

# 南京汉族群体肺癌易感性相关基因的研究

梁戈玉, 浦跃朴, 尹立红

(东南大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学系, 南京 210009)

**摘要:**为了探讨南京汉族群体肺癌易感性相关基因,我们采用 1:1 病例对照研究方法,以 PCR—RFLP 技术检测了 152 对肺癌和健康对照的 *CYP1A1*、*CYP2E1*、*GSTM1*、*GSTT1*、*GSTP1*、*mEH* 和 *NQO1* 基因的基因型并分析其与肺癌的相关性。结果发现携带 *CYP1A1* 突变基因型 (*wt/mt* 和 *mt/mt*) 的个体明显增加患肺鳞癌的风险 ( $OR = 2.31, 95\%CI = 1.23-4.36$ ); *GSTT1* (-) 基因型可使肺癌发生的风险增加 2.06 倍 ( $95\%CI = 1.30-3.24$ ); 具有 *NQO1 wt/mt* 与 *mt/mt* 基因型者发生肺癌的风险也有所增高 ( $OR = 1.66, 95\%CI = 1.01-2.74$ ); *CYP1A1* 突变基因型与 *GSTT1* 缺失基因型、*CYP1A1* 突变基因型与 *NQO1* 突变基因型对肺癌的发生存在协同作用,同时具有两种易感基因型的个体更容易发生肺癌。研究结果表明,*CYP1A1*、*GSTT1*、*NQO1* 基因可能与南京汉族群体肺癌遗传易感性有关,基因型之间的联合检测更有助于高危人群的筛选。

**关键词:**肺癌;代谢酶基因;多态性;遗传易感性

中图分类号:Q346.5

文献标识码:A

文章编号:0253-9772(2004)05-0584-05

## Studies of the Genes Related to Lung Cancer Susceptibility in Nanjing Han Population, China

LIANG Ge-Yu, PU Yue-Pu, YIN Li-Hong

(School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009, China)

**Abstract:** To investigate the genes related to lung cancer susceptibility in Nanjing Han population, China, a 1:1 matched case-control study was performed in which 152 hospital controls were matched to the 152 original lung cancer cases. The polymorphisms of *CYP1A1*, *CYP2E1*, *GSTM1*, *GSTT1*, *GSTP1*, *mEH* and *NQO1* genes were analyzed by PCR—RFLP assay. The results showed that the heterozygote and mutation homozygote genotypes of *CYP1A1* were related to the risk of squamous cell carcinoma ( $OR = 2.31, 95\%CI = 1.23-4.36$ ). The risk of suffering from lung cancer was increased 2.06-fold in the individuals with *GSTT1* (-) genotype ( $95\%CI = 1.30-3.24$ ). The genotype of *NQO1 wt/mt* and *mt/mt* was found also to be associated with the risk of lung cancer ( $OR = 1.66, 95\%CI = 1.01-2.74$ ). It was shown that there was no difference in the genotype distribution of *CYP2E1*, *GSTM1*, *GSTP1* or *mEH* between cases and controls. Furthermore, stratified analysis suggested that the combination of genotypes of both *CYP1A1* and *GSTT1* enzymes had a synergistic action in risk of lung cancer ( $OR = 3.41, 95\%CI = 1.77-6.55$ ). Similarly, there was a cooperation between *CYP1A1* mutation genotype and *NQO1* mutation genotype ( $OR = 2.45, 95\%CI = 1.13-5.31$ ). This study suggested that *CYP1A1*, *GSTT1* and *NQO1* gene polymorphisms might be associated with the susceptibility to lung cancer in Nanjing Han population. Analysis of gene-gene interactions was helpful to identification of susceptible individuals and screening high-risk population to lung cancer.

