

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.06.011

XPD 和 ERCC1 基因多态性与进展期结直肠癌患者铂剂为基础化疗方案治疗的毒副作用*

张正华 侯凯生 谢 芳 金重华 洪洁艳 卫海民 吴学勇[△]

(上海市静安区中心医院肿瘤科 上海 200040)

摘要 目的: 探讨着色性干皮病基因 D (Xeroderma Pigmentosum D, XPD) 和剪切修复交叉互补基因 1 (Excision Repair Cross Complementing Gene 1, ERCC1) 多态性基因型与以铂类为基础的化疗方案治疗结直肠癌的毒副作用的关系。**方法:** 采用聚合酶链反应 -- 限制性片段长度多态性 (Polymerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism, PCR-RFLP) 分析方法, 对我院 2010 年 12 月至 2013 年 12 月应用含奥沙利铂方案治疗的 42 例汉族进展期结直肠癌患者的 XPD 和 ERCC1 的多态性基因型进行分析, 比较不同基因型与临床病理因素及化疗不良反应的关系。**结果:** XPD、ERCC1 的单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphism, SNP) 分布与年龄、性别、淋巴转移、肿瘤的部位、化疗史、分化程度、器官转移个数差异无统计学意义 ($P > 0.05$); XPD 基因型中, 其中 AA 基因型以骨髓抑制、恶心呕吐为主, AG 基因型以腹泻及肝肾损伤为主, GG 基因型以神经毒性及口腔黏膜炎为主, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); ERCC1 基因型中, LG 基因型以骨髓抑制、恶心呕吐及腹泻等症状为主, LL 基因型以肝肾损伤、神经毒性及口腔黏膜炎为主, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** XPD 和 ERCC1 的基因型可能与结直肠癌铂类药物化疗的不良反应有关。

关键词: 结直肠癌; 着色性干皮病基因 D; 剪切修复交叉互补基因 1; 化疗; 不良反应

中图分类号: R735.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2015)06-1046-04

Role of Xeroderma Pigmentosum D and Excision Cross Repair Cross Complementing Gene 1 Polymorphism in the Occurrence of Side Effects for Advanced Colorectal Cancer Patients with Treatment of Platinum Based Chemotherapy*

ZHANG Zheng-hua, HOU Kai-sheng, XIE Fang, JIN Zhong-hua, HONG Jie-yan, WEI Hai-min, WU Xue-yong[△]

(Department of Oncology, Jing'an District Centre Hospital of Shanghai, Shanghai, 200040, China)

ABSTRACT Objective: To investigate role of Xeroderma Pigmentosum D and Excision Cross Repair Cross Complementing Gene 1 polymorphism in the occurrence of side effects for advanced colorectal cancer patients with treatment of platinum based chemotherapy. **Methods:** The XPD and ERCC1 gene polymorphism of 42 cases of Han patients with advanced colorectal cancer who were treated by programs with oxaliplatin in our hospital from 2010 December to 2013 December were analysed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). The relationship among different genotypes and clinical pathological factors and side effects of chemotherapy were analyzed. **Results:** There was no significant difference in the age, gender, lymphatic metastasis, tumor location, history of chemotherapy, differentiation, and the number of organ metastasis between single nucleotide polymorphism (SNP) distribution of XPD and ERCC1 ($P > 0.05$). Of the genotype of XPD, AA was related to the bone marrow suppression, nausea and vomiting, diarrhea; AG to liver injury; GG to neurotoxicity and oral mucositis; the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Of ERCC1 genotype, LG was related to bone marrow suppression, nausea, vomiting and diarrhea and other symptoms; LL to liver and kidney damage, neurotoxicity and oral mucositis; the differences were statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** Genotypes XPD and ERCC1 may be associated with the occurrence of side effects for advanced colorectal cancer patients with platinum based chemotherapy.

