

哈萨克族食管癌与CYP2E1基因多态性及烟酒嗜好的关系

陈波, 马彦清, 杨磊, 李锋, 王秀梅, 廖佩花, 何玲, 秦江梅

背景资料
食管癌是我国常见的恶性肿瘤之一, 哈萨克族是我国食管癌的高发民族。哈萨克族由于其游牧生活, 养成了许多特殊的生活习惯, 这些饮食和行为习惯使他们过多摄入一些前致癌物。环境中的前致癌物进入人体以后, 经过 I 相代谢酶的活化或转化后才具有致癌作用, CYP2E1 是重要的 I 相代谢酶, 为此本文将相关环境危险因素和其代谢相关基因结合起来进行了此研究。

陈波, 杨磊, 李锋, 王秀梅, 廖佩花, 何玲, 秦江梅, 新疆地方病与民族高发病省部共建重点实验室 石河子大学医学院预防医学系 新疆维吾尔自治区石河子市 832002
马彦清, 新疆伊犁州友谊医院胸外科 新疆伊宁市 835000
国家自然科学基金资助项目, No. 30660161
国家重点基础研究发展规划资助项目(973计划), No. 2005CCA 03700
石河子大学博士基金资助项目, No. RCZX2004-PB17
2006年教育部科学技术研究重点资助项目, No. 206167
通讯作者: 秦江梅, 832002, 新疆维吾尔自治区石河子市, 石河子大学医学院预防医学系. qinjiangmei@yahoo.com.cn
电话: 0993-2057153 传真: 0993-2057153
收稿日期: 2007-08-12 修回日期: 2007-12-17

Relationship of CYP2E1 gene polymorphism and tobacco and alcohol consumption with susceptibility to esophageal cancer in Kazakh

Bo Chen, Yan-Qing Ma, Lei Yang, Feng Li, Xiu-Mei Wang, Pei-Hua Liao, Ling He, Jiang-Mei Qin

Bo Chen, Lei Yang, Feng Li, Xiu-Mei Wang, Pei-Hua Liao, Ling He, Yan-Qing Ma, Jiang-Mei Qin, Key Laboratory of the Ministry of Education, Xinjiang Endemic and Ethnic Diseases, Department of Preventive Medicine, Shihezi Medical University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous District, China
Yan-Qing Ma, Department of Thoracic Surgery, Friendship Hospital of Xinjiang Yili Canton, Yining 835000, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30660161; the Major State Basic Research Development Program of China (973 Program), No. 2005CCA03700; the Doctor's Fund of Shihezi University, No. RCZX2004-PB17; and the Scientific and Technology Research Key Program of Ministry in Education, No. 206167
Correspondence to: Dr. Jiang-Mei Qin, Department of Preventive Medicine, Shihezi Medical University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous District, China. qinjiangmei@yahoo.com.cn
Received: 2007-08-12 Revised: 2007-12-17

Abstract

AIM: To study the interaction between polymorphism in CYP2E1 genotype and tobacco and alcohol consumption and risk of developing esophageal cancer (EC) in Kazakh.

METHODS: A 1:2 matched case-control study was conducted with 120 cases of EC in Kazakh and 240 population-based controls. CYP2E1 genotypes were identified by PCR amplification

followed by digestion with *Rsa*.

RESULTS: The genotype frequencies of *Rsa* I-digested CYP2E1 in the EC group differed from those in the control group (78.3% vs 53.3%, 19.2% vs 37.5%, 2.5% vs 9.2%, $\chi^2 = 21.794$, $P < 0.05$). Individuals with the C1/C1 genotype had a 3.07-fold (95% CI: 1.87 - 5.03) increased risk of developing EC compared with those who had the C1/C2 or C2/C2 genotype. Interaction analysis showed there was an interaction between CYP4502E1 gene polymorphism and smoking and alcohol consumption, and the interaction was higher than the sum of the two factors alone.

CONCLUSION: The gene-environment interaction between the *Rsa*-digested CYP2E1 polymorphism and smoking and alcohol consumption may increase susceptibility to EC in Kazakh.

