

XRCC1 基因 rs25487 位点多态性与肺癌发生的相关性分析^Δ

沐 宇^{1*}, 姬怀雪¹, 胡书群², 高 杏¹, 杜秀平³, 何伟平¹, 吴如梦¹, 王 艳^{1#}(1. 徐州医科大学附属医院药学部, 江苏 徐州 221002; 2. 徐州医科大学救援医学研究所, 江苏 徐州 221002; 3. 徐州医科大学附属医院肿瘤中心, 江苏 徐州 221002)

中图分类号 R968;R734.2 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)12-1648-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.12.15

摘 要 目的:探讨DNA修复基因X线损伤修复交叉互补基因1(XRCC1)rs25487位点多态性与肺癌发生的相关性。方法:选取2015年9月—2016年7月于徐州医科大学附属医院就诊的苏北地区汉族原发性肺癌患者208例,作为肺癌组;选择同期于该院进行体检的健康志愿者214例,作为对照组。采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性法检测各受试者XRCC1基因rs25487位点的基因型,采用Logistic回归模型评价各基因型与肺癌发生的相关性。结果:两组受试者的年龄及性别分布比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);而肺癌组吸烟者的比例显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。共检出XRCC1基因rs25487位点AA、AG、GG 3种基因型。其中,对照组受试者AA、AG、GG型频率分别为43.5%、41.1%、15.4%,肺癌组患者上述基因型频率分别为28.8%、48.6%、22.6%,两组受试者各基因型频率均符合Hardy-Weinberg平衡($P>0.05$),但其基因型分布组间比较差异有统计学意义($P<0.05$)。与AA型个体比较,AG型个体发生肺癌的风险增加了2.265倍[比值比(OR)=2.265,95%置信区间(CI)(1.299, 3.950), $P=0.040$];经年龄、性别、吸烟史校正的OR=2.309,95%CI(1.274, 4.185), $P=0.006$],差异有统计学意义;GG型个体发生肺癌的风险增加了1.310倍[OR=1.310,95%CI(0.771, 2.228), $P=0.318$;经校正的OR=1.429,95%CI(0.811, 2.518), $P=0.217$],但差异无统计学意义。结论:XRCC1基因rs25487位点突变杂合是我国苏北地区汉族人群发生肺癌的危险因素,且吸烟可以增加肺癌发生的风险。

关键词 XRCC1基因;rs25487位点;单核苷酸多态性;肺癌;发生;相关性

Correlation Analysis of XRCC1 rs25487 Polymorphism with the Occurrence of Lung Cancer

MU Yu¹, JI Huaixue¹, HU Shuqun², GAO Xing¹, DU Xiuping³, HE Weiping¹, WU Rumeng¹, WANG Yan¹(1. Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Jiangsu Xuzhou 221002, China; 2. Institute of Emergency Rescue Medicine, Xuzhou Medical University, Jiangsu Xuzhou 221002, China; 3. Dept. of Oncology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Jiangsu Xuzhou 221002, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the correlation of XRCC1 rs25487 polymorphism with the occurrence of lung cancer. **METHODS:** A total of 208 patients with primary lung cancer of Han nationality in Northern Jiangsu selected from the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University during Sept. 2015-Jul. 2016 were included in lung cancer group. A total of 214 healthy volunteers of the hospital underwent physical examination were included in control group. PCR-RFLP was used to detect the genotypes at XRCC1 rs25487 locus, and Logistic regression model was used to evaluate the correlation of genotypes with the occurrence of lung cancer. **RESULTS:** There was no statistical significance in the distribution of age and gender between 2 groups ($P>0.05$). The proportion of smoker in lung cancer group was significantly higher than control group, with statistical significance ($P<0.05$). AA, AG and GG genotypes were detected at rs25487 locus of XRCC1 gene. The frequency of AA, AG and GG genotype were 43.5%, 41.1% and 15.4% in control group and 28.8%, 48.6% and 22.6% in lung cancer group, respectively. The frequencies of genotypes in 2 groups were in line with Hardy-Weinberg equilibrium ($P>0.05$), but there was statistical significance in genotype distribution between 2 groups ($P<0.05$). Compared with AA genotype, the risk of lung cancer in individuals carrying AG genotype increased by 2.265 fold [OR=2.265, 95% CI (1.299, 3.950), $P=0.040$]; after corrected with gender, age and smoking history OR=2.309, 95% CI (1.274, 4.185), $P=0.006$], with statistical significance. The risk of lung cancer in individuals carrying GG genotype increased by 1.310 fold [OR=1.310, 95% CI (0.771, 2.228), $P=0.318$; after corrected OR=1.429, 95% CI (0.811, 2.518), $P=0.217$], without statistical significance. **CONCLUSIONS:** rs25487 locus mutant heterozygosity of XRCC1 gene is risk factor of lung cancer in Han nationality from Northern Jiangsu, and smoking can increase the risk of lung cancer.

