

• 综 述 •

生物学标志物在流行病学研究中的应用

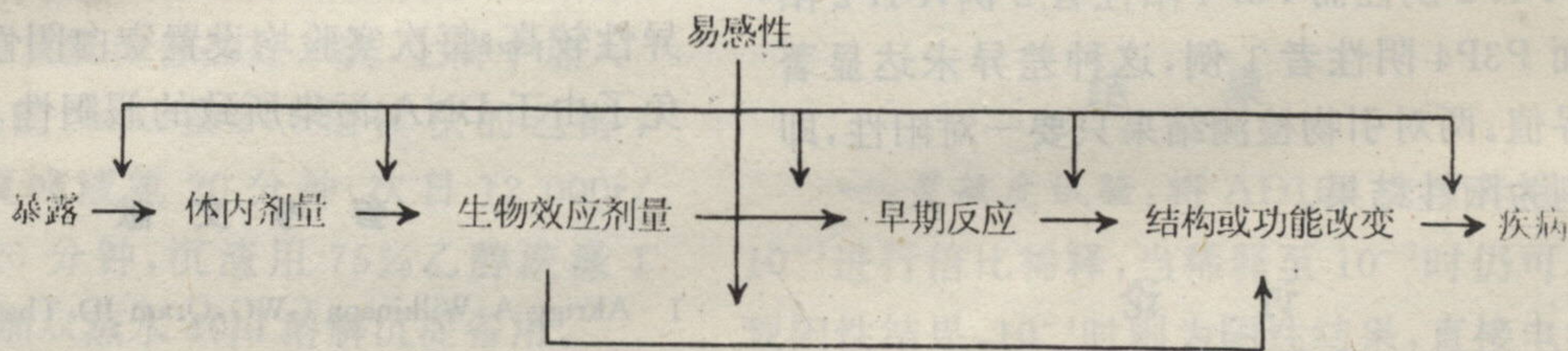
雷秀芬 综述 王润田 审校

近年来,分子生物学等众多学科的发展,给生物学标志物在流行病学研究中的应用提供了越来越多的机会,使得生物学标志物成了许多传统的流行病学研究的一个重要手段^[1]。这些标志物通常是生化的、分子的、遗传的或免疫的指标,这些指标代表着从因(暴露)到果(疾病)的过程中所出现的一个个信号^[2]。

在流行病学研究中应用生物学标志物,并非一件新生事物。在传染病研究中,通过抗体滴度的测定来确认暴露与否;血铅和血中其它金属被用作工人暴露程度测量的指标;血清 CEA 和 AFP 对于消化道肿瘤的标志物作用,等等。现在所不同的是,各学科的发展使得标志物更敏感,标志物可指示异体生

物与各种生化过程之间的相互作用,指示器官系统在分子水平的微小改变。流行病学的现在和未来,都必将求助于这一有力武器。

一、生物学标志物的分类:生物学标志物可按不同的方式来分类,但大多数都以 Perera 和 Weinstein^[3]提出的分类方法为依据略加修改。在 Perera 的分类中,标志物分为易感性(susceptibility)、体内剂量(intenal dose, ID)、生物学效应剂量(biologically effective dose, BED)和生物学反应(biological response, BR)四种。对这种分类法的修改,是将从暴露到疾病这一过程中发生的连续事件都看作标志物,包括其中易感因素的效应修正作用,这些标志物之间的关系见附图^[4]。



附图 生物学标志物同暴露及疾病的关系

这里的暴露相当于病因研究中的危险因素或自变量。其中体内剂量标志物提供了外源性物质被吸收入人体的生化证据,例如通过尿铅的测定确认环境铅的接触,尿中烷基磷酸盐残基表示有机磷农药的接触^[5],生物效应剂量标志物是吸收入体内的化学物质与靶分子相结合的证据,如接触苯并(a)芘后,在淋巴细胞能检测到特异的 DNA 加合物^[6]。早期反应标志物在整个过程中处于后期阶段,表示化学物质对器官潜在的较大损害作用,如化学致癌物所导致的癌基因的激活^[7]。理论上说, BED 和 BR 标志物,与体内剂量标志物(ID)都有剂量相关关系。最后一个标志物是疾病,这一标志物常被用于疾病的筛检,其定义是疾病临床前期生物学的或生物化学的定量指标或者疾病本身的显示,是暴露-疾病联系中的因变量。

