

引用本文: 李林子, 李昌海, 谢雄伟, 等. 核苷酸切除修复交叉互补组基因1和人类X射线交错互补修复基因1基因多态性与结直肠癌奥沙利铂疗效的相关性[J]. 安徽医药, 2021, 25(1): 9-12. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2021.01.003.

◇ 药学研究 ◇



核苷酸切除修复交叉互补组基因1和人类X射线交错互补修复基因1基因多态性与结直肠癌奥沙利铂疗效的相关性

李林子^a, 李昌海^a, 谢雄伟^b, 刘晨晖^a, 杨娥^a, 韦智丹^b, 廖秋霞^a

作者单位: 荆门市第一人民医院,^a药理学部,^b胃肠外科, 湖北 荆门 448000

通信作者: 廖秋霞, 女, 主任药师, 研究方向为医院药学, E-mail: jmyyyjk2305674@163.com

基金项目: 荆门市科技计划项目(2018YFYB024)

摘要: **目的** 探讨核苷酸切除修复交叉互补组基因1(ERCC1)和人类X射线交错互补修复基因1(XRCC1)单核苷酸多态性(SNP)与接受以奥沙利铂为基础的化疗方案治疗晚期结直肠癌(CRC)疗效的关系。**方法** 选取2017年11月至2019年4月收治于荆门市第一人民医院经病理组织学确诊为晚期直肠癌病人95例,均接受含奥沙利铂为基础的化疗方案化疗至少3个周期后评价疗效。采用荧光染色原位杂交测序法对化疗病人外周血中ERCC1 Asn118Asn、XRCC1 Gln399Arg基因型进行检测,分析各基因型与CRC病人近期化疗疗效的相关性。**结果** 本研究所选取的病人中各多态性位点的基因型分布均符合Hardy-Weinberg平衡。病人的性别、年龄、结直肠癌分期(TNM分期)、肿块部位(结肠部位、直肠部位)和含奥沙利铂为基础的化疗方案疗效均差异无统计学意义($P > 0.05$)。95例CRC病人中,携带ERCC1 Asn118Asn GG、AG+AA基因型的病人化疗后有效率分别为51.9%(28/54)和24.4%(10/41),ERCC1 Asn118Asn AG+AA基因型病人化疗失败的可能性是GG型的3.338倍, $OR = 3.338$,95%CI为1.370~8.134, $P < 0.05$;携带XRCC1 Gln399Arg CC、TC+TT基因型的病人化疗后有效率分别为52.0%(26/50)和26.7%(12/45),XRCC1 Gln399Arg TC+TT基因型病人化疗失败的可能性是CC型之间的2.979倍, $OR = 2.979$,95%CI为1.257~7.060, $P < 0.05$ 。**结论** 就含奥沙利铂为基础联合化疗失败的可能性而言,携带ERCC1 Asn118Asn AG+AA基因型比GG型高;携带XRCC1 Gln399Arg TC+TT基因型比CC型高。检测ERCC1 Asn118Asn和XRCC1 Gln399Arg单核苷酸多态性可以成为预测结直肠癌病人接受含奥沙利铂为基础的化疗方案疗效的指标。

关键词: 结直肠肿瘤; 多态性,单核苷酸; 奥沙利铂; 核苷酸切除修复交叉互补组基因1(ERCC1); 人类X射线交错互补修复基因1(XRCC1)

Relationship between ERCC1, XRCC1 polymorphism and clinical outcome of patients with advanced colorectal cancer treated with oxaliplatin-based chemotherapy

LI Linzi^a, LI Changhai^a, XIE Xiongwei^b, LIU Chenhui^a, YANG E^a, WEI Zhidan^b, LIAO Qiuxia^a

Author Affiliation: ^aDepartment of Pharmacy, ^bGastrointestinal Surgery, Jingmen NO.1 People's Hospital, Jingmen, Hubei 448000, China

