

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.17.016

## 北方地区汉族人核苷酸剪切修复基因 mRNA 的表达 与头颈鳞癌发病风险的初步研究 \*

韩 鹏 朱 云 曹亚莉 安 燕 张红梅 邢娟丽 白艳霞<sup>Δ</sup>

(西安交通大学第一附属医院耳鼻咽喉头颈外科 陕西 西安 710000)

**摘要 目的:**探讨我国北方汉族人核苷酸剪切修复(Nucleotide excision repair,NER)基因 mRNA 的表达水平与头颈鳞癌发病风险的相关性,为头颈鳞癌的诊断提供新的生物学标志物。**方法:**收集 205 例头颈鳞癌患者和 176 例健康对照,均为我国北方地区汉族人。通过实时定量聚合酶链反应实验检测研究对象外周血淋巴细胞中的 5 个核心核苷酸剪切修复基因 mRNA 的相对表达情况。对病例和对照之间一般特征的分布差异进行卡方检验,通过 Wilcoxon 秩和检验计算不同基因的 mRNA 表达水平的差异。采用 logistic 回归计算优势比(OR 值)及 95%置信区间(95% CI)。此外,通过 ROC 曲线评价 NER 基因模型的诊断价值。**结果:**病例组 *DDB1* 的 mRNA 表达低于对照组( $P=0.075$ )。在 logistic 回归分析中,矫正年龄、性别、吸烟状况和饮酒因素后,*DDB1* 的 mRNA 相对表达水平与 SCCHN 患病风险关系的 ORs,在第二、第三和第四四分位数水平中分别为 1.90(95% CI, 1.02-3.54)、1.54(95% CI, 0.82-2.87)和 1.88(95% CI, 1.00-3.52),分布与其 mRNA 的高表达水平相比。此外,*DDB1*( $P_{trend}=0.036$ )的蛋白表达水平降低与 SCCHN 风险增加之间也存在剂量反应关系。ROC 曲线提示 *DDB1* 表达水平与性别结合的效应模型中 AUC 显著改善( $P=0.046$ )。**结论:**我国北方汉族 *DDB1* 的 mRNA 相对表达的降低与 SCCHN 患病风险的增加显著相关。

**关键词:**头颈部鳞状细胞癌;核苷酸剪切修复;DNA 修复;mRNA

**中图分类号:**R-33;R739.91 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)17-3280-05

## A Preliminary Study on the mRNA Expression of Nucleotide Excision Repair Genes in the Lymphocytes and the Risk of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma in the Northern Chinese Population\*

HAN Peng, ZHU Yun, CAO Ya-li, AN Yan, ZHANG Hong-mei, XING Juan-li, BAI Yan-xia<sup>Δ</sup>

(Department of Otorhinolaryngology, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University School of Medicine, Xi'an, Shaanxi, 710000, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the association between mRNA expression levels of nucleotide excision repair (NER) genes and risk of the squamous cell carcinoma of head and neck (SCCHN) in northern Chinese population. **Methods:** 205 SCCHN patients and 176 cancer-free controls were recruited from northern part of China. The mRNA expression levels of five core NER genes were measured by quantitative real-time PCR. The Chi-square test was used to evaluate differences in demographic variables between cases and controls. Wilcoxon rank sum test were used to compare differences in the relative mRNA expression levels. The associations of NER genes mRNA expression levels with SCCHN risk were estimated by computing ORs and CIs from logistic regression analysis. To assess the improvement of SCCHN risk models, we compared the ROC curve among two risk models. **Results:** Compared with the controls, patients had lower expression levels of *DDB1* ( $P=0.075$ ). After dividing the subjects by controls' quartiles of expression levels, we found an association between an increased risk of SCCHN and low *DDB1* expression levels [adjusted ORs and 95% CIs: 1.90 and 1.02-3.54, 1.54 and 0.82-2.87, 1.88 and 1.00-3.52 for the 2nd - 4th quartiles, respectively, compared with the 1st quartile;  $P_{trend} = 0.036$ ]. The sensitivity of the expanded model was significantly improved with the model including *DDB1* expression levels and sex. **Conclusion:** Reduced *DDB1* expression levels were associated with an increased risk of SCCHN in the northern Chinese population.

