

NQO1_{C609T}、XRCC1_{G28152A} 基因多态性与吸烟的交互作用和胃癌的关系

陈道俊 丁锐 曹炜 叶冬青

【摘要】 目的 探讨NQO1_{C609T}、XRCC1_{G28152A}基因多态性与吸烟的交互作用和胃癌的关系。方法 采用1:1配对病例对照研究方法,应用PCR-RFLP对基因多态性进行分析,根据交互系数 γ 判断交互作用类型,探询胃癌可能的遗传及环境因素。结果 334例胃癌患者,平均年龄在57岁,其中男性占65.3%;病例组吸烟率(55.09%)显著高于对照组(36.53%);NQO1_{C609T}基因杂合突变型(CT)、纯合突变型(TT)增加了胃癌的发病风险(OR 值分别为1.507、3.050);XRCC1_{G28152A}基因多态性与胃癌遗传易感性没有关系;同时携带XRCC1AG和NQO1TT个体较XRCC1AG和NQO1CC个体胃癌的发病增加2.789倍;携带XRCC1GG和NQO1TT个体的胃癌发病风险是XRCC1GG和NQO1CC个体的4.448倍;NQO1纯合突变型(TT)与吸烟在胃癌发生中有正向交互作用($OR=4.057, \gamma=1.272$),XRCC1纯合突变型(GG)与吸烟在胃癌发生中有正向交互作用($OR=3.094, \gamma=2.070$)。结论 NQO1、XRCC1基因多态性与吸烟的交互作用增加了胃癌发病风险。胃癌的发生表现为基因及环境因素综合作用的结果。

【关键词】 胃肿瘤; NQO1基因; XRCC1基因; 吸烟

Interaction between polymorphisms in NQO1_{C609T} and XRCC1_{G28152A} and their correlation with smoking on gastric cancer CHEN Dao-jun¹, DING Rui¹, CAO Wei², YE Dong-qing¹. 1 School of Public Health, Anhui Medical University, Hefei 230032, China; 2 Department of General Surgery, Second Hospital of Anhui Medical University; 3 Department of Graduate, Anhui Medical University
Corresponding author: YE Dong-qing, Email: cjdcq@mail.hf.ah.cn
This work was supported by a grant from the Young Teacher Evolution of Education Department of Anhui (No. 2008jq1064).

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between polymorphism of NAD(P)H quinone oxidoreductase 1 (NQO1) and X-ray repair cross-complementing group1 (XRCC1) and their correlation with smoking on the susceptibility to gastric cancer. **Methods** A 1:1 case-control study of 334 patients with primary gastric cancer, with non-cancer or alimentary inpatients as control group (matched for ages ± 5 years, sex and region) in Anhui province was conducted to analyze the NQO1_{C609T} and XRCC1_{G28152A}. Gene types by PCR-based restriction fragment length polymorphism techniques. Interaction index (γ) was calculated to determine the type of gene-environment interaction. **Results** The average age of 334 cases of gastric cancer patients was 57 years, with 65.3% of them were male. Smoking rate in the case group (55.09%) was significantly higher than in the control group (36.53%). The consequence showing that it carried the heterozygous variant (CT) or homozygous variant (TT) of NQO1 could enhance the risk of gastric cancer ($OR=1.507, 3.050$), but not the XRCC1_{G28152A} gene polymorphism or the susceptibility to gastric cancer. At the same time, individuals that carrying XRCC1AG and NQO1TT could increase 2.789 times the incidence of gastric cancer than those who carrying the XRCC1AG or NQO1CC. The gastric cancer risk of XRCC1GG individuals that carrying NQO1TT was 4.448 times higher than those who carrying XRCC1GG or NQO1CC. The positive interactions of NQO1 homozygous variant (TT), XRCC1 homozygous variant (GG) and smoking were revealed in the occurrence rates of gastric cancer ($OR=3.094, \gamma=2.070$). **Conclusion** Our research findings showed that the significant interactions between genetic polymorphisms of NQO1, XRCC1 and smoking added the risk of gastric cancer, while genetic and environmental hazardous factors co-affecting the development of gastric cancer.

