

结直肠癌患者 FOLFOX 化疗 与 GSTP1, XRCC1 基因多态性的研究*

陈建国 (湖南省肿瘤医院, 长沙 410013)

摘要:目的 探究结直肠癌患者 FOLFOX 化疗与 GSTP1, XRCC1 基因多态性的关系。方法 选取湖南省肿瘤医院 2014 年 1 月~12 月收治的结直肠癌术后患者 60 例作为研究对象, 给予改良 FOLFOX 方案化疗, 并测定患者 GSTP1, XRCC1 基因序列多态性, 统计患者疗效并探究疗效与 GSTP1, XRCC1 基因序列多态性的关系。结果 患者完全缓解与部分缓解的例数和患者稳定与进展的例数与患者的性别、年龄、肿瘤位置、病理分化、TNM 分期无关($\chi^2=0.136\sim1.837$, P 值均 >0.05); 携带 GSTP1 A/A 基因型患者 41 例(68.3%), 携带 A/G 基因型患者 14 例(23.3%), 携带 G/G 基因型患者 5 例(8.3%), GSTP1 基因野生型(A/A)患者治疗有效率低于 GSTP1 基因突变型(A/G+G/G)患者($\chi^2=4.493$, $P=0.034$)。携带 XRCC1 G/G 基因型患者 35 例(58.3%), 携带 G/A 基因型患者 22 例(36.7%), 携带 A/A 基因型患者 3 例(5%), XRCC1 基因野生型(G/G)患者治疗有效率高于突变型(G/A+A/A)患者($\chi^2=4.691$, $P=0.030$)。结论 研究表明结直肠癌患者 GSTP1(A/A), XRCC1(G/G) 基因多态性与 FOLFOX 化疗的敏感性相关。

关键词:结直肠癌; 谷胱甘肽 S-转移酶基因; X 线修复交叉互补基因 1 基因; 基因多态性

中图分类号:R735.3; R730.43 **文献标志码:**A **文章编号:**1671-7414(2016)05-066-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2016.05.017

Relationship between FOLFOX Chemotherapy of Colorectal Cancer Patients and GSTP1, XRCC1 Gene Polymorphism

CHEN Jian-guo (Tumor Hospital of Hunan Province, Changsha 410013, China)

Abstract: **Objective** To explore the relationship between FOLFOX Chemotherapy and GSTP1, XRCC1 gene polymorphism in patients with colorectal cancer. **Methods** 60 cases of colorectal cancer treated in Tumor hospital of Hunan Province from January to December 2014 were selected as the research object. Treat patients with modified FOLFOX regimen, determined the GSTP1, XRCC1 gene sequence polymorphism, and explored the relationship between the efficacy and the GSTP1, XRCC1 gene sequence polymorphism. **Results** The number of patients with complete remission and partial remission and the number of patients with stable and progress were not related to the gender, age, tumor location, pathological differentiation, TNM staging of patients ($\chi^2=0.222\sim1.8$, $P>0.05$). Of all cases, the frequencies of GSTP1 A/A, A/G and G/G genotype were 68.3%, 23.3% and 8.3%, respectively. GSTP1 gene wild-type (A/A) patients were treated with less efficiency than the GSTP1 gene mutation type (A/G+G/G) patients ($\chi^2=4.493$, $P=0.034$). Of all cases, the frequencies of XRCC1 G/G, G/A and A/A genotype were 58.3%, 36.7% and 5%, respectively. XRCC1 gene wild type (G/G) patients with effective rate was higher than that of mutant type (G/A+A/A) patients ($\chi^2=4.691$, $P=0.030$). **Conclusion** The study showed that GSTP1(A/A), XRCC1 (G/G) gene polymorphism may be associated with clinical response to FOLFOX chemotherapy in advanced colorectal cancer.

