

DNA 损伤修复基因 XRCC3 Thr241Met 多态与贲门癌、非贲门部胃癌易感性关系的病例对照研究

黄贵培 郑宗立 蔡琳

【摘要】 目的 探讨福建人群 DNA 损伤修复基因 XRCC3 Thr241Met 多态与贲门癌、非贲门部胃癌易感性的关系,分析基因与环境因素在癌症发生中的联合作用。方法 采用共同对照组的病例对照研究方法,应用 PCR-RFLP 技术检测基因型,应用非条件 logistic 回归计算 OR 值及其 95% CI。结果 XRCC3 三种基因型(野生型 CC、杂合突变型 CT、纯合突变型 TT)在贲门癌组的分布频率分别为 43.2%、46.5%、10.3%;在非贲门部胃癌组的分布频率为 53.2%、40.9%、5.8%;在对照组的分布频率分别为 59.6%、35.1%、5.3%。经多因素分析结果显示携带变异基因型(CT+TT)个体罹患贲门癌的风险增加(OR = 1.76, 95% CI: 1.07~2.90)。XRCC3 变异基因型与饮酒、新鲜蔬菜摄入和慢性胃炎对贲门癌发生存在协同作用;与吸烟、慢性胃炎对非贲门部胃癌发生存在协同作用。结论 XRCC3 基因多态与贲门癌发生有关,贲门癌与非贲门部胃癌的危险因素不尽相同。

【关键词】 胃肿瘤; DNA 损伤修复基因; 基因多态性

DNA repair gene XRCC3 Thr241Met polymorphism and susceptibility to cardia and non-cardia gastric cancer: a case-control study HUANG Gui-pei*, ZHENG Zong-li, CAI Lin. *School of Public Health, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China
Corresponding author: CAI Lin, Email: cailin_cn@hotmail.com

【Abstract】 **Objective** To study the association between genetic polymorphisms of XRCC3 Thr241Met gene and susceptibility to gastric cardia and non-cardia gastric cancer, and to investigate the combined effect between genes and surrounding environment. **Methods** A case-control study with respective control group was conducted. Genotypes were investigated by PCR-RFLP. Unconditional logistic regression models were used to estimate odd ratios(ORs) and their 95% confidence intervals(95% CI). **Results** The frequency of XRCC3 CC, CT and TT genotypes were 43.2%, 46.5% and 10.3%, respectively in cardia cancer cases and 53.2%, 40.9% and 5.8% respectively in non-cardia gastric cancer cases while 59.6%, 35.1%, 5.3%, respectively in control group. Variated genotypes (CT and TT) increased the risk of cardia cancer after adjusting for potential confounders (OR = 1.76, 95% CI: 1.07-2.90). On cardia cancer risks, there seemed combined effects between variated genotype and high rate of alcohol drinking, low intake of fresh vegetables and having chronic gastritis. Combined effects between variated genotype and smoking, having chronic gastritis were observed in non-gastric cancer group. **Conclusion** XRCC3 variated genotype was one of the risk factors of cardia cancer while different risks of factors might exist between cardia and non-cardia gastric cancer.

【Key words】 Cardia neoplasms; DNA repair genes; Gene polymorphisms

DNA 损伤修复系统维持基因组的稳定,在可导致肿瘤发生的癌基因激活和抑癌基因失活中起关键

作用。研究表明 DNA 损伤修复基因多态可导致 DNA 损伤修复能力的个体差异,与肿瘤的发生有关。许多 DNA 损伤修复基因存在多态性,调节着个体对肿瘤的易感性^[1]。XRCC3 基因是重要的 DNA 损伤修复基因之一。XRCC3 编码的蛋白参与 DNA 双链断裂的同源性重组修复过程。XRCC3 基因在第 241 个密码子存在多态性,导致苏氨酸由蛋氨酸所取代,羟基氨基酸转换为硫亚甲基氨基酸,氨

基金项目:全国优秀博士学位论文专项资金资助项目(200157);福建省自然科学基金资助项目(C0410016)

作者单位:350004 福州,福建医科大学公共卫生学院(黄贵培、蔡琳); Department of Medical Epidemiology and Biostatistics, Karolinska Institutet(郑宗立)

