

• 临床检验研究论著 •

259 例结直肠癌患者 ERCC1 基因多态性分析^{*}彭南求,赵新泰[△](上海赛安生物医药科技有限公司/卫生部医药卫生科技发展研究中心肿瘤
个体化治疗分子诊断技术研究基地,上海 201900)

摘要:目的 分析结直肠癌患者切除修复交叉互补基因 1(ERCC1)的基因多态性,以期能为结直肠癌患者的个体化治疗提供指导。方法 采用 PCR 测序法分析 259 例结直肠癌患者 ERCC1 的基因多态性。结果 男性患者 ERCC1 的基因型主要为 C/C(占 55.71%),其次是 C/T(占 37.86%),T/T 基因型仅占 6.43%;女性患者的基因型也主要是 C/C(占 59.66%),其次是 C/T(占 36.97%),T/T 基因型仅占 3.36%。25~44 岁患者中,基因型主要为 C/C(占 51.72%),其次是 C/T(占 41.38%),T/T 基因型仅占 6.90%;>44~59 岁患者中,基因型主要为 C/C(占 57.95%),其次是 C/T(占 40.91%),T/T 基因型仅占 1.14%;>59 岁患者中,基因型主要为 C/C(占 58.45%),其次是 C/T(占 34.51%),T/T 基因型仅占 7.04%。结论 结直肠癌患者 ERCC1 的基因型主要为 C/C。

关键词:结直肠癌; 切除修复交叉互补基因 1; 基因多态性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.19.009

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)19-2595-02

Polymorphism analysis of ERCC1 in 259 colorectal cancer patients^{*}Peng Nanqiu, Zhao Xintai[△](Shanghai Shines Pharmaceuticals Company Limited/Development Center for Medical
Science and Technology, Research Base of Molecular Diagnosis Technology for
Tumor Personalized Therapy, Ministry of Health, Shanghai 201900, China)

Abstract: Objective To analyze the polymorphism of excision repair cross-completion gene 1(ERCC1) in colorectal cancer patients, and to provide guidance for personalized therapy of colorectal cancer. **Methods** The polymorphism of ERCC1 in 259 patients with colorectal cancer was detected by PCR. **Results** The genotype of ERCC1 was mainly C/C(55.71%) in male patients, and then C/T(37.86%), the genotype of T/T accounted for 6.43%. The genotype of ERCC1 was also mainly C/C(59.66%) in female patients, and then C/T(36.97%), the genotype of T/T accounted for 3.36%. The genotype was mainly C/C(51.72%) aged 25 to 44 patients, and then C/T(41.38%), the genotype of T/T accounted for 6.90%. The genotype was mainly C/C(57.95%) aged more than 44 to 59 patients, and then C/T(40.91%), the genotype of T/T accounted for 1.14%. The genotype was mainly C/C(58.45%) aged more than 59 patients, and then C/T(34.51%), the genotype of T/T accounted for 7.04%. **Conclusion** The polymorphism of ERCC1 is mainly C/C in colorectal cancer patients.

Key words: colorectal cancer; excision repair cross-complementation gene 1; polymorphism

结直肠癌是常见的高危害消化道恶性肿瘤,发病率仅次于胃癌和食道癌。全球每年新发病例数超过 100 万,病死例数超过 50 万;中国每年新发病例数超过 17 万,病死例数超过 10 万。近年来结直肠癌的发病率逐渐增加。一般而言,结直肠癌多在 60~70 岁发病,50 岁以下发病率不到 20%。中国患者的发病年龄多在 40~60 岁,中位发病年龄比欧美国家约提前 10 年,高峰在 50 岁左右,但 30 岁以下的结直肠癌患者也比欧美国家多见^[1-4]。

核苷酸切除修复是细胞内最重要的修复方式,切除修复交叉互补基因 1(ERCC1)在核苷酸切除修复途径中发挥重要作用,影响肿瘤细胞对铂类药物的敏感性。ERCC1 的基因多态性可改变 ERCC1 的 DNA 修复能力,其 118 密码子 C>T 的突变为同义突变,即密码子 AAC 和 AAT 均编码天冬酰胺。有报道证实该同义突变能够影响 ERCC1 蛋白的表达水平,T 等位基因携带者的 ERCC1 mRNA 水平更高,DNA 修复能力更强,可引起患者对铂类药物的敏感性下降,化疗疗效降低^[5-8]。

