

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

沈靖 王润田 徐希平

【摘要】 目的 以肿瘤易感基因谷胱甘肽-S-转硫酶(GST)M1 缺失基因型为例,说明基因与环境暴露交互作用的分析方法以及应用。方法 采用社区为基础的病例对照研究方法,代谢酶基因多态性的检测用 PCR 技术,资料分析用多因素 logistic 回归模型。研究对象为 1997 年 1 月至 1998 年 12 月经扬中市人民医院确诊,肠型胃癌病例 112 例,以同期该地无上消化道肿瘤的“健康”人群为对照,共 675 例。结果 调整混杂因素后,GST M1 缺失基因型与既往吸烟史的交互作用系数为 3.38, OR_{eg} 值达 8.40,有极显著意义,为 4 型交互作用中的超相乘模型,GST M1 缺失基因型与吸烟量的交互作用呈高暴露-基因效应,交互作用系数分别为 0.995、2.085 和 2.157,即随着暴露剂量增加,交互作用强度也逐渐增加;与饮酒量呈低暴露-基因效应,交互作用系数分别为 1.01 和 0.97,交互作用强度随暴露剂量增加而逐渐降低。结论 基于 logistic 模型的分析方法,可用于评价基因-环境之间的交互作用,以及剂量反应关系的暴露基因效应。

【关键词】 代谢酶基因;环境暴露;交互作用

Application of the interaction models between the polymorphism(s) of metabolic gene(s) and environmental exposure SHEN Jing*, WANG Runtian, XU Xiping.* Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Peking University, Beijing 100083, China

【Abstract】 **Objective** Taking GST M1 as an example to introduce analytic method of interaction models between the polymorphism(s) of metabolic gene(s) and environmental exposure in stomach cancer susceptibility. **Methods** Using community-based case-control design, combined with molecular biological techniques(PCR) and multiple variables logistic regression models, we analyzed 112 intestinal types of stomach cancer cases with endoscopy and pathology diagnosis in the Yangzhong City Hospital during January 1997 and December 1998. A total of 675 controls were selected from persons who had no history of digestive system cancers. **Results** After adjustment of confounding variables with both GST M1 null genotype and history of ever tobacco smoking, the results showed a significant types of 4 gene-environment interaction. Interaction index(γ) value was 3.38 and OR_{eg} value was 8.40, suggesting that a super multi-plicative interaction occurred. The results also showed that GST M1 null genotype had a high exposure-gene effect interaction with tobacco smoking(pack year), while γ values were 0.995, 2.085 and 2.157 respectively. A low exposure-gene effect interaction was found in GST M1 null genotype with the amount of(kg·year) alcohol consumption while γ values were 1.01 and 0.97 respectively. **Conclusion** Logistic regression model can be used to evaluate gene-environment interaction and dose-response of exposure-gene effect.

【Key words】 Metabolic gene polymorphisms; Environmental exposure; Interaction

I、II 相代谢酶基因多态性与肿瘤易感性关系的研究已成为热点,多数研究认为代谢酶基因多态

性与吸烟相关的肿瘤易感性有关,但在不同种族人群、对不同基因多态性的研究也有相互矛盾的结果,部分研究已经涉及到对基因与环境交互作用的探讨,但由于样本量的限制、基因-环境交互作用的分析又比较复杂,因此,尚不能对交互作用在剂量反应关系中的强度进行判断^[1-5]。我们于 1997 年 10 月至 1998 年 12 月,在扬中 11 个乡镇开展了一次以社区为基础的病例对照研究,现以 II 相代谢酶谷胱甘肽-S-转硫酶(GST)M1 为例,说明基因与环境交互

作者单位:100083 北京大学公共卫生学院流行病学与卫生统计学系(沈靖、王润田);北京大学生态遗传与生殖卫生研究中心、哈佛大学公共卫生学院群体遗传研究中心(徐希平)

沈靖,男,1962 年 6 月生,在读北京大学流行病学与卫生统计学博士研究生,已发表论著 30 余篇。1999 年获江苏省政府科技进步三等奖(一项,第一完成人),2000 年获北京大学联邦医学奖。主要从事肿瘤和其他复杂疾病的遗传流行病学研究,近年来开始涉足肿瘤分子流行病学研究。

