

## XRCC1 在脑胶质瘤中的表达及与放疗的相关性研究

牛华涛<sup>1)</sup>, 罗林<sup>1)</sup>, 胡早秀<sup>2)</sup>, 袁红平<sup>1)</sup>, 左 频<sup>1)</sup>, 范耀东<sup>1)</sup>

(1) 昆明医科大学第三附属医院, 云南省肿瘤医院神经外科, 云南昆明 650118; 2) 病理科, 云南昆明 650118)

**[摘要]** **目的** 初步探讨脑胶质瘤 X 线修复交叉互补基因 1 (XRCC1) 的表达与不同级别脑胶质瘤及放疗的关系. **方法** 将 26 例脑胶质瘤标本分为 4 组, 经免疫组化染色后, 观察 XRCC1 的表达部位和程度. **结果** XRCC1 在脑胶质瘤中的表达呈棕黄色粗大颗粒, 定位于细胞核内, 阳性细胞散在或局灶性分布, 染色强度及分布无明显规律. 不同级别胶质瘤的 XRCC1 阳性表达无显著性差异 ( $P > 0.05$ ). **结论** XRCC1 的表达与脑胶质瘤的病理分级无明显相关性, 测定 XRCC1 的表达水平可为胶质瘤的个性化放射治疗提供部分参考依据.

**[关键词]** 胶质瘤; XRCC1; 放射治疗

**[中图分类号]** R739.41 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095 - 610X (2013) 11 - 0029 - 04

## Correlation Study of the Expression of XRCC1 to the Effect of Radiotherapy in Gliomas

NIU Hua - tao<sup>1)</sup>, LUO Lin<sup>1)</sup>, HU Zao - xiu<sup>2)</sup>, YUAN Hong - ping<sup>1)</sup>, ZUO Pin<sup>1)</sup>, FAN Yao - dong<sup>1)</sup>

(1) Dept. of Neurosurgery, The 3rd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650118; 2) Dept. of Pathology, The 3rd Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650118, China)

**[Abstract]** **Objective** To explore the relationship between the expression of XRCC1 and glioma. **Methods** Total of 26 samples of glioma were divided into 4 groups: grade I、grade II、grade III and grade IV. The expression of XRCC1 in 26 Gliomas tissues were examined using SP immunohistochemical staining. **Results** The positive staining of XRCC1 protein was localized in nucleus of tumor cells in Glioma. There was no correlation in them. The difference of XRCC1 expression among grade I ~ IV was not significant ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** The difference of XRCC1 expression among grade I ~ IV was not significant. The expression of XRCC1 was closely correlated with the effect of radiotherapy.

**[Key words]** Glioma; XRCC1; Radiotherapy

脑胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性恶性肿瘤, 约占颅内肿瘤的 40% 以上<sup>[1]</sup>. 在人体三大早亡的实体性恶性肿瘤中, 即肝癌、肺癌、脑胶质瘤, 生存期之短, 仅次于肝癌, 堪称“癌后”. 目前临床标准治疗方案是手术联合放、化疗等综合治疗<sup>[2]</sup>. 由于胶质瘤的浸润性生长特性, 术后复发率接近 100%, 目前尚缺乏有效的化疗药物, 其治疗始终是神经外科中的一个难题. 已进行的临床和基

础研究都表明其预后较差, 经过正规的综合治疗后, 多数恶性胶质瘤患者平均生存时间仅为 8 ~ 12 个月<sup>[3,4]</sup>.

对于胶质瘤患者, 如何提高疗效, 延长生存期, 提高生活质量, 显得尤为迫切和重要. 而放射治疗是目前一种较为理想的治疗方式, 因为它不受血脑屏障的限制, 放射线可以直接或者间接杀灭肿瘤细胞. 而胶质瘤细胞的放射敏感性是影响其放疗

**[基金项目]** 云南省科技厅社会发展科技计划基金资助项目 (2010ZC129)

**[作者简介]** 牛华涛 (1979 ~), 男, 河南正阳县人, 医学硕士, 主治医师, 主要从事脑胶质瘤及转移瘤的诊临床工作.

**[通讯作者]** 袁红平. E-mail: nht123@sohu.com

效果的重要因素,由于肿瘤细胞的异质性,针对胶质瘤患者采取个性化放射治疗方案十分必要。

本研究通过测定胶质瘤组织中(X-ray repair cross complementing gene, XRCC1)的表达水平,拟预先评估胶质瘤细胞对放射治疗的敏感性,对于指导临床个性化放疗,提高疗效等方面有着重要意义。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

