

· 现场调查 ·

血浆同型半胱氨酸水平和生活饮食习惯
与胃癌发病风险的关联研究

王莉娜 柯巧 陈文森 周炎 谈永飞 王建明 华召来 王山喜 徐耀初 沈靖 沈洪兵

【摘要】 目的 探讨江苏省扬中和宜兴市胃癌高发区人群血浆总同型半胱氨酸(tHcy)水平、生活饮食习惯与胃癌易感性的关系。**方法** 采用以人群为基础的病例对照研究。经组织学确诊的高发区胃腺癌病例 391 例,并选择与病例年龄和性别频数匹配的人群对照 608 例,通过酶转换法定量检测血浆 tHcy 的浓度,比较不同 tHcy 水平与胃癌风险的关系,并探讨摄入蔬菜、水果、吸烟、饮酒等因素在其中的影响。**结果** 胃癌患者血浆 tHcy 平均水平显著高于对照组($P=0.002$)。同时按照正常对照组人群的血浆 tHcy 四分位数(7.9、10.1、13.7 $\mu\text{mol/L}$)分类,以血浆 tHcy ≤ 7.9 $\mu\text{mol/L}$ 为参照组,随着 tHcy 的增加,罹患胃癌的风险分别增加 67% (调整 $OR=1.67$, 95% $CI:1.12\sim 2.48$)、98% (调整 $OR=1.98$, 95% $CI:1.33\sim 2.94$)和 112% (调整 $OR=2.12$, 95% $CI:1.44\sim 3.15$),并且呈现显著的递增趋势($\chi^2=15.78$, $P<0.001$)。同时摄入蔬菜、水果相对较多时可降低胃癌的发病风险。叉生分析表明,较少摄入蔬菜、水果、吸烟和饮酒者同时血浆 tHcy >15.0 $\mu\text{mol/L}$ 时罹患胃癌的风险比两种因素单独作用时的风险增强,但交互作用不显著。**结论** 血浆高水平 tHcy 可增加罹患胃癌的风险,同时较少摄入蔬菜、水果、吸烟和饮酒等不良饮食生活习惯均可增加患病风险。

【关键词】 胃肿瘤; 流行病学; 同型半胱氨酸; 吸烟; 饮酒

Study on the association between total plasma homocysteine levels, dietary habits and the risk of gastric cancer WANG Li-na*, KE Qiao, CHEN Wen-sen, ZHOU Yan, TAN Yong-fei, WANG Jian-ming, HUA Zhao-lai, WANG Shan-xi, XU Yao-chu, SHEN Jing, SHEN Hong-bing. *Department of Epidemiology and Biostatistics, Cancer Research Center of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

Corresponding author: SHEN Hong-bing, Email: hbshen@njmu.edu.cn

【Abstract】 Objective To explore the relationship between total plasma homocysteine (tHcy) levels, dietary habits and susceptibility of gastric cancer (GC) in Yangzhong and Yixing cities, the two high GC risk areas in Jiangsu province. **Methods** A population-based case-control study was conducted including 391 histologically-confirmed adenocarcinoma GC cases and 608 age and sex frequency-matched cancer-free controls. The plasma tHcy concentration was measured by enzymatic biochemical assay of homocysteine on microtiter plates, using crude lysate containing recombinant methionine γ -lyase. The relationship between different tHcy levels and risk of GC was analyzed and factors as vegetables and fruits intake, smoking and drinking status were also evaluated together with tHcy levels on the risk of GC. **Results** The average tHcy levels in GC cases were significantly higher than that in controls ($P=0.002$). In addition, according to the quartile levels (7.9, 10.1, 13.7 $\mu\text{mol/L}$) in the controls, the risks of GC had an increase of 67% (adjusted $OR=1.67$, 95% $CI:1.12\sim 2.48$), 98% (adjusted $OR=1.98$, 95% $CI:1.33\sim 2.94$) and 112% (adjusted $OR=2.12$, 95% $CI:1.44\sim 3.15$) compared to the lowest quartile of tHcy (≤ 7.9 $\mu\text{mol/L}$), respectively while the increasing trend was significantly noticed ($\chi^2=15.78$, $P<0.001$). The increase of vegetables and fruits intake could decrease the risk of GC. Results from crossover analyses indicated that subjects with less vegetables and fruits intake or both smoking drinking together with plasma tHcy >15.0 $\mu\text{mol/L}$ could increase the GC risk, when compared to the effect on GC risk of each factor. **Conclusion** These findings supported the hypothesis that the high level of plasma tHcy and the badness dietary habits were associated to the increased risk of GC. Further larger scale and genetics involved studies on the environment and genetic factors were needed to confirm our findings.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30571605、30271148);江苏省自然科学基金资助项目(BK2005143)