【Key words】 Gastric neoplasms; NAD(P)H quinone oxidoreductase 1; X-ray repair cross-complementing group1; Smoking

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.01.002

基金项目:安徽省教育厅青年教师项目(2008jq1064)

作者单位:230032 合肥,安徽医科大学公共卫生学院(陈道俊、丁锐),附属第二医院(曹炜),研究生院(叶冬青)

通信作者:叶冬青, Email: cjdcq@mail.hf.ah.cn

肿瘤的发生中环境因素与基因多态性具有重要的作用^[1]。依赖还原型辅酶 I/II: 醌氧化还原酶 [NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1, NQO1] 是细胞内重要的 II 相反应酶, 通过还原反应参与外源性物质代谢过程。NQO1 基因其 cDNA609 位点上存在着 C/T 间单核苷酸多态性(位点 C609T), 此位点多态性导致其编码蛋白质上第 187 位上脯氨酸/丝氨酸(Pro/Ser)的改变, 致该酶活性减低^[2]。X 线修复交叉互补基因(X-ray repair cross-complementing group 1, XRCC1)是一种 DNA 损伤修复基因, 其第 10 外显子 A 转换为 G(位点 G28152A), 导致第 399 密码子编码的谷氨酰胺(Gln)改变成精氨酸(Arg), 进而影响 XRCC1 蛋白的功能^[3]。本研究对两基因多态性以及与吸烟的交互作用进行了检测和分析。

对象与方法

1. 调查对象: 2007 年 7 月至 2009 年 8 月, 在安徽省合肥地区选择经三甲医院确诊的原发性胃癌患者(经病理报告证实)334 例汉族人为病例组, 年龄 35~78 岁(57.23±8.67), 其中男性 218 例(65.3%)、女性 116 例(34.7%)。按 1:1 配对, 随机选取与病例组同性别、同居住地、年龄±5 岁, 无消化系统疾病、无肿瘤者为对照组。面访调查对象并填写调查表, 知情同意签字后, 取静脉血样本 4~5 ml, 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝, -20℃低温保存, 1 周内盐析法提取 DNA。病例组吸烟人数 184 例(55.09%), 对照组吸烟人数 122 例(36.53%)。吸烟定义: 每天吸烟至少 1 支, 持续吸烟 6 个月以上者为吸烟。

2. 基因分型:

(1) NQO1_{C609T}: 引物 F: 5'-TCT TAC TGA GAA GCC CAG ACC AAC T-3'; R: 5'-CTC CAG GCG TTT CTT CCA TCC-3'。PCR 反应条件: 经 95℃ 预变性 5 min, 按 94℃ 40 s, 54℃ 30 s, 72℃ 30 s, 循环 35 次后, 于 72℃ 延伸 10 min。DNA 模板经 PCR 扩增后产生 212 bp 片段, NQO1 基因 CC 基因型无 Hinf I 酶切位点, 酶切图谱只见 212 bp 条带; TT 基因型两等位基因序列都发生 C→T 突变, 出现 Hinf I 酶切位点, 酶切图谱可见 83、129 bp 2 个条带; CT 杂合基因型可见 83、129、212 bp 3 个条带。

(2) XRCC1_{G28152A}: 引物 F: 5'-TTG TGC TTT CTC TGT GTC CA-3'; R: 5'-TCC TCC AGC CTT TTC TGA TA-3'。PCR 反应条件: 经 95℃ 预变性 5 min, 按 94℃ 50 s, 52℃ 50 s, 72℃ 50 s, 循环 35

次后, 于 72℃ 延伸 10 min。DNA 模板经 PCR 扩增后产生 615 bp 片段, XRCC1 基因 AA 基因型无 Msp I 内切酶消化位点, 酶切图谱只见 615 bp 条带; GG 基因型两等位基因序列都发生 A→G 突变, 出现 Msp I 酶切位点, 酶切图谱可见 367 bp 和 248 bp 2 条带; AG 杂合基因型可见 367、248、615 bp 共 3 个条带。

3. 统计学分析: 采用 SPSS 13.0 软件处理, 条件 logistic 回归模型分析交互作用, χ^2 检验分析 Hardy-Weinberg 遗传平衡性。所有统计采样双侧概率检验 ($\alpha=0.05$)。根据 Khoury 和 Wagener^[4]提出的交互作用模型和交互系数 $\gamma(\gamma = \beta_e/\beta_c)$ 判断基因-环境交互作用模型以及交互作用类型^[5,6]。

