

XPA 基因多态性与食管癌易感性关系的研究

冯向先 段培芬 王丽冰 张建斌 卢祖洵

【摘要】 目的 探讨长治地区食管癌高发的主要环境危险因素和参与 DNA 损伤修复的 XPA 基因多态性与食管癌易感性的关系,以及与环境因素之间对食管癌发生的交互作用。**方法** 采用病例对照研究,对 196 例食管癌患者和 201 例对照者进行食管癌相关因素的问卷调查,应用 PCR-RFLP 技术对 XPA 23G 多态性基因型检测,采用 SPSS 12.0 统计软件对研究结果进行分析。**结果** 病例组携带突变(G)等位基因的频率明显低于对照组($\chi^2 = 18.31, P < 0.01$);XPA 基因三种基因型在两组间差异有统计学意义($\chi^2 = 16.56, P < 0.01$),且携带有 XPA 突变杂合子(A/G)和突变纯合子(G/G)的个体发生食管癌的危险性比携带野生纯合子(A/A)个体低[OR 值(95% CI)分别为 0.58(0.37~0.91)和 0.32(0.18~0.56)]。携带 XPA 突变基因 G 与经常食用腌制食品之间存在负交互作用($S = 0.04, API = -0.77$)。**结论** XPA 23G 多态性可能与长治地区食管癌的发生有一定关系,携带 XPA 突变基因 G 可抑制食用腌制食品对食管癌的发生。

【关键词】 食管癌; 基因多态性

Study on the relationship between polymorphisms of XPA gene and susceptibility of esophageal cancer
 FENG Xiang-xian*, DUAN Pei-fen, WANG Li-bing, ZHANG Jian-bin, LU Zu-xun. *School of Public Health, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China
 Corresponding author: LU Zu-xun, Email: luzuxun@hotmail.com

【Abstract】 Objective To explore the relationships between the polymorphisms of xeroderma pigmentosum A(XPA) and the susceptibility of esophageal cancer (EC), as well as its interaction with environmental factors-gene in Changzhi area, Shanxi province. **Methods** A case-control study was conducted, including 196 cases of EC and 201 controls. XPA 23G polymorphisms were determined with polymerase chain-restriction on fragment length polymorphism (PCR-RFLP). **Results** The risk of EC was significantly degraded in the individuals who had been carrying the XPA heterozygote (A/G) and mutation genotype (G/G), compared to those with wild genotype ($\chi^2 = 16.21, P < 0.01$) and the ORs were 0.58 (0.37-0.91) and 0.32 (0.18-0.56), respectively. There was negative interaction between XPA 23G mutation genotype and the consumption of pickled food ($S = 0.04, API = -0.77$). **Conclusion** Genetic polymorphism in the XPA 23G might be associated with esophageal cancer in Changzhi area, and there was a negative action between XPA predisposing genotype and the consumption of pickled food.

【Key words】 Esophageal cancer; Genetic polymorphisms

XPA(xeroderma pigmentosum A)是一组和人类着色性干皮病有关的蛋白质,为核苷酸切除修复系统的重要组成部分,XPA 基因的多态性改变可能会影响其蛋白质的功能进而改变个体 DNA 损伤修复的能力,最终导致癌症易感性的增加^[1,2]。本次研究选择我国食管癌高发区之一的长治地区作为研究现场,探讨该地区食管癌高发的主要环境危险因素和核苷酸切除修复基因 XPA 23G 基因多态性与食

管癌易感性的关系,以及环境-基因之间的交互作用。

对象与方法

1. 研究对象:采用病例对照研究的方法。研究对象选自 2003 年 8 月至 2006 年 7 月间长治市 2 所最大的医院(“三甲”医院)就诊者。病例选择:经内窥镜和临床病理确诊的新发食管癌患者(排除经放疗和化疗者)196 例。对照选择:与病例来自同所医院其他科的无消化道疾病、无肿瘤病史及肿瘤临床症状患者 201 例。病例和对照按同年龄(相差不超过 5 岁)、同性别、同居住地区、同民族、同时间就诊

基金项目:山西省回国留学人员科研基金资助项目(200565)
 作者单位:430030 武汉,华中科技大学同济医学院公共卫生学院(冯向先、卢祖洵);山西省长治医学院(段培芬、王丽冰、张建斌)
 通讯作者:卢祖洵,Email:luzuxun@hotmail.com

