

· 讲座 ·

多环芳烃与乳腺癌的相关性

糕英杰 余之刚

【摘要】 随着交通工具及现代工业的发展,多环芳烃(PAHs)在空气中的含量逐步增加。乳腺癌作为一种女性常见的恶性肿瘤,发病率逐年上升。部分病因学研究表明,PAHs 等环境污染物与乳腺癌存在一定的相关性。PAHs 进入机体后,不仅能被代谢解毒,而且也可经代谢而被活化,形成致癌物质。笔者主要从 PAHs 的体内代谢、关键酶和代谢产物方面进行文献整理,并对当前 PAHs 与乳腺癌相关性的研究进行总结,进一步探讨 PAHs 在乳腺癌发病中的作用,以期对乳腺癌的预防和治疗提供新途径。

【关键词】 多环化合物; 代谢; 乳腺肿瘤

【中图分类号】 R737.9

【文献标志码】 A

近年来,随着汽车、轮船、飞机等交通工具使用量增大,以及现代工业的发展,使得煤炭、石油等燃料的燃烧增多,致使空气中有有机污染物增多。多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)为最常见的由燃料燃烧形成的有机污染物之一,其在空气中的含量也日渐增多。乳腺癌作为一种女性常见的恶性肿瘤,自 20 世纪 70 年代末在全球范围内呈逐渐上升趋势^[1]。中国虽然不是乳腺癌的高发地区,但近年来的发病率也呈逐年上升趋势,且居于城市女性恶性肿瘤发病率的首位^[2]。部分病因学研究表明,PAHs 等环境污染物与乳腺癌存在一定的相关性^[3]。为了帮助临床医师更好地了解 PAHs,笔者对 PAHs 的体内代谢及其与乳腺癌的相关性研究进行总结。

一、PAHs 的定义及来源

PAHs 是指由 2 个或 2 个以上苯环以线状、角状或簇状排列的中性或非极性碳氢化合物^[4],包括萘、蒽、菲、芘等 150 余种化合物,分为芳香稠环型、芳香非稠环型 2 种。芳香稠环型是指分子中相邻的苯环至少有 2 个共用碳原子的碳氢化合物,如萘、蒽、菲、芘等;芳香非稠环型是指分子中相邻的苯环之间只有 1 个碳原子相连的化合物,如联苯、三联苯等。

PAHs 的来源可分为自然来源和人为来源。自然来源主要是指火山爆发、森林草原的天然燃烧、生物合成等,其中生物合成是自然来源的主要部分;而人为来源主要是指人们日常生活中各种物质的不完全燃烧,其也是 PAHs 的主要来源。在 PAHs 中常见的致癌多环芳烃(carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons, c-PAHs)主要有以下几种:苯并蒽、屈、苯并荧蒽、苯并芘、二苯并蒽、苯并花和茚并芘^[5]。

二、PAHs 的体内代谢及芳香烃受体

PAHs 的体内代谢及毒性主要与细胞色素 P450(cytochrome P450, CYP450)、环氧化物水解酶、谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferase, GST)以及最后转化形成的 PAH-DNA 加合物有关^[4]。PAHs 进入机体后,不仅能被代谢解

毒,而且也可经代谢被活化,具有致癌作用。PAHs 的体内代谢主要在细胞内质网上,并在 CYP450-混合功能氧化酶(mixed function oxygenase, MFO)的参与下进行。首先 MFO 催化进入体内的 PAHs,使其形成环氧化物,此后 PAHs 环氧化物需要经过环氧化物水解酶的催化,才能形成 PAHs-二氧二醇衍生物,新生成的 PAHs-二氧二醇衍生物形成具有亲电子性的正碳离子,它可与生物体内分子鸟嘌呤 N-2 共价结合^[6]。最终形成 PAHs-DNA 加合物,使 DNA 的碱基对发生改变,进而引起密码子的改变,引起突变,最终导致癌变^[3]。