另一类不在暴露-疾病链中的标志物是易感性标志物。但由附图可清楚地看出,这类标志物在暴露-疾病链中的每一步都起着重要作用,是决定疾病能否发生的主要因素。它们是不依赖于暴露,在暴露前即存在的遗传性、获得性的可测量指标,决定着因暴露而导致疾病产生的可能性。易感性标志物相当于流行病学术语中的效应修正因子,例如绝经后妇女使用外源性雌激素,发生子宫内膜癌的危险性取决于她们是否过度肥胖。过度肥胖是效应修正因子,亦即易感性标志物,雌激素是原因,也就是暴露。

二、应用生物学标志物的研究特点:应用生物学标志物,对流行病学研究的实质、结构以及对研究者知识的要求都产生了影响。Hulka^[9]将其称为过渡

流行病学研究(transitional epidemiological studies)。这些研究以生物学标志物为桥梁,沟通了实验室研究与以人群为基础的流行病学研究,它们被设计用以评价暴露、健康效应及易感性,这些研究的目的则在于:阐明生物学标志物的意义,以使其在流行病学研究中得以应用;评价个体间与个体内的变异;评价标志物现场运用的可行性;阐明在传统流行病学研究中观察到的暴露-疾病关系的机理;识别已经存在的暴露-效应关系。

通常,这种过渡流行病学研究不是以人群为基础的,样本大小可能是中等大小(50~100 例或更少)^[10]。因为以生物学标志物作为反应变量,组间差异可能比通常的流行病学研究要大一些^[10]。再者,生物学标志物的应用可将分析研究单位从整个人体器官水平转变为细胞或分子水平^[11]。例如,一个人可能只代表一个病例,但却可以是大量复杂的异常细胞,这样也就使研究对象的数量要求减少。此外,在应用生物学标志物的研究中,研究对象可能符合某种疾病或某暴露规定;限制与匹配是基本的设计原则^[4];分析常常涉及到连续变量和转换变量^[10];而且会应用更新的计分方法和统计方法^[12]。Makuch 和 Muenz^[13]曾经应用图解分析的方法来分析肿瘤标志物,这一方法可能也适用于评价多个生物学标志物,使标志物进入回归模型中,以便进一步研究标志物与其它变量之间的关系。

另一方面,生物学标志物的应用使得对暴露-疾病间联系的分辨更细微。如在肿瘤的发生发展过程中,癌基因、抗癌基因和转癌基因都起着重要作用。传统的流行病学研究仅从大体上研究作为结果的肿瘤与某些因素的关系,常常是很不容易的。将分子生物学的方法与传统的流行病学研究结合起来,研究癌基因的激活或异常表达或抑癌基因的失活和丢失与某些因素之间的关系和机理,必将为真正的因果关系提供最直接可靠的证据。在这样的研究中,暴露与疾病是新的意义上的暴露与疾病。例如可以通过测定机体乙酰化过程的快慢^[14],或测量尿中 H-ras 原癌基因表达产物 p21 蛋白的含量^[15],或定量测定膀胱细胞的癌前非整倍体状态的程度^[16]等生物学标志物,来确定一个人是否患有膀胱癌或是否接触联苯胺。生物学标志物的应用使得暴露-疾病的联系成为更细微、量化的关系。

三、运用生物学标志物对各种研究设计的影响:

1. 病例对照研究:在病例对照研究中,尽管病例和对照均可以生物学标志物的有无来定义,但是有

必要考虑以哪一类型的生物学标志物来定义病例。运用生物学标志物,可能使得病例的定义由广义趋向于狭义。对于使病例由广义变为狭义,其在病例对照研究中的作用,已经有过研究报道^[17]。结果表明,当病例狭义定义可以使人更明确的同时,它也增强或降低统计学检验的效力。这又取决于样本的大小和所要检出的区别的大小。

