

· 现场调查 ·

代谢酶基因多态性与结直肠癌 易感性关系的病例对照研究

陈坤 金明娟 范春红 宋亮 蒋沁婷 俞维萍 马新源 姚开颜

【摘要】 目的 以自然随访人群为研究对象,研究 I、II 相代谢酶基因多态性与结直肠癌(CRC)易感性的关系。方法 采用聚合酶链反应(PCR)-限制性片段长度多态性(RFLP)、等位基因特异性 PCR(AS-PCR)和多重 PCR 分析技术,检测 140 例 CRC 患者和 343 名健康对照细胞色素 P450 氧化酶 CYP1A1 6235T/C、CYP1A2 734C/A、CYP2E1-1259G/C 和 -1019C/T 各位点多态性,谷胱甘肽转移酶 GST Mu(GSTM1)和 GST Theta(GSTT1)缺陷型,以及 N-乙酰基转移酶基因 NAT1 和 NAT2 各等位基因型分布频率,分析其对 CRC 易感性的影响。结果 等位基因 CYP1A1 6235C、CYP1A2 734A、CYP2E1 -1259C、CYP2E1 -1019T、GSTM1 缺陷型、GSTT1 缺陷型、NAT1 * 10 和 NAT2 M_x (x=1, 2, 3) 的分布频率在病例组依次为 31.65%、63.77%、23.02%、32.61%、57.25%、17.39%、26.45% 和 39.21%,对照组依次为 39.85%、66.62%、20.27%、28.61%、55.46%、20.35%、25.22% 和 39.36%,所有基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 平衡定律。单基因、多基因联合分层分析表明,CYP1A1 6235CC 突变纯合型可显著降低 CRC 风险(OR = 0.79, 95% CI: 0.63~0.99);在携带 CYP1A2 734A 等位基因个体,CYP1A1 6235C 等位基因也可显著降低 CRC 风险(OR = 0.53, 95% CI: 0.34~0.83);在 GSTT1 缺陷型个体,GSTM1 缺陷型可使机体罹患 CRC 的风险显著升高(OR = 4.41, 95% CI: 1.21~16.10)。结论 CYP1A1 6235C 等位基因、GSTM1 和 T1 缺陷基因型可影响机体对 CRC 的遗传易感性,前者是 CRC 的保护因素,后者可使机体罹患 CRC 的风险增高。

【关键词】 肿瘤,结直肠;基因多态性;细胞色素 P450;谷胱甘肽 S-转移酶;N-乙酰化转移酶

A case-control study on the association between genetic polymorphisms of metabolic enzymes and the risk of colorectal cancer CHEN Kun*, JIN Ming-juan, FAN Chun-hong, SONG Liang, JIANG Qin-ting, YU Wei-ping, MA Xin-yuan, YAO Kai-yan. *Department of Epidemiology and Health Statistics, Zhejiang University School of Public Health, Hangzhou 310031, China

【Abstract】 **Objective** To investigate the association between metabolic enzymes polymorphisms and the risk of colorectal cancer(CRC). **Methods** Methods of detection used were based on polymerase chain reaction(PCR) including PCR-restriction fragment length polymorphism(PCR-RFLP), allele specific-PCR(AS-PCR) and multiple-PCR to identify the polymorphisms of CYP1A1 6235T/C, CYP1A2 734C/A, CYP2E1 -1259G/C, CYP2E1 -1019C/T, GSTM1 and T1 null type, NAT1 and NAT2 alleles among 140 cases and 343 cancer-free controls. **Results** The allele frequencies of CYP1A1 6235C, CYP1A2 734A, CYP2E1 -1259C, CYP2E1 -1019T, GSTM1 and T1 null type, NAT1 * 10 and NAT2 M_x(x=1, 2, 3) alleles were 31.65%, 63.77%, 23.02%, 32.61%, 57.25%, 17.39%, 26.45% and 39.21% in the case group and 39.85%, 66.62%, 20.27%, 28.61%, 55.46%, 20.35%, 25.22% and 39.36% in control group, respectively. The frequencies were in Hardy-Weinberg equilibrium. Data on single genetic polymorphism and stratification analysis of multi-genetic polymorphisms indicated that CYP1A1 6235CC homozygote was associated with the significant reduction of CRC risk(OR = 0.79, 95% CI: 0.63-0.99) and in individuals with CYP1A2 734A allele. CYP1A1 62345C allele had the same effect(OR = 0.53, 95% CI: 0.34-0.83). However, individuals with GSTT1 null genotype, GSTM1 null genotype could significantly increase the risk(OR = 4.41, 95% CI: 1.21-16.10). **Conclusion** CYP1A1 6235C allele might play an important role in fighting against colorectal carcinogenesis. However, GSTM1 and T1 null genotype might serve as risk factors genetically. Larger scale population-based studies were needed to confirm the current findings.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30170828)