PAHs 部分在肝内被代谢,同样在肝外也可代谢清除。CYP450 在乳腺腺体上皮细胞和基质细胞中均表达,其中 CYP1 主要参与 PAHs 在体内的代谢。CYP1 中 CYP1A1 主要在乳腺上皮细胞中表达,而 CYP1B1 主要在乳腺基质细胞中表达。CYP450 还原酶(cytochrome P450 reductase, Cpr)是参与 CYP450 激活的关键酶。Lin 等^[7]通过使 Cpr-lox 小鼠与 MMTV-Cre 小鼠(一种典型的 Cre 小鼠)杂交,成功建立了一种特异性乳腺上皮细胞 Cpr 基因不表达的小鼠模型(MEpi-Cpr-null mouse model)。他们分别向 MEpi-Cpr-null 小鼠和 WT 小鼠体内一次性注射二甲苯蒽[7,12-dimethylbenz(a)anthracene, DMBA],以便观察乳腺腺体中 DMBA 的浓度,结果发现,MEpi-Cpr-null 小鼠乳腺腺体内 DMBA 浓度明显高于 WT 小鼠,然而,在肝和血液中 DMBA 的浓度没有明显的差别。该实验也证实了降低乳腺上皮细胞中 CYP450 的活性将会明显增加乳腺中 DMBA 和 DMBA-DNA 加合物的浓度,说明 CYP450 对乳腺上皮及基质细胞中 PAHs 的代谢清除均发挥重要作用。

芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR),又称二噁英受体,是一种配体激活转录因子,也是一种细胞信号通路的调节因子,可参与诱导多种酶的表达,调解体内代谢过程。AhR 既可介导体内一些重要生物学过程,也可使 PAHs 发挥毒性作用。Trombino 等^[8]发现:相比于正常乳腺组织,在 DMBA 诱发的肿瘤中 AhR 高水平表达,并且,在乳腺癌组织中, AhR 诱导 CYP1B1 mRNA 持续高表达。这也解释了在乳腺癌模型中, c-PAHs 能定向针对乳腺组织发挥作用。大量研究表明, AhR 可能参与 PAHs 诱导的乳腺癌发生过程。PAHs 在基质细胞中的代谢、活化与肿瘤的发生密切相关^[9]。

在一项体外细胞试验中, Henke 等^[9]发现 flavipin(一种新的 AhR 激动剂)可以抑制乳腺癌细胞的运动能力。

三、影响 PAHs 致癌活性的相关酶

1. CYP450

CYP450 是一类广泛存在于各种生物体内的蛋白超家族,因其还原形态与 CO 结合后在波长 450 nm 处有最大吸收值而命名^[10]。微粒体 CYP450 酶不仅与致癌物质的代谢、清除有关,而且与致癌物质的代谢、激活同样相关。目前已知的人体内 CYP450 家族中主要参与体内异源物质代谢的有以下几种:(1)CYP1 参与异源物质的代谢;(2)CYP2 参与异源物质及花生四烯酸的代谢;(3)CYP3 参与异源物质及类固醇的代谢。CYP450 中 CYP1A1 的代谢活性是 PAHs 致癌的重要机制:PAHs 进入人体后,主要经过 CYP450 中 CYP1A1 代谢、活化,生成具有强致癌活性的亲电子环氧化物。因此, CYP1A1 同工酶的活性成为决定 PAHs 致癌性的关键^[11]。CYP1A1 的代谢底物主要是 PAHs 为代表的环境致癌物^[12]。其中 PAHs 是 CYP1A1 和 CYP1A2 的主要典型诱导剂。

2. GST

GST 是一种与肝脏解毒功能有关的酶。该酶主要存在于肝脏内,参与 PAHs 等致癌物质的解毒过程,其主要作用为催化亲电子环氧化物与谷胱甘肽结合,生成谷胱甘肽结合物阻止 PAHs 环氧化物与 DNA 结合,在 PAHs 代谢中起灭活、解毒作用。当 GST 水平或活性降低时,便有更多的 PAHs 环氧化物与 DNA 结合,形成 PAHs-DNA 加合物,引起基因突变,影响转录和翻译,从而导致肿瘤形成。GST 是肝脏中的特异性酶,当肝细胞损害时,酶迅速释放入血,引起血中 GST 活性迅速升高^[13]。