作者单位:210029 南京医科大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系(王莉娜、柯巧、陈文森、王山喜、徐耀初、沈靖、沈洪兵);宜兴市人民医院(周炎、谈永飞);扬中市肿瘤研究所(王建明、华召来)

通讯作者:沈洪兵, Email:hbshen@njmu.edu.cn

【Key words】 Gastric neoplasms; Epidemiology; Homocysteine; Smoking; Drinking

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是叶酸代谢中间产物,也是含硫氨基酸在机体几乎所有组织中的循环中间产物,血浆总 Hcy(total Hcy, tHcy)的水平是反映体内叶酸摄入和代谢的重要指标^[1]。叶酸及维生素 B₁₂ 缺乏或亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因突变,均可导致 Hcy 代谢和清除障碍,使其在血中堆积,引起高 Hcy 血症。高 Hcy 血症是心、脑、血管等疾病的一个新的、重要的独立危险因素^[2],同时也是肿瘤发生的危险因素^[3]。近年来,tHcy 水平与细胞癌变的关系引起广泛重视,国内外文献报道包括肝癌、乳腺癌、结直肠癌等恶性肿瘤患者可见血浆 tHcy 水平升高^[4,5],高 Hcy 血症可能是一种新的潜在的肿瘤标记物。但国内外尚缺乏血浆 tHcy 水平与胃癌关系的人群研究资料。本文拟采用人群为基础的病例对照研究,探讨血浆 tHcy 水平和饮食生活习惯与胃癌发生风险的关联。

对象与方法

1. 研究对象:2003 年 1 月至 2005 年 7 月在江苏省宜兴和扬中地区胃癌高发区收集原发胃癌病例 391 例,均为当地患者,汉族,分别在宜兴市和扬中市人民医院普外科或肿瘤科经组织病理学确诊,术前未经放射和抗癌药物治疗。无肿瘤病史和体征的 608 名正常对照随机选自自然人群,按性别和年龄(±5 岁)与病例频数配对。所有对象均签署知情同意书,空腹采集 5 ml EDTA 抗凝血,并在收集血液标本的同时,采用流行病学调查表询问并收集每名研究对象详细的人口学资料以及饮食生活习惯等,其中蔬菜、水果的摄入采用饮食频数问卷。饮酒定义为每周饮酒 3 次或以上,持续半年以上;吸烟定义为每天至少 1 支,持续半年以上。

2. 血浆 tHcy 水平检测:通过酶转换法定量检测血浆 tHcy 浓度^[6],Hcy 试剂盒购自台湾杏恩生物科技有限公司(Jei Daniel Biotech Co. Ltd),该试剂盒使用酶转换法定量血液 Hcy 的总浓度,不需要抗体试剂加入反应。首先将氧化态 Hcy 用 dithiothreitol(DDT)还原剂还原,再用基因重组酶甲硫胺酸分解酵素(methioine γ-lyase)将 Hcy 分解,形成的产物再与适当呈色剂反应形成可测量的荧光化合物。tHcy 专用机 OP-162 将该荧光物质在特定的滤光片波长 660 nm 刺激后可在 710 nm 处放出荧光。其定量线

性范围介于 1 μmol/L 和 60 μmol/L 之间。

3. 统计学分析:以 χ^2 检验比较人口学特征、吸烟、饮酒等因素,采用 *t* 检验比较血浆 tHcy 水平在病例与对照之间分布的差异。单因素和多因素 logistic 回归计算比值比(OR)及其 95% 可信区间(CI)表示相对风险度。所有的统计检验均为双侧概率检验。所用统计软件为 SAS(v. 9. 1. 3e; SAS Institute, Cary, NC)。

