

· 现场调查 ·

血清有机氯农药 DDT 暴露、CYP1A1 基因多态性与乳腺癌患病风险的病例对照研究

李佳圆 吴德生 杨非 曾红艳 雷放鸣 周卫东 李卉 陶莘

【摘要】目的 研究有机氯农药二氯二苯三氯乙烷(DDT)类物质暴露及细胞色素 P4501A1 m2 突变基因型对女性乳腺癌患病风险的交互作用。**方法** 运用病例对照研究方法,自 2003 年 12 月起至 2004 年 9 月止,收集组织病理学确诊乳腺癌的女性病例 104 例,社区来源的健康女性对照 154 名。采用问卷调查方法获取病例和对照乳腺癌相关危险因素的信息;用气相色谱-电子捕获(GC-ECD)方法检测血清样品中对,对-二氯二苯三氯乙烷(p,p'-DDT)、对,对-二氯二苯三氯乙烯(p,p'-DDE)的含量;用特异性聚合酶链反应(AS-PCR)法检测 CYP1A1 m2 突变型基因;用 logistic 回归模型分析 DDT 类有机氯物质血清含量及 CYP1A1 m2 突变基因型与乳腺癌患病风险的相对危险度(OR),以及二者的联合作用。**结果** 病例和对照两组血清中的 DDT 的含量分别是(36.90 ± 79.41)ng/ml 和(50.60 ± 150.70)ng/ml;DDE 的含量分别是(7.43 ± 11.10)ng/ml 和(8.96 ± 11.30)ng/ml,几何均数检验,两组间差异无统计学意义(P > 0.05);CYP1A1 m2 型突变纯合型基因型(Val/Val)的调整 OR = 2.61,95% CI: 1.00~6.80;绝经前乳腺癌病例与对照组中,携带 Val 突变基因型且 DDT 高暴露的 OR = 4.35,95% CI: 1.140~16.950,参照等级是 Ile/Ile 野生纯合型基因且 DDT 低暴露。**结论** CYP1A1 m2 突变型基因型可能与乳腺癌有关,DDT 暴露可能增加携带 CYP1A1 易感基因型的绝经前女性患乳腺癌的风险。

【关键词】 乳腺肿瘤;二氯二苯三氯乙烷;病例对照研究

Study on serum organochlorines pesticides (DDTs) level, CYP1A1 genetic polymorphism and risk of breast cancer: a case control study LI Jia-yuan*, WU De-sheng, YANG Fei, ZENG Hong-yan, LEI Fang-ming, ZHOU Wei-dong, LI Hui, TAO Ping. *Hua-xi School of Public Health, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Corresponding author: WU De-sheng

【Abstract】Objective To study the potential effect of gene-environment interaction between CYP1A1 and serum dichlorodiphenyldichloroethane (DDT) levels on the risk of breast cancer in women, in China. **Methods** A case-control study was conducted. From Dec. 2003 to Sep. 2004, 104 women with histologically confirmed breast cancers and 154 noncancerous controls from a community were enrolled in this study. Risk factors information of breast cancer was investigated by a questionnaire. Serum p, p'-dichlorodiphenyldichloroethane (p, p'-DDT) and 1, 1-dichloro-2, 2-bis(p-chlorophenyl) ethylene (p, p'-DDE) levels were tested by GC-ECD. CYP1A1 m2 gene type was tested by allele special-PCR method. **Results** Serum DDT levels of case and control were (36.90 ± 79.41)ng/ml and (50.60 ± 150.70)ng/ml respectively. Serum 1, 1-dichloro-2, 2-bis(p-chlorophenyl) ethylene (p, p'-DDE) levels of case and control were (7.43 ± 11.10)ng/ml and (8.96 ± 11.30)ng/ml respectively. No statistically significant differences were found between the two groups with geometric mean t-test (P > 0.05). Compared with women who had homozygous wild-type CYP1A1 m2 genotype, significantly increased risks of breast cancer were found for women with the CYP1A1 m2 homozygous variant genotype [odds ratio (OR) = 2.61, 95% confidence interval (CI): 1.00-6.80]. Among premenopausal women, compared with women with homozygous wild-type of CYP1A1 genotype (Ile/Ile) and low serum DDT level (DDT serum level ≤ 42.93 ng/ml), women with at least one variant allele of CYP1A1 m2 genotype and high serum DDT level (DDT serum level ≥ 42.93 ng/ml) had higher risk of breast cancer (OR = 4.35, 95% CI: 1.140-16.950). **Conclusions**

