

## 分子病理流行病学

张天一 谭红专

【关键词】 分子病理流行病学; 流行病学

**Molecular pathological epidemiology** Zhang Tianyi, Tan Hongzhuang. Department of Epidemiology and Health Statistics, Central South University, Changsha 410008, China

Corresponding author: Tan Hongzhuang, Email: tanhz99@qq.com

【Key words】 Molecular pathological epidemiology; Epidemiology

近年随着核酸、蛋白质等生物大分子研究的不断深入,生命科学进入“分子时代”。流行病学及其他生命科学工作者将分子生物学理论和方法应用到人群疾病防治与健康促进中,形成新的分支,即分子流行病学。然而,无论是传统流行病学,还是分子流行病学,两者均未考虑疾病的异质性(heterogeneity)<sup>[1]</sup>。大多数疾病如癌症(乳腺癌、肺癌、结直肠癌等)和其他慢性疾病(糖尿病、高血压等)都是由于基因、表观遗传、转录、蛋白质、代谢、微生物等多种因素及其相互作用关系的改变所引起<sup>[2]</sup>,且个体所患疾病的机制亦不可能完全一致。因此为更好地研究发病机制,尤其是复杂的多因素疾病,以及开展个性化预防与治疗,分子病理流行病学(molecular pathological epidemiology)的概念应运而生,拟在分子、基因、细胞和人群水平上同时破译疾病<sup>[2]</sup>。

2010年美国哈佛大学公共卫生学院Ogino等<sup>[2]</sup>首次提出分子病理流行病学概念,并应用于肿瘤病因研究。实际在此之前,已有类似的研究,如Curtin等<sup>[3]</sup>研究发现吸烟(>20包年)与brf基因突变型直肠癌有关( $OR=4.2$ ),而与brf基因野生型直肠癌无关。然而,当时该类研究通常称为“分子流行病学”。Ogino等<sup>[2]</sup>认为,这种称谓阻碍了对疾病异质性及其发病机制的研究。分子病理流行病学是基于“唯一肿瘤原则”,更广泛的说法是“唯一疾病原则”,这是将疾病按照其分子特征的不同分为不同亚型,假设具有相似分子特征的疾病具有相同的发病机制和相似的发展过程。Nishi等<sup>[4]</sup>认为,“分子病理流行病学”反映了流行病学应用技术的进步,传统流行病学研究的疾病(作为一个整体)实际上是由根据生物学特征(如brf基因突变型与野生型等)分为的多种亚分类疾病组成。理论上,疾病中的每个亚分类与不同系列的危险因素相关联。因此,分子病理流行病学是基于分子病理学和疾病的异质性为基础,运用流行病学的研究设计方法,分析暴露因素或生活习惯以及疾病个体分子水平上的改变对疾

病发展、预后和结局影响的一个新概念和方法。为此笔者复习相关文献,简要介绍分子病理流行病学的历史地位、研究方法及其应用发展方向。

1. 历史地位:分子病理流行病学可视为分子病理学与流行病学的交叉融合,而后者应在分子病理流行病学中处于中心地位<sup>[5-6]</sup>。由于人类多数疾病均属于复杂的多因素疾病,跨学科科学和团队合作研究是关键。Hiatt认为“在团队科学研究中流行病学处于核心地位,无论是什么健康问题”<sup>[7]</sup>。当然,分子病理学同样具有重要作用。分子病理学是分子生物学技术在病理学诊断中的应用。分子病理诊断是指应用分子生物学技术,从基因水平上检测细胞和组织的分子遗传学变化,协助病理诊断和分型的一种病理诊断技术<sup>[8]</sup>。Sherman等<sup>[9]</sup>认为,在流行病学研究中运用分子病理学技术考虑了疾病的分子异质性,可以研究与某种亚型疾病相关的危险因素,基于亚型疾病进行发病风险估计,同时也有助于流行病学家更好地进行疾病整体风险预测,以及为研究该危险因素的致病途径提供线索。