通讯作者:蔡琳, Email: cailin_cn@hotmail.com

基酸的取代可能影响酶的功能及其与参与 DNA 损伤修复的其他蛋白的相互作用,因而可能与肿瘤的易感性有关。胃癌是世界上第二大肿瘤,占恶性肿瘤发病率的 9.9% 及死亡率的 12.1%。38% 的胃癌病例发生在我国^[2]。流行病学研究结果显示,近 20 年来,欧美等发达国家和地区的贲门癌发病率呈上升趋势,而远侧部胃癌则呈下降趋势,原因尚不明确^[3]。虽然约 2/3 胃癌可通过改变生活方式和饮食习惯而避免,但在暴露于相似环境的人群中却只有少部分人发生胃癌,表明个体易感性可能在胃癌的发生中起重要的作用。本项研究采用共同对照组的病例对照研究方法^[4],探讨福建省胃癌高发区人群 DNA 损伤修复基因 XRCC3 基因多态在贲门癌、非贲门部胃癌发生中的作用。

对象与方法

1. 研究对象:贲门癌 155 例为 2001 年 4-11 月在福州市 5 家医院(福建医科大学附属第一医院、协和医院、福建省立医院、福建省肿瘤医院和南京军区福州总医院)所有诊断为原发性贲门癌的新发住院病例。以贲门癌组为参照,按性别和年龄(± 3 岁)成组匹配,选取非贲门部胃癌组 154 例和对照组 188 例。对所有研究对象进行问卷调查并采集静脉血 5 ml。所有肿瘤病例均为调查时 1 年内经病理确诊的新发病例,对照组为与贲门癌病例同医院的骨科中非肿瘤住院患者。

2. 调查方法:采用统一的调查表,经培训的调查员以床边面对面询问方式对所有研究对象进行调查。调查内容包括社会人口学特征、个人 10 年前饮食史、日常生活习惯、烟酒茶消费情况、家用冰箱使用情况、家族肿瘤史、胃部疾病史等。吸烟定义为一生吸烟量超过 100 支以上(20 支香烟约等于 4 支卷烟和 5 烟斗烟草)。饮酒定义为每周至少 2 次,连续 6 个月以上。

3. 实验方法:采用 DNAzol 试剂盒(购自 Invitrogen 生物技术公司)从血凝块中提取基因组 DNA,应用 PCR-RFLP 进行基因型检测。PCR 引物序列:5'-GCTCGCCTGGTGGTCATCGACTCG-3'与 5'-AAGAGCACAGTCCAGGTCAGCTG-3'。PCR 反应体系 25 μ l,其中包含:基因组 DNA 100 ng, Taq DNA 聚合酶 2.5 U, dNTP 20 μ mol/L,引物各 15 pmol/L, MgCl₂ 20 mmol/L, 10 \times PCR buffer。反应条件:95 $^{\circ}$ C 5 min 热启动后,94 $^{\circ}$ C 30 s,55 $^{\circ}$ C 30 s,

72 $^{\circ}$ C 50 s,共进行 35 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 8 min。取扩增产物 10 μ l 加入 5 U 限制性内切酶 NlaIII,37 $^{\circ}$ C 过夜,2% 琼脂糖电泳,紫外透射仪下确定基因型。C/C(野生型)为 335 bp 一条条带;C/T(杂合突变型)为 335 bp、233 bp、102 bp 三条条带;T/T(纯合突变型)为 233 bp、102 bp 两条条带。基因分型检测采用盲法,每一批次均设置对照,最后再随机抽取总样本量的 10%,进行重复扩增、酶切。两次检测符合率为 100%。

4. 统计学分析:采用 SPSS 12.0 软件,非条件 logistic 回归模型计算 OR 值及其 95% CI 以及分析基因与环境的联合作用,并对交互作用进行定性和定量分析。OR(A₁B₁)为基因多态与环境因素都存在时的比值比,OR(A₁B₀)和 OR(A₀B₁)分别为基因和环境单独存在时的比值比,OR(A₀B₀)为两者都不存在时的比值比。I(AB)为归因交互效应,计算公式为 I(AB) = OR(A₁B₁) - OR(A₁B₀) - OR(A₀B₁) + OR(A₀B₀);AP(AB)为归因交互效应百分比,计算公式为 AP(AB) = I(AB)/OR(A₁B₁);S 为效应指数,计算公式为 S = [OR(A₁B₁) - 1]/[OR(A₁B₀) - 1 + OR(A₀B₁) - 1],S 绝对值越大,交互作用越强^[5]。新鲜蔬菜以每周食用 2 次以上为分割点划分为两个等级,其余食物摄入均以每周 2 次以上及每月 1 次为分割点分为三个等级。

