

題目：女性肝細胞癌之病因研究：一個多醫學中心之病例對照研究

Etiology of Hepatocellular Carcinoma in Females: A Multicenter Case-Control Study

計劃編號：NSC 89-2320-B-002-104

執行期限：八十八年八月一日 至 八十九年七月三十一日

主持人：于明暉

執行機構：台大公共衛生學院

中文摘要

本研究利用病例對照研究法探討雄性荷爾蒙受體第一外基因CAG微星體重複次數和CYP17 MspA1基因多形性對女性罹患肝細胞癌危險性的作用。研究個案包括103名女性病例和183名年齡和氏族頻率配對的女性對照個案，雄性荷爾蒙受體和CYP17基因多形性是以聚合酵素鍊鎖反應為基礎的方法進行分析。研究結果發現CYP17基因多形性的分佈在病例組(A1/A1: 20.2%, A1/A2: 52.6%, A2/A2: 27.2%)和對照組(A1/A1: 19.5%, A1/A2: 45.4%, A2/A2: 35.1%)無顯著差異。單變項分析顯示兩股染色體之雄性荷爾蒙受體基因CAG重複次數均在22以上者的對比值為2.0(95%信賴區間: 1.2-3.5)，控制年齡、慢性B/C型肝炎病毒感染狀態、和其他可能的肝細胞癌危險因子後，對比值增加為2.6(95%信賴區間: 1.1-6.0)。分層分析發現雄性荷爾蒙受體CAG重複次數均在22以上者的對比值只有在B型肝炎慢性感染者中達到顯著意義(對比值: 3.7; 95%信賴區間: 1.5-8.9)。

英文摘要

To determine whether genetic polymorphisms in the CYP17 and androgen receptor (AR) were associated with hepatocellular carcinoma (HCC) in women, we conducted a case-control study of 103 female cases of hepatocellular carcinoma (HCC) and 183 female controls who were frequency matched with the cases on age and ethnicity. Analysis of the number of CAG repeats in exon 1 of the AR gene and the CYP17 MspA1 genetic polymorphism was

performed by polymerase chain reaction-based methods. No significant difference in the frequency distribution of the CYP17 MspA1 genetic polymorphism was observed between cases (A1/A1: 20.2%, A1/A2: 52.6%, A2/A2: 27.2%) and controls (A1/A1: 19.5%, A1/A2: 45.4%, A2/A2: 35.1%). The odds ratio (OR) for individuals carrying two AR CAG alleles with more than 22 repeats compared with those carrying only one allele or no alleles with more than 22 repeats was 2.0 (95% confidence interval [CI]: 1.2-3.5). After adjustment for age, chronic infection with hepatitis B or C virus, and other potential HCC risk factors, the OR was 2.6 (95% CI: 1.1-6.0). Stratification by status of chronic infection with hepatitis B or C virus revealed that the positive association between the AR CAG repeats and HCC risk was only present in chronic hepatitis B virus carriers (OR: 3.7; 95% CI: 1.5-8.9).

計劃緣由與目的

肝細胞癌的發生率具有相當顯著的性別差異，這是長久以來即知的事實，男性對女性的性比例大約是2-3倍左右(1)。初步研究資料顯示，男女性肝細胞癌危險因子的型態有所不同，但以往對於女性肝細胞癌的流行病學研究相當稀少。

肝臟是性荷爾蒙代謝的主要器官，具有雄性和雌性荷爾蒙受體(2, 3)。雖然已有相當多的動物實驗結果顯示性荷爾蒙可能在肝細胞致癌過程中扮演重要的角色(4-8)，但除了口服避孕藥和肝細胞癌的相關性報告以外(9-11)，目前有關內生性性荷爾蒙和人類肝細胞癌的研究仍相當稀少，或探討不夠深入。雄性荷爾蒙受體第一外基因內具有CAG微星體多形性，CAG重複次數和雄性荷爾蒙受體-雄性荷爾蒙結合的

複合物影響其他基因的轉錄作用呈反比(12)，此多形性已被發現和前列腺癌及乳癌的罹病危險性有關(13,14)。細胞色素P450c17 酵素和性荷爾蒙的合成有關，此酵素基因(CYP17)在5'端的非轉譯區具有單一點突變(T→C)所造成的多形性存在，可以用MspA1內切酵素辨識，目前這個多形性和內生性荷爾蒙及乳癌的關係尚相當不一致(14-17)。為探討性荷爾蒙相關因子對女性肝細胞癌發展的影響，本研究已在台北地區四家大型醫院廣泛的收集女性肝細胞癌病例，本篇報告將初步分析雄性荷爾蒙受體第一外基因CAG微星體重複次數和CYP17基因多形性對女性罹患肝細胞癌危險性的作用。

結果

病例組包括103名確診的女性肝細胞癌病例，其中43名為B型肝炎帶原者，46名為C型肝炎病毒抗體陽性。對照組由病例親屬隨機選取，病例和對照組頻率配對的條件為年齡(10歲組距)和氏族團體(閩南、客家、或大陸其他省份)。共計選取183名對照個案(包括血親114名和姻親69名)。

