

吸烟、饮酒与食管癌 p53 基因改变的 Meta 分析

王波 张艳 徐德忠 王安辉 张磊 孙长生 李良寿

【摘要】 目的 探讨吸烟、饮酒与食管癌 p53 基因改变之间的关系。方法 应用 Meta 分析对有关研究吸烟、饮酒与食管癌 p53 基因改变的文献进行综合评价。结果 纳入 Meta 分析的 14 篇研究吸烟的文献中,吸烟与 P53 蛋白高表达、p53 基因改变(P53 蛋白高表达 + p53 基因突变)的合并 OR 值分别为 1.99(95% CI :1.30~3.06) 1.64(95% CI :1.13~2.37)($P < 0.05$) 吸烟与 p53 基因突变的合并 OR 值为 1.11(95% CI :0.47~2.76)($P > 0.05$)。11 篇研究饮酒的文献中,饮酒与 P53 蛋白高表达、p53 基因突变和 p53 基因改变的合并 OR 值分别为 1.30(95% CI :0.83~2.04) 1.13(95% CI :0.67~1.90) 和 1.22(95% CI :0.87~1.72),合并 OR 值无统计学意义($P > 0.05$)。结论 吸烟与 p53 基因改变有显著联系,饮酒与 p53 基因改变未见显著联系。

【关键词】 食管肿瘤;基因 p53;Meta 分析

Meta-analysis on the relationship between tobacco smoking ,alcohol drinking and p53 alteration in cases with esophageal carcinoma WANG Bo*, ZHANG Yan, XU De-zhong, WANG An-hui, ZHANG Lei, SUN Chang-sheng, LI Liang-shou. *Department of Epidemiology, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China

Corresponding author: XU De-zhong, Email: xudz@fmmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between tobacco smoking, drinking and p53 alteration in esophageal carcinoma. **Methods** Literature on the relationship between p53 alteration in esophageal carcinoma and tobacco smoking, drinking through Meta-analysis were reviewed. **Results** In 14 selected papers related to tobacco smoking, pooled odds ratio (OR) of tobacco smoking with P53 overexpression and p53 alteration were 1.99(95% CI :1.30-3.06) and 1.64(95% CI :1.13-2.37), respectively($P < 0.05$). Pooled OR of tobacco smoking with p53 mutation was 1.11(95% CI :0.47-2.76)($P > 0.05$). In 11 selected papers on alcohol drinking, pooled OR of drinking with P53 overexpression, p53 mutation and p53 alteration were 1.30(95% CI :0.83-2.04), 1.13(95% CI :0.67-1.90) and 1.22(95% CI :0.87-1.72) respectively ($P > 0.05$). **Conclusion** There were significant relations between tobacco smoking and p53 alteration while there were no significant relations between alcohol drinking and p53 alteration.

【Key words】 Esophageal neoplasm; Gene p53; Meta-analysis

食管癌的发生很可能有多种癌基因和抑癌基因的参与^[1]。p53 基因是迄今发现与人类肿瘤相关性最广泛的基因,人类恶性肿瘤中至少有 50% 发生 p53 基因的改变^[2]。大量研究发现, P53 蛋白高表达和 p53 基因突变是食管癌发生发展过程中的重要生物学标志之一,突变率从 35%~84% 不等^[3,4]。吸烟、饮酒作为食管癌的主要危险因素已被国内外

学者所证实,从分子水平探讨吸烟、饮酒与肿瘤中癌基因和抑癌基因改变的关系成为肿瘤分子流行病学研究的热点。本研究对食管癌 p53 基因改变与吸烟、饮酒的关系进行了 Meta 分析,以综合、定量评价吸烟、饮酒在食管癌 p53 基因改变中的作用。

资料与方法

1. 资料来源:以“食管癌”、“p53 基因”、“吸烟”、“饮酒”为检索词,检索中国生物医学文献数据库、中国学术期刊全文数据库及 Medline、Pub-Med 等,并辅以文献追溯、手工检索等方法收集 1990~2002 年公开发表的有关吸烟、饮酒与食管癌 p53 基因改变

