

題目：內分泌相關因子、DNA修補基因和肝細胞癌易感性
Endocrine-Related Factors, DNA Repair Gene, and Susceptibility
to Hepatocellular Carcinoma

計劃編號：NSC 90-2320-B-002-122

執行期限：九十年八月一日至九十一年七月三十一日

主持人：于明暉

執行機構：台大公共衛生學院

中文摘要

利用對男性B型肝炎帶原者的世代研究所凍存的血液檢體探討內生性類固醇性荷爾蒙相關因子對罹患肝細胞癌的影響。對119名肝細胞癌病例和238名對照個案進行血漿睪固酮和雌二醇濃度的測定及cytochrome P450c17 α (CYP17), steroid 5 α -reductase type II (SRD5A2), 和雄性荷爾蒙受體基因多形性的分析。肝細胞癌危險性隨睪固酮濃度(最高比最低三分位數：對比值=2.97; 95% 信賴區間=1.54-5.70;趨勢檢定 $P=0.0008$)及SRD5A2 V89L基因多形性之V基因數(VV比LL：對比值=2.47; 95% 信賴區間=1.21-5.03;趨勢檢定 $P=0.011$)增加而顯著上升。雄性荷爾蒙受體基因CAG重複次數<23的對比值為1.6倍(95% 信賴區間=1.00-2.68)。CYP17基因型無獨立作用，但和雄性荷爾蒙受體基因具有交互作用，對帶有短CAG重複序列者，CYP17 A1基因增加危險性，對帶長基因者，無相關存在。SRD5A2 VV基因型和雄性荷爾蒙受體基因亦具有相似的交互作用存在，雌二醇和睪固酮對雌二醇的比值，均和肝細胞癌無顯著相關。

關鍵詞：雄性荷爾蒙受體、細胞色素P450 c17 α 、雌二醇、肝細胞癌、類固醇5 α -還原酵素第二型、睪固酮

英文摘要

To examine whether endogenous sex hormonal factors might affect hepatitis B virus (HBV)-related hepatocarcinogenesis in men, we conducted a case-control study nested within a cohort of male HBV carriers.

Blood was collected prospectively from 119 hepatocellular carcinoma (HCC) cases and 238 controls and was used to determine plasma levels of testosterone and estradiol and genetic polymorphisms in cytochrome P450c17 α (CYP17), steroid 5 α -reductase type II (SRD5A2), and androgen receptor (AR). The risk of HCC increased with increasing concentrations of testosterone (multivariate-adjusted odds ratio [OR]_{highest versus lowest tertile}=2.97; 95% confidence interval [CI]=1.54-5.70; $P_{\text{trend}}=0.0008$), and with an increasing number of the V allele of the SRD5A2 V89L polymorphism (multivariate-adjusted OR_{VV versus LL genotype}=2.47; 95% CI=1.21-5.03; $P_{\text{trend}}=0.011$). Shorter AR-CAG repeats (fewer than 23 repeats) were associated with 1.6-fold (95% CI=1.00-2.68) increased risk of HCC. Although CYP17 genotype did not influence risk alone, there was evidence of a gene-gene interaction, such that the CYP17 A1 allele significantly increased risk only in the presence of shorter AR-CAG repeats. Similar interaction with the AR gene was found for the SRD5A2 VV genotype. No clear associations were found between estradiol or testosterone-to-estradiol ratio and HCC.

Key words: androgen receptor, cytochrome P450c17 α , estradiol, hepatocellular carcinoma, steroid 5 α -reductase type II, testosterone

計劃緣由與目的

幾乎全世界男性的肝細胞癌發生率皆為女性的2-3倍(1)。不論遺傳、化學致癌或B型肝炎病毒(hepatitis B virus; HBV)轉殖鼠的動物模式亦觀察到雄鼠的危險性高於雌

鼠(2-7)。雄鼠去勢降低肝細胞癌危險性，而長期給予去勢的雄鼠或雌鼠和卵巢切除的雌鼠睪固酮，危險性回升(2, 3, 7)。雄性荷爾蒙需要和其受體結合才能產生作用，人類的雄性荷爾蒙受體基因位在X染色體上，其第一外顯基因內具有CAG重複序列的多形性，體外實驗發現CAG重複次數和受體transcriptional activity呈逆向線性關係(8)。根據本研究小組最近對男性HBV帶原者的研究，高血漿睪固酮濃度和較短的雄性荷爾蒙受體CAG重複序列增加肝細胞癌危險性，且兩者具有協同作用(9)。