作者单位:310031 杭州,浙江大学公共卫生学院流行病学与卫生统计学教研室(陈坤、金明娟、范春红、宋亮、蒋沁婷、俞维萍);浙江省嘉善县肿瘤防治所(马新源、姚开颜)

【Key words】 Colorectal neoplasms; Genetic polymorphisms; Cytochrome P450; Glutathione S-transferase; N-acetyltransferase

2002 年全世界约有 1 023 152 例结直肠癌 (CRC) 新病例, 其中 528 978 例个体死亡^[1]。在我国, 2002 年的新发病例为 150 656 例, 死亡 89 102 例, 分别居常见恶性肿瘤发病率和死亡率的第五和第六位, 5 年现患病例数居第三位^[1]。CRC 的发生是多因素、多步骤的作用过程, 以往已对有关代谢酶基因多态性、环境暴露因素与 CRC 的关系开展了广泛研究, 本研究拟在以往的基础上, 以自然随访人群为研究对象, 探讨 I 相代谢酶细胞色素 P450 氧化酶 CYP1A1 6235T/C、CYP1A2 734C/A、CYP2E1 -1259G/C 和 -1019C/T 各位点多态性, II 相代谢酶谷胱甘肽转移酶 GSTM1 和 GSTT1 缺陷型, 以及 N-乙酰基转移酶基因 NAT1 和 NAT2 各等位基因型与 CRC 的关系, 以系统阐明代谢酶基因多态性与机体 CRC 遗传易感性的关系。

对象与方法

1. 研究对象: 浙江省嘉善县是全国县级单位 CRC 调整死亡率最高的县份。1989 年 5 月 1 日至 1990 年 4 月 30 日, 对嘉善县所属的 10 个乡镇 30 岁及以上人群共 75 813 人进行了 CRC 普查, 共有 64 693 人参加, 应答率为 85.3%^[2]。该人群自普查后就建立基线资料, 同时由当地肿瘤防治所负责新发恶性肿瘤的登记、报告和监测工作, 因而该人群一直处于有效的随访中。本研究以该人群为研究对象。其中, 研究病例为 1990 年 5 月至 2002 年 9 月间发生并曾参加 1989-1990 年普查的原发性 CRC 病例, 共 177 例, 排除死亡 16 例, 失访 16 例和拒访 5 例, 实际调查 140 例 (结肠癌 57 例, 直肠癌 83 例); 对照选取采用分年龄组随机抽样方法从随访队列中抽取 400 人, 排除死亡 16 例和 CRC 患者 1 例, 需调查 383 人, 实际调查 343 人; 研究对象共 483 例均由统一培训的调查员上门进行一对一问卷调查, 同时经研究对象同意后抽取静脉血 5 ml。

2. 研究方法: 基因组 DNA 提取采用改良盐析法^[3]。在不知道研究对象的分组情况下, 对上述代谢酶基因进行检测分型。为保证分型的正确性, 以 10% 的比例进行抽样复检。各基因的检测分型方法参考文献报道的同时, 在 NCBI 基因组数据库中进行了仔细核对。具体方法:

(1) CYP1A1 基因 6235T/C (*Msp* I) 位点多态性分析: 采用 PCR-RFLP 分析, 引物序列为 5'-CAG TGA AGA GGT GTA GCC GCT-3' 和 5'-TAG GAG TCT TGT CTC ATG CCT-3'。PCR 反应条件为 94℃ 预变性 5 min 后, 于 95℃ 30 s, 59℃ 30 s 和 72℃ 40 s 进行 30 个循环后, 72℃ 延伸 7 min。PCR 反应产物 (340 bp) 与限制性内切酶 *Msp* I 于 37℃ 消化 2 h, 若存在 6235C 等位基因, 酶切为 140、200 bp DNA 片段。

