

人外周血基因组 DNA 端粒长度与肺癌关系*

谭善娟, 王娜, 王威, 吴拥军, 吴逸明

摘要:目的 观察外周血基因组 DNA 端粒长度与肺癌危险性的关系。方法 用荧光定量 PCR 法检测 145 例肺癌患者、145 名正常对照和 145 名焦炉工人外周血基因组 DNA 相对端粒长度。结果 肺癌组端粒长度明显短于对照组 ($P=0.028$)。职业暴露组端粒长度明显短于肺癌组 ($P=0.005$) 和对照组 ($P<0.001$)；按对照组端粒长度分 4 组 随着端粒的缩短, 肺癌的危险性增加 ($P_{trend}<0.001$)；按对照组端粒长度中位数把样本分为 2 组发现, 与长端粒组比较, 端粒变短明显增加肺癌的危险性 (调整 $OR=2.337$, 95% CI 为 1.413~3.866)；对照组中 随着年龄增加, 端粒缩短 ($P<0.001$)。结论 端粒缩短可增加肺癌的危险性, 可能是肺癌发展早期过程中的一项重要的生物标志。

关键词: 端粒长度; 肺癌; 多环芳烃

中图分类号: R 734.2

文献标志码: A

文章编号: 1001-0580(2012)05-0652-03

Telomere length in peripheral leukocyte DNA and risk of lung cancer TAN Shan-juan, WANG Na, WANG Wei, et al. Department of Health Toxicology, College of Public Health, Zhengzhou University (Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Objective To explore the association between telomere length and the risk of lung cancer. **Methods** Relative telomere length in genomic DNA extracted from peripheral blood leukocytes was measured with quantitative polymerase chain reaction among 145 lung cancer patients, 145 healthy controls and 145 coke-oven workers (exposed group). **Results** Telomere length in lung cancer patients was significantly shorter than in controls (1.24 ± 0.88 versus 1.47 ± 1.06 , $P=0.028$). The exposed group exhibited a significantly shorter telomere length (0.94 ± 0.72) than lung cancer patients ($P=0.005$) and healthy controls ($P<0.001$). When the subjects were categorized into quartiles based on the telomere length of healthy controls, the risk of lung cancer was found to increase as telomere length shortened ($P_{trend}<0.001$). Compared to the individuals with long telomere length, individuals with short telomere length had a significantly increased risk of lung cancer (adjusted odds ratio = 2.337, 95% confidence interval: 1.413–3.866). Furthermore, telomere length in the controls was significantly shorter in association with aging ($P<0.001$). **Conclusion** The results suggest that shorter telomere length may be associated with a higher risk of lung cancer and could be used as an early marker for susceptibility to lung cancer.

Key words: telomere length; lung cancer; polycyclic aromatic hydrocarbons

端粒是真核细胞染色体末端的一段特殊 DNA—蛋白质复合体, 其作用是维护染色体的完整性和稳定性^[1]。目前有关端粒长度与肺癌的关系研究存在分歧。Jang 等^[2]报道外周血基因组 DNA 端粒变短可能是肺癌的一个危险因素, 但 Shen 等^[3]研究发现肺癌患者的端粒比正常对照变长。多环芳烃 (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) 是一类明确的人类致癌物, 已有许多研究表明 PAHs 暴露与外周血基因组 DNA 相对端粒长度 (relative telomere length, RTL) 密切相关^[4-5]。为进一步证实外周血细胞 RTL 与肺癌的关系, 本研究应用荧光定量 PCR 法测定了肺癌患者、正常对照和 PAHs 暴露工人的外周血基因组 DNA 端粒长度, 以探讨端粒长度的变化与肺癌的关系。