作用的分析方法,并探讨 GST M1 缺失基因型与吸烟、饮酒因素的交互作用模式。

材料与方法

1. 研究对象:根据扬中市肿瘤防治研究所提供的胃癌发病、死亡资料,确定 1997 年 1 月至 1998 年 12 月间,经扬中市人民医院胃镜和病理确诊的扬中籍、现患胃癌病例 265 例为研究的目标病例,在得到研究对象的知情同意后签署知情同意书,其中 112 例肠型胃癌病例完成全部流行病学调查和基因型分析,为本文分析的病例;以同期该地无上消化道肿瘤的“健康”人群为对照,包括上消化道肿瘤病例的同胞、配偶和配偶的同胞共 2 066 人,其中 675 人完成全部流行病学调查和基因型分析。病例和对照的平均年龄分别为 59.3 岁和 52.6 岁,性别比为 1.49:1。

病例和对照通过面访调查,获得个人健康状况、肿瘤家族史、吸烟、饮酒等资料,其中吸烟量以包年为单位,定义为:每天吸一包(20 支)烟,连续吸一年为 1 包年;饮酒量用千克年为单位,定义为:每天饮白酒 1 kg,连续饮一年为 1 千克年。同时采集 10 ml 抗凝静脉血,提取基因组 DNA,应用 PCR 法检测 GST M1 缺失基因型,与分子量标准比较, GST M1 阳性基因型(非缺失)可见目标条带 650 bp 和对照条带 341 bp,缺失基因型则无目标条带,仅见 341 bp 的内对照条带。

2. 统计分析方法与指标:全部资料用 EPI-6 软件两人、双轨录入计算机,经逻辑检错、纠错后,应用 SAS 软件进行统计分析。

基因-环境因素交互作用效应的评价方法:采用多因素 logistic 回归模型,模型中包括单独遗传因素、单独环境危险因素和两因素共同组成变量的效应。有无交互作用以及交互作用的强度与方式,由各变量前的回归系数 β 决定。

$$\alpha(Y) = \alpha + \beta_e E + \beta_g G + \beta_{eg} EG \quad (1)$$

式中 Y 是疾病的比值(odds), α 为常数,协变量 E 为环境危险因素,在暴露时为 1,非暴露为 0,协变量 G 为代谢基因多态性,高危险基因型为 1,其他为 0, EG 为两者交互作用项, β_e 、 β_g 和 β_{eg} 是各变量的回归系数,通过设立亚变量得到上述各变量的估计相对危险度 OR_e 、 OR_g 和 OR_{eg} 分别为 e^{β_e} 、 e^{β_g} 和 $e^{\beta_{eg}}$,以及 OR 的 95% CI。

假设:在没有环境危险因素暴露的条件下,基因是否突变本身与疾病危险性的增加无关,只有在暴

露于环境危险因素时,基因突变才对疾病的危险性产生交互作用, Khoury 等^[6]和 Ottman 等^[7]将其称为 2 型交互作用(type 2 gene-environment interaction, GEI)。此时(1)式中 $\beta_g = 0$,得到

$$\alpha(Y) = \alpha + \beta_e E + \beta_{eg} EG \quad (2)$$

(2)式也可写成

$$\alpha(Y) = \alpha + (\beta_e + \beta_{eg} G)E = \alpha + \beta^* E \quad (3)$$

Taioli 等^[8,9]提出(3)式成立的前提条件是:疾病发生的危险性仅仅与环境危险因素暴露和遗传因素对环境暴露的效应修饰作用(交互作用)有关,如 $OR_{eg} = OR_e \times OR_g$ 为相乘模型; $OR_{eg} > OR_e \times OR_g$ 为超相乘模型; $OR_{eg} < OR_e \times OR_g$ 为次相乘模型。其中的特例是:当 $OR_{eg} = OR_e + OR_g - 1$ 时,则为相加模型。此时可见:

$$\beta^* = \beta_e + \beta_{eg} G = \beta_e(1 + \gamma G) \quad (4)$$

得到 $\gamma = \beta_{eg}/\beta_e$ 。在病例对照研究中, γ 即为两变量 $\log(OR_s)$ 的比值,称为交互作用系数。如果遗传因素对暴露的效应有放大作用,则 γ 值大于 1,遗传因素对暴露的效应有减弱作用,则 γ 值小于 1,如 γ 值等于 1,则遗传因素对环境暴露没有交互作用。 γ 可以为负值,当研究的环境暴露均是危险因素,此时 β_e 大于 0, γ 为负值则提示遗传因素有很强的保护作用。