Abstract: **Objective** To study the relationship between single nucleotide polymorphisms (SNP) in the ERCC1 (excision repair cross complementation group 1), XRCC1 (X-ray cross complementing repair gene 1) and clinical outcome of patients with advanced colorectal cancer treated with oxaliplatin-based chemotherapy. **Methods** A total of 95 patients pathologically diagnosed as advanced colorectal cancer by histopathology admitted to Jingmen NO.1 People's Hospital from November 2017 to April 2019 were collected. After all patients received oxaliplatin-based chemotherapy for at least 3 cycles of chemotherapy, the efficacy had been evaluated, also the correlation between each genotype and the short-term efficacy of patients with advanced colorectal cancer had been analyzed. **Results** (1) The genotype distribution of each polymorphism was found to be of Hardy-Weinberg equilibrium in the study. There was no significant correlation among gender, age, colorectal cancer stage (TNM stage), tumor site with chemotherapy efficacy ($P > 0.05$). (2) Among the 95 CRC patients, the effective rate of patients with ERCC1 Asn118Asn GG and AG+AA genotypes after chemotherapy was 51.9% (28/54) and 24.4% (10/41). Patients with XRCC1 Gln399Arg TC+TT genotype were 2.979 times more likely to fail chemotherapy than those with CC genotype. $OR = 3.338$, 95% CI: 1.370-8.134, $P < 0.05$; The effective rate of patients with XRCC1 Gln399Arg CC, TC+TT genotypes after chemotherapy was 52.0% (26/50) and 26.7% (12/45). Patients with

TC+TT genotype were 2.979 times more likely to fail chemotherapy than those with CC genotype. $OR = 2.979$, 95% CI : 1.257-7.060, $P < 0.05$. **Conclusions** In terms of the possibility of failure of oxaliplatin based chemotherapy, the genotype carrying ERCC1 asn118asn Ag + AA was higher than that of GG genotype; the genotype carrying XRCC1 gln399arg TC+TT was higher than CC genotype; detection of the single nucleotide polymorphisms of ERCC1 Asn118Asn and XRCC1 Gln399Arg may be used as a predictor of the efficacy of oxaliplatin-based chemotherapy in colorectal cancer patients.

Key words: Colorectal neoplasms; Polymorphism, single nucleotide; Oxaliplatin; Excision repair cross-complementing 1 (ERCC1); X-ray repair crosscomplementing gene 1 (XRCC1)

根据2015年中国癌症统计数据显示:结直肠癌(colorectal cancer, CRC)在女性中是继乳腺癌之后的第二大常见肿瘤,在男性中是继肺癌、前列腺癌之后的第三大常见肿瘤^[1-2],严重威胁着人民群众的健康。当前对于CRC的治疗,化疗仍然是其主要手段,其中以铂类药物(主要为奥沙利铂)为基础的化疗方案是临床上治疗晚期CRC常用的方案^[3]。然而,在临床应用中发现,铂类药物的疗效存在着个体化差异,这种差异与多种因素有关,其中个体的基因多态性就是其中主要因素,如DNA修复能力增强、药物解毒增加、以及铂类DNA加合物增加等^[4-5]。

核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)途径可以快速修复铂类药物对肿瘤细胞中DNA所造成的损伤,改变肿瘤细胞对铂类药物的耐受性,进而影响铂类药物的化疗效果,该途径是目前唯一明确的人类细胞针对铂类药物所造成的DNA损伤修复机制^[6-7]。其中核苷酸切除修复交叉互补组基因1(ERCC1)和人类X射线交错互补修复基因1(XRCC1)是NER系统中的最为重要的组成成分,两者参与铂类药物引起的DNA损伤修复过程^[8]。因此,本研究将探讨ERCC1和XRCC1单核苷酸多态性(SNP)与接受以奥沙利铂为基础的化疗方案治疗晚期结直肠癌(CRC)疗效相关性,为指导晚期CRC的个体化化疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取荆门市第一人民医院2017年11月至2019年4月收治的确诊为Ⅲ期和Ⅳ期(TNM分期)晚期结直肠癌化疗病人。

