

文章编号:1004 - 616X(2002)01 - 0030 - 03

·论著·

CYP1A1, GSTM1 基因型与烟酒诱发人体内淋巴细胞微核的形成

薛开先,陈森清,马国建,许林,吴建中

(江苏省肿瘤防治研究所 遗传学研究室,江苏 南京,210009)

【摘要】目的:探讨代谢酶 CYP1A1 和 GSTM1 等位基因型对烟酒诱发人体内淋巴细胞微核的影响。方法:分别应用等位基因特异性(AS)和多重差别(MD)-PCR 检测 CYP1A1 和 GSTM1 的等位基因型,应用末梢血微核法检测体内淋巴细胞微核。结果:与无吸烟史健康人群的淋巴细胞平均微核率(MNF 0.24%)相比,吸烟组 MNF 显著增加(0.65%, $P < 0.05$),重度饮酒可增强这一效应(0.89%, $P < 0.01$);与无吸烟史的非易感联合基因型(CYP1A1 Ile/Ile·GSTM1 + (+/+和 +/0),CYP1A1 Ile/Ile·GSTM1 0/0 和 CYP1A1 Ile/Val·GSTM1 +) 个体的 MNF(0.42%)相比,吸烟使 GSTM1 0/0 基因型个体的 MNF 显著上升(0.75%, $P < 0.05$),并可使 CYP1A1 Val/Val 基因型和易感联合基因型(CYP1A1 Ile/Val·GSTM1 0/0,CYP1A1 Val/Val·GSTM1 + 和 CYP1A1 Val/Val·GSTM1 0/0) 个体的 MNF 均上升约 1 倍(0.83%和 0.85%, $0.10 > P > 0.05$)。结论:吸烟诱发体内淋巴细胞 MNF 显著增加,重度饮酒增强这一效应。烟酒诱发微核形成与个体 CYP1A1 和 GSTM1 的遗传多态性密切相关。

【关键词】等位基因型;CYP1A1;GSTM1;微核;吸烟

中图分类号:R73 - 31

文献标识码:A

CYP1A1 AND GSTM1 GENOTYPES AND IN VIVO MICRONUCLEUS FORMATION IN HUMAN LYMPHOCYTES INDUCED BY SMOKING AND DRINKING

XUE Kai-xian, CHENG Sen-qing, MA Guo-jian, XU Lin, WU Jian-zhang

(Cancer Institute of Jiangsu Province, Nanjing 210009, China)

Abstract : Purpose : To investigate the effects of CYP1A1 and GSTM1 allelotypes on the *in vivo* micronucleus formation in human peripheral lymphocytes induced by smoking and drinking. **Methods :** The allelotypes of CYP1A1 and GSTM1 were detected by allele-specific (AS)- and multiplex differential (MD)-PCR respectively. Micronuclei were detected by the *in vivo* micronucleus test in human capillary blood lymphocytes. **Results :** It showed that cigarette smoking increased significantly MNF in lymphocytes (0.65%, $P < 0.05$) as compared with those of healthy non-smokers (0.24%), heavy alcohol-drinking enhanced this effect (0.89%, $P < 0.01$); smoking increased significantly MNF in lymphocytes from individuals with the genotype GSTM1 0/0 (0.75%, $P < 0.05$) and induced the statistically marginal increase of MNF in lymphocytes of individuals with the genotype CYP1A1 Val/Val and the susceptible combined genotypes CYP1A1 Val/Val·GSTM1 0/0, CYP1A1 Val/Val·GSTM1 + (+/+ and +/0) and CYP1A1 Val/Ile·GSTM1 0/0 as compared with those of individuals with the non-susceptible combined genotypes CYP1A1 Ile/Ile·GSTM1 +, CYP1A1 Ile/Ile·GSTM1 0/0 and CYP1A1 Ile/Val·GSTM1 +. **Conclusion :** Cigarette smoking induced the significant increase of MNF in lymphocytes of human peripheral blood, heavy alcohol drinking enhanced obviously the effect. The *in vivo* micronucleus formation induced by smoking and drinking had the close association with CYP1A1 and GSTM1 allelotypes.

Key words : allelotypes; CYP1A1; GSTM1; micronucleus; cigarette smoking

收稿日期:2001-01-27; 修订日期:2001-03-28

基金项目:江苏省卫生厅科研基金资助(H9527)

作者简介:薛开先(1939-)江苏省如皋市人,硕士,研究员,研究方向:肿瘤遗传学、分子流行病学和遗传毒理学。

烟酒是呼吸系统和上消化道癌的主要危险因素^[1]。随着吸烟致癌机制的逐步阐明,从长期吸烟饮酒的高危人群中,应用适当的生物标记检出易感个体或人群,已成为降低吸烟致癌风险的新策略^[2]。代谢酶遗传多态关系到环境致癌剂的活化和灭活,在癌变早期起重要作用^[3,4]。人体内外周血淋巴细胞微核的形成,可反映环境致癌、致突变剂引起的染色体和间期核损伤^[5]以及机体对异常细胞清除能力^[6]。因此本研究在自然人群中,检测了代谢酶 CYP1A1 和 GSTM1 的等位基因型,以及烟酒诱发的体内微核率的改变,以探讨两者间的关系和作为评价个体癌易感性生物标志的价值。