(相差不超过 1 个月)进行群体匹配。

2. 问卷调查:调查内容主要包括一般人口学特征、饮食习惯、生活行为方式(如吸烟、饮酒)、精神创伤史、食管癌家族史等,各变量均给予明确的定义,以减少选择偏倚和信息偏倚。吸烟定义为过去或目前吸烟每日 1 支以上,持续 1 年以上;吸烟指数:吸烟指数 = 平均每日吸烟支数 × 吸烟年数/100。经常大量饮酒:指平均每周饮酒 ≥ 3 次,每次折合酒精含量 ≥ 50 g。新鲜蔬菜及水果食用情况:每周食用 > 3 次,每次 ≥ 50 g 为经常食用;每周食用 < 3 次,每次 < 50 g 为偶尔食用。经常食用腌制食品指的是过去或目前每周食用至少 3 次,持续 5 年以上。调查由具有资格的调查员与患者及其家属进行面对面调查填写。

3. XPA 基因型的检测:①血样标本收集:抽取各研究对象肘静脉血 2 ml,加 ACD 抗凝剂抗凝后, -20℃ 冰箱保存备用。②采用“白细胞快速提取法”提取 DNA。③应用 PCR-RFLP 技术对研究对象的基因多态性进行检测。④参考文献[3]设计引物序列,上游:5'-CTC AGA AAG GCC GCT GGG TG-3',下游:5'-CCG CTT CCG CTC GAT ACT CG-3'。扩增反应条件:95℃ 预变性 5 min,95℃ 变性 30 s,67℃ 复性 40 s,72℃ 延伸 45 s,34 个循环,72℃ 延伸 10 min。⑤采用琼脂糖凝胶电泳鉴别基因型别。配制 3.0% 琼脂糖凝胶,内含 0.5% 溴化乙锭(EB)。取 5 μl PCR 酶切产物与 1 μl 6 × 上样缓冲液混匀后,上样、电泳,电压为 80 V,时间为 40 min,以 Marker 为参照,在紫外灯下观察,判断酶切产物的基因型别。

4. 交互作用分析^[4]:选用相加模型,评价指标采用①交互作用指数 S (the synergy index S), $S = (OR_{11} - 1) / \{(OR_{01} - 1) + (OR_{10} - 1)\}$,当 $S = 1$ 时,因子间无交互作用;当 $S > 1$ 时,因子间存在正交互作用(协同作用);当 $S < 1$ 时,因子间存在负交互作用(拮抗作用)。②交互作用归因比(attributable proportion of interaction, API): $API = [OR_{11} - (OR_{10} + OR_{01}) + 1] / OR_{11}$,用于评价两因子同时存在时可归因于交互作用的比例。③交互作用超额相对危险度(relative excess risk of interaction, RERI), $RERI = OR_{11} - (OR_{10} + OR_{01}) + 1$ 。

5. 统计学分析:采用 Hardy-Weinberg 平衡检验、非条件 logistic 回归分析、 χ^2 检验、趋势 χ^2 检验、交互作用分析等,统计分析采用 SPSS 12.0 软件。

结 果

1. 一般情况:本研究调查食管癌患者 196 例、对照 201 例。病例组男性 125 例(63.78%),女性 71 例(36.22%),性别比为 1.76:1;对照组男性 130 例(64.68%),女性 71 例(35.32%),性别比为 1.83:1,两组性别构成差异无统计学意义($\chi^2 = 0.04, P > 0.05$)。病例组最小年龄 38 岁,最大年龄 82 岁,平均年龄(59.09 ± 8.43)岁;对照组最小年龄 37 岁,最大年龄 80 岁,平均年龄(58.81 ± 8.58)岁。两组男性平均年龄($t = 1.53, P > 0.05$)与女性平均年龄($t = 0.14, P > 0.05$)差异均无统计学意义,两组在主要混杂因素方面均衡可比。

2. 食管癌可疑危险因素非条件 logistic 回归多因素分析:通过单因素非条件 logistic 回归分析方法对可疑影响因素进行单因素筛查($\alpha = 0.05$)发现吃饭快、饮酒、吸烟指数、喜热食、喜硬食、经常吃腌制食品、强烈精神刺激、食管癌家族史和恶性肿瘤家族史为食管癌可疑危险因素,肉蛋类食品摄入多、豆类食品摄入多和文化程度为保护因素(表 1)。将单因素分析中有显著性意义的因素用逐步法(stepwise)筛选变量引入多因素非条件 logistic 逐步回归模型($\alpha = 0.05$)。最终进入模型的变量有 8 个,其中摄入较多肉蛋类食品为食管癌保护因素,喜硬食、经常吃腌制食品、吃饭快、饮酒、吸烟指数、强烈精神刺激、食管癌家族史为食管癌的危险因素。