结 果

1. 一般情况:病例组和对照组的性别与年龄构成的差异无统计学意义,*P* 值分别为 0. 164 和 0. 356 (表 1)。胃癌患者吸烟和饮酒人数比例显著高于对照组(53. 2% *vs.* 38. 0%, *P* < 0. 001; 50. 9% *vs.* 37. 5%, *P* < 0. 001),同时胃癌患者的血浆 tHcy 平均水平显著高于对照组(*P* = 0. 002)。

表1 胃癌病例与正常对照性别、年龄、吸烟、饮酒以及血浆 tHcy 水平分布比较

变量	胃癌组(n=391)	对照组(n=608)	P 值
性别			
男	277(70.8)	404(66.4)	0.164
女	114(29.2)	204(33.6)	
年龄(岁)			
<60	153(39.1)	257(42.3)	0.356
≥60	238(60.9)	351(57.7)	
平均年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	61.3 ± 9.7	60.4 ± 10.5	0.192
吸烟			
否	183(46.8)	377(62.0)	<0.001
是	208(53.2)	231(38.0)	
饮酒			
否	192(49.1)	380(62.5)	<0.001
是	199(50.9)	228(37.5)	
tHcy(μmol/L, $\bar{x} \pm s$)	12.9 ± 5.7	11.6 ± 6.5	0.002

注:括号内数据为构成比(%)

2. 蔬菜和水果摄入频数以及不同血浆 tHcy 水平与胃癌的患病风险:通过饮食生活习惯问卷调查了蔬菜和水果摄入情况,按照当地居民饮食生活习惯汇总了 10 种常食蔬菜和 3 种常食水果的摄入频数,10 种常食蔬菜包括黄绿蔬菜、四季豆或豆角、茼蒿、胡萝卜、冬瓜、西红柿、青椒、韭菜、茄子、马铃薯,3 种常食水果包括苹果、梨和西瓜,分别按照对照组喜食蔬菜和水果种类的 25% 四分位数(7 种和 1 种)为界,比较了胃癌病例组和正常对照组之间的差别(表 2)。结果喜食 7 种以上蔬菜的对象可降低 76% 的胃癌发生风险(调整 OR = 0. 24, 95% CI: 0. 19~

0.32),喜食超过 1 种以上的水果可降低 42% 的胃癌发病风险(调整 $OR=0.58$, 95% $CI: 0.44\sim 0.75$)。同时按照正常对照组人群的血浆 tHcy 四分位数(7.9、10.1、13.7 $\mu\text{mol/L}$)分类,以血浆 tHcy $\leq 7.9 \mu\text{mol/L}$ 为参照组,7.9 $\mu\text{mol/L} < \text{tHcy} \leq 10.1 \mu\text{mol/L}$ 组罹患胃癌的风险增加 67% (调整 $OR=1.67$, 95% $CI: 1.12\sim 2.48$), 10.1 $\mu\text{mol/L} < \text{tHcy} \leq 13.7 \mu\text{mol/L}$ 组罹患胃癌的风险增加 98% (调整 $OR=1.98$, 95% $CI: 1.33\sim 2.94$), tHcy $> 13.7 \mu\text{mol/L}$ 组胃癌风险增加 112% (调整 $OR=2.12$, 95% $CI: 1.44\sim 3.15$), 并且呈现显著的递增趋势($\chi^2=15.78$, $P<0.001$)。如以正常值水平 15.0 $\mu\text{mol/L}$ 分类, tHcy $>15.0 \mu\text{mol/L}$ 组患胃癌的风险是 tHcy $\leq 15.0 \mu\text{mol/L}$ 组的 1.49 倍(调整 $OR=1.49$, 95% $CI: 1.10\sim 2.03$)。