**Key words:** Lung cancer; metabolic enzyme genes; polymorphism; susceptibility

收稿日期:2003-06-27;修回日期:2003-10-20

基金项目:国家自然科学基金(30170791),江苏省社会发展基金(BS2000034)资助项目[Supported by national science fund(30170791), Jiangsu province society development fund(BS2000034)]

作者简介:梁戈玉(1976—),女,江苏邳州人,博士研究生,研究方向:肺癌相关环境基因组学

通讯作者:浦跃朴,医学博士,教授,博士生导师,研究方向:肿瘤相关环境基因组学。E-mail:ypu@seu.edu.cn

肺癌是对人类健康与生命危害最大的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率近年来不断上升。同时人们也发现,暴露在相同的环境条件下,其结局不尽相同,如终身大量吸烟,仅有一部分人患肺癌死亡,这说明不同个体对环境致癌物具有不同的易感性。据估计 90% 以上的环境致癌物为原致癌物,需经代谢激活后才有致癌作用。另一方面,代谢也可使致癌物失去活性。代谢酶基因的多态性可导致代谢酶活性的差异,这种差异决定了个体对环境中化学致癌剂、致突变剂可产生不同的生物学效应。近年来,毒物代谢酶与肺癌易感性的研究,已逐渐成为肺癌病因学研究的一个日益活跃的领域,但在不同种族人群中的研究结果存在一定的差异。为此,我们采用病例-对照分子流行病学方法,对南京市汉族群体 *CYP1A1*、*CYP2E1*、*GSTM1*、*GSTT1*、*GSTP1*、*mEH* 和 *NQO1* 代谢酶基因多态性与肺癌易感性关系进行了研究。

## 1 对象和方法

### 1.1 研究对象

在南京市胸科医院、鼓楼医院、中大医院收集病理诊断明确的原发性肺癌病例 152 例,其中鳞癌 63 例,腺癌 89 例,男性占 70.4% (107 例),女性占 29.6% (45 例),平均年龄  $60.9 \pm 10.1$  岁(范围 38~76 岁)。按 1:1 配对原则,选择同性别、年龄相差  $\pm 5$  岁、除呼吸系统疾病以外的非肿瘤同期住院患者为对照,平均年龄  $60.5 \pm 10.4$  岁(范围 38~80 岁)。所有个体均为江苏籍南京市汉族人群。

### 1.2 基因多态性分析方法

取静脉血 3ml,提取 DNA。*CYP1A1* 基因 *Msp* I 酶切位点多态性分析:参见 Wu 等<sup>[1]</sup>; *CYP2E1* 基因 *Dra* I 酶切位点多态性分析:参见 Wang 等<sup>[2]</sup>; *GSTM1*、*GSTT1* 多态性分析:参见蓝青等<sup>[3]</sup>; *GSTP1* 基因 1404A→G 突变多态性分析:参见 Maugard 等<sup>[4]</sup> 和 Helzlsouer 等<sup>[5]</sup>; *mEH* 外显子 3 和 *mEH* 外显子 4 多态性分析:参见 Smith 等<sup>[6]</sup>; *NQO1* C609→T 多态性分析:参见 Wiencke 等<sup>[7]</sup>。

### 1.3 统计分析方法

全部资料用 EPIdata 软件输入计算机,经逻辑检错、纠错后,应用 SAS 软件进行统计分析,包

括 Mantel-Haenszel  $\chi^2$  检验、分层分析等,并以比值比 (OR) 及其 95% 可信限 (95% CI) 表示相对风险,探讨代谢酶基因多态性和肺癌易感性之间的关系。

## 2 结果

### 2.1 代谢酶基因的基因型分布及其与肺癌风险的关系

各代谢酶基因的基因型在病例-对照组中的分布见表 1 和表 2。将带有突变的 *CYP1A1* 基因型 (*wt/mt* 和 *mt/mt* 基因型)合并后,携带突变等位基因的基因型者患肺癌的风险是 *wt/wt* 基因型的 1.74 倍(表 1)。根据组织病理学类型分析发现,携带突变基因的基因型主要增加患鳞癌的风险,OR 值达 2.31,而与肺腺癌风险无显著相关。其中,*mt/mt* 突变纯合子基因型与鳞癌的风险相关最大,OR 达 4.49。此外,具有 *NQO1wt/mt* 与 *mt/mt* 基因型者发生肺癌的风险也有所增高,OR 值为 1.66。表 2 显示,*GSTT1*(-)基因型在肺癌组和与对照组之间的分布有显著性差异 ( $P < 0.01$ ),*GSTT1*(-)基因型可使肺癌发生的风险增加 2.06 倍。组织病理学分类后分析发现,*GSTT1*(-)基因型可同时增加患鳞癌和腺癌的风险。未发现 *CYP2E1*、*GSTM1*、*GSTP1*、*mEH* 外显子 3、*mEH* 外显子 4 基因型在肺癌组和与对照组之间的分布有显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

