

· 调查报告与分析 ·

## 细胞色素 P450 及谷胱甘肽转硫酶基因与食管癌关系

张林, 马伟, 李云, 姜远喆, 马国元

**摘要:**目的 探讨细胞色素 P450 基因(CYP1A1、CYP2E1)及谷胱甘肽转硫酶基因(GSTM1、GATT1)多态性与食管癌发病风险之间的关系。方法 采用病例对照研究,对 138 例食管癌患者及 170 名正常对照组人群进行 CYP1A1、CYP2E1、GSTM1 与 GATT1 基因多态性检测。结果 CYP1A1 基因多态性与食管癌发病风险无相关性;CYP2E1 基因型的缺失与食管癌的易感性相关,携带等位基因 C1 的个体发生食管癌的危险性为 C2 的 2.207 倍,携带 C1/C1 基因型发生食管癌的危险性是变异型个体的 2.256 倍;GSTM1 基因型的缺失与食管癌的易感性相关,携带 GSTM1 缺失基因型的个体发生食管癌的危险性是非缺失型的 1.775 倍;而 GSTT1 基因型的缺失与食管癌的易感性无相关性。结论 个体 CYP2E1、GSTM1 基因的多态性均与食管癌发病风险呈相关性。

**关键词:**食管癌;细胞色素 P450;谷胱甘肽转硫酶;基因多态性

中图分类号:R 735.1 文献标志码:A 文章编号:1001-0580(2013)10-1499-03 DOI:10.11847/zgggws2013-29-10-30

### Genetic polymorphisms of cytochrome P450 and glutathione S-transferase in relation to human esophageal carcinoma

ZHANG Lin, MA Wei, LI Yun, et al (Department of Thoracic Surgery, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Ji'nan, Shandong Province 250021, China)

**Abstract: Objective** To explore genetic polymorphisms of cytochrome P450 1A1 (CYP1A1) and 2E1 (CYP2E1), glutathione S-transferase M1 (GSTM1) and (GATT1) in relation to human esophageal carcinoma. **Methods** The genetic polymorphisms of CYP1A1, CYP2E1, GSTM1 and GATT1 in 138 esophageal carcinoma patients and 170 normal controls were detected. **Results** The genetic polymorphisms of CYP1A1 and GSTT1 were not related to the risk of esophageal carcinoma. The genetic polymorphisms of CYP2E1 and GSTM1 were related to the risk of esophageal carcinoma. The risk of esophageal carcinoma in people with C1 allele was 2.207 times of the people with C2 allele. The risk of esophageal carcinoma in people with C1/C1 allele was 2.256 times of the people with other genotypes. The risk of esophageal carcinoma in people with GSTM1 null was 1.775 times of the people with other genotypes. **Conclusion** The genetic polymorphisms of CYP2E1 and GSTM1 are related to human esophageal carcinoma.

**Key words:** esophageal carcinoma; cytochrome P450; glutathione S-transferase; genetic polymorphism

食管癌是由食管鳞状上皮细胞或腺上皮细胞异常增生所形成的恶性病变,是临床常见恶性肿瘤之一,中国是食管癌高发国家之一。食管癌的治疗效果并不明显,研究发现其 5 年生存率 < 15%<sup>[1-2]</sup>。食管癌的发病因素较为复杂,受环境因素与遗传因素的影响,个体遗传基因的多态性在食管癌发病风险中具有重要意义。人类接触环境中的致癌物大多为前致癌物,进入机体后需要经代谢酶的激活才能发挥致癌性,研究发现,人体中多种代谢酶的基因多态性与食管癌的发病具有十分密切的联系。机体的 I 相代谢酶细胞色素 P450 (CYP) 可以激活前致癌物,而 II 相代谢酶谷胱甘肽转硫酶 (GST) 可以降低致癌物的致癌性<sup>[3-4]</sup>。本研究于 2010 年 1 月—2012 年 12 月采用食管癌易感基因的病例-对照方

法,探讨 I、II 相代谢酶基因 CYP1A1、CYP2E1、GSTM1 与 GATT1 多态性与食管癌患病风险的关系,筛选食管癌易感人群。现将结果报告如下。

#### 1 对象与方法

1.1 对象 选择 2010 年 1 月—2012 年 12 月经山东省立医院临床病理检查确诊的 138 例食管鳞状细胞癌的患者为病例组,同时选择来山东省立医院参加健康体检的 170 名健康人群为对照组,所有研究对象均排除合并有其他部位肿瘤、严重肝肾疾病、消化道疾病、神经精神疾病等。病例组与对照组均为中国汉族人群。