2. 与分子流行病学的异同:分子病理流行病学与传统的分子流行病学、遗传流行病学、肿瘤流行病学等分支学科均旨在研究人群中疾病的发生、发展和分布规律及其影响因素,制定防治对策,提出促进健康的策略和措施。不同的是,分子病理流行病学是先从分子水平对疾病进行病理学分型,然后再研究不同亚型疾病的病因和流行因素等,即考虑了疾病的异质性,而其他方法均未特别强调不同病理分型疾病的异质性。

传统的分子流行病学、遗传流行病学、肿瘤流行病学等对于结局使用的是传统的疾病命名系统,如WHO制定的国际疾病分类标准(ICD-10)。例如,多囊卵巢综合征(PCOS)的遗传流行病学研究发现,遗传因素在PCOS发病中起一定作用,遗传度在一级和二级亲属分别为37.3%和31.8%<sup>[10]</sup>。原发性肝癌的分子流行病学研究发现p53基因的Arg72Pro位点突变与肝癌相关,甲胎蛋白异质体升高 $\geq 10\%$ 的患者,较正常者发生肝癌的风险增加7倍<sup>[11]</sup>。上述研究采用的疾病分类标准均未考虑到疾病的分子异质性。可以认为,广义的分子流行病学包括了传统的分子流行病学(应用传统的疾病命名系统)和分子病理流行病学(疾病按分子病理分型)。

2013年6月在波士顿召开的第46届流行病学研究座谈会上介绍了分子病理流行病学的优势<sup>[12]</sup>。认为分子病理流行病学侧重于分子水平上疾病的异质性,即分子异质性。如结肠癌和乳腺癌很大程度归因于肿瘤组织和癌前病变组织的体细胞突变,这样可以通过分子病理学方法和技术检测组织细胞的克隆是否具有独特的遗传和表观遗传特征。再如

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.07.021

作者单位:410008 长沙,中南大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系

通信作者:谭红专, Email: tanhz99@qq.com

不同的环境暴露和生活方式可能与结肠癌某一分子亚型有关。传统分子流行病学将所有结肠癌病例作为一种“疾病”可能会导致丢失重要的病因关联,或者使估计的相对危险度显著降低。同样,某暴露因素可能与“疾病”整体无关联,而可能与疾病某一亚型有关联。例如,假设结肠肿瘤根据其分子特征分为三型:A(20%)、B(20%)和C型(60%);若某种饮食习惯可使A型结肠癌的发病风险升高4倍,对B和C型结肠癌无影响,则该饮食习惯只会使结肠癌的整体(不分型)发病风险升高1.6倍。如果目前具有将A型结肠癌区别于其他亚型结肠癌的诊断技术,那么该饮食习惯影响结肠癌发病风险的估计将更加准确。

此外,由于考虑了疾病的异质性,分子病理流行病学的研究将有助于针对患者进行个性化预防与治疗,并判断预后。研究发现,相对于前列腺素内过氧化物合酶2(PTGS2)阴性结肠癌,阿司匹林对于PTGS2阳性结肠癌患者更有效,使其死亡风险降低( $HR=0.39$ )<sup>[13]</sup>。Lochhead等<sup>[14]</sup>认为,癌前病变的分子病理流行病学研究有助于识别与肿瘤发生和发展相关的危险因素,更好地了解其致病机制,促进实施个性化预防、筛查和治疗。

3. 研究方法与应用:分子病理流行病学的研究设计方法均同于传统流行病学,并彰显新的特征。目前分子病理流行病学多用于肿瘤病因研究,Field等<sup>[15]</sup>认为也适用于非肿瘤性疾病。

(1)病例-病例研究:在病例-病例研究中,根据疾病的分子改变特征分为不同亚型,然后在不同亚型间比较感兴趣的暴露变量分布。例如,Naguib等<sup>[16]</sup>在研究饮食习惯对结肠癌患者的影响时运用病例-病例方法,将186例结肠癌患者根据KRAS基因状态分为突变型和野生型病例。研究发现,高白肉摄入( $>29.5$  g/d)与KRAS基因突变型结肠癌有关( $P<0.001$ ),而与KRAS基因野生型无关。