^Δ 基金项目:江苏省卫生厅国际支撑计划资助项目(No.JSH-2011-018)

* 硕士研究生。研究方向:临床药理学。电话:0516-85806335。E-mail:15162240142@163.com

通信作者:主任药师,副教授,硕士生导师。研究方向:临床药理学。电话:0516-85806335。E-mail:xzwydd@163.com

KEYWORDS XRCC1 gene; rs25487; Single nucleotide polymorphism; Lung cancer; Occurrence; Relationship

肺癌是我国恶性肿瘤致死的首要原因,暴露环境危险因素与肺癌的发生发展密切相关^[1]。但暴露在相同环境中,不同个体发生肺癌的概率仍存在很大差异^[2]。相关研究表明,遗传因素是增加肺癌易感性的重要原因之一^[2]。其中,单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)是最常见的遗传学改变,DNA修复基因的SNP可影响个体对肺癌的易感性^[3]。肺癌的发生与内、外源性致癌因子引起的DNA损伤密不可分,DNA修复基因的SNP作为个体DNA修复能力(DNA repair capacity, DRC)差异的分子遗传学基础,可能是影响肺癌发生风险的重要遗传因素^[4]。X射线损伤修复交叉互补基因1(X-ray repair cross complementing gene 1, XRCC1)是碱基切除修复(Base excision repair, BER)途径上的关键基因,其编码的蛋白与DNA聚合酶 β 、DNA连接酶III一起参与BER过程^[5]。尽管XRCC1基因rs25487位点是目前研究的热点,但因研究群体、种族等差异,结论尚存在很大分歧^[6-9]。为此,本研究以我国苏北地区汉族人群为研究对象,探讨其XRCC1基因rs25487位点多态性与肺癌发生的相关性,以期对肺癌的预防和早期诊断寻找新的标志物。

1 资料与方法

1.1 纳入与排除标准

1.1.1 肺癌组 选取2015年9月—2016年7月于徐州医科大学附属医院就诊并经病理学检查确诊为原发性肺癌的苏北地区患者作为肺癌组。纳入标准:(1)年龄 >18 岁;(2)汉族;(3)无血缘关系;(4)经细胞学或组织学检查确诊为肺癌,包括小细胞肺癌与非小细胞肺癌(如肺腺癌、肺鳞癌等)。排除标准:(1)既往有肿瘤史者;(2)曾接受过手术或放化疗者;(3)伴有其他严重疾病(如糖尿病、无法控制的高血压以及最近6个月内出现过心力衰竭或心肌梗死等)者。

1.1.2 对照组 选取同期于该院进行体检的健康志愿者作为对照组。纳入标准:(1)体检结果报告为健康;(2)与肺癌组患者无血缘关系;(3)无肿瘤尤其是肺癌家族史;(4)无明确职业性致癌因素接触史;(5)年龄、性别与肺癌组患者匹配。

本研究方案经医院医学伦理委员会审核通过,所有受试者均知情同意并签署了知情同意书。

1.2 资料收集

收集两组受试者的人口学资料,包括年龄、性别、个人疾病史、家族史、吸烟史等;采集肺癌组患者的病理学信息,包括病理类型、TNM分期、分化、转移等。

1.3 XRCC1基因rs25487位点多态性分析

所有受试者均抽取外周静脉血2 mL,采用Ezup柱式血液基因组DNA抽提试剂盒[生工生物工程(上海)

