

一、中文摘要

關鍵詞：鼻咽癌 病例對照研究 DNA 修補基因、hOGG1, XRCC1

DNA 修補基因多形性與癌症的發生，是近年來分子生物研究重視的課題之一，本研究藉由分子流行病學方法，首度探討 DNA 的修補基因 hOGG1、XRCC1 基因多形性與其他異物代謝基因、環境因子共同作用時，發生鼻咽癌之關係。

本研究採病例對照研究法，共分析 334 名鼻咽癌病例及 283 名經性別、年齡及居住地區配對之社區對照。萃取研究個案週邊血液白血球細胞之 DNA，以聚合連鎖反應為基礎的限制片段長度多形性 (PCR-RFLP) 鑑定基因多形性。

研究結果發現：台灣不同氏族 hOGG1 Cys³²⁶、XRCC1 His²⁸⁰ 及 XRCC1 Gln³⁹⁹ 對偶基因頻率在社區對照組的分布分別為 0.56-0.62、0.03-0.14 及 0.26-0.31。經調整性別、年齡、氏族及抽煙習慣後，攜帶 hOGG1 Ser326Cys 或 Cys326Cys 基因型者罹患鼻咽癌的相對危險性為 Ser326Ser 基因型的 1.66 (95 % 信賴區間：1.03-2.67) 倍；攜帶 XRCC1 Arg280His 或 His280His 基因型者罹患鼻咽癌的相對危險性為 Arg280Arg 基因型的 0.66 倍 (95 % 信賴區間：0.44-0.98)；同時攜帶 hOGG1 及 XRCC1 危險基因時，罹患鼻咽癌的相對危險性為 3.2 倍 (95 % 信賴區間：1.1-9.4)；加入抽菸量分層分析後，總抽菸量在 25 包·年以上且又攜帶 hOGG1、XRCC1 危險基因者罹患鼻咽癌的相對危險性約為 8 倍 (95 % 信賴區間：0.6-97.8)；當 hOGG1、XRCC1 及 CYP2E1 危險基因共同作用時，罹患鼻咽癌的相對危險性可高達近 28 倍 (95 % 信賴區間：3.8-201.7)。

本研究分析結果發現，hOGG1 及 XRCC1 基因多形性與台灣地區鼻咽癌之發生具相關性；hOGG1、XRCC1 及 CYP2E1 基因多形性對於台灣地區鼻咽癌之發生具有強烈的交互作用存在。

二、英文摘要

Keywords: nasopharyngeal carcinoma, case-control study, DNA repair genes, hOGG1, XRCC1

Genetic polymorphisms of DNA repair genes have been reported to determine susceptibility to several cancers. This study focused on effects of genetic polymorphisms of DNA repair genes hOGG1 and XRCC1 on the development of nasopharyngeal carcinoma (NPC).

We conducted a case-control study to investigate the genotypes of 334 patients with NPC and 283 healthy community controls matched by sex, age and residence. DNA was extracted from mononuclear cells obtained from peripheral blood. The polymerase chain reaction (PCR)-based restriction fragment length polymorphism assay was used to identify the genetic polymorphisms. Each allele frequency of the hOGG1 Cys³²⁶, XRCC1 His²⁸⁰ and Gln³⁹⁹ among different clans in controls was 0.56-0.62, 0.03-0.14 and 0.26-0.31, respectively. After adjustment for sex, age, clan, and smoking habits, the odds ratio of developing NPC for hOGG1 codon 326 genotypes of Ser/Cys and Cys/Cys compared with Ser/Ser genotype was 1.66 (95%CI: 1.03-2.67); for XRCC1 codon 280 genotypes of Arg/His and His/His compared with Arg/Arg genotype was 0.66 (95%CI: 0.44-0.98). Among subjects with putative high risk genotypes of both hOGG1 and XRCC1, the odds ratio of developing NPC was 3.2 (95%CI: 1.1-9.4). Furthermore, subjects with putative high risk genotypes of all hOGG1, XRCC1 and CYP2E1 had an additive risk effect on NPC. The odds ratio of developing NPC was nearly 28-fold (95%CI: 3.81-201.66).