作者单位:710032 西安 第四军医大学预防医学系流行病学教研室(王波、徐德忠、王安辉、张磊、孙长生、李良寿)陕西省血液中心(张艳)

通讯作者:徐德忠,Email: xudz@fmmu.edu.cn

关系的文献,共获得相关文献 23 篇。末次检索时间为 2003 年 1 月 10 日。

2. 文献入选标准和排除标准:文献入选标准包括①研究对象为食管癌(食管鳞状上皮细胞癌和腺癌)病例,样本量 $n \geq 30$;②有明确的吸烟和饮酒等暴露史信息;③有 OR 值或通过数据可以计算出 OR 值;④ p53 基因突变的检测方法为免疫组化(检测 P53 蛋白的异常)、PCR-SSCP 或 DNA 序列测定。参考 Lichtenstein 等^[5]的标准进行质量评价,对重复报告、质量较差、报道信息太少等无法利用的文献给予剔除。

3. 统计学方法:Meta 分析的主要步骤包括^[6]:对多个独立研究的 OR 值进行一致性检验,如果各研究的结果具有较好的同质性,采用固定效应模型(Peto 法)进行加权合并,反之则应用随机效应模型(D-L 法)对统计量进行加权合并。对综合估计出的统计量进行统计检验和判断,最后计算合并 OR 值的 95% 可信区间(95% CI)。

结 果

1. 文献来源:根据以上文献资料入选和排除标准,收集到的 23 篇文献中有 3 篇为重复报告,3 篇病例数较少,2 篇暴露史信息不详,1 篇未找到原文,经筛选纳入本次 Meta 分析的文献共有 14 篇,累积食管癌病例 1049 例,其中 p53 基因改变者 585 例。

纳入分析的 14 篇文献中,应用免疫组化方法检测 P53 蛋白(反映 p53 基因突变)的文献 8 篇^[1-8],累积食管癌病例 667 例, P53 蛋白高表达 379 例,阳

性率为 56.8%。应用 PCR-SSCP、DNA 序列测定技术的 6 篇^[9-14],累积病例 382 例, p53 基因突变者 206 例,突变率为 53.9%。

2. 吸烟与食管癌 p53 基因改变的 Meta 分析:8 篇研究吸烟与 P53 蛋白高表达关系的文献中,各研究结果一致性检验差异不显著,即具有较好的同质性,采用固定效应模型计算合并 OR 值为 1.96 (95% CI :1.30~3.06),合并 OR 值有统计学意义 ($P < 0.05$)。应用 DNA 序列测定研究吸烟与 p53 基因突变关系的 6 篇报告,结果齐性检验差异不显著,但 q 值 $> k - 1$ ($k = 6$),采用随机效应模型调整权重计算校正系数 D 为 0.44,合并 OR 值为 1.11 (95% CI :0.47~2.76),合并 OR 值无统计学意义 ($P > 0.05$)。同样采用随机效应模型(校正系数 $D = 0.04$)评价 14 篇文献的研究结果,吸烟与 p53 基因改变的合并 OR 值为 1.64 (95% CI :1.13~2.37),合并 OR 值有统计学意义 ($P < 0.05$) (表 1、2)。

3. 饮酒与食管癌 p53 基因改变的 Meta 分析:共纳入 11 篇饮酒与 p53 基因改变研究的文献,累积病例 801 例, P53 蛋白高表达和基因突变者共 450 例。其中饮酒与 P53 蛋白高表达及 p53 基因突变的合并 OR 值分别为 1.30 (95% CI :0.83~2.04) 和 1.13 (95% CI :0.67~1.90),合并 OR 值均无统计学意义 ($P > 0.05$)。采用随机效应模型计算 11 篇文献研究结果,饮酒与 p53 基因改变的合并 OR 值为 1.22 (95% CI :0.87~1.72),合并 OR 值无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表1 吸烟与食管癌 p53 基因改变文献的研究结果