入选标准:(1)按照TNM分期,经病理组织学证实为Ⅲ期、Ⅳ期晚期结直肠癌病人;(2)具有可测量的实体病灶;(3)所有晚期结直肠癌病人之前未进行过姑息性治疗或既往使用过新辅助或辅助化疗(不含奥沙利铂)结束时间距离本次疾病复发时间超过了6个月;(4)KPS评分(Karnofsky功能状态评分标准) ≥ 60 ;预计生存时间 > 3 个月;(5)化疗前血常规、肝肾功能正常;(6)年龄 ≥ 18 岁。本研究已报荆门市第一人民医院伦理委员会通过(批号201802021),入选病人均征得其本人或直系家属知情同意,并签署知情同意书。

1.2 研究方法 选取的所有CRC病人均接受以铂类药物(主要为奥沙利铂)为基础的化疗方案(FOLFOX、CapeOX)进行化疗,其中采用FOLFOX方案(FOLFOX4方案27例,mFOLFOX6方案8例)有35例,采用CapeOX方案有60例,化疗3个周期之后进行疗效评价。

FOLFOX4方案:第1天奥沙利铂 85 mg/m^2 静脉输注2 h;第1、2天静脉输注亚叶酸钙 200 mg/m^2 ;第1天静脉推注5-FU 400 mg/m^2 ,第2天22 h持续静滴5-FU 600 mg/m^2 ,每2周重复,共24周。mFOLFOX6方案:第1天奥沙利铂 85 mg/m^2 静脉输注2 h,亚叶酸钙 400 mg/m^2 静脉输注2 h,5-FU 400 mg/m^2 静脉推注,然后5-FU $1200 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{d}^{-1} \times 2 \text{ d}$ 持续静脉输注(总量 2400 mg/m^2 ,输注46~48 h),每2周重复,共24周。CapeOX方案:第1天奥沙利铂 $130 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ 静脉输注2 h,第1~14天卡培他滨 $1000 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{次}^{-1}$,每日2次,每3周重复,共24周^[9]。所有病例均在化疗3个周期后对其进行疗效评价。

1.3 样本收集与评价标准 收集病人临床资料和血样样本并对其进行定期随访,评价化疗疗效及不良反应。

所有病人均至少完成3周期的化疗后评价疗效(肿瘤进展除外),对病人进行体格检查、实验室检查和影像学检查。按实体瘤的疗效标准(RECIST)分为:完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、稳定(SD)和进展(PD),以CR+PR为有效计算肿瘤控制率。化疗药物不良反应评价参照WHO(1981年)标准。

1.4 样本基因分型检测 本研究运用荧光染色原位杂交测序检测系统(TL998A型,西安天隆科技有限公司)对病人血液样本中白细胞进行基因分型检测。

抽取2 mL静脉血置于乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管中,富集血样中的白细胞,向其中加入 $100 \mu\text{L}$ PHARM-GENE 01 SNP分析保存液,用移液枪吹打混匀后室温静置30 min,各取 $1 \mu\text{L}$ 经上述流程处理后的白细胞样本分别加入ERCC1 Asn118Asn、XRCC1 Gln399Arg PHARM-GENE 200 SNP试剂,震荡混匀后置于实时荧光检测仪中进行基因分型检测。

试剂来源:所有基因分型检测试剂均购置于北京华夏时代基因科技发展有限公司。

1.5 统计学方法 采用检验分析样本基因型分布是否符合 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律。采用 χ^2 检验分析病人一般资料与晚期结直肠癌化疗疗效的关系;采用二元 logistic 回归分析对 ERCC1 Asn118Asn 和 XRCC1 Gln399Arg 基因多态性与含奥沙利铂为基础的结直肠癌化疗方案疗效的关系(*OR* 值, 95%*CI*) 进行分析。所有数据均用 SPSS 17.0 软件进行统计分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基因多态性分布 选取的 95 例病例中, ERCC1 Asn118Asn 各基因型频率分别为: AA 型 9 例(9.5%), AG 型 32 例(33.7%), GG 型 54 例(56.8%); XRCC1 Gln399Arg 各基因型频率分别为 TT 型 4 例(4.2%), TC 型 41 例(43.2%), CC 型 50 例(52.6%)。经 Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验, 基因型 ERCC1 Asn118Asn ($\chi^2 = 1.64, P > 0.05$)、XRCC1 Gln399Arg ($\chi^2 = 1.54, P > 0.05$) 在这些样本群体中的分布符合遗传平衡, 没有明显偏离分布, 说明本研究资料具有群体代表性。