Keywords: colorectal cancer; GSTP1 gene; XRCC1 gene; gene polymorphism

结直肠癌是一种严重威胁人类生命健康的恶性肿瘤, 近年来, 包括我国在内的世界上多数国家结直肠癌的发病率逐渐上升^[1,2]。由于多数患者在癌症进展至中晚期时才发现与确认病情, 因此, 辅助化疗的重要性逐渐提升, 含奥沙利铂的联合化疗现在已成为经典有效的化疗方案^[3,4]。然而在临床实际治疗过程中, 将相同化疗方案、相同剂量药物给予患者进行治疗时, 疗效差异显著, 且研究表明这种差异与病人的一般情况如年龄、性别、并发症、肝肾功能等因素无关^[5]。本研究通过比较结直肠癌患者谷胱甘肽 S-转移酶(GSTP1), X 线修复交

叉互补(XRCC1)基因突变所引起的基因多态性与疗效的关系, 探究其对疗效的影响。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取我院 2014 年 1 月~12 月收治的结直肠癌术后患者 60 例作为研究对象。病例纳入标准: ①患者经手术及病理切片确诊为结肠癌或直肠癌, 病理分型为中分化腺癌, TNM 分期为 II 期或 III 期; ②患者诊断为单一部位肿瘤; ③患者诊断为首次确诊, 非复发、转移; ④患者全身重要脏器, 如心、肝、肺、肾功能正常; ⑤患者无化疗禁忌症; ⑥经医院伦理委员会批准, 患者签署知情同意

* 作者简介: 陈建国(1969-), 男, 研究生, 副主任技师, 主要从事分子生物学检验和细菌耐药性机制研究, Tel: 15873360847。

书。排除标准:①有任一项不符合上述纳入标准者;②患者因各种原因不能完成术后相关化疗方案者;③患者不能遵医嘱完成相关治疗者。

1.2 试剂和仪器 基因组DNA提取试剂由湖南长沙三济生物技术有限公司生产,PCR扩增反应所用仪器为美国ABI 7500型快速实时荧光定量PCR,基因多态性测定所用仪器为北京六一仪器厂生产的DYY-PAGE型电泳仪。

1.3 方法

1.3.1 治疗方法:所有患者均给予改良FOLFOX方案进行化疗,具体方案为:第1天:奥沙利铂(山东齐鲁制药有限公司)以 120 mg/m^2 为剂量标准,静滴2 h。第1~5天:左亚叶酸钙(山东齐鲁制药有限公司)以 130 mg/m^2 为剂量标准,静滴2 h,5-氟尿嘧啶(西安海欣制药有限公司)以 300 mg/m^2 为剂量标准,静滴4 h。每5天为一个周期,每三周重复一个周期,共完成3~4个周期。

1.3.2 实验方法:患者于化疗前空腹状态下经肘静脉抽取静脉血3~4 ml,送至实验室置于 -80°C 冰箱保存待测。

具体实验方法为:①DNA的提取与纯化:根据湖南长沙三济生物技术有限公司的说明书提取并纯化基因组DNA。采用紫外分光光度计检测提取与纯化得到的DNA片段的浓度与纯度,检测标准为:DNA在 $A_{260\text{ nm}}$ 处有显著吸收峰, $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 比值在1.7~1.9范围内。②PCR反应:采用针对GSTP1,XRCC1基因序列的引物,GSTP1基因引物长度280 bp,上游引物序列为5'-AC-CCCAGGGCTCTATGGGAA-3',下游引物序列为5'-TGAGGGCACAAGAAGCCCCT-3'。XRCC1基因引物长度420 bp,上游引物序列为5'-TT-GTGCTTTCTCTGTGTCCA-3',下游引物序列为

5'-TCCTCCAGCCTTTTCTGATA-3'。反应体系包括PCR缓冲液 $2\text{ }\mu\text{l}$, 10.0 mmol/L dNTP $0.8\text{ }\mu\text{l}$,基因上下游引物各 $0.4\text{ }\mu\text{l}$,模板DNA $1\text{ }\mu\text{l}$,Taq酶 $0.15\text{ }\mu\text{l}$,加水至总体积 $20\text{ }\mu\text{l}$ 。循环条件:先 95°C 预变性7 min,然后以 95°C 变性20 s, 55°C 退火30 s, 72°C 终末延伸90 s的循环条件作35个循环,最后 72°C 延伸7 min。③基因多态性测定:采用适当的限制性内切酶消化PCR产物后进行电泳分析,电泳条件为琼脂糖浓度 3 ml/dl ,电压200 V,3 h,通过观察条带的反应情况确定相关基因多态性。

