

聚氯乙烯工人 GST T1，GST M1 及 CYP2E1 基因型與其肝功能之相關研究

黃忠英¹ 鄭尊仁¹ 黃國良¹

王榮德¹ 謝玲玲²

氯乙烯是一種具有肝毒性的致癌物，可以引起肝功能異常、肝纖維化、肝硬化及肝血管肉瘤。氯乙烯可經由細胞色素P450 2E1(CYP2E1)酵素的活化而形成中間代謝物—chloroethylene oxide及chloroacetaldehyde，造成細胞的損傷或進一步由麩胺基硫轉移酶(GSTs)代謝排出體外。本研究收集251名聚氯乙烯員工來探討上述代謝酵素的基因多形性是否會影響氯乙烯暴露所造成的肝功能異常。氯乙烯的暴露分組是根據員工的工作項目及空氣中的氯乙烯濃度(TWA大於及小於1 ppm)分成高、低兩組。肝功能是以天門冬氨酸轉氨酶(AST)及氨基丙酸轉氨酶(ALT)的活性來作指標。GST T1、GST M1和CYP2E1基因的多形性是利用聚合酶鏈鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)及限制片段長度多形性分析(restriction fragment length polymorphism, RFLP)之方法分析。另外收集個人基本資料、工作史、吸菸及喝酒的習慣與身體質量指數等。此外，B型肝炎病毒表面抗原與C型肝炎病毒抗體也加以分析。若以氯乙烯暴露分組作分層分析，發現在低氯乙烯暴露時，GST T1非無效基因型較容易有ALT指標異常(OR=3.8, 95% CI=1.2-14.5, P<0.05)，CYP2E1基因型與ALT指標異常無明顯相關；但在高氯乙烯暴露時，GST T1非無效基因型之危險性反而較不明顯(OR=0.9, 95% CI=0.2-3.8, P>0.1)，CYP2E1 c2c2基因型則與ALT指標異常有關(OR=4.8, 95% CI=0.6-34.8, P=0.08)。納入GST T1、CYP2E1基因型與氯乙烯暴露交互作用項之多變項對數迴歸分析也有類似的結果發現。因此GST T1與CYP2E1酵素在氯乙烯代謝解毒的途徑上可能扮演重要的角色，並且在不同濃度的氯乙烯暴露時，對肝功能異常可能有不同的效應。(中華衛誌 1997; 16(6): 499-512)。

關鍵詞：氯乙烯，麩胺基硫轉移酶，細胞色素P450 2E1，肝功能。

¹ 國立台灣大學公共衛生學院職業醫學與工業衛生研究所

² 長庚醫學暨工程學院公共衛生學科

聯絡人：謝玲玲

聯絡地址：桃園縣龜山鄉文化一路259號

長庚醫學暨工程學院公共衛生學科

聯絡電話：886-3-328-8038

傳真：886-3-328-3031

投稿日期：87年5月9日

接受日期：86年10月7日

前言

氯乙烯(vinyl chloride)及其聚合物聚氯乙烯(polyvinyl chloride)自1930年代起即廣泛應用於合成塑膠的製造，在日常生活用品中扮演重要的角色。氯乙烯是一種具肝毒性的化學物質，可能引起以肝臟為主的病變，包括肝脾腫大[1]、肝纖維化、肝硬化[2]、肝功能異常[1,3-5]以及肝血管肉瘤(angiosarcoma of liver)[6]。

氯乙烯的代謝可能因不同的暴露濃度而有不同的路徑。在高濃度時(大於250 ppm, 針對大鼠), 氯乙烯主要經由肝臟細胞色素P450 2E1酵素(cytochrome P450 2E1, 簡稱CYP2E1)的活化, 形成chloroethylene oxide (CEO)及chloroacetaldehyde(CAA), 此化合物可與DNA、RNA及蛋白質等分子形成鍵結物(adducts)。然而上述的中間產物亦可能繼續經由麩胺基硫轉移酶(glutathione S-transferases, 簡稱GSTs)進行第二期(phase II)的代謝以排出體外。但在低濃度時(小於100 ppm, 針對大鼠), 氯乙烯可能主要經由酒精脫氫酶(alcohol dehydrogenase)代謝形成chloroethanol、CAA及chloroacetic acid, 再繼續經由麩胺基硫轉移酶(glutathione S-transferases, 簡稱GSTs)代謝而排出體外[7,8]。這些酵素的基因可能具有多形性, 在不同個體上表現的活性可能不同, 甚至完全缺乏這種酵素的活性。因此具有不同酵素活性的族群或個人對於毒性物質暴露引起病變的感受性(susceptibility)可能不同[9]。

有關CYP2E1多形性的研究, 在1991年Hayashi等即發現在CYP2E1基因5'-端上游的部分(5'-flanking region), 具有Pst I及Rsa I兩種限制酶作用點的多形性, 這兩種限制酶作用點的多形性, 具有完全連鎖不平衡(complete linkage disequilibrium)的現象。根據CYP2E1的PCR產物是否能被Pst I及Rsa I所辨識, 而將其基因型分為同合子(homozygote)c1c1或c2c2及異合子(heterozygote)c1c2三種。在體外試驗, c2c2基因型的轉譯(transcription)活性比c1c1基因型高10倍[10]。Watanabe等也發現在21個無飲酒習慣者及65個有飲酒習慣者, 具c1c2基因型的人CYP2E1 mRNA表現的活性分別是c1c1基因型的1.7倍及2.0倍[11], 因此帶有c2對偶基因(allele)的酵素活性可能比帶有c1對偶基因者高。但在相關之癌症及酒精性肝病的流行病學研究上, 結論並不是很一致[12-15]。

GST M1主要存在於肝臟中, 然而並非所有人身上皆有這種酵素活性的表現[16], 有些人完全沒有GST M1的酵素活性。後來發現在沒有GST M1酵素活性的人, 其雙股DNA

上有一段GST M1基因的缺失, 即所謂的無效基因型(null genotype)[17]。GST M1基因的缺失, 可以利用PCR來偵測。若基因有缺失, 則特定序列的引發子(primer)無法與DNA模板產生重鍊(annealing), 因此無法產生特定的DNA片段, 反之若有DNA片段的產生, 則至少有一對偶基因是沒有缺失的[18]。GST M1的多形性與肺癌的關係首先由Siedegard等在1986年發表。GST M1無效表型(null phenotype)的比例, 在肺癌病例組中遠超過對照組[19]。隨後的許多研究, 如石棉塵肺症[20]、膀胱癌[21]及胃癌[22]均發現可能與GST M1的多形性有關, 缺乏GST M1活性者, 其罹病的危險性均較高。