### 2.2 *CYP1A1*、*GSTT1* 和 *NQO1* 基因对肺癌发生的交互作用

我们根据陈常中<sup>[8]</sup>介绍的方法对基因间在肺癌发生中的交互作用进行了分析。由于单基因分析结果显示 *CYP1A1*、*GSTT1* 和 *NQO1* 基因多态性可能与肺癌发生有关,因此主要就这三个基因间的交互作用进行了分析。主要结果显示于表 3。

由表 3 可知,单独 *CYP1A1* 突变基因型的 OR 为 1.51,单独 *GSTT1* 缺失基因型的 OR 为 1.73,而 *CYP1A1* 突变型与 *GSTT1* 缺失型同时存在时 OR 值明显升高至 3.41,根据相乘模型判断,二者对肺癌的发生有一定的协同作用。同样,*CYP1A1* 突变型与 *NQO1* 突变型同时存在时对肺癌的发生也存在协同作用,OR 值达 2.45。*GSTT1* 缺失型和 *NQO1* 突变型对肺癌的发生没有交互作用。

表 1 CYP1A1、CYP2E1、GSTP1、mEH 和 NQO1 基因多态性与肺癌的相对风险

Table 1 CYP1A1, CYP2E1, GSTP1, mEH and NQO1 gene polymorphisms and relative risk of lung cancer

组别 Groups	例数 n	基因型 Genotype			OR	95% CI
		wt/wt	wt/mt	mt/mt		
<b>CYP1A1</b>						
对照组 Controls	152	70	71	11	1.00	~
病例组 Patients	152	50	82	20	1.74	1.10~2.77
鳞癌 Squamous carcinoma	63	17	34	12	2.31	1.23~4.36
腺癌 Adenocarcinoma	89	33	48	8	1.45	0.85~2.48
<b>CYP2E1</b>						
对照组 Controls	152	75	67	10	1.00	~
病例组 Patients	152	81	61	10	0.85	0.54~1.34
鳞癌 Squamous carcinoma	63	28	30	5	1.22	0.67~2.20
腺癌 Adenocarcinoma	89	53	31	5	0.66	0.39~1.12
<b>GSTP1</b>						
对照组 Controls	152	94	54	4	1.00	~
病例组 Patients	152	105	43	4	0.73	0.45~1.17
鳞癌 Squamous carcinoma	63	42	19	2	0.81	0.44~1.50
腺癌 Adenocarcinoma	89	63	24	2	0.67	0.38~1.17
<b>mEH-exon3</b>						
对照组 Controls	152	48	76	28	1.00	~
病例组 Patients	152	36	87	29	1.49	0.90~2.47
鳞癌 Squamous carcinoma	63	15	36	12	1.48	0.75~2.89
腺癌 Adenocarcinoma	89	21	51	17	1.50	0.82~2.71
<b>mEH-exon4</b>						
对照组 Controls	152	128	23	1	1.00	~
病例组 Patients	152	115	36	1	1.72	0.97~3.03
鳞癌 Squamous carcinoma	63	48	14	1	1.67	0.81~3.43
腺癌 Adenocarcinoma	89	67	22	0	1.75	0.92~3.34
<b>NQO1</b>						
对照组 Controls	152	53	71	28	1.00	~
病例组 Patients	152	37	79	36	1.66	1.01~2.74
鳞癌 Squamous carcinoma	63	14	34	15	1.87	0.95~3.69
腺癌 Adenocarcinoma	89	23	45	21	1.54	0.86~2.74

注: wt/wt:野生纯合子; wt/mt:杂合子; mt/mt:突变纯合子; OR:合并 wt/mt 和 mt/mt 基因型后计算。

Note: wt/wt:wild homozygote genotype; wt/mt:heterozygote; mt/mt:mutation homozygote genotype; OR:calculation after combined genotype of wt/mt and mt/mt.