Key Words: Cytochrome P4502E1; Gene polymorphism; Esophageal cancer; Kazakh

Chen B, Ma YQ, Yang L, Li F, Wang XM, Liao PH, He L, Qin JM. Relationship of CYP2E1 gene polymorphism and tobacco and alcohol consumption with susceptibility to esophageal cancer in Kazakh. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(36): 3852-3855

摘要

目的: 探讨细胞色素P4502E1(CYP2E1)基因多态性, 烟酒嗜好与哈萨克族食管癌易感性的关系。

方法: 采用1:2配比的病例对照研究方法, 调查哈萨克族食管癌患者120例和非食管癌患者240例, 采用聚合酶链-限制性片段长度多态(PCR-RFLP)方法检测CYP2E1 *Rsa* 位点的基因型。

结果: 病例组中CYP2E1 *Rsa* 位点C1/C1、C1/C2、C2/C2基因型频率与对照组比较(78.3% vs 53.3%, 19.2% vs 37.5%, 2.5% vs 9.2%, $\chi^2 = 21.794$, $P < 0.01$)差异有统计学意义。

义;携带C1/C1基因型发生食管癌的危险性是携带C1/C2或C2/C2基因型的3.07倍(95% CI: 1.87-5.03);交互作用提示CYP2E1基因多态与吸烟、饮酒均存在交互作用;其危险性远高于各单独作用之和。

结论: CYP2E1 *Rsa* I 位点基因多态性与大量吸烟、饮酒之间的基因-环境交互作用可增强哈萨克族人群患食管癌的风险。

关键词: 细胞色素P4502E1; 基因多态性; 食管癌; 哈萨克族

陈波, 马彦清, 杨磊, 李锋, 王秀梅, 廖佩花, 何玲, 秦江梅. 哈萨克族食管癌与CYP2E1基因多态性及烟酒嗜好的关系. 世界华人消化杂志 2007; 15(36): 3852-3855
http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/3852.asp

0 引言

目前研究表明,食管癌的发生、发展与环境因素密切相关,大多数环境致癌物在体内都需要代谢激活后才有致癌性^[1],烟草中的许多前致癌物同样需要经过体内I相和II相代谢酶的活化和解毒^[2].CYP2E1基因是重要的I相代谢酶之一,近年来的研究发现,位于基因5'-侧远端转录调节区域的*Rsa* I 位点的多态性与食管癌的遗传易感性有关^[3].流行病学研究发现,不同国家食管癌的环境危险因素有差别,西方国家主要以吸烟和饮酒为主,发展中国家食管癌高发区病因倾向于不良饮食习惯和各种营养素的缺乏^[4].哈萨克族是食管癌高发民族,过去的几十年新疆哈萨克族食管癌死亡率未明显下降.说明原本存在的危险因素仍然起作用.我们前期研究表明新疆哈萨克族食管癌高发与饮水、不良饮食、少食蔬菜水果密切相关^[5-6].我们的研究也发现哈萨克族居民近年来吸烟饮酒率有上升趋势,哈萨克族15岁及以上女性吸烟率高达15%.为进一步探讨新疆哈萨克族食管癌高发原因,我们采用1:2病例对照研究,并利用分子生物学技术对CYP2E1基因进行检测,综合探讨CYP2E1基因多态、吸烟饮酒与哈萨克族食管癌的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 2005-03/2007-05间在新疆北部哈萨克族聚集地区的六所医院共收集哈萨克族新发食管癌患者120例,年龄38.3-79.0(平均年龄59.0±10.0)岁,男81例,女39例,按1:2匹配对照,匹配条件为同

民族、同性别、年龄相差不超过5岁且居住同一地区,一个对照来源于同一所医院的非肿瘤、非消化道疾病患者,另一对照来源于同一乡镇或市区的正常人群,共计240例,年龄35.2-80.4(平均年龄58.4±10.1)岁,男162例,女78例,病例组与对照组年龄差异无统计学意义($t = 0.586, P = 0.558$).

1.2 方法 采用调查表调查,内容包括:一般情况、吸烟及饮酒史、饮食习惯和家族史等危险因素.由经过专门培训的医生和本课题研究生向研究对象详细询问后填写.最后由课题指导人员审核调查表质量.采集研究对象外周静脉血3 mL, EDTA-K2抗凝,分装, -70℃低温保存.用上海生物工程基因组小量抽提试剂盒II抽取基因组DNA,提取步骤按操作说明书进行,提取的DNA -70℃冰箱低温保存.采用PCR-RFLP技术检测*Rsa* I 位点多态性.引物由上海生工公司合成,所用引物为:5'-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA-3'和5'-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG-3'.Taq DNA合成酶购自上海宝生物公司,PCR反应总体积25 μL,基因组DNA溶液2 μL,含引物(20 μmol/L)各0.5 μL、2.5 mmol/L的4×dNTP 2 μL、5000 kU/L Taq酶0.2 μL, 10×PCR buffer 2.5 μL. PCR扩增条件为:95℃预变性8 min, 94℃ 1 min, 56℃ 1 min, 72℃ 1 min, 共35个循环,最后72℃延伸8 min. PCR产物用*Rsa* I 内切酶在37℃消化4 h,用20 g/L琼脂糖凝胶电泳、确定CYP2E1基因型.基因型分为野生型纯合型(C1/C1)、杂合型(C1/C2)、变异纯合型(C2/C2).