(2)病例对照研究:传统流行病学是比较病例组和对照组间感兴趣暴露因素的分布,而分子病理流行病学是在基因突变型、基因野生型患者和对照组之间比较研究因素的分布。如果某暴露因素可以引起某些特定的改变(如基因突变),可以观察到相对于对照组,在基因突变型患者中暴露因素有较高的比例。Garcia-Closas等<sup>[17]</sup>在对雌激素受体(ER)阴性乳腺癌风险基因的病例对照研究中发现,ER阴性乳腺癌患者生存率较ER阳性患者低( $P<0.05$ ),并发现4个单核苷酸多态性位点与ER阴性乳腺癌有关,而与ER阳性患者无关,该结论为研究ER阴性和ER阳性乳腺癌各自的发病机制提供了科学依据。Stavroula在对MLH1基因-93G>A位点单核苷酸多态性与结肠癌关系的研究中,将430例结肠癌患者分为3种类型:微卫星不稳定低水平组(MSI-low)、微卫星不稳定高水平组(MSI-high)和微卫星稳定组(MS-stable),并有275例对照。结果发现,MLH1基因-93G>A位点多态性与MSI-high型肿瘤( $OR=8.88$ )的发生有关<sup>[18]</sup>。

(3)前瞻性队列研究:相对于前两种,本方法不易存在偏倚。在分子病理流行病学中,研究者检测了暴露者和非暴露者中发生特定改变(如基因突变)的某病发生率,同时也检测

了未发生特定改变(无基因突变)的某病发生率。如果暴露可以引起患病个体发生某种特定改变,那么就可以在暴露组中观察到相对于非暴露组有较高的发生某种特定改变的发生率。Chan等<sup>[19]</sup>在阿司匹林与结直肠癌发病风险的研究中,使用了Nurses' Health Study(NHS)和Health Professionals Follow-up Study(HPFS)两个大型前瞻性队列研究数据(提供每个人阿司匹林使用情况),将获得的636例结直肠癌患者根据肿瘤组织环氧化酶2(COX-2)表达水平分为3组。研究发现,规律服用阿司匹林可以降低COX-2过度表达型肿瘤的发病风险( $RR=0.64$ ),而与COX-2低/无表达型肿瘤的发病风险无关。

(4)病例队列研究:病例队列研究又称病例参比式研究,是一种队列研究与病例对照研究结合的设计形式<sup>[6]</sup>。Brink等<sup>[20]</sup>针对散发性结直肠癌患者肥胖与K-ras基因突变关系的研究中,使用了荷兰专门研究饮食和癌症(Netherlands Cohort Study on Diet and Cancer, NLCS)的大型前瞻性队列资料,经随访7.3年后获得448例结肠癌患者、160例直肠癌患者以及2 948例于队列开始时随机抽取的对照组成员进行病例队列研究。病例组根据K-ras基因突变与否分为K-ras基因突变型组和K-ras基因野生型组。研究发现,高不饱和脂肪酸摄入可增加患K-ras基因突变型结直肠癌的风险( $RR=1.21$ )。

(5)巢式病例对照研究:是由前瞻性队列研究衍生而来,又称队列内病例对照研究。van Guelpen等<sup>[21]</sup>针对结肠癌患者一碳代谢(叶酸代谢通路)与CpG岛甲基化表型状态关系的研究中,采用Northern Sweden Health and Disease Study cohorts(NSHDS)大型前瞻性队列数据,将190例结肠癌患者为病例组,并根据年龄、性别为每名病例匹配2例对照,获得380例对照。研究发现,亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)基因677位点多态性仅与CpG岛甲基化表型低/高(CIMP-low/high)型结肠癌的发病风险有关( $OR=0.24$ ),而与CpG岛甲基化表型阴性(CIMP-negative)结肠癌无关;MTHFR基因1298位点多态性仅与CIMP阴性结肠癌的发病风险有关( $OR=2.46$ ),而与CIMP低/高型结肠癌的发病风险无关。