The results suggest the polymorphisms of the DNA repair genes including hOGG1 codon326 and XRCC1 codon280 were associated with an increased risk of NPC. There was a synergistic effect for the genetic polymorphisms of hOGG1, XRCC1 and CYP2E1 on the development of NPC; the

higher the number of the putative risk genes, the higher the risk of NPC.

三、計劃緣由與目的

鼻咽癌的發生有很強的地域差異，以歐美國家而言，發生率在每十萬人 1 例以下，但在中國大陸東南方的省份卻可達到每十萬人 30 例 (Parkin et al., 1992; Hildesheim and Levine, 1993) 依據民國八十五年衛生署癌症登記資料顯示(衛生署, 1996)，台灣地區男性及女性鼻咽癌粗發生率分別為每十萬人年 8.0 及 3.1 例，男女性比例約維持在 2-3 倍。

有關鼻咽癌的流行病學研究，Epstein-Barr 病毒 (EBV) 是目前較肯定的危險因子，其他環境危險因子如抽菸飲酒習慣、廣東鹹魚、醃漬食品等對於鼻咽癌的影響並不大；反觀暴露於同樣致癌物質之下，卻只有部份個體會罹患鼻咽癌，個體易感受性差異的問題因應而生。在基因毒物與個體易感受基因之探討中，除了異物代謝基因而外，DNA 修補基因是最近引起廣泛討論的重要基因。

人體有一套專門負責修補基因體受到損害的系統，以維持基因體的穩定及完整性。氧化性傷害為最常見之 DNA 損害，而負責修補此類傷害的系統稱之為「含氮鹽基切除修補系統」。DNA 修補基因之多形性可能造成該基因產物之酵素的結構及功能改變，影響 DNA 修補能力。本病例對照研究之目的乃針對含氮鹽基切除修補系統中的 hOGG1、XRCC1 之基因多形性進行分析，探討其與鼻咽癌之相關。

四、結果與討論

表 1 為 334 名鼻咽癌病例與 283 名社區對照之基本人口學特徵。在性別的分布上，病例組及社區對照組之男女比例約為 2:1。兩組年齡的分布皆集中在 30-49 歲年齡組，平均年齡約為 45 歲。氏族方面，病例組為福建籍者佔 81.7%，其他漢族佔 5.4%；社區對照組為福建籍者佔 70.9%，

其他漢族分布比例較高，佔 17.7%。社區對照組教育程度在大專以上的比例較病例組高 (對照組：25.9%；病例組 19.8%)；病例組則以小學程度居多 (33.5%)。

由於選取對照組時依照病例之性別、年齡、居住地區配對，因此在病例組及社區對照組之性別、年齡分布相近。至於氏族在病例組及社區對照組的分布差異，其原因可能是因為病例組收案來源為台大及馬偕醫院，其病患以福建籍居多，而本研究收案限居住於台北縣/市六個月以上之居民，造成社區對照組中反應出其他漢族(外省籍)的分布比例偏高，故使得兩組之氏族分布有顯著差異，間接使得教育程度也有些許分布不均的情況。

為了避免氏族分布不均造成干擾，將氏族變項分組為福建、客家及其他 (包含山胞、廣東、其他漢族) 以對數複迴歸分析控制。雖然性別、年齡已經過配對，為了確保性別、年齡不會干擾研究結果，仍嘗試將性別及年齡 (連續變項) 加入對數複迴歸分析調控，由於結果有些微差異，因此往後的分析仍調整性別及年齡。

表 2 為 283 名社區對照組之 hOGG1 基因多形性在不同氏族團體的頻率分布情形，本研究 hOGG1 codon326 Cys 對偶基因在不同氏族團體的頻率分布為 0.56-0.62。Sugimura 等人研究發現，不同種族的基因型頻率分布有所差異 (Sugimura et al., 1999)，而華人在 Cys 對偶基因的頻率分布較其他種族高出許多。藉由 Cys 對偶基因頻率在種族分布上的差異，或許對於鼻咽癌的發生率在華人遠高於白種人 (Yu and Henderson, 1996)，有合理的解釋。