**Key words:** Squamous cell carcinoma of head and neck; Nucleotide excision repair; DNA repair; mRNA

**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R739.91 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2019)17-3280-05

### 前言

头颈部鳞状细胞癌简称头颈鳞癌(Squamous cell carcinoma

\* 基金项目:西安交通大学第一附属医院青年创新基金(2017QN-11);中央高校基本科研业务费资助(xjj2018094);

国家自然科学基金青年科学基金项目(81833770)

作者简介:韩鹏(1986-),博士,助理研究员,研究方向:头颈部肿瘤的分子流行病学研究,E-mail: penghanent@hotmail.com

<sup>Δ</sup> 通讯作者:白艳霞(1970-),博士,教授,研究方向:头颈部肿瘤的基础研究,E-mail: mriver2010@qq.com

(收稿日期:2019-04-17 接受日期:2019-05-13)

of head and neck, SCCHN), 是最常见的恶性肿瘤之一<sup>[1-3]</sup>, 包括口腔、咽部及喉部的鳞癌<sup>[4-7]</sup>。在美国, SCCHN 从 2009 年发病 48010 例<sup>[8]</sup>上升至 2016 年的 61760 例<sup>[9]</sup>。2015 年, 我国的癌症报告指出 SCCHN 的发病例数约为 74500 例<sup>[10]</sup>。SCCHN 存在一定异质性, 欧美研究中 SCCHN 大部分为口咽癌, 其发病与 HPV 感染有关, 而我国的口咽癌多与吸烟饮酒相关<sup>[17-21]</sup>。

烟草中的多种化合物可以引起细胞内 DNA 的损伤, 其中最为经典的是苯并芘, 其可以通过形成 DNA 加合物对 DNA 产生不可逆的损伤<sup>[11,12]</sup>。DNA 修复通路可以修复 DNA 加合物产生的损伤, 其中最为经典的是核苷酸剪切修复(Nucleotide excision repair, NER)通路<sup>[13]</sup>。NER 通过 5 个核心基因修复受损 DNA, 分别是 *DDB1*、*ERCC1*、*ERCC2*、*ERCC4* 及 *ERCC5*<sup>[14-16]</sup>。本研究初步探讨北方地区汉族人 NER 通路的 5 个核心 NER 基因 mRNA 的相对表达水平与 SCCHN 易感性的关系, 以期为 SCCHN 的早期诊断和治疗提供更多的临床依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究对象

381 名研究对象均来自西安交通大学第一附属医院, 其中 SCCHN 病例 205 人, 健康对照 176 人。患者的祖籍均在秦岭以北的省份, 在取得患者及对照者同意后签署书面的知情同意书, 在抽取研究对象外周血前询问其个人信息、病史及相关的流行病学资料, 内容包括对年龄、性别、生活习惯(吸烟、饮酒等)及家族史等。

病例组的选择标准: 新诊断为头颈鳞癌, 50 岁以上, 未接受过手术治疗, 未患其他肿瘤, 病理确诊。每个研究对象收集的血液量为 15 mL。健康对照组的选择标准为: 与病例年龄性别相匹配, 未患过癌症, 近 6 个月未输血。当研究对象一生中吸烟少于 100 只的定义为不吸烟者。在吸烟者中, 停止吸烟超过 12 个月以上的被定义为既往吸烟者, 其余的为目前吸烟者。每周均饮酒且时间超过 1 年的研究对象定义为饮酒者, 停止饮酒超过 12 个月以上的为既往饮酒者。其余的为不饮酒者。

### 1.2 主要试剂及设备

Taq PCR 试剂盒、Taqman 基因表达试剂盒、反转录 cDNA 试剂盒及 ABI Prism 7900HT 序列检测系统 (以上均来自美国 Applied Biosystems 公司), PCR 扩增仪 (美国 BIO-RAD 公司), 台式离心机(德国 Eppendorf 公司)。检测 *ERCC1*、*ERCC2*、*ERCC4*、*ERCC5*、*DDB1* 的 mRNA 表达和 18S rRNA 表达的引物和探针均包括在 TaqMan 基因表达分析试剂盒中, PCR 引物由美国 Applied Biosystems 公司提供并保留引物序列信息。

### 1.3 主要实验方法及步骤

(1) Trizol 法提取 RNA。(2) NER 基因的实时定量 qPCR: 1) PCR 反应体系: 每个扩增反应在 5  $\mu$ L 含有 5 ng 互补 DNA、0.25  $\mu$ L 引物和 2.5  $\mu$ L Master 混合物的最终体系中进行。PCR 反应在 384 孔光学平板中进行, 终体积为 5  $\mu$ L 反应混合物。2) 热循环条件如下: 95 $^{\circ}$ C 5 min, 然后在 95 $^{\circ}$ C 变性 15 s, 40 $^{\circ}$ C 循环, 60 $^{\circ}$ C 退火 / 延伸 1 min。3) 以 18S 作为内参, Ct 值为 PCR 实验中每个反应内的信号到达设定的域值时所经历的循环数。通过  $\Delta$  Ct 计算 5 个 NER 基因相对于 18S 的表达水平。 $\Delta$  Ct 值是目标基因的 Ct 值减去其 18S 的 Ct 值, 即  $\Delta$  Ct = Ct(NER 基因) - Ct

