

非小细胞肺癌 XRCC1Arg399Gln 基因分析与顺铂疗效的关系

李 恒, 黄云超, 冯 雨

(昆明医科大学第三附属医院, 云南省肿瘤医院, 云南昆明 650118)

[摘要] **目的** 探讨 X 线修复交叉互补基因 1 (x-ray repair cross complementing group 1, XRCC1) Arg399Gln 基因多态性分析与顺铂疗效的相关性. **方法** 回顾性分析 83 例接受以顺铂为主的联合化疗非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者的治疗效果. 应用多聚酶链反应-限制性片段长度 (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP) 法分析 XRCC1Arg399Gln 的多态性, 并对两者关系进行分析. **结果** 携带 XRCC1399Arg/Arg 基因型患者 49 例 (59.04%), 携带 Arg/Gln 基因型 28 例 (33.73%), 携带 Gln/Gln 基因型 6 例 (7.23%). 在 XRCC1399Arg/Arg、Arg/Gln 和 Gln/Gln 携带者中, 化疗有效率分别为 42.86%、11.2% 和 19.3%. A/A 组化疗有效率优于 A/G+G/G (42.86%vs11.76%), $P < 0.05$. Gln 等位基因携带者的疗效不如 Arg 等位基因携带者. XRCC1 基因型与化疗毒副作用的发生没有明显相关性. **结论** XRCC1Arg399Gln 基因分型与顺铂疗效有一定关系, 其中携带 XRCC1399Arg/Arg 患者更有利于使用顺铂, 可以为临床用药提供一定的依据.

[关键词] 非小细胞肺癌; XRCC1Arg399Gln; 顺铂; 疗效

[中图分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2013) 06 - 0082 - 03

Association between XRCC1 Arg399 Gln Polymorphisms in Non-small Cell Lung Cancer with Efficacy of Platinum-based Chemotherapy

LI Heng, HUANG Yun - chao, FENG Yu

(The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Yunnan Tumor Hospital,
Kunming Yunnan 650118, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the relationship between XRCC1 Arg399 Gln polymorphisms and the efficacy of platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** Eighty-three patients with NSCLC treated with platinum-based chemotherapy were enrolled in this study and their tumor samples were collected retrospectively for analysis. The polymorphisms of XRCC1 Arg399 Gln in NSCLC were detected by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP), and the data were collected and analyzed. **Results** Of all cases, the frequencies of XRCC1 codon 399 Arg /Arg, Arg /Gln and Gln /Gln genotype were 59.04%, 33.73% and 7.23%, respectively. The response rate to therapy in patients with XRCC1 codon 399 Arg /Arg genotype (42.86%) was significantly higher than that in patients with the Arg /Gln and Gln/Gln genotype (11.76%). The response rate to therapy in patients with XRCC1 codon 399 Arg/Arg genotypes was significantly higher than that in patients with other XRCC1 genotypes. XRCC1 genotypes had no significant correlation with the side effects of chemotherapy. **Conclusion** It has certain relationships between the polymorphisms of XRCC1 Arg399 Gln and platinum-based chemotherapy in NSCLC, and the patients with XRCC1 399Arg/Arg are more conducive to use platinum-based chemotherapy. The results can provide some basis for clinical medication.

[Key words] Non-small cell lung cancer; XRCC1 Arg399 Gln; Cisplatin; Efficacy

[基金项目] 云南省社会发展重点基金资助项目 (2010CA105)

[作者简介] 李恒 (1989~), 男, 云南宜良县人, 在读硕士研究生, 主要从事胸部肿瘤多学科治疗工作.

[通讯作者] 黄云超. E-mail:huangych2001@yahoo.com.cn

含顺铂的联合化疗方案是治疗晚期非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 的标准治疗方案之一, 耐药性的出现使其临床应用受到限制. 相关研究提示 XRCC1 的单核苷酸多态性与铂类药物的敏感性相关^[1]. 笔者采用 PCR-RFLP 法分析 2012 年 1 月至 2013 年 1 月在昆明医科大学第三附属医院治疗的 83 例 NSCLC 患者 XRCC1Arg399Gln 的基因情况, 探讨其与顺铂疗效关系, 现报道如下.

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取昆明医科大学第三附属医院胸外科 2012 年 1 月至 2013 年 1 月期间 83 例 IIIa 期以上 NSCLC 患者. 男性 47 例, 女性 36 例, 男女比例 1.3:1, 平均年龄 63.07 岁. 鳞癌 39 例, 腺癌 44 例. KPS 评分 ≥ 80 分. 入院前完成脑 MRI, 胸、腹部 CT, 骨扫描等检查, 明确临床分期. 行血常规、肝肾功能、心电图等检查明确化疗指征. 所有患者均签署知情同意书, 化疗前抽静脉血 2 mL, 置乙二胺四乙酸钠抗凝管, 分离白细胞层. 用 QIAampDNA 提取试剂盒提取白细胞 DNA, DNA 置 -80°C 低温冰箱保存备用.