Key words: Colorectal cancer; Xeroderma Pigmentosum D; Excision Repair Cross- Complementing 1; Chemotherapy; Side effect

Chinese Library Classification (CLC): R735.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)06-1046-04

前言

奥沙利铂是第 3 代铂类化合物,其通过与脱氧核糖核酸(DNA)

* 基金项目:上海市静安区十百千人才建设工程(201006B003)

作者简介:张正华(1976-),男,硕士,主治医师,从事肿瘤化疗、热疗、靶向及个体化治疗的研究,

电话:18916731691, E-mail: drzzh@163.com

△ 通讯作者:吴学勇, E-mail: reliaocentre@163.com

(收稿日期:2014-07-10 接受日期:2014-07-31)

结合形成铂-DNA 加合物,对肿瘤细胞 DNA 造成损伤,从而导致细胞死亡^[1]。在治疗消化道恶性肿瘤方面疗效已得到肯定,铂类药物引起的肿瘤细胞 DNA 损伤可以由核苷酸切除修复系统(如着色性干皮病 D 组基因 (*Xeroderma Pigmentosum D*, *XPB*)和剪切修复交叉互补基因 1(*Excision Repair Cross Complementing 1*, *ERCC1*) 进行修复, *XPB* 和 *ERCC1* 与铂类药物敏感性的关系,目前已作了大量的研究^[2-4],但 *XPB* 和 *ERCC1* 与以铂类为基础的化疗方案引起的毒副作用的关系研究较少。据此,本研究用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (Polymerase Chain Reaction- Restriction Fragment Length Polymorphism, PCR-RFLP) 方法检测 *XPB* 和 *ERCC1* 基因多态性从而探讨 *XPB* 和 *ERCC1* 和铂类药物不良反应的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集我院 2010 年 12 月至 2013 年 12 月应用含奥沙利铂方案治疗的汉族进展期结直肠癌患者 42 例,入选标准^[5]:① 所有患者均经病理和(或)细胞学证实为进展期结直肠癌;② 年龄 18 岁以上汉族人,临床病理分期(TNM)分期为Ⅳ,包括初诊已出现远处脏器转移或手术后随访中出现复发与远处脏器转移灶;③ 实验室检查:中性粒细胞 $\geq 1.5 \times 10^9/L$,血小板 $\geq 100 \times 10^9/L$,血红蛋白 $\geq 9.0 g/dL$;血肌酐、总胆红素小于 1.5 倍上限正常值,丙氨酸转氨酶、碱性磷酸酶小于 2.5 倍上限正常值;④ 体力状况评分 ≤ 2 分或卡氏评分 ≥ 70 分;⑤ 预计生存 ≥ 12 周。排除标准:① 心、肺、肝、肾及造血功能障碍严重功能不全,不能耐受化疗药物者;② 消化道梗阻及消化道出血;并发急性感染;预计生存期 > 3 个月;③ 患者依从性差,伴有认知障碍,不能坚持长期随访者。年龄 18~80 岁,平均年龄(56.9 ± 6.2)岁,其中男性 30 例,女 12 例。所有患者均签订治疗知情同意书,并报医院伦理委员会通过。

1.2 方法

所有入选患者按照 FOLFOX4 方案进行化疗^[6]:奥沙利铂(L-OHP)130 mg/m²,静脉输注 2 小时;第一天,亚叶酸钙(CF)200 mg/m² 静脉输注 2 小时;第一天和第二天,5 氟尿嘧啶(5-FU)400 mg/m² 静脉推注,然后 600 mg/m² 持续静脉输注 22 小时,每两周重复 1 次。化疗前抽取患者外周血 3mL 抗凝,用试剂盒(北京百泰克生物技术有限公司)抽提基因组 DNA。并严格按照说明书操作,测定 DNA 纯度均合格后设计引物,*ERCC1* 引物为 5'-GCAGAGCTCACCTGAGGAAC-3',*XPB* 引物为 5'-CCTCTCCCTTTCCTCTGTTC-3'(上海生工生物技术有限公司合成);对抽提产物进行 PCR 扩增。采用 TaqMan MGB 探针等位基因分型技术对外周血 DNA 进行基因分型。单核苷酸多态性(SNP)分型 PCR-RFLP 分析方法。将 *XPB* PCR 产物分别与限制性核酸内切酶于 37℃ 水浴 2-4 h,*ERCC1* 的 PCR 产物则在 65℃ 水浴 2-4 h 进行酶切,酶切产物用琼脂糖凝胶电泳进行分析,80 V 电泳 40 min,溴化乙锭染色确定各基因型。分别将对不同基因分型与临床病理因素年龄、性别、淋巴结转移、肿瘤的部位、化疗史、分化程度、器官转移个数等进行分析。并观察每一化疗周期中患者出现骨髓抑制、恶心呕吐、腹泻、肝肾损伤、神经毒性及口腔黏膜炎等不良反应与不同基因分型的关系。