同样的,在应用生物学标志物的研究中,如何适当地定义对照,哪些细微的生物学改变必须剔除,都是比较棘手的问题,特别是当有些生物学效应可能是也可能不是疾病自然史的一部分时,或许可以不用病例和对照,而以从无到最严重的梯度效应来代表结果变量。随着对生物学标志物研究的深入,回顾性研究的设计和应用将会越来越多。例如,人们可以利用石蜡包埋的组织块来检测组织中的 DNA 含量和原癌基因的激活^[18],以免疫组织化学的方法检测标志物的表达^[19]。

此外,生物学标志物的可靠性,也就是在测量同一个体时它的稳定程度,会影响到病例-对照研究中病例和对照的选择,有时可能会导致选择偏倚^[20],值得引起注意。

另外,生物学标志物可以提高分析流行病学解决因果关系的能力,例如,以检测致癌物与 DNA 或蛋白质大分子的加合物来区分暴露组与非暴露组,较之依靠个人回忆、工作经历、环境监测等来区分更客观准确,因而减少了错误分类,提高了研究效率^[21]。

2. 群组研究:群组研究的前提是所有研究对象在进入研究时都是无病的,那么在涉及到生物学标志物的时候,是否所有对象在追踪时或暴露以前都应该没有此标志物呢?如果标志物是疾病的替身,即属于疾病标志物,那么在研究开始前应该没有该标志物。然而,如果标志物是遗传易感性的标志,作为混杂因子,就应该使其在各组均衡分布,作为感兴趣的变量,就应该限制其分布。

如果一个队列研究没有内对照,那么就有一个以什么样的组作为对照组的问题。如果研究是一个暴露-选择的纵向研究,以体内剂量标志物来评价暴露就会出现很多问题。例如,是以标志物的有无还是以标志物的程度来区分有无暴露,举例说明:如果以血红蛋白加合物作为氧乙烯接触工人的体内剂量标志物,那么,将没有加合物的个体排除在外,可能是不合适的,因为没有职业接触的工人中存在有一个加合物的本底水平^[22]。这样,暴露和非暴露就应该

以标志物的起始浓度来区别。

3. 横断面研究:在开展纵向或病例—对照研究之前,通常应该先进行一个横断面的研究。横断面研究通常最易行,但所得到的信息量也最少,这是因为因变量和自变量之间在时间先后上的关系无法确立,因而也就无法确定一个因是否为一个果的原因。然而,如果已经在动物试验或体外测试系统中建立起了一个机制模型,从横断面的设计中就可能得到更多的信息。这类研究无论作为进一步研究的启发性研究或作为决定纵向与回顾性研究可行性的研究,其价值仍然很高。如果在标志物之间有因果关系的假设,那么将生物学标志物应用于横断面研究中会是一个很好的开端^[23]。

4. 干预研究:最早运用生物学标志物进行干预研究,是对肿瘤发生危险性较高的人群进行的研究^[24]。假设标志物是可能发生肿瘤的标志,标志物的减少即意味着疾病得到了控制。如果这一假设成立,就很有意义,但是标志物与疾病间真正的联系需要在进行这类研究前证实^[25]。

肿瘤生物学标志物的广泛研究使之得以在干预中成为有意义的标志物。一个标志物应该服务于危险的评价,有助于肿瘤的早期诊断,反映肿瘤负荷,用于预后评价,监测治疗效果,检测早期迹象和组织转化^[26]。所有这些用途,很难要求一个肿瘤标志物都能达到^[27]。将不同的标志物结合起来,甚至将标志物与调查表结合起来,再结合各种各样的统计方法,就会比单一标志物的用途大得多^[28]。

另一类涉及生物学标志物的干预研究是对高危人群疾病的早期监测。Schulte 等人^[29]在对膀胱癌高危的职业人群研究中,通过联合运用多个标志物,对危险程度不同的亚组进行了研究。