统计学处理 建立数据库,采用1:2配比的病例对照研究的分析方法,计算 χ^2 , *P*值, *OR*值及其95%可信区间,并分组分析CYP2E1基因多态性、烟酒嗜好及其交互作用与哈萨克族食管癌易感性之间的关系。

2 结果

2.1 遗传平衡检验 为检验人群基因型频率是否达到Hardy-Weinberg遗传平衡,将CYP2E1基因型频率观察值与期望值进行比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 0.921, P > 0.05$),说明CYP2E1基因型频率均已达到遗传平衡,具有人群代表性。

2.2 CYP2E1基因多态性与哈萨克族食管癌易感性的关系 在病例组中,CYP2E1 *Rsa* I C1/C1基因型占78.3%、C1/C2基因型占19.2%、C2/C2基因型占2.5%,在对照组的分布频率分别为53.3%、

相关报道

Tan *et al*对林县150例食管癌患者和150正常人做了病例-对照研究,结果显示:CYP2E1 C1/C1野生型等位基因频率在两组中分别为71.3%和44.0%,差异有显著性.王伟 *et al*在南京的研究结果显示:CYP2E1 C1/C1是食管癌的危险因素,其*OR*值为1.547.而Gao *et al*对江苏淮安140例病例和229例对照人群的研究结果表明:CYP2E1 C1/C1野生型等位基因频率在两组中分别为59.3%和61.1%,差异无显著性.说明CYP2E1基因*Rsa* I 酶切多态性存在地域差异。

创新盘点

本文是首次将传统的流行病学方法与现代分子生物学方法有机结合,从分子流行病学的角度出发,从基因-环境的交互作用着手系统地探讨新疆哈萨克族居民食管癌危险因素及细胞色素酶P450(CYP2E1)基因型分布与食管癌发病的关系,得出对新疆哈萨克族食管癌预防及干预策略有价值的结果和结论。

表 1 CYP2E1基因型分布与哈萨克族食管癌关系

病例组CYP2E1 基因型	对照组CYP2E1基因型			合计
	++	+-	--	
+	25	49	20	94
-	7	15	4	26
合计	32	64	24	120

$$\chi^2 = 19.76, P < 0.05$$

37.5%、9.2%。各基因型频率分布在两组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 21.794, P = 0.000$), 病例组高于对照组; 等位基因C1和C2的频率在病例组和对照组差异也有统计学意义($\chi^2 = 22.903, P = 0.000$), 等位基因C1携带者发生食管癌的危险性为C2的2.818倍(95% CI: 1.821-4.360)。

本研究将携带CYP2E1 C1/C1为+, 携带CYP2E1 C1/C2和CYP2E1 C2/C2为-, 经统计学检验, $\chi^2 = 19.78, P < 0.05$, 差异有统计学意义, CYP2E1 C1/C1基因型与哈萨克族食管癌的发生有关, 其OR值为3.07(95% CI: 1.87-5.03)(表1)。

2.3 吸烟、饮酒与CYP2E1基因多态性的交互作用 将吸烟量与CYP2E1基因多态性做交互作用分析, 与不吸烟、携带C1/C2+C2/C2基因型者相比, 不吸烟、携带C1/C1基因型者发生食管癌的危险性为2.429(95% CI: 1.181-4.993); 吸烟>20支/d、携带C1/C2+C2/C2基因型者发生食管癌的危险性为6.80(95% CI: 1.133-40.824); 吸烟>20支/d、携带C1/C1基因型者发生食管癌的危险性为15.30(95% CI: 2.978-78.619), 其危险性大于两