1 对象与方法

1.1 对象 145 例肺癌患者 (鳞状细胞癌 55 例, 腺癌 63 例, 小细胞肺癌 20 例, 大细胞肺癌 7 例) 选自于 2009 年 1 月—2010 年 5 月在郑州大学第一附属医院呼吸内科确诊病例; 145 名正常对照选自郑州大学第一附属医院健康体检人群; 145 名 PAHs 暴露者选自某钢铁公司焦炉工人。纳入标准: 肺癌患者均经病理学或细胞学证实为原发性肺癌, 正常对照和 PAHs 暴露者体检中均未发现肺部或其他器官肿瘤; 暴露组均接触 PAHs 半年以上。资料和样本的采集均经研究对象知情

同意。

1.2 主要试剂和仪器 DNA 提取试剂盒 (上海莱风生物技术公司), $2 \times$ SYBY qPCR Master Mix (美国 Promega 公司), MX3000P PCR 仪 (美国 STARTAGENE 公司)。

1.3 方法

1.3.1 外周血基因组 DNA 提取与浓度测定 外周血基因组 DNA 提取按 DNA 提取试剂盒说明进行操作, -20°C 保存 DNA。提取的 DNA 用紫外分光光度计测 A 值, 选取 A260/A280 介于 1.7~2.0 之间者的基因组 DNA 作为试验样品。

1.3.2 端粒相对长度测定 采用实时荧光定量聚合酶链反应 (PCR) 法^[6] 进行相对端粒长度测定。PCR 引物由上海生物工程技术有限公司合成。端粒基因的引物序列为 Tel1: 5'-CAGCAAGTGGGAAGGTGTAATCC-3', Tel2: 5'-CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA-3'。内参基因的引物序列为 GAPDH1: 5'-TACTAGCGGTTTTACGGGCG-3', GAPDH2: 5'-GAACAGGAGGAGCAGAGAGCGA-3', 扩增产物为 166 bp。PCR 反应体系如下: $2 \times$ SYBY qPCR Master Mix 10 μL , 0.5 μL 的引物 (浓度为 10 mmol/L), 2 μL 模板 DNA。端粒和内参基因的 PCR 反应条件均为: 95°C 10 min, 95°C 15 s, 61°C 1 min, 40 个循环。PCR 仪自带的软件分析数据, 根据阴性对照和基线确定 Ct 值, 并根据溶解曲线确定 Ct 值是否有效。每个样品均做 3 个平行样并取均值作为该样本的 Ct 值, 每一轮 PCR 反应均做阴性对照。

1.4 统计分析 采用 SPSS 12.0 统计软件进行分析, 定性资料组间比较用 χ^2 检验; 定量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用方差分析; 检验水准 $\alpha=0.05$ 。

* 基金项目: 国家自然科学基金 (30972457; 81001239)

作者单位: 郑州大学公共卫生学院卫生毒理学教研室, 河南 郑州 450001

作者简介: 谭善娟 (1986-), 女, 山东临沂人, 硕士在读, 研究方向: 分子与遗传毒理。

通讯作者: 吴拥军, E-mail: wuyongjun@zzu.edu.cn

2 结果

2.1 基本情况 肺癌组共 145 例,其中男性 105 例,女性 40 例,吸烟者 87 例,不吸烟者 58 例,平均年龄(58.28 ± 9.97)岁;对照组共 145 名,其中男 98 名,女 47 名,吸烟者 58 名,不吸烟者 87 名,平均年龄(56.46 ± 9.74)岁;暴露组共 145 名,其中男 113 名,女 32 名,吸烟者 91 名,不吸烟者 54 名,平均年龄(43.69 ± 7.44)岁。均衡性检验结果表明 3 组性别差异无统计学意义;肺癌组与对照组年龄差异无统计学意义,暴露组与对照组、肺癌组年龄差异均具有统计学意义($P < 0.05$);肺癌组和暴露组吸烟史差异无统计学意义,对照组与暴露组、肺癌组吸烟史差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 外周血全基因组 DNA 端粒长度 肺癌组端粒长度为

(1.24 ± 0.88),对照组为(1.47 ± 1.06),暴露组为(0.94 ± 0.72) 3 组差异有统计学意义($F = 12.829, P < 0.001$),且两两比较差异均有统计学意义($P < 0.001$)。