(2) CYP1A2 基因 734C/A 位点多态性分析: 采用 PCR-RFLP 分析, 引物序列为 5'-CCC AGA AGT GGA AAC TGA GA-3' 和 5'-GGG TTG AGA TGG AGA CAT TC-3'。PCR 反应条件为 94℃ 预变性 5 min 后, 于 95℃ 30 s, 52℃ 30 s 和 72℃ 30 s 进行 32 个循环后, 72℃ 延伸 7 min。PCR 反应产物 (243 bp) 经限制性内切酶 *Apa* I 酶切, 734C 酶切为 119、124 bp DNA 片段, 734A 不存在酶切位点。

(3) CYP2E1 基因 -1259G/C (*Pst* I) 和 -1019C/T (*Rsa* I) 位点多态性分析: 采用 PCR-RFLP 分析方法, 引物序列为 5'-CCA GTC GAG TCT ACA TTG TCA-3' 和 5'-TTC ATT CTG TCT TCT AAC TGG-3'。PCR 反应条件为 94℃ 预变性 5 min 后, 于 95℃ 30 s, 56℃ 30 s 和 72℃ 60 s 进行 30 个循环后, 72℃ 延伸 7 min, PCR 反应产物 (410 bp) 分别经限制性内切酶 *Pst* I 和 *Rsa* I 作用, -1259C 经 *Pst* I 酶切为 290、120 bp DNA 片段, -1019C 经 *Rsa* I 酶切为 360、50 bp DNA 片段。

(4) GSTM1 和 GSTT1 缺陷型分析: 采用多重等位基因特异性 PCR 分析方法, 同时扩增 GSTM1, GSTT1 和内参照 β-球蛋白, 涉及引物序列为: GSTM1 (5'-TTC TGG ATT GTA GCA GAT CA-3' 和 5'-CGC CAT CTT GTG CTA CAT TGC-3'), GSTT1 (5'-GCC CTG GCT AGT TGC TGA AG-3' 和 5'-GCA TCT GAT TTG GGG ACC ACA-3') 和 β-球蛋白 (5'-CAA CTT CAT CCA CGT TCA CC-3' 和 5'-GAA GAA CCA AGG ACA GGT AC-3')。PCR 反应条件为: 95℃ 预变性 5 min 后, 于 95℃ 30 s, 60℃ 30 s 和 72℃ 45 s 进行 2 个循环, 95℃ 30 s, 59℃ 30 s 和 72℃ 45 s 进行 28 个循环, 最后 72℃ 延伸 10 min。非 GSTM1 缺失型有 231 bp 的

片段,非 *GSTT1* 缺失型有 120 bp 的片段,而所有样品都有 268 bp 片段的内参 β -球蛋白片段。

(5) *NAT1* 基因多态性分析:采用 PCR-RFLP 和多重等位基因特异性 PCR 联合分析。① PCR-RFLP 分析体系:引物序列为 5'-CTA TTT AGA ATA AGG AGT AA-3' 和 5'-ACA GGC CAT CTT TAG AA-3'; PCR 反应条件为:95℃ 预变性 5 min 后,于 95℃ 30 s、42℃ 30 s 和 72℃ 45 s 进行 30 个循环后,72℃ 延伸 5 min。PCR 反应产物经限制性内切酶 *Mbo* II 酶切后经 4.5% metaphor 凝胶电泳分离,*NAT1* * 4 显示 105、71、45 bp DNA 条带,*NAT1* * 11 显示 122、71、45 bp DNA 条带,*NAT1* * 10 和 * 3 显示 131、71、45 bp DNA 条带。② *NAT1* * 10 和 * 3 的分型采用多重等位基因特异性 PCR 法,*NAT1* * 10 特异的引物序列为 5'-TAA AAC AAT CTT GTC TAT TTG-3' 和 5'-GCC ATC TTT AAA ATA CAT TTT-3', 同样以 β -球蛋白为内参照,引物序列同前 *GST* 分析。PCR 条件为:95℃ 预变性 5 min 后,于 95℃ 30 s、45℃ 30 s 和 72℃ 45 s 进行 30 个循环后,72℃ 延伸 7 min。*NAT1* * 10 显示 268、244 bp DNA 条带,*NAT1* * 3 只有内参照 268 bp DNA 条带。