(18S)。 $\Delta$  Ct 值越小, 靶基因 mRNA 的相对表达水平越高<sup>[22]</sup>。

### 1.4 统计学分析

实验数据应用 SAS 9.4 统计软件进行分析。通过卡方检验分析 SCCHN 病例组和对照组之间所选人口特征的分布情况。根据资料的正态性(Shapiro-Wilk 检验), 选择 t 检验或 Wilcoxon 秩和检验比较 NER 基因 mRNA 的表达水平间的差异。在 Logistic 回归模型中, 使用对照 NER 基因 mRNA 的表达水平的四分位数作为计算优势比(OR)及其 95% 置信区间(CI)的临界值。在 Logistic 回归模型中通过 ROC 曲线评估多变量模型中 NER 基因 mRNA 的相对表达水平对 SCCHN 患病风险的预测能力, 我们构建了 2 个风险模型来分析 ROC 曲线下的面积(AUC): 基线模型仅包括所选的基本变量[例如年龄、性别、吸烟和饮酒状态, NER 基因模型包括基因 mRNA 的相对表达水平, 加上上述基本变量。以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义,  $0.05 < P < 0.08$  为临界值。

## 2 结果

### 2.1 研究对象的一般特征

如表 1 所示, 病例组的平均年龄为 62.2 岁 (中位数为 62 岁, 范围 50-86 岁), 对照组平均年龄为 60.7 岁 (中位数为 60 岁, 范围 50-86 岁)。在所有的研究对象中, 75.1% 的病例组和 77.3% 的对照组为男性, 24.9% 的病例组和 22.7% 的对照组为女性; 65.9% 的病例组和 54.5% 的对照组为吸烟者, 61.9% 的病例组和 73.7% 的对照组为饮酒者; 34.2% 的病例组和 45.5% 的对照组为从不吸烟者, 38.1% 的病例组和 26.3% 的对照组为从不饮酒者。病例组与对照组年龄和性别构成比较差异无统计学意义 ( $P = 0.591$  和  $0.624$ )。

### 2.2 病例组与对照组 NER 基因的 mRNA 表达的差异

如表 2 所示, 通过 Shapiro-Wilk 检验, 5 个核心 NER 基因 mRNA 相对表达均不符合正态分布 ( $P < 0.05$ )。通过 Wilcoxon 秩和检验比较病例组和对照组之间的 NER mRNA 表达水平的差异, 结果提示病例组 *DDB1* 的相对表达水平在病例组低于对照组 ( $Z = -1.78$ ,  $P = 0.075$ , 临界值), 而 *ERCC1*、*ERCC2*、*ERCC4* 和 *ERCC5* 的 mRNA 相对表达差异无统计学意义 ( $Z = -1.15$ 、 $-1.21$ 、 $-0.48$  和  $-0.24$ ,  $P = 0.250$ 、 $0.226$ 、 $0.633$  和  $0.809$ )。

### 2.3 NER 基因的表达水平和头颈鳞癌发病风险的关系

如表 3 所示, 我们根据对照组 NER 基因 mRNA 表达水平的四分位数将 NER 基因 mRNA 相对表达量分为四个水平。在 logistic 回归分析中校正完年龄、性别、吸烟状况和饮酒状况后, *DDB1* mRNA 的相对表达水平对 SCCHN 发病风险影响的粗 OR 值在第二、第三和第四四分位数水平中分别为 1.90 (95% CI, 1.02-3.54)、1.54 (95% CI, 0.82-2.87) 和 1.88 (95% CI, 1.00-3.52), 这些所得的 OR 值均是第一四分位数水平相比得到的 (由于  $\Delta$  Ct 值越小表示 mRNA 的相对表达水平越高, 因此, 第四四分位数水平的 NER 基因的 mRNA 表达较其他三个水平来说是最高的)。当校正年龄、性别、吸烟状况和饮酒状况因素后, 将 NER 基因 mRNA 表达水平 ( $\Delta$  Ct 值) 作为连续变量的放入 logistic 回归模型中时, *DDB1* ( $P$  trend 值为 0.036) mRNA 的相对表达水平的降低与 SCCHN 风险增加之间存在剂量 - 反应关系。而其余 4 个 NER 基因 mRNA 相对表达量与 SCCHN 发病风险之间的相关性无统计学意义。