2.3 年龄、性别、吸烟对端粒长度的影响(表 1) 肺癌组和暴露组中,年龄、性别和吸烟史对端粒长度影响差异均无统计学意义;对照组中,年龄对端粒长度影响差异有统计学意义($t = 5.489, P < 0.001$),性别与吸烟史对端粒长度影响差异无统计学意义。肺癌组与对照组比较,≤50 岁年龄组、女性间差异均有统计学意义($P < 0.05$);肺癌组与暴露组比较,男性组、有吸烟史组间差异均有统计学意义($P < 0.05$);暴露组与对照组比较,年龄、性别和有吸烟史间差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 年龄、性别和吸烟对端粒长度的影响

变 量	肺癌组		对照组		暴露组		F	P	
	例数	$\bar{x} \pm s$	例数	$\bar{x} \pm s$	例数	$\bar{x} \pm s$			
年龄	≤50	33	1.22 ± 0.72	43	2.14 ± 0.93	114	0.96 ± 0.72	36.327	<0.001
	>50	112	1.18 ± 1.00	102	1.24 ± 0.91	31	0.85 ± 0.73	2.360	0.102
性别	男	105	1.30 ± 0.84	98	1.43 ± 0.99	113	0.90 ± 0.73	10.970	<0.001
	女	40	1.08 ± 0.84	47	1.57 ± 1.22	32	1.05 ± 0.70	3.682	0.028
吸烟史	是	87	1.25 ± 0.84	58	1.48 ± 1.09	91	0.90 ± 0.76	8.321	<0.001
	否	58	1.21 ± 0.87	87	1.46 ± 1.06	54	0.99 ± 0.65	4.579	0.011

2.4 端粒长度和肺癌的危险性的关系(表 2) 按对照组相对端粒长度的百分位数 25%、50%、75% 为分界点分别将肺癌组和对照组分为 4 层后,肺癌组与对照组频数分布差异有统计学意义($\chi^2 = 19.509, P < 0.001$),OR 值趋势性检验差异

有统计学意义($\chi^2_{趋势} = 17.006, P < 0.001$);按对照组的中位数将 2 组分成 2 层分析端粒长度与肺癌的危险性关系,肺癌组与对照组的频数分布差异有统计学意义($\chi^2 = 13.008, P < 0.001$)。

表 2 端粒长度与肺癌危险性的关系

端粒水平	肺癌组	对照组	OR ^a	95% CI	P ^a	
按四分位数分类	2.2 < RTL	11	36	1.000	-	
	1.33 < RTL ≤ 2.2	31	37	2.701	1.239 ~ 5.890	0.009
	0.44 < RTL ≤ 1.33	48	36	4.669	2.027 ~ 10.754	<0.001
	RTL ≤ 0.44	55	36	5.069	2.183 ~ 11.768	<0.001
按中位数分类	RTL > 1.33	42	72	1.000	-	
	RTL ≤ 1.33	103	73	2.337	1.413 ~ 3.866	<0.001

注:a 用非条件 Logistic 回归计算的 OR 和 P 值,均经过性别、年龄和吸烟水平的调整。

3 讨论

本研究表明,肺癌组 RTL 短于对照组,对性别、年龄和吸烟史分析,结果表明随着端粒缩短患肺癌危险性增加,提示端粒缩短引起端粒功能紊乱是肺癌危险因素,检测外周血基因组 RTL 变化可作为预测肺癌的肿瘤标志。通过对性别、年龄、吸烟史等端粒长度的影响因素分析,发现对照组中年龄增大可使 RTL 变短,与 Shen 等^[7]的研究结果一致。

对 PAHs 暴露组年龄、性别和吸烟史分层分析,RTL 短于对照组,表明暴露于 PAHs 导致外周血 RTL 缩短。PAHs 可能通过形成 DNA 加合物或 DNA 氧化损伤引起端粒缩短,而外周血 RTL 与 p53 基因启动子区甲基化密切相关,均可以解释多环芳烃暴露通过破坏端粒的稳定性而增加肺癌的危险性^[8]。