(6) *NAT2* 基因多态性分析:采用 PCR-RFLP 方法分析。文献报道 M4 型突变等位基因在我国人群中分布频率极低,本研究仅对 *Wt*、M1、M2 和 M3 等位基因进行了检测分型。引物序列为 5'-GCT GGG TCT GGA AGC TCC TC-3' 和 5'-TTG GGT GAT ACA TAC ACA AGG G-3'。PCR 反应产物(547 bp)分别经限制性内切酶 *Kpn* I、*Taq* I 和 *Bam*H I 酶切判定基因型,M1 突变等位基因 *Kpn* I 酶切位点消失,为 547 bp DNA 片段,其他基因型表现为 114、433 bp DNA 片段,M2 突变等位基因 *Taq* I 酶切位点消失,但仍存在一自然位点,表现为 392、155 bp DNA 条带,其他基因型有 222、170、155 bp DNA 条带,M3 突变等位基因 *Bam*H I 酶切位点消失,为 547 bp DNA 片段,其他基因型表现为 490、57 bp DNA 条带。

3. 统计学分析:在 SPSS 11.5 统计软件包中完成:以 χ^2 检验明确分类变量(如基因分型)在病例和对照组间的分布差异;以单因素方差分析明确距变量的组间差异;通过拟合非条件 logistic 回归模型明确研究因素与 CRC 易感性的关系,以调整比值比(OR)及其 95% 可信区间(95% CI)表示患病风险。

结 果

1. 研究对象的一般情况: CRC 患者组与对照组相比,在年龄、性别、体重指数(BMI)等个体特征,以及吸烟、饮酒等常见环境暴露因素的分布和/或构成比上差异均无统计学意义(表 1)。

表 1 CRC 研究对象的一般情况及吸烟、饮酒状况

因 素	病例组*		对照组*		P 值
	例数	构成比(%)	例数	构成比(%)	
性别					
男	69	49.29	162	47.23	0.68
女	71	50.71	181	52.77	
BMI(kg/m ²)					
≤20	44	32.35	95	28.27	0.58
25	73	53.68	184	54.76	
>25	19	13.97	57	16.96	
缺失值#	4	-	7	-	
吸烟状况					
不吸	89	63.57	206	60.06	0.13
过去吸	22	15.71	39	11.37	
现在吸	29	20.71	98	28.57	
饮酒状况					
不饮	100	71.43	234	68.22	0.75
过去饮	10	7.14	25	7.29	
现在饮	30	21.43	84	24.49	

* 病例组和对照组的年龄($\bar{x} \pm s$)分别为 58.80 岁 \pm 9.99 岁、58.54 岁 \pm 10.72 岁, $P=0.81$; # 无法计算 BMI 的个体数

2. 多态基因分布:各代谢酶基因型以及突变等位基因在病例组和对照组人群的分布频率见表 2 和表 3,其中由于 *NAT1* 和 *NAT2* 涉及等位基因较多,在分析过程中,*NAT1* 主要考察编码快速酶的等位基因 *NAT1* * 10 的分布情况,*NAT2* 将 M1、M2 和 M3 等位基因合并分析。经 χ^2 拟合优度检验所有基因型分布均符合 Hardy-Weinberg 定律。以相应野生型基因为参照,采用非条件 logistic 回归模型,并对年龄、性别、BMI、吸烟、饮酒等可能的混杂因素进行调整,分析杂合型和突变纯合型基因与 CRC 患病风险关系。仅在 *CYP1A1* 6235CC 突变纯合型观察到了达到显著性统计学意义的保护效应(OR=0.79,95% CI:0.63~0.99)。