表 1 SCCHN 患者和对照组所选变量的一般特征  
Table 1 Distributions of demographic variables between SCCHN cases and controls

| Variable       | Case (n=205) | Control (n=176) | P*      |
|----------------|--------------|-----------------|---------|
| Age            |              |                 |         |
| Median (range) | 62 (50-86)   | 60 (50-86)      |         |
| ≤ 60           | 98 (47.8)    | 89 (50.6)       | 0.591   |
| > 60           | 107 (52.2)   | 87 (49.4)       |         |
| Sex            |              |                 | 0.624   |
| Female         | 51 (24.9)    | 40 (22.7)       |         |
| Male           | 154 (75.1)   | 136 (77.3)      |         |
| Smoking        |              |                 | < 0.001 |
| Never          | 70 (34.2)    | 80 (45.5)       |         |
| Former         | 75 (36.6)    | 78 (44.3)       |         |
| Current        | 60 (29.3)    | 18 (10.2)       |         |
| Drinking       |              |                 | 0.049   |
| Never          | 67 (38.1)    | 54 (26.3)       |         |
| Former         | 44 (25.0)    | 59 (28.8)       |         |
| Current        | 65 (36.9)    | 92 (44.9)       |         |

SCCHN = 头颈鳞癌

Note: \*Chi-square tests for the distributions comparison of the demographic variables between cases and controls.

表 2 SCCHN 患者和对照组 NER 基因 mRNA 表达的比较  
Table 2 Comparison of the mRNA expression levels of NER genes between the cases and controls

| Gene         | Mean ± SD   |             | Median |         | Z     | P*    |
|--------------|-------------|-------------|--------|---------|-------|-------|
|              | Case        | Control     | Case   | Control |       |       |
| <i>DDB1</i>  | 18.39± 2.16 | 17.88± 2.42 | 18.12  | 18.12   | -1.78 | 0.075 |
| <i>ERCC1</i> | 19.22± 2.15 | 18.92± 2.30 | 19.26  | 19.26   | -1.15 | 0.250 |
| <i>ERCC2</i> | 21.49± 2.22 | 21.20± 2.08 | 21.55  | 21.54   | -1.21 | 0.226 |
| <i>ERCC4</i> | 21.85± 2.15 | 21.69± 2.41 | 21.85  | 21.85   | -0.48 | 0.633 |
| <i>ERCC5</i> | 20.06± 1.98 | 20.00± 1.93 | 20.16  | 20.02   | -0.24 | 0.809 |

SD = 标准差; SCCHN = 头颈鳞癌; NER = 核苷酸剪切修复; \*Wilcoxon 秩和检验 P 值, P value in Wilcoxon rank-sum tests;

Note: The expression levels of five NER genes were calculated by  $\Delta$  Ct values, the smaller the  $\Delta$  Ct represents the higher expression levels of the target mRNA.

## 2.4 NER 基因模型的对 SCCHN 的诊断价值

我们通过 ROC 曲线计算 AUC 面积, 从三个水平上对 *DDB1* mRNA 相对表达水平对 SCCHN 发病风险的诊断价值进行评价。基础模型仅包括年龄、性别、吸烟状态及饮酒状态; NER 基因模型包括 NER 基因的 mRNA 相对表达水平, 再加上基础模型中的变量; 交互作用模型包括交互作用的效应、上述 NER 基因模型和基础模型的变量。结果如图 1 所示, 与基础模型和 NER 基因模型相比, 包括 *DDB1* 表达水平和性别交互作用的交互作用模型可使 AUC 改善更好 ( $P=0.046$ )。包括 *DDB1* 表达水平的 NER 基因模型 AUC 改善不显著 ( $P=0.255$ )。

## 3 讨论

*DDB1* 基因编码一种 DNA 损伤结合蛋白, 对于所有的

DNA 损伤结合蛋白而言, *DDB1* 对损伤的 DNA 具有最强的结合能力<sup>[23,24]</sup>。然而, *DDB1* 并不直接参与损伤, 而是监测一些紫外线引起的 DNA 损伤, 并启动 NER 修复步骤<sup>[25-27]</sup>。既往研究检测了非西班牙白人 8 个 NER 基因 mRNA 相对表达水平与 SCCHN 的患病风险之间的关系, 结果提示 SCCHN 病例组的 *DDB1* 和 *ERCC3* 的 mRNA 相对表达水平显著低于对照组, 而这些基因的低表达可使得 SCCHN 的患病风险上升<sup>[22]</sup>。本研究首次在亚洲人种(中国北方汉族人)中证实了 *DDB1* mRNA 的相对表达水平的改变也与 SCCHN 患病有关。这些结果进一步明确 *DDB1* mRNA 表达变化可能会引起 SCCHN 的患病风险的变化。

