

• 论 著 •

恩施地区吸烟人群 P450 和 GST 基因多态性与肺癌易感性研究

周晓玲¹, 姚 迪^{2△}

恩施土家族苗族自治州中心医院:1. 检验科;2. 呼吸与危重医学科, 湖北恩施 445000

摘要:目的 研究细胞色素酶 P450 基因(CYP450)和谷胱甘肽 S 转移酶基因(GST)基因多态性与恩施地区吸烟人群非小细胞肺癌发病的相关性。方法 收集 2019 年 1 月至 2020 年 1 月间在该院就诊并确诊为非小细胞肺癌患者和同期住院的肺良性疾病患者临床资料各 70 例,使用聚合酶链式反应(PCR)的方式扩增并测序患者 CYP450 和 GST 基因多态性并分析与肺癌的易感相关性。结果 肺癌组和对照组 c1/c1、c1/c2、c2/c2 基因型的检出率分别为 40.0%(28/70)、35.7%(25/70)、24.3%(17/70)和 27.1%(19/70)、41.4%(29/70)、31.4%(22/70),以 c2/c2 基因型个体 OR 值为 1,c1/c1 个体肺癌 OR 为 1.907($P<0.05$)。肺癌组和对照组 GST(+)和 GST(-)基因型的检出率分别为 37.1%(26/70)、62.9%(44/70)和 51.4%(36/70)、48.6%(34/70),以 GST(-)基因型个体 OR 值为 1,GST(+)个体肺癌 OR 为 0.546($P<0.05$)。以 c1/c2+c2/c2/GST(+)OR 值为 1,c1/c2+c2/c2/GST(-)、c1/c1/GST(-)、c1/c1/GST(+)的 OR 值分别为 2.315,2.412,4.878($P<0.05$)。结论 CYP2E1 和 GSTM1 可能参与了吸烟相关致癌物质的解毒过程。携带功能缺失的 GSTM1(-)和 CYP450 c1/c1 基因型人群非小细胞肺癌的风险显著增高,同时携带两个危险基因型的吸烟人群非小细胞肺癌发生风险提高约 5 倍。

关键词:谷胱甘肽 S 转移酶基因; 细胞色素酶 P450 基因; 基因多态性; 非小细胞肺癌; 遗传易感性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.17.021 **中图法分类号:**R734.2

文章编号:1673-4130(2022)17-2152-04

文献标志码:A

Study on CYP450 and GST gene polymorphisms and lung cancer
susceptibility in smoking population in Enshi area

ZHOU Xiaoling¹, YAO Di^{2△}

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Respiratory and Critical Medicine,
the Central Hospital of Enshi Tujia and Miao Autonomous Prefecture, Enshi, Hubei 445000, China

Abstract: Objective To investigate the correlation between cytochrome P450 gene (CYP450) and glutathione transferase gene (GST) gene polymorphisms and the incidence of non-small cell lung cancer in smoking population in Enshi area. **Methods** The clinical data of 70 patients with non-small cell lung cancer and 70 patients with benign lung diseases who hospitalized in the hospital from January 2019 to January 2020 were collected, and the CYP450 and GST gene polymorphisms of the patients were amplified and sequenced by polymerase chain reaction (PCR) and their correlation with lung cancer susceptibility was analyzed. **Results** The detection rates of c1/c1, c1/c2 and c2/c2 genotypes in lung cancer group and control group were 40.0%(28/70), 35.7%(25/70), 24.3%(17/70) and 27.1%(19/70), 41.4%(29/70) and 31.4%(22/70), respectively. When the OR value of c2/c2 genotype was taken as 1, OR value of c1/c1 genotype was 1.907($P<0.05$). The detection rates of GST(+) and GST(-) genotypes in lung cancer group and control group were 37.1%(26/70), 62.9%(44/70), 51.4%(36/70) and 48.6%(34/70), respectively. When the OR value of GST(-) genotype was taken as 1, OR value of GST(+) genotype was 0.546($P<0.05$). The OR value of c1/c2+c2/c2/GST(+) lung cancer was taken as 1, the OR values of c1/c2+c2/c2/GST(-), c1/c1/GST(-) and c1/c1/GST(+) were 2.315, 2.412 and 4.878 respectively ($P<0.05$). **Conclusion** CYP2E1 and GSTM1 might be involved in the detoxification process of smoking-related carcinogens. The risk of non-small cell lung cancer significantly increases in population with loss-of-function GSTM1(-) and CYP450 c1/c1 genotypes, and the risk of non-small cell lung cancer in smoking population with two dangerous genotypes at the same time increases by about 5 times.