3. I 相代谢酶基因-基因联合效应分析:以 *CYP1A* 和 *CYP2E* 酶系采用分层分析方法分析基因的联合效应。结果表明:在 *CYP1A2* 734A 等位基因存在时,*CYP1A1* 6235C 等位基因对 CRC 具有保护效应,并有统计学意义(OR=0.53,95% CI:0.34~0.83),对 *CYP2E1*-1259G/C 和 -1019C/T 的分层分析,没有观察到类似效应(表 4)。

表2 I 相代谢酶 CYP 在病例和对照组人群中基因型和等位基因分布

基 因	病例组		对照组		OR 值(95% CI)*	
	例数	构成比(%)	人数	构成比(%)		
CYP1A1 6235T/C	TT	65	46.76	122	35.88	1.00
	CT	60	43.17	165	48.53	0.83(0.67~1.04)
	CC	14	10.07	53	15.59	0.79(0.63~0.99)#
	缺失值 [△]	1	-	3	-	
	C 等位基因	-	31.65	-	39.85	
CYP1A2 734C/A	CC	19	13.77	47	13.82	1.00
	CA	62	44.93	133	39.12	1.12(0.81~1.55)
	AA	57	41.30	160	47.06	0.99(0.80~1.23)
	缺失值 [△]	2	-	3	-	
	A 等位基因	-	63.77	-	66.62	
CYP2E1 -1259G/C	GG	79	56.83	209	61.83	1.00
	GC	56	40.29	121	35.80	1.14(0.75~1.73)
	CC	4	2.88	8	2.37	1.28(0.36~4.52)
	缺失值 [△]	1	-	5	-	
	C 等位基因	-	23.02	-	20.27	
CYP2E1 -1019C/T	CC	59	42.75	164	48.38	1.00
	CT	68	49.28	156	46.02	1.22(0.80~1.86)
	TT	11	7.97	19	5.60	1.47(0.64~3.37)
	缺失值 [△]	2	-	4	-	
	T 等位基因	-	32.61	-	28.61	

* 调整 OR 值(95% CI), 采用非条件 logistic 回归, 经年龄、性别、BMI、吸烟、饮酒状况等因素调整; # OR 值估计有统计学意义, P<0.05; △ 缺失值指未能成功扩增目的基因片段, 进行多态分析的个体数, 等位基因频率计算以 1 个个体携带 2 个等位基因计算

表3 II 相代谢酶 GST、NAT 在病例和对照组人群中基因型和等位基因分布

基 因	病例组		对照组		OR 值(95% CI)*	
	例数	构成比(%)	人数	构成比(%)		
GSTM1	非缺陷型	59	42.75	151	44.54	1.00
	缺陷型	79	57.25	188	55.46	1.07(0.71~1.62)
	缺失值 [△]	2	-	4	-	
GSTT1	非缺陷型	114	82.61	270	79.65	1.00
	缺陷型	24	17.39	69	20.35	0.78(0.46~1.32)
	缺失值 [△]	2	-	4	-	
NAT1	其他基因型	86	62.32	216	62.97	1.00
	* 10 杂合基因型	31	22.46	81	23.62	0.97(0.59~1.60)
	* 10 纯合基因型	21	15.22	46	13.41	1.14(0.85~1.54)
	缺失值 [△]	2	-	0	-	
	* 10 等位基因	-	26.45	-	25.22	
NAT2 [▲]	Wt/Wt	50	35.97	123	35.86	1.00
	Wt/Mx	69	49.64	170	49.56	0.96(0.62~1.50)
	Mx/Mx	20	14.39	50	14.58	1.09(0.59~2.01)
	缺失值 [△]	1	-	0	-	
	Mx 等位基因	-	39.21	-	39.36	

* 同表 2; △ 同表 2; ▲ Wt 指野生型等位基因, Mx 包括 M1、M2 和 M3 等位基因

表4 I 相代谢酶基因-基因联合效应分层分析

基 因	基 因	病例数	对照例数	OR 值(95% CI)*	
CYP1A2 734C/A	CYP1A1 6235T/C				
	CC	TT	10	33	1.00
		TC+CC	9	14	1.66(0.46~6.00)
	CA+AA	TT	54	89	1.00
		TC+CC	65	202	0.53(0.34~0.83)#
	缺失值 [△]	2	5		
CYP2E1 -1019C/T	CYP2E1 -1259G/C				
	CC	GG	48	142	1.00
		GC+CC	11	20	1.34(0.57~3.12)
	CT+CC	GG	30	67	1.00
		GC+CC	49	107	0.97(0.55~1.71)
	缺失值 [△]	2	4		