判定依据 1: $\gamma > 1$, 表示基因对环境暴露的效应有放大作用, 正向交互作用; $\gamma < 1$, 表示基因对环境暴露的效应有减弱作用, 负向交互作用; $\gamma = 1$, 表示基因对环境暴露没有交互作用。

判定依据 2: $OR_e = OR_c \times OR_{ce}$ 为相乘模型; $OR_{ce} > OR_c \times OR_e$ 为超相乘模型; $OR_{ce} < OR_c \times OR_e$ 为次相乘模型; $OR_{ce} = OR_c + OR_e - 1$ 为相加模型。

结 果

1. 研究对象一般情况: 吸烟、饮酒和文化程度在病例组 and 对照组中分布有明显的差异(表 1)。

表 1 病例组与对照组的一般情况

变 量	病例组	对照组	χ^2 值	P 值
吸烟			23.181	0.000
是	184	122		
否	150	212		
饮酒			6.619	0.013
是	170	138		
否	164	196		
文化程度			10.920	0.012
小学及以下	168	178		
初中	76	49		
高中及中专	37	58		
大专及以上	53	49		
个人年收入(元)			7.359	0.061
<5000	122	126		
5000~	59	52		
10 000~	110	90		
>20 000	43	66		

2. NQO1、XRCC1 基因多态性与胃癌易感性的关系: χ^2 检验结果显示, 对照组中 NQO1、XRCC1 基因型频率分别符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡规律 ($P > 0.05$)。表 2 结果显示, 相对于携带 NQO1CC 基因型, 携带 NQO1CT 的胃癌发病风险是其 1.507 倍

($OR=1.507, 95\%CI: 1.064 \sim 2.136$); 病例组 NQO1TT 基因型频率明显高于对照组, 携带 TT 型的个体患胃癌的危险性比携带 CC 型高 3 倍左右 ($OR=3.050, 95\%CI: 2.009 \sim 4.632$)。携带 XRCC1GG 基因型的胃癌发病风险虽然是 AA 型的 1.467 倍, 但差异没有统计学意义。

表 2 NQO1 基因型与胃癌易感性条件 logistic 回归分析

基因	基因型	病例组	对照组	Wald χ^2 值	P 值	OR 值(95%CI)
NQO1	CC	107	160			
	CT	125	124	5.319	0.021	1.507(1.064 ~ 2.136)
	TT	102	50	27.398	0.000	3.050(2.009 ~ 4.632)
XRCC1	AA	53	58			
	AG	104	144	1.051	0.305	0.790(0.504 ~ 1.239)
	GG	177	132	2.981	0.084	1.467(0.949 ~ 2.268)

分层后交互分析显示(表 3), 同时携带 XRCC1AG 和 NQO1TT 基因型个体较 XRCC1AG 和 NQO1CC 个体患胃癌的危险性显著增加, $OR=2.789(95\%CI: 1.437 \sim 5.416)$; 同时携带 XRCC1GG 和 NQO1TT 基因型个体患胃癌发病风险是 XRCC1GG 和 NQO1CC 个体的 4.448 倍 ($OR=4.448, 95\%CI: 2.169 \sim 9.121$)。

表 3 XRCC1 与 NQO1 基因多态性交互作用分层分析

XRCC1	NQO1	病例组	对照组	Wald χ^2 值	P 值	OR 值(95%CI)
AA	CC	22	30			
AA	CT	11	15	0.000	1.000	1.000(0.386 ~ 2.593)
AA	TT	20	13	2.669	0.102	2.098(0.862 ~ 5.103)
AG	CC	35	71			
AG	CT	36	49	1.753	0.186	1.490(0.826 ~ 2.691)
AG	TT	33	24	9.180	0.002	2.789(1.437 ~ 5.416)
GG	CC	50	59			
GG	CT	78	60	2.756	0.097	1.534(0.926 ~ 4.542)
GG	TT	49	13	16.586	0.000	4.448(2.169 ~ 9.121)

3. 基因多态性与吸烟交互作用: 表 4 显示, 携带 NQO1CC 基因型者吸烟的 OR 为 3.008 ($95\%CI: 1.755 \sim 5.154$); 单独携带 NQO1TT 型的 OR_e 为 5.809 ($95\%CI: 3.209 \sim 10.518$), 两者同时存在时, 交互作用 OR_{γ} 值 4.057 ($95\%CI: 2.187 \sim 7.526$), γ 值 1.272 > 1, $OR_{\gamma}(4.057) < OR_e(3.008) \times OR_e(5.809)$ 。携带 XRCC1GG 者同时吸烟的交互作用 OR_{γ} 为 3.094 ($95\%CI: 1.596 \sim 6.002$), γ 值 2.070 > 1, $OR_{\gamma}(3.094) > OR_e(1.727) \times OR_e(1.346)$ 。