结 果

1. 病例对照一般人口学特征的均衡性检验:如表 1 所示,贲门癌组、非贲门部胃癌组与对照组性别、年龄均衡可比(贲门癌组 P 值分别为 0.165、0.073;非贲门部胃癌组 P 值分别为 0.628、0.367)。贲门癌组与对照组文化程度分布差异有统计学意义(P = 0.011),非贲门部胃癌组与对照组文化程度均衡可比(P = 0.819)。

2. XRCC3 多态的分布及其与贲门癌、非贲门部胃癌的非条件 logistic 回归分析:贲门癌组、非贲门部胃癌组和对照组基因频率分布均符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律,具有良好的代表性(P 值均 > 0.05)。如表 2 所示,XRCC3 三种基因型(野生型 CC、杂合突变型 CT、纯合突变型 TT)在贲门癌组的分布频率分别为 43.2%、46.5%、10.3%;在非贲门部胃癌组的分布频率为 53.2%、40.9%、5.8%;在对照组的分布频率分别为 59.6%、35.1%、

表1 贲门癌、非贲门癌病例组与对照组一般人口学特征的均衡性检验

人口学特征	贲门癌	非贲门部胃癌	对照组
年龄(岁)			
≤59	48.9% (92)	52.6% (61)	38.7% (60)
60~	31.4% (59)	26.6% (41)	38.1% (59)
≥70	19.7% (37)	20.8% (32)	23.2% (36)
	<i>P</i> = 0.165*	<i>P</i> = 0.628*	
性别			
男	80.6% (125)	76.6% (118)	72.3% (136)
女	19.4% (30)	23.4% (36)	27.7% (52)
	<i>P</i> = 0.073*	<i>P</i> = 0.367*	
文化程度			
小学及以下	60.6% (94)	48.1% (74)	46.8% (88)
中学及以上	39.4% (61)	51.9% (80)	53.2% (100)
	<i>P</i> = 0.011*	<i>P</i> = 0.819*	

* 均与对照组作比较

5.3%。三种基因型在贲门癌、非贲门部胃癌组与对照组分布的差异均有统计学意义(*P* < 0.05)。变异基因型(CC + CT)在贲门癌、非贲门癌及对照组的

分布频率分别为56.8%、46.8%、40.4%，变异基因型在贲门癌与对照组分布的差异有统计学意义(*P* < 0.05)，而在非贲门部胃癌与对照组的分布差异不具统计学意义(*P* > 0.05)。经多因素调整后，携带CT基因型个体罹患贲门癌的风险是CC基因型的1.68倍(95% CI: 0.99~2.84)，差别无统计学意义；携带变异基因型(CC + CT)个体罹患贲门癌的风险是CC基因型的1.76倍(95% CI: 1.07~2.90)，差别有统计学意义。而变异基因型与非贲门部胃癌的联系不具统计学意义(*OR* = 1.32, 95% CI: 0.82~2.12)。

3. XRCC3与吸烟、饮酒、新鲜蔬菜摄入、慢性胃炎的交互作用分析:如表3所示,相加模型的交互作用分析显示,XRCC3变异基因型在贲门癌组与饮酒、新鲜蔬菜、慢性胃炎存在交互作用,而在非贲门部胃癌组与吸烟、慢性胃炎存在交互作用。

表2 XRCC3基因多态的分布及其与贲门癌、非贲门部胃癌的非条件 logistic 回归分析

基因型	对照组 [△]	贲门癌 [△]	OR 值(95% CI)	OR 值(95% CI)*	非贲门部胃癌 [△]	OR 值(95% CI)	OR 值(95% CI)*
CC	112(59.6)	67(43.2)	1.00	-	82(53.2)	1.00	-
CT	66(35.1)	72(46.5)	1.82(1.16~2.86)*	1.68(0.99~2.84)	63(40.9)	1.30(0.83~2.04)	1.37(0.83~2.24)
TT	10(5.3)	16(10.3)	2.68(1.15~6.23)*	2.21(0.86~5.66)	9(5.8)	1.23(0.48~3.16)	0.99(0.34~2.90)
CT+TT	76(40.4)	88(56.8)	1.94(1.26~2.98)*	1.76(1.07~2.90)*	72(46.8)	1.29(0.84~1.99)	1.32(0.82~2.12)