1.2 化疗方法

所有患者均接受以顺铂为主的方案化疗, 采用 NP 方案化疗 31 例, TP 方案化疗 27 例, GP 方案化疗 25 例. NP 方案: 长春瑞滨 25 mg/m^2 , d1, d5; 顺铂 25 mg/m^2 , d1 ~ 3. TP 方案: 紫杉醇 $60 \sim 90\text{ mg/m}^2$, d1, d8; 顺铂 25 mg/m^2 , d1 ~ 3. GP 方案: 吉西他滨 $1\ 250\text{ mg/m}^2$, d1, d8; 顺铂 25 mg/m^2 , d1 ~ 3; 所有药物均静脉滴注. 每 4 周 1 个疗程, 共 2 ~ 3 个疗程.

1.3 基因型分析

使用 PCR-RFLP 法检测 XRCC1Arg399Gln 的基因分型, 引物序列根据 XRCC1Arg399Gln 公布的序列合成 (XRCC1LotNumber480524, AssayID: C-622564-10)^[2]. PCR 反应体系为 $25\ \mu\text{L}$, 模板 $1.0\ \mu\text{L}$, $2.5 \times \text{RealMasterMix}$ $11.50\ \mu\text{L}$, 上下游引物各 $1.0\ \mu\text{L}$, ddH₂O $10.50\ \mu\text{L}$. 反应条件: 95°C 预变性 2 min, 95°C 变性 30 s, 60°C 退火 30 s, 70°C 延伸 30 s, 反应共进行 40 个循环.

1.4 疗效评价方法

含铂方案治疗 2 个疗程以上, 按照 WHO 实体瘤标准评定疗效分为: 完全缓解 (CR), 即所有靶病灶消失, 无新病灶出现, 且肿瘤标志物正常,

至少维持 4 周; 部分缓解 (PR), 即靶病灶最大径之和减少 $\geq 30\%$, 至少维持 4 周; 疾病稳定 (SD), 即靶病灶最大径之和缩小未达 PR, 或增大未达 PD; 疾病进展 (PD), 即靶病灶最大径之和至少增加 $\geq 20\%$, 或出现新病灶. 以完全缓解 (CR) + 部分缓解 (PR) 为有效.

1.5 统计学分析

采用 SPSS 统计软件包, 进行数据分析. 对 XRCC1Arg399Gln 基因多态性与化疗疗效, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 疗效分析

入组的 83 例均完成 2 周期以上化疗, 采用铂类化疗的 NSCLC 患者中 CR 4 例 (4.82%), PR 21 例 (25.3%), SD 47 例 (56.63%), PD 11 例 (13.25%), 化疗总有效率为 30.12%.

2.2 基因多态型与化疗疗效之间的关系

经过 PCR-RFLP 法分析发现在 83 例患者中, 携带 XRCC1399Arg/Arg 基因型患者 49 例 (59.04%), 携带 Arg/Gln 基因型 28 例 (33.73%), 携带 Gln/Gln 基因型 6 例 (7.23%). 在 XRCC1399Arg/Arg、Arg/Gln 和 Gln/Gln 携带者中, 化疗有效率分别为 42.86%、11.2% 和 19.3%. 由于 Gln/Gln 例数较少, 可将后两者合并, 所有患者分成两组 (A/A 组和 A/G+G/G 组). A/A 组化疗有效率优于 A/G+G/G (42.86% vs 11.76%), $P < 0.05$, 见表 1. 由此可见, Gln 等位基因携带者的疗效不如 Arg 等位基因携带者.

2.3 XRCC1 与化疗毒副反应的关系

化疗 3 ~ 4 度消化道反应与患者携带 A/A、A/G、G/G 基因型无相关性 ($P > 0.05$); 化疗 3 ~ 4 度骨髓抑制与患者携带 A/A、A/G、G/G 基因型亦无相关性 ($P > 0.05$), 见表 2.

表 1 基因多态型与化疗疗效的关系 (n)

Tab. 1 The relationship between the polymorphisms of XRCC1 Arg399 Gln and platinum-based chemotherapy in NSCLC (n)

基因型	n	有效	无效
A/A	49	21*	28
A/G+G/G	34	4	30

与 A/G+G/G 比较, * $P < 0.05$.