有限公司]提取DNA,操作方法参照说明书,产物置于 -20 °C冰箱中保存。采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性法(Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP)检测受试者XRCC1基因rs25487位点的基因型。引物由生工生物工程(上海)有限公司设计并合成,上游引物:5'-CCAA-CACCCCAAGTACAGC-3',下游引物:5'-TGGAG-GAGCAGTTTGTGCAA-3'。反应体系:Dream Taq PCR Master Mix 12.5 μ L,上、下游引物各2 μ L(1 μ mol/L),DNA模板5 μ L,加去离子水至25 μ L。反应条件:94 °C预变性5 min,94 °C变性30 s,60.5 °C退火30 s,72 °C延伸30 s,共30个循环;72 °C再延伸5 min。酶切反应体系:Msp I内切酶1 μ L(10 U/ μ L)、10 \times T Buffer 2 μ L、0.1%牛血清蛋白2 μ L、PCR产物10.0 μ L,加去离子水至20 μ L,于37 °C下消化12 h。取酶切产物10 μ g置于2.0%琼脂糖凝胶中电泳,电泳结果于1600R型凝胶成像系统(上海天能科技有限公司)上观察,确定各基因型。

1.4 统计学方法

采用SPSS 19.0软件对数据进行统计分析。采用拟合优度 χ^2 检验分析受试者基因型频率是否符合Hardy-Weinberg平衡。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或率表示,组间比较采用 χ^2 检验。建立Logistic回归模型评价XRCC1基因rs25487位点基因型与肺癌发生的相关性,以经患者年龄、性别、吸烟史校正后的比值比(Odds ratio, OR)和95%置信区间(Confidence interval, CI)表示相对危险度。所有统计学检验均为双侧概率检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组受试者一般资料比较

肺癌组共纳入患者208例,其中男性129例,女性79例;平均年龄(60.51 ± 8.32)岁;吸烟者116例,非吸烟者92例;腺癌96例,鳞癌86例,诊断不明确的26例;TNM分期I~II期75例,III~IV期118例,分期不明确的15例。对照组共纳入健康志愿者214例,其中男性132例,女性82例;平均年龄(60.01 ± 8.85)岁;吸烟者84例,非吸烟者130例。两组受试者的年龄及性别分布比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);而肺癌组吸烟者的比例显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),详见表1。

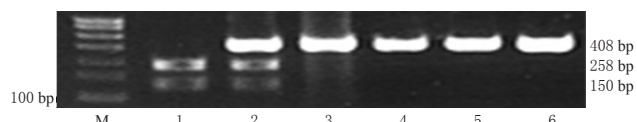
2.2 基因型分析

2.2.1 酶切结果 按“1.3”项下条件进行试验,得XRCC1基因rs25487位点PCR扩增产物的大小为408 bp。经Msp I酶切后,AA型的酶切片段大小为408 bp,AG型的酶切片段大小为408、258、150 bp,GG型的酶切片段大小为258、150 bp,详见图1。

表1 两组受试者一般资料比较

Tab 1 Comparison of general information of subjects between 2 groups

组别	n	年龄($\bar{x} \pm s$), 岁	年龄分布, 例(%)				性别分布, 例(%)		吸烟史, 例(%)	
			≤50岁	51~60岁	61~70岁	>70岁	男性	女性	吸烟	不吸烟
对照组	214	60.01 ± 8.85	39(18.2)	73(34.1)	75(35.1)	27(12.6)	132(61.7)	82(38.3)	84(39.3)	130(60.7)
肺癌组	208	60.51 ± 8.32	38(18.3)	57(27.4)	87(41.8)	26(12.5)	129(62.0)	79(38.0)	116(55.8)	92(44.2)
χ^2/t		0.598		2.805			0.005		11.542	
P		0.550		0.423			0.943		0.001	



注: M为DNA marker;泳道1为GG型;泳道2为AG型;泳道3~6为AA型

Note: M is DNA marker; lane 1 is GG genotype; lane 2 is AG genotype; lane 3-6 are AA genotypes