3. 环氧化物水解酶

环氧化物水解酶是一种催化环氧化合物水解成为邻二醇的酶类,它广泛存在于哺乳动物(包括人类)、植物、昆虫和微生物中,具有解毒、促进新陈代谢、合成信号分子的作用^[14]。PAHs 进入体内后形成的 PAHs 环氧化物,只有经过环氧化物水解酶催化,然后经水合反应形成 PAHs 二氧二醇衍生物,PAHs 二氧二醇衍生物不稳定,将继续与 DNA 反应,最终形成 PAHs-DNA 加合物,发挥致癌作用。

四、PAHs 暴露水平的评估与代谢产物的检测

研究者早期主要通过分析空气、水等介质中 PAHs 的量来估计人对 PAHs 的暴露程度,称为外暴露。由于尿中与 PAHs 有关的产物较多,主要有 PAHs 代谢产物、PAHs-DNA 加合物及 PAH-蛋白质加合物等,且可以有效反映机体近期 PAHs 多途径的暴露情况^[15],并可以评价 PAHs 暴露水平,加上尿液容易获得,无破坏性,目前国内外主要以尿中 PAHs 的代谢产物(以其羟基或二羟基的硫酸、葡萄糖醛结合物为主,因其水溶性好)为研究对象来研究机体对 PAHs 的暴露水平。Jongeneelen 等^[16]最早以尿中 1-羟基芘作为测量生物标志物,对 PAHs 暴露进行测量,通过结合流行病学研究,指出对于长期暴露于 PAHs 中的人群,测量其尿中 1-羟基芘的平均水平,可以推测肿瘤发生的危险性。一项纳入 5 560 例美国成年人的研究发现,PAHs 在癌症患者中较高,特别是 2-羟基萘(1 种 PAHs 代谢产物)与癌症相关($OR = 1.46$,

$95\% CI: 1.12 \sim 1.90, P = 0.008$)^[17]。近年来,许多学者也以尿中 PAHs 代谢物为生物标志物来研究 PAHs 与各种癌症的关系,发现随着 PAHs 暴露水平增高,癌症风险也呈增高趋势^[18-19]。

五、PAHs 与乳腺癌

PAHs 中 4~7 环的稠环化合物大多有强致癌性,目前研究较多的是苯并芘(benzo[a]pyrene, BaP)、DMBA 及其在体内代谢与肿瘤发生的相关性。

1. BaP

其是环境 PAHs 中第一个被发现的致癌物质,致癌性很强^[20-21]。BaP 由 5 个苯环构成,分子式为 $C_{20}H_{12}$ 。BaP 本身无致癌活性,必须在体内经 MFO 活化后,形成代谢终产物,才发挥致癌作用。BaP 进入体内后,首先被 CYP450 氧化成 7,8-环氧苯并(a)芘,而后在环氧化物水解酶的作用下,生成 7,8-二羟基苯并(a)芘;最后,7,8-二羟基苯并(a)芘经 CYP1A1 的氧化作用生成 7,8-二羟基-9,10-环氧苯并(a)芘[benzo(a)pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide, BPDE]、反式 7,8-二羟基-9,10-环氧苯并(a)芘[anti-benzo(a)pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide, anti-BPDE]等。代谢终产物 BPDE 具有致癌性,anti-BPDE 致癌性更强,且易与 DNA 结合,从而形成 anti-BPDE-DNA 加合物。BaP 主要通过生成 anti-BPDE-DNA 加合物发挥致癌作用^[22-23]。研究表明,BaP 过度暴露可以增加肺癌发病风险,且 BaP 也被运用于肺癌的小鼠模型^[24-26]。同时,BaP 也可增加大肠癌、皮肤癌等的发生风险^[27-29]。