基金项目:国家自然科学基金重点资助项目(30030120);四川大学青年科学研究基金资助项目(2004013)

作者单位:610041 成都,四川大学华西公共卫生学院环境卫生学教研室(李佳圆、吴德生、曾红艳);成都市疾病预防控制中心(杨非);成都363医院(雷放鸣、周卫东);四川省肿瘤医院(李卉、陶莘)

通讯作者:吴德生

CYP1A1 m2 genetic polymorphism was associated with increased risk of female breast cancer while DDT exposure might have increased the risk of breast cancer among premenopausal women with CYP1A1 m2 variant genotype.

【Key words】 Breast neoplasms; Dichlorodiphenyltrichloroethane; Case-control study

环境中持久存在的有机氯物质,如有机氯农药二氯二苯三氯乙烷(DDT)等具有类雌激素的功能,能干扰体内雌激素的正常代谢过程及功能,同时,DDT类物质还可以诱导细胞色素 P450 酶 1A1(CYP1A1)的活性^[1,2],由于 CYP1A1 的主要功能是将雌二醇代谢为羟化雌二醇而降解^[3],因此 DDT 类物质还可能干扰雌二醇代谢酶的活性。由于乳腺癌主要与体内雌二醇代谢密切相关,因此,能干扰雌二醇代谢的环境或遗传因素均可能增加患乳腺癌的风险^[4]。为此,我们对 CYP1A1 基因多态性与 DDT 类暴露对乳腺癌患病风险的联合作用开展了重点研究。

对象与方法

1. 研究对象:采用成组病例对照研究方法。病例为四川省肿瘤医院经组织学诊断为乳腺癌的新入院患者,从 2003 年 12 月起至 2004 年 9 月止,序贯收集病例共 104 例。纳入标准:居住于四川省 ≥ 20 年者,年龄为 30~70 岁,首诊为经组织学诊断原发乳腺癌的新病例。排除标准:转移性乳腺癌患者,有精神疾患或临终患者。对照来源于市级二甲综合性医院(成都 363 医院)的体检健康女性,均为社区居民,与病例同期序贯收集。纳入标准:年龄为 30~70 岁,居住于四川省 ≥ 20 年者。排除有职业暴露史,肿瘤患者、内分泌相关疾病、生殖系统疾病以及精神疾病的患者,共收集 154 名对照。调查前,课题组与调查对象签订知情同意书,调查对象自愿接受问卷调查和实验室检查。

2. 调查内容:①乳腺癌相关危险因素调查:收集病例及对照对象的一般人口学特征、既往生殖内分泌疾病史、恶性肿瘤家族史、生育史、哺乳史、月经史、吸烟饮酒史等与乳腺癌相关的危险因素信息。②收集病例及对照的血清 2 ml 及 EDTA 处理的抗凝血 2 ml, -20℃ 保存备检测用。

3. 血清中 DDT 类物质的检测方法:血清样品中的对,对-二氯二苯三氯乙烷(p,p'-DDT)和对,对-二氯二苯三氯乙烯(p,p'-DDE)的水平用气相色谱-电子捕获(GC-ECD)检测。样品处理方法:0.1 ml 甲酸与 0.5 ml 血清充分混匀,加入 2.5 ml 正己烷充分