CYP17 MspA1 基因多形性之A1/A1、A1/A2及A2/A2基因型在病例組的頻率各為：20.2%、52.6%和27.2%；在對照組各為19.5%、45.4%和35.1%。以A1/A1基因型為參考組，A1/A2及A2/A2基因型的對比值各為1.12 (95% 信賴區間：0.60-2.08)和0.75 (95% 信賴區間：0.38-1.47)。雄性荷爾蒙受體CAG短基因(兩股染色體中重複次數較短的基因)在病例組的中位數為22(範圍：12-28)；在對照組的中位數為21(範圍：10-26)。長基因在病例組的中位數為25(範圍：20-33)；在對照組的中位數為24(範圍：20-32)。分別以短基因10-26CAG重複次數範圍中的每一數值為分組依據進行分析，發現分組依據切在CAG重複22次以上，對比值開始明顯的上升，在2倍以上，且隨切點的CAG重複次數增高，對比值持續上升。

37.9%的病例之兩股染色體的雄性荷爾蒙受體基因CAG重複次數均在22以上，對照組中的比率只有22.9%。單變項分析顯示兩股染色體之雄性荷爾蒙受體基因CAG重複次數均在22以上者的對比值為2.0(95%信賴區間：1.2-3.5)，控制年齡、慢性B/C型肝炎病毒感染狀態、和其他可能的肝細胞癌危險因子後，對比值增加為2.6(95%信賴區間：1.1-6.0)。分層分析發現雄性荷爾蒙受體基因CAG重複次數均在22以上者的對比值只有在B型肝炎慢性感染者中達到顯著意義(對比值：3.7；95%信賴區間：1.5-8.9)，在B和C型肝炎病毒均無慢性感染者中，對比值為2.2(95%信賴區間：0.5-10.6)，在C型肝炎抗體陽性者中，對比值為0.7(95%信賴區間：0.2-3.5)。

討論

細胞色素P450c17 在性荷爾蒙先質生成的催化反應中，扮演著重要的角色，此酵素的產生受到CYP17基因控制，稍早的流行病學研究發現帶有MspA1基因多形性之A2基因顯著增加血清總雌二醇和助孕脂酮(progesterone)濃度(15)，並發現攜帶A2基因的女性之乳癌危險性顯著較高(16)。但是最近一個對乳癌的大型病例對照研究，並未發現CYP17基因型和乳癌的危險性有關，但分析基因型和性荷爾蒙濃度的關係，仍舊發現帶有A2/A2基因型者和A1/A1基因型比較，具顯著較高的女性荷爾蒙濃度(17)。根據本研究對照組CYP17基因型的分佈，台灣一般族群帶有A2基因的頻率較日本人和歐美民族均高，本研究並未發現CYP17 MspA1基因型和女性罹患肝細胞癌的危險性具顯著相關，雖然帶有A2/A2基因型者具有較低的相對危險性估計值，似乎和動物實驗發現內生性雌性荷爾蒙降低肝細胞癌危險性的結果相當一致。

男性肝細胞癌的發生率高於女性，也可能和男性荷爾蒙的作用有關，本研究室以往的重疊病例對照研究，已發現較高的血

清總睪脂酮濃度增加男性罹患肝細胞癌危險性 (18)。性荷爾蒙的作用需要和受體結合，在 *Tfm* (testicular feminization) 突變鼠 (一種雄性荷爾蒙受體失去功能的突變) 的動物模式中，突變鼠和正常鼠比較，降低亞硝酸誘導的肝癌發生率至少3倍，肝腫瘤生長速度至少降低30倍 (19)。另一個動物實驗，觀察到亞硝酸餵食的雌鼠，在致癌過程中增加肝組織雄性荷爾蒙受體濃度，同時伴隨著肝腫瘤的快速生長 (20)。雄性荷爾蒙受體基因已被發現存在三種基因多形性，其中第一外基因內CAG微星體的多形性，是目前三種多形性中在功能上被瞭解較深入的。體外實驗已發現CAG重複次數和雄性荷爾蒙受體對其他基因的轉錄活性呈負相關(12)。流行病學研究顯示較少的CAG重複次數，增加前列腺癌的危險性(13)，一個追蹤研究報告較多的CAG重複次數增加BRCA1相關的乳癌危險性(14)，但目前有關CAG微星體和乳癌的研究結果相當不一致(14,21)。本研究發現較多的CAG重複次數顯著增加女性肝細胞癌的危險性，而且此關係只存在於B型肝炎慢性感染者中。這個研究結果顯示可能雄性荷爾蒙受體在女性B型肝炎帶原者的肝細胞癌發展過程中扮演一個角色，但目前無已知的生物機轉可解釋這個現象，女性雖然也具有雄性荷爾蒙，但濃度遠較男性為低，除了男性荷爾蒙以外，其他調控細胞生長或分化的因子也可能和雄性荷爾蒙受體結合，進而影響到細胞基因的表現。本研究既然只有43名B型肝炎帶原的病例，未來有必要增加病例數再行分析，如果研究結果仍舊相當一致，找尋女性中和雄性荷爾蒙受體結合的相關因子和其影響的下游基因，可能對深入瞭解致癌機轉或研究可能的新治療方法是相當重要的。