2. DMBA

DMBA 在体内的具体代谢机制与 BaP 相似,也是需要经过 MFO、CYP450、环氧化物水解酶等一系列酶促反应,最终形成具有致癌性的代谢终产物。DMBA 诱导乳腺癌大鼠的方法已经比较成熟,并已应用于许多以之为模型的动物实验^[30-31]。Kabel 和 Shaban 等^[32-33]分别以 DMBA 诱导的小鼠和大鼠乳腺癌模型为基础,进行了雷洛昔芬单用与加用氟西汀的治疗效果对比、紫杉醇单用与加用芝麻菜提取物的治疗效果及不良反应对比,发现与氟西汀联用可增加雷洛昔芬的治疗效果,芝麻菜提取物可降低紫杉醇不良反应。Wang 等^[34]以 SD 大鼠为研究对象,通过使用 DMBA 一次性胃管灌注的方法,制造大鼠乳腺癌前病变动物模型,并依此观察到乳腺导管上皮细胞发生以下顺便的变化:正常上皮细胞→一般增生→非典型增生→DCIS→浸润性导管癌的病理变化。Parada 等^[35]通过研究乳腺癌女性与正常人群 PAHs 摄入情况后发现,PAHs 导致的 I 期代谢酶基因的单核苷酸多态性可能与乳腺癌发生、发展相关。以上研究表明,PAHs 等污染物的增多与乳腺癌发生率的上升存在一定的关系。

六、结语

空气污染,特别是 PAHs($P = 0.004$)和 PM_{2.5}($P = 0.023$)对城市女性乳腺癌发病率的增加产生影响^[36]。乳汁是婴幼儿的营养物质和抗体的重要来源。最近一项研究发现,在冬季和工业化较高的城市中,乳汁中 PAHs 含量较高,且其平均水平显著低于中国、土耳其研究者收集的结果^[37]。考虑 PAHs 为脂溶性且储存于脂肪组织中,Niehoff 等^[38]对 1 996 名女性的 PAHs 摄入及体质指数等指标进行了对比,

发现在超重和肥胖女性中,PAHs-DNA 加合物与乳腺癌发病率之间的相关性更高。同时,PAHs 的职业暴露也是乳腺癌的重要危险因素,因此,新的表观遗传学生物标志物对于评价乳腺癌发生的危险性也是极其重要的^[39]。

目前环境污染引起的 PAHs 增多与乳腺癌发生的关系尚未完全明确。大量动物实验、组织病理和基因水平及人群调查研究发现,PAHs 在体内蓄积与乳腺癌的发生、发展确实存在一定的相关性。对 PAHs 的研究可能为乳腺癌的预防及治疗提供新的途径和治疗靶点,但其具体发病机制尚需进一步临床资料收集及实验来确定。