收集昆明医科大学第三附属医院神经外科 2011 年 1 月至 2013 年 09 月手术切除的 26 例经病理学确诊为胶质瘤的肿瘤标本组织。所有患者术前均未行放、化疗及患有其他类型肿瘤。患者年龄 26~68 岁,平均 42.3 岁,其中男性 16 例,女性 10 例;按照 WHO 关于中枢神经系统肿瘤分类法,将 26 例脑胶质瘤患者分为 4 组: I 级组 1 例, II 级组 8 例, III 级组 10 例, IV 级组 7 例。由于例数较少,尚无法完成各组别患者年龄及性别构成统计学差异。

### 1.2 方法

**1.2.1 主要试剂** 浓缩型鼠抗人 XRCC1 单克隆抗体购自美国 Neo Marks 公司,通用型 SP 广谱试剂盒、DAB 显色剂均购自福州迈新生物技术开发有限公司。按照试剂盒说明书提供的实验方法进行。

**1.2.2 标本处理** 所有肿瘤组织标本经中性福尔马林液固定 16~24 h,然后石蜡包埋,4 μm 厚度连续切片 2 张。一张切片行 HE 染色,作为组织学分级,一张切片行免疫组织化学染色。

**1.2.3 免疫组织化学染色** 石蜡切片经二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,3%过氧化氢甲醇溶液,室温下孵育 20 min,以阻断内源性过氧化物酶活性,蒸馏水冲洗后,在室温下抗原修复;滴加鼠抗人 XRCC1 单克隆抗体,孵育 60 min (37℃);生物素标记的第二抗体,室温孵育 10 min;链霉菌抗生物素-过氧化物酶溶液,室温孵育 10 min;DAB 显色;显微镜下观察显色情况,显色适度后自来水冲洗中止反应,然后脱水、透明、封固,光镜下观察并摄片。

**1.2.4 评价标准** XRCC1 阳性表达定位于胞核,染色阳性细胞为细胞核着色,呈棕黄色颗粒。在高倍镜(40×10)下有 3 个以上细胞核棕染并且明显高于背景者判定为阳性(+),否则判定为阴性(-)。其中(+)及(++)者界定为阳性;(-)及可疑阳性者界定为阴性。所有检测结果在双盲情

况下由研究人员及专业人员分别阅片评估。

### 1.4 统计学方法

采用 SPSS 统计分析软件进行统计学处理。计数资料采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 XRCC1 在脑胶质瘤中的表达

XRCC1 表达阳性的细胞为染色呈棕黄色,位于胞核内,阳性细胞散在或局灶性分布;通过光镜下观察,在同一肿瘤组织切片中,阳性细胞的染色强度及分布呈不均一性,无明显规律。本组 26 例脑胶质瘤组织 XRCC1 的阳性表达率为 23.1%。

### 2.2 XRCC1 在不同病理级别胶质瘤中的表达

XRCC1 的阳性表达在 I 级、II 级、III 级、IV 级各组间的比较无显著性差异( $P > 0.05$ );XRCC1 的阳性表达在低级别组(I 级+II 级)和高级别组(III 级+IV 级)间的比较无显著性差异( $P > 0.05$ ),见表 1。

## 3 讨论

脑胶质瘤是颅内最常见的原发性恶性肿瘤,起

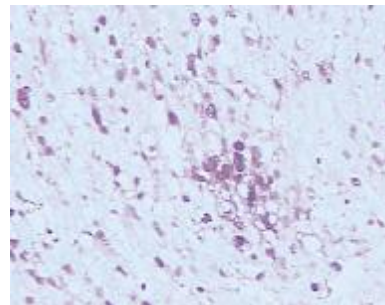


图 1 XRCC1 在瘤细胞中的阳性表达(×400)

Fig. 1 The positive expression of XRCC1 in glioma (×400)



图 2 XRCC1 在瘤细胞中的阴性表达(×200)

Fig. 2 The negative expression of XRCC1 in glioma (×400)

表 1 XRCC1 在胶质瘤中的表达情况  
Tab. 1 The expression of XRCC1 in gliomas

胶质瘤级别组别	阳性 (n)	阴性 (n)	总例数
I	0	1	1
II	4	4	8
III	1	9	10
IV	1	6	7
I + II	4	5	9
III + IV	2	15	17
合计	6	20	26

源于脑组织中的神经胶质细胞, 占全部颅内肿瘤的 40% 以上. 其呈浸润性生长, 与正常的脑组织间无明显边界, 而且随着病程的延长, 肿瘤的恶性程度有不断增高的趋势; 恶性脑胶质瘤一经诊断发现后, 单纯手术者一般生存期仅为 6 个月, 术后辅以放射治疗和化学治疗者, 平均生存时间仅为 8 ~ 12 个月<sup>[3,4]</sup>.