計劃成果自評

本年度計劃目標為探討CYP17基因多形性、雄性荷爾蒙受體基因CAG微星體和女性肝細胞癌危險性的關係。研究結果達到

原擬定目標。本研究目前已收集超過200名女性肝細胞癌病例，增加樣本數再進行分析，結果將適合發表在世界重要的雜誌。

參考文獻

1. Yu MW, Chen CJ. Hepatitis B and C viruses in the development of hepatocellular carcinoma. *Crit Rev Oncol Hematol* 1994;17:71-91.
2. Nagasue N, Ito A, Yukaya H, et al. Androgen receptors in hepatocellular carcinoma and surrounding parenchyma. *Gastroenterology* 1985; 89: 643-7.
3. Nagasue N, Kohno H, Chang YC, et al. Androgen and estrogen receptors in hepatocellular carcinoma and the surrounding liver in women. *Cancer* 1989; 63: 112-6.
4. Sawaki M, Enomoto K, Takahashi H, et al. Phenotype of preneoplastic and neoplastic liver lesions during spontaneous liver carcinogenesis of LEC rats. *Carcinogenesis* 1990;11:1857-61.
5. Kim CM, Koike K, Saito L, et al. HBx gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice. *Nature* 1991;351:317-20.
6. Reuber MD. Influence of hormones on N-2-fluorenyldiacetamide-induced hyperplastic hepatic nodules in rats. *J Natl Cancer Inst* 1969;43:445-52.
7. Vesselinovitch SD, Itze L, Mihailovich N, et al. Modifying role of partial hepatectomy and gonadectomy in ethylnitrosourea-induced hepatocarcinogenesis. *Cancer Res* 1980;40: 1538-42.
8. Moore MR, Drinkwater NR, Miller EC, et al. Quantitative analysis of the time-dependent development of glucose-6-phosphatase-deficient foci in the livers of mice treated neonatally with

- diethylnitrosamine. *Cancer Res* 1991;41: 1585-93.
9. Yu MC, Tong MJ, Govindarajan S, et al. Nonviral risk factors for hepatocellular carcinoma in a low-risk population, the Non-Asians of Los Angeles County, California. *J Natl Cancer Inst* 1991;83: 1820-6.
 10. Palmer JR, Rosenberg L, Kaufman DW, et al. Oral contraceptive use and liver cancer. *Am J Epidemiol* 1989;130:878-82.
 11. Kew MC, Song E, Mohammed A, et al. Contraceptive steroids as a risk factor for hepatocellular carcinoma: a case-control study in South African black women. *Hepatology* 1990;1: 298-302.
 12. Chamberlain NL, Driver ED, Miesfeld RL. The length and location of CAG trinucleotide repeats in the androgen receptor N-terminal domain affect transactivation function. *Nucleic Acids Res* 1994;22:3181-6.
 13. Giovannucci E, Stampfer MJ, Krithivas K, et al. The CAG repeat within the androgen receptor gene and its relationship to prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:3320-3.
 14. Rebbeck TR, Kantoff PW, Krithivas K, et al. Modification of BRCA1-associated breast cancer risk by the polymorphic androgen-receptor CAG repeat. *Am J Hum Genet* 1999;64:1371-7.
 15. Feigelson HS, Shames LS, Pike MC, et al. Cytochrome P450c17 (CYP17) polymorphism is associated with serum estrogen and progesterone concentrations. *Cancer Res* 1998; 58: 585-7.
 16. Feigelson HS, Coetzee GA, Kolonel LN, et al. A polymorphism in the CYP17 gene increases the risk of breast cancer. *Cancer Res* 1997;57:1063-5.
 17. Haiman CA, Hankinson SE, Spiegelman D, et al. The relationship between a polymorphism in CYP17 with plasma hormone levels and breast cancer. *Cancer Res* 1999;59:1015-20.
 18. Yu MW, Chen CJ. Elevated serum testosterone levels and risk of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 1993;53:790-4.
 19. Kemp CJ, Leary CN, Drinkwater NR. Promotion of murine hepatocarcinogenesis by testosterone is androgen receptor-dependent but not cell autonomous. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 7505-9.
 20. Ostrowski JL, Ingleton PM, Underwood JCE, et al. Increased hepatic androgen receptor expression in female rats during diethylnitrosamine liver carcinogenesis: a possible correlation with liver tumor development. *Gastroenterology* 1988; 94: 1193-200.
 21. Androgen receptor exon 1 CAG repeat length and breast cancer in women before age forty years. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:961-6.