#### 1.2 方法

1.2.1 提取基因组 DNA 按照 DNA 提取试剂盒说明书提取基因组 DNA,并放置于 -70℃ 冰箱低温保存。

1.2.2 基因分型检测 (1)CYP1A1 与 CYP2E1 基因多态性分析:采用 PCR-RFLP 法检测 CYP1A1 与

作者单位:山东大学附属省立医院胸外科,济南 250021

作者简介:张林(1970-),男,山东济南人,副主任医师,博士,研究方向:胸部肿瘤的诊治及基础研究。

通讯作者:马伟, E-mail: mw5088@163.com

CYP2E1 基因多态性, CYP1A1 引物序列: 正链 5'-CAG TGA AGA GGT GTA GCC GCT-3', 反链 5'-TAG GAG TCT TGT CTC ATG CCT-3'; CYP2E1 引物序列: 正链: 5'-CCA GTC GAG TCT ACA TTG TCA-3', 反链 5'-TTC ATT CTG TCT TCT AAC TGG-3'。PCR 反应总体积为 25  $\mu$ L, 其中包括 2.5 mmol/L 的 4  $\times$  dNTP 2.0  $\mu$ L, 10  $\times$  PCR 缓冲溶液 2.5  $\mu$ L, 引物各 1.0  $\mu$ L, Taq DNA 聚合酶 1.0  $\mu$ L, DNA 模板 1.5  $\mu$ L, PCR 反应条件为: 95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94  $^{\circ}$ C 变性 1 min, 60  $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72  $^{\circ}$ C 延伸 40 s, 循环结束后 72  $^{\circ}$ C 延伸 8 min, 共循环 35 次。PCR 产物用限制性内切酶消化后酶切, 用 2% 琼脂糖凝胶 (含 0.5  $\mu$ g/mL 溴化乙锭) 电泳中进行基因型的分析, 确定 CYP1A1 的 3 种基因型 (野生纯合子 T/T、突变杂合子 T/C、突变纯合子 C/C) 及 CYP2E1 的 3 种基因型 (野生纯合子 C1/C1、突变杂合子 C1/C2、突变纯合子 C2/C2)。(2) GSTM1 与 GATT1 基因多态性分析: 采用 PCR 法, GSTM1 引物序列: 正链 5'-GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAG-3', 反链 5'-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G-3'; GSTT1 引物序列: 正链 5'-TTC CTT ACT GGT CCT CAC ATC TC-3', 反链 5'-TCA CCG GAT CAT GGC CAG CA-3'。PCR 反应总体积为 25  $\mu$ L, 其中包括 2.5 mmol/L 的 4  $\times$  dNTP 3.0  $\mu$ L, 10  $\times$  PCR 缓冲溶液 2.5  $\mu$ L, 引物各 1.0  $\mu$ L, Taq DNA 聚合酶 1.5  $\mu$ L, DNA 模板 1.0  $\mu$ L, PCR 反应条件为: 95  $^{\circ}$ C 预变性 4 min, 94  $^{\circ}$ C 变性 1 min, 62  $^{\circ}$ C 退火 1 min, 72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 循环结束后 72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 共循环 35 次。PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶 (含 0.5  $\mu$ g/mL 溴化乙锭) 电泳中进行基因型的分析, GSTM1 与 GATT1 基因型根据扩增条带的有无来确定非缺失型 (+) 与缺失型 (-)。

1.3 统计分析 采用 SPSS 18.0 分析软件进行数据的分析与整理, 应用  $\chi^2$  检验分析 CYP1A1、CYP2E1、GSTM1 及 GSTT1 的基因多态性与食管癌患病风险的关系, 用 OR 值及 95% CI 表示患病的相对危险度。采用 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律及  $\chi^2$  检验分析各基因型频率, 评估其人群代表性。

## 2 结果

2.1 人口学特征 病例组男性 89 例, 女性 49 例, 年龄 43 ~ 75 岁, 平均年龄 (54.4  $\pm$  7.6) 岁; 对照组男性 108 人, 女性 62 人, 年龄 45 ~ 76 岁, 平均年龄 (56.8  $\pm$  9.2) 岁, 2 组在性别构成、年龄分布方面差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。

2.2 遗传平衡检验 为检验人群基因型频率是否

符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡, 将细胞色素 P450 基因 (CYP1A1、CYP2E1)、谷胱甘肽转硫酶基因 (GSTM1、GATT1) 型频率观察值与期望值进行比较, 差异均无统计学意义 ( $\chi^2 = 1.613, P = 0.310$ ), 表明各基因型频率均已达到遗传平衡, 具有人群代表性。