讨 论

NQO1 是体内一种重要的 II 相反应酶, 该酶以

表 4 NQO1 和 XRCC1 基因多态性与吸烟的交互作用

基因型	吸烟	病例组	对照组	OR 值 ^a	95%CI	β	β_e	γ
NQO1	CC 无	47	112	-	-	-	-	-
	CT 无	47	77	1.467	0.889 ~ 2.421	-	-	-
	TT 无	56	23	5.809 ^b	3.209 ~ 10.518	-	-	-
	CC 有	60	48	3.008 ^c	1.755 ~ 5.154	1.101	-	-
	CT 有	78	47	3.962	2.347 ~ 6.689	-	1.377	-
	TT 有	46	27	4.057 ^d	2.187 ~ 7.526	-	1.400	1.272
XRCC1	AA 无	24	34			-	-	-
	AG 无	43	90	0.679	0.359 ~ 1.285	-	-	-
	GG 无	83	88	1.346 ^e	0.735 ~ 2.459	-	-	-
	AA 有	29	24	1.727 ^f	0.808 ~ 3.691	0.546	-	-
	AG 有	61	54	1.638	0.851 ~ 3.152	-	0.494	-
	GG 有	94	44	3.094 ^g	1.596 ~ 6.002	-	1.130	2.070

注: ^a调整了饮酒和文化程度; ^b单独纯合突变型暴露的 OR 值 (OR_e); ^c单独吸烟暴露的 OR 值 (OR_e); ^d吸烟与纯合突变型交互后的 OR 值 (OR_{γ})

NAD(P)H 为受体, 将 NADH 或 NADPH 的电子传递给醌类及其衍生物, 发生还原反应, 生成低毒的氢醌类化合物, 避免了对细胞的损伤, 降低具有致癌性和致畸性的醌类化合物的危害^[7]。有研究报道 NQO1 基因突变型蛋白产物在细胞中不稳定, 其半减期只有 2 h, 而野生型蛋白半减期为 18 h, 突变型蛋白通过细胞内蛋白水解酶快速降解, 而野生型蛋白不受此途径影响^[8], 经测定在杂合型中此酶的活性较野生型下降 3 倍左右, 而纯合突变型中此酶活性几乎完全丧失。

XRCC1 是一个重要的 DNA 修复基因, 该基因位于 19 号染色体上, 编码的蛋白质有 3 个功能区, 分别和不同的酶相互作用, 主要参与基因修复(碱基切除修复和单链断裂修复)。目前已发现的 XRCC1 多态性位点有 60 多个, 约 30 个位于外显子或启动子区, 而研究最为广泛 3 个位点是 C26304T、G27466A 和 G28152A, 分别位于第 6、9 和 10 外显子中, 并导致其相应蛋白质的氨基酸残基发生改变, 具体为 Arg 194Trp、Arg280His 和 Arg399Gln。第 194 和 280 密码子位于 DNA 聚合酶 β 结合区域和 PARP 结合区域之间, 第 399 密码子位于 PARP 结合区域^[9], 提示这 3 个位点氨基酸的改变, 可能改变 XRCC1 的功能。

吸烟是肿瘤的危险因素已被大量的调查证实, 现在研究的热点在吸烟与肿瘤易感基因多态性的交互作用上, 特别在毒物代谢酶基因多态性和 DNA 损伤修复酶基因多态性方面。

本次研究应用 Khoury 等交互作用模型理论, 探讨 NQO1_{C609T} 和 XRCC1_{G28152A} 基因多态性与吸烟的交互作用, 及其对胃癌发生的意义。研究发现: ①