GST T1也有與GST M1類似的多形性存在, 即GST T1無效基因型缺乏酵素活性, 而GST T1非無效基因型具有酵素活性[23,24]。GST T1與其它種類的GSTs差異性較大, α 、 π 及 μ 三種至少有20%的初級構造是相同的, 但GST T1僅有5至15%的構造与其它GSTs相同。或許正因為如此使得其在代謝上所扮演的角色与其它GSTs有較大的差異[25]。GST T1對生物的效應可能因不同的化學暴露而不同, 如Thier等在1993年以沙門氏菌所作的研究發現, ethylene dibromide, dichloromethane, dibromomethane等化學物質可能因GST T1的催化而活化成有害的烷基化劑[26]。但也有研究發現攜帶GST T1無效基因型之淋巴球暴露於ethylene oxide[27]或diepoxybutane[28], SCE的頻率比較高。上述的一些in vitro研究並不一定能代表人體內複雜的代謝機制, 它與癌症的相關研究迄今仍不多, 因此GST T1在人體中所扮演的角色仍未明。

肝細胞中所含的一些酵素, 可能會因肝細胞受到毒性化學物質的傷害而釋出, 因而可以作為肝傷害的指標。其中最重要的是天門冬氨酸轉胺基酶(aspartate aminotransferase, 簡稱AST)及氨基丙酸轉胺基酶(alanine aminotransferase, 簡稱ALT)。氯乙烯暴露會引起肝功能的異常[1,3-5], 因此本研究以AST及ALT為肝功能異常的指標。

本研究利用聚合酶鏈鎖反應(polymerase chain reaction)及限制片段長度多形性分析

(restriction fragment length polymorphism)等技術來分析三種可能與氯乙烯代謝有關的基因，包括CYP2E1、GST M1與GST T1的基因型，以橫斷式研究設計(cross-sectional study)來探討這些代謝酵素基因型在不同濃度的氯乙烯暴露下，是否有不同的效應。

材料與方法

共有來自台灣地區某五家聚氯乙烯工廠280名員工參與我們的研究。其中女性員工只有13人且工作皆不在高暴露區，故不列入分析。另外因氯乙烯暴露引起肝功能異常可能需要一段誘發期[5]，故將最近六個月內工作職務改變(3人)及新進的員工(10人)排除在外。此外有3名員工因資料收集不全也未列入分析，所以共有251人進入最後的分析。氯乙烯暴露的分組主要是依據其職務名稱，將氯乙烯聚合現場附近的工作職務列為高暴露組，而離現場較遠的工作職務則列入低暴露組(表一)。根據杜氏於民國八十二年所作「台灣地區聚氯乙烯廠工人及環境暴露之採樣分析」所得的結果，高暴露組的氯乙烯8小時時量平均暴露濃度(time-weighted average, TWA)均超過1 ppm，甚至TWA濃度中位數可高達78.3 ppm；低暴露組的氯乙烯8小時時量平均暴露濃度則均小於1 ppm [29]。所有受訪員工均接受詳細的問卷調查，包括基本資料、飲酒及吸菸的習慣、工作史與個人病史等。同時取得員工的周邊血液，進行下列實驗。

靜脈血收集之後冷藏於4℃冰桶，於當日運送至實驗室。血清天門冬氨酸轉胺基酶(aspartate aminotransferase, AST)、氨基丙酸轉胺基酶(alanine aminotransferase, ALT)、B型肝炎病毒表面抗原及C型肝炎病毒抗體等肝炎病毒標記之檢驗分析，係委託台大醫院檢驗醫學部進行。萃取DNA所需的白血球則在檢體收集當天由加有抗凝血劑(heparin)的全血(10 ml)分離出來，保存於-70℃之冰箱內。分離出來的白血球，則於日後進行DNA萃取。

GST T1及GST M1基因型的偵測分別根據Pemble[23]及Comstock[18]所發表的研究加

表一 聚氯乙烯工人各種職務之暴露分組

	氯乙烯暴露	
	低暴露 (N=111)	高暴露 (N=140)
職務名稱	廠務	卸料
	乾燥	加料
	原料檢驗	水柱清槽
	廢水處理	手工清槽
	成品檢驗	槽車卸料
	工業安全衛生	領班
	保養，維修	回收
	倉儲，發貨	盤控
	成品管理	現場主管
	配料	製程改善
	加溫	脫除
	警衛，文書，司機	

以修飾，在同一0.5 ml微量離心管內進行GST T1及GST M1基因型聚合酶鏈鎖反應(PCR)，其反應溶液包括250 ng DNA，200 ng之GST T1、GST M1及 β -globin基因引發子(primer)，200 μ M之去氧核苷三磷酸(dNTPs)，1 \times PCR反應溶液(50 mM KCl, 10 mM Tris pH 9, 0.1% Triton X-100), 2 mM $MgCl_2$, 1 unit之Taq polymerase(Promega, Madison, WI, USA)，最後再以蒸餾水將體積調成25 μ l。GST T1基因之引發子序列為5'-TTCCTTACTGGTCCT-CACATCTC-3'與5'-CACCGGATCATGGC-CAGCA-3'；GST M1基因之引發子序列為5'-TGCCCTACTTTGATTGATGGG-3'與5'-CTGGATTGTAGCAGATCATGC-3'； β -globin基因之引發子序列為5'-CACAACCTGT-GTTCACTAGC-3'與5'-CAACTTCATC-CACGTTCCACC-3'，在此 β -globin是作為內部對照(internal control)之用，確定PCR反應是否有進行。PCR反應步驟為，變性(denaturation)：94℃，30秒；重鍊(annealing)：59℃，15秒；及延展(elongation)：72℃，30秒，並以自動加熱器重覆上述步驟30次(automated heating-block, MJ Research)。