* *P* < 0.05; # XRCC3 经性别、年龄、文化程度、三餐是否按时、进食速度、牛奶、新鲜蔬菜、新鲜水果、饮自来水、使用冰箱、吸烟、饮酒、一级亲属肿瘤史调整; △ 括号外数据为例数,括号内为%

表3 XRCC3多态与吸烟、饮酒、新鲜蔬菜、慢性胃炎的交互作用分析

变量	XRCC3	对照例数	贲 门 癌					非 贲 门 部 胃 癌				
			例数	OR 值# (95% CI)	I (AB)	AP(AB) (%)	S	例数	OR 值# (95% CI)	I (AB)	AP(AB) (%)	S
吸烟												
否	C/C	53	30	1.000	-	-	-	35	1.000	-	-	-
是	C/C	59	37	0.746(0.343~1.625)	-	-	-	47	1.192(0.574~2.474)	-	-	-
否	C/T+T/T	52	37	1.064(0.527~2.149)	-	-	-	28	0.728(0.367~1.445)	-	-	-
是	C/T+T/T	24	51	2.169(0.939~5.009)	1.359	62.7	-6.153	44	2.772(1.238~6.207)*	1.852	66.8	-22.15
饮酒												
不饮	C/C	52	29	1.000	-	-	-	32	1.000	-	-	-
不饮	C/T+T/T	40	28	1.043(0.492~2.211)	-	-	-	28	1.097(0.540~2.228)	-	-	-
偶尔	C/C	38	20	0.849(0.374~1.925)	-	-	-	30	1.120(0.525~2.391)	-	-	-
偶尔	C/T+T/T	28	31	1.655(0.734~3.729)	0.763	46.1	-6.065	29	1.418(0.640~3.139)	0.201	14.2	1.926
经常	C/C	22	18	1.481(0.579~3.783)	-	-	-	20	1.099(0.450~2.638)	-	-	-
经常	C/T+T/T	8	29	6.985(2.451~19.906)*	5.461	78.2	11.422	15	2.511(0.835~7.550)	1.315	52.4	7.709
新鲜蔬菜												
常吃	C/C	106	61	1.000	-	-	-	77	1.000	-	-	-
少吃	C/C	6	6	0.932(0.243~3.569)	-	-	-	5	0.957(0.250~3.666)	-	-	-
常吃	C/T+T/T	74	77	1.587(0.946~2.662)	-	-	-	67	1.232(0.754~2.012)	-	-	-
少吃	C/T+T/T	2	11	7.780(1.342~45.086)*	6.261	80.5	13.064	5	4.302(0.739~25.045)	3.113	72.4	17.471
慢性胃炎												
否	C/C	92	49	1.000	-	-	-	62	1.000	-	-	-
是	C/C	20	18	1.621(0.705~3.724)	-	-	-	20	1.365(0.633~2.942)	-	-	-
否	C/T+T/T	72	66	1.494(0.854~2.614)	-	-	-	56	1.167(0.690~1.975)	-	-	-
是	C/T+T/T	4	22	10.377(3.083~34.921)*	8.262	79.6	8.410	16	5.732(1.669~19.685)*	4.200	73.3	8.895

* *P* < 0.05; # 同表2

讨 论

XRCC3 蛋白作用于同源性重组,该途径对于防止染色体断裂、易位和缺失有重要作用,染色体的这些变异可导致肿瘤的发生。XRCC3 与 RAD51 在结构上紧密相连,RAD51 是同源性重组修复途径的重要组成部分^[6],XRCC3 是 RAD51 的聚集和稳定所需。XRCC3 缺失的细胞在受到损伤后不能形成 RAD51 聚集点,从而呈现遗传不稳定性和增加对 DNA 损伤因子的易感性。研究表明 XRCC3 241 Met 等位基因与外周血淋巴细胞中的高水平 BPDE-DNA 加合物显著相关^[7],提示该基因多态在肿瘤的发生中可能起重要的作用。

到目前为止,仅有一项研究报告 XRCC3 Thr241Met 多态与胃癌的关系^[8],该研究表明 XRCC3 Thr241Met 多态与胃癌的发生无关。本研究发现 XRCC3 Thr241Met 多态与非贲门部胃癌无关,结果与上述研究相似。XRCC3 Thr241Met 多态与贲门癌发生有关,提示可能由于解剖部位的特殊性,贲门癌与非贲门部胃癌的危险因素不尽相同。