目前脑胶质瘤的临床标准治疗方案是手术联合放、化疗等综合治疗. 长期以来, 由于胶质瘤的浸润性生长特性, 术中无法全切, 术后复发率接近 100%, 同时由于化疗药物不易透过血脑屏障而影响其疗效, 且缺乏有效的化疗药物, 导致临床上单纯化疗疗效不令人满意.

而放射治疗对于胶质瘤治疗而言, 是一种较为理想的治疗方式, 因为放射线可以直接穿透血脑屏障, 到达靶区, 并且可以根据肿瘤形状不同进行调整, 行三维适形放疗 (three-dimensional conformal radiotherapy, 3D - CRT), 可以最大程度的对肿瘤细胞进行杀灭, 保护正常脑组织.

然而, 对于胶质瘤在目前临床放射治疗的过程中, 其疗效仍尚不理想, 主要原因是受胶质瘤细胞的放射敏感性不同所导致. 由于肿瘤细胞的异质性<sup>[5]</sup>, 为了在脑胶质瘤放射治疗方面进一步提高疗效, 减少副作用, 胶质瘤的个性化放射治疗成为一种趋势. 而在放射治疗前, 为胶质瘤的个性化放射治疗提供一个新的靶点和方向, 找到预测胶质瘤细胞放射敏感性的标识, 避免过度医疗、盲目治疗或治疗不彻底, 显得非常必要.

人体正常细胞内存有一套完整的 DNA 修复系统, 基因的完整性会受到缺陷的 DNA 修复通路破坏, 从而使正常细胞转变为恶性细胞, 从而引发肿瘤或其它疾病<sup>[6]</sup>. 各种 DNA 修复基因的缺陷与恶性肿瘤的发生发展有着密切的关系.

肿瘤细胞的 DNA 是放射治疗过程中损伤的重要靶分子, 放射线能引起 DNA 直接或间接损伤,

从而达到杀灭肿瘤细胞的目的. 放射线引起肿瘤细胞 DNA 的损伤, 包括: 碱基损伤、单链断裂 (single-strand breaks, SSB)、双链断裂 (double-strand breaks, DSB), DNA-DNA 交联和 DNA-蛋白质交联等损伤. 其中致死性损伤是双链断裂, 但在电离辐射的作用下, 碱基损伤和单链断裂是更为常见的损伤, 修复碱基损伤和单链断裂需要通过碱基切除修复 (base-excision repair, BER) 途径.

XRCC1 基因是哺乳动物第一个被分离到的离子辐射敏感基因. 人的 XRCC1 基因位于染色体 19q13.2 ~ 13.3, 全长约 33kb. 其作为碱基损伤和单链断裂修复途径中重要组成成分<sup>[7]</sup>. XRCC1 蛋白结构中, 有 3 个结构与之相互作用, 包括: DNA 聚合酶 B (Pol  $\beta$ )、聚多酶 (PARP)、连接酶 III (LIG3), 上述结构域, 相互作用, 形成复合物, 在修复因电离辐射和氧化损伤引起的碱基损伤和单链断裂过程中起着重要作用.

Connell PP 等研究表明: 肿瘤细胞的放射敏感性与其 DNA 的损伤修复能力有着重要关系<sup>[8]</sup>. 碱基切除修复相关蛋白表达高的细胞较相关修复蛋白表达低的细胞对放射线更为耐受, 而碱基切除修复缺陷的细胞较正常细胞对 X-射线的敏感性明显增加, 反映了细胞对放射线的敏感性与碱基切除修复能力相关的现象.