1.3.3 观察指标:①记录并统计患者GSTP1,XRCC1基因多态性与相应的例数;②观察并记录患者在化疗过程中发生的毒副反应;③追踪患者的治疗效果,统计例数。

1.3.4 疗效评价:综合患者彩超、CT、钡餐透视及纤维胃镜等检测结果,采用WHO1979年发布的肿瘤客观疗效判定标准进行评价:①完全缓解(complete remission,CR):可见的肿瘤病变完全消失,维持4周以上;②部分缓解(partial remission,PR):肿瘤最大截面积缩小50%以上,维持4周以上;③稳定(stable disease,SD):肿瘤最大截面积缩小不足50%,或增大不超过25%,维持4周以上;④进展(progression disease,PD):肿瘤最大截面积增大超过25%,或出现新病灶。

1.4 统计学分析 所有数据均采用SPSS19.0统计软件对本研究相关数据进行统计学分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验分析,计数资料用卡方检验,采用Fisher确切概率法,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 患者一般资料与疗效的比较 见表1。

表1 患者一般资料与疗效的比较

项目	<i>n</i>	所占比例(%)	CR+PR(例)	SD+PD(例)	χ^2	<i>P</i> 值
年龄(岁)						
≤60	24	40.00	13	11	0.278	0.598
>60	36	60.00	17	19		
性别					0.837	0.360
男性	40	66.67	23	17		
女性	20	33.33	9	11		
肿瘤位置					0.432	0.505
结肠	34	56.67	16	18		
直肠	26	43.33	10	16		
病理分型				60		
腺癌					0.136	0.713
中分化	40	66.67	22	18		
低分化	20	33.33	12	8		
TNM分期					0.156	0.693
Ⅱ期	25	41.67	13	12		
Ⅲ期	35	58.33	20	15		

由表中数据可知,以性别、年龄、肿瘤位置、病理分

化、TNM分期对患者进行分组,比较各组患者完

全缓解与部分缓解的例数和患者稳定与进展的例数,差异不具有统计学意义($P>0.05$)。

2.2 患者 GSTP1 基因与 XRCC1 基因多态性与疗效的比较 见表 2。由表中数据可知, GSTP1 基因野生型(A/A)患者有效率明显低于 GSTP1 基因突变型(A/G+G/G)患者有效率, XRCC1 野生型(G/G)患者有效率明显高于 XRCC1 基因突变型(G/A+A/A)患者有效率,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 患者 GSTP1 基因和 XRCC1 基因多态性与疗效的比较

基因多态性	<i>n</i>	合计	CR+PR(例)	有效率(%)	χ^2	P 值
GSTP1 基因						
A/A	41	41	16	39.02	4.493	0.034
A/G	14	19	13	68.42		
G/G	5					
XRCC1 基因						
G/G	35	35	23	65.71	4.691	0.030
G/A	22	25	8	32.00		
A/A	3					

3 讨论 目前临床治疗结直肠癌的主要手段是手术治疗,但术后发生肿瘤远处转移或局部复发的患者占了很大比例。因此,通过术后辅助化疗消灭体内局部微小病灶是保证疗效的重要环节。结直肠癌患者术后辅助化疗的常用的方案是含奥沙利铂的联合化疗,然而实际治疗时,接受相同化疗方案的结直肠癌患者治疗效果千差万别。随着基因组学在化疗药物作用机制方面的深入研究,人们逐渐认识到一些能预测铂类药物疗效的基因。通过检测这些基因的多态性情况,针对不同的患者选择最佳的特异的化疗方案进行个体化治疗是提高化疗效果的有效途径。

本实验研究发现结直肠癌患者对 FOLFOX 化疗的疗效与性别、年龄、肿瘤位置、病理分化、肿瘤分期无关。结直肠癌患者由于 GSTP1 与 XRCC1 携带不同基因多态性,导致对 FOLFOX 化疗的疗效差异。

目前研究证实 GSTP1 基因多态性位点是位于第 5 个外显子的 313 位点的腺嘌呤 A 突变为鸟嘌呤 G,导致第 105 位密码子由异亮氨酸(Ile)变为缬氨酸(Val),从而降低了 GSTP1 活性^[6],导致其编码的蛋白酶活性下降,结合奥沙利铂的能力降低,从而减少奥沙利铂的代谢排出,降低机体对铂类化疗药物的耐药性^[7]。