* 同表 2; # OR 值估计有统计学意义, P<0.01; △ 同表 2

4. II 相代谢酶基因-基因联合效应分析:分 GST 和 NAT 酶系采用分层分析方法,分析基因的联合效应。NAT2、NAT1 根据其表型分别分为慢速乙酰化基因型和快速乙酰化基因型,本分析过程采用了此分型方法。结果表明:在 GSTT1 缺陷型个体, GSTM1 缺陷型可使机体罹患 CRC 的风险升高,并达到显著性统计学意义 ($OR = 4.41, 95\% CI: 1.21 \sim 16.10$)。对 NAT1 和 NAT2 的分层分析,没有观察到类似效应(表 5)。

表5 II相代谢酶基因-基因联合效应分层分析

基 因		病例数	对照例数	OR 值(95% CI)*
GSTT1	GSTM1	非缺陷型	118	1.00
		缺陷型	152	0.85(0.54~1.34)
	非缺陷型	缺陷型	33	1.00
		缺陷型	36	4.41(1.21~16.10)*
		缺失值 [△]	4	
NAT2 [▲]	NAT1 [▲]	慢速型	31	1.00
		快速型	19	0.65(0.17~2.47)
	快速型	慢速型	185	1.00
		快速型	108	1.11(0.70~1.75)
		缺失值 [△]	0	

* 同表 2; # OR 值估计有统计学意义, $P < 0.05$; \triangle 同表 2;

▲ NAT2 快速型指 Wt/Wt 和 Wt/Mx, 慢速型指 Mx/Mx, Mx 包括 M1、M2 和 M3 等位基因; NAT1 快速型指 NAT1 * 10 杂合或纯合基因型, 慢速型指不携带 * 10 等位基因的基因型

5. 分层分析和叉生分析:将 CYP1A1 6235C/T、CYP1A2 734C/A 联合, CYP2E1 -1259G/C、-1019C/T 联合, GSTT1、M1 联合, NAT1、NAT2 联合, 采用分层分析和叉生分析, 明确 I、II 相代谢酶的基因-基因交互作用。没有观察到有统计学意义的保护/危险效应。

讨 论

代谢酶基因多态性是机体肿瘤遗传易感性的重要影响因素。有关其与 CRC 发生关系已开展了广泛研究, 蒋沁婷, 陈坤^[4]对国内外 1990 年 1 月至 2001 年 12 月期间公开发表的关于 CRC 和代谢酶基因多态性的病例对照研究或队列研究进行综合的 Meta 分析发现, GSTT1 缺陷型、NAT2 快速乙酰化基因型/表型是 CRC 的危险因素, OR 值(95% CI)依次为 1.42(1.21~1.66)和 1.08(1.00~1.16)。同时指出, CRC 是多因素作用、多步骤的发生过程, 有关其危险因素的分析, 必须考虑饮食因素以及进行多酶系、多基因综合的系统分析。由于本文篇幅有

