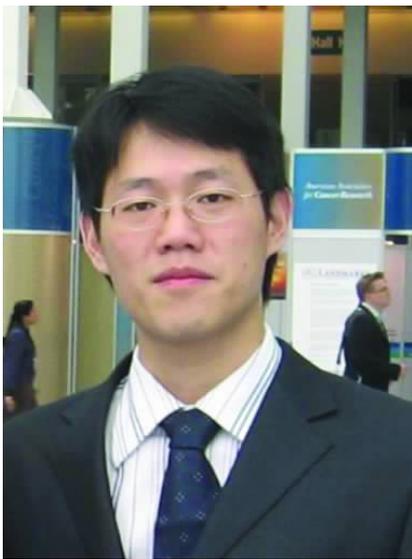


染色体 15q25 区域基因多态性与吸烟行为及肺癌发生风险相关

评价者:张绪超
文献合成者:江本元

(广东省人民医院肿瘤中心、广东省肺癌研究所、广东省医学科学院, 广州 510080)



张绪超,男,1974年9月出生,医学博士,现任广东省肺癌研究所副所长,广东省人民医院(广东省医学科学院)肿瘤中心、医学研究中心副研究员。广东省抗癌协会常务理事、广东省抗癌协会肺癌专业委员会委员、国际肺癌研究协会(IASLC)会员、中国病理生理学会(CAP)会员、中国抗癌协会临床肿瘤学协作专业委员会(CSCO)会员。获得国家自然科学基金青年基金一项、省部级科研基金多项,参与国家自然科学基金多项。以第一作者身份发表医学论文20余篇。主要研究方向为肿瘤分子生物学、转化医学及干细胞生物学。积极参与吴一龙教授领导团队的肺癌个体化治疗的转化性研究,特别是生物芯片基础上的肺癌预后预测分析、表皮生长因子受体(EGFR)突变分析、肺癌的化疗/靶向治疗相关机制的分子通路研究等。

[关键词] 肺肿瘤;全基因组关联研究;烟碱乙酰胆碱受体;单核苷酸多态性

[中图分类号] R734.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-5144(2009)04-0209-04

Single-Nucleotide Polymorphisms on Chromosome 15q25 Associated with Smoking Status and Lung Cancer Risk //

Reviewer: ZHANG Xu-chao, Literature Co-worker: JIANG Ben-yuan

Key words: lung neoplasms; genome-wide association study (GWAS); nicotinic acetylcholine receptor; single nucleotide polymorphisms (SNPs)

Authors' address: Cancer Center, Guangdong General Hospital, Guangdong Lung Cancer Institute, Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China

1 文献来源

[1] Thorgeirsson TE, Geller F, Sulem P, et al. A variant associated with nicotine dependence,

lung cancer and peripheral arterial disease [J]. *Nature*, 2008, 452(7187):638-642.

[2] Hung RJ, McKay JD, Gaborieau V, et al. A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25 [J]. *Nature*, 2008, 452(7187):633-637.

[3] Amos CI, Wu X, Broderick P, et al. Genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility locus for lung cancer at 15q25.1 [J]. *Nat Genet*, 2008, 40(5):616-622.

2 证据水平

1a。

3 背景

以往的观点通常认为环境因素是肺癌发生的唯一诱因。但越来越多的证据表明,基因特征与肺癌易感性也有关联。研究发现肺癌患者的吸烟直系

亲属发生肺癌的风险比健康对照组的吸烟亲属高2.5倍。而肿瘤P53基因和视网膜母细胞瘤基因突变、Bloom's和Werner's综合征等因素都与肺癌发生相关,一些家族性肺癌的存在也说明了遗传因素对肺癌发生的影响。

4 目的

由于低外显率等位基因可能与遗传易感性部分相关,分析特定位点等位基因将有助于了解遗传多态性对肺癌易感性的影响。

5 研究设计

此评价包含三项独立的试验,分别简述。

• deCODE Genetics等开展的尼古丁依赖、肺癌及外周血管疾病易感基因研究

▲方法:多中心病例对照研究。

▲研究对象:第一阶段筛查纳入10995例冰岛健康吸烟者。第二阶段验证筛查结果,包括2950例冰岛健康吸烟者,LC研究项目的1024例肺癌患者及32244例健康对照以及PAD研究项目的2738例患者及29964例正常对照。

▲干预措施:第一阶段用Illumina HumanHap 300 v1.1 BeadChips对306207个标签单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNPs)分型筛选。第二阶段对rs1051730进行基因分型。

• International Agency for Research on Cancer (IARC)等进行的肺癌易感基因研究

▲方法:多中心病例对照研究。

▲研究对象:第一阶段筛查纳入了1989例肺癌患者及2625例正常对照。第二阶段验证易感基因所需标本来自EPIC计划的781例患者和1578例对照,CARET项目的764例患者和1515例对照,HUNT项目235例患者和392例对照,利物浦肺癌病例对照研究的403例患者及814例正常对照以及多伦多肺癌病例对照研究的330例患者和453例正常对照。