3. 饮食习惯和血浆 tHcy 水平与胃癌发病风险关联的叉生分析:通过变量代换,喜食蔬菜超过 7 种为 0,少于 7 种为 1,喜食水果超过 1 种为 0,不食水果为 1,血浆 tHcy 水平 $\leq 15.0 \mu\text{mol/L}$ 为 0, tHcy $\leq 15.0 \mu\text{mol/L}$ 为 1(表 3)。叉生分析表明,以喜食 7 种以上蔬菜且血浆 tHcy $\leq 15.0 \mu\text{mol/L}$ 为参照组,喜食 7 种以上蔬菜但 tHcy $>15.0 \mu\text{mol/L}$ 罹患胃癌的风险增加 73% (调整 $OR=1.73$, 95% $CI: 1.09\sim 2.74$),喜食蔬菜少于 7 种但 tHcy $\leq 15.0 \mu\text{mol/L}$ 罹患胃癌的风险是参照组的 4.41 倍(调整 $OR=4.41$, 95% $CI: 3.20\sim 6.08$),食用蔬菜少于 7 种同时 tHcy $>15.0 \mu\text{mol/L}$ 罹患胃癌的风险是参照组的 5.53 倍(调整 $OR=5.53$, 95% $CI: 3.50\sim 8.73$)。同样喜食水果少于 1 种同时 tHcy $>15.0 \mu\text{mol/L}$ 罹患胃癌的风险是喜食水果超过 1 种同时 tHcy ≤ 15.0

$\mu\text{mol/L}$ 组的 2.42 倍(调整 $OR=2.42$, 95% $CI: 1.56\sim 3.74$),吸烟同时 tHcy $>15.0 \mu\text{mol/L}$ 组患胃癌的风险是不吸烟且 tHcy $\leq 15.0 \mu\text{mol/L}$ 组的 3.19 倍(调整 $OR=3.19$, 95% $CI: 1.94\sim 5.25$),饮酒同时 tHcy $>15.0 \mu\text{mol/L}$ 组患胃癌的风险是不饮酒且 tHcy $\leq 15.0 \mu\text{mol/L}$ 组的 2.37 倍(调整 $OR=2.37$, 95% $CI: 1.50\sim 3.75$),但是少食蔬菜、少食水果、吸烟和饮酒与血浆 tHcy 水平在胃癌的发生上均不存在显著交互作用(表 3)。

讨 论

高 Hcy 血症已经被证实是心脑血管疾病的独立危险因素。近年来,血浆高 Hcy 水平同样逐步被认为是肿瘤发生早期新的标志物,同时还可作为包括胃癌在内的肿瘤患者治疗过程中的监测指标,因为 tHcy 不仅可准确反映肿瘤细胞增殖同时可反映肿瘤细胞的凋亡状况。血浆高 tHcy 水平与体内叶酸缺乏、细胞氧化损伤、DNA 甲基化异常以及代谢酶基因多态性等因素有关。Hcy 是叶酸以及含硫氨基酸在机体几乎所有组织中的代谢中间产物。蛋氨酸循环过程就是一碳单位代谢过程,它为体内许多物质的合成提供甲基。体内 Hcy 主要通过下面两个途径进行分解代谢:一是 Hcy 在胱硫醚 β 合成酶(CBS)作用下以维生素 B_6 为辅因子转化为胱硫醚及半胱氨酸,然后分解为丙酮酸、硫酸和水;二是 Hcy 经过甲基化作用重新形成蛋氨酸而参与蛋氨酸循环,此过程需要叶酸、维生素 B_{12} 及 MTHFR 的作用。蔬菜和水果等富含叶酸的膳食的摄入可降低胃癌发病风险^[7], Hcy 作为叶酸体内代谢的中间产物与蔬菜和水果摄入在胃癌发生上的关联却鲜见报道。