表 2 GSTM1 和 GSTT1 基因多态性与肺癌的相对风险

Table 2 GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms and relative risk of lung cancer

组别 Groups	例数 n	基因型 Genotype		OR	95% CI
		(+)	(-)		
<b>GSTM1</b>					
对照组 Controls	152	73	79	1.00	~
病例组 Patients	152	70	82	1.08	0.69~1.70
鳞癌 Squamous carcinoma	63	28	35	1.16	0.64~2.09
腺癌 Adenocarcinoma	89	42	47	1.03	0.61~1.75
<b>GSTT1</b>					
对照组 Controls	152	94	58	1.00	~
病例组 Patients	152	67	85	2.06	1.30~3.24
鳞癌 Squamous carcinoma	63	25	38	2.46	1.36~4.47
腺癌 Adenocarcinoma	89	42	47	1.81	1.07~3.08

注:(+)非缺失型;(-)缺失型

Note:(+)Positive genotype;(-)Null genotype

表 3 CYP1A1、GSTT1 和 NQO1 基因型交互作用与肺癌风险的关系

Table 3 Combined genotype of CYP1A1, GSTT1 and NQO1 and relative risk of lung cancer

		病例组 Patients	对照组 Controls	OR	95% CI
CYP1A1	GSTT1				
wt/wt	(+)	24	43	1.00	~
wt/wt	(-)	26	27	1.73	0.83~3.60
wt/vt, vt/vt	(+)	43	51	1.51	0.79~2.88
wt/vt, vt/vt	(-)	59	31	3.41*	1.77~6.55
GSTT1	NQO1				
(+)	wt/wt	17	35	1.00	~
(+)	wt/vt, vt/vt	50	59	1.75	0.88~3.48
(-)	wt/wt	20	18	2.29	0.97~5.40
(-)	wt/vt, vt/vt	65	40	3.35	1.68~6.66
CYP1A1	NQO1				
wt/wt	wt/wt	13	20	1.00	~
wt/wt	wt/vt, vt/vt	37	50	1.14	0.50~2.59
wt/vt, vt/vt	wt/wt	24	33	1.12	0.47~2.69
wt/vt, vt/vt	wt/vt, vt/vt	78	49	2.45*	1.13~5.31

注: \* 存在交互作用

Note: Interaction

### 3 讨 论

CYP1A1 编码芳烃羟化酶(AHH),可激活广泛存在于香烟烟气中的多环芳烃类(PAH)致癌物。有研究表明 CYP1A1 突变型个体酶诱导活性显著高于野生型,提示突变型个体更容易活化 PAH 等原致癌物,因此有较大的肺癌风险。日本研究最先显示 CYP1A1 突变基因型主要与肺鳞癌的风险增加显著相关<sup>[9]</sup>,我们得出了相似结论,在挪威和芬兰人群中则未发现这一相关性,这可能与不同种族和地区人群中基因突变频率不同有关,中国人的 CYP1A1 基因变异频率与日本人相近。

GSTT1 为解毒酶,它可催化谷胱甘肽与 CYP1A1 代谢产生的亲电子化合物结合形成水溶性的无毒结合物排出体外。GSTT1 缺失基因型者体内没有 GSTT1 酶的表达,因此不能对相应的致癌物进行有效的代谢,从而使个体患肺癌的风险增加,本次研究结果验证了这一说法,但 Lewis 等研究结果显示单一 GSTT1 缺失基因型与肺癌的风险关系不大<sup>[10]</sup>。

NQO1 对醌及其衍生物有解毒作用,也能活化杂环胺类等环境致癌物。C609T 突变改变了酶的二级结构,使酶的活性降低。我们的结果提示 NQO1 突变基因型可能与肺癌易感性有关,与近期国内报道结果相似<sup>[11]</sup>,但西方人及台湾人认为野生型