▲干预措施:第一阶段用Illumina HumanHap 300 v1.1 BeadChips对317139个标签SNPs分型筛选。第二阶段验证rs8034191和rs16969968基因型与肺癌发生的相关性。

• MD Anderson Cancer Center等开展的肺癌风险与SNPs相关性研究

▲方法:多中心病例对照研究。

▲研究对象:第一阶段筛查纳入了1154例吸

烟病例(患者组)和1137例吸烟健康人(对照组)。第二阶段检测显著相关基因,其中711例病例及632例对照来自第一阶段试验人群,另有2013例病例及3062例对照来自英国。

▲干预措施:第一阶段用Illumina HumanHap 300 v1.1 BeadChips对317498个标签SNPs分型筛选。第二阶段对10个相关性最显著的SNPs进行重复检验。

6 研究结果

deCODE Genetics研究项目第一阶段结论认为rs1051730的T/T等位基因型与吸烟量存在明显相关, $P=5\times 10^{-16}$ 。第二阶段结论认为rs1051730基因型与尼古丁依赖性关联,在LC研究组合并的比值比(odds ratio, OR)为1.31,在PAD研究组合并的OR为1.19。

IARC研究项目第一阶段发现2个SNPs位点的基因型与肺癌相关,rs1051730($P=5\times 10^{-16}$)、rs8034191($P=5\times 10^{-16}$)。第二阶段rs8034191基因型与肺癌发生的OR是1.30,rs16969968的OR是1.30。

MD Anderson研究的结果发现各组合计后rs8034191的P值为 3.15×10^{-18} ,肺癌相关性的校正后的OR为1.32;rs1051730合计的P值为 7.00×10^{-18} ,肺癌相关性的校正后的OR为1.32。

7 结论

多项研究发现位于第15号染色体编码烟碱乙酰胆碱受体多个亚基的区域内特定SNPs基因型与吸烟量、尼古丁依赖或肺癌发病风险相关。考虑是基因特征与吸烟行为呈一定相关性,进而影响到肺癌的发生风险。

8 评论

尽管证据明确显示肺癌与环境因子(吸烟、氡等)密切相关^[1],但早在上世纪60年代就有报道肺癌发病具有家族聚集性,提示肺癌发生具有一定遗传易感性^[2]。随着近年来高通量芯片技术的逐渐成熟,使得多基因复杂疾病的全基因组关联研究(GWAS)成为现实,肺癌的遗传易感基因研究也是如此。2008年肺癌相关遗传易感性基因研究的三篇文章近乎同时发表在Nature或Nature Genetics系列杂志上,印证了芯片技术寻找常见基因组变异与肺癌等重大复杂疾病关联研究的重要性和复杂

性^[3-5]。值得关注的是,研究内容均是采用全基因组关联研究筛选肺癌易感基因,均是多中心大样本病例对照研究,证据水平较高。这三篇文章均采用相同技术手段得到几乎一致的结果,即在 15q25 区域发现与(特别是吸烟者)肺癌相关的 SNPs 位点及可能的致病基因。

从研究设计的角度看,三篇文章颇为相似:①均采用 Illumina HumanHap300 v1.1 BeadChips (微珠芯片)高通量芯片技术检测 30 多万个分布于人类全基因组的单核苷酸多态性基因型,采用全基因组关联分析方法分析肺癌相关的 SNPs 位点及相关基因。该 Illumina SNPs 芯片曾参与人类 HapMap 计划的研究,代表了先进的第三代遗传标记物单核苷酸多态性的关联研究技术^[6]。②均采用大样本的病例对照研究,先有疾病关联的发现队列,后有一个或多个验证的研究。这样的大样本结合高通量 SNPs 芯片技术研究非常有助于从全基因组水平扫描普通疾病相关的普通易感性位点。