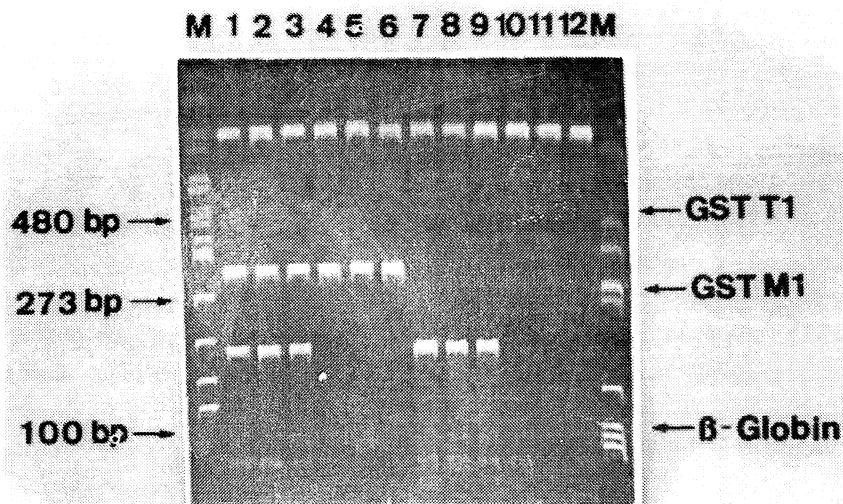
接著以6%聚丙烯酰胺膠(polyacrylamide gel)進行電泳，再以ethidium bromide染色，然後在UV燈下照相。如果是GST T1及GST M1

非無效基因型則分別會產生480 bp及273 bp之基因片段，而無效基因型則無此基因片段之產生；另外所有的檢體在100 bp的位置會有 β -globin基因片段(圖一)。

CYP2E1基因多形性的分析是根據Hayashi等的研究來進行[10]。進行CYP2E1基因之PCR反應溶液為500 ng DNA，160 ng之CYP2E1基因引發子(primer)，75 mM之去氧核苷三磷酸(dNTPs)，1 \times PCR反應溶液(50 mM KCl, 10 mM Tris pH 9, 0.1% Triton X-100)，2 mM $MgCl_2$ ，1 unit之Taq polymerase (Promega, Madison, WI, USA)，最終體積則以蒸餾水調成20 μ l。其中CYP2E1基因之引發子序列為5'-CAGTCGAGTCTACATTGTC-3'與5'-TTCATTCTGTCTTCTAACTG-3'。PCR反應步驟與GST T1及GST M1基因類似，但重鍊的溫度為57 $^{\circ}C$ 。PCR反應後的產物直接以Pst I限制酶消化24小時，以6%聚丙烯酰胺膠進行電泳，再以ethidium bromide染色，然後在UV燈下照相。CYP2E1基因在5'-flanking region有一多形性位置，是Pst I限制酶作用區，c1c1基因型不會被Pst I切割，因此在電泳上只有一條410 bp之基因片段；c2c2基

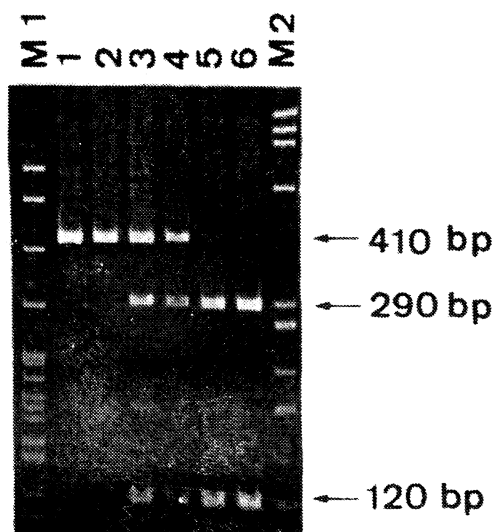
因型則可被切成290及120 bp兩個基因片段；異合子c1c2基因型則被切成410、290及120 bp三個基因片段(圖二)。

最後以SAS(Statistical Analysis System)6.10版[30]及EGRET(Epidemiological Graphics, Estimation and Testing package)[31]統計套裝軟體進行統計分析。聚氯乙烯工人之基本統計資料、生化檢查資料、GST T1、GST M1及CYP2E1基因型在高低暴露族群之分佈以卡方檢定(χ^2 -test)分析。接著以AST及ALT肝功能指標(根據台大醫院檢驗醫學部之肝功能指標常模值，定AST及ALT大於31 IU/L為異常)為應變項進行單變項對數迴歸分析(simple logistic regression)，自變項納入可能之相關因子包括肝炎病毒感染(肝炎病毒感染陽性為B型肝炎病毒表面抗原或C型肝炎病毒抗體為陽性)，身體質量指數(體重(公斤)除以身高(公尺)的平方)、習慣性飲酒(指飲酒的頻率為每星期至少一次)、吸菸、年齡、進廠年資、氯乙烯暴露、GST T1、GST M1及CYP2E1基因型。進而考慮到GST T1、GST M1及CYP2E1基因型在不同濃度之氯乙烯暴露可能有不同之效應，因此依據氯乙烯暴露作分層



圖一 GST M1與GST T1基因型檢定之代表圖

M為DNA marker。檢體1-3為GST M1與GST T1同時屬於無效基因型。檢體4-6為GST M1屬於無效基因型，GST T1屬於非無效基因型。檢體7-9為GST M1屬於非無效基因型，GST T1屬於無效基因型。檢體10-12為GST M1與GST T1同時屬於非無效基因型。



圖二 CYP2E1基因型檢定之代表圖
M1, M2為DNA marker。檢體1, 2為c1c1同型合子。檢體3, 4為c1c2異型合子。檢體5, 6為c2c2同型合子。

分析，計算各分層之勝算比及95%信賴區間，以探討GST T1、GST M1及CYP2E1基因型與AST及ALT肝功能指標異常間之相關性。多變項對數迴歸分析(multiple logistic regression)的建立，除了納入上述之相關因子以調整可能之干擾作用，各種基因型與氯乙烯暴露之間的交互作用項(interaction term，即氯乙烯暴露與GST T1基因型，氯乙烯暴露與GST M1基因型，氯乙烯暴露與CYP2E1基因型)，以及考慮酒精也是CYP2E1之化學受質，故習慣性飲酒與CYP2E1基因型之交互作用項也一併納入模式選擇的步驟，最適模式之選擇則參考逐步及反向迴歸分析來建立。

結 果

本研究共包含251位聚氯乙烯工人，其基本資料列於表二，在氯乙烯高暴露及低暴露組之間，除高暴露組有較多比例的工人具飲酒的習慣外($\chi^2=7.426$, $P<0.01$)，其餘變項包括年齡、進廠年資、身體質量指數及吸菸的比例皆未達統計上的顯著差異($\alpha=0.05$)。B型肝炎病毒表面抗原和C型肝炎病毒抗體陽性的

比例在兩組間的分佈也無統計上的顯著差異($\alpha=0.05$)。至於GST T1、GST M1及CYP2E1基因型在氯乙烯高、低暴露組之間的分佈頻率均未達統計上的顯著差異($\alpha=0.05$)。在這些聚氯乙烯工人中，GST T1無效基因型的比例為47.4%，GST M1無效基因型的比例為60.6%，CYP2E1基因型為c1c1佔55.4%，c1c2佔39.4%，c2c2為5.2%。