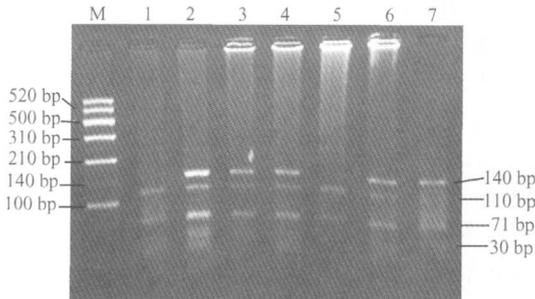
表 1 食管癌可疑危险因素非条件 logistic 回归多因素分析

可疑因素	P 值	OR 值(95% CI)
肉蛋类食品摄入	0.01	0.38(0.18~0.79)
喜硬食	0.00	2.29(1.40~3.75)
经常吃腌制食品	0.00	2.40(1.35~4.27)
吃饭快	0.02	1.80(1.10~2.94)
饮酒	0.01	2.40(1.31~4.41)
吸烟指数	0.01	1.21(1.05~1.39)
强烈精神刺激	0.00	2.63(1.54~4.50)
食管癌家族史	0.04	2.32(1.06~5.08)

3. Hardy-Weinberg 检验:在对照组 XPA 各基因型频率分布分别为野生型(A/A)54、杂合型(A/G)91、突变型(G/G)56,经 Hardy-Weinberg 平衡检验($\chi^2 = 1.79, P > 0.05$),表明研究对象的选择无遗传学偏差,该群体是遗传平衡群体。

4. XPA 基因的电泳分析:XPA 基因 PCR 特异扩增的片段长度为 211 bp。当为杂合突变型(A/G)

时,可产生 140 bp、110 bp、71 bp 和 30 bp 4 个片段;当为纯合突变型(G/G)时,可产生 110 bp、71 bp 和 30 bp 3 个片段;当为野生型(A/A)时,只有 140 bp 和 71 bp 2 个片段(图 1)。



注: M: Marker; 1, 5: 纯合突变型; 2~4, 6: 杂合突变型; 7: 野生型

图1 XPA 基因酶切后电泳图

5. XPA 修复酶基因分布及与食管癌易感性的关系:表 2 显示, XPA 23G 等位基因频率在对照组和病例组中的分布有统计学意义($\chi^2 = 18.31, P < 0.01$); XPA 各基因型频率在对照组和病例组中,其总体分布有差异($\chi^2 = 16.56, P < 0.01$);与 A/A 基因型相比,携带 A/G ($OR = 0.58, 95\% CI: 0.37 \sim 0.91$) 和 G/G ($OR = 0.32, 95\% CI: 0.18 \sim 0.56$) 基因型可显著降低食管癌发病风险,而且基因型中随着 G 等位基因的增加,患食管癌的可能性逐渐降低(趋势 $\chi^2 = 59.08, P < 0.01$)。

表2 XPA 等位基因和基因型频率在病例组和对照组中的分布

XPA 基因等位基因	病例组	对照组	OR 值(95% CI)	χ^2 值	P 值
A	253(55.97)	199(44.03)			
G	139(40.64)	203(59.36)	1.86(1.39~2.47)	18.31	0.000
基因型					
A/A	85(43.37)	54(26.87)	1.00		
A/G	83(42.35)	91(45.27)	0.58(0.37~0.91)	5.62	0.018
G/G	28(14.28)	56(27.86)	0.32(0.18~0.56)	16.21	0.000
A/G+G/G	111(56.63)	147(73.13)	0.48(0.31~0.73)	11.88	0.000

注:括号外数据为例数,括号内数据为构成比(%); $\chi^2 = 16.56, P < 0.01$, 趋势 $\chi^2 = 59.08, P < 0.01$

6. XPA 突变基因型与食用腌制食品的交互作用分析(表 3):经年龄、性别等因素调整后,将 XPA 基因型 A/G 和 G/G 两组合并作为携带突变基因型组(记作 1), A/A 基因型作为未携带突变基因型组(记作 0),与是否食用腌制食品相比。发现食用腌