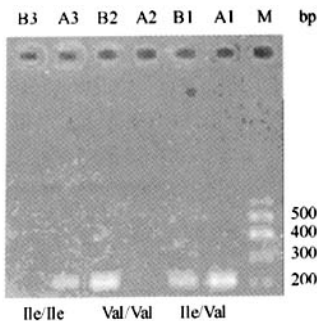
振摇,超声波萃取 10 min,取上层有机层萃取液过无水硫酸钠脱水,并用正己烷定容至 2.5 ml,脱水的萃取液加入 0.2 ml 浓硫酸,静置 30 min 磺化,取磺化后的萃取液 1 ml 用 N₂ 吹干保存于 -20℃ 待检测,检测时加入 0.1 ml 正己烷充分溶解。气相色谱条件:玻璃柱 2 m \times 4 mm,填充 1.5% OV-17/2% QF-1 混合固定液的硅藻土(80~100 目),柱温 200℃,进样口温度 225℃,N₂ 载气流速 40 ml/min,样品浓度 50 ng/ml,进样 2 μ l,待检样品进样 5 μ l。p,p'-DDT 和 p,p'-DDE 的最低检出水平为 0.52 ng/ml 和 0.08 ng/ml。血清 DDT 类物质的含量计算公式为:

$$C_{\#} = \frac{(\text{样品峰面积}/\text{标品峰面积}) \times C_{\#} \times 2 \mu\text{l}}{5 \mu\text{l} \times 2}$$

4. CYP1A1 外显子 7 第 462 位点多态性(m2 突变型)检测:选用赛百盛基因公司提供的基因组纯化试剂盒提取基因组 DNA。CYP1A1 m2 突变基因型检测方法参考 Hayashi 等^[5]提供的等位基因特异性聚合酶链反应(AS-PCR)方法。引物:上游 1(1A1A):5'-GAAGTGTATCGGTGAGACCA-3',上游 2(1A1G):5'-GAAGTGTATCGGTGAGACCG-3';公用下游引物 3:5'-GTAGACAGAGTCTAG GCCTCA-3'。引物由上海天为时代公司合成。每份样品做 A,B 两管 PCR 扩增,A 管引物加入上游 1,公用下游引物 3 各 50 pmol;B 管引物加入上游 2,公用下游引物 3 各 50 pmol;其他试剂及用量为:Taq 酶 2 U,Mg²⁺ 2.0 mmol/L;PCR 反应缓冲液(10 \times) 5 μ l,dNTPs(10 mmol/L)1.5 μ l,DNA 模板 50 ng,补双蒸水至 50 μ l。PCR 反应条件:95℃ 预变性 4 min,后按 94℃ 变性 1 min,60℃ 复性 1 min,72℃ 延伸 1 min,循环 30 次,末次循环后 72℃ 延伸 6 min。取扩增产物 4 μ l,用 1% 琼脂糖凝胶 100 V 电泳 90 min,Gold-View 染色,凝胶成像系统照相观察。试剂由北京赛百盛基因公司提供。扩增产物为 210 bp 的 DNA 片段,检测结果基因型判定如图 1。

5. 质量控制:所有问卷调查由统一培训的调查员完成,病例和对照的血液样品均为空腹血,由专业护士采集,全血样品及血清样品立即保存于 -20℃。2004 年 11-12 月集中检测 DDT 类物质,2005 年

3-5月集中检测 CYP1A1 外显子 7 第 462 位点(Ile/Val)基因型,检测过程采用盲法。基因型重复检测 10% 样品,重测结果一致率 100%。



注:A管有扩增条带表示 Ile 基因型,B管有扩增条带表示 Val 基因型;则 A1, B1 条带为杂合基因型;A2, B2 为突变纯合基因型;A3, B3 为野生纯合基因型

图1 AS-PCR 扩增结果及 CYP1A1 exon7-462 位点基因型判定

6. 统计学分析:用 SPSS 12.0 软件建立数据库,进行数据整理和分析。采用 *t* 检验、 χ^2 检验分析乳腺癌危险因素组间的差异,采用 logistic 回归模型分析 DDT 类血清含量及 CYP1A1 m2 基因型与乳腺癌患病风险的相对危险度(OR),并分析上述两因素对乳腺癌的交互作用。

结 果

1. 乳腺癌相关危险因素的组间比较:

(1) 乳腺癌病例组及对照组的乳腺癌相关危险因素分布情况及组间比较:病例组和对照组平均年龄分别为(48.58 ± 10.98)岁和(45.55 ± 9.42)岁,差异有统计学意义($t = -2.37, P = 0.018$);病例组和对照组的身高体重指数(BMI, kg/m²)为(22.95 ± 5.25)和(22.12 ± 2.70),差异无统计学意义($t = -1.40, P = 0.164$)。乳腺癌其他危险因素构成比及危险度估计见表 1。