当分析多个暴露水平的 2 型交互作用时,可将(2)式改写为:

$$\alpha(Y) = \alpha + \beta_{e1} E_1 + \beta_{e2} E_2 + \beta_{e3} E_3 + \dots + \beta_{en} E_n + \beta_{eg1} E_1 G + \beta_{eg2} E_2 G + \dots + \beta_{egn} E_n G \quad (5)$$

式中 β_{e1} 为 E_1 暴露水平时的 β_e , β_{eg1} 为 E_1 暴露水平时的 β_{eg} , E_n 为暴露的剂量,对于每个暴露的剂量水平,从(4)式又可得到各暴露剂量的交互作用系数:

$$\gamma_n = \beta_{egn}/\beta_{en} \quad (6)$$

如果 γ 值随暴露水平的上升而呈增加趋势,则遗传因素与暴露剂量之间存在“高暴露-基因效应”(high exposure-gene effect, HEG 效应);如果随着暴露剂量增加, γ 值反而呈下降趋势,即交互作用的影响强度反而减小,称为“低暴露-基因效应”(low exposure-gene effect, LEG 效应);在不同暴露水平, γ 值的变化不确定,可以增加或减少,则称为混合型暴露-基因效应(mixed exposure-gene effect, MEG 效应)。

由于 γ 值仅与 β_{eg} 和 β_e 有关,而与 β_g 无关,因此,我们可以将上述方法扩展到对一般基因与环境交互作用的评价中,即在其他类型的交互作用中(1型、3~6型)^[9],如 OR_e 、 OR_g 和 OR_{eg} 均大于 1 时的 4

型交互作用中 ,也可用交互作用系数 $\gamma = \beta_{eg}/\beta_e$,说明基因与环境因素是否有交互作用 ,以及交互作用剂量反应关系的强度。

结 果

1.GST M1 与既往吸烟史的交互作用类型 :表 1 可见 ,在调整了年龄、性别、居住地区、胃癌家族史、既往饮酒史等因素后 ,单独 GST M1 缺失基因型的 OR_g 为 1.88 ,单独暴露于既往吸烟史的 OR_e 为 3.47 ,均有显著性意义 ,是胃癌重要的危险因素 ,缺失基因型与既往吸烟史同时存在 ,交互作用系数为 3.38 ,交互作用 OR_{eg} 值达 8.40 ,有极显著意义 ,说明 GST M1 缺失基因型与吸烟有明显的交互作用 ,为 4 型交互作用中的超相乘模型。

表1 GST M1 基因型与既往吸烟史的交互作用类型

GST M1	既往吸烟史	病例 (112 例)	对照 (675 例)	OR 值*	95% CI
非缺失型	无	31	302	1.00	—
缺失型	无	54	345	1.88	1.13 ~ 3.14
非缺失型	有	10	12	3.47	1.18 ~ 10.14
缺失型	有	17	16	8.40	3.38 ~ 20.92

* 调整年龄、性别、居住地区、胃癌家族史、既往饮酒史 $\gamma_{趋势} = 45.70 ,df = 1 , P = 0.00 \gamma = 2.13/0.63 = 3.38$

2.GST M1 缺失基因型与吸烟量交互作用的 HEG 效应 :由表 2 可见 ,当缺失基因型存在时 ,随着吸烟量的增加 ,基因与暴露之间交互作用的强度逐

渐增加 , γ 分别为 0.995、2.085 和 2.157 ,呈 HEG 效应。

3.GST M1 缺失基因型与饮酒量交互作用的 LEG 效应 :表 3 显示了基因与环境交互作用的另一种方式 ,即 LEG 效应。当 GST M1 缺失基因型存在时 ,随着饮酒量的增加 ,交互作用系数逐渐减小 , γ 分别为 1.01 和 0.97 ,即交互作用的强度随饮酒量增加而减弱 ,说明缺失基因型对饮酒量的交互作用呈 LEG 效应。但由于将剂量等级分为三层时 ,层中的样本量太小 ,GST M1 缺失基因型与饮酒量交互作用的 LEG 效应尚待扩大样本量的研究证实。

讨 论

本研究应用交互作用系数 ,探讨 GST M1 缺失基因型与烟、酒之间的交互作用 ,及其对胃癌发生的影响。结果发现 :GST M1 缺失基因型与既往吸烟史对胃癌发生有明显的交互作用 ,交互作用系数 γ 为 3.38 , OR_{eg} 值达 8.40 ,有极显著意义。同时显示 :缺失基因型与吸烟量对胃癌的交互作用呈 HEG 效应 ,即随着暴露剂量(吸烟量)增加 ,交互作用强度也逐渐增强 ,与 Taiolf^[8]、Hirvovonen 等^[10]报道 GST M1 与吸烟对肺癌发生的交互作用结果一致。