若以肝功能檢查異常的情形進行單變項對數迴歸分析(表三)，發現與AST肝功能指標異常的相關因子有肝炎病毒感染($OR=6.6$, 95% $CI=2.7-16.5$, $P<0.01$)及習慣性飲酒($OR=3.8$, 95% $CI=1.4-10.2$, $P<0.01$)。至於與ALT肝功能指標異常的相關因子則有肝炎病毒感染($OR=3.9$, 95% $CI=1.9-8.0$, $P<0.01$)及身體質量指數超過25 kg/m²($OR=3.4$, 95% $CI=1.6-7.0$, $P<0.01$)。其它的因子在單變項對數迴歸分析中皆未達統計顯著性($\alpha=0.05$)。

以氯乙烯暴露為依據進行分層分析，發現GST T1與GST M1基因型與AST(表四)肝功能指標異常之間沒有統計上的相關存在($\alpha=0.05$)。CYP2E1 c2c2基因型在高暴露組似乎有較高比例AST異常的情形，但並未達統計顯著相關($\alpha=0.05$)。在ALT肝功能指標異常變項的分析中(表五)，發現若以GST T1無效基因型及低氯乙烯暴露者為參考組(referent group，即假設 $OR=1$)，在低氯乙烯暴露時，GST T1非無效基因型與ALT肝功能指標異常達統計顯著相關($OR=3.8$, 95% $CI=1.2-14.5$, $P<0.05$)；在高氯乙烯暴露時，GST T1為無效基因型者，ALT肝功能指標異常的比例較高($OR=2.9$, 95% $CI=0.9-11.0$, $P=0.07$)，但GST T1非無效基因型者ALT肝功能指標異常的比例與參考組類似($OR=0.9$, 95% $CI=0.2-3.8$, $P>0.1$)。因此在不同氯乙烯的暴露分組，GST T1非無效基因型與ALT肝功能指標的相關性不同。在CYP2E1基因型中，高氯乙烯暴露時，只有c2c2基因型可能與ALT肝功能指標異常有相關($OR=4.8$, 95% $CI=0.6-34.8$, $P=0.08$)，c1c1或c1c2基因型與ALT肝功能指標異常的勝算比均接近1，沒有統計上的明顯相關($\alpha=0.05$)；在低氯乙烯暴露的情況下，三種基因型之ALT肝功能指標異常的比例差不

表二 聚氯乙烯工人高、低暴露族群之基本統計資料

	氯乙烯暴露		
	低暴露 (N=111) 人數(%)	高暴露 (N=140) 人數(%)	總計 (N=251) 人數(%)
年齡			
<40歲	43(38.7)	70(50)	113(45.0)
≥40歲	68(61.3)	70(50)	138(55.0)
進廠年資			
<15年	46(41.4)	72(51.4)	118(47.0)
≥15年	65(58.6)	68(48.6)	133(53.0)
身體質量指數			
<25 kg/m ²	90(81.1)	103(73.6)	193(76.9)
≥25 kg/m ²	21(18.9)	37(26.4)	58(23.1)
習慣性飲酒 ^a			
否	104(93.7)	115(82.1)	219(87.3)
是	7(6.3) [†]	25(17.9) [†]	32(12.7)
吸菸			
否	73(65.8)	78(55.7)	151(60.2)
是	38(34.2)	62(44.3)	100(39.8)
HBs Ag			
陰性	91(82.0)	110(78.6)	201(80.1)
陽性	20(18.0)	30(21.4)	50(19.9)
Anti-HCV Ab			
陰性	109(98.2)	136(97.1)	245(97.6)
陽性	2(1.8)	4(2.9)	6(2.4)
肝炎病毒 ^b			
陰性	89(80.2)	108(77.1)	197(78.5)
陽性	22(19.8)	32(22.9)	54(21.5)
GST T1 基因型			
無效	58(52.3)	61(43.6)	119(47.4)
非無效	53(47.7)	79(56.4)	132(52.6)
GST M1 基因型			
無效	70(63.1)	82(58.6)	152(60.6)
非無效	41(36.9)	58(41.4)	99(39.4)
CYP2E1 基因型			
c1c1	61(55.0)	78(55.7)	139(55.4)
c1c2	44(39.6)	55(39.3)	99(39.4)
c2c2	6(5.4)	7(5.0)	13(5.2)

^a 習慣性飲酒是指飲酒的頻率為每星期至少一次。^b 肝炎病毒陽性：B型肝炎病毒表面抗原或C型肝炎病毒抗體為陽性。[†] $\chi^2=7.426$, $P<0.01$ 。

表三 可能與聚氯烯工人肝功能異常相關之各項因子的單變項對數迴歸分析(simple logistic regression)之勝算比(odds ratio)及95%信賴區間(confidence interval) , N=251

	AST異常 (>31 IU/L)	ALT異常 (>31 IU/L)
	OR (95% CI)	OR (95% CI)
肝炎病毒		
陽性 vs 陰性	6.6 (2.7, 16.5) [†]	3.9 (1.9, 8.0) [†]
身體質量指數 (kg/m ²)		
≥25 vs <25	1.6 (0.6, 4.2)	3.4 (1.6, 7.0) [†]
習慣性飲酒 ^a		
是 vs 否	3.8 (1.4, 10.2) [†]	1.3 (0.5, 3.5)
吸菸		
是 vs 否	1.3 (0.5, 3.1)	0.9 (0.4, 1.8)
年齡 (歲)		
≥40 vs <40	0.7 (0.3, 1.6)	0.8 (0.4, 1.6)
進廠年資 (年)		
≥15 vs <15	0.9 (0.4, 2.1)	1.0 (0.5, 2.0)
氯乙烯暴露		
高暴露 vs 低暴露	1.2 (0.5, 2.8)	0.8 (0.4, 1.5)
GST T1基因型		
非無效 vs 無效	0.7 (0.3, 1.8)	1.0 (0.5, 2.0)
GST M1 基因型		
非無效 vs 無效	0.7 (0.3, 1.8)	1.0 (0.5, 2.0)
CYP2E1 基因型		
c2c2 vs c1c1/c1c2	2.0 (0.4, 9.6)	2.7 (0.8, 9.1)