(2) 按绝经状况分层病例和对照组的乳腺癌相关危险因素分布及比较:按绝经状态分层,绝经后乳腺癌病例和对照的年龄分别为(55.08 ± 9.63)岁和(56.17 ± 5.50)岁,两组比较差异无统计学意义($t = 0.680, P < 0.05$);绝经前乳腺癌病例和对照组的年龄分别为(40.70 ± 6.41)岁和(41.03 ± 6.71)岁,两组比较差异无统计学意义($t = 0.281, P < 0.05$)。初产年龄、未生育史、月经初潮年龄、吸烟饮酒史、BMI、乳腺良性疾病史、家族史在按绝经状态分层分析中,病例和对照组分布差异无统计学意义(χ^2 检

验, $P > 0.05$),有差异的因素危险度估计见表 2。

表1 病例组及对照组乳腺癌相关危险因素构成比及危险度估计

变 量	病例组	对照组	OR 值(95% CI) [☆]
月经初潮年龄(岁)			
≥12	94	146	1.000
<12	1	8	0.203(0.025~1.652)
雌激素类药物使用史			
从未使用	62	128	1.000
使用*	26	25	2.160(1.152~4.049)
吸烟			
不吸	82	153	1.000
吸#	7	1	13.320(1.600~110.910)
饮酒			
不饮	84	150	1.000
饮 [△]	4	1	6.370(0.693~58.560)
怀孕史			
有	96	148	1.000
无	2	6	0.573(0.111~2.942)
流产次数 [▲]			
0	38	60	1.000
1~	36	78	0.715(0.404~1.263)
3~	22	11	3.114(1.355~7.160)
初产年龄(岁)			
<30	85	130	1.000
≥30	9	17	0.816(0.347~1.918)
哺乳史			
连续哺乳>3月	87	108	1.000
未经哺乳	9	39	0.290(0.133~0.631)
家族直系恶性肿瘤史			
无	97	148	1.000
有	1	5	3.206(0.368~27.972)
乳腺小叶增生病史			
无	84	119	1.000
有	14	34	1.645(0.828~3.269)
良性纤维瘤史			
无	96	148	1.000
有	2	5	1.653(0.312~8.754)

* 持续使用雌激素药物>1年; # 每日吸烟数>1支,累积吸烟时间≥10年; [△] 每次酒精摄入量超过30g,1周两次及以上,酒精摄入量(g)=含酒精饮料(ml)×酒精含量(%)×0.8(酒精比重); [▲] 流产次数=人工流产+自然流产; [☆] logistic 回归分析,调整年龄变量,年龄按 5 岁一级划分为等级变量

2. 乳腺癌病例组及对照组体内 DDT 类有机氯物质暴露水平:病例及对照血清 p,p'-DDE 和 p,p'-DDT 的总检出率分别为 89.4% 和 91.4%。病例组 p,p'-DDT 血清含量为(36.9 ± 79.41)ng/ml,四分位数为(4.50, 15.90, 42.94)ng/ml;对照组 p,p'-DDT 血清含量为(50.6 ± 150.7)ng/ml,四分位数为(9.01, 16.23, 31.07)ng/ml;病例组 p,p'-DDE 均数及标准差为(7.43 ± 11.1)ng/ml,四分位数为(1.05, 3.86, 8.46)ng/ml;p,p'-DDE;对照组 p,p'-DDE 均数及标准差为(8.96 ± 11.30)ng/ml,四分位数为(3.13, 5.96, 10.83)ng/ml。将血清 p,p'-DDT 和

表2 按绝经状态分层的病例及对照两组乳腺癌危险因素分布及危险度估计

变 量	绝经后乳腺癌组			绝经前乳腺癌组		
	病例组	对照组	OR 值(95% CI)*	病例组	对照组	OR 值(95% CI)*
雌激素类药物						
从未使用	31	36	1.000	31	92	1.000
使用雌激素药物	13	9	1.200(0.417~3.45)	13	16	2.026(0.81~5.10)
流产次数						
0	35	17	1.000	19	49	1.000
1~	20	27	0.625(0.24~1.75)	16	51	0.916(0.40~2.12)
3~	2	2	4.092(0.71~23.60)	14	8	3.645(1.20~11.06)
未经哺乳						
连续哺乳>3月	48	34	1.000	39	74	1.000
未经哺乳	4	10	0.244(0.06~1.04)	5	29	0.323(0.11~0.94)

