

乙醇和乙醛脱氢酶基因多态与食道癌易感性

丁建华 李苏平 曹海霞 吴建中 高长明 苏平 刘燕婷 周建农 常军 姚根红

【摘要】 目的 研究乙醇脱氢酶2(ADH2)和乙醛脱氢酶2(ALDH2)基因多态与食道癌易感性。方法 对江苏省泰兴市221例食道癌新发病例和191名对照的饮酒习惯等因素进行调查,采用PCR和变性高效液相色谱法(DHPLC)检测ADH2和ALDH2基因型。结果 (1)与携带ALDH2 G/G基因型者相比,携带ALDH2 A/A($OR=5.69, 95\%CI: 2.51-12.18$)和ALDH2 G/A($OR=1.70, 95\%CI: 1.08-2.68$)基因型者患食道癌危险性明显增加,以携带ALDH2 A/A的饮酒者最为显著($OR=8.63, 95\%CI: 2.07-35.95$)。(2)无论是否饮酒,携带不同ADH2基因型者之间患食道癌的风险差异均无统计学意义。(3)携带ALDH2 A/A或G/A基因型者,不论同时携带何种ADH2基因型患食道癌的风险均显著增加,且作用效应为ALDH2 A/A \geq G/A。(4)与同时携带ALDH2 G/G和ADH2 A/A的不饮酒者相比,同时携带ALDH2 G/A或A/A和ADH2 G/A或G/G的饮酒者,患食道癌危险性OR值高达8.36($95\%CI: 2.98-23.46$)。结论 饮酒及醇醛脱氢酶基因多态与食道癌的联系主要与ALDH2有关;携带ALDH2 A/A和G/A者减少酒精消耗量,有助于降低患食道癌危险性。

【关键词】 食道肿瘤;乙醇脱氢酶2;乙醛脱氢酶2;基因多态性;病例对照研究

Genetic polymorphisms of alcohol dehydrogenase-2 and aldehyde dehydrogenase-2 associated with the susceptibility on esophageal cancer DING Jian-hua^{*}, LI Su-ping, CAO Hai-xia, WU Jian-zhong, GAO Chang-ming, SU Ping, LIU Yan-ting, ZHOU Jian-nong, CHANG Jun, YAO Gen-hong. *Jiangsu Institute of Cancer Research, Nanjing 210009, China*

【Abstract】 Objective To evaluate the impact of alcohol dehydrogenase-2 (ADH2) and aldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) polymorphisms on the susceptibility of esophageal cancer. **Methods** A case-control study including 221 cases of esophageal cancer and 191 controls was carried out in Taixing city of Jiangsu province. ADH2 and ALDH2 genotypes were tested by PCR and denaturing high-performance liquid chromatography (DHPLC). **Results** (1) Compared with ALDH2 G/G carriers, ALDH2 A/A ($OR=5.69, 95\%CI: 2.51-12.18$) and ALDH2 G/A ($OR=1.70, 95\%CI: 1.08-2.68$) carriers showed a significantly elevated risk of developing esophageal cancer, especially among alcohol drinkers with ALDH2 A/A ($OR=8.63, 95\%CI: 2.07-35.95$). (2) Statistical relation was not found between ADH2 genotypes and the risk of esophageal cancer, with regard to the status of alcohol consumption. (3) Whether subjects with whatever ADH2 genotype, ALDH2 G/A or A/A carriers was found to have significantly increased the risk of developing esophageal cancer, with ALDH2 A/A carriers appeared having higher esophageal cancer risk than those ALDH2 G/A carriers. (4) Compared those non-drinkers with both ALDH2 G/G and ADH2 A/A, drinkers with ALDH2 G/A or A/A and ADH2 G/A or G/G genotypes showed a significantly elevated risk of developing esophageal cancer ($OR=8.36, 95\%CI: 2.98-23.46$). **Conclusion** These results revealed that it was not ADH2 but ALDH2 polymorphisms and drinking alcohol had a significant interaction with the development of esophageal cancer, suggesting that in order to help lowering the risk of esophageal cancer, individuals who are carrying ALDH2 A/A or G/A genotypes should be encouraged to reduce their consumption of alcohols.