表 2 基因多态型与化疗毒副反应的关系 (n)

Tab. 2 The relationship between the polymorphisms of XRCC1 Arg399 Gln and the side effects of chemotherapy (n)

基因型	n	消化道反应		骨髓抑制	
		0~2度	3~4度	0~2度	3~4度
A/A	49	34	15	32	17
A/G	28	19	7	16	12
G/G	6	5	1	4	2

3 讨论

XRCC1 染色体位于 19 号染色体的 q13.2 - q13.3, 含有 17 个外显子, 作用机制是其直接与聚合酶 β 、DNA 连接酶 III 和多聚 ADP 核糖聚合酶形成复合物, 共同参与碱基切除修复和单链断裂修复^[1]。相关研究表明 XRCC1 内有 3 处最常见的 SNPs, 其中 G28152A 导致的 399 位氨基 Arg→Gln 突变, 可导致个体核苷酸切除修复能力及单链断裂修复能力降低, 机体对铂类药物造成的细胞 DNA 损伤恢复能力减低, 铂类药物对肿瘤的敏感性增强^[4,5]。

顺铂为目前常用的金属配合物, 能与 DNA 结合形成交叉连接, 从而破坏 DNA 的结构和功能, 抑制 RNA 及蛋白质合成, 对乳腺癌、肺癌、卵巢癌等实体肿瘤有效。顺铂联合长春瑞滨、紫杉醇及吉西他滨等药组成的化疗方案, 成为晚期非小细胞肺癌的标准治疗方案之一, 极大改善患者的生存质量和延长生存期。随着分子生物学和药理学的发展, 各种生物标记物被用于临床, 筛选对药物敏感的患者, 以提高化疗疗效^[6]。

本实验研究表明 XRCC1Arg399Gln 基因分析与癌细胞对顺铂化疗药物敏感性有关, 其中 XRCC1G/G 基因型患者的化疗有效率高于其他两型, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。但 XRCC1 基因型与化疗毒副反应的发生没有明显相关性, 与国内外相关报道相似。Kalikaki 等^[7]采用多 PCR-RFLP 法分析技术检测 119 例 NSCLC 患者 XRCC1 基因型, 研究结果示 XRCC1 基因 Arg399Arg 可作为评价化疗疗效的一个独立因素, 携带该基因的患者化疗有效率高于 XRCC1 基因 Arg399Gln 和 XRCC1 基 Gln399Gln。李代蓉等^[8]采用基因测序法检测 83 例 NSCLC 患者外周血中 XRCC1 基因 Arg399Gln 的基因型, 结果显示携带 XRCC1 基因 Arg399Arg 的有效率为 76.9%, 远高于其他两型。上述研究说明 XRCC1 基因 Arg399Arg 与顺铂敏感性有一定的关

系。

XRCC1Arg399Gln 多态性有可能作为预测顺铂化疗敏感性的指标之一。但基因单核苷酸多态性的作用机制尚不清楚, 同时受研究样本的地域及量的限制, 其临床应用尚需进一步研究。以后可通过多中心, 大样本量, 并联合其他的相关药物进行基因单核苷酸多态性研究, 以达到对肿瘤患者的个体化治疗, 提高化疗疗效, 延长患者生存时间。

[参考文献]

- [1] DUARTE M C, COLOMBO J, ROSSITAR, et al. Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 in a Brazilian population [J]. *Genetics and Molecular Biology*, 2005, 28 (3): 397 - 401.
- [2] LUNN R M, LANGLOIS R G, H SIEH L L, et al. XRCC1 polymorphisms effects on aflatoxin B1-DNA adducts and glycophorin A variant frequency [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(11): 2557 - 2561.
- [3] KUTOBA Y, NASH R A, KLUNGLAND A, et al. Reconstitution of DNA base excision repair with purified human protein: interaction between DNA polymerase beta and the XRCC1 protein [J]. *EMBO J*, 1996, 15(23): 6662 - 6670.
- [4] SHERIF Z A, RANDA E. The 399 Gln polymorphism in the DNA repair gene XRCC1 modulates the genotoxic response induced in human lymphocytes by the tobacco-specific nitrosamine NNK [J]. *Cancer Lett*, 2000, 159(1): 63 - 71.
- [5] BREMER, HALL J. XRCC1 is required for DNA single strand break repair in human cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2005, 33(8): 2512 - 2520.
- [6] 万德森. 临床肿瘤学 [M]. 第 2 版. 北京: 科学出版社, 2006: 96.
- [7] KALIKAKI A, KANAKI M, VASSALOU H, et al. DNA repair gene polymorphisms outcome in advanced non-small cell lung cancer [J]. *Clin Lung Cancer*, 2009, 10(2): 118 - 123.
- [8] 李代蓉, 杨燕青, 田玲, 等. DNA 修复基因多态性与肺癌顺铂化疗敏感性的研究 [J]. *肿瘤*, 2011, 31(4): 348 - 353.

(2013 - 04 - 13 收稿)