^a 習慣性飲酒是指飲酒的頻率為每星期至少一次。[†] P<0.01。

表四 GST T1、GST M1及CYP2E1基因型與AST肝功能指標異常之相關性探討，以氯乙烯高、低暴露之聚氯烯工人族群作分層分析

	基因型	氯乙烯暴露	AST正常人數	AST異常人數	OR (95 % CI)
GST T1基因型	無效	低暴露	53	5	1
	非無效		49	4	0.9(0.2, 4.3)
	無效	高暴露	54	7	1.4(0.4, 5.8)
	非無效		73	6	0.9(0.2, 3.8)
GST M1基因型	無效	低暴露	64	6	1
	非無效		38	3	0.8(0.1, 4.2)
	無效	高暴露	73	9	1.3(0.4, 4.7)
	非無效		54	4	0.8(0.2, 3.5)
CYP2E1基因型	c1c1	低暴露	54	7	1
	c1c2		42	2	0.4(0.0, 2.1)
	c2c2		6	0	0.0(0.0, 8.1)
	c1c1	高暴露	71	7	0.8(0.2, 2.7)
	c1c2		51	4	0.6(0.1, 2.6)
	c2c2		5	2	3.0(0.2, 23.5)

* 所有P值皆大於 0.1。

表五 GST T1、GST M1及CYP2E1基因型與ALT肝功能指標異常之相關性探討，以氯乙烯高、低暴露之聚氯乙烯工人族群作分層分析

	基因型	氯乙烯暴露	ALT正常人數	ALT異常人數	OR (95 % CI)
GST T1基因型	無效	低暴露	53	5	1
	非無效		39	14	3.8 (1.2, 14.5) [†]
	無效	高暴露	48	13	2.9 (0.9, 11.0) ^a
	非無效		73	6	0.9 (0.2, 3.8)
GST M1基因型	無效	低暴露	58	12	1
	非無效		34	7	1.0 (0.3, 3.1)
	無效	高暴露	71	11	0.75(0.3, 2.0)
	非無效		50	8	0.8 (0.3, 2.3)
CYP2E1基因型	c1c1	低暴露	53	8	1
	c1c2		34	10	1.9 (0.6, 6.3)
	c2c2		5	1	1.3 (0.0, 14.3)
	c1c1	高暴露	66	12	1.2 (0.4, 3.7)
	c1c2		51	4	0.5 (0.1, 2.1)
	c2c2		4	3	4.8 (0.6, 34.8) ^b

^aP=0.07；^bP=0.08；[†]0.01<P<0.05；其它P值皆大於0.1。

多。GST M1基因型則與肝功能指標異常的頻率沒有統計上的明顯相關($\alpha=0.05$)。

在多變項對數迴歸分析之最適模式中(表六)，發現與AST異常有關之相關因子為肝炎病毒感染(OR=7.8, 95% CI=3.0-20.5, $P<0.01$)與習慣性飲酒(OR=5.0, 95% CI=1.7-15.1, $P<0.01$)。而與ALT異常有關之相關因子為肝炎病毒感染(OR=6.4, 95% CI=2.7-15.3, $P<0.01$)，身體質量指數超過25 kg/m²(OR=5.7, 95% CI=2.4-13.7, $P<0.01$)，且氯乙烯暴露與GST T1基因型兩變項間有很強的負交互作用存在，氯乙烯暴露與CYP2E1基因型兩變項間也有很強的正交互作用存在。在低氯乙烯暴露的情況下，GST T1非無效基因型者與無效基因型者相比，其勝算比為7.1(95% CI=2.1-24.6, $P<0.01$)，但在高暴露組GST T1非無效基因型者的勝算比卻僅有0.6(2.7×7.1×0.03=0.6, 95% CI=0.1-2.2, $P>0.1$)，幾乎與GST T1為無效基因型者在低氯乙烯暴露時相同。而GST T1為無效基因型者，在高氯乙烯暴露的情況下危險性仍較高(OR=2.7, 95% CI=0.8-9.0, $P=0.11$)。氯乙烯暴露與CYP2E1基因型兩

變項間的正交互作用，使得c2c2基因型只有在高氯乙烯暴露的情況下，ALT異常的危險性增加(OR=2.7×0.5×17.2=23.3, 95% CI=3.1-176.1, $P<0.01$)；而c2c2基因型在低氯乙烯暴露的情況下，ALT異常的勝算比未達統計顯著性(OR=0.5, 95% CI=0.04-5.7, $P>0.1$)，即在低氯乙烯暴露時的危險性與c1c1/c1c2基因型相當。而c1c1/c1c2基因型在高氯乙烯暴露時仍略具危險性(OR=2.7, 95% CI=0.8-9.0, $P=0.11$)，但其勝算比遠不及c2c2基因型之勝算比，似乎在高氯乙烯暴露時，c2c2基因型的人較容易有ALT的異常。另外在多變項線性迴歸分析之最適模式中(表七)，各變項間也有類似的趨勢存在。

討 論

本研究屬橫斷式研究，利用聚氯乙烯員工的肝功能指標即AST與ALT，以探討GST T1、GST M1及CYP2E1三種可能與氯乙烯代謝有關之酵素基因多形性(即所謂的感受性因子)，是否在氯乙烯暴露引起肝功能異常間扮

表六 聚氯乙烯工人肝功能指標異常的最適多變項對數迴歸分析(best fitted multiple logistic regression)，各變項之勝算比及95%信賴區間，N=251

	AST 異常 ^a OR(95% CI)	ALT 異常 ^a OR(95% CI)
肝炎病毒 陽性 vs 陰性	7.8(3.0, 20.5) [†]	6.4(2.7, 15.3) [†]
身體質量指數(kg/m ²) ≥25 vs <25		5.7(2.4, 13.7) [†]
習慣性飲酒 ^b 是 vs 否	5.0(1.7, 15.1) [†]	
氯乙烯暴露 高暴露 vs 低暴露		2.7(0.8, 9.0)
GST T1基因型 非無效 vs 無效		7.1(2.1, 24.6) [†]
氯乙烯暴露與GST T1基因型之交互作用		0.03(0.004, 0.2) [†]
CYP2E1基因型 c2c2 vs c1c1/c1c2		0.5(0.04, 5.7)
氯乙烯暴露與CYP2E1基因型之交互作用		17.2(0.8, 350.0) ^c

^a AST > 31IU/L為異常；ALT > 31IU/L為異常。^b 習慣性飲酒是指飲酒的頻率為每星期至少一次。^c P=0.06；[†]P<0.01；其它P值皆大於 0.1。

表七 聚氯乙烯工人肝功能指標的最適多變項迴歸分析(best fitted multiple linear regression)，各變項之迴歸係數及95%信賴區間，N=251