本研究中 XRCC1 codon280 His 對偶基因在不同氏族團體的頻率分布為 0.03-0.14。(表 3) Lunn 等人發表台灣人的 His²⁸⁰ 頻率分布為 0.11 (Lunn et al., 1999)；Ratnasinghe 等人在中國雲南的研究，His²⁸⁰ 頻率分布為 0.07 (Ratnasinghe et al., 2001)；Shen 等人分析 12 名健康白人 His²⁸⁰ 頻率分布為 0.08。研究結果發現不論白人或黃種人，XRCC1 codon280 的 His 對偶基因分布頻率相當低，約在 0.15 以下。

本研究 XRCC1 codon399 Gln 對偶基因在不同氏族團體的頻率分布為 0.26-0.31。Lunn 等人發表台灣人的 Gln³⁹⁹ 頻率分布為 0.26 (Lunn et al., 1999); Ratnasinghe 等人在中國雲南的研究, Gln²⁸⁰ 頻率分布為 0.25 (Ratnasinghe et al., 2001); Shen 等人分析 12 名健康白人 Gln³⁹⁹ 頻率分布為 0.25; 其他白人的研究 Gln³⁹⁹ 頻率分布約在 0.31-0.34 (Sturgis et al., 1999; Divine et al., 2001)。XRCC1 exon10 的 Gln³⁹⁹ 對偶基因頻率分布在不同族群並無明顯差異。

基因型研究突破已往病例對照研究時序性受爭議的瓶頸, 但在因果推論上仍有需要注意之處, 也就是基因型是否能代表酵素表現型, 肯定的一致性相關可以見之於 hOGG1 codon326 的研究結果中 (Kohno et al., 1998); 目前 XRCC1 codon399 的研究只能間接證明基因型與酵素表現型具相關性 (Lunn et al., 1999; Abedl-Rahman and El-Zein, 2000); XRCC1 codon280 則尚未有研究發表其基因型與表現型之相關性。

在生物學上, hOGG1 酵素在 BER 系統中主要表現於辨識 8-oxoG、8-OHGua 等 DNA 氧化性傷害 (Bruner et al., 2000), 在 *E. coli* 突變株的實驗發現 Cys³²⁶ 的修補能力較 Ser³²⁶ 差 (Kohno et al., 1998)。本研究 hOGG1 基因多形性與鼻咽癌的相關, 可見於帶有 Cys³²⁶ 對偶基因者有 1.66 倍的危險性罹患鼻咽癌 (表 4-3)。目前尚無直接的證據說明 XRCC1 基因型是否與表現型一致, 但自 Lunn 及 Abedl-Rahman 等人分別提出 AFB₁-DNA 鍵結物、GPA *MV* 變異型頻率及 NNK 誘導姊妹染色體互換頻率會因 codon399 胺基酸的突變 (Arg Gln) 而增加後, 間接說明 codon399 胺基酸的改變可能會造成 XRCC1 酵素表現型的變異 (Lunn et al., 1999; Abedl-Rahman and El-Zein, 2000)。

表 4, XRCC1 codon399 之突變型同型合子 Gln/Gln 相較於 Arg/Arg 或 Arg/Gln 基因型者雖有 1.26 倍的危險對比值罹患鼻咽癌, 卻未能達到統計顯著;

反倒在 XRCC1 codon280 攜帶 Arg/His 或 His/His 基因型者相較於攜帶野生型同型合子 Arg/Arg 者具 0.66 倍的顯著保護性。

XRCC1 codon280 的分析結果和 Ratnasinghe 等人研究結果不符, 討論其原因可能有以下幾點解釋: (1) 由於 XRCC1 codon280 與 codon399 之基因多形性在分布比例上具相關性, 表 5 說明攜帶基因型 Gln399Gln 者, 攜帶基因型 Arg280Arg 的機會高達 95.2%, 可能意味著 Gln³⁹⁹ 特別容易與 Arg²⁸⁰ 連鎖 (表 6), 同時帶有 Arg280Arg 及 Gln399Gln 基因型者相較於同時帶有 Arg280Arg 及 Arg399Arg 基因型者罹患鼻咽癌的相對危險性為 1.28 倍, 反觀 Arg280His 及 His280His 基因型同時攜帶 Gln399Gln 的機會將近為 0, 也許可以解釋為何 XRCC1 codon280 攜帶 Arg/His 或 His/His 基因型在本研究具保護性; (2) 生物學上尚無 XRCC1 codon280 及 codon399 基因多形性與酵素表現型的相關研究, 對於 Arg/Arg 所表現的酵素功能並無清楚的認知, 因此有關 XRCC1 基因型與酵素表現型的研究, 仍有待未來的研究證實。