2.3 CYP1A1 基因多态性与食管癌发病风险的关系 对病例组和对照组 CYP1A1 的 3 种基因型分析发现, 病例组携带 T/T 基因型的有 34 例, 携带 T/C 基因型的有 78 例, 携带 C/C 基因型的有 26 例; 对照组携带 T/T 基因型的有 59 例, 携带 T/C 基因型的有 83 例, 携带 C/C 基因型的有 28 例。病例组与对照组 CYP1A1 的 3 种基因型分布差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 3.665, P = 0.160$ )。将基因型 T/C 与 C/C 合并计算, 病例组携带至少一个突变基因的占 75.4% (104/138), 对照组携带至少一个突变基因的占 65.3% (111/170), 差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 3.663, P = 0.062$ ), 表明携带突变基因型不增加个体罹患食管癌的风险。

2.4 CYP2E1 基因多态性与食管癌发病风险的关系 对病例组和对照组 CYP2E1 的 3 种基因型分析发现, 病例组携带 C1/C1 基因型的有 99 例, 携带 C1/C2 基因型的有 29 例, 携带 C2/C2 基因型的有 10 例; 对照组携带 C1/C1 基因型的有 90 例, 携带 C1/C2 基因型的有 55 例, 携带 C2/C2 基因型的有 25 例。病例组与对照组 CYP2E1 的 3 种基因型分布差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 11.706, P = 0.003$ )。将基因型 C1/C1 与 C1/C2 合并计算, 病例组携带至少一个 C1 基因的占 92.8% (128/138), 对照组携带至少一个 C1 基因的占 85.3% (145/170), 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 4.208, P = 0.047, OR = 2.207, 95\% CI = 1.021 \sim 4.771$ ), 等位基因 C1 携带者发生食管癌的危险性为 C2 的 2.207 倍。将基因型 C1/C2 与 C2/C2 合并计算, 病例组携带至少一个 C2 基因的占 28.3% (39/138), 对照组携带至少一个 C2 基因的占 47.1% (80/170), 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 11.352, P = 0.001, OR = 2.256, 95\% CI = 1.400 \sim 3.637$ ), 携带 C1/C1 基因型发生食管癌的危险性是变异个体的 2.256 倍。表明携带野生基因型 (C1/C1 与 C1/C2) 的个体罹患食管癌的风险高于携带突变纯合子基因型 (C2/C2), 携带 C1 基因型可增加个体罹患食管癌的风险。

2.5 GSTM1 基因多态性与食管癌发病风险的关系 对病例组和对照组 GSTM1 的 2 种基因型 (非缺失型 +, 缺失型 -) 分析发现, 病例组携带 GSTM1 缺失型的有 86 例, 非缺失型的有 52 例; 对照组携带 GSTM1 缺失型的有 82 例, 非缺失型的有 88 例; 病

例组携带 GSTM1 缺失基因型的概率为 62.3% (86/138), 对照组携带 GSTM1 缺失基因型的概率为 48.2% (82/170), 病例组与对照组 GSTM1 的 2 种基因型分布差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 6.093, P = 0.016, OR = 1.775, 95\% CI = 1.124 \sim 2.804$ ), 携带 GSTM1 缺失基因型的个体发生食管癌的危险性是非缺失型的 1.775 倍, 携带 GSTM1 缺失基因型的个体罹患食管癌的风险高于 GSTM1 非缺失型个体。

2.6 GATT1 基因多态性与食管癌发病风险的关系对病例组和对照组 GSTT1 的 2 种基因型(非缺失型+, 缺失型-)分析发现, 病例组携带 GSTT1 缺失型的有 76 例, 非缺失型的有 62 例; 对照组携带 GSTT1 缺失型的有 80 例, 非缺失型的有 90 例; 病例组携带 GSTT1 缺失基因型的概率为 55.1% (76/138), 对照组携带 GSTT1 缺失基因型的概率为 47.1% (80/170), 病例组与对照组 GSTT1 的 2 种基因型分布差异无统计学意义 ( $\chi^2 = 1.957, P = 0.171, OR = 1.379, 95\% CI = 0.879 \sim 2.164$ ), 携带 GSTT1 缺失基因型不增加个体罹患食管癌的风险。

