

行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

鼻咽癌與 DNA 修補基因之流行病學研究 (III)

計畫類別：個別型計畫

計畫編號：NSC92-2320-B-002-168-

執行期間：92 年 08 月 01 日至 93 年 07 月 31 日

執行單位：國立臺灣大學公共衛生學院流行病學研究所

計畫主持人：鄭玉娟

報告類型：精簡報告

處理方式：本計畫可公開查詢

中 華 民 國 93 年 9 月 23 日

一、 中文摘要

關鍵詞：鼻咽癌、病例對照研究、危險因子、DNA 修補基因、基因多形性、易感受性、hMLH1、LIG1

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 hMLH1、LIG1 基因多形性與環境因子共同作用時，發生鼻咽癌之關係。

中國人之鼻咽癌發生率居全世界之冠，比白人高出 20 到 30 倍，亦高出日本人或韓國人甚多。相較於其他癌症，鼻咽癌是屬較早發之癌症且好發於男性，一旦發病對社會之衝擊是不可忽視的。本計劃將著重於國人特有之鼻咽癌危險因子之分析，並以病例對照研究探討鼻咽癌環境致癌物與基因之交互作用。其研究對象是來自民國 80 年 7 月至 83 年 12 月，由台大醫學院、台大公共衛生學院與美國國立癌症研究院共同合作之鼻咽癌病例對照研究，在台大及馬偕醫院共收集 335 名經病理確診之新病例，年齡在 75 歲以下，居住在臺北市/縣六個月以上，281 名經由年齡(同-5 歲年齡組)、性別、居住地區配對之社區對照，將所收集之檢體利用白血球去氧核糖核酸以聚合酵素連鎖反應為基礎的限制片段長度多形性(PCR-RFLP)進行 DNA 修復基因 hMLH1、LIG1 之多形性測定。

綜合以結構式問卷進行標準化訪視所蒐集可能致癌之危險因子，以非條件式對數複回歸分析進行模型建

構，做多變項分析，在調整性別、年齡、抽煙、種族及教育狀況，結果發現 hMLH1 基因多形性與鼻咽癌發生的危險有顯著相關，LIG1 的基因多形性與鼻咽癌發生的危險並無顯著相關。

我們進一步分別以抗 EBV 抗體 (anti-EBV antibodies) 木頭粉塵及甲醛 (formaldehyde) 的職業曝露及亞硝酸胺 (nitrosamine) 的飲食攝取和抽煙曝露做分層分析。結果顯示鼻咽癌危險性在甲醛、粉塵暴露 0-10 年之下和 hMLH1 的多形性有顯著相關(表二)，而在和 LIG1 的多形性間則不具顯著性相關。

二、 計畫英文摘要

Keywords: nasopharyngeal carcinoma 、 case-control study、 risk factor、 DNA repair genes 、 genetic polymorphism 、 susceptibility 、 hMLH1、 LIG1

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 hMLH1 and LIG1 interacted with environmental factor on the development of nasopharyngeal carcinoma (NPC).

The incidence of nasopharyngeal carcinoma in Chinese is the highest in the world. It is 20-30 times compared to Caucasian, and also much more than

Japanese and Korean. Compared to other cancers, the peak of nasopharyngeal carcinoma more frequently occurs in younger age and dominant in male. The impact of the disease especially can not be ignored. The specific aim of this study is to explore the risk factors of nasopharyngeal carcinoma (NPC). A case-control study for NPC which was collaborated with College of Medicine, College of Public Health National Taiwan University and the National Institute of Health in America was conducted in Taiwan from July 1991 to December 1994 to investigate the interaction of environmental carcinogen and genotype polymorphism to the risk of NPC. We enrolled 335 histologically confirmed incident NPC cases who were younger than 75 years old, and had resided in Taipei city/county for at least 6 months, from National Taiwan University Hospital and Mackay Memorial Hospital. Totally 281 healthy community controls were selected by individual matching for sex, age and residence. The study will use the real-time polymerase chain reaction (RTPCR) to analyze the genotypes of DNA repair genes hMLH1 and LIG1.

Information of Risk factors were obtained through personal interview with structured questionnaire, in which included demographic factors, the history of smoking, drinking, dietary habit, family history of cancer etc. The information were combined with genotyping results to evaluate the effect of NPC development. Unconditional logistic regression was performed to clarify the relationship between various risk factors, genetic susceptibility and NPC occurrence, and also to elucidate

their interaction. After adjusting age, sex, ethnicity, educational level, and duration of smoking, NPC is significantly associated with genetic polymorphisms of hMLH1, while LIG1 is not. We further stratified by anti-EBV antibodies, occupational exposure to wood dust and formaldehyde, and dietary nitrosamine intake. When stratified 0-10 years exposure to either formaldehyde or wood dust, NPC risk is significantly correlated with hMLH1 polymorphism, while remained no significant association between NPC risk and LIG1.