综上所述,在应用生物学标志物时,无论是病例对照研究还是队列研究,都要慎重考虑标志物代表的是什麼,不同类型的标志物对结果会有什么影响,以及对所得出的结果如何解释等等。

生物学标志物在流行病学研究中的应用将会越来越广泛,它使得对“暴露变量”的测量更准确,有助于病因和发病机制的研究,使我们了解疾病发生的生物学过程,从而更合理地解释流行病学研究中所得到的资料。生物学标志物的应用还可以使我们识别亚临床疾病,从而为疾病预防提供更多的机会。正如 Perera 之所言,生物学标志物是流行病学和肿瘤预防的希望之所在^[21]。

参 考 文 献

- 1 Hulka BS. Epidemiologic studies using biological markers : issues for epidemiologists. *Cancer Epidemiol Biomark Prev*, 1991, 1 : 13.
- 2 Committee on biologic markers of the National Research Council. Biological markers in environmental health research. *Environ Health Perspect*, 1987, 74 : 3.
- 3 Perera FP, Weinstein IB. Molecular epidemiology and carcinogen DNA adduct detection; New approaches to studies of human cancer causation. *J Chron Dis*, 1982, 35 : 581.
- 4 Hulka BS, Margolin BH. Methodological issues in epidemiologic studies using biologic markers. *Am J Epi*, 1992, 135(2):200.
- 5 Duncan RC, Griffith J. Monitoring study of urinary metabolites and selected symptomatology among Florida citrus workers. *J Toxicol Environ Health*, 1985, 16 : 509.
- 6 Perera FP, Poirier MC, Yuspa SH, et al. A pilot project in molecular cancer epidemiology determination of benzo(a)pyrene—DNA adducts in animal and human tissues by immunoassays. *Carcinogenesis*, 1982, 3 : 1405.
- 7 Marshall CJ, Vousden KH, Phillips DH. Activation of C—Ha—ras—1 protooncogene by in vitro modification with a chemical carcinogen, benzo(a)pyrene. *Nature*, 1984, 310 : 586.
- 8 Hulka BS, Fowler WC, Kaufman DG, et al. Estrogen and endometrial cancer : cases and two control groups from North Carolina. *Am J Obstet Gynecol*, 1980, 137 : 92.
- 9 Hulka BS. Epidemiologic studies using biological markers : issues for epidemiologists, *Cancer Epidemiol Biomark Prev*, 1991, 1 : 13.
- 10 Lubin JH, Gail MH, Ershow AG. Sample size and power for case-control studies when exposures are continuous. *Stat Med*, 1988, 7 : 363.
- 11 Rosenbaum PR. Case definition and power in case-control studies. *Stat Med*, 1984, 3 : 27.
- 12 Margolin BH. Statistical aspects of using biological markers. *Stat Sci*, 1988, 3 : 351.
- 13 Makuch RW, Muenz LR. Evaluating the adequacy of tumor markers to discriminate among distinct populations. *Semin Oncol*, 1987, 14 : 89.
- 14 Cartwright RA, Glashan RW, Rogers HJ, et al. Role of N—acetyltransferase phenotypes in bladder carcinogenesis; a pharmacogenetic epidemiological approach to