个因素单独暴露时的情况, 符合相加模型, 大量吸烟和基因突变存在交互作用。同样, 将饮酒量与CYP2E1基因多态性做交互作用分析, 与不饮酒、携带C1/C2+C2/C2基因型者相比, 不饮酒、携带C1/C1基因型者发生食管癌的危险性为2.671(95% CI: 1.296-5.502); 饮酒>3 kg/mo、携带C1/C2或C2/C2基因型者发生食管癌的危险性为3.646(95% CI: 1.020-13.036); 饮酒>3 kg/mo、携带C1/C1基因型者发生食管癌的危险性为12.25(95% CI: 4.641-32.334); 说明饮酒和基因突变存在交互作用(表2)。

3 讨论

细胞色素P450是一类与多种前致癌物代谢活化密切相关的I相生物代谢酶, 其编码的二甲基亚硝胺D-脱甲基酶是体内代谢激活烟草中亚硝胺、苯胺等的主要酶类, 并且受乙醇的强烈诱导^[7]。CYP2E1是代谢亚硝胺类化合物的重要代谢酶, 主要通过去烷基、去硝基等方式, 使之由前致癌物变成活化的终致癌物, 个体CYP2E1活性差异可能导致环境致癌物遗传易感性的差异^[8]。CYP2E1 *Rsa* I位点于CYP2E1的转录调节区域, 其基因多态性会影响CYP2E1基因的表达^[9]。目前, 关于CYP2E1 *Rsa* I位点基因多态性与食管癌易感性的关系已有一定的研究。Lucas *et al*^[10]的研究证实携带CYP2E1 *Rsa* I突变等位基因的个体CYP2E1的基础活性较低, 同时用乙醇难以诱导出该基因型个体的CYP2E1酶活性, Lin *et al*^[11]和Tan *et al*^[12]对我国林县汉族食管癌的研究结果也提示CYP2E1变异基因型的表达

表 2 CYP2E1基因型与吸烟量、饮酒量交互作用分析

	CYP2E1	病例组	对照组	χ^2	P	OR(95% CI)
吸烟量						
不吸烟	C1/C2+C2/C2	15	51	-	-	1.0
不吸烟	C1/C1	35	49	5.966	0.015	2.429(1.181-4.993)
1-20支/d	C1/C2+C2/C2	7	59	3.491	0.062	0.403(0.153-1.067)
1-20支/d	C1/C1	50	77	5.386	0.020	2.208(1.122-4.344)
>20支/d	C1/C2+C2/C2	4	2	-	0.038	6.800(1.133-40.824)
>20支/d	C1/C1	9	2	-	0.000	15.30(2.978-78.619)
饮酒量						
不饮酒	C1/C2+C2/C2	12	70	-	-	1.0
不饮酒	C1/C1	38	83	7.405	0.007	2.671(1.296-5.502)
1-3 kg/mo	C1/C2+C2/C2	9	34	0.800	0.371	1.544(0.593-4.019)
1-3 kg/mo	C1/C1	35	35	22.112	0.000	5.833(2.698-12.612)
>3 kg/mo	C1/C2+C2/C2	5	8	4.336	0.037	3.646(1.020-13.036)
>3 kg/mo	C1/C1	21	10	30.688	0.000	12.25(4.641-32.334)

可能比野生型低, 即携带CYP2E1变异基因型的个体发生癌症的危险性相对较低.

本次研究发现: CYP2E1 *Rsa* I 位点的多态性是哈萨克族食管癌发生的危险因素, 等位基因C1携带者发生食管癌的危险性为C2的2.818倍(95% CI: 1.821-4.360); 携带C1/C1基因型发生食管癌的危险性是变异个体的3.07倍. 与上述研究结果一致. 我们的研究还发现, 大量吸烟、饮酒是哈萨克族食管癌发生的危险因素, 既大量吸烟或饮酒又携带C1/C1基因型的个体发生食管癌的危险性显著增加, CYP2E1 C1/C1基因型与大量吸烟、饮酒之间存在交互作用.

随着社会的发展, 新疆哈萨克族的生活习性也发生着变化, 但仍然保留了许多民族习惯^[13], 如游牧, 喝热烫的奶茶, 以牛羊肉为主食, 少食蔬菜水果等. 更值得重视的是, 在本研究中发现, 该民族正常人群的饮酒率高达36.7%, 高于2002年全国平均饮酒率的21.0%^[14]; 女性吸烟率已达到32.0%, 远远高于汉族女性的3.08%^[15]. 哈萨克族特殊的生活、行为习惯与遗传易感性共同作用于该民族人群, 导致了其食管癌发病率的居高不下. 因此, 提倡戒烟限酒对哈萨克族食管癌的防治具有重大意义.