限, 且对环境暴露因素的单因素分析未发现显著的危险/保护因素, 本文没有涉及环境暴露与基因交互作用的分析。

细胞色素 P450 酶系属 I 相代谢酶系, 食源性致癌物如杂环胺等首先需经其活化才可能经 II 相代谢酶进一步活化形成终致癌物。CYP1A1 3' 端非编码区 6235T/C 点突变可增加编码酶的活性, 最终使体内致癌物的浓度升高, 从而增加癌变的可能性。Sivaraman 等^[5]首先报道了 6235CC 基因型能使原位 CRC 危险性 7.9 倍(95% CI: 1.4~44.4), 但之后 Inoue 等^[6]、Ishibe 等^[7]则认为 6235CC 基因型可降低罹患 CRC 的风险, 但效应没有达到统计学意义。本次自然人群的病例对照研究发现, 6235CC 基因型可显著降低机体罹患 CRC 的风险 ($OR = 0.79, 95\% CI: 0.63 \sim 0.99$), 进一步根据 CYP1A2 734C/A 等位基因分层分析表明, 在携带 734A 等位基因个体, 6235C 等位基因可显著降低机体罹患 CRC 的风险 ($OR = 0.53, 95\% CI: 0.34 \sim 0.83$)。对 CYP1A2 734A、CYP2E1 -1259G/C、-1019C/T 与 CRC 关系的分析, 没有观察到显著效应。文中报道的 CYP1A2 734A 等位基因在嘉善县人群分布频率为 0.67, 与已报告的江苏启东人群 0.68 和湖南长沙人群 0.66 一致。另对 CYP2E1 -1259G/C 与腌制品摄入分析表明, 两者对 CRC 的影响有协同作用^[8]。

GST 酶系是重要的 II 相代谢解毒酶系, 主要参与杂环芳香烃类环境致癌物的解毒。Cotton 等^[9]对 2000 年以前开展的有关 GST 与结直肠癌/腺瘤关系的研究进行了综合回顾, 认为 GST 非缺陷型是 CRC 低风险基因, 主要通过影响机体对杂环芳香烃类环境致癌物的解毒能力而改变 CRC 的易感性, 由于研究报道多局限于病例对照研究, 且往往是单个基因多态的研究, 无法避免混杂偏倚和信息偏倚, 研究结果不一致。Houlston, Tomlinson^[10]开展的 Meta 分析表明, GSTM1、T1 对 CRC 的综合 OR 值(95% CI)分别为 1.10(0.99~1.21)和 1.16(0.98~1.20)。Yoshioka 等^[11]开展的 GST、NAT 酶系多态的综合分析发现, GSTM1 非缺陷型同时携带 GST P1 AA 纯合子, 罹患结直肠癌的风险最低。Kiss 等^[12]开展的 CYP1A1、CYP2E1 以及 GSTM1 与 CRC 的研究发现, 同时携带三类“高风险”等位基因罹患 CRC 的风险最高 ($OR = 4.62, 95\% CI: 1.23 \sim 25.68$), 表明各基因间存在明显的交互作用。本研究分析了 GSTM1、T1 单基因、两基因联合以及其

与 CYP 基因型与 CRC 的关系, 仅在 *GSTT1* 缺陷型个体, 观察到 *GSTM1* 缺陷型可使机体罹患 CRC 的风险显著升高 ($OR = 4.41, 95\% CI: 1.21 \sim 16.10$)。另对 *GST* 基因型与饮食摄入联合分析表明, *GSTT1* 缺陷型与腌炸类食物的摄入, 对 CRC 有协同作用^[13]。

NAT 酶系是最早发现的呈多态分布的代谢酶基因, 是外源性化学物的重要代谢转移酶, 杂环胺、芳基胺类环境致致癌物经 CYP 酶系活化后, 需再经其进一步 *N*-乙酰化形成终致癌物。NATs 基因多态通过影响机体乙酰化能力从而影响癌症易感性: Bell 等^[14] 首先报道了编码快速酶的等位基因 *NAT1* * 10 的存在可显著增高罹患 CRC 的风险 ($OR = 1.9, 95\% CI: 1.2 \sim 3.2$), 但未发现 *NAT2* 快速乙酰化基因型与 CRC 显著相关。郑树等^[15] 开展的研究认为 *NAT2* 野生型即慢速乙酰化基因型可能是大肠腺瘤复发的保护因素, 而何路军等^[16] 在河北汉族人群的研究仅在 *Wt/M2* 型多态观察到了显著效应 ($OR = 3.21, 95\% CI: 1.33 \sim 7.76$), 邓长生等^[17] 开展的有关 *GSTM1*、*T1* 和 *NAT1* 多态与散发性 CRC 的研究发现, *GSTT1* 缺陷型与远端 CRC 的易感性有关, 而 *NAT1* * 10 与 CRC 的易感性有关。本自然人群研究无论是 *NAT1*、*NAT2* 单基因分析、两基因联合分析还是与 CYP 多态联合分析均未观察到显著效应。研究表明 *NAT1* * 10 在浙江省嘉善县人群等位基因分布频率为 26.45%, 与邓长生等^[17] 报道 (27.8%) 基本一致, *NAT2* 快速乙酰化基因型 (*Mx/Mx*) 分布频率为 14.58%, 与现有报道不一致, 可能由于研究对象的地区分布、入选标准和样本量的差异, 也可能由于研究类型均为病例对照研究, 无法避免信息偏倚和混杂偏倚的存在。