参 考 文 献

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2017 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017,67(1):7-30.
- [2] Chen W, Zheng R, Zhang S, et al. Cancer incidence and mortality in China in 2013: an analysis based on urbanization level [J]. *Chin J Cancer Res*, 2017,29(1):1-10.
- [3] Manjanatha MG, Chen JB, Shaddock JG, et al. Molecular analysis of lacI mutations in Rat2 cells exposed to 7, 12-dimethylbenz [a] anthracene: evidence for DNA sequence and DNA strand biases for mutation [J]. *Mutat Res*, 1996,372(1):53-64.
- [4] Tsai WT, Mi HH, Chang YM, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in bio-crudes from induction-heating pyrolysis of biomass wastes [J]. *Bioresour Technol*, 2007,98(5):1133-1137.
- [5] Farmer PB, Singh R, Kaur B, et al. Molecular epidemiology studies of carcinogenic environmental pollutants. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental pollution on exogenous and oxidative DNA damage [J]. *Mutat Res*, 2003,544(2/3):397-402.
- [6] Nilsson R, Antić R, Berni A, et al. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in women from Poland, Serbia and Italy—relation between PAH metabolite excretion, DNA damage, diet and genotype (the EU DIEPHY project) [J]. *Biomarkers*, 2013,18(2):165-173.
- [7] Lin Y, Yao Y, Liu S, et al. Role of mammary epithelial and stromal P450 enzymes in the clearance and metabolic activation of 7, 12-dimethylbenz(a)anthracene in mice [J]. *Toxicol Lett*, 2012,212(2):97-105.
- [8] Trombino AF, Near RI, Matulka RA, et al. Expression of the aryl hydrocarbon receptor/transcription factor (AhR) and AhR-regulated CYP1 gene transcripts in a rat model of mammary tumorigenesis [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2000,63(2):117-131.
- [9] Henke N, Ferreirós N, Geisslinger G, et al. Loss of HIF-1 α in macrophages attenuates AhR/ARNT-mediated tumorigenesis in a PAH-driven tumor model [J]. *Oncotarget*, 2016,7(18):25 915-25 929.
- [10] 黄焱, 刘丹, 饶绍琴, 等. CYP1A1 和 CYP1A2 基因多态性与汉族女性乳腺癌的关系 [J/CD]. *中华乳腺病杂志(电子版)*, 2013,7(5):345-350.
- [11] Farrell G. Effects of disease on expression and regulation of CYPs [J]. *Mol Aspects Med*, 1999,20(1/2):55-70, 137.
- [12] Gallagher EP, Wienkers LC, Stapleton PL, et al. Role of human microsomal and human complementary DNA-expressed cytochromes P4501A2 and P4503A4 in the bioactivation of aflatoxin B1 [J]. *Cancer Res*, 1994,54(1):101-108.
- [13] Mu J, Jin F, Wang J, et al. The effects of CYP1A inhibition on alkyl-phenanthrene metabolism and embryotoxicity in marine medaka (*Oryzias melastigma*) [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2016,23(11):11 289-11 297.
- [14] Amrein BA, Bauer P, Duarte F, et al. Expanding the catalytic triad in epoxide hydrolases and related enzymes [J]. *ACS Catal*, 2015,5(10):5702-5713.
- [15] Strickland P, Kang D. Urinary 1-hydroxypyrene and other PAH metabolites as biomarkers of exposure to environmental PAH in air particulate matter [J]. *Toxicol Lett*, 1999,108(2/3):191-199.
- [16] Jongeneelen FJ. Benchmark guideline for urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. *Ann Occup Hyg*, 2001,45(1):3-13.
- [17] Shiue I. Are urinary polyaromatic hydrocarbons associated with adult hypertension, heart attack, and cancer? USA NHANES, 2011–2012 [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2015,22(21):16 962-16 968.
- [18] Wang L, Zhao Y, Liu X, et al. Cancer risk of petrochemical workers exposed to airborne PAHs in industrial Lanzhou City, China [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2015,22(24):19 793-19 803.
- [19] Khariwala SS, Carmella SG, Stepanov I, et al. Self-reported tobacco use does not correlate with carcinogen exposure in smokers with head and neck cancer [J]. *Laryngoscope*, 2015,125(8):1844-1848.
- [20] Huc L, Rissel M, Solhaug A, et al. Multiple apoptotic pathways induced by p53-dependent acidification in benzo [a] pyrene-exposed hepatic F258 cells [J]. *J Cell Physiol*, 2006,208(3):527-537.
- [21] Kim SJ, Ko CB, Park C, et al. p38 MAP kinase regulates benzo (a) pyrene-induced apoptosis through the regulation of p53 activation [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2005,444(2):121-129.
- [22] Topinka J, Milcova A, Libalova H, et al. Biomarkers of exposure to tobacco smoke and environmental pollutants in mothers and their transplacental transfer to the foetus. Part I: bulky DNA adducts [J]. *Mutat Res*, 2009,669(1/2):13-19.
- [23] Moolenaar-Wirsiy PJ, Wirsy YG, Urso P. Presence of CD4 (+) SP and DP (gammadelta, alphabeta) T-cells expressing BPDE-DNA adducts in progeny of mouse dams exposed to benzo (alpha) pyrene at mid-gestation [J]. *J Immunotoxicol*, 2007,4(4):267-277.
- [24] Okona-Mensah KB, Battershill J, Boobis A, et al. An approach to investigating the importance of high potency polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the induction of lung cancer by air pollution [J]. *Food Chem Toxicol*, 2005,43(7):1103-1116.
- [25] Moorthy B, Chu C, Carlin DJ. Polycyclic aromatic hydrocarbons: from metabolism to lung cancer [J]. *Toxicol Sci*, 2015,145(1):5-15.
- [26] Kasala ER, Bodduluru LN, Barua CC, et al. Chemopreventive effect of chrysin, a dietary flavone against benzo (a) pyrene induced lung carcinogenesis in Swiss albino mice [J]. *Pharmacol Rep*, 2016,68(2):310-318.
- [27] Das S, Das J, Samadder A, et al. Efficacy of PLGA-loaded apigenin nanoparticles in Benzo [a] pyrene and ultraviolet-B induced skin cancer of mice: mitochondria mediated apoptotic signalling cascades [J]. *Food Chem Toxicol*, 2013,62:670-680.
- [28] Harris KL, Pulliam SR, Okoro E, et al. Western diet enhances benzo (a) pyrene-induced colon tumorigenesis in a Polyposis In Rat Coli (PIRC) rat model of colon cancer [J]. *Oncotarget*, 2016,7(20):28 947-28 960.
- [29] Kabátková M, Zapletal O, Tylichová Z, et al. Inhibition of β -catenin signalling promotes DNA damage elicited by benzo [a] pyrene in a model of human colon cancer cells via CYP1 deregulation [J]. *Mutagenesis*, 2015,30(4):565-576.
- [30] Gozal D, Ham SA, Mokhesi B. Sleep apnea and cancer: analysis of a nationwide population sample [J]. *Sleep*, 2016,39(8):1493-1500.