本研究首次报道 :GST M1 缺失基因型与饮酒量的交互作用呈 LEG 效应 ,和吸烟量的交互作用模式相反 ,其交互作用系数分别为 1.01 和 0.97 ,提示 :

表2 GST M1 基因型与吸烟量交互作用的 HEG 效应

GST M1	吸烟量 (包年)	病例 (112 例)	对照 (675 例)	OR 值*	OR95% CI	回归系数		γ 值
						β_e	β_{eg}	
非缺失型	不吸烟	31	302	1.00	—	0.000	—	—
非缺失型	<20	3	3	5.80	0.84 ~ 40.14	1.758	—	—
非缺失型	20 ~	3	4	2.67	0.44 ~ 16.25	0.984	—	—
非缺失型	30 ~	4	5	3.03	0.61 ~ 14.95	1.107	—	—
缺失型	不吸烟	54	345	1.88	1.13 ~ 3.14	0.000	0.633	—
缺失型	<20	4	5	5.75	1.02 ~ 32.50	1.758	1.750	0.995
缺失型	20 ~	5	6	7.78	1.97 ~ 30.79	0.984	2.052	2.085
缺失型	30 ~	8	5	10.89	2.95 ~ 40.22	1.107	2.388	2.157

* 调整年龄、性别、居住地区、胃癌家族史、既往饮酒史

表3 GST M1 基因型与饮酒量交互作用的 LEG 效应

GST M1	饮酒量 (千克年)	病例 (112 例)	对照 (675 例)	OR 值	OR95% CI*	回归系数		γ 值
						β_e	β_{eg}	
非缺失型	不饮酒	28	299	1.00	—	0.000	—	—
非缺失型	<2.5	6	10	5.61	1.68 ~ 18.80	1.725	—	—
非缺失型	2.5 ~	7	5	8.35	2.21 ~ 31.58	2.123	—	—
缺失型	不饮酒	59	347	1.95	1.18 ~ 3.20	0.000	0.666	—
缺失型	<2.5	4	8	5.70	1.45 ~ 22.40	1.725	1.740	1.009
缺失型	2.5 ~	8	5	7.76	2.18 ~ 27.61	2.123	2.048	0.965

* 调整年龄、性别、居住地区、胃癌家族史、既往吸烟史

饮酒与吸烟因素虽均可增加胃癌发生的危险性,但作用机制可能不同,在确定胃癌高危人群、制订防治措施时应采取不同的策略。Taioli 等学者^[8,11-13]认为:LEG 效应是基因-环境交互作用中最常见的一种模式,如果观察的终点不是疾病,而是某些标记物(加合物),也同样显示:具有某一突变基因型的个体,在低暴露剂量时,更趋向于有相对较高的加合物水平,而在高剂量暴露时,有无基因突变对观察终点的影响可能并无差异。Nakachi 等^[14]曾报道 CYP1A1 基因多态性与吸烟引起的肺癌易感性存在 LEG 效应,Taioli 等^[16]在美籍非洲人群中也发现,CYP1A1 基因多态性与吸烟导致肺癌危险性之间存在 LEG 效应,说明致癌物导致肺癌或胃癌危险性增加的病理、生理机制可能有一定共性,值得进一步探讨。

本研究还发现:同一种基因型与不同环境暴露的交互作用模式也不同,GST M1 缺失基因型与吸烟量的交互作用呈 HEG 效应,而与饮酒量呈 LEG 效应。我们对 CYP1A1 突变基因型与烟、酒的交互作用分析也显示:CYP1A1 突变基因型与吸烟量呈 LEG 效应,而与饮酒量呈 HEG 效应(另文报道),这些结果均提示:基因与环境的交互作用并不是简单地表现为基因特异性,还必须与基因产物和环境因素的作用机制联系起来分析^[8,17,18]。

目前,对基因与环境交互作用机理和生物学机制的研究刚刚起步,由于对各种族人群研究样本量的累积还很有限,分析结果的把握度还不高,但随着交互作用分析方法的进一步完善,将会对各种类型交互作用有更明确的认识。

(本研究资料收集和实验室检测工作还得到:南京医科大学公共卫生学院邢厚询、王心如;安徽医科大学生物医学研究所王滨燕;北京大学生态遗传与生殖卫生研究中心王朝曦;扬中市肿瘤防治研究所王理伟、李茂森、王建明、华召来等同仁的大力支持,特此致谢)