表2 蔬菜和水果摄入频数以及不同血浆 tHcy 水平与胃癌的患病风险

变 量	胃癌组 ^a	对照组 ^a	粗 OR 值(95% CI)	调整 OR 值(95% CI) ^b
以 10 种常见蔬菜 25% 四分位数为界				
≤7 种	259(66.2)	196(32.2)	1.00	1.00
>7 种	132(33.8)	412(67.8)	0.24(0.19~0.32)	0.24(0.19~0.32)
以 3 种常见水果 25% 四分位数为界				
≤1 种	225(57.5)	262(43.1)	1.00	1.00
>1 种	166(42.5)	346(56.9)	0.56(0.43~0.72)	0.58(0.44~0.75)
以对照组血浆 tHcy($\mu\text{mol/L}$)四分位数水平为界				
≤7.9	59(15.1)	156(25.7)	1.00	1.00
≤10.1	97(24.8)	154(25.3)	1.67(1.12~2.47)	1.67(1.12~2.48)
≤13.7	112(28.6)	148(24.3)	2.00(1.36~2.95)	1.98(1.33~2.94)
>13.7	123(31.5)	150(24.7)	2.17(1.48~3.18)	2.12(1.44~3.15)
以正常值 15.0 $\mu\text{mol/L}$ 为界				
≤15.0	286(73.1)	488(80.3)	1.00	1.00
>15.0	105(26.9)	120(19.7)	1.49(1.11~2.02)	1.49(1.10~2.03)

注:“^a”括号外数据为例数,括号内数据为构成比(%);^b按年龄、性别、吸烟和饮酒等因素调整

表3 饮食生活习惯和血浆 tHcy 水平与胃癌发病
风险关联的叉生分析

变 量	胃癌组 (n=391) ^a	对照组 (n=608) ^a	粗 OR 值 (95% CI)	调整 OR 值 (95% CI) ^b
少食蔬菜 ^c				
0	94(24.0)	334(54.9)	1.00	1.00
0	38(9.7)	78(12.8)	1.73(1.10~2.72)	1.73(1.09~2.74)
1	192(49.1)	154(25.3)	4.43(3.24~6.05)	4.41(3.20~6.08)
1	67(17.1)	42(6.9)	5.67(3.62~8.88)	5.53(3.50~8.73)
				$P_{\text{int}}=0.326$
少食水果 ^c				
0	120(30.7)	279(45.9)	1.00	1.00
0	46(11.8)	67(11.0)	1.60(1.04~2.46)	1.69(1.09~2.63)
1	166(42.5)	209(34.4)	1.85(1.37~2.48)	1.84(1.36~2.49)
1	59(15.0)	53(8.7)	2.59(1.69~3.97)	2.42(1.56~3.74)
				$P_{\text{int}}=0.424$
吸烟 ^c				
0	137(35.0)	299(49.2)	1.00	1.00
0	46(11.8)	78(12.8)	1.29(0.85~1.95)	1.31(0.86~1.99)
1	149(38.1)	189(31.1)	1.72(1.28~2.31)	1.83(1.28~2.61)
1	59(15.1)	42(6.9)	3.70(1.97~4.78)	3.19(1.94~5.25)
				$P_{\text{int}}=0.355$
饮酒 ^c				
0	144(36.8)	313(51.5)	1.00	1.00
0	48(12.3)	67(11.0)	1.56(1.02~2.37)	1.64(1.07~2.51)
1	142(36.3)	175(28.8)	1.76(1.31~2.37)	1.75(1.23~2.48)
1	57(14.6)	53(8.7)	2.34(1.53~3.57)	2.37(1.50~3.75)
				$P_{\text{int}}=0.544$

注：“括号外数据为例数，括号内数据为构成比(%)”；^b按性别、年龄、吸烟和饮酒等因素调整；^ctHcy 分别为 0、1、0、1

本研究结果显示，江苏省宜兴和扬中市胃癌高发区正常人群的血浆 tHcy 平均水平为 11.6(±6.5) μmol/L^[8]，略高于欧洲营养与肿瘤前瞻性队列部分人群的平均水平 10.6(±3.5) μmol/L^[9]。胃癌患者血浆 tHcy 水平与正常对照人群相比显著增高(P=0.002)，同时以对照组血浆 tHcy 四分位数水平分类，随着 tHcy 水平的增加罹患胃癌的风险呈递增趋势。蔬菜水果的大量摄入(分别以对照人群蔬菜水果种类 25% 四分位数分类)可显著降低胃癌的风险。最近的国外研究也表明因肿瘤而胃切除的患者血浆 tHcy 水平显著高于因良性病变胃切除的患者和正常对照人群^[10]。但目前尚缺乏血浆 tHcy 水平和胃癌的关联研究。