XRCC1 是影响细胞对放射治疗反应的基因之一, 在电离辐射等过程中损伤 DNA 时, 这种 DNA 修复蛋白可以高效快速的对损伤的 DNA 进行修复. 前期对肿瘤细胞的放射敏感性和放射性损伤与 XRCC1 的单核苷酸多态性方面进行了多项研究<sup>[9,10]</sup>. 刘珊珊等<sup>[11]</sup>研究表明: 在食管癌相关研究中, 肿瘤细胞的碱基切除修复能力由于 XRCC1 蛋白的表达缺失降低了, 从而导致肿瘤细胞对放射线的敏感性增强. 但关于 XRCC1 蛋白表达与胶质瘤放射敏感性的关系鲜见报道.

通过对本组病例进行研究, 各组别胶质瘤 XRCC1 蛋白的表达虽无统计学意义上的差异, 但是我们可以通过前期研究, 加以推测, 提示在临床中 XRCC1 蛋白阴性表达患者在一定程度上较阳性表达患者可能在放射治疗中更能获益. 原因如下: 由于部分胶质瘤细胞中的 XRCC1 蛋白的表达缺失, 可以降低胶质瘤细胞的碱基切除修复能力, 从而增强其对放射线的敏感性, 更多的杀灭肿瘤细胞. 上述推测有待以后增加样本量, 并通过进一步的深入实验、长期随访及影像学复查加以证实.

因此, 笔者认为, 为了在脑胶质瘤治疗方面有所提高和突破, 为胶质瘤的个性化治疗提供一个新的靶点和方向, 并为其复发风险及预后评估提供部分新的依据, 在临床工作中, 对于脑胶质瘤患者, 在行放射治疗前, 为避免过度医疗、盲目治疗或治疗不彻底, 应尽可能找到预测胶质瘤放射治疗敏感性的标识, 这种有预见性的个性化放射治疗方案, 不仅可以减轻患者的痛苦, 而且可以提高放疗疗效, 具有重要的临床意义.

#### [参考文献]

- [1] STUPP R, HEGI M E, VAN DEN BENT M J, et al. Changing paradigms: an update on the multidisciplinary management of malignant glioma [J]. *Oncologist*, 2006, 11(2):165 - 180.
- [2] CORSA P, PARISI S, RAGUSO A, et al. Temozolomide and radio therapy as first-line treatment of high-grade gliomas [J]. *Tumori*, 2006, 92(4):299 - 305.
- [3] KORTMANN D, JEREMIC B, WELLER M, et al. Radiochemo therapy of malignant glioma in adults [J]. *Strahlenther Oncol*, 2003, 179(4):219-232.
- [4] 牛华涛, 梁振, 王佳, 等. 恶性胶质瘤术后采用三维适形放疗联合替莫唑胺化疗临床观察[J]. *昆明医学院学报*, 2011, 32(12):97 - 100.
- [5] 刘志刚, 陈华云, 夏云飞, 等. DNA 修复基因 ERCC1 启动子区甲基化与胶质瘤放射敏感性的相关性研究[J]. *中国神经肿瘤杂志*, 2007, 5(3):156 - 159.
- [6] LADIGES W, WILEV J, MACAULEY A. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1 and age-related disease [J]. *Mech Ageing Dev*, 2003, 124(1):27 - 32.
- [7] HUNG R J, HALL J, BRENNAN P, et al. Genetic polymorphisms in the base excision repair path way and cancer risk: a Hu GE review [J]. *Am J Epidemiol*, 2005, 162(10):925-942.
- [8] CONNELL P P, KRON S J, WEICHSELBAUM R R. Relevance and irrelevance of DNA damage response to radiotherapy [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2004, 3(8-9):1245 - 1251.
- [9] COMETTA T, FESTA F, TEST A A, et al. DNA damage repair and genetic Polymorphisms: Assessment of individual sensitivity and repair capacity [J]. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 2006, 66(2):537 - 545.
- [10] AZRIA D, OZSAHIN M, KRAMAR A, et al. Single nucleotide polymorphisms, a poptosis, and the development of severe late adverse effects after radiotherapy [J]. *Int J Clinical Cancer Research*, 2008, 14(19):6284 - 6288.
- [11] 刘珊珊, 穆克代斯伊力亚斯, 张瑾熔, 等. XRCC1 和 ERCC1 在食管鳞状细胞癌中的表达与放疗疗效及预后的相关性研究[J]. *新疆医科大学学报杂志*, 2010, 33(5):477 - 481.

(2013-10-12 收稿)