2.2 化疗疗效分析

2.2.1 临床资料统计和疗效相关性 CR、PR、SD、PD 分别为 5、33、31、26 例, 总有效例数 38(CR+PR) 例, 总有效率为 40.0%。所选病人性别、年龄、TNM 分期、肿块部位(结肠部位、直肠部位)、化疗方案(FOLFOX4、mFOLFOX6、CapeOX)和化疗疗效均无明显相关性($P > 0.05$), 详见表 1。

2.2.2 病人基因型和疗效相关性 选取的 95 例 CRC 病例中, 携带 ERCC1 Asn118Asn GG、AG+AA 基因型的病人化疗后有效率分别为 51.9%(28/54) 和 24.4%(10/41), ERCC1 Asn118Asn AG+AA 基因型病人化疗失败的可能性是 GG 型的 3.338 倍($OR = 3.338, 95\%CI$ 为 1.370~8.134, $P < 0.05$); 携带 XRCC1 Gln399Arg CC、TC+TT 基因型的病人化疗后有效率分别为 52.0%(26/50) 和 26.7%(12/45), XRCC1 Gln399Arg TC+TT 基因型病人化疗失败的可能性是 CC 型之间的 2.979 倍($OR = 2.979, 95\%CI$ 为 1.257~7.060, $P < 0.05$)。详见表 2。

表 1 结直肠癌 95 例临床资料以及疗效分析

变量	病例/例(%)	疗效/例		χ^2 值	<i>P</i> 值
		有效 (CR+PR)	无效 (SD+PD)		
年龄				0.476	0.490
≤ 55 岁	36(37.9)	16	20		
> 55 岁	59(62.1)	22	37		
性别				0.080	0.778
男性	61(64.2)	24	37		
女性	34(35.8)	14	20		
TNM 分期				3.200	0.074
Ⅲ	52(54.7)	25	27		
Ⅳ	43(45.3)	13	30		
肿块部位				1.003	0.606
结肠	58(61.1)	21	37		
直肠	37(38.9)	17	20		
化疗方案				0.146	0.702
FOLFOX (FOLFOX4+ mFOLFOX6)	35(36.8)	14	21		
CapeOX	60(63.2)	24	36		

注: CR 为完全缓解, PR 为部分缓解, SD 为稳定, PD 为进展。

3 讨论

化疗的铂类药物在进入肿瘤细胞后能与肿瘤细胞中的 DNA 结合, 形成 Pt-DNA 螯合物, 进而导致 DNA 链间或链内发生交联, 从而引起 DNA 复制障碍, 抑制肿瘤细胞的分裂^[10]。NER 系统是人体中 DNA 损伤修复系统最为重要的组成部分, 研究表明铂类药物引起机体中的 DNA 损伤主要由 NER 系统进行修复, 因此, 不同个体中 NER 系统的差异可能是影响铂类药物疗效存在个体化差异的重要因素^[11-12]。

ERCC1 基因是机体 NER 系统中重要的 DNA 损伤修复基因, 其编码的蛋白能与着色干皮病基因组 F(XPF) 蛋白形成异源二聚体复合物(ERCC1-XPF), 该复合物在对 DNA 损伤位点进行识别和切除的过程中均起着关键性作用, 能切除受损伤的寡核苷酸^[13-14]。然而, 研究表明, 人类机体中的 ERCC1 基因存在着基因多态性, 其中 ERCC1 Asn118Asn(rs11615) 位点的突变是该基因常见的 SNPs, 该位点突变可导致其表达的 ERCC1 蛋白水平下降, 从而使机体中核酸切除修复能力显著下降, 进而影响铂类药物疗效的差异, 该基因位点的突变也是 ERCC1