制食品、携带突变基因型者发生食管癌的危险性 $OR = 1.03(95\% CI: 0.59 \sim 1.82)$, 食用腌制食品、未携带突变基因型者发生食管癌的危险性 $OR = 2.43(95\% CI: 1.21 \sim 4.89)$, 未食用腌制食品、携带突变基因型者发生食管癌的危险性 $OR = 0.39(95\% CI: 0.21 \sim 0.75)$, 可见两因素共同作用时的危险性明显小于两个因素单独作用时的和,符合相加模型,携带 XPA 突变基因型与食用腌制食品之间存在交互作用。 $RERI = -0.79$ 。交互作用指数 $S = 0.04, S < 1$ 指出经常食用腌制食品与携带突变基因 G 在发生食管癌方面存在负交互作用,即拮抗作用,说明携带突变基因 G 可抑制经常食用腌制食品的致癌作用。交互作用归因比 $API = -0.77$, 表明 XPA 突变基因存在时,可使经常食用腌制食品者发生食管癌的危险性降低 77%。

表3 XPA 基因型与食用腌制食品的交互作用

XPA 基因型 ^a	食用腌制食品 ^b	病例组	对照组	OR 值(95% CI)
1	1	83	78	1.03(0.59~1.82)
1	0	28	69	0.39(0.21~0.75)
0	1	50	20	2.43(1.21~4.89)
0	0	35	34	1.00

注:^a 1 表示 A/G + G/G, 0 表示 A/A; ^b 1 表示食用腌制食品, 0 表示不食用腌制食品

讨 论

XPA 是存在于细胞核中的一种进化保守的 DNA 修复酶,在核苷酸切除修复通路中,其作为 DNA 损伤识别蛋白与 XPC、TFIIH、XPG、ERCC1 XPF 复合体以及 DNA 聚合酶一起共同作用,完成对 DNA 损伤的修复, XPA 多态性的改变可能会影响其蛋白质的功能进而改变个体 DNA 的损伤修复能力^[5]。在有关 XPA 与肺癌患病风险的研究中认为携带 G 等位基因可显著降低肺癌患病风险^[6,7], 提示该基因型可能为保护基因,而降低肺癌发生的危险性。在我国不同地区有关修复酶基因突变与食管癌患病风险的研究却有不同的报道。张文翠等^[8]的研究认为淮安汉族人群携带 XPA G 基因型个体可降低患食管癌的危险性;而在福建地区的一项研究中却认为携带 XPA 变异基因型的个体(A/G + G/G)患食管癌的风险是 A/A 基因型的 1.748 倍^[9]。

本研究结果表明:DNA 修复基因 XPA 23G 等位基因频率 G 在病例组(41%)的分布明显低于对

照组(59%)($\chi^2 = 18.31, P < 0.01$);携带 XPA 23G 突变杂合子和突变纯合子的个体发生食管癌的危险性分别是携带野生型个体的 0.58 倍(95% CI: 0.37~0.91)和 0.32 倍(95% CI: 0.18~0.56),提示携带等位基因 G 的个体可降低患食管癌的危险性,而且基因型中随着 G 等位基因的增加,患食管癌的可能性逐渐降低(趋势 $\chi^2 = 59.08, P < 0.01$)。

本研究显示:喜硬食、经常吃腌制食品、吃饭快、饮酒、吸烟、强烈精神刺激、食管癌家族史为食管癌的主要危险因素,表明不良的饮食习惯、行为方式以及食管癌家族史与食管癌的发生有着密切的关系。国内外多项研究也认为吸烟、饮酒、食用腌制食品,长期不良的情绪因素可增加消化道肿瘤发生的危险性^[10-13]。本研究运用交互作用相加模型,探讨了 XPA 基因多态性与经常食用腌制食品,吸烟与饮酒之间的交互作用对食管癌的影响,结果显示携带 XPA 突变基因 G 可有效地抑制经常食用腌制食品($S = 0.04, API = -0.77$)的致食管癌作用。吸烟与饮酒在食管癌发生中存在协同作用,二者同时存在时可加大食管癌患病的风险。