1 对象与方法

1.1 对象 本组受检者为一肺癌病例-对照研究中,有微核测试的自然对照人群,健康状态未加选择;约有 20% 的人患有心血管、呼吸和消化等系统的慢性病。全组共 89 人,其中男性 71 例,女性 18 例,大多数为中老年人,平均年龄 53.4 岁 ±12.7 岁。

1.2 方法 按本实验室报告的方法,从微量血提取 DNA,用 AS-PCR 检测 CYP1A1 Ile/Val 等位基因型,用 MD-PCR 检测 GSTM1 +/0 等位基因型^[7],用末梢血微核法检测体内淋巴细胞微核^[8]。

1.3 统计 组间平均微核率的显著性差异应用 U 检验。

2 结果

2.1 烟酒对体内淋巴细胞微核形成的影响

表 1 显示,与作者以往报告的健康人体内淋巴细胞平均微核率 (MNF 0.24%^[8]) 相比,无吸烟史的自然对照和饮酒者的 MNF 虽有上升,但无显著意义;吸烟可引起人体内淋巴细胞 MNF 显著上升 (0.65%, $P < 0.05$);低中度饮酒 (饮酒量 < 15 百克年,百克年数即每天饮乙醇百克数 \times 饮酒年数) 的吸烟者 MNF (0.46% 较

吸烟者 MNF 有所下降,而与无吸烟史的自然对照 MNF (0.45%) 相近,然而重度饮酒的吸烟者 MNF (0.89%) 与健康与自然对照组相比,分别有极显著 ($P < 0.01$) 和显著 ($P < 0.05$) 的 MNF 的增加。

表 1. 烟酒对自然人群体内淋巴细胞微核形成的影响

Table 1. Influence of smoking and drinking on micronucleus formation in natural population

	norr smoking			smokers		
	healthy	natural	drinker	norr	norr heavy	heavy
	control	control		drinking	drinking	drinking
No. of persons	111	28	4	22	13	22
MNF (%)	0.24	0.45 ±0.36	0.63 ±0.22	0.65 ±0.57 *	0.46 ±0.60	0.89 ±0.75 **

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, comparing with the healthy controls.

$P < 0.05$, comparing with the natural controls.

2.2 CYP1A1 和 GSTM1 等位基因型对烟酒诱发 MNF 的影响

根据作者同时完成的一组病例-对照研究,常见的 3 种联合基因型 (CYP1A1 Ile/Ile ·GSTM1 + (+/- 或 +/+), CYP1A1 Ile/Ile ·GSTM1 0/0 和 CYP1A1 Ile/Val ·GSTM1 +),与肺癌个体易感性无明显相关,将他们的 MNF 作为对照;而将使肺癌相对危险度 (OR 值) 增加了 3 倍以上的 3 种少见联合基因型 (CYP1A1 Val/Val ·GSTM1 0/0、CYP1A1 Val/Val ·GSTM1 + 和 CYP1A1 Ile/Val ·GSTM1 0/0) 作为敏感基因型,如此整理、统计分析的结果见表 2。与无烟酒史非易感联合基因型个体的 MNF (0.42%) 相比,在常见等位基因型 GSTM1 +、CYP1A1 Ile/Ile 及杂合子 CYP1A1 Ile/Val 的个体,烟酒使 MNF 约上升 50% (0.60%~0.64%, $P > 0.05$);而在少见基因型 GSTM1 0/0 的个体,烟酒引起近 80% 的 MNF 显著增量 (0.75%, $P < 0.05$);在少见基因型 CYP1A1 Val/Val 和易感联合基因型个体,引起近 1 倍的 MNF 增量 (0.83%~0.85%, $0.10 > P > 0.05$)。

表 2. CYP1A1、GSTM1 遗传多态对体内诱发淋巴细胞微核的影响

Table 2. Influence of CYP1A1 And GSTM1 genetic polymorphisms on then in vivo induction of micronucleus

	norr smoking norr drinking	smoking and drinking					susceptible combined genotypes
	norr susceptible combined genotypes	Ile/Ile	Ile/Val	Val/Val	GSTM1 +	GSTM1 0/0	
No. of persons	26	38	20	3	28	30	10
MNF (%)	0.42 ±0.36	0.64 0.55	0.60 0.07	0.83 0.47	0.63 0.70	0.75 * 0.62	0.85 0.74

* $P < 0.05$, as compared with nonsmoking and nondrinking individuals with the nonsusceptible combined genotypes