Key words: glutathione transferase gene; cytochrome P450 gene; gene polymorphism; non-small cell lung cancer; genetic susceptibility

肺癌是我国发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一,导致肺癌发生的原因较多,其中与生活方式有关的主要有吸烟、长期应激压力以及遗传等因素^[1]。然而吸烟史并不是肺癌发生的决定性因素,且不同的个体对吸烟所产生的尼古丁等致癌物质代谢能力存在差异,这种个体差异影响了肺癌的发生率^[2]。目前关于吸烟人群体内的多种化合物代谢酶类基因与肺癌的发生、发展是否存在联系尚缺乏系统性研究。细胞色素酶 P450(CYP450)是一类在人体内广泛分布的氧化还原酶,参与体内多种关键物质的代谢。CYP450 家族中的细胞色素酶 P4502E1(CYP2E1)被报道参与烟草中亚硝酸胺和苯胺的代谢^[3]。除 CYP450 外,有研究报道称谷胱甘肽 S 转移酶(GST)的多态性与多种癌症的发生和发展有关^[4]。在 GST 家族中,由谷胱甘肽 S 转移酶 M1(GSTM1)表达水平及基因型被报道与胃癌、肺癌等癌症的发生存在关联性^[5]。流行病学调查显示,GSTM1 的基因多态性可分为存在活性的 GST(+)和无活性的 GST(-)两种,且在不同人种间 GSTM1 的基因频率存在较大差异。本研究拟通过聚合酶链式反应(PCR)测序的方式了解 CYP2E1 和 GSTM1 基因型在吸烟人群中的分布及两者与吸烟人群非小细胞肺癌发生之间的关系,旨在为肺癌预防提供理论基础,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2019 年 1 月至 2020 年 1 月间在本院就诊并确诊为非小细胞肺癌患者 70 例作为肺癌组,其中男 42 例,女 28 例;平均年龄(57.6±10.7)岁;鳞癌 26 例,腺癌 31 例,腺鳞癌 13 例。所有患者均经术后病理检查确诊,且有 10 年以上吸烟史,每日吸烟 10 支及以上。另选取同期住院的肺良性疾病患者 70 例作为对照组,其中男 50 例,女 20 例;平均年龄(53.4±9.2)岁;均无肺癌家族史和职业性致癌接触史,且有 10 年以上吸烟史,每日吸烟 10 支及以上。排除标准:并发有其他癌症或具有癌症史;年龄>80 岁。两组患者在年龄、性别等一般资料比较差异无统计学($P>0.05$),具有可比性。

1.2 标本采集和 DNA 提取 于清晨空腹采集所有研究对象静脉血 2 mL,将标本置于抗凝管中拟用于 DNA 提取。使用上海生工生物责任有限公司提供的血液基因组提取试剂盒,操作步骤严格依据说明书进行,提取的 DNA 经琼脂糖凝胶电泳测试验证质量和浓度。质量和浓度合格的标本保存于-20℃冰箱待后续 PCR 扩增和测序。

1.3 主要仪器和试剂 通用电泳仪(美国伯乐责任有限公司)、凝胶成像系统(美国伯乐责任有限公司)、基因链式反应扩增仪(美国赛默飞责任有限公司)。

主要试剂:PCR 合成试剂盒(大连宝生物工程有限公司)、琼脂糖凝胶(西班牙 Biowest 责任有限公司)、TAE 缓冲液(上海生工生物责任有限公司)。

1.4 基因 PCR 扩增和测试 本文所用引物如下,CYP2E1 基因使用引物:CYP450 上游引物为 5'-TTC ATT CTG TCT TCT AAC TGG-3',CYP450 下游引物为 5'-CCA GTC GAG TCT ACA TTG TCA-3';GSTM1 基因使用引物:GST 上游引物为 5'-GAA CTC CCT GAA AAG CTA AAGC-3',GST 下游引物为 5'-GTT GGG CTC AAA TAT ACG GTG G-3'。采用三步法 PCR,95℃变性 15 s,55℃退火 15 s,72℃延伸 15 s。反应 35 个循环。PCR 产物经电泳确认条带正确后回收,并测序。CYP450 目的片段长度为 410 bp,GST 目的片段长度为 216 bp。均采用测序的方式确定 CYP450 基因型为 c1 型或 c2 型及 GST 的基因型为 GST(+)或 GST(-)。测序服务由北京擎科生物科技责任有限公司负责。