基於上述原因, 在基因與基因之交互作用分析上, 採 XRCC1 codon280 與 hOGG1 codon326 探討其基因多形性對於鼻咽癌的作用。研究結果見之於表 7, 在 BER 系統中的修補基因 hOGG1、XRCC1 之交互作用下, 同時帶有 Ser/Cys 或 Cys/Cys 基因型及 Arg/Arg 基因型者罹患鼻咽癌的相對危險性為 3.15 倍, 相較於單一基因獨立作用下, 確實具有較高的危險性罹患鼻咽癌。

五、計劃成果自評

本計劃擬定之初, 選定 XRCC1, XRCC3 及 XPD 三個 DNA 修補基因之基因多形性加以探討其和鼻咽癌之關係, 由於尚未有探討 DNA 修補基因多形性與鼻咽癌之相關研究, 故本研究之標的基因的選定猶如大海撈針, 考量經費上的限制後, 於 DNA 修補系統中的含氮鹽基切除修補

系統 (BER)、重組修補系統 (NER) 各選定一最常被討論之基因作為本研究之標的基因。

然而，分子生物的研究進展快速，許多文獻提供了在生物學上的相關訊息，因此本研究從分子生物層面為切點，探討修補 DNA 氧化性傷害的修補基因多形性與鼻咽癌的相關性。人體內的代謝作用會造成 DNA 的氧化性傷害，負責內生性 DNA 氧化性傷害的修補系統以 BER 為主要，其中 hOGG1 及 XRCC1 基因皆參與 BER 的修補路徑，在已往的研究發現 hOGG1 codon326、XRCC1 codon280 及 codon399 之基因多形性與肺癌及頭頸部癌症具相關性，且華人在此三個基因之變異對偶基因頻率分別為 0.61、0.11 及 0.26，以本計劃個案樣本數 334 名來估算，推估可達 80% 以上之檢力，基於上述理由，本計劃改選 hOGG1 codon326、XRCC1 codon280 及 codon399 等 DNA 修補基因做為本研究之標的基因探討其基因多形性與鼻咽癌之相關。

由於本研究探討的題目是屬基因型與鼻咽癌之相關，故雖然以病例對照研究之方式收集資料，在因果關係之探討上卻仍能保有明確的時序性，此為本研究之特點之一。DNA 修復系統基因型之流行病學研究曾見於肺癌等其他部位之癌症研究，至於對鼻咽癌之影響本研究實為首例，本研究中之發現 DNA 修補基因 hOGG1、XRCC1 對鼻咽癌影響之交互作用是一項具學術價值的發現，正在整理此論文以投稿至國際學術期刊。

六、參考文獻

1. Abedl-Rahman SZ and El-Zein RA. The 399Gln polymorphism in the DNA repair gene XRCC1 modulates the genotoxic response induced in human lymphocytes by the tobacco-specific nitrosamine NNK. *Cancer Letters* 2000; 159: 63-71.
2. Bruner SD, Norman DPG, Verdine GL. Structural basis for recognition and repair of the endogenous mutagen 8-oxoguanine in DNA. *Nature* 2000; 403(24): 859-66.
3. Divine KK, Gilliland FD, Crowell RE, et al. The XRCC1 399 glutamine allele is a risk factor for adenocarcinoma of the lung. *Mutation Research* 2001; 461: 273-8.
4. Hildesheim A and Levine PH. Etiology of nasopharyngeal carcinoma: a review. *Epidemiology Review* 1993; 15(2): 466-85.
5. Kohno T, Shinmura K, Tosaka M, et al. Genetic polymorphisms and alternative splicing of the hOGG1 gene, that is involved in the repair of 8-hydroxyguanine in damaged DNA. *Oncogene* 1998; 16: 3219-25.
6. Lunn RM, Langlois RG, Hsieh LL, et al. XRCC1 polymorphisms: Effects on aflatoxin B₁-DNA adducts and glycophorin A variant frequency. *Cancer Research* 1999; 59: 2557-61.
7. Parkin DM, Muir CS, Whelan SL, et al. *Cancer Incidence in Five Continents*. IARC Scientific Publications 1992; .
8. Ratnasinghe D, Yao SX, Tangrea JA, et al. Polymorphisms of the DNA repair gene XRCC1 and lung cancer risk. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2001; 10: 119-23.
9. Sturgis EM, Castillo EJ, Li L, et al. Polymorphisms of DNA repair gene XRCC1 in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Carcinogenesis* 1999; 20(11): 2125-9.
10. Sugimura H, Kohno T, Wakai K, et al. hOGG1 Ser326Cys polymorphism and lung cancer susceptibility. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*