3 讨论

染色体畸变在肿瘤发生中起重要作用^[9]。微核是检测染色体损伤的简易方法,经 20 多年的大量研究表明,体内淋巴细胞微核可反映环境致癌突变因子对人体的效应,并可反映人体内免疫器官对异常细胞的清除能力^[5,6],因此我国学者建立的人体外周血淋巴细胞微核直接测试法作为生物标记,似较体外的生物标志更能反映人癌发生的体内过程。从表 1 可见,与健康对照的平均 MNF 相比,吸烟引起的人体内淋巴细胞微核显著增加 ($P < 0.05$);若吸烟者同时重度饮酒,其 MNF 则有极显著的增加 ($P < 0.01$),这与烟酒协同增加食管癌和头颈部癌相对危险度的作用相一致^[10,11]。然而中低度饮酒似对吸烟的致突变作用有一定保护作用,使其 MNF 有所下降,而与不吸烟的自然人群的 MNF 相近,这又与中低度饮酒一般不引起个体癌危险度改变,或甚至引起某些类型癌危险度下降的研究结果相一致^[12,13]。

CYP1A1 参与烟草中致癌物多环芳烃类 (PAHs) 的活化,其活性致癌物随后可被 GSTM1 所灭活。这两种代谢酶的活性因遗传多态性而有明显的差异,从而影响个体对致癌剂的易感性^[4]。从表 2 可见,与无烟酒史的非易感联合基因型个体的平均 MNF (0.42%) 相比,在常见基因型 GSTM1 +、CYP1A1 Ile/Ile 及杂合子 CYP1A1 Ile/Val 的个体,吸烟使 MNF 有所上升 ($P > 0.05$);而在少见基因型 GSTM1 0/0、CYP1A1 Val/Val 及易感联合基因型个体引起近 1 倍的 MNF 增加 (0.75%~0.85%)。这与我们在平行的病例-对照研究中 GSTM1 +/0 和 CYP1A1 Ile/Val 的等位基因型与肺癌相对危险的关系相一致。从上述研究讨论中可见,人体内周血淋巴细胞微核形成与烟酒的致癌、致突变效应密切相关,因此作为癌易感性的体内标志值得注意和进一步研究。

吸烟在女性较男性有更大的肺癌风险,尤其是在 GSTM1 0/0 个体^[10]。本组仅有的一例女性吸烟者 (40 包年,包年为每天吸烟包数 × 吸烟年数) 有最高的 MNF 增加 (8%),然而她是常见的联合基因型 CYP1A1 Ile/Ile · GSTM1 +,所以本例 MNF 异常升高的

原因和是否易发肺癌值得进一步观察和研究。

参考文献:

- [1] Cloos J, Nieuwenhuis EC, Boomsma DI, *et al.* Inherited susceptibility to bleomycin-induced chromatid break in cultured peripheral blood lymphocytes[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1999, 91:1 125 ~ 1 130.
- [2] Hecht SS. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1999, 91:1 194 ~ 1 210.
- [3] Perera FP. Environmental and cancer: Who are susceptible[J]? *Science*, 1997, 278:1 068 ~ 1 073.
- [4] 薛开先. 代谢酶遗传多态性与肿瘤易感性的研究[J]. 国外医学遗传学分册, 1995, 18:246 ~ 250.
- [5] 薛开先. 人微量外周血淋巴细胞微核直接测试法. 曹佳, 林真, 余争平, 等. 微核试验—原理、方法及其在人群监测和毒性评价中的应用[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2000. 91 ~ 111.
- [6] Everson RB, Wehr CM, Erexson CL, *et al.* Association of marginal folate depletion with increased human chromosomal damage *in vivo*: demonstration by analysis of micronucleated erythrocytes[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1988, 80:525 ~ 529.
- [7] 陈森清, 许林, 马国建, 等. 应用等位基因特异性 PCR 和多重差别 PCR 检测肺癌患者 CYP1A1 和 GSTM1 的遗传多态性[J]. 癌变 畸变 突变, 1999, 11:119 ~ 122.
- [8] Xue KX, Ma G, Wang S, *et al.* The *in vivo* micronucleus test in human capillary blood lymphocytes: methodological studies and effect of aging[J]. *Mutat Res*, 1992, 278:259 ~ 264.
- [9] Brodeur GM, Hogarty MD. Chromosome rearrangements in human solid tumor in Vogelstein B, Kinzler KW. The Genetic Basis of Human Cancer[M]. New York: McGraw-Hill, 1998. 143 ~ 160.
- [10] Lewin F, Norell SE, Johansson H, *et al.* Smoking tobacco, oral snuff, and alcohol in etiology of squamous cell carcinoma of the head and neck[J]. *Cancer*, 1998, 82: 1 367 ~ 1 375.
- [11] 高玉堂. 癌流行病学研究方法. 见张元泽, 徐光炜. 肿瘤学(上册)[M]. 天津: 天津科技出版社, 1998. 13.
- [12] Gammon MD, Schoenberg JB, Ahsan H, *et al.* Tobacco, alcohol, and socioeconomic status and adenocarcinoma of esophagus and gastric cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 1997, 89: 1 277 ~ 1 284.
- [13] Newcomb PA, Trentham-Dietz A, Storer BE. Alcohol consumption in relation to endometrial cancer risk[J]. *Cancer Epid Biomarker Prev*, 1997, 6: 775 ~ 778.
- [14] Tang DL, Rundle A, Warburton D, *et al.* Association between both genetic and environmental biomarkers and lung cancer: evidence of a greater risk of lung cancer in women smokers[J]. *Carcinogenesis*, 1998, 19:1 949 ~ 1 953.