NQO1 基因与肺癌易感性有关<sup>[12,13]</sup>,对物质代谢的双重作用,以及不同地区存在的环境化合物有差异可能是引起研究结果不一致的原因。结合具体的物质代谢过程进一步验证 NQO1 基因多态性与肺癌易感性的关系是非常有必要的。

本次研究中未发现 CYP2E1、GSTM1、GSTP1、mEH 外显子 3、mEH 外显子 4 基因型与肺癌的易感性有关,与相关资料比较存在一定程度差异。Uemastu 等<sup>[14]</sup>在日本人群中的研究提示 CYP2E1 Dra I 基因多态与肺癌易感性有关;许多资料表明 GSTM1 缺失基因型可能是肺癌,尤其是肺鳞状细胞癌患病的风险因子,最近有研究显示 GSTM1 缺失基因型也可以降低肺癌发生的风险<sup>[10]</sup>;Saarikoski 等<sup>[15]</sup>、Harris 等<sup>[16]</sup>研究表明携带 GSTP1mt 等位基因个体患肺癌的风险降低;法国高加索人中具有 mEH 正常和高酶活性者患肺癌的风险增加,Persson 等<sup>[17]</sup>在汉族人群的研究结果显示携带 mEH 外显子 4 mt 等位基因的基因型者可增加患肺癌的风险。研究结果的不同提示种族差异、地区差异可能是引起疾病易感基因不同的重要原因。

以上结果表明,由于不同民族和地域基因频率的不同,在探讨特定基因做为肺癌易感性标志物时,必须考虑特定的人群。由于肺癌的形成是多基因和多环境因素复杂作用的结果<sup>[18,19]</sup>,因此,单个基因的研究已经远远不能满足要求,对多个基因进行联

合检测已经成为研究趋势,此外,不能忽视环境中特定的暴露因素,因此在今后的研究中,我们将结合外环境中风险因素进一步研究基因与肺癌风险的关系,以期对肺癌的防治提供科学依据。