三、計劃緣由與目的

鼻咽癌 (Nasopharyngeal Carcinoma) 在世界人口中發生率很低，但在中國南方以及東南亞一帶，卻是比較常見的一種癌症。在高加索人種中每年發生率小於 1/100,000，在華人地區每年發生率可達 30/100,000。其中遺傳和環境皆為影響鼻咽癌發展的因數。

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數，其他環境危險因數如抽煙飲酒習慣、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，除了異物代謝基因之外，DNA 修補基因是最近引起廣泛討論的重要基因。

在之前的研究中指出，這些 DNA 修補基因: hMLH1 和 LIG1 的多形性和許多癌症危險性的增加有關，如肺癌 (Lung cancer)、肺腺癌 (Lung adenocarcinoma)、大腸直腸癌

(Colorectal cancer, CRC)、遺傳性非息肉性大腸直腸癌 (Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer, HNPCC) 及胃癌 (gastric carcinoma) 等。但仍沒有研究探討其與鼻咽癌的關係。因此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 hMLH1 和 LIG1 之基因多形性進行分析，探討其與鼻咽癌之相關。本計劃探討 DNA 修復基因 hMLH1、LIG1 基因之多形性與鼻咽癌之關係。估計其相對危險性及其 95%信賴區間外，並對於此兩種 DNA 修復系統基因多形性和 EBV、甲醛、木頭粉塵及亞硝胺等環境致癌物的交互作用在鼻咽癌致癌過程中所扮演的角色也做了分析探討。

四、結果與討論

hMLH1 和 LIG1 基因型之頻率分佈列於表一。hMLH1、LIG1 其 variant type 的頻率分別為 0.55、0.3。本研究結果發現在調整性別、年齡、抽煙、籍貫及教育狀況後，hMLH1 的基因多形性和鼻咽癌發生的危險性有顯著相關。LIG1 的基因多形性和鼻咽癌發生的危險性並無顯著相關。(表一)

我們進一步分別以 EBV 抗體 (anti-EBV antibodies)、甲醛 (formaldehyde)、木頭粉塵的職業暴露及亞硝胺 (nitrosamine) 的飲食攝取做分層分析(此部份資料沒有呈現)，其中 hMLH1 和甲醛、粉塵暴露 0-10 年之間有顯著相關而 LIG1 則無顯著相關。(表二)

我們研究的 hMLH1 的基因多形性是 G to A 的基因多形性。此位置的 SNP 變異與胺基酸改變無關，但可能

會影響到基因表現量的調控程度。hMLH1 可將錯誤配對的鹼基進行修復，避免錯誤配對的延續而導致子代細胞的基因突變。hMLH1 可辨識 DNA 錯誤配對之處，再引導錯誤配對的修復蛋白進行 DNA 修復。本研究台灣人 hMLH1 variant type 頻率為 0.447，與吳慧真等人 2001 年研究台灣人、Da-Jun Deng 等人 2003 年中國人分別為 0.57、0.58 相似。相反的，1999 年 Emi Ito 等人、2002 年 Ki-HyuK Shin 等人所做的研究日本人、韓國人的基因頻率分別為 0.46、0.5。至於 hMLH1 之基因多形性與鼻咽癌之相關，本研究算是第一個流行病學研究，我們發現有顯著相關，OR=1.62(1.07-2.44)。在女性肺腺癌方面，吳慧真等人 2001 年研究結果顯示，hMLH1 之基因多形性和肺腺癌有顯著相關性，GA 或 AA vs. GG 其 OR=3.96 (1.42-9.62)

Ligase 的基因多形性位在 exon6 上，是屬於 A to C 的基因多形性。此位置的 SNP 變異不會造成 Ligase 胺基酸的改變。Ligase 是可將斷裂基因片斷黏合的酵素，於 DNA 複製後期與修復後期扮演著無可取代的角色。Ligase 酵素先受 ATP 活化成酵素-ATP 複合體，再與斷裂片段 5' 的磷酸根結合，此時酵素可催化斷裂段的 5' 與 3' 銜結，恢復原本的磷酸雙酯鍵。Ligase 將斷裂 DNA 片段的黏合，可避免基因體的不穩定。在本研究中，LIG1 variant type 在臺灣人的頻率是 0.3，與另 Hongbing Shen 等人和 Kenneth J Livak 等人研究非西班牙裔白人和美國人之頻率分別為 0.49、0.50 略有差異。在有關肺癌的研究中，Hongbing Shen 等人在 2002 年研究結果顯示，LIG1 之基