本研究采用 PCR 测序法研究 259 例结直肠癌患者血液样本中 ERCC1 的基因多态性,同时比较了不同性别和年龄群体中 ERCC1 基因突变频率的差异,以期能为铂类药物的使用提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 259 例结直肠癌患者的血液样本来自全国上百家三级甲等医院(所有参与本研究的结直肠癌患者或其家属均签署过授权给上海赛安生物医药科技有限公司进行 ERCC1 基因检测的知情许可同意书),其中,男性 140 例,女性 119 例;年龄 25~44 岁 29 例,>44~59 岁 88 例,>59 岁 142 例。

1.2 仪器与试剂 Pfu 酶、dNTP 购自上海申能博能生物科技有限公司,DNA 提取试剂盒购自 Axygen Scientific Inc,所使用的 PCR 仪则购自杭州博日科技有限公司,离心机购自湘仪离心机仪器有限公司,PCR 产物序列测定由上海鼎安生物科技有限公司完成。

1.3 方法

* 基金项目:上海市宝山区科技发展基金资助项目(11-B-9);上海市引进技术吸收与创新计划项目(11CH-08);卫生部医药卫生科技发展研究中心基金项目(W2012FZ139)。作者简介:彭南求,男,博士,主要从事肿瘤个体化治疗的研究工作。△ 通讯作者,E-mail:zhaoxintai@shineschina.com

1.3.1 基因组 DNA 的提取 按照试剂盒说明书进行。

1.3.2 PCR 测序法检测 ERCC1 的基因多态性 用 primer 5 进行引物设计,由英潍捷基(上海)贸易有限公司合成。(1) PCR 扩增,正向引物:5'-GAC TGT CCA GGG TTA GGA GG-3',反向引物:5'-CAT GCC CAG AGG CTT CTC ATA-3',扩增产物长度为 415 bp。25 μL 扩增体系包括 2.5 μL 10×PCR 缓冲液,0.4 mol/L 的上、下游引物,0.25 mmol/L 的 dNTP,0.5 U Pfu 酶,100 ng DNA 模板。PCR 扩增程序:95 °C 预变性 3 min,然后进行 45 个循环的扩增(95 °C 40 s,58 °C 20 s,70 °C 40 s),最后 72 °C 延伸 5 min。(2)PCR 产物纯化测序由上海鼎安生物科技有限公司完成。

2 结 果

2.1 PCR 产物测序结果 见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”。

2.2 结直肠癌患者 ERCC1 的基因型分布 男性患者 ERCC1 的基因型主要为 C/C(占 55.71%),其次是 C/T(占 37.86%),T/T 基因型仅占 6.43%;女性患者的基因型也主要是 C/C(占 59.66%),其次是 C/T(占 36.97%),T/T 基因型仅占 3.36%。25~44 岁患者中,基因型主要为 C/C(占 51.72%),其次是 C/T(占 41.38%),T/T 基因型仅占 6.90%;>44~59 岁患者中,基因型主要为 C/C(占 57.95%),其次是 C/T(占 40.91%),T/T 基因型仅占 1.14%;>59 岁患者中,基因型主要为 C/C(占 58.45%),其次是 C/T(占 34.51%),T/T 基因型仅占 7.04%。见表 1。

表 1 结直肠癌患者 ERCC1 基因型分布[n(%)]

指标	n	C/C	C/T	T/T
性别				
男性	140	78(55.71)	53(37.86)	9(6.43)
女性	119	71(59.66)	44(36.97)	4(3.36)
年龄(岁)				
25~44	29	15(51.72)	12(41.38)	2(6.90)
>44~59	88	51(57.95)	36(40.91)	1(1.14)
>59	142	83(58.45)	49(34.51)	10(7.04)

3 讨 论

核苷酸切除修复包括转录互补修复和全基因组修复,是哺乳动物细胞 DNA 修复的主要途径,在保护基因组抵抗内部和外部因素的损害中起着非常重要的作用,如修复紫外线的损伤,避免引起癌症。核苷酸切除修复的成员包括着色性干皮病基因 A-G(XPA-XPG)、ERCC1,这些基因的多态性在不同程度上影响核苷酸切除修复能力^[9]。