### 参考文献(References):

- [1] Wu M T, Huang S L, Ho C K, Yeh Y F, Christiani D C. Cytochrome P4501A1 Msp I polymorphism and urinary 1-hydroxypyrene concentrations in coke-oven workers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 1998, 7: 823~829.
- [2] Wang S L, Lee H, Chen K W, Tsai K J, Chen C Y, Lin P. Cytochrome P4502E1 genetic polymorphisms and lung cancer in a Taiwanese population. *Lung Cancer*, 1999, 26: 27~34.
- [3] LAN Qing, HE Xing-Zhou, Debra Costa, TIAN Wei-Lin, LU Xu-Bang, Judy Mumford. Glutathione S-transferase GSTM1 and GSTT1 genotypes and susceptibility to lung cancer. *Journal of Hygiene Research*, 1999, 28(1): 9~11.  
蓝青,何兴舟,Debra Costa,田琳玮,陆旭邦, Judy Mumford. 谷胱甘肽硫转移酶基因 GSTM1 及 GSTT1 缺失与肺癌发病关系的研究. *卫生研究*, 1999, 28(1): 9~11.
- [4] Maugard C M, Charrier J, Pitard A, Campion L, Akande O, Pleasants L, Ali-Osman F. Genetic polymorphism at the glutathione S-transferase(GST)P1 locus is a breast cancer risk modifier. *Int J Cancer*, 2001, 91: 334~339.
- [5] Helzlsouer K J, Selmin O, Huang H Y, Strickland P T, Hoffman S, Alberg A J, Watson M, Comstock G W, Bell D. Association between glutathione S-transferase M1, P1 and T1 genetic polymorphisms and development of breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 1998, 90: 512~518.
- [6] Smith C A D, Harrison D J. Association between polymorphism in gene for microsomal epoxide hydrolase and susceptibility to emphysema. *Lancet*, 1997, 350: 630~633.
- [7] Wiencke J K, Spitz M R, McMillan A, Kelsey K T. Lung cancer in Mexicar-Americans and African-Americans is associated with the wild-type genotype of the NAD(P)H: quinone oxidoreductase polymorphism. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 1997, 6: 87~92.
- [8] CHEN Chang-Zhong, YOU Li-Qing, ZHENG Guang-Hu, JIN Yong-Tang. Application of case-control technique in gene-environment interaction research. *Chinese Journal of Health Statistics*, 1998, 15(1): 31~32.  
陈常中,游丽琴,郑光湖,金永堂. 病例对照方法在基因环境交互作用研究中的应用. *中国卫生统计*, 1998, 15(1): 31~32.
- [9] Kawajiri K, Nakachi K, Imai K, Yoshii A, Shinoda N, Watanabe J. Identification of genetically high risk individuals to lung cancer by DNA polymorphisms of the cytochrome P4501A1 gene. *FEBS Lett*, 1990, 263: 131~133.
- [10] Lewis S J, Cherry N M, Niven R M, Barber P V, Povey A C. GSTM1, GSTT1 and GSTP1 polymorphisms and lung cancer risk. *Cancer Letters*, 2002, 180: 165~171.
- [11] LIN Yue-Hao, LU Xi-Lin, SHAO Ming, LIANG Yi-Ren, LI You-Juan. NAD(P)H: quinone oxidoreductase gene polymorphism and susceptibility of lung cancer. *Chinese Journal of Cancer*, 2000, 19(5): 450~452.  
林月好,卢锡林,邵明,梁伊仁,李幼娟. NQO1 基因多态性与肺癌遗传易感性. *癌症*, 2000, 19(5): 450~452.
- [12] Wiencke J K, Spitz M R, McMillan A, Kelsey K T. Lung cancer in Mexicar-Americans and African-Americans is associated with the wild-type genotype of the NAD(P)H: quinone oxidoreductase polymorphism. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention*, 1997, 6: 87~92.
- [13] Lin P P, Wang H J, Lee H. NAD(P): quinone oxidoreductase polymorphism and lung cancer in Taiwan. *J Toxicol Environ Health*, 1999, 58: 187~197.
- [14] Uemastu F, Ikawa S, Kikuchi H, Sagami I, Kanamaru R, Abe T, Satoh K, Motomiya M, Watanabe M. Restriction fragment length polymorphism of the human CYP2E1 (cytochrome P4502E1) gene and susceptibility to lung cancer: possible relevance to low smoking exposure. *Pharmacogenetics*, 1994, 4: 58~63.
- [15] Saarikoski S T, Voho A, Reinikainen M, Anttila S, Karjalainen A, Malaveille C, Vainio H, Husgafvel-Pursiainen K, Hirvonen A. Combined effect of polymorphic GST genes on individual susceptibility to lung cancer. *Int J Cancer*, 1998, 77: 516~521.
- [16] Harris M J, Coggan M, Langton L, Wilson S R, Board P G. Polymorphism of the Pi glutathione S-transferase in normal populations and cancer patients. *Pharmacogenetics*, 1998, 8: 27~31.
- [17] Persson I, Johansson I, Lou Y C, Yue Q Y, Duan L S, Bertilsson L, Ingelman-Sundberg M. Genetic polymorphism of xenobiotic metabolizing enzymes among Chinese lung cancer patients. *Int J Cancer*, 1999, 81: 325~329.
- [18] XIANG Yong-Bing, GAO Yu-Tang, ZHONG Li-Jie, JIN Fan, SUN Lu, CHENG Jia-Rong. Study on familial aggregation of lung cancer among women in Shanghai. *Hereditas (Beijing)*, 1996, 18(5): 31~35.  
项永兵,高玉堂,钟礼杰,金凡,孙璐,程家蓉. 上海市区女性肺癌的家族聚集性研究. *遗传*, 1996, 18(5): 31~35.
- [19] LI Yu, SONG Yan, LU Gang, ZOU Rong, ZOU Ya-Nan, ZHANG Gui-Yin, LI Pu. A metastasis-related gene with non-small lung carcinoma——RAB5A gene. *Hereditas (Beijing)*, 1999, 21(4): 6~10.  
李钰,宋岩,陆纲,邹荣,邹亚男,张贵寅,李璞. 一个与非小细胞肺癌转移相关的基因——RAB5A 基因. *遗传*, 1999, 21(4): 6~10.