1.3 统计分析

采用 SPSS18.0 统计软件进行统计分析。计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两样本率的比较采用 χ^2 比较, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *XPB*、*ERCC1* 的 SNP 分布

42 例进展期结直肠癌患者中,*XPB* 分为 AA、AG、GG 等基因型,其中 AA 基因型的分布频率为 38.10%(16 例),AG 为 33.33%(14 例),GG 为 28.57%(12 例);*ERCC1* 分为 LG、LL 基因型。其中 LG 基因型的分布频率 64.29%(27 例),LL 基因型为 35.71%(15 例)。

2.2 *XPB*、*ERCC1* 的 SNP 分布与临床病理关系

对 *XPB*、*ERCC1* 的 SNP 分布与临床病理关系进行分析,*XPB*、*ERCC1* 的 SNP 分布与年龄、性别、淋巴结转移、肿瘤的部位、化疗史、分化程度、器官转移个数差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

2.3 *XPB*、*ERCC1* 的 SNP 分布与化疗毒副反应的关系

对 *XPB*、*ERCC1* 的 SNP 分布与化疗毒副反应的关系进行分析,*XPB* 基因型中,AA 以骨髓抑制、恶心呕吐为主,AG 以腹泻及肝肾损伤为主,GG 以神经毒性及口腔黏膜炎为主,差异有统计学意义($P < 0.05$);*ERCC1* 基因型中,LG 以骨髓抑制、恶心呕吐及腹泻等症状为主,LL 以肝肾损伤、神经毒性及口腔黏膜炎为主,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

3 讨论

辅助化疗仍是当前治疗结直肠癌的最重要方法之一,对于晚期结直肠癌,以奥沙利铂为基础的化疗常用的一线方案^[7]。化疗药物存在一定的毒副作用,不同患者接受辅助化疗后产生的毒副作用存在着个体差异。由于抗肿瘤药物大多数药物选择性较低,患者往往出现多种不良反应,如骨髓抑制、消化道症状等常削弱患者的抗肿瘤免疫力,导致肿瘤复发、化疗失败,严重的甚至导致患者的依从性下降,而中断化疗^[8-10]。因此,选择个体化的用药方案及有效化疗药物,降低化疗药物毒副作用,最大限度提高化疗疗效是目前研究的重点和难点^[11-13]。

奥沙利铂作为第三代铂类抗癌药物,与 5- 氟尿嘧啶、亚叶酸钙等联合治疗,可以明显提高晚期大肠癌患者的疗效,铂类药物进入细胞后,与 DNA 耦合后,导致细胞周期的停滞,由于机体存在自我修复能力,因此,铂类药物进入机体后也启动了自身修复系统^[14]。其中核苷酸切除修复系统是 DNA 修复的主要机制,也是导致铂类发生耐药的主要原因^[15]。研究表明,*XPB* 是核苷酸切除修复系统的一种重要的 DNA 损伤修复基因,*XPB* 基因中第 751 和 312 密码子的突变频率较高^[16],有研究显示,*XPB751* 的单核苷酸多态性影响患者的预后,其中基因型为 A/A 优于 A/C 及 C/C 基因型^[17]。*ERCC1* 核苷酸切除修复基因中另外一个重要的基因,定位于人类染色体 19q13.2,含有 10 个外显子,大小为 15 kb,其基因编码的产物与 *XPB* 共同构成 *ERCC1-XPB* 异二聚体^[18]。研究显示,单核苷酸多态性可以影响 DNA 的修复能力,是导致不同患者耐药程度差异性的主要因素^[19,20]。

Table 1 The relationship between SNP distribution of *XPD*, *ERCC1* and clinical pathological

Indexes		n	XPD			X ²	P	ERCC1		X ²	P
			AA(16)	AG(14)	GG(12)			LG(27)	LL(15)		
Age(years)	< 60	25	10	7	8	0.840	0.657	15	10	0.494	0.482
	60	17	6	7	4			12	5		
Gender	M	30	10	12	8	2.158	0.340	20	10	0.259	0.611
	F	12	6	2	4			7	5		
Lymphatic metastasis	Yes	22	8	8	6	0.191	0.909	13	9	0.543	0.461
	No	20	8	6	6			14	6		
Tumor location	Right hemicolon	15	6	5	4	0.344	0.233	10	5	0.343	0.261
	Left hemicolon	11	5	3	3			8	3		
	Rectum	16	5	6	5			9	7		
History of chemotherapy	Yes	19	8	4	7	1.433	0.488	10	9	2.052	0.152
	No	23	8	10	5			17	6		
Differentiation	Well differentiated	16	7	4	5	0.820	0.664	12	4	1.292	0.256
	Poorly differentiated	26	9	10	7			15	11		
Number of organ metastasis	One case	25	10	8	7	0.099	0.952	17	8	0.371	0.542
	More than two cases	17	6	6	5			10	7		