本研究表明,暴露组的 RTL 短于肺癌组,可能原因是当端粒缩短到一定程度时细胞会停止分裂开始衰老和凋亡,而当机体受外界理化因素刺激或基因发生突变或修饰时,会使细胞逃过衰老和死亡的监测点继续分裂,端粒继续缩短会激

活端粒酶以补偿细胞分裂过程中端粒的丢失,使细胞得以无限分裂,获得永生化和恶变^[9]。这支持了端粒缩短可能是恶性肿瘤多步发展过程中早期的获得性遗传性状改变指标之一的假设^[10]。

综上,端粒缩短可增加肺癌的危险性,可能是肺癌发生发展过程中的早期效应生物标志。

参考文献

- (1) Zheng YL, Ambrosone C, Byrne C, et al. Telomere length in blood cells and breast cancer risk: investigations in two case-control studies[J]. Breast Cancer Res Treat 2010, 120: 769 - 775.
- (2) Jang JS, Choi YY, Lee WK, et al. Telomere length and the risk of lung cancer. [J]. Cancer Sci 2008, 99(7): 1385 - 1389.
- (3) Shen M, Cawthon R, Rothman N, et al. A prospective study of telomere length measured by monochrome multiplex quantitative PCR and risk of lung cancer[J]. Lung Cancer, 2011, 73(2): 133 - 137.
- (4) 聂继盛, 张红梅, 孙建娅, 等. 焦炉作业多环芳烃暴露工人诱发电位检测[J]. 中国公共卫生 2009, 25(6): 738 - 739.

- (5) Pavanello S, Pesatori AC, Dioni L, et al. Shorter telomere length in peripheral blood lymphocytes of workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. *Carcinogenesis* 2010, 31(2): 216-221.
- (6) Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR [J]. *Nucleic Acids Res* 2002, 30(10): e47.
- (7) Shen J, Terry MB, Gurvich I, et al. Short telomere length and breast cancer risk: a study in sister sets [J]. *Cancer Res* 2007, 67: 5538-44.
- (8) 袁著革, 晁福襄, 孙咏梅, 等. 室内生源性多环芳烃对 DNA 的氧化损伤 [J]. *中国公共卫生* 2004, 20(9): 1034-1036.
- (9) 张蕾, 田力, 李伟伟, 等. 端粒酶上调与甲状腺鳞癌细胞增殖关系 [J]. *中国公共卫生* 2010, 26(11): 1411-1413.
- (10) Meeker AK, Hicks JL, Iacobuzio-Donahue CA, et al. Telomere length abnormalities occur early in the initiation of epithelial carcinogenesis [J]. *Clin Cancer Res* 2004, 10(10): 3317-3326.

收稿日期: 2011-07-06

(韩仰欢编辑 宋艳萍校对)

【调查报告与分析】

家庭环境和应对方式对大学生自杀意念影响*

褚成静¹, 潘艳云¹, 杨敏¹, 董树平²

摘要:目的 探讨家庭环境因素及应对方式对大学生自杀意念的影响。方法 采用随机抽样方法对某城市 3 所高校不同年级 585 名学生进行自杀意念、自伤行为、抑郁自评量表以及家庭环境和简明应对方式调查。结果 被调查者中有过自杀意念的占 20.9%, 5.7% 有过 ≥ 1 次自杀行为; 11.6% 的大学生有过自伤行为; 自杀意念组的女生比例明显高于男生, 曾经有过自杀和自伤行为的比例明显高于正常组 ($P < 0.001$); 多因素逻辑回归分析表明, 女生 ($OR = 2.391$)、消极应对方式 ($OR = 2.796$)、抑郁状态 ($OR = 1.071$)、存在自伤行为 ($OR = 4.003$) 以及有过 ≥ 1 次自杀行为 ($OR = 5.492$) 是大学生自杀意念的危险因素, 而家庭环境亲密度 ($OR = 0.879$) 可能是自杀意念的保护性因素; 未发现童年时期父母的关系以及童年时期是否受到成年人虐待与大学生自杀意念相关。结论 大学生自杀意念较高, 受性别、抑郁状态、家庭环境、消极应对以及曾经的自杀和自伤行为经验影响。