【Key words】 Esophageal neoplasms; Alcohol dehydrogenase-2; Aldehyde dehydrogenase-2; Genetic polymorphisms; Case-control study

饮酒是食道癌的危险因素之一^[1-3]。酒精在体内代谢过程为乙醇-乙醛-乙酸,乙醛对动物有致癌

性,与人类肿瘤亦存在关联^[4,5]。而乙醛在体内的作用效应,是与不同个体体内乙醇脱氢酶(ADH)和乙醛脱氢酶(ALDH)代谢能力高低有关。研究显示,ADH和ALDH有多种亚型,ADH2和ALDH2基因具遗传多态性,ADH2 A/A氧化乙醇速度是ADH2 G/G的20倍^[4],携带ALDH2 A/A和G/A者饮酒后血中乙醛浓度分别是携带ALDH2 G/G者的19倍和6

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2009.05.010

基金项目:江苏省卫生厅医学科技发展基金(H200526)

作者单位:210009 南京,江苏省肿瘤防治研究所流行病室(丁建华、李苏平、曹海霞、吴建中、高长明、苏平、刘燕婷、周建农);泰兴市疾病预防控制中心(常军、姚根红)

倍^[6],因此 ADH2 和 ALDH2 多态性会导致个体间乙醇代谢能力的差异,从而形成乙醛在体内的不同蓄积状况而影响其患癌易感性。江苏省泰兴市是食道癌高发区,调查发现饮酒是该市食道癌高发的危险因素^[7],为此开展了对 ADH2 和 ALDH2 基因多态与食道癌易感性关联的研究。

对象与方法

1. 研究内容:病例组为有泰兴市常住户口,且于 2005 年 1 月至 2006 年 12 月确诊为食道癌的男性新发病例 221 例,对照组为随机选择当地常住户口无肿瘤史的男性居民 191 名。在当地肿瘤登记处获得食道癌新发病例信息,由经培训的调查员征得研究对象同意后,当面询问病例和对照组人口学及饮酒等资料,对全部研究对象抽静脉血标本,置乙二胺四乙酸钠抗凝管,分离白细胞层。用 Q IAamp DNA 提取试剂盒提取白细胞 DNA, DNA 置 -30℃ 低温冰箱保存备用。

2. 基因型分析:采用 PCR 和变性高效液相色谱法(DHPLC)检测 ADH2 Arg47His 和 ALDH2 Glu487Lys 基因型。ADH2 Arg47His 扩增所用引物:F: 5'-GGG CTT TAG ACT GAA TAA CCT TGG-3' 和 R: 5'-AGG GAA AGA GGA AAC TCC TGA A-3'; ALDH2 Glu487Lys 扩增所用引物:F: 5'-TGC TAT GAT GTG TTT GGA GCC-3' 和 R: 5'-GGC TCC GAG CCA CCA-3'。PCR 反应体系总体积均为 25 μ l, 含有引物 20 pmol, 4 \times dNTPs 0.25 mmol/L, MgCl₂ 2.0 mmol/L, 10 \times Buffer 2.5 μ l, 热启动 Taq 酶 1 IU 和 0.5 μ l 基因组 DNA。扩增反应条件为:95℃ 预变性 7 min; 95℃ 30 s, 62℃ 30 s 和 72℃ 30 s, 共 35 个循环; 72℃ 延伸 5 min, 94℃ 变性 4 min 后, 再将 PCR 产物的温度按每秒 0.1℃ 的梯度降低到 25℃, 置 4℃ 冰箱保存。

PCR 产物直接上样到 DHPLC 仪(WAVE-3500, Transgenomic, USA)进行基因型鉴定。流动相为 0.1 mol/L N-三乙基乙酰胺(TEAA, 分析纯)和不同浓度梯度的乙腈, 流速 0.9 ml/min, 选择 application type 为 mutation, 按照仪器设定的洗脱梯度走样。杂合子基因型可从 DHPLC 图形直接确定, 野生型纯合子和变异型纯合子的 DHPLC 图形相同, 需与已知纯合型混合, 经过变性和复性过程, 再次上样 DHPLC 仪分析确定。结果 ADH2 Arg47His 被区分为 G/G(变异型纯合子)、G/A(杂合子)和 A/A(野生型纯合子)3 种基因型; ALDH2 Glu487Lys 被区分为