1.5 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。基因型采用百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。Logistic 回归分析计算 OR 值和 95%CI,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CYP450 基因型分布及与非小细胞肺癌风险相关性 对肺癌患者和对照组患者 CYP2E1 基因的多态性进行检测和比较发现,肺癌组和对照组 c1/c1、c1/c2、c2/c2 基因型的检出率分别为 40.0%(28/70)、35.7%(25/70)、24.3%(17/70)和 27.1%(19/70)、41.4%(29/70)、31.4%(22/70),以 c2/c2 基因型个体 OR 值为 1,c1/c1 基因型个体肺癌 OR 为 1.907(95%CI=0.413~8.209, $P<0.05$),见表 1。

表 1 CYP450 基因型分布及与非小细胞肺癌风险相关性[n(%)]

组别	<i>n</i>	c1/c1	c1/c2	c2/c2
肺癌组	70	28(40.0)	25(35.7)	17(24.3)
对照组	70	19(27.1)	29(41.4)	22(31.4)
OR(95%CI)		3.907(1.413~8.209)	1.116(0.290~8.062)	1
<i>P</i>		<0.05	>0.05	

2.2 GST 基因型分布及与非小细胞肺癌风险相关性 对肺癌组和对照组患者 GSTM1 基因的多态性进行检测和比较发现,肺癌组和对照组 GST(+)和 GST(-)基因型的检出率分别为 40.0%(26/70)、35.7%(44/70)和 51.4%(36/70)、48.5%(34/70),以 GST(-)基因型个体 OR 值为 1,GST(+)基因型个体肺癌 OR 为 0.546(95%CI=0.109~1.104, $P<$

0.05), 见表 2。

2.3 CYP450 基因型与 GST 基因型共同分布对非小细胞肺癌风险的影响 进一步考察两基因是否存在协同效应, 本研究以 c1/c2+c2/c2/GST(+) 肺癌 OR 值为 1, c1/c2+c2/c2/GST(-)、c1/c1/GST(-)、c1/c1/GST(+) 基因型个体肺癌的 OR 值分别为 2.315, 2.412, 4.878, 其中 c1/c1/GST(-) 基因型个体肺癌的 OR 值差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 2 GST 基因型分布及与非小细胞肺癌风险相关性 [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	GST(+)	GST(-)
肺癌组	70	26(37.1)	44(62.9)
对照组	70	36(51.4)	34(48.6)
OR(95%CI)		1.546(1.109~1.804)	1
<i>P</i>		< 0.05	

表 3 CYP450 基因型与 GST 基因型共同分布对与非小细胞肺癌风险影响 [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	c1/c2+c2/c2/GST(+)	c1/c2+c2/c2/GST(-)	c1/c1/GST(+)	c1/c1/GST(-)
肺癌组	70	11(15.7)	31(44.3)	15(21.4)	14(20.0)
对照组	70	23(32.9)	28(40.0)	13(18.5)	6(8.6)
OR(95%CI)		1	2.315(1.590~10.062)	2.412(1.613~9.209)	4.878(1.413~11.209)
<i>P</i>			< 0.05	< 0.05	< 0.05

3 讨 论

近年来的流行病学统计显示, 肺癌仍然是我国发病率和死亡率最高的恶性肿瘤之一, 尤其是在男性中, 是因癌症死亡的最主要癌症类型^[1,6]。在肺癌中, 以非小细胞肺癌为主要发病类型。虽然非小细胞肺癌患者预后优于小细胞肺癌患者, 但仍是因癌症死亡的主要病因之一。流行病学显示, 非小细胞肺癌的发生除与如吸烟史有关外, 还与遗传因素有关如抑癌基因功能缺失或原癌基因突变等。吸烟史是肺癌发生最重要的危险因素, 然而并非所有的吸烟者最终都会发展为非小细胞肺癌^[7]。本研究拟探讨人体参与致癌分子解毒代谢的两类主要酶类: I 相代谢酶 CYP450 和 II 相代谢酶谷胱甘肽 S 转移酶基因型与吸烟人群癌症发生率之间的相关性。