图1 XRCC1基因扩增酶切后电泳结果

Fig 1 Electrophoresis results of XRCC1 amplification and enzyme restriction

2.2.2 XRCC1基因型分布情况 共检出XRCC1基因rs25487位点3种基因型:AA、AG、GG型。其中,对照组受试者AA、AG、GG型频率分别为43.5%、41.1%、15.4%,肺癌组患者AA、AG、GG型频率分别为28.8%、48.6%、22.6%。两组受试者各基因型频率均符合Hardy-Weinberg平衡($P > 0.05$);但其基因型分布组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表2 两组患者XRCC1基因型分布比较[例(%)]

Tab 2 Comparison of the distribution of XRCC1 genotypes between 2 groups [case(%)]

组别	n	AA型	AG型	GG型
对照组	214	93(43.5)	88(41.1)	33(15.4)
肺癌组	208	60(28.8)	101(48.6)	47(22.6)
χ^2			10.379	
P			0.006	

2.3 XRCC1基因rs25487位点多态性与肺癌发生的相关性

Logistic回归模型分析结果显示,与XRCC1基因AA型个体比较,AG型个体发生肺癌的风险增加了2.265倍[OR=2.265,95%CI(1.299,3.950), $P=0.040$;经校正的OR=2.309,95%CI(1.274,4.185), $P=0.006$],差异有统计学意义;GG型个体发生肺癌的风险增加了1.310倍[OR=1.310,95%CI(0.771,2.228), $P=0.318$;经校正的OR=1.429,95%CI(0.811,2.518), $P=0.217$],但差异无统计学意义,详见表3。

3 讨论

DNA修复基因的SNP影响DNA的修复能力,是肺癌遗传易感性的重要因素^[3]。XRCC1基因定位于人类染色体19q13.2~13.3,包含17个外显子,大小为33 kb。该基因编码的XRCC1蛋白包含633个氨基酸,没有已知的

表3 XRCC1基因rs25487位点多态性与肺癌的相关性

Tab 3 Relationship of XRCC1 rs25487 polymorphism with lung cancer

基因型	OR(95%CI)	P	OR*(95%CI)	P*
AA型	1.000		1.000	
AG型	2.265(1.299,3.950)	0.040	2.309(1.274,4.185)	0.006
GG型	1.310(0.771,2.228)	0.318	1.429(0.811,2.518)	0.217

注:“*”表示该数值经年龄、性别、吸烟史等校正

Note:“*” means the data is corrected with age, gender and smoking history

酶活性,但作为脚手架蛋白,可与DNA聚合酶 β 、DNA连接酶III一起参与DNA修复^[6]。若个体XRCC1基因突变,可能会导致DNA修复功能的丧失^[8-10]。目前,已发现与肺癌易感性相关的3个XRCC1基因SNP位点,分别为密码子194(C26304T,第6外显子,Arg194Trp)、密码子280(G27466A,第9外显子,Arg280His)和密码子399(G28152A,第10外显子,Arg399Gln,rs25487),且多集中在rs25487位点^[8-10]。尽管国内外有很多研究表明,XRCC1基因rs25487位点多态性与肺癌易感性相关,但结果并不一致:Du Y等^[8]的研究结果显示,XRCC1基因rs25487位点碱基突变可增加个体罹患肺癌的风险($P < 0.05$);Natukula K等^[11]报道,在印度人群中,携带XRCC1基因突变杂合型和突变纯合型的个体罹患肺癌的概率显著增加($P < 0.05$);然而,Qian B等^[12]在我国天津地区受试人群中并未发现XRCC1基因rs25487位点多态性与肺癌易感性相关($P > 0.05$)。这提示,受试人群所在区域、环境及种族的差异均有可能对研究结果造成影响,故寻找本地区肺癌易感人群遗传标志物至关重要。

本研究结果显示,XRCC1基因rs25487位点突变杂合(AG)型是肺癌发生的风险基因型,携带该基因型的个体发生肺癌的风险显著升高。上述结果提示,XRCC1基因突变与肺癌发生的风险密切相关。XRCC1基因突变可导致基因序列的改变,从而影响其编码蛋白的合成,在一定程度上抑制了BER过程,最终致使个体罹患肺癌的概率增加^[13-14]。但本研究尚未发现GG(突变纯合)型与肺癌易感性相关,这可能与XRCC1基因rs25487位点GG型在该地区人群中的分布偏少,且本研究样本总量也偏小等因素有关,故此结论有待扩大样本量进一步予以验证。此外,研究过程中还发现,肺