1999; 8: 669-74.

11. Yu MC and Henderson BE. Nasopharyngeal cancer. In: Schottenfeld, Fraumeni, editors. Cancer Epidemiology and Prevention. New York: Oxford University Press, 1996: 603-18.

表 1 334 名鼻咽癌病例與 283 名社區對照之基本人口學特徵

| 變項分組 | 病例組人數 (%) | 社區對照組人數 (%) | P 值 |
|-------------|--------------|---------------|-------|
| 性別 | | | |
| 女性 | 103 (30.8) | 88 (31.2) | 0.92 |
| 男性 | 231 (69.2) | 194 (68.8) | |
| 年齡 § | | | |
| < 30 | 24 (7.2) | 16 (5.7) | 0.89 |
| 30-39 | 91 (27.3) | 82 (29.0) | |
| 40-49 | 93 (27.8) | 82 (29.0) | |
| 50-59 | 80 (24.0) | 62 (21.9) | |
| 60 | 46 (13.8) | 41 (14.5) | |
| 氏族 | | | |
| 福建 | 273 (81.7) | 200 (70.9) | 0.001 |
| 客家 | 28 (8.4) | 18 (6.4) | |
| 山胞 | 3 (0.9) | 3 (1.1) | |
| 廣東 | 12 (3.6) | 11 (3.9) | |
| 其他漢族 | 18 (5.4) | 50 (17.7) | |
| 教育程度 | | | |
| 小學以下 | 29 (8.7) | 15 (5.3) | 0.04 |
| 小學 | 112 (33.5) | 70 (24.8) | |
| 國中 | 56 (16.8) | 53 (18.8) | |
| 高中 | 71 (21.3) | 71 (25.2) | |
| 大專以上 | 66 (19.8) | 73 (25.9) | |

註：一名社區對照個案拒答問卷

§：病例組mean ± SD = 45.28±11.83；社區對照組mean ± SD = 45.60±11.63

表 2 283 名社區對照 hOGG1 基因型氏族團體別之相關

| DNA 修補基因分組 | 福建 | 客家 | 其他¶ | X ² test P 值 |
|-------------|-------------|-------------|-------------|----------------------------|
| | 人數 (%) | 人數 (%) | 人數 (%) | |
| hOGG1 exon7 | | | | |
| Ser/Ser | 33 (16.5) | 3 (16.7) | 10 (15.4) | 0.90 |
| Ser/Cys | 89 (44.5) | 10 (55.6) | 30 (46.2) | |
| Cys/Cys | 78 (39.0) | 5 (27.8) | 25 (38.5) | |
| Cys 基因頻率 | 0.61 | 0.56 | 0.62 | |

¶:「其他」包含山胞廣東及其他漢族

表 3 283 名社區對照 XRCC1 基因型氏族團體別之相關

| DNA 修補基因分組 | 福建 | 客家 | 其他¶ | X ² test P 值 |
|--------------|--------------|-------------|-------------|----------------------------|
| | 人數 (%) | 人數 (%) | 人數 (%) | |
| XRCC1 exon9 | | | | |
| Arg/Arg | 147 (73.5) | 17 (94.4) | 51 (78.5) | 0.17 |
| Arg/His | 51 (25.5) | 1 (5.6) | 14 (21.5) | |
| His/His | 2 (1.0) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | |
| His 基因頻率 | 0.14 | 0.03 | 0.11 | |
| XRCC1 exon10 | | | | |
| Arg/Arg | 109 (54.8) | 8 (44.4) | 35 (53.9) | 0.85 |
| Arg/Gln | 74 (37.2) | 9 (50.0) | 26 (40.0) | |
| Gln/Gln | 16 (8.0) | 1 (5.6) | 4 (6.2) | |
| Gln 基因頻率 | 0.27 | 0.31 | 0.26 | |