参 考 文 献

- 1 Bartsch H, Rojas M, Nair U, et al. Genetic cancer susceptibility and DNA adducts: studies in smokers, tobacco chewers, and coke oven workers. *Cancer Detect Prev*, 1999, 23:445-453.
- 2 Butkiewicz D, Cole KJ, Phillips DH et al. GST M1, GSTP1, CYP1A1 and CYP2D6 polymorphisms in lung cancer patients from an environmentally polluted region of Poland: correlation with lung DNA adduct levels. *Eur J Cancer Prev*, 1999, 8:315-323.
- 3 Cotton SC, Sharp L, Little J, et al. Glutathione S-transferase polymorphisms and colorectal cancer: a HuGE review. *Am J Epidemiol*,

2000, 151:7-32.

- 4 Katoh T, Kaneko S, Kohshi K et al. Genetic polymorphisms of tobacco and alcohol-related metabolizing enzymes and oral cavity cancer. *Int J Cancer*, 1999, 83:606-609.
- 5 Rollinson S, Roddam P, Kane E, et al. Polymorphic variation within the glutathione S-transferase genes and risk of adult acute leukaemia. *Carcinogenesis* 2000, 21:43-47.
- 6 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, 56:835-844.
- 7 Ottman R. An epidemiologic approach to gene-environment interaction. *Genet Epidemiol*, 1990, 7:177-185.
- 8 Taioli E, Zocchetti C, Garte S. Models of interaction between metabolic genes and environmental exposure in cancer susceptibility. *Environ Health Perspect*, 1998, 106:67-70.
- 9 Khoury MJ, James LM. Population and familial relative risks of disease associated with environmental factors in the presence of gene-environment interaction. *Am J Epidemiol*, 1993, 137:1241-1250.
- 10 Hirvonen A. Genetic factors in individual response to environmental exposures. *J Occup Environ Med*, 1995, 37:37-43.
- 11 Vineis P, Bartsch H, Caporaso N, et al. Genetically based N-acetyltransferase metabolic polymorphism and low level environmental exposure to carcinogens. *Nature*, 1994, 369:154-156.
- 12 Garte SJ, Zocchetti C, Taioli E. Gene-environment interactions in the application of biomarkers of cancer susceptibility in epidemiology. In: *Methodological Issues in the Use of Biomarkers in Cancer Epidemiology*. Toniolo P, Boffetta P, Shuker D, et al. eds. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1997. 251-264.
- 13 Harris CC. Interindividual variation among humans in carcinogen metabolism, DNA adduct formation and DNA repair. *Carcinogenesis*, 1989, 10:1563-1566.
- 14 Nakachi K, Imai K, Hayashi S et al. Genetic susceptibility to squamous cell carcinoma of the lung in relation to cigarette smoking dose. *Cancer Res*, 1991, 51:5177-5181.
- 15 Taioli E, Crofts F, Demopoulos R et al. An African-American specific CYP1A1 polymorphism is associated with adenocarcinoma of the lung. *Cancer Res*, 1995, 55:472-473.
- 16 Taioli E, Garte SJ. Lung cancer risk in African-Americans in relation to a race-specific CYP1A1 polymorphism (letter). *Cancer Res*, 1996, 56:4275-4277.
- 17 Sram RJ, Binkova B. Molecular epidemiology studies on occupational and environmental exposure to mutagens and carcinogens, 1997-1999. *Environ Health Perspect*, 2000, 108(suppl 1):57-70.
- 18 Strange RC, Fryer AA. The glutathione S-transferases: influence of polymorphism on cancer susceptibility. *IARC Sci Publ*, 1999, 148:231-249.

(收稿日期 2000-06-06)

编后 随着分子流行病学的兴起,代谢酶基因多态性与环境暴露交互作用与研究已成热点,而对此的统计分析方法相对滞后。本文第一作者为在读研究生,他在比较全面复习文献的基础上介绍了应用 logistic 回归模型作环境基因交互作用的分析方法。文章虽有不足之处,但必竟是崭露头角,有了一个良好的开端。我刊从 2001 年第 1 期始设立这一栏目,为莘莘学子打造一个施展才华的平台,欢迎在读研究生在此大显身手,励精更始,踊跃投稿(尤为欢迎富有创新性的文章)。我刊祝愿各位有志者成功(寄稿时勿忘介绍自己)。