近年的研究将疾病的表型和基因型标志物放入 ROC 曲线模型中评估其对模型预测的准确性<sup>[28-30]</sup>。通过在 ROC 曲线模型

表 3 NER 基因的 mRNA 表达水平和 SCCHN 易感性的关系

Table 3 Logistic regression analysis of mRNA expression levels of NER genes in SCCHN cases and controls

| NER Genes | Quantile mRNA Levels*** | Case No. (%) | Control No. (%) | OR* (95% CI)     | p**   |
|-----------|-------------------------|--------------|-----------------|------------------|-------|
| DDB1      | ≤ 16.03                 | 32 (15.6)    | 44 (25.1)       | 1.00 (Ref)       | 0.036 |
|           | 16.04-17.86             | 60 (29.3)    | 43 (24.6)       | 1.90 (1.02-3.54) |       |
|           | 17.87-19.82             | 55 (26.8)    | 45 (25.7)       | 1.54 (0.82-2.87) |       |
|           | > 19.82                 | 58 (28.3)    | 43 (24.6)       | 1.88 (1.00-3.52) |       |
| ERCC1     | ≤ 17.21                 | 41 (20.0)    | 44 (25.1)       | 1.00 (Ref)       | 0.156 |
|           | 17.22-18.71             | 51 (24.9)    | 44 (25.1)       | 1.26 (0.69-2.31) |       |
|           | 18.72-20.83             | 60 (29.3)    | 44 (25.1)       | 1.41 (0.78-2.55) |       |
|           | > 20.83                 | 53 (25.9)    | 43 (24.7)       | 1.33 (0.73-2.43) |       |
| ERCC2     | ≤ 19.42                 | 41 (20.2)    | 44 (25.3)       | 1.00 (Ref)       | 0.284 |
|           | 19.43-21.36             | 56 (27.6)    | 43 (24.7)       | 1.23 (0.67-2.25) |       |
|           | 21.37-22.94             | 45 (22.2)    | 43 (24.7)       | 0.98 (0.53-1.82) |       |
|           | > 22.94                 | 61 (30.1)    | 44 (25.3)       | 1.45 (0.8-2.46)  |       |
| ERCC4     | ≤ 19.81                 | 35 (17.3)    | 44 (25.1)       | 1.00 (Ref)       | 0.421 |
|           | 19.82-21.48             | 60 (29.7)    | 43 (24.6)       | 1.82 (0.98-3.38) |       |
|           | 21.49-23.67             | 57 (28.2)    | 44 (25.1)       | 1.61 (0.88-2.98) |       |
|           | > 23.67                 | 50 (24.8)    | 44 (25.1)       | 1.52 (0.81-2.84) |       |
| ERCC5     | ≤ 18.49                 | 48 (23.4)    | 44 (25.3)       | 1.00 (Ref)       | 0.296 |
|           | 18.50-20.02             | 47 (22.9)    | 43 (24.7)       | 1.02 (0.56-1.86) |       |
|           | 20.03-21.51             | 59 (28.8)    | 44 (25.3)       | 1.26 (0.70-2.27) |       |
|           | > 21.51                 | 51 (24.9)    | 43 (24.7)       | 1.15 (0.63-2.08) |       |

NER = 核苷酸剪切修复;SCCHN = 头颈部鳞状细胞癌;OR = 优势比;CI = 可信区间

\*Adjusted for age, sex, smoking and alcohol status

\*\*P value in trend test by continuous mRNA expression level

\*\*\*Expression levels by quartile based on the quartile values of control subjects.