- bladder cell. *Lancet*, 1982, 2 : 842.
- 15 Viola MV, Fromowitz F, Oravez S, et al. Ras oncogene P-21 expression is increased in premalignant lesions and high grade bladder carcinoma. *J Exp Med*, 1985, 161 : 1213.
 - 16 Hemstreet GP, West SS, Weems WL, et al. Quantitative fluorescence measurement of AO-stained normal and malignant bladder cells. *Int J Cancer*, 1983, 31 : 577.
 - 17 Rosenbaum PR. Case definition and power in case-control studies. *Stat Med*, 1984, 3 : 27.
 - 18 Hedley DW. Method for analysis of cellular DNA content of paraffin embed pathological material using flow cytometry. *Histochem Cytochem*, 1983, 31 : 1333.
 - 19 胡家露, 牟震先, 周绍娟, 等. 胃粘膜不典型增生的 MG-7 抗原表达及其与胃癌的关系. *中华医学杂志*, 1988, 68(7) : 363.
 - 20 Underhill DW, Radford EP(ed.) New and sensitive indicators of health impacts of environmental agents. Center for Environmental Epidemiology. University of Pittsburgh. Pittsburgh, PA. 1986. 9.
 - 21 Perera FP, Weinstein IB. Molecular epidemiology and cancer prevention. *Cancer Detect Prev*, 1990, 14 : 639.
 - 22 Van Stittert NJ, De Jong G, Clare MG, et al. Cytogenetic, immunological and hematological effects in workers in an ethylene oxide manufacturing plant. *Br J Ind Med*, 1984, 42 : 19.
 - 23 Sxhulte PA. A conceptual framework for the validation and use of biologic markers. *Environ Res*, 1989, 48 : 129.
 - 24 Greenwald P. New directions in cancer control. *Johns Hopkins Med J*, 1982, 151 : 209.
 - 25 Rumke CL. Critical reflections on clinical trial. *Stat Med*, 1983, 2 : 75.
 - 26 Nieburgs HE. Introduction, Proceedings of the International Conference on Human Tumor Markers. *Cancer Detect Prev*, 1985, 8 : 3.
 - 27 Bagshawe KD. Tumor markers - where do we go from here? *Br J Cancer*, 1983, 48 : 167.
 - 28 Chisholm EM, Marshall RJ, Brown D, et al. The role of a questionnaire and four biochemical markers to detect cancer risk in a symptomatic population. *Br J Cancer*, 1986, 53 : 53.
 - 29 Schulte PA, Ringen K, Hemstreet GP. Optimal management of asymptomatic workers at high risk of bladder cancer. *J Occup Med*, 1986, 28 : 13.

(收稿: 1994-08-04 修回: 1994-10-15)

《流行病学》大型参考书第二版即将问世

耿贯一主编的《流行病学》大型参考书第一版于 1979 年首次问世后, 深受欢迎。历经 15 年后, 现在第二版即将由人民卫生出版社出版。第二版内容全部更新, 参考文献一般引用到 90 年代。新增许多章节, 由 260 万字扩大到 350 万字。共分三卷。第一卷总论(原理及方法), 共 29 章。包括流行病学最新原理、病因论、流行过程、原理、疾病分布原理、疾病筛检、流行病学的各种方法、流行病学的各分支学科、疾病防制、计算与分析方法等。第二卷传染病流行病学, 第三卷非传染病流行病学。第二、三卷包括我国重要的及主要的疾病以及新发现的疾病的病因学、临床特点、流行病学、防治对策与措施等。第二卷包括肠道病毒性疾病、肠道细菌病、肠道寄生虫病、呼吸道病毒及立克次体病、呼吸道细菌病、血液病毒病、立克次体病、血液细菌及螺旋体病、血液寄生虫病、体表传染病、医院内感染、防疫原则及传染病管理等 102 章。第三卷包括心脑血管疾病、恶性肿瘤、地方病、职业病、营养流行病学、遗传流行病学、意外、精神病、生活方式、口腔流行病学、眼科流行病学等共 70 章。

撰稿人及审阅人都是在该领域内经验丰富, 有较高水平的专家、教授、主任。编委比第一版有所增加, 仍由耿贯一主编。钱信忠同志为本书题辞。本书是我国当前最新、内容最丰富的高水平的流行病学专著。从事流行病学教学、科研、卫生防疫、防病保健、各类医院及医疗预防各科专业人员不可不备。于 1995 年由人民卫生出版社出版, 按预订数印刷, 估计订价 260 元, 邮寄另加 15% 包装邮寄费。请勿错过预订, 以免无法保证供书。预订者请将预订套数(如单位预订请加盖公章)寄交 300070 天津医科大学 378 信箱苗汝娟。

流行病学参考书编委会