综合分析本次人群为基础的病例对照研究, 由于研究涉及的基因较多, 而研究对象有限, 只是系统、宏观地分析了各基因型与 CRC 的关系, 而没有进一步进行各基因亚型、肿瘤病理部位的分型讨论, 也没有就其与环境暴露因素的相互作用展开分析, 有可能对研究结论带来偏性。有关代谢酶基因多态性与 CRC 关系的研究, 需要大样本、自然人群的随访研究。

参 考 文 献

- IARC, 2002.
- 陈坤, 舒国通, 马新源, 等. 肠息肉与结直肠癌发病关系队列研究. 中国公共卫生, 2004, 20: 168-170.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res*, 1988, 16: 1215.
- 蒋沁婷, 陈坤. 大肠癌代谢酶基因多态性的 Meta 分析. 浙江预防医学, 2003, 15: 1-4.
- Sivaraman L, Leatham MP, Yee J, et al. *CYP1A1* genetic polymorphisms and in situ colorectal cancer. *Cancer Res*, 1994, 54: 3692-3695.
- Inoue H, Kiyohara C, Marugame T, et al. Cigarette smoking, *CYP1A1 Msp I* and *GSTM1* genotypes, and colorectal adenomas. *Cancer Res*, 2000, 60: 3749-3752.
- Ishibe N, Stampfer M, Hunter DJ, et al. A prospective study of cytochrome P450 1A1 polymorphisms and colorectal cancer risk in men. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2000, 9: 855-856.
- 俞维萍, 陈坤, 马新源, 等. 细胞色素 P450 2E1 基因 *Pst I* 多态、腌制品与大肠癌关系的病例对照研究. 中华预防医学杂志, 2004, 38: 162-166.
- Cotton SC, Sharp L, Little J, et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol*, 151: 7-32.
- Houlston RS, Tomlinson IP. Polymorphisms and colorectal tumor risk. *Gastroenterology*, 2001, 121: 282-301.
- Yoshioka M, Katoh T, Nakano M, et al. Glutathione S-transferase (*GST*) *M1*, *T1*, *P1*, *N*-acetyltransferase (*NAT*) 1 and 2 genetic polymorphisms and susceptibility to colorectal cancer. *J UOEH*, 1999, 21: 133-147.
- Kiss I, Sandor J, Pajkos G, et al. Colorectal cancer risk in relation to genetic polymorphism of cytochrome P450 1A1, 2E1, and glutathione S-transferase *M1* enzymes. *Anticancer Res*, 2000, 20: 519-522.
- 陈坤, 蒋沁婷, 俞维萍, 等. 谷胱甘肽转移酶基因多态、饮食暴露与结直肠癌关系的研究. 中华消化杂志, 2004, 24: 377-379.
- Bell DA, Stephens EA, Castranio T, et al. Polyadenylation polymorphism in the acetyltransferase 1 gene (*NAT1*) increases risk of colorectal cancer. *Cancer Res*, 1995, 55: 3537-3542.
- 郑树, 刘希永, 曹江, 等. 代谢酶 *NAT2* 多态性与大肠息肉及腺瘤的复发. 中华医学杂志, 2001, 81: 907-909.
- 何路军, 姜玲玲, 刘敬闪, 等. *NAT2* 基因多态性与河北省汉族人大肠癌的相关性. 第四军医大学学报, 2004, 25: 163-165.
- 邓长生, 张友才, 林军, 等. 毒物代谢酶基因多态性与结肠腺瘤易感性关联. 中华消化杂志, 2003, 23: 540-543.

(收稿日期: 2004-09-09)

(本文编辑: 张林东)