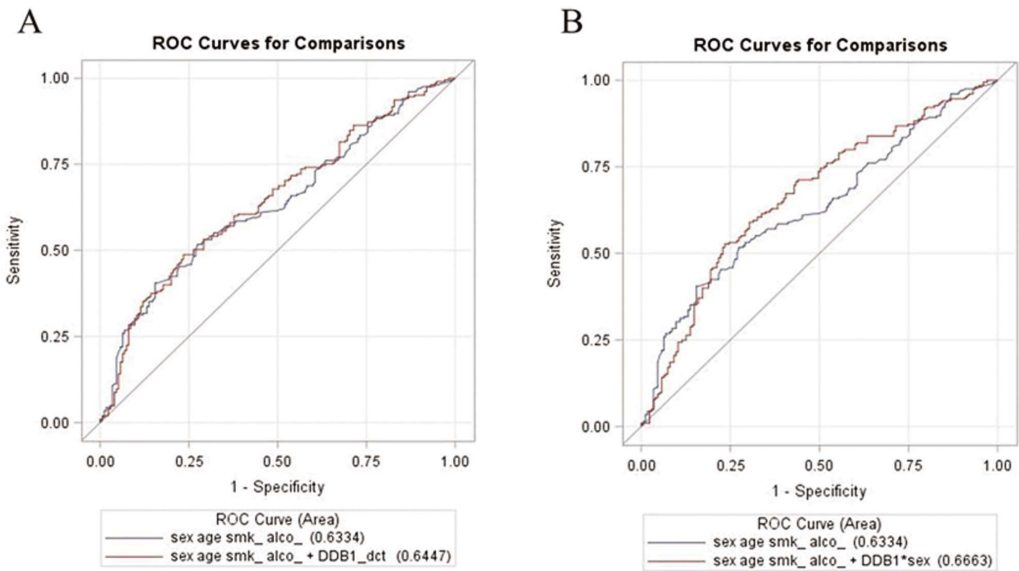


图 1 ROC 曲线

注:A: 包括 *DDB1* mRNA 相对表达水平的模型使 AUC 改善不明显(0.6447,*P* 值为 0.255);B: 与基础模型和 NER 基因模型相比,包括 *DDB1* 表达水平和性别交互作用的交互作用模型可使 AUC 改善更明显(0.663,*P* 值为 0.046)

Fig.1 ROC Curve

Note: A: The AUC was insignificantly improved included the effect of *DDB1* expression levels, compared with the model that did not (0.6447, *P*=0.255); B: The AUC was significantly improved in the model that included the combined effect of *DDB1* expression levels and the interaction with sex, compared with the model that did not (0.663, *P*=0.046).

中添加两个 DRC 的标记物更好的预测肺癌的患病风险, 结果提示加入上述标记物的模型在统计学上显著优于基础模型<sup>[31]</sup>。在本研究中, 我们通过 ROC 曲线计算曲线下面积 AUC, 从三个水平上对 *DDB1* 的 mRNA 相对表达水平与性别交互作用项对 SCCHN 患病风险的影响进行评价。基础模型仅含有年龄、性别、吸烟状态及饮酒状态; NER 基因模型包括 NER 基因的 mRNA 相对表达水平, 再加上基础模型中的变量; 交互作用模型包括交互作用的效应、上述 NER 基因模型和基础模型。与基础模型相比, 包括 *DDB1* 的 mRNA 相对表达水平和性别交互作用的结合项放入模型中可使 AUC 改善更明显。以上结果表明 *DDB1* 的 mRNA 相对表达水平的降低可能在 SCCHN 患病风险升高中起到重要作用。

本实验的方法仅需要少量的总 RNA, 并且外周血淋巴细胞更容易从基于群体的研究中获得, 本研究易于后期应用于人群的 SCCHN 的筛选。然而, 本研究也存在一些局限性。首先, 本研究样本量仍较小, *DDB1* 的 mRNA 表达在两组间差异在统计学上仅位于临界值, 仍需更大样本实验验证。其次, 由于引物有限, 未测量其他 3 个核心 NER 基因的表达, 需后续实验验证。最后, 这些基因的 mRNA 相对表达水平对 SCCHN 发病机制的影响仍需在未来的实验中进一步研究。

总之, 本研究结果表明北方汉族人群中 *DDB1* 的 mRNA 相对表达的降低与 SCCHN 患病风险的增加相关。此外, 将 *DDB1* 的 mRNA 相对表达放入模型中可以较好的在不同性别研究对象中筛选 SCCHN。