序号	研究者	p53(+)例数		p53(-)例数		OR 值(95% CI)	Y_i	W_i^*
		吸	不吸	吸	不吸			
1	乔贵宾 等 [#]	55	13	37	25	2.86(1.20~6.86)	1.05	4.12
2	张宏艳 等 [#]	27	14	10	15	2.89(1.03~8.08)	1.06	2.81
3	张秀玲 等 [#]	16	18	8	17	1.89(0.57~6.40)	0.64	2.62
4	Suwiwat 等 ^[7]	28	5	21	2	0.53(0.09~3.02)	-0.63	1.16
5	Kato 等 ^[8]	45	4	33	7	2.39(0.64~8.83)	0.87	1.90
6	Saeki 等 ^[9]	55	15	37	19	1.88(0.85~4.17)	0.63	4.09
7	Gaur 等 ^[10]	21	18	6	6	1.17(0.32~4.26)	0.16	1.93
8	Mizobuchi 等 ^[11]	32	4	33	5	1.21(0.30~4.92)	0.19	1.69
9	Audrezat 等 ^[4]	23	2	5	1	2.30(0.17~30.6)	0.83	0.55
10	Putz 等 ^[3]	37	1	58	12	7.66(0.96~61.3)	2.04	0.82
11	Wagata 等 ^[12]	11	4	11	6	1.50(0.33~6.83)	0.41	1.47
12	Lam 等 ^[13]	23	8	34	5	0.42(0.12~1.46)	-0.87	2.09
13	Okuda 等 ^[14]	29	10	12	1	0.24(0.03~2.10)	-1.43	0.77
14	Nan 等 ^[15]	23	20	6	7	1.34(0.39~4.66)	0.29	2.07

表2 吸烟与食管癌 p53 基因改变的 Meta 分析

项目	研究数目	例数		q 值	数据合并方法	合并 OR 值(95% CI)	Z 值
		p53(+)	p53(-)				
P53 蛋白高表达	8	370	281	4.75	Peto 法	1.96(1.34~2.86)	12.19*
p53 基因突变	6	191	158	8.10	D-L 法	1.11(0.47~2.76)	0.05#
P53 蛋白高表达与基因突变	14	561	439	15.48	D-L 法	1.64(1.13~2.37)	6.84*

* $P < 0.01$; # $P > 0.05$

讨 论

Meta 分析是对具有相同目的的多个独立研究结果进行综合评价和定量合并分析的一种研究方法,已广泛应用于医学领域^[6]。为了全面地获得相关文献,我们通过检索包括 Medline、Pub-Med 等国内外多种生物医学文献数据库,并辅以手工检索和文献追溯等途径,尽可能减少文献收集偏倚。所有数据的录入和计算分析由 2 名研究者互相核对,以避免数据摘录偏倚。并对各文献研究质量按照循证医学评价文献的方法和原则进行,因此研究结果较为可靠。

Velculescu 等^[16]对 84 项研究总结后发现免疫组化法检测 p53 基因突变的灵敏度为 75%,阳性预测值为 63%。因此本文在进行吸烟、饮酒与食管癌 p53 基因改变的 Meta 分析时,把应用免疫组化、PCR-SSCP 和 DNA 序列测定等技术检测 p53 基因突变的文献均纳入统计。按照制订的纳入和排除标准筛选后,纳入分析的文献有 14 篇。用免疫组化方法检测的 8 篇文献中,P53 蛋白高表达率为 48.65%~76.47%,吸烟与 P53 蛋白高表达的 OR 值最小的为 0.53,最大的为 2.89,采用固定效应模式计算的合并 OR 值为 1.99(95% CI:1.30~3.06),说明吸烟与 P53 蛋白高表达呈现中等强度的联系。而用 PCR-SSCP、DNA 序列分析检测的 6 篇文献中,未发现吸烟与 p53 基因突变有联系,合并 OR 值为 1.11(95% CI:0.47~2.76)。由于 DNA 测序费用较高,多数研究的样本量偏小,这可能是造成吸烟与 p53 基因突变没有联系的原因之一。而样本量偏小也是目前分子流行病学研究中较为常见的问题。

将 P53 蛋白和 p53 基因突变合并分析计算出的合并 OR 值为 1.64(95% CI:1.13~2.37),这一结果提示吸烟与 p53 基因改变有一定的联系。烟草已被确认为人类的肯定致癌物,与多种疾病的发生有关,同时作为食管癌的危险因素也被多项研究所证实。有学者发现,p53 基因突变类型可能是某些特异的内源性或外源性致癌因素引起基因突变的“指