- [31] Liu X, He Y, Li F, et al. Caspase-3 promotes genetic instability and carcinogenesis [J]. Mol Cell, 2015,58(2):284-296.
- [32] Kabel AM, Elkhoely AA. Ameliorative potential of fluoxetine/raloxifene combination on experimentally induced breast cancer[J]. Tissue Cell, 2016,48(2):89-95.
- [33] Shaban N, Abdel-Rahman S, Haggag A, et al. Combination between taxol-encapsulated liposomes and eruca sativa seed extract suppresses mammary tumors in female rats induced by 7,12 dimethylbenz (α) anthracene[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2016,17(1):117-123.
- [34] Wang F, Ma Z, Wang F, et al. Establishment of novel rat models for premalignant breast disease[J]. Chin Med J (Engl), 2014,127(11):2147-2152.
- [35] Parada H Jr, Steck SE, Cleveland RJ, et al. Genetic polymorphisms of phase I metabolizing enzyme genes, their interaction with lifetime grilled and smoked meat intake, and breast cancer incidence[J]. Ann Epidemiol, 2017,27(3):208-214.
- [36] Parikh PV, Wei Y. PAHs and PM2.5 emissions and female breast cancer incidence in metro Atlanta and rural Georgia[J]. Int J Environ Health Res, 2016,26(4):458-466.
- [37] Pulkrabova J, Stupak M, Svarcova A, et al. Relationship between atmospheric pollution in the residential area and concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in human breast milk[J]. Sci Total Environ, 2016,562:640-647.
- [38] Niehoff N, White AJ, McCullough LE, et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons and postmenopausal breast cancer: An evaluation of effect measure modification by body mass index and weight change [J]. Environ Res, 2017,152:17-25.
- [39] Fenga C. Occupational exposure and risk of breast cancer[J]. Biomed Rep, 2016,4(3):282-292.

(收稿日期:2016-08-19)

(本文编辑:罗承丽)

糕英杰,余之刚. 多环芳烃与乳腺癌的相关性[J/CD]. 中华乳腺病杂志(电子版),2018,12(2):116-119.