#### 参考文献(References)

- [1] Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J]. Int J Cancer, 2015, 136(5): 359-386
- [2] Wang HM, Cheng NM, Lee LY, et al. Heterogeneity of (18)F-FDG PET combined with expression of EGFR may improve the prognostic stratification of advanced oropharyngeal carcinoma [J]. Int J Cancer, 2016, 138(3): 731-738
- [3] Liu Z, Liu H, Gao F, et al. Reduced DNA double-strand break repair capacity and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck A case-control study[J]. DNA Repair, 2016, 40(3): 18-26
- [4] Fung N, Faraji F, Kang H, et al. The role of human papillomavirus on the prognosis and treatment of oropharyngeal carcinoma [J]. Cancer Metastasis Rev, 2017, 36(3): 449-461
- [5] Cao S, Wei D, Li X, et al. Novel circular RNA expression profiles reflect progression of patients with hypopharyngeal squamous cell carcinoma[J]. Oncotarget, 2017, 11;8(28): 45367-45379
- [6] Xuan L, Liu G, Huo X, et al. Hsa\_circ\_0001649: Circular RNA: a novel biomarker for progressive laryngeal cancer [J]. Am J Transl Res, 2016, 8(2): 932-939
- [7] Chen L, Zhang S, Wu J, et al. circRNA\_100290 plays a role in oral cancer by functioning as a sponge of the miR-29 family[J]. Oncogene, 2017, 36(32): 4551-4561
- [8] Jemal, A, Siegel RL. Cancer statistics, 2009 [J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59: 225-249
- [9] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(1): 7-30
- [10] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 65(2): 115-132
- [11] Wood RD, Mitchell M, Lindahl T. Human DNA repair genes, 2005 [J]. Mutat Res, 2005, 577(1): 275-283
- [12] Genois MM, Paquet ER, Laffitte MC, et al. DNA repair pathways in trypanosomatids: from DNA repair to drug resistance [J]. Microbiol Mol Biol Rev, 2014, 78(1): 40-73
- [13] Sancar A, Lindsey-Boltz LA, Unsal-Kacmaz K, et al. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints[J]. Annu Rev Biochem, 2004, 73(3): 39-85
- [14] Abbasi R, Ramroth H, Becher H, et al. Study on association between ERCC5 single nucleotide polymorphism and susceptibility to esophageal cancer [J]. Int J Cancer, 2009, 125(4): 1431-1439
- [15] Zhang C, Liao Z, Yu G, et al. The effect of ERCC1 and ERCC2 gene polymorphisms on response to cisplatin based therapy in osteosarcoma patients[J]. J BUON, 2017, 22(4):979-984
- [16] Abdullah UB, McGouran JF, Brolih S, et al. RPA activates the XPF-ERCC1 endonuclease to initiate processing of DNA interstrand crosslinks[J]. EMBO J, 2017, 36(14): 2047-2060
- [17] 黄辉, 张彬, 唐平章, 等. 口咽部鳞状细胞癌人乳头状瘤病毒感染预后初步分析 [J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科学杂志, 2012, 47(3): 207-211
- [18] 张永侠, 张彬, 高黎, 等. 口咽鳞状细胞癌 318 例临床分析[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科学杂志, 2013, 48(5): 398-404
- [19] Udager AM, McHugh JB. Human Papillomavirus-Associated Neoplasms of the Head and Neck[J]. Surg Pathol Clin, 2017, 10(1): 35-55
- [20] Liskamp CP, Janssens GO, Bussink J, et al. Adverse effect of smoking on prognosis in human papillomavirus-associated oropharyngeal carcinoma[J]. Head Neck, 2016, 38(12): 1780-1787
- [21] Jacobi C, Rauch J, Hagemann J, et al. Prognostic value of the lymph node ratio in oropharyngeal carcinoma stratified for HPV-status[J]. Eur Arch Otorhinolaryngol, 2018, 275(2): 515-524
- [22] Han P, Gao FQ, Wei QY, et al. Reduced mRNA expression of nucleotide excision repair genes in lymphocytes and risk of squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. Carcinogenesis, 2017, 38(5): 504-510
- [23] Wu Y, Zhou X, Barnes CO, et al. The DDB1-DCAF1-Vpr-UNG2 crystal structure reveals how HIV-1 Vpr steers human UNG2 toward destruction[J]. Nat Struct Mol Biol, 2016, 23(10): 933-940
- [24] Fang A, Li X, Wang Y, et al. A core component of the CUL4 ubiquitin ligase complexes, DDB1, regulates spermatogenesis in the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. Gene, 2017, 15(2): 11-20
- [25] Shabek N, Ruble J, Waston CJ, et al. Structural insights into DDA1 function as a core component of the CRL4-DDB1 ubiquitin ligase[J]. Cell Discov, 2018, 4(5): 67
- [26] Feltes BC, Pedebos C, Bonatto D, et al. Dynamics of DDB2-DDB1 complex under different naturally-occurring mutants in Xeroderma Pigmentosum disease [J]. Biochim Biophys Acta Gen Subj, 2018, 1862(12): 2579-2589
- [27] Mo Y, Lin R, Liu P, et al. SIRT7 deacetylates DDB1 and suppresses the activity of the CRL4 E3 ligase complexes [J]. FEBS J, 2017, (21): 3619-3636

(下转第 3224 页)

(上接第 3284 页)