本研究认为 XPA 基因多态性与长治地区人群食管癌的易感性有关,携带有 XPA 突变基因可抑制食管癌的发生,同时它对经常食用腌制食品的致癌性有拮抗作用。因此,大力倡导健康的生活方式,改变不良的生活习惯,保持良好的人际关系,以及进一步揭示 XPA 基因多态性与环境因素在食管癌发生中的相互关系,对食管癌的预防和早期治疗有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 尹娇杨,李继承. DNA 修复基因:核苷酸切除修复基因单核苷酸多态性与癌症发生风险的研究进展. 国外医学遗传学分册, 2004, 27(1): 23-26.
- [2] Larsen LK, Amri EZ, Mandrup S, et al. Genomic organization of the mouse peroxisome proliferator activated receptor beta/delta gene. Alternative promoter usage and splicing yield transcripts exhibiting differential translational efficiency. J Biochem, 2002, 365: 11522-11560.
- [3] 朱锦富,陈亦江,周建安,等. DNA 修复基因 XPA 单核苷酸多态性与肺癌遗传易感性的研究. 肿瘤, 2005, 25(3): 246-249.
- [4] 黄悦勤. 临床流行病学. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 143-159.
- [5] Buchko GW, Hess NJ, Kennedy MA. Cadmium mutagenicity and human nucleotide excision repair protein XPA: CD, EXAFS and $^1\text{H}/^{15}\text{N}$ -NMR spectroscopic studies on the zinc (II)- and cadmium (II)- associated minimal DNA-binding domain (M98-F219). Carcinogenesis, 2000, 21(5): 1051-1057.
- [6] Park JY, Park SH, Choi JE, et al. Polymorphisms of the DNA repair gene xeroderma pigmentosum group A and risk of primary lung cancer. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2002, 11(10 Pt 1): 993-997.
- [7] Wu X, Zhao H, Wei Q, et al. XPA polymorphism associated with reduced lung cancer risk and a modulating effect on nucleotide excision repair capacity. Carcinogenesis, 2003, 24(3): 505-509.
- [8] 张文翠,尹立红,浦跃朴,等. 修复酶基因多态性与食管癌易感性关系. 中国公共卫生, 2006, 22(5): 557-558.
- [9] 黄欢欢,蔡林. XPA, XRCC3 基因多态性与食管癌、贲门癌、非贲门部胃癌易感性的关系. 中国学位论文数据库, 2007.
- [10] Gao CM, Takezaki T, Ding JH, et al. Prospective effect of allium vegetables against both esophageal and stomach cancer: a simultaneous case-referent study of a high-epidemic area in Jiangsu province, China. Jpn J Cancer RES, 2000, 90(6): 614-621.
- [11] Zambon P, Talamini R, La-Vecchia C, et al. Smoking, type of alcoholic beverage and squamous cell oesophageal cancer in northern Italy. Int J Cancer, 2000, 86(1): 144-149.
- [12] 刘伯齐,姜晶梅,陈铮鸣,等. 中国 103 个地区吸烟与食管癌风险研究: 死因调查中的病例对照方法学研究. 中华医学杂志, 2006, 86(6): 380-385.
- [13] 王国荣. 食盐、腌制食品摄入与胃癌的关系. 中华腹部疾病杂志, 2005, 5(11): 封 3.

(收稿日期: 2008-05-06)

(本文编辑: 张林东)

· 征 订 启 事 ·

本刊 2009 年征订启事

《中华流行病学杂志》是由中华医学会主办的流行病学及其相关学科的高级专业学术期刊、国内预防医学和基础医学核心期刊、国家科技部中国科技论文统计源期刊, 2004~2006 年被中国科学技术信息研究所定为“百种中国杰出学术期刊”, 并被美国国立图书馆医学文献联机数据库和美国化学文摘社收录。读者对象为预防医学、临床医学、基础医学及流行病学科研与教学工作者。征稿内容: 重点或新发传染病现场调查与控制; 慢性非传染病的病因学及流行病学调查(含社区人群调查)、干预与评价; 环境污染与健康; 食品安全与食源性疾病; 流动人口与疾病; 行为心理障碍与疾病; 分子流行病学、基因学与疾病控制; 我国西部地区重点疾病的调查与控制等。本刊设有述评、重点原著、现场调查、疾病监测、实验室研究、临床流行病学、疾病控制、基础理论与方法、国家课题总结、文献综述、问题与探讨等重点栏目。

全年出版 12 期, 每期定价 9 元(含邮费), 全年 108 元, 由全国各地邮局统一订阅, 邮发代号: 2-73。本刊编辑部常年办理邮购。地址: 北京昌平流字五号《中华流行病学杂志》编辑部, 邮编: 102206, 电话(传真): 010-61739449, Email: lxonly@public3.bta.net.cn 欢迎广大读者踊跃投稿, 积极订閱。

本刊编辑部