* 多因素 logistic 回归分析,控制雌激素使用史、流产数及未经哺乳因素间的混杂作用

p,p'-DDE 取对数后, p,p'-DDT 和 p,p'-DDE 均呈正态分布, t 检验结果显示: p,p'-DDT 血清含量在病例组 (-1.410 ± 0.797) log (ng/ml) 和对照组 (-1.583 ± 0.635) log (ng/ml) 之间差异无统计学意义 (t = -1.649, P = 0.101); p,p'-DDE 血清含量在病例 (-1.942 ± 0.980) log (ng/ml) 和对照组 (-2.163 ± 0.529) log (ng/ml) 间差异也无统计学意义 (t = -1.89, P = 0.06)。

3. 病例和对照组 CYP1A1 m2 基因型分布情况: 见表 3。

表3 病例和对照组 CYP1A1 m2 基因型构成比及危险度估计

分层情况	CYP1A1 m2 基因型 [△]	病例组 (n=89)	对照组 (n=136)	OR 值 (95% CI)
未分层*				
总病例对照	Ile/Ile	26	49	1.00
	Ile/Val	45	66	1.57(0.74~3.33)
	Val/Val	18	21	2.61(1.00~6.80)
	χ ² 值	1.505		
按绝经状态分层 [#]				
绝经前	Ile/Ile	20	54	1.00
	Ile/Val	47	63	2.59(0.95~7.09)
	Val/Val	22	19	5.08(1.50~17.17)
	χ ² 值	4.712 [▲]		
绝经后	Ile/Ile	31	35	1.00
	Ile/Val	44	74	0.76(0.24~2.38)
	Val/Val	14	27	1.05(0.22~5.08)
	χ ² 值	0.798		

* logistic 回归分析,将未经哺乳、未足月产数、吸烟、饮酒、年龄分组、雌激素使用史作为控制变量纳入模型; # logistic 回归分析,将未经哺乳、未足月产数、雌激素使用作为控制变量纳入模型; △ Ile/Ile 为野生纯合型, Ile/Val 为杂合型, Val/Val 为突变纯合型; ▲ P < 0.10

4. 有机氯暴露水平、CYP1A1 基因型与乳腺癌

关系的联合作用分析: 用 logistic 回归模型分析 DDT 类物质、CYP1A1 突变型的暴露优势比 OR。将病例与对照的乳腺癌危险因素作为控制变量纳入回归模型。其中年龄划分为 5 岁一组的等级变量, 其他变量的定义见表 1。DDT 和 DDE 类物质按对照组的上四分位数划分为高暴露和参照水平。CYP1A1 m2 基因型位点至少携带一个突变等位基因(杂合型和突变纯合型)的为易感基因型, 野生纯合型的为参照基因型。分析有机氯暴露水平和易感基因型与乳腺癌的关系, 并按绝经状态进行分层分析。

5. p,p'-DDE 暴露、CYP1A1 m2 基因型与乳腺癌关系的 logistic 回归分析: 按 p,p'-DDT 暴露以及携带易感基因状况分组分析(表 4), 单纯 p,p'-DDT 暴露或携带易感基因的相对危险度均无统计学意义。绝经前乳腺癌组 p,p'-DDT 和携带易感基因型同时暴露对乳腺癌风险有相乘模式的正交互作用。总病例对照和绝经后组, 未发现 p,p'-DDT 和携带易感基因型同时暴露的联合作用。按 p,p'-DDE 暴露和携带易感基因状况分组分析(表 5)结果显示, 单纯 DDE 暴露在总病例对照以及按绝经状态分层的病例对照研究中相对危险度均无意义, 总病例对照和按绝经状态分层的病例对照中未发现 p,p'-DDE 和携带易感基因型同时暴露对乳腺癌风险的联合作用。