4. 发展方向:未来分子病理流行病学将在研究肿瘤分子特征与生活方式或者其他暴露因素之间的交互作用,以及对肿瘤患者预后和临床结局的影响中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。在传统的分子病理学中,研究者检测肿瘤组织分子特征,从而预测患者预后以及对治疗的敏感性。然而,除了肿瘤分子特征外,生活方式、环境或遗传因素也有可能通过微环境影响肿瘤细胞的行为。如生活方式(体力活动或吸烟)和遗传因素(单核苷酸多态性或家族史)已经被证实可以影响结直肠癌患者的临床结局<sup>[22-24]</sup>。为了更好地解释生活方式、环境或遗传因素是如何影响肿瘤细胞,可以检测这些因素以及与肿瘤分子特征的交互作用对疾病预后和临床结局的影响。如果暴露因素与患者不良结局有关,且该暴露仅出现在具有特定分子特征的患者中,那么这种现象表明暴露因素可能通过特定分子改变从而影响疾病的发展。例如,Baba等<sup>[25]</sup>发现

CDX2 表达缺失在具有结肠癌家族史患者中可能与不良临床预后有关 ( $OR=2.40$ ), 而 CDX2 缺失在无家族史患者中与不良临床预后无关。当然, 分子病理流行病学在其他慢性病研究中也发挥其独特的作用。该学科是集分子生物学、病理学和流行病学交流融合的产物。如 Kuller<sup>[26]</sup> 所言应鼓励流行病学家、分子病理学家和其他实验室科学家的合作, 以改善对于疾病病因的认识。