正因为有相似的研究设计分析,文章得到的结果非常相近。第一篇来自冰岛的多中心病例对照研究,首先通过对 10 995 例冰岛健康吸烟者 306 207 个标签 SNPs 进行分型筛选得到 SNPs 位点 rs1051730 与吸烟数量存在明显相关($P=5\times 10^{-16}$)。该 SNPs 位点不仅与吸烟数量相关,还与吸烟行为成瘾的尼古丁依赖相关。进一步通过病例对照研究显示该 SNPs 位点与肺癌及外周动脉病均显著相关,在肺癌的合并 OR 值为 1.31,在 PAD 研究的 OR 值是 1.19。第二篇来自国际癌症研究机构(IARC)的多中心病例对照研究,通过对 1 989 例肺癌患者及 2 625 例正常对照进行 GWAS 研究分析得到 2 个 SNPs 位点的基因型,即 rs1051730($P=5\times 10^{-16}$)、rs8034191($P=5\times 10^{-16}$)与肺癌显著相关,从而确定为易感 SNPs 位点。随后在多个病例对照分析中验证 rs8034191 和 rs16969968 基因型与肺癌发生的 OR 值分别是 1.30 及 1.30。第三篇文章来自 MD Anderson Cancer Center 的多中心病例对照研究,从吸烟肺癌患者 1 154 例及吸烟健康人群对照组 1 137 例得到 rs8034191 的肺癌相关 OR 值为 1.32; rs1051730 肺癌相关 OR 值为 1.32。多个研究的整合结果显示两个 SNPs 位点的杂合型(T/C)OR 值均为 1.28,而纯合子 rs8034191(C/C)、rs1051730(T/T)的 OR 值分别为 1.81 及 1.80。rs1051730 等 SNPs 在肺癌中的群体归因危险度达 14%~18%。

尽管三篇文章的结果均得到 15q25 区域的

SNPs 与肺癌相关,但对结果的解释各有不同。冰岛的研究提示先天的遗传因子 SNPs 能够影响个体后天的吸烟行为,尽管不能决定个体是否吸烟(即吸烟启动),但能够通过影响吸烟数量及尼古丁依赖成瘾性而影响肺癌及外周动脉病的患病风险。这种先天的 SNPs 位点能够影响出生后的吸烟行为(成瘾持续时间),是一个鲜明的基因-环境相互作用的例子。计算发现 rs1051730 易感 SNPs 位点 T 碱基每增加一个拷贝,可影响个体每天多抽一支烟。这个结果告诫我们在研究常见或复杂疾病的先天和后天影响因素时,需要谨记先天基因的构成不仅能够影响个体对环境的生物学应答方式,同样也影响个体选择或逃避环境因子的后天行为倾向。这也使得诱发疾病的先天遗传因子和后天环境因素的界限变得模糊不清。IARC 研究指出 rs16969968 等 SNPs 位点与肺癌患者密切相关,不管是在吸烟者还是非吸烟者中均是如此。且 rs8034191 和 rs16969968 基因型与头颈癌并不显著相关,提示与肺癌发生特异相关。MD Anderson Cancer Center 资料显示 SNPs 位点与吸烟行为弱相关。从不吸烟者中肺癌相关 OR 值接近 1,提示该 SNPs 主要在吸烟人群中增加肺癌易感性,且 SNPs 与吸烟均为独立的肺癌危险因素。尽管有不同的解释,但多数肺癌是基因与环境相互作用所致。除了分析遗传因子与环境因子各自独立的疾病效应,分析基因-环境相互作用效应能够进一步明确肺癌的本质。冰岛的研究结果具有鲜明的特色,即明确提出基因型能够影响吸烟行为,从而影响通过基因-环境的相互作用影响肺癌危险度。

肺癌相关的遗传易感 SNPs 位点确定后,进一步对 SNPs 所在基因组区域的候选基因进行分析是确定肺癌致病基因的必然步骤。通过人类基因组参照序列,已知这三篇文献的肺癌相关 SNPs 区域包含 6 个已知基因:CHRNA5、CHRNA3、CHRNA4、IREB2、PSMA4 及 LOC123688。前三个为烟碱乙酰胆碱受体亚单位,表达于肺泡上皮细胞及肺内的神经内分泌细胞^[7]。其中 rs16969968 位点位于 CHRNA5 基因内,导致非同义突变 D398N,即天冬氨酸(D)替换为天冬酰胺(N)。rs1051730 位于 CHRNA3 基因内,生物学功能未知。烟碱乙酰胆碱受体在体内可与烟草中致癌剂尼古丁、亚硝酸胺等结合,烟碱乙酰胆碱受体活化后可促进细胞致瘤性转化,促进血管生成及细胞生长,从而促进肿瘤发展^[8]。另外 PSMA4 是参与 DNA 修复的基因,也可能与肿瘤发

生相关。烟碱乙酰胆碱受体及 PSMA4 等基因与肺癌(特别是吸烟相关肺癌)发生发展相关的具体分子机制有待阐明。但也由此可见烟碱乙酰胆碱受体基因的活化可能介导了吸烟相关肺癌的发生发展。这也提示了肺癌预防的潜在新靶点,即对(特别是吸烟者)高危人群,烟碱乙酰胆碱受体靶点拮抗剂的使用可能会有效降低肺癌风险。

上述文献结论一致可靠,均得到 15q25 区域是肺癌的危险遗传因子,候选致病基因为尼古丁相关受体,提供了肺癌化学预防靶点。但就肺癌的复杂性而言,研究也有不足之处:(1)研究对象是散发肺癌患者,特别关注吸烟相关人群。而对于家族性肺癌的遗传易感基因缺乏关注。(2)肺癌是一种广泛异质性的疾病,不同亚类的肺癌遗传易感因子可能不同,因此组织学类型作为协变量的分层分析尤为重要。这两点均需要进一步研究。