	AST β(95% CI)	ALT β(95% CI)
截距項	18.9(17.5, 20.4) [†]	16.1(11.8, 20.3) [†]
肝炎病毒 陽性 vs 陰性	11.1(8.1, 14.1) [†]	15.8(11.2, 20.4) [†]
身體質量指數(kg/m ²) ≥25 vs <25		7.2(2.7, 11.7) [†]
習慣性飲酒 ^a 是 vs 否	9.5(5.8, 13.1) [†]	10.6(4.8, 16.3) [†]
氯乙烯暴露 高暴露 vs 低暴露		1.2(-4.3, 6.8)
GST T1基因型 非無效 vs 無效		4.9(-0.8, 10.6) ^b
氯乙烯暴露與GST T1基因型之交互作用		-10.7(-18.3, -3.1) [†]
CYP2E1基因型 c2c2 vs c1c1/c1c2		-5.9(-18.5, 6.7)
氯乙烯暴露與CYP2E1基因型之交互作用		18.2(1.1, 35.3) ^c

^a 習慣性飲酒是指飲酒的頻率為每星期至少一次。^b P=0.09。^c 0.01<P<0.05；[†]P<0.01；其它P值皆大於 0.1。

演重要的角色。這種肝功能指標所代表的可能只是近期的暴露，而無法反映長期慢性的暴露，因此在氯乙烯的暴露分組上，我們以該名員工最近半年所從事工作項目的可能暴露濃度作為分組依據，而不考慮累積暴露量。會引起肝功能指標升高的危險因子非常多，在台灣族群中，最重要的可能是B型肝炎病毒及最近益顯重要的C型肝炎病毒感染。其次如飲酒、肥胖及許多肝實質的病變皆可引發肝功能異常，還有一些具肝毒性的藥品或化學品，也可造成肝功能的異常。因此，本研究盡可能的將這些相關因子納入多變項迴歸分析模式，以期獲得氯乙烯暴露及感受性因子的真正淨效應。但是我們未將服用藥物的情形納入探討，因為在問卷中，檢視這些員工最近一個月使用藥物的情形，並未發現有明顯肝毒性的藥物。另外考慮到環境暴露因子與感受性因子間可能有交互作用的存在，因此我們也將一些交互作用項納入我們的模式分析裡面。至於更高次方的交互作用項(如氯乙烯暴露 \times GST T1基因型 \times CYP2E1基因型)，則受限於樣本數，在本研究較難予以探討。至於多個交互作用項是否會造成共線性的問題，經過檢查在本研究中並不存在。雖然本文以多變項對數迴歸模式來作探討，事實上在多變項線性迴歸分析中，GST T1、CYP2E1基因型與氯乙烯暴露間也有類似顯著之交互作用存在(表七)。

本篇論文之最適多變項迴歸模式的選擇，是依據Kleinbaum DG等在Epidemiologic Research裡所提到的原則，即先探討變項間的交互作用，再作相關干擾因子的調整。首先儘量納入可能存在的交互作用項(優先考慮與暴露有關的交互作用項)，再依模式精簡(parsimony)的原則，去除沒有統計顯著性的變項。但若交互作用項有統計顯著意義，而包含在交互作用項內的主作用項單獨存在時未達統計顯著性時，依照模式階層簡化(hierarchical model simplification)的原則，仍將此主作用項納入模式中[32]。本論文如果一開始僅先就主作用項進行模式選擇的步驟，則GST T1、CYP2E1基因型與氯乙烯暴露等主作用項單獨存在均未達統計顯著性，因而可

能失掉在不同氯乙烯暴露分層時，GST T1及CYP2E1基因型可能有不同作用的訊息。尤其是在高、低暴露組的效應方向相反時，合起來看就沒有統計顯著性。因此在進行多變項迴歸模式分析時，如果樣本數夠大，先探討交互作用的存在，再進行相關干擾因子的調整，可能較不易失去一些重要的訊息。

三個感受性基因在本研究的分佈頻率與過去發表過的研究結果類似，CYP2E1的罕見對偶基因c2於本研究的分佈頻率為24.9%，與先前針對台灣族群的研究相去不遠(28%)[33]；GST M1無效基因型的頻率在本研究為60.6%，和某一台灣肝癌研究對照組相類似(63.3%)[14]；至於GST T1在台灣族群的分佈頻率尚未有研究發表，本研究族群為47.4%，與一篇針對中國大陸的研究有一些差距(64.4%)[34]。

1970年代一些針對聚氯乙烯工廠工人的研究發現氯乙烯的暴露可能會引發肝功能異常，而Ho等學者在1991年的研究裡指出ALT是早期發現氯乙烯暴露導致肝功能異常最敏感的指標[5]。肝功能指標對於肝臟傷害的特異性，以ALT較具特異性，因為ALT主要存在於肝臟內。毒性化學物質引起的肝臟傷害，以ALT指標較早上升且增加幅度較AST大，這是毒性化學物質引起肝臟傷害與酒精性肝傷害最大不同的地方[35]。本研究也發現以ALT肝功能指標作為氯乙烯暴露之健康危險標誌(study end-point)所能傳達的訊息最為豐富。

本研究發現，與AST及ALT肝功能指標異常相關的主要因子包括肝炎病毒感染、身體質量指數及習慣性飲酒，其中肝炎病毒感染與AST及ALT肝功能指標異常的關係非常密切，而習慣性飲酒似乎與AST指標較有相關。一般而言，酒精比較會選擇性的抑制ALT活性，使得AST指標升高的幅度較ALT指標大[35]，在這篇研究裡也發現類似的結果。

由於氯乙烯暴露與GST T1及CYP2E1基因型間交互作用的存在，因此本研究欲探討GST T1及CYP2E1基因型與氯乙烯暴露對肝功能的效應，不能單看個別的效應，必須將

GST T1及CYP2E1基因型在氯乙烯高低暴露組的效應分開來探討。在我們的研究族群裡皆是暴露組，只是暴露濃度不同而已，學理上我們也常發現同一化學物質在不同濃度的暴露會有不同的代謝途徑及中間產物，許多研究也發現不同濃度的氯乙烯暴露，可能有不同的代謝途徑，因此GST T1及CYP2E1基因型在不同濃度的氯乙烯暴露下，可能會有不同的效應。

本研究發現在低氯乙烯暴露時，GST T1非無效基因型可能具危險效應(OR=7.1, 95% CI=2.1-24.6, $P<0.01$)，CYP2E1 c2c2基因型則不具明顯作用(OR=0.5, 95% CI=0.04-5.7, $P>0.1$)；在高氯乙烯暴露時，攜帶GST T1非無效基因型的工人，危險效應反而較不明顯(OR=0.6, 95% CI=0.1-2.2, $P>0.1$)，而CYP2E1 c2c2基因型的危險效應特別顯著(OR=23.3, 95% CI=3.1-176.1, $P<0.01$)。