CYP450 属于细胞解毒超家族之一, 是人体内重要的 I 相代谢酶, 负责致癌物质生物转化中的氧化还原。将具有毒性或致癌化合物代谢为无毒性的代谢产物。人体内负责合成 CYP450 的基因有十余种, 可大致分为 CYP1、CYP2 和 CYP3 三个家族, 三者在肝脏中 P450 总量的 70.0% 以上并负责多数内源性和外源性化合物的代谢。其中, CYP2E1 被报道参与癌症相关化合物的代谢。CYP2E1 基因的多态性, 可以大体分为 c1 和 c2 两个基因型。其中 c2 基因型表达的 CYP2E1 具有催化功能和代谢香烟烟雾中亚硝酸胺的活性, 而 c1 基因型表达的 CYP2E1 代谢亚硝酸胺的活性则较弱^[8]。在对人群中 c1 和 c2 基因型分布的研究中发现, 不同人群中 c1 和 c2 的分布差异较大。在肺癌组和对照组 CYP450 基因多态性的比较中发现, 两组患者中 c1/c1、c1/c2、c2/c2 基因型的检出率分别为 40.0%(28/70)、35.7%(25/70)、24.3%(17/70) 和 27.1%(19/70)、41.4%(29/70)、31.4%(22/

70)。在对照组人群中 c1 和 c2 等位基因的比例大致为 1:1, c2 等位基因频率相较于其他国内研究更高^[9], 而在肺癌组中, 这一比例与国内其他研究相当^[10]。以 c2/c2 基因型个体肺癌 OR 值为 1, c1/c1 个体肺癌 OR 为 1.907, 经年龄、性别等因素校正后 c1/c1 和 c2/c2 纯合子之间的差异具有统计学意义。这提示, 在吸烟人群中携带 c1 纯合体基因的个体发生非小细胞肺癌的概率会增加, 进一步证实 CYP450 参与了尼古丁等吸烟相关致癌物质的氧化代谢, 而转录因子结合位点存在突变的 c1 纯合子降低了 CYP450 的表达水平从而影响了致癌物质的代谢。WU 等^[11]研究发现在台湾人群中, c2 纯合子的频率仅为 0.24%, 而这一比例在日本人群中则高达 24.00%~27.00%。有研究报道, c1 纯合子与肺腺癌的发生存在显著相关性^[12]。因此, 是影响吸烟人群非小细胞肺癌发生的遗传因素之一。

GST 与 P450 类似也是细胞解毒蛋白超家族之一, 大致包括 GSTA、GSTK、GSTM、GSTP1、GSTS、GSTT、GSTZ1 和 GSTO 等 8 个家族。与 P450 属于 I 相代谢酶不同, GST 属于 II 相代谢酶。II 相代谢酶以与特定毒性物质不可逆结合的方式参与机体内毒性物质清除的过程。8 种主要的 GST 蛋白在不同组织中分布存在明显差异, 且特异性结合的毒性物质也存在区别。GSTA 主要表达于肝脏参与类固醇代谢途径调节; GSTO 则参与神类毒性化合物的代谢; GSTZ1 参与毒性化合物二氯醋酸的代谢; GSTM 则是与癌症发生最为密切, 据报道, GSTM 基因多态性和表达水平与多种癌症的发生和发展存在相关性^[13]。依据是否能表达具有活性的 GSTM 蛋白, GSTM 的基因多态性可分为 GSTM(-) 和 GSTM(+) 两类, 其中 GSTM(-) 基因编码的 GSTM 蛋白因缺乏管教的

氨基酸残基而缺乏活性,因此 GSTM(-)纯合子个体缺乏 GSTM 蛋白催化功能。本研究发现肺癌组和对照组 GST(+)和 GST(-)基因型的检出率分别为 37.1% (26/70)、62.9% (44/70)和 51.4% (36/70)、48.6% (34/70)。在对照组中 GST(-)基因型的检出率与已有报道相近^[14],而在非小细胞肺癌患者中 GST(-)基因型的检出率相对较高。以 GST(-)基因型个体肺癌 OR 值为 1, GST(+)个体肺癌 OR 为 0.546,经年龄、性别等因素校正后 GST(-)和 GST(+)纯合子及杂合子之间的差异具有统计学意义。提示 GST 同样参与吸烟致癌物质的代谢。因此,在存在 GST 功能缺失的 GST(-)纯合子个体中肺癌的发生概率显著高于存在 GST 功能的人群。对不同人群中, GST 基因多态性的调查显示, GSTM(-)纯合子个体在澳大利亚人中约为 67.0%、高加索人中约为 50.0%、尼日利亚人中约为 20.0%^[15]。同时, GSTM(-)纯合子与结肠癌、肺癌和膀胱癌的发生存在相关性^[13]。且还与急性髓性白血病患者化疗的疗效相关^[16]。因此,有理由相信, CYP450 和谷胱甘肽 S 转移酶的基因多态性会影响吸烟人群的非小细胞肺癌灵敏度。