因多形性和肺癌沒有顯著相關性，AC vs.CC 其 OR=1.06(0.76-1.49)，AA vs. CC 其 OR=0.93(0.64-1.36)；在本研究中，LIG1 和鼻咽癌亦無顯著相關，OR=1.50(0.84-2.68)。

或許有些會導致鼻咽癌之其他環境或遺傳因子在此類研究中未被探討，因此，期待將來能有更多基因-基因間和基因-環境間相互作用的研究被進行。

五、計劃成果自評

本計劃擬定之初，選定 LIG1、p21、DNMT3B 等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 修補系統中選出 hMLH1、LIG1 基因作為本研究之標的基因。

由於本研究探討的題目是屬於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能保有明確的時序性，此為本研究之特點之一。為確保基因型檢定之穩定性，本研究隨機抽取 51 人之檢體各分二管做信度測定，不論是 Ligase 或 hMLH1 之基因型其一致性均達 100%。此兩種 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。

經由貴會前兩年之補助分別進行世界首次之氧化性傷害修補基因 hOGG1、XRCC1 多形性與鼻咽癌相關及代謝基因多形性與鼻咽癌相關之探討，其結果均已投稿並被接受或刊登

於 SCI 排行前面之 *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 雜誌中。本研究結果 hMLH1 具顯著相關而 LIG1 雖然不具顯著之相關，但誠如去年之研究一樣，在學術價值上仍有其重要意義，此論文正在整理中，以投稿至國際性學術期刊。

六、參考文獻

1. Deng DJ, Zhou J, Zhu BD, Ji JF, Harper JC, Powell SM. Silencing-specific methylation and single nucleotide polymorphism of hMLH1 promoter in gastric carcinomas. *World J Gastroenterol.* 2003 Jan;9(1):26-9.
2. Shin KH, Shin JH, Kim JH, Park JG. Mutational analysis of promoters of mismatch repair genes hMSH2 and hMLH1 in hereditary nonpolyposis colorectal cancer and early onset colorectal cancer patients: identification of three novel germ-line mutations in promoter of the hMSH2 gene. *Cancer Res.* 2002 Jan 1;62(1):38-42..
3. 吳慧真,廖國盟,黃百婉,翁祖輝,楊泮池,陳建仁。菸煙及油煙暴露與 DNA 修補酵素基因多形性對臺灣北部女性肺腺癌之交互作用. *臺灣衛誌*，20 (5): 357-364, 2001
4. Ito E, Yanagisawa Y, Iwahashi Y, Suzuki Y, Nagasaki H, Akiyama Y, Sugano S, Yuasa Y, Maruyama K. A core promoter and a frequent single-nucleotide polymorphism of the mismatch repair gene hMLH1.

Biochem Biophys Res Commun.
1999 Mar 24;256(3):488-94.

5. Shen H, Spitz MR, Qiao Y, Zheng Y, Hong WK, Wei Q. Polymorphism of DNA ligase I and risk of lung cancer--a case-control analysis. *Lung Cancer*. 2002 Jun;36(3):243-7.

6. Livak KJ, Little WA, Stack SL, Patterson TA. Polymorphisms in the human DNA ligase I gene (LIG1) including a complex GT repeat. *Mutat Res*. 1998 Nov;406(1):1-8.

7. Allen Hildesheim and Paul H. Levine, Etiology of Nasopharyngeal Carcinoma: A Review, *Epidemiologic Reviews*, 1993;vol.15;No 2:466-82

8 De-Lin Chen, Teng-Bo Huang, A case-control study of risk factors of nasopharyngeal carcinoma, *Cancer Letters*, 1997; 117:17-22

9. A.L. McDermott, S.N. Dutt & J.C. Watkinson, The aetiology of nasopharyngeal carcinoma, *Clin. Otolaryngol*, 2001; 26:86-92

10. Jianming Zou, Quanfu Sun, Suminori Akiba, Yongling Yuan, Yongru Zha, Zufan Tao, Luxin Wei and Tsutomu Sugahara, A case-control study of Nasopharyngeal Carcinoma in the High Background Areas of Yangjiang, China, *J. Radiat. Res.*, 2000;41:Suppl.,53-6

11. Diana C. Farrow, Thomas L. Vaughan, Marianne Berwick, Charles F. Lynch, G. Marie Swanson and Joseph L. Lyon, Diet And Nasopharyngeal Cancer in A Low-Risk Population, *Int. J. Cancer*,

1998; 78:675-67

12. En-Yu Cho, Allan Hildesheim, Chien-Jen Chen, Mow-Ming Hsu, I-How Chen, Beth F. Mittl, Paul H. Levine, Mei-Ying Liu, Jen-Yang Chen, Louise A. Brinton, Yu-Juen Cheng, Czau-Siung Yang, Nasopharyngeal Carcinoma and Genetic Polymorphisms of DNA Repair Enzymes XRCC1 and hOGG1, *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, October 2003; Vol:12;1100-1104