另需要指出的是,rs8034191 及 rs1051730 在具有欧洲祖先的人群中携带频率约为 50%,因而从公共卫生角度看具有成为预防靶点的重要意义。而不同的是,据 HapMap 数据显示该两个 SNPs 位点组成的单倍型在亚洲人群罕见,在非洲人群未观察到,即不同等位基因(allele)在不同人种群体频率变异很大^[9]。因此,需要进一步进行亚洲特别是我国人群的肺癌易感多态性位点研究,以寻找肺癌遗传易感基因并进行相应的针对性预防,提高我国肺癌的综合防治能力。

[参 考 文 献]

- [1] Doll R, Hill AB. A study of the aetiology of carcinoma of the lung [J]. *Br Med J*, 1952,2(4797):1271-1286.
- [2] Tokuhata GK, Lilienfeld AM. Familial aggregation of lung cancer in humans [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1963,30:289-312.
- [3] Thorgeirsson TE, Geller F, Sulem P, et al. A variant associated with nicotine dependence, lung cancer and peripheral arterial disease [J]. *Nature*, 2008,452(7187):638-642.
- [4] Hung RJ, McKay JD, Gaborieau V, et al. A susceptibility locus for lung cancer maps to nicotinic acetylcholine receptor subunit genes on 15q25 [J]. *Nature*, 2008,452(7187):633-637.
- [5] Amos CI, Wu X, Broderick P, et al. Genome-wide association scan of tag SNPs identifies a susceptibility locus for lung cancer at 15q25.1 [J]. *Nat Genet*, 2008,40(5):616-622.
- [6] Gunderson KL, Kuhn KM, Steemers FJ, et al. Whole-genome genotyping of haplotype tag single nucleotide polymorphisms [J]. *Pharmacogenomics*, 2006,7(4):641-648.
- [7] Minna JD. Nicotine exposure and bronchial epithelial cell nicotinic acetylcholine receptor expression in the pathogenesis of lung cancer [J]. *J Clin Invest*, 2003,111(1):31-33.
- [8] Zhang Q, Tang X, Zhang ZF, et al. Nicotine induces hypoxia-inducible factor-1alpha expression in human lung cancer cells via nicotinic acetylcholine receptor-mediated signaling pathways [J]. *Clin Cancer Res*, 2007,13(16):4686-4694.
- [9] International HapMap Consortium. Frazer KA, Ballinger DG, Cox DR, et al. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs [J]. *Nature*, 2007,449(7164):851-861.

[收稿日期] 2009-07-27

(上接第 208 页) 研究有很多优点,比如暴露资料较正确、可计算发病率和危险度、可同时研究一种暴露因素与多种疾病的关系,用于假设检验。但是并不适于发病率很低的疾病,且需大样本和长期随访,费用高;失访问题多。

吸烟与肺癌等多种肿瘤、呼吸系统疾病和心血管疾病关系密切,令人担忧的是我国烟民队伍目前正在扩大,并且呈低龄化趋势。戒烟工作是一项长期而艰巨的工作。各国政府都采取了各种各样的政策方针^[6],例如提高了香烟的税率,禁止香烟的广告,设立控烟基金,加强吸烟有害健康的宣传等。据美国媒体报道,美国总统奥巴马即将签署一项历史性的反吸烟立法,将烟草业置于美国食品药品监督管理局(FDA)的监管之下。从此,美国政府在烟草制品监管方面将具有空前权力。相信在未来通过禁烟工作力度的增强,控制吸烟人群的数量,肺癌的发病率也将逐渐下降。

[参 考 文 献]

- [1] Spiro SG, Silvestri GA. One hundred years of lung cancer [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2005,172(5):523-529.
- [2] Wynder EL, Graham EA, Croninger AB. Experimental production of carcinoma with cigarette tar [J]. *Cancer Res*, 1953,13(12):855-864.
- [3] Doll R, Hill AB. Lung cancer and other causes of death in relation to smoking; a second report on the mortality of British doctors [J]. *Br Med J*, 1956,2(5001):1071-1081.
- [4] Doll R, Hill AB. Mortality in relation to smoking: Ten years' observations of British doctors [J]. *Br Med J*, 1964,1(5396):1460-1467.
- [5] Doll R, Peto R. Mortality in relation to smoking: 20 years' observations on male British doctors [J]. *Br Med J*, 1976,2(6051):1525-1536.
- [6] Bach PB. Smoking as a factor in causing lung cancer [J]. *JAMA*, 2009,301(5):539-541.

[收稿日期] 2009-07-16