目前研究较多的是在头颈部肿瘤、非小细胞性肺癌、乳腺癌、皮肤癌及急性白血病中, GSTP1 基因多态性是机体对奥沙利铂等铂类药物化疗耐药

的关键因素。但是结直肠癌患者 GSTP1 基因多态性对 FOLFOX 化疗的疗效如何,国内报道不多。本文发现 GSTP1 A/G 杂合和 G/G 纯合的患者对 FOLFOX 化疗的疗效率高与 GSTP1 A/A 患者,表明结直肠癌患者对 FOLFOX 化疗的有效率与 GSTP1 基因的多态性存在相关性。Kumamoto 等^[8]研究报道 GSTP1 A/G 和 G/G 基因型患者对 FOLFOX 化疗的敏感性比 A/A 型患者显著增高,我们的研究结果与 Kumamoto 等^[8]的报道相一致。但 Polimants 等^[9]研究发现 GSTP1 A/G 杂合和 G/G 纯合的患者对 FOLFOX 化疗的疗效率比 A/A 型患者要低, Holley 等^[10]研究发现接受 FOLFOX 化疗的 329 例结直肠癌患者, GSTP1 突变与患者预后无关。这种研究结果不一致,可能与种族、研究人群不同、方法学、标本量、化疗方案等有关。

X 线修复交叉互补基因 1(XRCC1)基因是一种重要的修复基因,参与修复碱基切除, XRCC1 基因通过修复破坏的单链和碱基发挥耐药性,影响化疗效果。XRCC1 基因 Arg399Gln 位点 G→A 的变异,引起 399 位密码子由精氨酸(Arg)变为谷氨酰胺(Gln),影响了 XRCC1 的修复能力,导致对 FOLFOX 化疗敏感性差异。本文 60 例结直肠癌患者携带 XRCC1 G/G 基因型患者 35 例(58.3%),携带 G/A 基因型患者 22 例(36.7%),携带 A/A 基因型患者 3 例(5%), XRCC1 G/A 杂合和 A/A 纯合的患者对 FOLFOX 化疗的疗效率低于 XRCC1 G/G 患者, Lu 等^[11]研究认为与 G/A 和 A/A 基因型相比,携带有 XRCC1 G/G 基因型患者对 FOLFOX 化疗的有效率显著增高, Lamas 等^[12]报道携带有 XRCC1 G/G 基因型患者对 FOLFOX 化疗有更好的敏感性,我们的研究结果与国外报道基本一致。

综上所述,研究表明结直肠癌患者 GSTP1, XRCC1 基因多态性与奥沙利铂化疗效果有关, GSTP1, XRCC1 基因多态性检测有助于临床医生预测奥沙利铂等铂类药物应用于某一患者的疗效,但由于本文标本量小以及未设定对照组可能研究结果存在偏倚,还应加大标本量继续进行多中心前瞻性研究。

参考文献:

- [1] 陈 琼, 刘志才, 程兰平, 等. 2003~2007 年中国结直肠癌发病与死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2012, 21(3): 179-182.
Chen Q, Liu ZC, Cheng LP, et al. An analysis of incidence and mortality of colorectal cancer in China, 2003~2007[J]. China Cancer, (下转 72 页)