纹^[17]。因此,分析食管癌中 p53 基因的突变模式及危险因素作用的基因序列特定位点的改变,将是食管癌分子流行病学深入研究的方向。

与吸烟一样,饮酒也是欧美国家食管癌的主要危险因素,但在我国不同地区食管癌病因研究中饮酒的作用尚不一致。本文 Meta 分析的结果显示,饮酒与 P53 蛋白高表达和 p53 基因突变没有联系,合并 OR 值分别为 1.30(95% CI:0.83~2.04)和 1.13(95% CI:0.67~1.90),合并 OR 值无统计学意义。11 篇文献合并分析,合并 OR 值为 1.22(95% CI:0.57~1.72),也未发现饮酒与 p53 基因改变的联系。关于饮酒与 p53 基因改变的关系还需进一步研究。

Meta 分析将相同目的的多个独立研究结果进行定量合并统计,在提高统计检验效能、改进对危险因素效应的估计的同时,也受文献资料影响,一些偏倚和混杂因素难以控制,对分析结果会产生一定影响^[6]。但本研究结果仍可提示吸烟与 p53 基因改变有一定关系,饮酒与食管癌 p53 基因改变未见联系。

参 考 文 献

- Montesano R, Hollstein M, Hainaut P. Genetic alterations in esophageal cancer and their relevance to etiology and pathogenesis: a review. *Int J Cancer*, 1996; 69:225-235.
- Hainaut R, Hernandez T, Robinson A, et al. IARC database of p53 gene mutation in human tumors and cell lines: updated compilation, revised formats and new visualization tools. *Nucleic Acids Res*, 1998; 26:205-213.
- Putz A, Hartmann A, Antonio A, et al. Fontes TP53 mutation pattern of esophageal squamous cell carcinomas in a high risk area (Southern Brazil): role of life style factors. *Int J Cancer*, 2002; 98:99-105.
- Audrezat MP, Robaszkievicz M, Mercier B, et al. p53 gene mutation profile in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer Res*, 1993; 53:5745-5749.
- Lichtenstein MJ, Mulrow CD, Elwood PC. Guidelines for reading case-control studies. *J Chron Dis*, 1987; 40:893-895.
- 方积乾, 陆盈. 现代医学统计学. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 150-173.
- Suwitwat S, Oda H, Shimizu Y, et al. Prevalence of p53 mutations and protein expression in esophageal cancers in southern Thailand. *Int J Cancer*, 1997; 72:23-26.
- Kato H, Yoshikawa M, Miyazaki T, et al. Expression of p53 protein

related to smoking and alcoholic beverage drinking habits in patients with esophageal cancers. *Cancer Lett* 2001, 167:65-72.

9 Saeki H, Ohno S, Araki K, et al. Alcohol consumption and cigarette smoking in relation to high frequency of p53 protein accumulation in oesophageal squamous cell carcinoma in the Japanese. *Br J Cancer*, 2000, 82:1892-1894.

10 Gaur D, Arora S, Mathur M, et al. High prevalence of p53 gene alterations and protein overexpression in human esophageal cancer: correlation with dietary risk factors in India. *Clin Cancer Res*, 1997, 3:2129-2136.

11 Mizobuchi S, Furihata M, Sonobe H, et al. Association between p53 immunostaining and cigarette smoking in squamous cell carcinoma of the esophagus. *Jpn J Clin Oncol* 2000, 30:423-428.

12 Wagata T, Shibagaki I, Imamura M, et al. Loss of 17p mutation of the p53 gene, and overexpression of P53 protein in esophageal squamous cell carcinomas. *Cancer Res*, 1993, 53:846-850.

13 Lam KY, Tsao SW, Zhang DK, et al. Prevalence and predictive value of P53 mutation in patients with oesophageal squamous cell

carcinomas: a prospective clinico-pathological study and survival analysis of 70 patients. *Int J Cancer*, 1997, 74:212-219.