癌组吸烟者的比例显著高于对照组,提示吸烟是诱发肺癌的重要危险因素。

综上,XRCC1基因rs25487位点突变杂合与我国苏北地区汉族人群肺癌的发生密切相关,此基因可作为肺癌预防和早期诊断的标志物。此外,吸烟亦可增加个体罹患肺癌的风险,环境-基因交互作用对肺癌的影响不能忽视。但鉴于本研究样本量偏小,本课题组将扩大样本量对上述结果进行证实,并进一步在细胞水平揭示XRCC1基因突变对其编码蛋白功能的影响及其机制。

参考文献

[1] ALLEMANI C, WEIR HK, CARREIRA H, et al. Global surveillance of cancer survival 1995-2009: analysis of individual data for 25 676 887 patients from 279 population-based registries in 67 countries (CONCORD-2) [J]. *Lancet*, 2015, 385(9972):977-1010.

[2] WU W, LI H, WANG H, et al. Effect of polymorphisms in XPD on clinical outcomes of platinum-based chemotherapy for Chinese non-small cell lung cancer patients[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3):e33200.

[3] SU Y, ZHANG H, XU F, et al. DNA repair gene polymorphisms in relation to non-small cell lung cancer survival[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 36(4):1419-1429.

[4] WANG S, WANG J, BAI Y, et al. The genetic variations in DNA repair genes ERCC2 and XRCC1 were associated with the overall survival of advanced non-small cell lung cancer patients[J]. *Cancer Med*, 2016, 5(9):2332-2342.

[5] FAN X, XIU Q. Effect of X-ray repair cross complementing group 1 polymorphisms on the efficacy of platinum-based chemotherapy in patients with non-small cell lung cancer[J]. *J Cancer Res Ther*, 2015, 11(3):571-574.

[6] YANG HY, YANG SY, SHAO FY, et al. Updated assessment of the association of the XRCC1 Arg399Gln polymorphism with lung cancer risk in the Chinese population

[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2015, 16(2):495-500.

[7] SINGH A, SINGH N, BEHERA D, et al. Association and multiple interaction analysis among five XRCC1 polymorphic variants in modulating lung cancer risk in North Indian population[J]. *DNA Repair: Amst*, 2016. DOI: 10.1016/j.dnarep.2016.09.006.

[8] DU Y, HE Y, MEI Z, et al. Association between genetic polymorphisms in XPD and XRCC1 genes and risks of non-small cell lung cancer in east Chinese Han population [J]. *Clin Respir J*, 2016 10(3):311-317.

[9] 陆俊国,李桃,张晓东,等. 非小细胞肺癌RAD51、ERCC2和BAG-1基因多态性的表达[J]. *现代肿瘤医学*, 2015, 23(1):62-65.

[10] CUI Z, YIN Z, LI X, et al. Association between polymorphisms in XRCC1 gene and clinical outcomes of patients with lung cancer: a Meta-analysis[J]. *BMC Cancer*, 2012. DOI: 10.1186/1471-2407-12-71.

[11] NATUKULA K, JAMIL K, PINGALI UR, et al. The codon 399 Arg/Gln XRCC1 polymorphism is associated with lung cancer in Indians[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(9):5275-5279.

[12] QIAN B, ZHANG H, ZHANG L, et al. Association of genetic polymorphisms in DNA repair pathway genes with non-small cell lung cancer risk[J]. *Lung Cancer*, 2011, 73(2):138-146.

[13] LONDON RE. The structural basis of XRCC1-mediated DNA repair[J]. *DNA Repair: Amst*, 2016. DOI: 10.1016/j.dnarep.2015.02.005.

[14] WU HY, DING LY. Comprehensive assessment of the association between XPD rs13181 polymorphism and lung cancer risk[J]. *Tumor Biology*, 2014, 35(8):8125-8132.

(收稿日期:2017-07-26 修回日期:2018-04-10)

(编辑:张元媛)

《中国药房》杂志——RCCSE中国核心学术期刊,欢迎投稿、订阅