雄性荷爾蒙訊息傳導路徑由多個基因所決定，包括：cytochrome P450c17 α (CYP17)和睪固酮前驅物生合成有關，steroid 5 α -reductase type II (SRD5A2)和代謝睪固酮成為對雄性荷爾蒙受體較具親合性的活化產物 dihydrotestosterone 有關(10)。為深入瞭解雄性荷爾蒙訊息傳導路徑在肝細胞癌致癌過程中所扮演的角色，本研究繼續探討CYP17和SRD5A2 第二型V89L基因多形性和肝細胞癌危險性的關係，同時分析雄性荷爾蒙訊息傳導路徑相關因子間的交互作用。另外；男性罹病的危險性比女性高，可能是因男性的雄性荷爾蒙較女性高；或其雌性荷爾蒙較女性低，故本研究亦分析雄性荷爾蒙和雌性荷爾蒙對男性HBV帶原者發展肝細胞癌的相對重要性。

結果

研究世代包括4,841名男性HBV帶原者，經過12年的追蹤，共鑑定150名肝細胞癌新病例，其中119名病例具凍存的血液檢體可進行各種生物標記分析。對每名病例，由未罹病的HBV帶原的世代成員中，隨機選取2名對照個案，配對條件為年齡(± 5 歲)和進入研究時間(± 3 個月)。

利用非條件對數迴歸模式，首先分析未考慮其他荷爾蒙相關因子的對比值，在控制配對變項、教育程度、氏族、抽菸喝酒習慣，和慢性肝病史後，只有睪固酮濃度(最高比最低三分位數：OR=2.20; 95%

信賴區間[confidence interval; CI]=1.21-3.98)和SRD5A2 V89L基因多形性(VV 對 LL：OR=2.17; 95% CI=1.10-4.29)具有顯著的作用。

控制其他荷爾蒙相關因子的影響後，睪固酮濃度(最高比最低三分位數：OR=2.97; 95% CI=1.54-5.70;趨勢檢定P=0.0008)和SRD5A2 VV基因型(VV比LL：OR=2.47; 95% CI=1.21-5.03)的作用更為顯著，SRD5A2 V基因和肝細胞癌危險性有基因劑量效應關係(趨勢檢定P=0.011)。雄性荷爾蒙受體CAG重複次數 < 23 次亦顯著增加肝細胞癌危險性 (OR=1.64; 95% CI=1.00-2.68)。然而；無論將雌二醇依據對照組分佈的三分位數或五分位數分組，單變項或多變項分析均未發現顯著相關，同樣的，無論以三分位數或五分位數分組，單變項或多變項分析亦未發現睪固酮對雌二醇的比例和肝細胞癌相關。

進一步分析性荷爾蒙和基因間的交互作用及基因-基因間的交互作用對肝細胞癌危險性的影響。發現SRD5A2和CYP17基因型的作用會受到雄性荷爾蒙受體CAG重複序列的影響。短CAG重複序列者，SRD5A2 VV基因型的OR為5.58 (95% CI=1.86-16.71)；長CAG重複序列者，VV基因型不增加危險性。同樣的，對於短CAG基因者，帶有CYP17 A1基因約增加1.5倍的危險性(OR=2.51; 95% CI=1.03-6.09)；而對於長CAG基因者，CYP17基因型和肝細胞癌危險性無顯著相關。無其他荷爾蒙因子間具明顯的交互作用。

討論

SRD5A2 V89L基因型在亞洲人的分佈要比在白種人的分佈較具多形性(10)。活體研究已發現此基因多形性各種基因型相關的酵素活性依次為VV>VL>LL(10)。本研究也發現帶V基因數目和肝細胞癌危險性具有劑量效應關係。