Appel 等^[11]在美国进行 8 周的随机临床对照试验表明，高蔬菜水果低脂肪的膳食模式可降低血中 Hcy 水平，进而降低发生动脉粥样硬化的风险。适量的酒精摄入(≥ 15.0 g/d)也可增加血浆 tHcy 水平^[12]。吸烟的妇女在进行叶酸随机干预试验时，随访 12 个月后对照组比干预组循环血中的 Hcy 浓度下降更明显，而不吸烟的妇女进行叶酸干预时，干预组和对对照组血中 Hcy 浓度下降均有显著性，间接提示烟草暴露可影响叶酸同型半胱氨酸代谢过程^[13]。本研

究在胃癌和正常人群中的叉生分析表明，较少摄入蔬菜、水果、吸烟和饮酒者同时血浆 tHcy>15.0 μmol/L 时罹患胃癌的风险比两种因素单独作用时的风险增强，说明上述因素和血浆 tHcy 水平增加可能在胃癌的发生上产生联合作用，但交互作用不显著。血浆 tHcy 水平是饮食摄入叶酸和体内叶酸同型半胱氨酸代谢水平的共同反映，包括基因多态性改变在内的遗传因素均可导致 Hcy 体内代谢障碍，因此体外富含叶酸的食物(蔬菜水果等)摄入减少只能部分解释血浆 tHcy 升高的原因。

综上所述，本研究结果显示血浆高水平 tHcy 可增加罹患胃癌的风险，同时较少摄入蔬菜水果、吸烟和饮酒等不良饮食生活习惯均可增加患病风险。在此基础上值得进一步深入进行人群遗传流行病学研究，共同探讨环境、遗传等因素在胃癌发生中的作用。

参 考 文 献

[1] Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. J Nutr, 2000,130:129-132.

[2] Hansen NQ, Aras O, Yang F, et al. C677T and A1289C polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene: incidence and effect of combined genotypes on plasma fasting and postmethionine load homocysteine in vascular disease. Clin Chem, 2001,47:661-666.

[3] Wu LL, Wu JT. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for cancer and a new potential tumor marker. Clin Chim Acta, 2002,322:21-28.

[4] Avila MA, Berasain C, Torres L, et al. Reduced mRNA abundance of the main enzymes involved in methionine metabolism in human liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma. J Hepatol, 2000,33:907-914.

[5] Chou YC, Lee MS, Wu MH, et al. Plasma homocysteine as a metabolic risk factor for breast cancer: findings from a case-control study in Taiwan. Breast Cancer Res Treat, 2007,101:199-205.

[6] Chan EC, Chang PY, Wu TL, et al. Enzymatic assay of homocysteine on microtiter plates or a TECAN analyzer using crude lysate containing recombinant methionine gamma-lyase. Ann Clin Lab Sc, 2005,35:155-160.

[7] Norat T, Riboli E. Fruit and vegetable consumption and risk of cancer of the digestive tract: meta-analysis of published case-control and cohort studies. IARC Sci Publ, 2002,156:123-125.

[8] Wang JM, Xu B, Hsieh CC, et al. Longitudinal trends of stomach cancer and esophageal cancer in Yangzhong county: a high-incidence rural area of China. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2005,17:1339-1344.

[9] Drogan D, Klipstein-Grobusch K, Wans S, et al. Plasma folate as marker of folate status in epidemiological studies: the European Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Potsdam study. Br J Nutr, 2004,92:489-496.

[10] Sakuta H, Suzuki T, Yasuda H, et al. Plasma vitamin B12, folate and homocysteine levels in gastrectomized men. Clin Nutr, 2005, 24:244-249.

[11] Appel LJ, Miller ER 3rd, Jee SH, et al. Effect of dietary patterns on serum homocysteine: results of a randomized, controlled feeding study. Circulation, 2000,102:852-857.

[12] Chiuv SE, Giovannucci EL, Hankinson SE, et al. Alcohol intake and methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism modify the relation of folate intake to plasma homocysteine. Am J Clin Nutr, 2005,82:155-162.

[13] McEligot AJ, Rock CL, Gilpin EA, et al. Responsiveness of homocysteine concentrations to food and supplemental folate intakes in smokers and never-smokers enrolled in a diet intervention trial. Nicotine Tob Res, 2006,8:57-66.

(收稿日期:2006-12-06)
(本文编辑:张林东)