G/G(野生型纯合子)、G/A(杂合子)和 A/A(变异型纯合子)3 种基因型。

3. 统计学分析:采用 EpiInfo 和 SAS 统计软件, 用 χ^2_{M-H} 检验基因型频度分布差异, 以比值比(OR)及 95% 可信区间(95%CI)表示相对危险度。用多元非条件 logistic 回归模型计算调整 OR 和 95%CI。交互作用分析选用相加模型^[8], 评价指标采用交互作用指数(S)和交互作用归因比(API)。饮酒者定义:每周饮酒至少一次, 每次折合乙醇量 > 40 g, 连续饮半年以上(含酒精饮料的酒精浓度参照“中国食物成分表 2004”换算)。

结 果

1. 一般状况:病例组(221 例)和对照组(191 名)年龄范围在 35 ~ 85 岁。经均衡性检验, 病例与对照在年龄、民族、文化程度、职业、婚姻、吸烟和饮酒方面差异均无统计学意义, 但 10 年前和现在家中人均年收入病例组均显著低于对照组, 差异有统计学意义(t 值分别为 4.52 和 3.64, P 值均 < 0.01); 见表 1。

表 1 病例组与对照组人口学特征

特 征	病例组	对照组	χ^2 值	P 值
年龄(岁) ^a			0.91	0.341
<50	10(4.53)	8(4.19)		
50 ~	57(25.79)	60(31.41)		
60 ~	98(44.34)	80(41.88)		
>70	56(25.34)	43(22.52)		
家庭人均年收入(元) ^b				
10 年前	2097(1743)	3040(2261)		<0.01
现在	3629(2186)	4746(3591)		<0.01
饮酒状况			1.38	0.24
不饮	96	94		
饮酒	125	97		

注: ^a 括号外数据为人数, 括号内数据为构成比(%); ^b 括号外数据为均数, 括号内数据为标准差

2. 基因型分布和遗传平衡检验: 病例组与对照组相比, ALDH2 各基因型分布频度差异有统计学意义($\chi^2=22.30, P<0.01$); 而 ADH2 各基因型分布频度的差异未达到统计学意义($\chi^2=4.92, P=0.085$)。经遗传平衡检验, 病例组 ADH2 基因型频率、对照组 ADH2 和 ALDH2 基因型频率均符合 Hardy-Weinberg 比例(前者 χ^2 值为 0.18, 后者 χ^2 值分别为 1.28 和 0.12, P 值均 > 0.05), 表明研究样本有良好代表性(表 2)。

3. ALDH2 和 ADH2 基因多态与食道癌易感性: 与携带 ALDH2 G/G 基因型者相比, 携带 ALDH2 A/A (OR=5.69) 或 G/A (OR=1.70) 基因型者患食道癌风险均显著增加, 差异有统计学意义; 而与 ADH2 A/A

基因型者相比,仅携带 ADH2 G/G 基因型者患食道癌风险有所增加($OR=2.78$)。携带 ALDH2 A 与 G 型以及携带 ADH2 G 与 ADH2 A 等位基因者相比,患食道癌风险均有所上升(表 2)。

表 2 ALDH2 和 ADH2 基因型分布与食道癌易感性

因素	病例组*	对照组*	ORa 值(95%CI)	ORb 值(95%CI)
ALDH2 基因型				
G/G	90(40.73)	114(59.69)	1	1
G/A	89(40.27)	66(34.55)	1.71(1.10~2.66)	1.70(1.08~2.68)
A/A	42(19.00)	11(5.96)	4.84(2.25~10.61)	5.69(2.51~12.18)
G/A+A/A	131(59.27)	77(40.51)	2.15(1.43~3.26)	2.19(1.43~3.34)
ADH2 基因型				
A/A	106(47.96)	108(56.54)	1	1
G/A	96(43.44)	75(39.27)	1.30(0.85~1.99)	1.21(0.79~1.86)
G/G	19(8.60)	8(4.19)	2.42(1.02~5.77)	2.78(1.06~7.29)
G/A+G/G	115(52.04)	83(43.46)	1.41(0.96~2.08)	1.34(0.89~2.04)
等位基因频率				
ALDH2				
G	269(60.86)	294(76.96)	1	
A	173(39.14)	88(23.04)	2.15(1.57~2.95)	
ADH2				
A	308(69.68)	291(76.18)	1	
G	134(30.32)	91(23.82)	1.39(1.01~1.92)	