最后本研究进一步考察了两者单独和共同作用的影响,发现 c1/c1 纯合同时 GST(-)纯合子个体肺癌灵敏度是 c1/c2+c2/c2 杂合以及 GST(+)人群的 4.8 倍,提示两者参与不同吸烟相关致癌物质的分解代谢,因此当两个基因都失效时,个体肺癌风险显著增加效果较单一基因失效更为显著。然而,本研究存在纳入的样本量限制,后期需扩大样本量,进一步分析吸烟人群 P450 和 GST 基因多态性与肺癌易感性关系;并深入探究 P450 和 GST 基因多态性导致肺癌的可能机制。

综上所述, CYP2E1 和 GSTM1 可能参与了吸烟相关致癌物质的解毒过程。携带功能缺失的 GSTM1(-)和 CYP450 c1/c1 基因型人群非小细胞肺癌的风险显著增高,同时携带两个危险基因型的吸烟人群非小细胞肺癌发生风险提高约 5 倍。

参考文献

- [1] BARTA J A, POWELL C A, WISNIVESKY J P. Global epidemiology of lung cancer[J]. *Ann Glob Health*, 2019, 85(1):132-135.
- [2] BOGOS K, KISS Z, GÁLFFY G, et al. Revising incidence and mortality of lung cancer in Central Europe; an epidemiology review from Hungary[J]. *Front oncol*, 2019, 9(3):1051.
- [3] LI M, LI A, HE R, et al. Gene polymorphism of cytochrome P450 significantly affects lung cancer susceptibility[J]. *Cancer Med*, 2019, 8(10):4892-4905.
- [4] LIN C, XIE L, LU Y, et al. miR-133b reverses cisplatin resistance by targeting GSTP1 in cisplatin-resistant lung cancer cells[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(4):2050-2058.
- [5] MININA V I, SOBOLEVA O A, GLUSHKOV A N, et al. Polymorphisms of GSTM1, GSTT1, GSTP1 genes and chromosomal aberrations in lung cancer patients[J]. *J cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143(11):2235-2243.
- [6] YANG D, LIU Y, BAI C, et al. Epidemiology of lung cancer and lung cancer screening programs in China and the United States[J]. *Cancer Lett*, 2020, 468(1):82-87.
- [7] JEON J, HOLFORD T R, LEVY D T, et al. Smoking and lung cancer mortality in the United States from 2015 to 2065: a comparative modeling approach[J]. *Ann Intern Med*, 2018, 169(10):684-693.
- [8] 龙琦, 陈维艳, 王灵巧, 等. 乙醇代谢通路基因拷贝数变异与结直肠癌易感性的关联分析[J]. 2018, 41(4):2050-2058.
- [9] 洪晓绿, 徐沛演, 潘小平. CYP2E1 和 CYP1A1 基因型与广州北部地区人群 HBV 易感性间的相关性分析[J]. *肝脏*, 2021, 26(2):131-132.
- [10] 刘爱胜, 郭龙华, 文艳, 等. GSTM1 和 CYP2E1 基因多态性与非小细胞肺癌遗传易感性的相关性研究[J]. *临床输血与检验*, 2017, 19(3):260-265.
- [11] WU S H, TSAI S M, HOU M F, et al. Interaction of genetic polymorphisms in cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase M1 to breast cancer in Taiwanese woman without smoking and drinking habits[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2006, 100(1):93-98.
- [12] SU X, BIN B, CUI H, et al. Cytochrome P450 2E1 RsaI/PstI and DraI polymorphisms are risk factors for lung cancer in Mongolian and Han population in inner Mongolia[J]. *Chin J Cancer Res*, 2011, 23(2):107-111.
- [13] CHEN Y, LI B, WANG J, et al. Identification and verification of the prognostic value of the glutathione S-transferase Mu genes in gastric cancer[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(4):1.
- [14] 刘勇, 孟令占, 刘娜, 等. 基于多基因多态性的风险划分与一线含铂药物化疗晚期非小细胞肺癌患者生存的关系[J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2018, 4(1):250-251.
- [15] TOWNSEND D M, TEW K D. Cancer drugs, genetic variation and the glutathione-S-transferase gene family[J]. *Am J Pharmacogenomics*, 2003, 3(3):157-172.
- [16] LEE N, PARK S M, YEE J, et al. Association between glutathione-S-transferase gene polymorphisms and responses to tyrosine kinase inhibitor treatment in patients with chronic myeloid leukemia: a meta-analysis[J]. *Target Oncol*, 2020, 15(1):47-54.

(收稿日期:2021-12-20 修回日期:2022-04-21)