表 2 结直肠癌 95 例基因型和疗效分析($n = 95$)

变量	病例/例(%)	疗效/例(%)		<i>OR</i> (95% <i>CI</i>)	χ^2 值	<i>P</i> 值
		有效(CR+PR)	无效(SD+PD)			
ERCC1 Asn118Asn						
GG	54(56.8)	28(51.9)	26(48.1)	1.00	7.040	0.008
AG+AA	41(43.2)	10(24.4)	31(75.6)	3.338(1.370~8.134)		
XRCC1 Gln399Arg						
CC	50(52.6)	26(52.0)	24(48.0)	1.00	6.150	0.013
TC+TT	45(47.4)	12(26.7)	33(73.3)	2.979(1.257~7.060)		

基因与铂类药物疗效差异的主要研究位点^[15]。

XRCC1是影响细胞对射线辐射敏感的基因,也是NER系统中另一个重要的碱基切除修复基因,其编码的XRCC1蛋白与DNA连接酶Ⅲ、多聚ADP核糖聚合酶(PARP)和聚合酶 β 形成复合物,该复合物参与碱基切除修复(BER),能修复铂类药物等内外因素诱导产生的DNA损伤,是BER通路的重要组成部分。研究表明,人体中XRCC1基因存在着基因多态性,其中XRCC1 Gln399Arg(rs25487)位点的突变研究最为广泛,该突变位于XRCC1基因的功能区,导致的氨基酸改变对XRCC1蛋白功能的影响最大,进而影响XRCC1蛋白对受损DNA的修复能力,因此,理论推测该基因位点的突变将增强铂类药物化疗的疗效^[16-17]。

本研究结果表明,选取的95例晚期CRC病人中,ERCC1 Asn118Asn和XRCC1 Gln399Arg的基因型分布均符合Hardy-Weinberg平衡($P>0.05$)。病人的性别、年龄、结直肠癌分期(TNM分期)、肿块部位(结肠部位、直肠部位)和含铂类药物(主要为奥沙利铂)为基础的化疗方案疗效均无明显相关性($P>0.05$)。95例CRC病人中,携带ERCC1 Asn118Asn AA+AG基因型病人化疗失败的可能性是GG型的3.338倍($OR=3.338$, $95\%CI: 1.370\sim 8.134$, $P<0.05$),携带XRCC1 Gln399Arg TC+TT基因型病人化疗失败的可能性是CC型之间的2.979倍($OR=2.979$, $95\%CI: 1.257\sim 7.060$, $P<0.05$)。提示ERCC1 Asn118Asn、XRCC1 Gln399Arg基因多态性与CRC病人含奥沙利铂为基础的化疗临床疗效有显著相关性,此结果与国内外相关研究报道一致^[18-19]。

综上所述,机体NER系统与含铂类药物(主要为奥沙利铂)为基础的联合化疗疗效差异存在密切相关性。ERCC1基因和XRCC1基因作为NER系统中的重要基因,其单核苷酸多态性(ERCC1 Asn118Asn、XRCC1 Gln399Arg)是不同个体对铂类药物化疗疗效差异的主要原因之一。检测ERCC1 Asn118Asn、XRCC1 Gln399Arg单核苷酸多态性有利于指导和预测晚期结直肠癌病人接受含奥沙利铂化疗方案的化疗疗效,为结直肠癌病人的个体化化疗提供理论依据。

