已有若干在不同人种中的研究,但报道的结果不一致^[4-8]。本研究首次分析了 326 名正常汉族人 DRD2 基因 TaqI A 和 TaqI B 基因型与吸烟行为的关系。我们发现,在日吸烟量 ≥ 25 支的吸烟者中,DRD2 * A2/A2 基因型频率高于日吸烟量 < 25 支的吸烟者。由于日吸烟量是反映吸烟依赖性的重要指标,所以这个结果提示 DRD2 * A2/A2 基因型可能与吸烟成瘾性有一定关系。但是,我们没有发现 DRD2 * A2/A2 基因型与吸烟与否以及吸烟年数相关,提示 DRD2 基因多态与吸烟行为不是一种单一的和简单的关系,其他遗传因素和环境因素必须加以考虑。

本研究结果与日本研究者报道的结果相似,他们也发现在日本人中 DRD2 * A2/A2 基因型与吸烟成瘾性倾向相关^[8]。然而,美国的研究则显示相反的关系,即在高加索人种中 DRD2 * A1/A1 和 DRD2 * B1/B1 是易感基因型^[4-6]。结果不一致的确切原因还不清楚,但有若干可能性可以解释这种现象。首先,DRD2 * A 多态可能与 DRD2 基因其他位点的多态处于连锁不平衡,而这种连锁不平衡有显著的人种差异。其次,DRD2 * A 等位基因可能与未知的强烈影响吸烟行为的其他基因有连锁关系,而这种连锁也具有人种差异。要澄清这些问题必须在不同人种中进行更多大样本的独立研究和相关基因多态的连锁分析。更重要的是需要进一步研究 DRD2 基因多态的生物学功能,虽然有研究表明 DRD2 * A1 等位基因者脑中多巴胺受体 D2 的数量减少^[11],但其对尼古丁的生物学和心理学作用的影响并不清楚。此外,未知的混淆因素导致研究结果偏倚也必须加以考虑。虽然本研究的样本量较大,基因型分析方法可靠,所得基因型频率符合 Hardy-Weinberg 平衡定律并与国内其他研究者^[12]报道的频率十分接近,但我们所分析的表型指标只是研究对象自报的吸烟状况。自报的吸烟状况的准确性个体间会有差异,因而可能产生偏倚。因此,需要进一步采用更准确的确定吸烟依赖性和吸烟量的方法进行研究,以评价 DRD2 基因多态对中国人吸烟依赖性的真正作用。

吸烟是肺癌的主要病因,因此我们分析了 DRD2 基因多态在肺癌病人中的分布情况以及与肺

癌风险的关系。结果表明,326 例肺癌病人的吸烟状况包括吸烟与否、日吸烟量、吸烟年数和累计吸烟量均与 DRD2 基因无关,DRD2 * A 和 DRD2 * B 基因型分布也与 326 名正常研究对象差异无显著性。从发病机理而言,吸烟与肺癌的关系非常复杂,有许多遗传易感性因素影响吸烟者发生肺癌。例如,一些细胞色素 P450 基因可能在吸烟依赖性及其肺癌的发生过程中起更重要的作用^[13-15]。

参 考 文 献

- 1 Noble EP, St Jeor ST, Ritchie T, et al. D2 dopamine receptor gene and cigarette smoking: a reward gene? *Med Hypotheses*, 1994, 42:257-260.
- 2 Grandy DK, Litt M, Allen L, et al. The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a TaqI RFLP. *Am J Hum Genet*, 1989, 45:778-785.
- 3 Smith SS, O'Hara BF, Persico AM, et al. Genetic vulnerability to drug abuse: the D2 dopamine receptor TaqI B1 restriction fragment length polymorphism appears more frequently in polysubstance abusers. *Arch Gen Psychiatry*, 1992, 49:723-727.
- 4 Comings DE, Ferry L, Bradshaw-Robinson S, et al. The dopamine receptor D2 (DRD2) gene: a genetic risk factor in smoking. *Pharmacogenetics*, 1996, 6:73-79.
- 5 Spitz MR, Shi H, Yang F, et al. Case-control study of the D2 dopamine receptor gene and smoking status in lung cancer patients. *J Natl Cancer Inst*, 1998, 90:358-363.
- 6 Wu XF, Karen SH, Michelle AD, et al. D2 dopamine receptor gene polymorphisms among African-Americans and Mexican-Americans: a lung cancer case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2000, 9:1021-1026.
- 7 Singleton AB, Thomson JH, Morris CM, et al. Lack of association between the dopamine D2 receptor gene allele DRD2 * A1 and cigarette smoking in a United Kingdom population. *Pharmacogenetics*, 1998, 8:125-128.
- 8 Yashida K, Hamajima N, Kozaki K, et al. Association between the dopamine D2 receptor A2/A2 genotype and smoking behavior in the Japanese. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2001, 10:403-405.
- 9 Liu BQ, Peto R, Chen ZM, et al. Emerging tobacco hazards in China: 1. Retrospective proportional mortality study of one million deaths. *Br Med J*, 1998, 317:1411-1422.
- 10 Lerman C, Caporaso NE, Audrain J, et al. Evidence suggesting the role of specific genetic factors in cigarette smoking. *Health Psychol*, 1999, 18:14-20.
- 11 Noble EP, Blum K, Ritchie T, et al. Allelic association of the D2 dopamine receptor gene with receptor-binding characteristics in alcoholism. *Arch Gen Psychiatry*, 1991, 48:648-654.
- 12 王建, 刘卓霖, 陈彪, 等. 广州地区汉族人群多巴胺受体基因多态性. *中华医学遗传学杂志*, 2000, 17:348-351.
- 13 Pianezza ML, Sellers EM, Tyndale RF. Nicotine metabolism defect reduces smoking. *Nature*, 1998, 393:750.
- 14 Tan W, Chen GF, Xing DY, et al. Frequency of CYP2A6 gene deletion and its relation to risk of lung cancer and esophageal cancer in the Chinese population. *Int J Cancer*, 2001, 95:96-101.
- 15 Song N, Tan W, Xing D, et al. CYP1A1 polymorphism and risk of lung cancer in relation to tobacco smoking: a case-control study in China. *Carcinogenesis*, 2001, 22:11-16.

(收稿日期:2001-12-28)

(本文编辑:尹廉)