NQO1 突变基因型(CT 和 TT)是胃癌的易感基因型,个体携带 CT 或 TT 基因型可能增加了发生胃癌的风险,且纯合突变型(TT)的风险更大($OR=3.050$),与 Zhang 等^[10]在中国北部人群的调查结果一致。NQO1TT 型与吸烟的交互作用 OR_e 值 4.057,且 γ 值 $1.272 > 1$;提示 NQO1TT 型与吸烟暴露在胃癌发生中有正向交互作用,携带 NQO1TT 型者吸烟的危害效应更大; $OR_e(4.057) < OR_e(3.008) \times OR_e(5.809)$,显示 NQO1TT 基因与吸烟交互作用机制在胃癌发生中可能为次相乘模型。②XRCC1 基因多态性与胃癌关系不大,但 XRCC1 纯合突变型(GG)与吸烟的交互作用 OR_e 值 3.094,且 γ 值 $2.070 > 1$,说明 XRCC1GG 型与吸烟暴露在胃癌发生中有正向交互作用, XRCC1GG 型对吸烟的危害效应有放大作用。 $OR_e(3.094) > OR_e(1.727) \times OR_e(1.346)$,显示 XRCC1 GG 基因型与吸烟交互作用机制在胃癌发生中可能为超相乘模型。③XRCC1 与 NQO1 基因突变型的交互作用增加了胃癌的发病风险。同时携带 XRCC1AG 和 NQO1TT 基因型个体较 XRCC1AG 和 NQO1CC 基因型个体发生胃癌的危险性增加 2.789 倍;同时携带 XRCC1GG 和 NQO1TT 型个体胃癌发病风险是 XRCC1GG 型和 NQO1CC 型 4.448 倍。

吸烟与基因交互作用的研究,再次论证了虽然肿瘤易感基因型没有办法改变,但可以根据其与环境危险因素交互作用的存在与否,指导携带相应易感基因型的个体,采取可行的控制环境危险因素的措施,既能达到有针对性预防肿瘤的目的,又能重新认识这些环境危险因素的作用^[11]。

参 考 文 献

[1] Hatagima A. Genetic polymorphisms and metabolism of endocrine disruptors in cancer susceptibility. *Cad Saude Publica*, 2002, 18 (2):357-377.
 [2] Traver RD, Horikoshi T, Danenberg KD, et al. NAD(P)H: quinine oxidoreductase gene expression in human colon

carcinoma cells: characterization of a mutation which modulates DT-diaphorase activity and mitomycin sensitivity. *Cancer Res*, 1992, 52(4):797-802.
 [3] Masson M, Niedergang C, Schreiber V, et al. XRCC1 is specifically associated with poly (ADP ribose) polymerase and negatively regulates its activity following DNA damage. *Mol Cell Biol*, 1998, 18(6):3563-3571.
 [4] Khoury MJ, Wagener DK. Epidemiological evaluation of the use of genetics to improve the predictive value of disease risk factors. *Am J Hum Genet*, 1995, 56(4):835-844.
 [5] Taioli E, Zocchetti C, Garte S. Models of interaction between metabolic genes and environmental exposure in cancer susceptibility. *Environ Health Perspect*, 1998, 106(2):67-70.
 [6] Shostak S. Locating gene-environment interaction: at the intersections of genetics and public health. *Soc Sci Med*, 2003, 56 (11):2327-2342.
 [7] Dinkova-Kostova AT, Talalay P. Persuasive evidence that quinone reductase type 1 (DT diaphorase) protects cells against the toxicity of electrophiles and reactive forms of oxygen. *Free Radic Biol Med*, 2000, 29(3-4):231-240.
 [8] Siegel D, Anwar A, Winski SL, et al. Rapid polyubiquitination and proteasomal degradation of a mutant form of NADPH: quinine oxidoreductase. *Mol Pharmacol*, 2001, 59(2):263-268.
 [9] Dulic A, Bates PA, Zhang X, et al. BRCT domain interactions in the heterodimeric DNA repair protein XRCC1-DNA ligase. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 40(20):5906-5913.
 [10] Zhang JH, Li Y, Wang R, et al. NQO1 C609T polymorphism associated with esophageal cancer and gastric cardiac carcinoma in North China. *World J Gastroenterol*, 2003, 9(7):1390-1393.
 [11] Shen J, Wang RT, Xu XP. Application of the interaction models between the polymorphism (s) of metabolic gene (s) and environmental exposure. *Chin J Epidemiol*, 2001, 22(1):61-64. (in Chinese)

沈靖, 王润田, 徐希平. 代谢酶基因多态性与环境暴露交互作用的分析方法及其应用. *中华流行病学杂志*, 2001, 22(1):61-64.

(收稿日期:2010-09-09)

(本文编辑:尹廉)