### 3 讨论

机体对外来化合物的代谢过程所需要的酶类主要分为 I、II 相代谢酶, 其中细胞色素 P450 酶系占 I 相代谢酶的 95% 以上, 细胞色素 P450 属于亚铁血红素—硫醇盐蛋白的超家族, 它参与内源性物质及外源性物质在体内的代谢过程<sup>[5]</sup>。其中 CYP1A1 基因编码的芳烃羟化酶与多种前致癌物的代谢激活有关, 而 CYP2E1 基因编码的二甲基亚硝胺脱甲基酶与胃肠道致癌物亚硝胺在体内代谢激活有关<sup>[6-7]</sup>。

本研究结果表明, CYP1A1 基因多态性与食管癌的易感性无相关性, 携带突变基因型的个体罹患食管癌的风险与纯合子基因型没有差异, 携带突变基因型不增加个体罹患食管癌的风险。CYP2E1 基因型的缺失与食管癌的易感性有相关性, 等位基因 C1 携带者发生食管癌的危险性为 C2 的 2.207 倍, 携带 C1/C1 基因型发生食管癌的危险性是变异性个体的 2.256 倍。表明携带 C1 基因型的个体罹患食管癌的风险高于携带 C2 基因型的个体, 携带 C1 基因型可增加个体罹患食管癌的风险。谷胱甘肽转硫酶可催化谷胱甘肽与环境化合物的中间代谢产物相结合, 提高环境化合物的水溶性, 降低环境化合物

的毒性并促使结合物排出体外, 在致癌物解毒及代谢过程中起到重要作用<sup>[8-9]</sup>。GSTM1 及 GSTT1 主要用于致癌物如多环芳烃、乙烯环氧化物、苯乙烯等的代谢过程。研究发现携带 GSTM1 及 GSTT1 缺失基因型的个体, 其代谢酶活性降低, 对某些毒物和致癌物作用的易感性升高, 并与多种癌症的高易感性有关<sup>[10-11]</sup>。本研究发现, GSTM1 基因型的缺失与食管癌的易感性相关, 携带 GSTM1 缺失基因型的个体发生食管癌的危险性是非缺失型的 1.775 倍, 而 GSTT1 基因型的缺失与食管癌的易感性无相关性。食管癌发病是多基因参与并互相调控的结果, 其易感性与 I、II 相代谢酶基因多态性之间的关系尚未完全明确, 本研究同时对 I 相和 II 相代谢酶基因多态性进行分析, 可为寻找特异敏感的肿瘤易感性标志物及早期诊断与治疗食管癌提供理论依据。

### 参考文献

- [1] 林东昕. 中国食管癌分子流行病学研究[J]. 中华流行病学杂志, 2003, 24(10): 939-943.
- [2] 高秀静, 陈艳, 阿合力·马斯肉拉, 等. 新疆哈萨克族食管癌与 HLA-G 基因多态性[J]. 中国公共卫生, 2011, 27(3): 288-290.
- [3] Sobti RC, Kayr S, Kaur P, et al. Interaction of passive smoking with GST (GSTM1, GSTT1, and GSTP1) genotypes in the risk of cervical cancer in India[J]. Cancer Genet Cytogenet, 2006, 166(2): 117-123.
- [4] 周艳丽, 史习舜. 代谢酶基因多态性与食管癌易感性关系的研究进展[J]. 中国肿瘤, 2004, 13(11): 689-693.
- [5] 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[J]. 肿瘤基础与临床, 2006, 19(1): 13-16.
- [6] Chen HC, Cao YF, Hu WX, et al. Genetic polymorphisms of phase II metabolic enzymes and lung cancer susceptibility in a population of central south China [J]. Dis Markers, 2006, 22(3): 141-145.
- [7] 刘春莲, 顾继伟, 彭亮, 等. 中国人群 CYP1A1 SNPrs4646903 遗传多态性研究[J]. 中国热带医学, 2008, 8(1): 13-18.
- [8] Lam AK. Molecular biology of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2000, 33(2): 71-90.
- [9] 张春霞, 柴玉荣, 王鹏, 等. GSTM1 基因多态性与食管癌发病风险 Meta 分析[J]. 中国公共卫生, 2011, 27(2): 241-243.
- [10] 汪保国, 陈思东, 周卫平, 等. 细胞色素 P4501A1 和谷胱甘肽转硫酶基因多态性与肺癌关系的病例对照研究[J]. 中华肿瘤杂志, 2004, 26(2): 93-97.
- [11] 黄志刚. 谷胱甘肽转硫酶 M1 基因多态性与食管癌 Meta 分析[J]. 中国肿瘤, 2003, 12(11): 642-646.

收稿日期: 2013-06-06

(韩仰欢编辑 解学魁校对)