有研究发现 DNA 修复基因的多态性常常会影响到癌症的发生^[10],而构成单倍型的相邻单核苷酸多态性(SNP)可能会增加罹患疾病的风险。已经有研究发现,RAI IVS1 A4364G^A、ERCC1 Asn118Asn^T 和 ASE-1 G-21A^G 基因上的 3 个 SNP 构成单倍型,与乳腺癌和肺癌的危险程度明显相关,但在结直肠癌患者中没有发现这种关系^[11~13]。然而,最新的研究发现,ERCC1 17677A>C、ERCC1 19007T>C 和 ERCC1 15310G>C 构成的单倍型可能会增加患结直肠癌的风险^[14]。单倍型多态性和癌症发生之间的确切关系可能需要更多的研究来阐明。

Vogel 等^[13]研究发现,ERCC1 密码子 118 多态性在不同人种之间的发生频率存在差异,亚洲人的 C/C 基因型最高,这也能够解释当用铂类药物治疗时,亚洲人的疗效最好。具体是什

么原因造成了这种差异,目前还没有统一的定论。

Chang 等^[15]研究发现,ERCC1 密码子 118 的 SNP 和晚期结直肠癌患者的临床结果具有明显的相关性,C/C 基因型患者的中位生存期是 15.3 个月,而 C/T 和 T/T 基因型患者的中位生存期是 11.1 个月。该研究提示,当用基于铂类药物的化疗法治疗晚期结直肠癌患者时,这个多态性可能是有用的临床结果预测指标。

参 考 文 献

- Zhao P, Dai M, Chen W, et al. Cancer trends in China[J]. Jpn J Clin Oncol, 2010, 40(4): 281~285.
- Jemal A, Siegel R, Ward E, et al. Cancer statistics[J]. JAMA, 2013, 310(9): 982~987.
- 杨玲,李连弟,陈育德,等.中国 2000 年及 2005 年恶性肿瘤发病死亡的估计与预测[J].中国卫生统计,2005,22(4): 218~221.
- 罗春英,王璇,时姗姗,等.非小细胞肺癌化疗药物敏感基因表达及其临床病理特征分析[J].医学研究生学报,2013,26(5): 481~484.
- Ryu JS, Hong YC, Han HS, et al. Association between polymorphisms of ERCC1 and XPD and survival in non-small-cell lung cancer patients treated with cisplatin combination chemotherapy [J]. Lung Cancer, 2004, 44(3): 311~316.
- Su D, Ma SL, Liu P, et al. Genetic polymorphisms and treatment response in advanced non-small cell lung cancer[J]. Lung Cancer, 2007, 56(2): 281~288.
- 吴颖,宋勇,刘红兵.切除修复交叉互补酶 1 在非小细胞肺癌中的表达及其对术后铂类辅助化疗的影响[J].医学研究生学报,2009,22(2): 150~153.
- 王璇,王建东,罗春英,等.结直肠癌中 K-ras 基因突变的检测及其临床病理学意义[J].医学研究生学报,2013,26(1): 19~22.
- Mort R, Mo L, Meehan C, et al. Lack of involvement of nucleotide excision repair gene polymorphisms in colorectal cancer[J]. Br J Cancer, 2003, 89(2): 333~337.
- Goode EL, Ulrich CM, Potter JD. Polymorphisms in DNA repair genes and associations with cancer risk[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2002, 11(12): 1513~1530.
- Nexo BA, Vogel U, Olsen A, et al. A specific haplotype of single nucleotide polymorphisms on chromosome 19q13.2-3 encompassing the gene RAI is indicative of post-menopausal breast cancer before age 55[J]. Carcinogenesis, 2003, 24(5): 899~904.
- Vogel U, Laros I, Jacobsen NR, et al. Two regions in chromosome 19q13.2-3 are associated with risk of lung cancer[J]. Mutat Res, 2004, 546(1/2): 65~74.
- Vogel U, Sorensen M, Hansen RD, et al. Gene-environment interactions between smoking and a haplotype of RAI, ASE-1 and ERCC1 polymorphisms among women in relation to risk of lung Cancer in a population-based study[J]. Cancer Lett, 2007, 247(1): 159~165.
- Moreno V, Gemignani F, Landi S, et al. Polymorphisms in genes of nucleotide and base excision repair: risk and prognosis of colorectal cancer[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(7 pt 1): 2101~2108.
- Chang PM, Tzeng CH, Chen PM, et al. ERCC1 codon 118 C→T polymorphism associated with ERCC1 expression and outcome of FOLFOX-4 treatment in Asian patients with metastatic colorectal carcinoma[J]. Cancer Sci, 2009, 100(2): 278~283.