已有多個流行病學研究探討CYP17基因由MspA1辨識的多形性和乳癌及前列腺癌的關係，雖然結果並不一致，但帶A2基因

主要和增加的乳癌危險性有關，而A1基因反而增加前列腺癌危險性 (11-14)。本研究發現CYP17基因型不具獨立作用，但A1基因和雄性荷爾蒙受體CAG基因具有交互作用。對CYP17基因型和血液性荷爾蒙濃度的研究已經發現，對女性而言，帶有A2基因和較高的雌性荷爾蒙濃度有關；而對於男性而言，帶有A1基因和較高的雄性荷爾蒙濃度有關 (11,15)。

對雄性荷爾蒙受體基因突變而失去功能的鼯鼠進行化學致癌實驗，發現正常鼠肝腫瘤生長的速率是突變鼠的至少二十倍 (3)。本研究小組先前的論文也已發現雄性荷爾蒙受體CAG基因和血漿睪固酮濃度間具有累加模式的協同作用(9)。現在的分析進一步發現CYP17和SRD5A2基因型對肝細胞癌危險性的作用會受到雄性荷爾蒙受體CAG重複次數的影響，雖然這個交互作用的實際生物機轉尚未知，此研究結果增加雄性荷爾蒙訊息傳導路徑和肝細胞癌發展有關的假說的可能性。

在男性，雌性荷爾蒙的來源是靠睪固酮在週邊組織經代謝轉換，本研究發現雌二醇或睪固酮對雌二醇的比例均和肝細胞癌危險性無顯著相關，顯示對男性而言，在肝細胞癌的發展過程中，雄性荷爾蒙比雌性荷爾蒙的影響更為重要，未來對男性HBV帶原者而言發展針對雄性荷爾蒙訊息傳導路徑的化學預防策略是值得考慮的。

計劃成果自評

本年度計劃目標為探討雄性荷爾蒙代謝基因包括SRD5A2及CYP17基因多形性和肝細胞癌危險性的關係；同時分析雄性和雌性荷爾蒙對男性肝細胞癌發展的相對重要性。研究結果達到原擬定目標，本研究結果已發表在美國癌症研究所雜誌 (J Natl Cancer Inst)。

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. 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.
3. 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.
4. Dunsford HA, Sell S, Chisari FV. Hepatocarcinogenesis due to chronic liver cell injury in hepatitis B virus transgenic mice. *Cancer Res* 1990;50:3400-7.
5. Kim CM, Koike K, Saito I, et al. HBx gene of hepatitis B virus induces liver cancer in transgenic mice. *Nature* 1991;351:317-20.
6. Moriya K, Fujie H, Shintani Y, et al. The core protein of hepatitis C virus induces hepatocellular carcinoma in transgenic mice. *Nat Med* 1998;4:1065-7.
7. Agnew LR, Gardner WU. The incidence of spontaneous hepatomas in C3H, C3H (low milk factor), and CBA mice and the effect of estrogen and androgen on the occurrence of these tumors in C3H mice. *Cancer Res* 1952;12:757-61.
8. 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.
9. Yu MW, Cheng SW, Lin MW, et al. Androgen-receptor gene CAG repeats, plasma testosterone levels, and risk of hepatitis B-related hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:2023-8.
10. Ross RK, Pike MC, Coetzee GA, et al. Androgen metabolism and prostate cancer: establishing a model of genetic susceptibility. *Cancer Res* 1998;58:4497-504.
11. 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.
12. Lunn RM, Bell DA, Mohler JL, et al. Prostate cancer risk and polymorphism in 17 hydroxylase (CYP17) and steroid reductase (SRD5A2). *Carcinogenesis* 1999;20:1727-31.
 13. Spurdle AB, Hopper JL, Dite GS, et al. CYP17 promoter polymorphism and breast cancer in Australian women under age forty years. *J Natl Cancer Inst* 2000;92:1674-81.
 14. Habuchi T, Liqing Z, Suzuki T, et al. Increased risk of prostate cancer and benign prostatic hyperplasia associated with a CYP17 gene polymorphism with a gene dosage effect. *Cancer Res* 2000;60:5710-3.
 15. Makridakis N, Reichardt J, Pike M, et al. Genetic control of human androgen metabolism by the CYP17 and SRD5A2 genes. *Am J Hum Genet (Suppl)*1997; 61:A257.