讨 论

乳腺癌是女性常见恶性肿瘤之一, 1991-1999 我国乳腺癌监测死亡率由 1.325/10 万人年增加到 1.618/10 万人年, 并有随监测时间呈上升的趋势^[6]。近年来的研究表明, 干扰雌二醇代谢的环境

表4 p,p'-DDT 暴露、CYP1A1 m2 基因型与乳腺癌关系的交互作用分析

分层情况	CYP1A1 m2 基因型	p,p'-DDT 暴露 [#] (ng/ml)	OR 值(95% CI)*
总病例	Ile/Ile	<42.93	1.000
对照	Ile/Ile	≥42.93	1.808(0.252~12.972)
	Ile/Val + Val/Val	<42.93	0.704(0.166~2.982)
绝经前组	Ile/Val + Val/Val	≥42.93	1.494(0.504~4.428)
	Ile/Ile	<42.93	1.000
绝经后组	Ile/Ile	≥42.93	2.310(0.224~23.010)
	Ile/Val + Val/Val	<42.93	2.780(0.725~10.650)
	Ile/Val + Val/Val	≥42.93	4.350(1.140~16.950)
	Ile/Ile	<42.93	1.000
	Ile/Ile	≥42.93	0.606(0.076~4.834)
	Ile/Val + Val/Val	<42.93	0.934(0.140~6.228)
	Ile/Val + Val/Val	≥42.93	0.848(0.226~3.189)
	Ile/Val + Val/Val	<42.93	0.934(0.140~6.228)

* 吸烟、饮酒、年龄分组、雌激素使用、未足月产、未经哺乳、初产年龄≥30岁作为控制变量纳入模型；# p,p'-DDT<42.93为参照水平；p,p'-DDT≥42.93为高暴露水平

表5 p,p'-DDE 暴露、CYP1A1 m2 基因型与乳腺癌关系的交互作用分析

分层情况	CYP1A1 m2 基因型	p,p'-DDE 暴露 [#] (ng/ml)	OR 值(95% CI)*
总病例	Ile/Ile	<10.83	1.000
对照	Ile/Ile	≥10.83	2.318(0.473~11.374)
	Ile/Val + Val/Val	<10.83	1.723(0.917~3.240)
绝经前组	Ile/Val + Val/Val	≥10.83	0.812(0.246~2.683)
	Ile/Ile	<10.83	1.000
绝经后组	Ile/Ile	≥10.83	1.866(0.357~9.967)
	Ile/Val + Val/Val	<10.83	2.616(0.866~7.900)
	Ile/Val + Val/Val	≥10.83	0.571(0.155~2.124)
	Ile/Ile	<10.83	1.000
	Ile/Ile	≥10.83	1.370(0.077~24.231)
	Ile/Val + Val/Val	<10.83	2.588(0.469~14.279)
	Ile/Val + Val/Val	≥10.83	0.397(0.053~2.968)
	Ile/Val + Val/Val	<10.83	0.397(0.053~2.968)

* 吸烟、饮酒、年龄分组、雌激素使用、未足月产、未经哺乳、初产年龄≥30岁作为控制变量纳入模型；# p,p'-DDE<10.83为参照水平；p,p'-DDE≥10.83为高暴露水平

因素及遗传因素均可能与乳腺癌的发生有关。环境因素中,有机氯物质如 DDT 类,具有明显的类雌激素效应,能激活雌激素受体(ER),促进 MCF-7 人乳腺癌细胞转换和侵入性,并能干扰 β-雌二醇的合成代谢过程,因此,DDT 暴露可增加患乳腺癌的风险^[7,8],DDT 在环境中性质稳定,可通过食物链富集,在人体内的蓄积量随年龄增加而增加,DDT 及其代谢产物 DDE 能稳定地存在于血液和脂肪中。为评价有机氯物质对人类健康的远期效应,尤其是类雌激素效应,DDT 和 DDE 已成为环境因素致乳

腺癌的研究重点。本研究结果显示,病例和对照组的 p,p'-DDT 和 DDE 水平均无差异(几何均数检验, $P>0.05$)。这可能是 DDT 类物质在非职业暴露人群中暴露水平较低,不能增加一般人群患乳腺癌的风险,而应对低剂量暴露敏感的遗传易感人群进行研究。