关键词: 自杀意念; 家庭环境; 应对方式; 大学生

中图分类号: R 395.6

文献标志码: A

文章编号: 1001-0580(2012)05-0654-03

Effects of family environment and coping style on suicide idea in college students CHU Cheng-jing, PAN Yan-yun, YANG Min, et al. *Psychology Department, School of Humanity and Management, Guangdong Medical College (Dongguan 523808, China)*

Abstract: Objective To explore effects of family environment and coping style on suicide idea in college students. **Methods** With randomized sampling 585 students were investigated with a self-designed questionnaire on suicide idea and self-injury behavior (SIB), Self-Rating Depression Scale (SDS), Family Environment Scale-Chinese Version (FES-CV), and Simplified Coping Style Questionnaire (SCSQ). The data were analyzed with t-test, χ^2 -test, correlation and regression analyses. **Results** Of the students 20.9% had suicide idea and 11.6% had suicidal behaviors. The rates of suicide behavior and SIB in females and the students with suicide idea were significantly higher than those of the controls ($P < 0.001$). The results exhibited that female (odds ratio [OR] = 2.391), negative coping style ($OR = 2.796$), depression ($OR = 1.071$), SIB ($OR = 4.003$), and with at least one suicidal action ($OR = 5.492$) were risk factors of suicide idea, while cohesion in family ($OR = 0.879$) may be a protective factor. **Conclusion** Suicide idea in college students is significantly influenced by gender, depression, family environment, negative coping style, and the experiences of suicidal behavior and self-injury behavior.

Key words: suicide ideation; family environment; coping style; college student

自杀是世界范围内危害健康的重大公共卫生问题, 目前是大学生主要死亡原因之一。自杀意念是自杀潜在的危险因素⁽¹⁻²⁾, 对自杀意念的干预是预防自杀行为的重要手段之一。调查显示, 大学生自杀率明显高于同龄的非大学生人口, 而家庭环境因素、抑郁情绪等与自杀意念相关⁽³⁻⁴⁾。本研究于 2011 年 3-5 月对广东省东莞市高校大学生自杀意念流行现状进行调查, 探讨家庭环境、应对方式以及曾经的自杀自伤行为等因素共同对大学生自杀意念的影响, 为进一步阐明大学生群体自杀意念的心理社会因素、有效预防大学生自杀提供

科学依据。

1 对象与方法

1.1 对象 采用分层整群随机抽样方法, 调查 3 所高校的在校大学生。首先按照年级分层 (大一至大四), 再从各年级中按照不同学院分组, 随机选取 6 个学院中共 8 个专业的班级为调查对象。以班级为单位发放问卷, 共发放 600 份, 剔除回答不完整问卷, 收回有效问卷 585 份, 有效率 97.5%。其中, 大一新生 156 人, 大二 104 人, 大三 172 人, 大四 168 人; 女生 338 人, 占 57.8%, 男生 247 人, 占 42.2%。对象年龄为 18~23 岁, 平均 (20.82 ± 1.43) 岁。

1.2 方法

1.2.1 研究工具 (1) 一般资料问卷: 自行设计, 内容包括性别、年龄、专业、是否独生子女及家庭收入; 童年时期父母的关系以及童年时期是否受到成年人虐待等。(2) 自杀意念评

* 基金项目: 国家自然科学基金(81101021)

作者单位: 1. 广东医学院人文与管理学院心理学教研室, 广东东莞 523808; 2. 广东医学院人事处

作者简介: 褚成静 (1974-), 女, 新疆人, 讲师, 博士, 研究方向: 医学心理学。