13. Mary H. Ward, Wen-Harn Pan, Yu-Juen Cheng, Feng-Hui Li, Louise A. Brinton, Chien-Jen Chen, Mow-Ming Hsu, I-How Chen, Paul H. Levine, Czau-Siung Yang and Allen Hildesheim, Dietary Exposure to Nitrite and Nitrosamines and Risk of Nasopharyngeal Carcinoma in Taiwan, *Int. J. Cancer*, 2000; 86:603-609

14. Yu-Juen Cheng, Allan Hildesheim, Mow-Ming Hsu, I-How Chen, Louise A. Brinton, Paul H. Levine, Chien-Jen Chen & Czau-Siung Yang, Cigarette smoking, alcohol consumption and risk of nasopharyngeal carcinoma in Taiean, *Cancer Causes and Control*, 1999; 10:201-207

15. Allan Hildesheim, Mustafa Dosemeci, Chang-Chuan Chan, Chien-Jen Chen, Yu-Juen Cheng, Mow-Ming Hsu, I-How Chen, Beth F. Mittl, Brenda Sun, Paul H. Levine, Jen-Yang Chen, Louise A. Brinton, and Czau-Siung Yang, Occupational Exposure to Wood, Formaldehyde, and Solvents and Risk of Nasopharyngeal Carcinoma, *Cancer Epidemiology* ,

Biomarkers & Prevention,
2001;Vol.10:1145-1153

16. Hongbing S. et al. Polymorphism of DNA ligase I and risk of lung cancer—a case-control analysis Lung cancer, 2002 Jun; 36(3): 243-7

17 Jianming Z. et al. A case-control study of nasopharyngeal carcinoma in the high background radiation area of Yangjiang China. J. Radiat. RES., 2002 ;41: 53-62

18. David S. et al. Emerging molecular markers of cancer. Nature reviews, cancer, 2002; volume 2:210-219

19. HE Zhiwei. et al. Profiling gene expression patterns of nasopharyngeal carcinoma and normal nasopharynx tissues with cDNA microarray. Chinese Science Bulletin, 2002 May; Vol. 45 : No. 9:830-834

20. Guillermo P. et al. Association of Epstein-Barr virus and nasopharyngeal carcinoma in Caucasian patients. Ann Otol Rhinol Laryngal , 2002 ; 111 : 210-216

21. Yu-Juen C. et al. No association between genetic polymorphisms of CYP1A1, GSTM1, GSTT1, GSTP1, NAT2, and nasopharyngeal carcinoma in Taiwan. Cancer epidemiology, 2003 February; Vol. 12 :179-180.

22. Wynnle Wal-man Lam et al. Incidence of carotid stenosis in nasopharyngeal carcinoma patients after radiotherapy. American cancer society, 2001 Nov; Vol. 92:2357-2363

23. Sara S. Strom et al. Reduced expression of hMSH2 and hMLH1 and risk of prostate cancer: a case-control study. The Prostate ,2001; 47:269-275

24. Kenneth J. Livak et al. Polymorphisms in the human DNA ligase I gene (LIG1) including a complex GT repeat. Mutation Research Genomics , 1998; 406:1-8

表一 hMLH1 基因型與鼻咽癌之相關

基因型	對照組(%)		病例組(%)		OR #(95%CI)	OR #(95%CI)
hMLH1						
W/W	65	(23.1)	51	(15.3)	1.0	1.0
W/V	121	(43.1)	170	(50.9)	1.71(1.10~2.67)	1.62(1.07~2.44)*
V/V	95	(33.8)	113	(33.8)	1.49(0.93~2.37)	
Ligase						
W/W	139	(49.6)	163	(48.7)	1.00	1.00
W/V	119	(42.5)	136	(40.6)	1.04	1.50(0.84-2.68)
					(0.74-1.47)	
V/V	22	(7.86)	36	(10.8)	1.53	
					(0.84-2.79)	

#：調整性別、年齡、抽菸、種族及教育程度

表二 hMLH1 基因型與鼻咽癌相關之甲醛暴露及粉塵暴露分層分析

甲醛

hMLH1	0-10 年			>10 年		
	對照	病例	OR #(95% C.I.)	對照	病例	OR #(95% C.I.)
W/W	60	44	1.00	5	7	1.00
W/V + V/V	205	252	1.60(1.03~2.48)*	10	31	2.52(0.54~11.8)

粉塵

hMLH1	0-10 年			>10 年		
	對照	病例	OR #(95% C.I.)	對照	病例	OR #(95% C.I.)
W/W	62	47	1.00	3	4	1.00
W/V + V/V	209	258	1.57(1.02~2.42)*	6	25	2.86(0.18~44.5)

#：調整年齡、性別、教育程度、籍貫、抽菸