遗传因素中,雌激素合成代谢酶的基因发生某些位点突变可影响酶的表达量及活性,因而被认为是乳腺癌的易感基因。CYP1A1 酶催化雌二醇氧化为儿茶酚雌二醇,该酶具有代谢外源性致癌物和内生雌激素的双重作用,因此,该基因的表达正常与否可能与乳腺癌的发生有关。CYP1A1 m2 突变基因型在亚洲人中常见,该突变型是 CYP1A1 基因第 7 外显子 462 位点 A→G 突变,引起氨基酸改变(Ile→Val)。突变型基因编码的 CYP1A1 酶活性高于野生型。CYP1A1 m2 型突变能增加患乳腺癌的风险 2 倍以上,并且在合并有机氯暴露的情况下,该基因型与乳腺癌的关联度显著提高 ($OR = 3.6 \sim 4.3$)^[9],本研究结果显示,CYP1A1 突变纯合型(Val/Val)与野生纯合型(Ile/Ile)的暴露优势比 $OR = 2.61(95\% CI: 1.00 \sim 6.80)$;按绝经状态分层分析,绝经前乳腺癌病例组突变杂合型和纯合型的暴露优势分别是对照组的 2.59 和 5.08 倍(表 3)。因此,CYP1A1 m2 型突变可能是乳腺癌的易感基因型,而且在华人中,该突变型可能主要增加绝经前患乳腺癌的风险。

近年来,环境和基因的协同作用在环境污染的健康效应评价中受到广泛关注,尤其是对非职业低剂量暴露的远期健康效应评价方面。有学者认为,日常接触量的污染物暴露对一般人群的作用可能是不显现的,但对具有疾病遗传背景的人群(即遗传易感人群),日常接触剂量足可以起到“扳机”(启动剂)的作用。有机氯类物质能诱导 CYP1A1 酶的活性。DDT 能诱导肝细胞色素酶家族中的与雌二醇代谢相关的酶,如 1A1,2B11/2B2 等^[2],p,p'-DDE 亦能诱导 CYP1A1 蛋白表达量增加^[10],而且包括 DDT 在内的有机氯类农药在低剂量水平就能使细胞色素 P4501A1 对应的乙氧基-3-异吩唑酮异吩恶唑酮-脱乙氧基酶(ethoxyresorufin O-deethylase, EROD)活性增加^[11]。由于 DDT 类物质诱导酶活性的效应与 CYP1A1 m2 突变基因型的效应一致,本研究对二者的联合作用进行了分析;研究结果提示,虽然仅有 p,p'-DDT 暴露不能增加女性患乳腺癌的风险

($OR = 1.808, 95\% CI: 0.252 \sim 12.972$),但在绝经前妇女中, p,p' -DDT 高暴露可能增加携带 CYP1A1 m2 突变型基因女性患乳腺癌的风险($OR = 4.35, 95\% CI: 1.14 \sim 16.950$),而该组人群中 CYP1A1 m2 突变基因型和 DDT 高暴露的危险度值均与乳腺癌无关联(OR 值 $95\% CI$ 包含 1)。因此,DDT 暴露和携带 CYP1A1 易感基因型可能对绝经前乳腺癌的患病风险存在正交互作用。DDT 具有明确的类雌激素活性,亦可在体内蓄积,半减期长达 7.5 年,随年龄增长而增加^[12]。当前的暴露水平反映的是累积暴露水平,并能间接反映研究对象既往的平均暴露水平。DDT 在体内存在时间与绝经前患乳腺癌病例处于低年龄段,暴露与患病时间间隔较短一致。在绝经后妇女中,CYP1A1 m2 突变型基因和 DDT 高暴露均不增加乳腺癌的患病风险,两因素也没有显现出对乳腺癌的联合作用,提示绝经后乳腺癌归因于雌二醇代谢紊乱的可能性较小,因此,这两因素对乳腺癌患病风险解释程度低。