- Yan ZM, Wei P, Qiang L, et al. Clinical assessment of oral diagnostic items in 2002 classification criteria for primary Sj(o)gren's syndrome[J]. Journal of Peking University(Health Sciences), 2012, 44(1): 51-54.
- [7] 徐东, 赵岩. 干燥综合征疾病活动及脏器损伤指数的研究进展[J]. 实用医院临床杂志, 2015, 12(5): 22-26.
- Xu D, Zhao Y. Disease activity index and damage index in Sjogren's syndrome[J]. Practical Journal of Clinical Medicine, 2015, 12(5): 22-26.
- [8] 陈晓磊, 杨继文, 葛俊亮, 等. 干燥综合征核素唾液腺动态显像结果与病理分级的相关性研究[J]. 皖南医学院学报, 2015, 34(6): 591-593.
- Chen XL, Yang JW, Ge JL, et al. Dynamic features of salivary gland scintigraphy and pathological grading for Sjogren's syndrome[J]. Acta Academiae Medicinae Wannan, 2015, 34(6): 591-593.
- [9] 陈达. Th22细胞与自身免疫性疾病[J]. 中外健康文摘, 2012, 9(30): 9-11.
- Chen D. Th22 cells and autoimmune diseases[J]. Worldhealth Digest Medical Periodical, 2012, 9(30): 9-11.
- [10] 扈煜. Tc17, Th22, Treg/Th17 细胞亚群在 ITP 发病中的意义及机制研究[D]. 济南: 山东大学, 2013.
- Hu Y. The effects of Tc17, Th22, Treg/Th17 subsets in primary immune thrombocytopenia [D]. Jinan: Shandong University, 2013.
- [11] 雷玲彦. Tfh 细胞在原发性干燥综合征中的致病作用[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2013.
- Lei LY. The role of Tfh cells in the pathogenesis of primary Sjogren's syndrome[D]. Shijiazhuang: Hebei Medical University, 2013.
- [12] 王文军, 温江涛. 原发性干燥综合征患者外周血 Th17 细胞的检测及意义[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(6): 1039-1040.
- Wang WJ, Wen JT. Expression and significance of Th17 cell from peripheral blood of patients with primary sjogren's syndrome[J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2011, 15(6): 1039-1040.
- 收稿日期: 2016-04-14 修回日期: 2016-08-30
-
- (上接 68 页) 2012, 21(3): 179-182.
- [2] Woodson. Epidemic Trend and Countermeasures of Cancer[J]. Colorectal Cancer, 2011(09): 897-902.
- [3] 郑民华. 腹腔镜结直肠癌手术的现状与展望[J]. 中国实用外科杂志, 2011, 31(9): 841-843.
- Zheng MH. The Present Situation and Prospect of Laparoscopic Colorectal Cancer Surgery[J]. Chinese Journal of Practical Surgery, 2011, 31(9): 841-843.
- [4] 蒋蔚茹, 刘杰. 结直肠癌化疗进展[J]. 中国肿瘤, 2011, 20(3): 200-203.
- Jiang WR, Liu J. Progress in chemotherapy for colorectal cancer[J]. Chinese Cancer, 2011, 20(3): 200-203.
- [5] 黄佳莹, 张文. 基因多态性预测结直肠癌化疗效果和不良反应[J]. 肿瘤, 2012, 30(2): 164-169.
- Huang JY, Zhang W. Gene polymorphisms predict efficacy and toxicity of chemotherapy for colorectal cancer[J]. Tumor, 2012, 30(2): 164-169.
- [6] 刘杨. DNA 修复基因 XRCC1 和 XRCC3 在结直肠癌中的表达及其多态性与化疗后患者生存期关系的研究[D]. 长沙: 中南大学, 2013.
- Liu Y. The expression of DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 in the colorectal cancer and prediction of genetic[D]. Chongqing: Central South University, 2013.
- [7] 沈冬亚, 周宏灏. MTHFR, GSTP1, ERCC1 基因多态性与结直肠癌 FOFLOX 化疗方案疗效相关性研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2014.
- Shen DY, Zhou HH. Association of MTHFR, GSTP1, ERCC1 polymorphisms and response to FO-FLOX in colorectal cancer patients[D]. Chongqing: Chongqing Medical University, 2014.
- [8] Kumamoto K, Ishibashi K, Okada N, et al. Polymorphisms of GSTP1, ERCC2, and TS-3'UTR are association with the clinical outcome of mFOLFOX in colorectal cancer patients[J]. Oncol Lett, 2013, 6(3): 648-654.
- [9] Polimanti R, Carbonic C, Baesso I, et al. Genetic variability of glutathione S-transferase enzymes in human populations functional inter-ethnic differences in detoxification systems[J]. Gene, 2013, 512(1): 102-107.
- [10] Holley SL, Rajagopal R, Hoban PR, et al. Polymorphisms in the glutathione S-transferase mu cluster are associated with tumour progression and patient outcome in colorectal cancer[J]. Int J Oncol, 2006, 28(1): 231-236.
- [11] Lü H, Li Q, Qiu W, et al. Genetic polymorphism of XRCC1 correlated with response to oxaliplatin-based chemotherapy in advanced colorectal cancer [J]. Cancer Invest, 2013, 31(1): 24-28.
- [12] Lamas MJ, Duran G, Gomez A, et al. X-ray cross complementing group1 and thymidylate synthase polymorphisms might predict response to chemotherapy in rectal cancer patients[J]. Int J Radiat Oncol Biophys, 2012, 82(1): 138-144.
- 收稿日期: 2016-04-05 修回日期: 2016-07-12