注: *括号外数据为人数,括号内数据为构成比(%); ORa 值为粗 OR, ORb 值为 10 年前和现在经济状况调整的 OR

4. ALDH2 和 ADH2 基因型联合作用与食道癌易感性:与同时携带 ADH2 A/A 和 ALDH2 G/G 者相比,个体患食道癌 OR 值经调整后随同时携带 ADH2 A/A 和 ALDH2 G/A、ADH2 G/A 或 G/G 和 ALDH2 G/A、ALDH2 A/A 和 ADH2 A/A 呈趋势性显著增加,至 ADH2 G/A 或 G/G 和 ALDH2 A/A 达到最高($OR=12.22$);即只要个体携带 ALDH2 G/A 或 A/A 基因型,而不论同时携带何种 ADH2 基因型,其患食道癌风险就会显著上升,且 ALDH2 A/A 的作用效应大于 ALDH2 G/A(表 3)。

5. ALDH2 和 ADH2 基因多态及饮酒与食道癌

表 3 ALDH2 和 ADH2 基因型联合作用与食道癌易感性

ADH2	ALDH2	病例	对照	ORa 值(95%CI)	ORb 值(95%CI)
A/A	G/G	44	68	1	1
G/A 或 G/G	G/G	46	46	1.55(0.89~2.70)	1.46(0.79~2.70)
A/A*	G/A	40	33	1.87(1.03~3.40)	1.93(0.99~3.75)
G/A 或 G/G*	G/A	49	33	2.29(1.28~4.11)	2.10(1.13~3.91)
A/A*	A/A	22	7	4.98(1.91~12.33)	5.28(1.88~14.83)
G/A 或 G/G*	A/A	20	4	7.73(2.48~24.13)	12.22(2.62~56.91)

注: 趋势 $\chi^2=24.18, P=0.00$; *与'相比, $\chi^2=3.83, P=0.05$; '与'相比, $\chi^2=4.50, P=0.03$; '同表 2

的联合作用:两组中携带 ALDH2 A/A 者无论是否饮酒,其患食道癌风险均明显高于携带 G/G 型者,此特点于饮酒者($OR=8.63$)更为显著;携带 ALDH2 G/A 型的饮酒者患食道癌风险也呈上升趋势($OR=2.47$),而不饮者则风险性低。无论是否饮酒,携带不同 ADH2 基因型者之间患食道癌风险差异均无统计学意义(表 4)。与同时携带 ALDH2 G/G 和 ADH2 A/A 型的不饮酒者相比,同时携带 ALDH2 G/A 或 A/A 和 ADH2 G/A 或 G/G 型者,无论是否饮酒患食道癌风险均明显增加,而饮酒者的 OR 值(8.36)显著高于不饮者($OR=2.84$)($\chi^2=8.35, P=0.039$)。

进一步将 ALDH2 G/A 和 A/A 型合并为携带突变基因型组,ALDH2 A/A 作为未携带突变基因型组与是否饮酒相比发现,携带 ALDH2 突变基因且饮酒者患食道癌风险显著增加($OR=3.08$); $S=2.93>1$,说明携带 ALDH2 突变基因与饮酒之间存在协同作用; $API=0.41$,提示全部食道癌病例中归因于携带 ALDH2 突变基因和饮酒交互作用所引起的病例占 41%(表 5)。

讨 论

以往 ALDH2 和 ADH2 基因多态与食道癌易感性研究多集中在日本,国内鲜见报道。Yokoyama 等^[9]研究结果显示,携带 ALDH2 A/A 型的酗酒者和非