- serine metabolism in cancer[J]. *J Cell Biol*, 2016, 214(3): 249-257
- [2] Maddocks O D, Labuschagne C F, Adams P D, et al. Serine metabolism supports the methionine cycle and DNA/RNA methylation through de novo ATP synthesis in cancer cells[J]. *Molecular cell*, 2016, 61(2): 210-221
- [3] Tedeschi P M, Markert E K, Gounder M, et al. Contribution of serine, folate and glycine metabolism to the ATP, NADPH and purine requirements of cancer cells[J]. *Cell death & disease*, 2013, 4(10): e877
- [4] Ducker G S, Chen L, Morscher R J, et al. Reversal of cytosolic one-carbon flux compensates for loss of the mitochondrial folate pathway[J]. *Cell metabolism*, 2016, 23(6): 1140-1153
- [5] Yang M, Vousden K H. Serine and one-carbon metabolism in cancer [J]. *Nature Reviews Cancer*, 2016, 16(10): 650
- [6] Possemato R, Marks K M, Shaul Y D, et al. Functional genomics reveal that the serine synthesis pathway is essential in breast cancer[J]. *Nature*, 2011, 476(7360): 346
- [7] DeNicola G M, Chen PH, Mullarky E, et al. NRF2 regulates serine biosynthesis in non-small cell lung cancer [J]. *Nature genetics*, 2015, 47(12): 1475
- [8] Siegel, R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2019 [J]. *CA: a cancer journal for clinicians*, 2019
- [9] Bender E. Epidemiology: The dominant malignancy [J]. *Nature*, 2014, 513(7517): S2-S3
- [10] Tan D S W, Mok T S K, Rebbeck T R. Cancer Genomics: Diversity and Disparity Across Ethnicity and Geography[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2016, 34(1): 91-101
- [11] Wu YL, Huang C, Qin S, et al. First-line erlotinib versus gemcitabine/cisplatin in patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: analyses from the phase III, randomized, open-label, ENSURE study [J]. *Annals of Oncology*, 2015, 26(9): 1883-1889
- [12] Maemondo, M, Inoue A, Kobayashi K, et al. Gefitinib or Chemotherapy for Non-Small-Cell Lung Cancer with Mutated EGFR [J]. *New England Journal of Medicine*, 2010, 362(25): 2380-2388
- [13] Wu Y L, Zhou C, Hu C P, et al. Afatinib versus cisplatin plus gemcitabine for first-line treatment of Asian patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring EGFR mutations (LUX-Lung 6): an open-label, randomised phase 3 trial [J]. *The lancet oncology*, 2014, 15(2): 213-222
- [14] Chong C R, Jänne P A. The quest to overcome resistance to EGFR-targeted therapies in cancer [J]. *Nature medicine*, 2013, 19(11): 1389
- [15] Chiang C T, Demetriou A N, Ung N, et al. mTORC2 contributes to the metabolic reprogramming in EGFR tyrosine-kinase inhibitor resistant cells in non-small cell lung cancer [J]. *Cancer letters*, 2018, 434: 152-159
- [16] Broxterman H J, Gotink K J, Verheul H M. Understanding the causes of multidrug resistance in cancer: a comparison of doxorubicin and sunitinib[J]. *Drug resistance updates*, 2009, 12(4-5): 114-126
- [17] Apicella, M, Giannoni E, Fiore S, et al. Increased lactate secretion by cancer cells sustains non-cell-autonomous adaptive resistance to MET and EGFR targeted therapies [J]. *Cell metabolism*, 2018, 28(6): 848-865. e6
- [18] Dong J K, Lei H M, Liang Q, et al. Overcoming erlotinib resistance in EGFR mutation-positive lung adenocarcinomas through repression of phosphoglycerate dehydrogenase[J]. *Theranostics*, 2018, 8(7): 1808
- [19] Ma P, Fu Y, Chen M, et al. Adaptive and acquired resistance to EGFR inhibitors converge on the MAPK pathway [J]. *Theranostics*, 2016, 6(8): 1232
- [20] Nathanson D A, Gini B, Mottahedeh J, et al. Targeted therapy resistance mediated by dynamic regulation of extrachromosomal mutant EGFR DNA[J]. *Science*, 2014, 343(6166): 72-76
- [21] Lee H J, Zhuang G, Cao Y, et al. Drug resistance via feedback activation of Stat3 in oncogene-addicted cancer cells [J]. *Cancer cell*, 2014, 26(2): 207-221
- [22] Blakely C M, Pazarentzos E, Olivas V, et al. NF- $\kappa$ B-activating complex engaged in response to EGFR oncogene inhibition drives tumor cell survival and residual disease in lung cancer[J]. *Cell reports*, 2015, 11(1): 98-110
- [23] Xiao W, Wang R S, Handy D E, et al. NAD (H) and NADP (H) redox couples and cellular energy metabolism[J]. *Antioxidants & redox signaling*, 2018, 28(3): 251-272
- [28] Paynter NP, Chasman DI, Buring JE, et al. Cardiovascular disease risk prediction with and without knowledge of genetic variation at chromosome 9p21.3[J]. *Ann Intern Med*, 2009, 150(2): 65-72
- [29] Vachon CM, van Gils CH, Sellers TA, et al. Mammographic density, breast cancer risk and risk prediction [J]. *Breast Cancer Res*, 2007, 9(6): 217
- [30] Spitz MR, Etzel CJ, Dong Q, et al. An expanded risk prediction model for lung cancer[J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2008, 1(4): 250-254
- [31] Wang LE, Hu Z, Sturgis EM, et al. Reduced DNA repair capacity for removing tobacco carcinogen-induced DNA adducts contributes to risk of head and neck cancer but not tumor characteristics [J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(2): 764-774