包括本研究在内的多数流行病学研究不支持 DDE 水平与乳腺癌相关的假设^[1],也没有发现 DDE 与 CYP1A1 易感基因型的联合作用(表 5),这可能是 p,p' -DDE 的雌激素效应较 DDT 弱 100 倍,当前的暴露水平不增加乳腺癌的患病风险,对乳腺癌易感人群亦没有显著的毒效应。

本研究采用的成组病例对照研究,并对乳腺癌的相关危险因素均进行了调查。既往的研究表明,吸烟、饮酒、肥胖($BMI > 25$),雌激素使用史、初潮早、绝经晚、高龄初产、未经哺乳、流产、家族一级亲属患病史以及良性乳腺增生疾病等多种因素均可能是乳腺癌的危险因素^[4]。本研究中,除了哺乳史、流产史以及雌激素使用史,多数因素在病例和对照组分布差异无统计学意义(表 1)。在分析 DDT 和 DDE 的效应时,将这些因素作为 logistic 回归模型的控制变量纳入,有意义的因素只有流产数和未经哺乳因素。流产数与乳腺癌呈正相关,这可能与多次非正常中止妊娠,引起体内激素代谢紊乱有关^[4];而未经哺乳与乳腺癌呈负相关,这可能是本研究所纳入的对照均来自城市,与病例组可能存在选择倚倚,因此,只将该因素做控制变量处理。

本课题研究结果提示,CYP1A1 m2 突变型基因型可能与乳腺癌有关,DDT 暴露可能增加携带 CYP1A1 易感基因型的绝经前女性患乳腺癌的风险。有必要在本研究的基础上开展大样本人群的研究,为探寻有机氯农药 DDT 日常暴露剂量下非职业高危人群的遗传背景提供证据。

参 考 文 献

- 1 李佳圆,李卉,雷放鸣,等. 人体内 DDE 含量与人类乳腺癌关系的 Meta 分析. 现代预防医学,2005,32:91-93,110.
- 2 Sierra-Santoyo A, Hernandez M, Albores A, et al. Sex-dependent regulation of hepatic cytochrome P-450 by DDT. *Toxicol Sci*,2000,54:81-87.
- 3 Vessela, Nedelcheva, Kristensen, et al. Molecular epidemiology of breast cancer: genetic variation in steroid hormone metabolism. *Mutat Res*,2000,462:323-333.
- 4 吴家刚,方亚. 女性乳腺癌危险因素研究进展. 医学与社会,2005,18:16-18.
- 5 Hayashi SI, Watanabe J, Nakachi K, et al. PCR Detection of an A/G polymorphism within exon 7 of CYP1A1 gene. *Nucleic Acids Research*,1991,19:4797.
- 6 李佳圆,栾荣生,吴德生,等. 我国生殖内分泌肿瘤的时间及地理分布研究. 中国公共卫生,2003,19:1038-1040.
- 7 Davis DL, Bradlow HL. Can environmental estrogens cause breast cancer? *Sci Am*,1995,273:166-172.
- 8 Lizbeth LC, Aaron Blair, Malaquias LC, et al. Dichlorodiphenyltrichloroethane serum levels and breast cancer risk: a case-control study from Mexico. *Cancer Research*,1997,57:3728-3732.
- 9 Zhang Y, Wise JP, Holford TR, et al. Serum polychlorinated biphenyls, cytochrome P-450 1A1 polymorphisms, and risk of breast cancer in Connecticut women. *Am J Epidemiol*,2004,160:1177-1183.
- 10 Dickerson RL, McMurry CS, Smith EE, et al. Modulation of endocrine pathways by 4,4'-DDE in the deer mouse *Peromyscus maniculatus*. *Sci Total Environ*,1999,233(1-3):97-108.
- 11 Delescluse C, Ledirac N, De Sousa G, et al. Cytotoxic effects and induction of cytochromes P450 1A1/2 by insecticides, in hepatic or epidermal cells: binding capability to the Ah receptor. *Toxicol Lett*,1998,96-97:33-39.
- 12 Lizbeth LC, Laura TA, Luisa TS, et al. Is DDT use a public health problem in Mexico? *Environmental Health Perspectives*,1996,104:584-588.

(收稿日期:2005-08-16)

(本文编辑:尹廉)