4 参考文献

- 1 Bartsch H, Nair U, Risch A, Rojas M, Wikman H, Alexandrov K. Genetic polymorphism of CYP genes, alone or in combination, as a risk modifier of tobacco-related cancers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 3-28
- 2 Rannug A, Alexandrie AK, Persson I, Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphism of

- cytochromes P450 1A1, 2D6 and 2E1: regulation and toxicological significance. *J Occup Environ Med* 1995; 37: 25-36
- 3 吴库生, 李克. 细胞色素P450 2E1基因多态性与食管癌易感性关系的Meta分析. *肿瘤基础与临床* 2006; 19: 13-16
- 4 沈月平, 项永兵, 高玉堂. 食管癌流行病学研究. *疾病控制杂志* 1998; 2: 52-55
- 5 王秀梅, 杰恩斯, 马彦清, 陈波, 郭小进, 阿力木太, 哈那提, 李锋, 杨磊, 秦江梅. 新疆哈萨克族食管癌危险因素病例对照研究. *中国公共卫生* 2007; 23: 737-738
- 6 王秀梅, 张卫群, 陈波, 何玲, 阿力木太, 哈那提, 李锋, 杨磊, 秦江梅. MTHFR基因多态性与哈萨克族食管癌易感性. *中国公共卫生* 2007; 23: 937-938
- 7 李靖涛, 朴云峰, 孟祥伟. CYP II E1基因多态性与酒精性脂肪肝. *临床肝胆病杂志* 2003; 19: 48-49
- 8 王雨, 姜又红, 孙文娟. 细胞色素P450 2E1基因多态性与胃癌易感性. *中国公共卫生* 2005; 21: 664-665
- 9 王建明, 许颢. 代谢酶基因多态性与胃癌遗传易感性. *肿瘤* 2003; 23: 253-255
- 10 Lucas D, Menez C, Girre C, Berthou F, Bodenez P, Joannet I, Hispard E, Bardou LG, Menez JF. Cytochrome P450 2E1 genotype and chlorzoxazone metabolism in healthy and alcoholic Caucasian subjects. *Pharmacogenetics* 1995; 5: 298-304
- 11 Lin DX, Tang YM, Peng Q, Lu SX, Ambrosone CB, Kadlubar FF. Susceptibility to esophageal cancer and genetic polymorphisms in glutathione S-transferases T1, P1, and M1 and cytochrome P450 2E1. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1998; 7: 1013-1018
- 12 Tan W, Song N, Wang GQ, Liu Q, Tang HJ, Kadlubar FF, Lin DX. Impact of genetic polymorphisms in cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferases M1, T1, and P1 on susceptibility to esophageal cancer among high-risk individuals in China. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2000; 9: 551-556
- 13 宋士敬, 宋君. 哈萨克族风情. *丝绸之路* 2006: 41-43
- 14 马冠生, 朱丹红, 胡小琪, 栾德春, 孔灵芝, 杨晓光. 中国居民饮酒行为现状. *营养学报* 2005; 27: 362-365
- 15 杨功焕, 马杰民, 刘娜, 周灵妮. 中国人群2002年吸烟和被动吸烟的现状调查. *中华流行病学杂志* 2005; 26: 77-83

应用要点
当前对中晚期食管癌患者完全治愈难度大, 费用高, 挽救生命成功率比较低, 中晚期食管癌患者手术5年存活率仅10%左右. 哈萨克族食管癌高危因素的寻找和遗传易感基因的确定是关键, 本研究采用严谨、科学的方法找出哈族居民食管癌高发的相关行为危险因素和遗传易感基因, 使得哈族食管癌预防和干预有的放矢. 为今后采取相关的实验室检测手段发现高危个体, 采取健康教育措施来减少哈族人群的食管癌发病风险, 降低哈族人群食管癌的发病率和死亡率提出可靠的依据.

同行评价
本文方法可靠, 数据可信, 针对性强, 具有较强的临床参考价值.

编辑 李军亮 电编 何基才

• 消息 •

WCJD 和 WJG 2008 年对同行评议
将开始实行公开策略

本刊讯 世界华人消化杂志(WCJD)和World Journal of Gastroenterology (WJG)为了确保刊出文章的质量, 即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 如: 同行评议者: 房静远教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所; 韩新巍教授, 郑州大学第一附属医院放射科; 匡安仁教授, 四川大学华西医院核医学科. (总编辑: 马连生 2007-12-29)