### 参 考 文 献

- [1] Ogino S, Stampfer M. Lifestyle factors and microsatellite instability in colorectal cancer: the evolving field of molecular pathological epidemiology[J]. J Natl Cancer Inst, 2010, 102(6): 365-367.
- [2] Ogino S, King EE, Beck AH, et al. Interdisciplinary education to integrate pathology and epidemiology: towards molecular and population-level health science[J]. Am J Epidemiol, 2012, 176(8): 659-667.
- [3] Curtin K, Samowitz WS, Wolff RK, et al. Somatic alterations, metabolizing genes and smoking in rectal cancer [J]. Int J Cancer, 2009, 125(1): 158-164.
- [4] Nishi A, Kawachi I, Koenen KC, et al. Life course epidemiology and molecular pathological epidemiology [J]. Am J Prev Med, 2015, 48(1): 116-119.
- [5] Ogino S, Chan AT, Fuchs CS, et al. Molecular pathological epidemiology of colorectal neoplasia: an emerging transdisciplinary and interdisciplinary field [J]. Gut, 2011, 60(3): 397-411.
- [6] Tan HZ. Modern Epidemiology[M]. 2<sup>nd</sup> ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008; 3. (in Chinese)  
谭红专. 现代流行病学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008; 3.
- [7] Liu Y, Tan HZ, Wu D. Translational epidemiology [J]. Chin J Epidemiol, 2013, 34(9): 940-942. (in Chinese)  
柳祎, 谭红专, 吴迪. 转化流行病学[J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(9): 940-942.
- [8] Yang JL, Wang L, Pan XY, et al. Molecular pathological diagnosis of present situation and thinking [J]. J Diag Pathol, 2014 (6) : 341-346. (in Chinese)  
杨举伦, 王丽, 潘鑫艳, 等. 分子病理诊断的现状与思考[J]. 诊断病理学杂志, 2014(6): 341-346.
- [9] Sherman ME, Howatt W, Blows FM, et al. Molecular pathology in epidemiologic studies: a primer on key considerations [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2010, 19(4): 966-972.
- [10] Hu P, Xu YP, Zhang XH, et al. Epidemiology of polycystic ovary syndrome of Chinese Han ethnic women in Anhui province [J]. Chin J Dis Control Prev, 2008, 12(1): 8-11. (in Chinese)  
胡频, 徐玉萍, 张晓慧, 等. 皖籍汉族多囊卵巢综合征的遗传流行病学分析[J]. 疾病控制杂志, 2008, 12(1): 8-11.
- [11] Gao S, Yang WS, Gao J, et al. Progress in molecular epidemiology of primary hepatocellular carcinoma [J]. Chin Cancer, 2012, 21(2): 136-144. (in Chinese)  
高姗, 杨万水, 高静, 等. 原发性肝癌的分子流行病学研究进展 [J]. 中国肿瘤, 2012, 21(2): 136-144.
- [12] Kuller LH, Bracken MB, Ogino S, et al. The role of epidemiology in the era of molecular epidemiology and genomics: Summary of the 2013 AJE-sponsored Society of Epidemiologic Research Symposium [J]. Am J Epidemiol, 2013, 178(9): 1350-1354.
- [13] Chan AT, Ogino S, Fuchs CS. Aspirin use and survival after diagnosis of colorectal cancer [J]. JAMA, 2009, 302(6): 649-658.
- [14] Lochhead P, Chan AT, Giovannucci E, et al. Progress and opportunities in molecular pathological epidemiology of colorectal premalignant lesions [J]. Am J Gastroenterol, 2014, 109(8): 1205-1214.
- [15] Field AE, Camargo CJ, Ogino S. The merits of subtyping obesity: one size does not fit all [J]. JAMA, 2013, 310(20): 2147-2148.
- [16] Naguib A, Mitrou PN, Gay LJ, et al. Dietary, lifestyle and clinicopathological factors associated with BRAF and K-ras mutations arising in distinct subsets of colorectal cancers in the EPIC Norfolk Study [J]. BMC Cancer, 2010, 10: 99.
- [17] Garcia-Closas M, Couch FJ, Lindstrom S, et al. Genome-wide association studies identify four ER negative-specific breast cancer risk loci [J]. Nat Genet, 2013, 45(4): 392-398.
- [18] Hubner RA, Houlston RS. Re: MLH1 93G>A promoter polymorphism and the risk of microsatellite-unstable colorectal cancer [J]. J Natl Cancer Inst, 2007, 99(19): 1490-1491.
- [19] Chan AT, Ogino S, Fuchs CS. Aspirin and the risk of colorectal cancer in relation to the expression of COX-2 [J]. N Engl J Med, 2007, 356(21): 2131-2142.
- [20] Brink M, Weijenberg MP, De Goeij AF, et al. Fat and K-ras mutations in sporadic colorectal cancer in The Netherlands Cohort Study [J]. Carcinogenesis, 2004, 25(9): 1619-1628.
- [21] van Guelpen B, Dahlin AM, Hultdin J, et al. One-carbon metabolism and CpG island methylator phenotype status in incident colorectal cancer: a nested case-referent study [J]. Cancer Causes Control, 2010, 21(4): 557-566.
- [22] Haydon AM, Macinnis RJ, English DR, et al. Effect of physical activity and body size on survival after diagnosis with colorectal cancer [J]. Gut, 2006, 55(1): 62-67.
- [23] Meyerhardt JA, Giovannucci EL, Holmes MD, et al. Physical activity and survival after colorectal cancer diagnosis [J]. J Clin Oncol, 2006, 24(22): 3527-3534.
- [24] Meyerhardt JA, Heseltine D, Niedzwiecki D, et al. Impact of physical activity on cancer recurrence and survival in patients with stage III colon cancer: findings from CALGB 89803 [J]. J Clin Oncol, 2006, 24(22): 3535-3541.
- [25] Baba Y, Noshio K, Shima K, et al. Relationship of CDX2 loss with molecular features and prognosis in colorectal cancer [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(14): 4665-4673.
- [26] Kuller LH. Invited commentary: the 21st century epidemiologist—a need for different training? [J]. Am J Epidemiol, 2012, 176(8): 668-671.

(收稿日期: 2014-12-30)

(本文编辑: 张林东)