癌症的发生是基因和环境共同作用的结果,两者在癌症的发展过程中均发挥着不可或缺的作用。XRCC3 缺失的细胞在受到损伤后可增加对 DNA 损伤因子的易感性。因此,我们试图将可导致细胞损伤的胃癌环境因素和 XRCC3 基因多态进行联合作用的分析。本研究发现 XRCC3 基因多态可修饰吸烟、饮酒、少吃新鲜蔬菜和慢性胃部疾病与贲门癌的关系。吸烟、饮酒与多种癌症有关。烟草中含有多种有毒有害物质并可产生活性氧化自由基,从而可导致 DNA 双链断裂。本研究发现吸烟且携带 XRCC3 变异基因型的个体罹患非贲门部胃癌的风险是不吸烟且携带 CC 基因型个体的 2.8 倍。已经证实叶酸的缺乏可造成 DNA 的低甲基化、破坏 DNA 完整性、影响 DNA 的修复,从而引发肿瘤^[9]。叶酸不能由人体合成,必须从食物中摄取,叶酸的缺乏可能由叶酸含量高的食物(如新鲜蔬菜)摄入的不足而引起。本研究发现少吃新鲜蔬菜且携带 XRCC3 Thr241Met 多态变异基因型的个体罹患贲门癌的风险是常吃新鲜蔬菜且携带 CC 基因型个体的 7.8 倍。饮酒可导致胃黏膜的慢性损伤,从而可能促进胃黏膜对致癌物质吸收,患慢性胃炎也可能增

加胃黏膜对致癌物质的吸收。本研究发现经常饮酒且携带变异基因型的个体罹患贲门癌的风险是从不饮酒且携带 CC 基因型个体的 7.0 倍;患有慢性胃炎且携带变异基因型的个体罹患贲门癌的风险是不患有慢性胃炎且携带 CC 基因型个体的 10.4 倍,患有慢性胃炎且携带变异基因型的个体罹患非贲门部胃癌的风险是不患有慢性胃炎且携带 CC 基因型个体的 5.8 倍。

本次研究报道了 DNA 损伤修复基因 XRCC3 Thr241Met 多态在贲门癌、非贲门部胃癌发生中的作用,初步探讨了 XRCC3 Thr241Met 多态与吸烟、饮酒、新鲜蔬菜及慢性胃炎的协同作用,进行了定性和定量分析。对于人群特别是高危人群贲门癌、非贲门部胃癌的预防具有重要意义。戒烟限酒、增加新鲜蔬菜水果的摄入、早期治疗慢性胃部疾病对于预防胃癌的发生是重要可行的。我们的研究也存在一定的不足,如交互作用分析的样本量相对不足,需更大样本;XRCC3 Thr241Met 三种基因型的具体功能尚未清楚等,这些问题亟待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 De Boer JG. Polymorphisms in DNA repair and environmental interactions. *Mutat Res*, 2002, 509: 201-210.
- 2 Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, 1999, 49: 33-64.
- 3 Anita AMB, Leo JS, Alesander V, et al. Trends in incidence of adenocarcinoma of the oesophagus and gastric cardia in ten European countries. *Int J Epidemiol*, 2000, 29: 645-654.
- 4 Mu LN, Lu QY, Yu SZ, et al. Green tea drinking and multigenetic index on the risk of stomach cancer in a Chinese population. *Int J Cancer*, 2005, 116: 972-983.
- 5 赵仲堂. 流行病学研究方法与应用. 北京: 科学出版社, 2000. 523-542.
- 6 Kannaar R, Hoelijmakers JH, van Gent D. Molecular mechanisms of DNA double-stranded repair. *Trends Cell Biol*, 1998, 8: 483-489.
- 7 Matullo G, Guarrera S, Carturan S, et al. DNA repair gene polymorphisms, bulky DNA adducts in white blood cells and bladder cancer in a case-control study. *Int J Cancer*, 2001, 92: 562-567.
- 8 Shen H, Wang X, Hu Z, et al. Polymorphisms of DNA repair gene XRCC3 Thr241Met and risk of gastric cancer in a Chinese population. *Cancer Letters*, 2004, 206: 51-58.
- 9 缪小平, 林东昕. 叶酸与肿瘤. *癌症*, 2003, 22: 668-671.

(收稿日期: 2005-09-22)

(本文编辑: 张林东)