Table 2 The relationship between SNP distribution of *XPD*, *ERCC1* and side effects of chemotherapy

Side effects of chemotherapy	<i>XPD</i>			X^2	P	<i>ERCC1</i>		X^2	P
	AA(16)	AG(14)	GG(12)			LG(27)	LL(15)		
Bone marrow suppression	14	7	6	6.067	0.048	20	6	4.747	0.029
Nausea and vomiting	12	5	4	6.476	0.039	21	7	4.200	0.040
Diarrhea	5	12	6	9.094	0.011	19	5	5.401	0.020
Liver and kidney damage	6	12	4	9.402	0.009	8	11	7.435	0.006
Neurotoxicity	4	4	9	8.351	0.015	8	10	5.401	0.020
Oral mucositis	3	5	8	10.188	0.006	12	12	4.978	0.026

本研究结果表明, *XPD*, *ERCC1* 基因的多态性与年龄、性别、淋巴转移、肿瘤的部位、化疗史、分化程度、器官转移个数差异无统计学意义,提示 *XPD*, *ERCC1* 基因的多态性受临床病理因素不大。然而, *XPD* 基因型中, AA 以骨髓抑制、恶心呕吐为主, AG 以腹泻及肝肾损伤为主, GG 以神经毒性及口腔黏膜炎为主, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); *ERCC1* 基因型中, LG 以骨髓抑制、恶心呕吐及腹泻等症状为主, LL 以肝肾损伤、神经毒性及口腔黏膜炎为主, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 这些表明不同的 *XPD* 和 *ERCC1* 基因多态性与进展期结直肠癌病人铂剂为基础化疗方案治疗的毒副作用发生有关, 提示在临床实践中, 根据患者检测的不同基因类型, 选择正确的药物和确定有效的剂量有助于提高患者的疗效, 这与相关研究结果相似 [4,9,11,21]。

综上所述, 结直肠癌患者在治疗前根据毒副作用相关的基因检测, 合理选择化疗药物, 进行恶性肿瘤的个体化治疗在提

高患者生存率的同时, 降低化疗药物的毒副作用, 提高患者的生活质量。

参考文献 (References)

- [1] Yan Y, Liang H, Light M, et al. Xpd asp312asn and lys751gln polymorphisms and breast cancer susceptibility: A meta-analysis[J]. Tumour Biol, 2014, 35(3): 1907-1915
- [2] Castro E, Olmos D, Garcia A, et al. Role of xrc3, xrec1 and xpd single-nucleotide polymorphisms in survival outcomes following adjuvant chemotherapy in early stage breast cancer patients [J]. Clin Transl Oncol, 2014, 16(2): 158-165
- [3] Zhou X, Khan SG, Tamura D, et al. Abnormal xpd-induced nuclear receptor transactivation in DNA repair disorders: Trichothiodystrophy and xeroderma pigmentosum [J]. Eur J Hum Genet, 2013, 21(8): 831-837
- [4] 王洪义, 寿成超. 胃肠道肿瘤的分子标志物与个体化治疗 [J]. 中华