14 Okuda E, Osugi H, Morimura K, et al. Detection of p53 gene mutations in human esophageal squamous cell carcinomas using a p53 yeast functional assay: possible difference in esophageal carcinogenesis between the young and the elderly group. *Clin Cancer Res* 2001, 7:600-606.

15 Nan H, Huang J, Michael R, et al. Frequent inactivation of the TP53 gene in squamous cell carcinoma from a high-risk population in China. *Clin Cancer Res* 2001, 7:883-891.

16 Velculescu VE, El-Deiry WS. Biological and clinical importance of the p53 tumor suppressor gene. *Clin Chem*, 1996, 42:858-868.

17 Greenblatt MS, Bennett WP, Hollstein M, et al. Mutation in the p53 tumor suppressor gene: clues to cancer etiology and molecular pathogenesis. *Cancer Res*, 1994, 54:4855-4878.

(收稿日期 2003-09-12)

(本文编辑 张林东)

· 疾病控制 ·

河北省承德林区莱姆病血清学初步调查

陈晓宁 杜变英 孙毅

河北省承德地处我国华北农牧区和东北林区的交界处,有多种适合莱姆病生存的环境,为查明该地区是否有莱姆病的感染,于2002年6月对承德围场塞罕坝机械林场林区进行了莱姆病血清流行病学调查。

1. 材料与方 法 ①动物感染的检测 对林区放牧的牛、羊各30只,取静脉血标本,分离血清和血凝块,取血凝块约30g,用酚氯仿法抽提DNA,用引物C:5'-CCAACCTTATCAAATCTGCG-3' 292~311bp与C':5'-AGGATCTATCCAAAATC-3' 410~418bp扩增莱姆病螺旋体属鞭毛蛋白编码基因片段;阳性的菌株用引物EC11:5'-AAGGATCCNGACTACCAGGGTATCTAAT-3' N=A或G, 18~36bp和EC12:5'-AATCTAGAGTTTGATCCTGG-3' 786~806bp扩增16S rDNA基因序列。以军事医学科学院微生物流行病学研究所(五所)实验室保存的莱姆病螺旋体菌株B31为阳性对照,以纯水为阴性对照。扩增产物用1.2%琼脂糖凝胶电泳,在紫外线透射仪上(波长λ=300nm)观察扩增结果。血清抗体检测 用BSK II培养的莱姆病螺旋体培养液,自制抗原片,用免疫荧光抗体(IFA)法测定牛、羊血清抗莱姆病螺旋体抗体,以PBS为阴性对照,测得抗体滴度>

1:128视为阳性。②人群感染的检测 随机选择林区居民30人,取静脉血分离血清和血凝块,用前述方法对人血凝块进行病原体PCR检测,IFA法测定人血清抗莱姆病螺旋体抗体(IgG)。荧光抗体由五所制备。

2. 结果与分析 牛、羊血凝块抽提DNA,PCR检测未获得阳性结果。IFA法测定牛、羊血清抗莱姆病螺旋体抗体(IgG)牛血清标本30份,检出阳性7份,阳性率为23.3%,羊血清标本30份,检出阳性9份,阳性率30.0%。IFA法测定林区居民血清抗莱姆病螺旋体抗体(IgG),血清标本30份,检出阳性4份,阳性率13.3%。对林区居民血凝块抽提DNA,特异性引物PCR检测,未获阳性结果。通过血清流行病学调查显示,承德机械林场牛、羊动物存在莱姆病感染,其感染率分别为23.3%和30.0%。可初步认定牛、羊是承德地区重要的贮存宿主。对血凝块用酚氯仿法抽提DNA,PCR检测,居民和动物均未获阳性结果,和用IFA法检测血清抗体比较,检出率低,两种检测方法的差异还有待于进一步探讨。用IFA检测承德围场地区居民血清抗莱姆病螺旋体抗体,结果显示该地区人群有莱姆病的感染,感染率为13.3%,但患病情况尚未进行调查,和非林区人群感染情况缺乏对比,有待于深入调查研究。

基金项目 河北省卫生厅科技攻关项目

(收稿日期 2004-01-05)

作者单位 067000 承德医学院寄生虫学教研室(陈晓宁、杜变英);军事医学科学院微生物流行病学研究所(孙毅)

(本文编辑 尹廉)