表 4 ALDH2 和 ADH2 基因多态及饮酒与食道癌易感性

基因型	非 饮 酒 者			饮 酒 者		
	病例	对照	ORa 值(95%CI)	病例	对照	ORa 值(95%CI)
ALDH2						
G/G	26	42	1	64	72	1
G/A	43	44	1.29(0.65~2.55)	46	22	2.47(1.27~4.82)
A/A	27	8	4.67(1.63~13.38)	15	3	8.63(2.07~35.95)
G/A+A/A	70	52	1.78(0.94~3.37)	61	25	3.08(1.65~5.78)
ADH2						
A/A	50	53	1	56	55	1
G/A	42	38	1.31(0.70~2.46)	54	37	1.18(0.64~2.16)
G/G	4	3	2.10(0.35~12.54)	15	5	2.90(0.85~9.90)
G/A+G/G	46	41	1.37(0.74~2.54)	69	42	1.36(0.76~2.43)
ALDH2 ADH2						
G/G A/A	10	28	1	34	40	2.02(0.79~5.17)
G/A 或 A/A G/A 或 G/G	30	27	2.84(1.10~7.31)	39	10	8.36(2.98~23.46)

注: * ORa 值为 10 年前和现在经济状况调查的 OR

表5 ALDH2基因多态与饮酒致食道癌的交互作用

ALDH2基因	饮酒	病例	对照	ORa值(95%CI)
G/G	不饮	26	42	1
	饮	64	72	0.92(0.48~1.78)
G/A或A/A	不饮	70	52	1.78(0.94~3.37)
	饮	61	25	3.08(1.65~5.78)

注: *同表4

酗酒者患食管癌危险性比不携带者分别增加6.6和11.1倍;在调整年龄、每日饮酒和吸烟量后,又发现携带ALDH2 A/A型的男性饮酒者患食管癌危险性增加12.5倍^[10]。Hori等^[11]的研究显示,同时携带ADH2 G/G和ALDH2 G/A型者患食管鳞癌的OR值为17.9。Matsuo等^[12]分析提示,与携带ALDH2 G/G基因型相比,携带ALDH2 G/A或A/A型者患食管癌的OR值为3.43,携带ALDH2 A/A的过度饮酒者OR值高达49.6。

但是,上述研究仅限在酗酒者或饮酒者及以医院为基础的病例对照中进行。而本次以人群为基础的病例对照研究发现:①携带ALDH2 A/A或G/A基因型者患食管癌危险性均明显增加,且以饮酒者更为显著,与上述报道及中国台湾的调查结果一致^[13];②无论是否饮酒,携带不同ADH2基因型者之间患食管癌风险差异均无统计学意义;③携带ALDH2 A/A或G/A基因型者不论同时携带何种ADH2基因型,患食管癌危险均显著增加。此结果提示,在ALDH2和ADH2基因多态与食道癌易感性的关联中,ALDH2可能起到主要作用,这与相关研究发现——尽管ADH2多态可以影响乙醇向乙醛转化的速度,但“饮酒后血中乙醛浓度受ADH2活性影响不大,而主要由ALDH2代谢活性所决定”的结果^[14,15],以及国内外的以往研究基本相符^[16,17]。

本次研究率先发现:①ALDH2基因多态致食道癌的作用效应是ALDH2 A/A型大于G/A型;这与已证实的“饮酒后携带ALDH2 A/A和G/A者血中乙醛浓度分别是携带ALDH2 G/G者的19倍和6倍”的结论相一致^[6];提示前二者虽然均因ALDH2失活使乙醛在体内积蓄,但由于其基因多态所致对乙醛代谢活性的差异,从而会相应影响到不同个体患食管癌的易感性。②同时携带ALDH2 G/A或A/A和ADH2 G/A或G/G的饮酒者患食管癌风险最大,以及ALDH2突变基因型与饮酒间存在协同作用的结果提示,尽管本研究病例和对照组中饮酒比例的差异未达统计学意义,然而由于癌症发生是环境与遗传因素共同所致,当酒精进入机体后,因为个体代谢酶基因多态的缘故,会形成不同内暴露剂量导致个体间患癌易感性的差异。因此在饮酒与癌症关联的病

因学研究中,不但要探索饮酒行为的启动效应,还应当研究其与体内相关代谢酶基因多态间的相互关系,否则不能对它导致的最终结果做出合理评价,而本研究揭示的携带ALDH2突变基因型者由于对乙醛代谢能力降低,饮酒后将显著增加乙醛蓄积所致的患食管癌风险即为明证。