CYP2E1 c2c2基因型在基礎醫學的研究上認為其活性較高[10,11]，因而可能對生物體較有危險性，但人類流行病學的研究卻無一致的結果[12-15]。本研究將聚氯乙烯工人大致分成高暴露與低暴露二組，但基本上低暴露組仍然有氯乙烯的暴露，只是濃度低於高暴露組。氯乙烯的代謝在不同暴露濃度可能有不同的途徑，在低濃度的暴露下，氯乙烯可能主要是經由酒精脫氫酶(alcohol dehydrogenase)的代謝形成chloroethanol，CAA及chloroacetic acid；而在高濃度的暴露下，氯乙烯可能主要是經由CYP2E1的代謝而形成CEO及CAA[7,8]。這些結果或許可以解釋為何在我們的研究裡，CYP2E1 c2c2基因型只有在高氯乙烯暴露時才有明顯的危險性。

GST T1在人體內扮演的角色仍不清楚，可能具保護性也可能具危險性，其角色可能決定於所要代謝的化學物質[25]。上述的第一期代謝產物可能會再進入GSTs的代謝途徑[7,8]。因此不同濃度氯乙烯的暴露所產生不同的第一期代謝產物，經由GST T1的參與可能就會產生不同的效應，此或許可以解釋在本研究中，GST T1非無效基因型在不同程度的氯乙烯暴露有不同效應的現象。另外曾有學者提到，氯乙烯可能可以直接與GSH結合

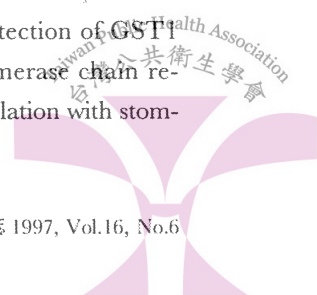
[36]，因此在低濃度下，氯乙烯是否會經由GST T1催化與GSH結合，形成類似ethylene dibromide經GST T1催化後的有毒烷基化劑[26]；而在高濃度時，大部分的氯乙烯經由CYP2E1的代謝形成CEO，再經由類似ethylene oxide被GST T1代謝解毒的路徑[27]，尚待進一步的研究。

本研究發現CYP2E1及GST T1可能在氯乙烯的代謝途徑中扮演重要的角色，並且隨著暴露濃度的不同而有不同的效應。然而這些觀察到的現象是以統計上的交互作用為基礎，但統計模式的交互作用不一定能代表在生物機制上的交互作用[32]。因此欲證實這個結果可能需要在生物的層次上，進一步研究不同濃度的氯乙烯暴露與GST T1及CYP2E1間相關的毒理學機轉。此外，未來可能要針對酒精脫氫酶的多形性，進行其與氯乙烯引起肝功能異常的相關研究，以進一步了解氯乙烯在人體內的代謝模式。

參考資料

1. Lilis R, Anderson H, Nicholson WJ, Daum S, Fischbein AS, Selikoff IJ. Prevalence of disease among vinyl chloride and polyvinyl chloride workers. *Ann N Y Acad Sci* 1975; **246**:22-41.
2. Popper H. Alterations of liver and spleen among workers exposed to vinyl chloride. *Ann N Y Acad Sci* 1975; **246**:172-194.
3. Makk L, Creech JL, Whelan JG, Johnson MN. Liver damage and angiosarcoma in vinyl chloride workers-a systemic detection program. *JAMA* 1974; **230**:64-68.
4. Veltman G, Lange CE, Juhe S, Stein G, Bachner U. Clinical manifestations and course of vinyl chloride disease. *Ann N Y Acad Sci* 1975; **246**:6-17.
5. Ho SF, Phoon WH, Gan SL, Chan YK. Persistent liver dysfunction among workers at a vinyl chloride monomer polymerization plant. *J Soc Occup Med* 1991; **41**:10-16.

6. Creech JL, Johnson MN. Angiosarcoma of liver in the manufacture of polyvinyl chloride. *J Occup Med* 1974; **16**:150-151.
7. Berk PD, Martin JF, Young RS et al. Vinyl chloride-associated liver disease. *Ann Intern Med* 1976; **84**:717-731.
8. Easter MD, Von Burg R. Toxicology update-vinyl chloride. *J Appl Toxicol* 1994; **14**: 301-307.
9. Perera FP, Santella R. Carcinogenesis. In: Schulte PA and Perera FP eds. *Molecular epidemiology-principles and practices*. San Diego: Academic Press. 1993: 277-300.
10. Hayashi S-I, Watanabe J, Kawajiri K. Genetic polymorphisms in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P450IIE1 gene. *J Biochem* 1991; **110**:559-565.
11. Watanabe J, Hayashi S-I, Kawajiri K. Different regulation and expression of the human CYP2E1 gene due to the Rsa I polymorphism in the 5'-flanking region. *J Biochem* 1994; **116**:321-326.
12. Maezawa Y, Yamauchi M, Toda G. Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome P450IIE1 gene and susceptibility to alcoholic liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1994; **89**: 561-565.
13. Tsutsumi M, Takada A, Wang JS. Genetic polymorphisms of cytochrome P4502E1 related to the development of alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1994; **107**:1430-1435.
14. Yu MW, Gladek-Yarborough A, Chiamprasert S, Santella RM, Liaw YF, Chen CJ. Cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase M1 polymorphisms and susceptibility to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1995; **109**:1266-1273.
15. Hildesheim A, Chen CJ, Caporaso NE et al. Cytochrome P450 2E1 genetic polymorphisms and risk of nasopharyngeal carcinoma: results from a case-control study conducted in Taiwan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995; **4**:607-610.
16. Board PG. Biochemical genetics of glutathione S-transferase in man. *Am J Hum Genet* 1981; **33**:36-43.
17. Seidegard J, Vorachek WR, Pero RW, Pearson WR. Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proc Natl Acad Sci* 1988; **85**:7293-7297.
18. Comstock KE, Sanderson BJS, Claflin G, Henner WD. GST1 gene deletion determined by polymerase chain reaction. *Nucleic Acids Res* 1990; **18**:3670.
19. Seidegard J, Pero RW, Miller DG, Beattie EJ. A glutathione transferase in human leukocytes as a marker for the susceptibility to lung cancer. *Carcinogenesis* 1986; **7**:751-753.
20. Smith CM, Kelsy KT, Wiencke JK, Leyden K, Levin S, Christiani DC. Inherited glutathione S-transferase deficiency is a risk factor for pulmonary asbestosis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994; **3**:471-477.
21. Bell DA, Taylor DF, Paulson DF, Robertson CN, Mohler JL, Lucier GW. Genetic risk and carcinogen exposure: a common inherited defect of the carcinogen-metabolism gene glutathione S-transferase M1 (GSTM1) that increase susceptibility to bladder cancer. *J Natl Cancer Inst* 1993; **85**:1159-1164.
22. Harada S, Misawa S, Nakamura T, Tanaka N, Ueno E, Nozoe M. Detection of GST1 gene deletion by the polymerase chain reaction and its possible correlation with stom-