参考文献

- [1] SPIESS PE, DHILLON J, BAUMGARTEN AS, et al. Pathophysiological basis of human papillomavirus in penile cancer; key to prevention and delivery of more effective therapies [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(6): 481-495.
- [2] 吴春晓, 顾凯, 龚杨明, 等. 2015年中国结直肠癌发病和死亡情况分析 [J]. 中国癌症杂志, 2020, 30(4): 241-245.
- [3] 李凌云, 解华, 张宁, 等. 奥沙利铂分别联合卡培他滨和替吉奥治疗晚期结直肠癌的临床疗效分析 [J]. 安徽医药, 2016, 20(8): 1570-1572.
- [4] OGURI T, FUJIWARA Y, KATOH O, et al. Glutathione S-transferase-pi gene expression and platinum drug exposure in human lung cancer [J]. Cancer Lett, 2000, 156(1): 93-99.
- [5] 陈硕, 张林, 王柏雪, 等. 基因多态性与结直肠癌化疗毒性及疗效的关系 [J]. 天津医药, 2019, 47(6): 584-589.
- [6] KAP EJ, SEIBOLD P, RICHTER S, et al. Genetic variants in DNA repair genes as potential predictive markers for oxaliplatin chemotherapy in colorectal cancer [J]. Pharmacogenomics J, 2015, 15(6): 505-512.
- [7] HU LB, CHEN Y, MENG XD, et al. Nucleotide excision repair factor XPC ameliorates prognosis by increasing the susceptibility of human colorectal cancer to chemotherapy and ionizing radiation [J]. Front Oncol, 2018, 8: 290.
- [8] 魏嘉, 刘宝瑞, 王亚平, 等. DNA修复基因单核苷酸多态性与铂类药物抵抗研究进展 [J]. 中华肿瘤杂志, 2006, 28(3): 161-163.
- [9] 国家卫生计生委医政医管局, 中华医学会肿瘤学分会. 中国结直肠癌诊疗规范(2017年版) [J]. 中华胃肠外科杂志, 2018, 21(1): 92-106.
- [10] MIAO J, ZHANG X, TANG Q L, et al. Prediction value of XRCC1 gene polymorphism on the survival of ovarian cancer treated by adjuvant chemotherapy [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(10): 5007-5010.
- [11] 杜培, 王沂峰, 张晓薇, 等. ERCC1和BRCA1表达与原发上皮性卵巢癌患者临床因素及铂类化疗敏感性的研究 [J]. 医药导报, 2014, 33(6): 747-751.
- [12] 张逸羿, 卢星榕. 结直肠癌奥沙利铂化疗耐药机制的研究进展 [J]. 生理科学进展, 2018, 49(2): 144-148.
- [13] CHENG XD, LU WG, YE F, et al. The association of XRCC1 gene single nucleotide polymorphisms with response to neoadjuvant chemotherapy in locally advanced cervical carcinoma [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2009, 28: 91.
- [14] 胡镭, 于东风, 刘弋, 等. ERCC1和TUBB3在晚期胃癌组织中的表达及其临床意义 [J]. 安徽医药, 2015, 19(5): 891-894.
- [15] WARNECKE-EBERZ U, VALLBÖHMER D, ALAKUS H, et al. ERCC1 and XRCC1 gene polymorphisms predict response to neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal cancer [J]. J Gastrointest Surg, 2009, 13(8): 1411-1421.
- [16] SHIMOYAMA S. Pharmacogenetics of fluoropyrimidine and cisplatin. A future application to gastric cancer treatment [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2009, 24(6): 970-981.
- [17] YE F, LIU Z, TAN A, et al. XRCC1 and GSTP1 polymorphisms and prognosis of oxaliplatin-based chemotherapy in colorectal cancer: a meta-analysis [J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2013, 71(3): 733-740.
- [18] VIGUIER J, BOIGE V, MIQUEL C, et al. ERCC1 codon 118 polymorphism is a predictive factor for the tumor response to oxaliplatin/5-fluorouracil combination chemotherapy in patients with advanced colorectal cancer [J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(17): 6212-6217.
- [19] TSAO-WEI D, IOBAL S, STOEHLMACHER J, et al. A polymorphism of the XRCC1 gene predicts for response to platinum based treatment in advanced colorectal cancer [J]. Anticancer Research: International Journal of Cancer Research and Treatment, 2001, 21(4B): 3075-3079.

(收稿日期: 2019-08-29, 修回日期: 2020-09-25)