- 胃肠外科杂志, 2014, 17(1): 6-9
- Wang Hong-yi, Shou Cheng-chao. Molecular markers of gastrointestinal tumors and individualized treatment [J]. Chinese Journal of Gastrointestinal Surgery, 2014, 17(1): 6-9
- [5] 盛伟琪. 个体化治疗对结直肠癌病理诊断和分期的新要求[J]. 中国癌症杂志, 2013, (4): 315-320
- Sheng Wei-qi. Individual therapy of colorectal cancer by pathology diagnosis and staging of the new requirements [J]. China Oncology, 2013, (4): 315-320
- [6] 杨牡丹, 刘晓玲, 高峻, 等. X 线修复交叉互补基因 1 多态性对 FOLFOX4 方案治疗转移性结肠癌疗效及毒副作用的影响[J]. 中国药物与临床, 2013, 13(9): 1127-1129
- Yang Mu-dan, Liu Xiao-ling, Gao Jun, et al. Effects of XRCC1 gene polymorphisms on efficacy and toxicity of FOLFOX4 chemotherapy for metastatic colorectal cancer [J]. Chinese Remedies & Clinics, 2013, 13(9): 1127-1129
- [7] Szkandera J, Absenger G, Liegl-Atzwanger B, et al. Common gene variants in rad51, xrc2 and xpd are not associated with clinical outcome in soft-tissue sarcoma patients [J]. Cancer Epidemiol, 2013, 37(6): 1003-1009
- [8] Sorour A, Ayad MW, Kassem H. The genotype distribution of the xrc1, xrc3, and xpd DNA repair genes and their role for the development of acute myeloblastic leukemia [J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2013, 17(3): 195-201
- [9] Procopciuc LM, Osian G. Lys751Gln xpd and arg399Gln xrc1 in romanians. Association with sporadic colorectal cancer risk and different stages of carcinomas [J]. Chirurgia (Bucur), 2013, 108(5): 711-718
- [10] Huang MY, Wang JY, Huang ML, et al. Polymorphisms in xpd and ercc1 associated with colorectal cancer outcome [J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(2): 4121-4134
- [11] 蔡明志, 梁寒, Yuan PAN, 等. 单核苷酸多态性对消化道恶性肿瘤化疗药物反应和毒性的影响 [J]. 中国肿瘤临床, 2012, 39(5): 296-300
- Cai Ming-zhi, Liang Han, Yuan PAN, et al. Correlation between the Single-nucleotide Polymorphism and the Curative Effect/Side Effect of Chemotherapy for Malignant Gastrointestinal Tumor [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2012, 39(5): 296-300
- [12] Ruzzo A, Graziano F, Loupakis F, et al. Pharmacogenetic profiling in patients with advanced colorectal cancer treated with first-line FOLFIRI chemotherapy[J]. Pharmacogenomics J, 2008, 8(4): 278-288
- [13] Kashfi SM, Nazemalhosseini Mojarad E, Haghighi MM. XPD gene polymorphism and colorectal cancer risk [J]. Gastroenterol Hepatol Bed Bench, 2013, 6(2): 110-111
- [14] Moghtit FZ, Aberkane MS, Le Morvan V, et al. No association between XRCC3 Thr241Met and XPD Lys751Gln polymorphisms and the risk of colorectal cancer in West Algerian population: a case-control study[J]. Med Oncol, 2014, 31(5): 942
- [15] Shibashi K, Okada N, Ishiguro T, et al. The expression of thymidylate synthase (TS) and excision repair complementing-1 (ERCC-1) protein in patients with unresectable colorectal cancer treated with mFOLFOX6 therapy [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2010, 37 (12): 2532-2535
- [16] Huang MY, Wang JY, Huang ML, et al. Polymorphisms in XPD and ERCC1 Associated with Colorectal Cancer Outcome[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(2): 4121-4134
- [17] Noda E, Maeda K, Inoue T, et al. Predictive value of expression of ERCC 1 and GST-p for 5-fluorouracil/oxaliplatin chemotherapy in advanced colorectal cancer [J]. Hepatogastroenterology, 2012, 59 (113): 130-133
- [18] Kuwabara K, Kumamoto K, Ishibashi K, et al. The Relationship between the efficacy of mFOLFOX6 treatment and the expression of TS, DPD, TP, and ERCC-1 in unresectable colorectal cancer [J]. Gan To Kagaku Ryoho, 2011, 38(12): 2224-2227
- [19] Basso M, Strippoli A, Orlandi A, et al. KRAS mutational status affects oxaliplatin-based chemotherapy independently from basal mRNA ERCC-1 expression in metastatic colorectal cancer patients[J]. Br J Cancer, 2013, 108(1): 115-120
- [20] Grimminger PP, Shi M, Barrett C, et al. TS and ERCC-1 mRNA expressions and clinical outcome in patients with metastatic colon cancer in CONFIRM-1 and -2 clinical trials[J]. Pharmacogenomics J, 2012, 12(5): 404-411
- [21] Procopciuc LM, Osian G. Lys751Gln XPD and Arg399Gln XRCC1 in Romanians. Association with sporadic colorectal cancer risk and different stages of carcinomas [J]. Chirurgia (Bucur), 2013, 108(5): 711-718