- ach cancer in Japanese. *Hum Genet* 1992; **90**:62-64.
23. Pemble S, Schroeder KR, Spencer SR et al. Human glutathione S-transferase theta (GSTT1): cDNA cloning and the characterization of a genetic polymorphism. *Biochem J* 1994; **300**:271-276
24. Kempkes M, Wiebel FA, Golka K, Heitmann P, Bolt HM. Comparative genotyping and phenotyping of glutathione S-transferase GSTT1. *Arch Toxicol* 1996; **70**:306-309.
25. Hayes JD, Pulford DJ. The glutathione S-transferase supergene family: regulation of GST and the contribution of the isoenzymes to cancer chemoprotection and drug resistance. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1995; **30**: 445-600.
26. Thier R, Taylor JB, Pemble SE et al. Expression of mammalian glutathione S-transferase 5-5 in *Salmonella typhimurium* TA1535 leads to base-pair mutations upon exposure to dihalomethanes. *Proc Natl Acad Sci*. 1993; **90**:8576-8580.
27. Haillier E, Langhof T, Dannappel D et al. Polymorphism of glutathione conjugation of methyl bromide, ethylene oxide and dichloromethane in human blood: influence on the induction of sister chromatid exchanges (SCE) in lymphocytes. *Arch Toxicol* 1993; **67**:173-178.
28. Norppa H, Hirvonen A, Jarventaus H et al. Role of GSTT1 and GSTM1 genotypes in determining individual sensitivity to sister chromatid exchange induction by diepoxybutane in cultured human lymphocytes. *Carcinogenesis* 1995; **16**:1261-1264.
29. 杜宗禮：台灣地區聚氯乙烯廠工人及環境暴露之採樣分析。國立台灣大學公共衛生研究所碩士論文，1993。
30. SAS System for Windows, Release 6.10. Cary, NC: SAS Institute Inc. 1994.
31. EGRET (Epidemiologic Graphic, Estimation, and Testing package). Washington: Stat and Epid Res Corp. 1987.
32. Kleinbaum DG, Kupper LL, Morgenstern H. *Epidemiologic research-principles and quantitative methods*. 1982.
33. Stephens EA, Taylor JA, Kaplan N et al. Ethnic variation in the CYP2E1 gene: polymorphism analysis of 695 African-Americans, European-Americans and Taiwanese. *Pharmacogenetics* 1994; **4**:185-192.
34. Nelson HH, Wiencke JK, Christiani DC et al. Ethnic differences in the prevalence of the homozygous deleted genotype of glutathione S-transferase theta. *Carcinogenesis* 1995; **16**:1243-1245.
35. Redlich C, Brodtkin CA. Gastrointestinal disorders-liver diseases. In: Rosenstock L and Cullen M. *Textbooks of clinical environmental and occupational medicine*. Philadelphia: W. B. Saunders. 1994: 423-436.
36. Hefner RE, Watanabe PG, Gehring PJ. Preliminary studies of the fate of inhaled vinyl chloride monomer in rats. *Ann N Y Acad Sci* 1975; **246**:135-148.

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE GST T1, GST M1, CYP2E1 GENOTYPE AND ABNORMAL LIVER FUNCTION IN PVC WORKERS

CHUNG-YING HUANG¹, TSUN-JEN CHENG¹, KUO-LIANG HUANG¹,
JUNG-DER WANG¹, LING-LING HSIEH²

Vinyl chloride monomer (VCM) is hepatotoxic as well as carcinogenic in humans. There are reports that exposure to VCM seems to induce abnormal liver function, liver fibrosis, cirrhosis, and angiosarcoma of the liver. In vivo, VCM is metabolized by cytochrome P450 2E1 (CYP2E1) to form chloroethylene oxide (CEO) and chloroacetaldehyde (CAA), both electrophilic metabolites, which may either cause cell damage or are further metabolized and detoxified by glutathione S-transferases (GSTs). This study investigated whether or not the genotypes, CYP2E1, glutathione S-transferase θ (GST T1) and μ (GST M1), correlated the abnormal liver function in vinyl chloride exposed workers. We enrolled 251 workers from 5 polyvinyl chloride plants for this study. The workers who were exposed to VCM were classified into two, high and low exposure groups and the degree of exposure was determined based on their job titles and airborne VCM concentration. The enzyme activities of serum aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT) were used as the parameters of liver function. The genotypes, CYP2E1, GST T1 and GST M1, were determined by performing PCR and RFLP

on peripheral white blood cell DNA. Other potential risk factors were also ascertained and the confounding effect was adjusted accordingly. Stratified analyses were used to explore the correlation between the alteration of liver function and the genotypes, CYP2E1, GST T1 and GST M1, among the workers exposed to different levels of VCM.

The results obtained showed: (1) at low VCM exposure, the odds ratio (OR) of GST T1 non-null genotype on abnormal ALT was 3.8 (95% CI = 1.2-14.5) but the CYP2E1 genotype was not associated with abnormal ALT; (2) at high VCM exposure, on the other hand, a c2c2 CYP2E1 genotype was associated with increased OR on abnormal ALT (OR=4.8, 95% CI = 0.6-34.8) but the GST T1 non-null genotype was not associated with abnormal ALT (OR = 0.9, 95% CI = 0.2-3.8); and (3) multiple logistic regression also showed strong interactions of the VCM exposure to CYP2E1 as well as to the GST T1 genotype. Thus, These observations suggest that the two genotypes, CYP2E1 and GST T1, may play important roles in the biotransformation of VCM, whose effect leads to liver damage. (*Chin J Public Health. (Taipei): 1997; 16(6): 499-512*)

Key words: vinyl, chloride, glutathione s-transferases, CYP 2E1, liver function.

¹ Institute of Occupational Medicine and Industrial Hygiene, College of Public Health, National Taiwan University, Taipei, Taiwan.

² Department of Public Health, Chang Gung College of Medicine and Technology, Tao-Yuan, Taiwan.