因此,将携带ALDH2 G/A或A/A的饮酒者作为食管癌高危人群,并开展有针对性的健康宣传和行为干预,对预防食管癌有重要意义。

参 考 文 献

- [1] 丁建华,李苏平,高长明,等. 社会因素与食管癌关系的病例对照研究. 中华预防医学杂志, 2001, 35(1):12.
- [2] Brown LM, Devesa SS. Epidemiologic trends in esophageal and gastric cancer in the United States. Surg Oncol Clin N Am, 2002, 11(2):235-256.
- [3] Kinjo Y, Cui Y, Akiba S, et al. Mortality risks of oesophageal cancer associated with hot tea, alcohol, tobacco and diet in Japan. J Epidemiol, 1998, 8(4):235-243.
- [4] Bosron WF, Li TK. Genetic polymorphism of human liver alcohol and aldehyde dehydrogenases, and their relationship to alcohol metabolism and alcoholism. Hepatology, 1986, 6(3):502-510.
- [5] International Agency for Research on Cancer. Alkyl compounds, aldehydes, epoxides and peroxides. IARC Monogr Eval Carcinog Risk Chemi Hum, Lyon, 1985:101-132.
- [6] Mizoi Y, Yamamoto K, Ueno Y, et al. Involvement of genetic polymorphism of alcohol and aldehyde dehydrogenases in individual variation of alcohol metabolism. Alcohol, 1994, 29(6):707-710.
- [7] 丁建华,李苏平,高长明,等. 以全人群为基础的上消化道癌病例对照研究. 中国公共卫生杂志, 2001, 17(4):319-320.
- [8] 黄悦勤. 临床流行病学. 北京:人民卫生出版社, 2002:143-159.
- [9] Yokoyama A, Muramatsu T, Ohmori T, et al. Esophageal cancer and aldehyde dehydrogenase 2 genotypes in Japanese males. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 1996, 5(1):99-102.
- [10] Yokoyama A, Muramatsu T, Ohmori T, et al. Alcohol-related cancers and aldehyde dehydrogenase 2 in Japanese alcoholics. Carcinogenesis, 1998, 19(8):1383-1387.
- [11] Hori H, Kawano T, Endo M, et al. Genetic polymorphisms of tobacco 2 and alcohol 2-related metabolizing enzymes and human esophageal squamous cell carcinoma susceptibility. J Clin Gastroenterol, 1997, 25(4):568-575.
- [12] Matsuo K, Hamajima N, Shinoda M, et al. Gene-environment interaction between an aldehyde dehydrogenase-2 (ALDH2) polymorphism and alcohol consumption for the risk of esophageal cancer. Carcinogenesis, 2001, 22(6):913-916.
- [13] Wu CF, Wu MT, Hsu HK, et al. Relationship between genetic polymorphisms of alcohol and aldehyde dehydrogenases and esophageal squamous cell carcinoma risk in males. World J Gastroenterol, 2005, 11(33):5103-5108.
- [14] Crabb DW, Edenberg HJ, Bosron WF, et al. Genotypes for aldehyde dehydrogenase deficiency and alcohol sensitivity: the inactive ALDH2*2 allele is dominant. J Clin Invest, 1989, 83(1):314-316.
- [15] Yoshihara E, Ameno K, Nakamura K, et al. The effects of the ALDH2*1/*2, CYP2E1 C1/C2 and C/D genotypes on blood ethanol elimination. Drug Chem Toxicol, 2000, 23(2):371-379.
- [16] Yang CX, Matsuo K, Ito H, et al. Esophageal cancer risk by ALDH2 and ADH2 polymorphisms and alcohol consumption: exploration of gene-environment and gene-gene interactions. Asian Pac J Cancer Prev, 2005, 6(3):256-262.
- [17] Ding JH, Li SP, Wu JZ, et al. Alcohol dehydrogenase-2 and aldehyde dehydrogenase-2 genotypes, alcohol drinking and the risk of primary hepatocellular carcinoma in a Chinese population. Asian Pacific J Cancer Prev, 2008, 9(1):31-35.

(收稿日期:2008-12-01)

(本文编辑:尹廉)