¶:「其他」包含山胞廣東及其他漢族

a: 有一例個案無法確切判定其基因型

表 4 hOGG1 及 XRCC1 基因型與鼻咽癌之相關

| DNA 修補基因分組 | 病例組 | 社區對照組 | OR (95%CI) | P 值 |
|-----------------------|------------|------------|--------------------|------|
| | 人數 (%) | 人數 (%) | | |
| hOGG1 exon7 | | | | |
| Ser326Ser | 36 (10.8) | 46 (16.3) | 1.00 | |
| Ser326Cys + Cys326Cys | 297 (89.2) | 237 (83.8) | 1.66 (1.03-2.67) * | 0.04 |
| 不明 | 1 | 0 | | |
| XRCC1 exon9 | | | | |
| Arg280Arg | 275 (82.8) | 215 (76.0) | 1.00 | |
| Arg280His + His280His | 57 (17.2) | 68 (24.0) | 0.66 (0.44-0.98) * | 0.04 |
| 不明 | 2 | 0 | | |
| XRCC1 exon10 | | | | |
| Arg399Arg + Arg399Gln | 302 (90.4) | 261 (92.6) | 1.00 | |
| Gln399Gln | 32 (9.6) | 21 (7.5) | 1.26 (0.70-2.27) | 0.44 |
| 不明 | 0 | 1 | | |

調整性別、年齡、氏族、抽煙情形

表 5 283 名社區對照 XRCC1 exon9 和 exon10 基因型間關係

| XRCC1 exon9 | XRCC1 exon10 ^a | | | P 值 |
|-------------|---------------------------|-------------------|-------------------|-------|
| | Arg/Arg 人數 (%) | Arg/Gln 人數 (%) | Gln/Gln 人數 (%) | |
| Arg/Arg | 104 (68.4) | 90 (82.6) | 20 (95.2) | |
| Arg/His | 46 (30.3) | 19 (17.4) | 1 (4.8) | |
| His/His | 2 (1.3) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 0.006 |
| Missing=3 | | | | |

: test by likelihood ratio chi-square

a: 有一例個案無法確切判定其基因型

表 6 XRCC1 exon9 及 XRCC1 exon10 基因型對鼻咽癌之交互作用

| DNA 修補基因分組 | XRCC1 exon10 | | | | | |
|-----------------------|-----------------------|-----|------------------|-----------|-----|------------------|
| | Arg399Arg + Arg399Gln | | | Gln399Gln | | |
| | 病例組 | 對照組 | OR (95%CI) | 病例組 | 對照組 | OR (95%CI) |
| XRCC1 exon9 | | | | | | |
| Arg280Arg | 243 | 194 | 1.00 | 32 | 20 | 1.28 (0.71-2.32) |
| Arg280His + His280His | 57 | 67 | 0.68 (0.46-1.02) | 0 | 1 | -- |

表 7 hOGG1 exon7 codon326 及 XRCC1 exon9 codon280 基因型對鼻咽癌之交互作用

| DNA 修補基因分組 | hOGG1 exon7 | | | | | |
|-------------------|-------------|-----|------------------|-------------------|-----|--------------------|
| | Ser/Ser | | | Ser/Cys + Cys/Cys | | |
| | 病例組 | 對照組 | OR (95%CI) | 病例組 | 對照組 | OR (95%CI) |
| XRCC1 exon9 | | | | | | |
| Arg/His + His/His | 5 | 11 | 1.0 | 52 | 57 | 2.15 (0.69-6.71) |
| Arg/Arg | 31 | 35 | 2.03 (0.62-6.23) | 243 | 180 | 3.15 (1.06-9.37) * |

調整性別、年齡、氏族、抽菸情形

* 卡方檢定, P<0.05