

II期宫颈鳞癌患者 MTHFR 和 GSTP1 基因多态性与化疗敏感度及预后的相关性研究

朱家凤, 苏琦 (西北妇女儿童医院药剂科, 西安 710061)

摘要: 目的 研究 II 期宫颈鳞癌患者亚甲基四氢叶酸还原酶 (methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR) 和谷胱甘肽 S 转移酶 P1 (glutathione S transferase P1, GSTP1) 基因多态性与化疗敏感度及预后的相关性。方法 选取 2015 年 1 月 ~ 2016 年 1 月西北妇女儿童医院收治的 80 例行顺铂联合 5 氟尿嘧啶 (PF) 化疗方案的 II 期宫颈鳞癌患者为研究对象, 检测 MTHFR-rs1801131 和 GSTP1-rs1695 位点的多态性, 并分析其与患者化疗敏感度及 5 年生存率的相关性。结果 II 期宫颈鳞癌患者的 MTHFR-rs1801131 和 GSTP1-rs1695 位点的分布符合 Hardy-Weinberg 平衡 ($\chi^2=2.069$, 5.123, 均 $P > 0.05$), 具有群体代表性。MTHFR-rs1801131 位点中 AA 基因型 (77.50%) 占比高于 AC (12.50%) 和 CC (10.00%) 基因型 ($\chi^2=105.450$, $P < 0.001$), GSTP1-rs1695 位点中 AA 基因型 (65.00%) 占比高于 AG (23.75%) 和 GG (11.25%) 基因型 ($\chi^2=56.963$, $P < 0.001$), 差异均有统计学意义。MTHFR-rs1801131 位点 AA 基因型化疗敏感度为 24.19%, AC/CC 型为 33.33%, 其差异无统计学意义 ($\chi^2=0.602$, $P=0.438$)。GSTP1-rs1695 位点 AA 基因型和 AG/GG 基因型的化疗敏感度分别为 17.31% 和 39.29%, G 等位基因型对化疗的敏感度更强, 且差异具有统计学意义 ($\chi^2=4.689$, $P=0.030$)。此外, MTHFR-rs1801131 位点 AA 基因型患者 5 年生存率为 75.81%, AC/CC 型为 50.00%。与 AA 基因型相比, AC/CC 型患者的 5 年生存率较短 (Log-rank=5.035, $P=0.024$ 8)。GSTP1-rs1695 位点 AA 基因型和 AG/GG 基因型的 5 年生存率分别为 78.85% 和 71.43%, 差异无统计学意义 (Log-rank=0.594 0, $P=0.440$ 9)。结论 MTHFR-rs1801131 位点的多态性可影响 II 期宫颈鳞癌患者的化疗预后, GSTP1-rs1695 位点的多态性则与 II 期宫颈鳞癌患者的化疗敏感度相关。

关键词: 宫颈鳞癌; 亚甲基四氢叶酸还原酶; 谷胱甘肽 S 转移酶 P1

中图分类号: R512.62; R575.7; R392.11 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 02-054-05

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.02.011

Correlation between MTHFR and GSTP1 Gene Polymorphisms and Chemotherapy Sensitivity and Prognosis in Patients with Stage II Cervical Squamous Cell Carcinoma

ZHU Jia-feng, SU Qi

(Department of Pharmacy, Northwest Women's and Children's Hospital, Xi'an 710061, China)

Abstract: Objective To study the correlation between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and glutathione S transferase P1 (GSTP1) gene polymorphisms and chemosensitivity and prognosis in patients with stage II cervical squamous cell carcinoma. **Methods** 80 patients with stage II cervical squamous cell carcinoma treated with PF chemotherapy regimen in Northwest Women's and Children's Hospital from January 2015 to January 2016 were selected as the research object. The polymorphisms of MTHFR-rs1801131 and GSTP1-rs1695 loci were detected, and their correlation with chemotherapy sensitivity and 5-year survival rate were analyzed. **Results** The distribution of MTHFR-rs1801131 and GSTP1-rs1695 in stage II cervical squamous cell carcinoma patients accorded with Hardy Weinberg equilibrium ($\chi^2=2.069$, 5.123, all $P > 0.05$). The proportion of AA (77.50%) genotype in MTHFR-rs1801131 was higher than that in AC (12.50%) and CC (10.00%) genotypes, ($\chi^2=105.450$, $P < 0.001$), and the proportion of AA (65.00%) genotype in GSTP1-rs1695 locus was higher than that in AG (23.75%) and GG (11.25%) genotypes ($\chi^2=56.963$, $P < 0.001$), the differences were statistically significant, respectively. According to the definition of chemosensitivity, it was found that the chemosensitivity of AA genotype at MTHFR-rs1801131 was 24.19%, and that of AC/CC genotype was 33.33%, the difference was not statistically significant ($\chi^2=0.602$, $P=0.438$). The chemosensitivity of AA genotype and AG/GG genotype at GSTP1-rs1695 locus were 17.31% and 39.29%, respectively. G allele was more sensitive to chemotherapy, and the difference was statistically significant ($\chi^2=4.689$, $P=0.030$). The 5-year survival rate of AA genotype at MTHFR-rs1801131 locus was 75.81% and that of AC/CC genotype was 50.00%. Compared with AA genotype, the 5-year

作者简介: 朱家凤 (1989-), 女, 本科, 主管药师, 研究方向: 临床药学, E-mail: 562600345@qq.com.

通讯作者: 苏琦 (1986-), 男, 本科, 主管药师, 研究方向: 临床药学, E-mail: 450216864@qq.com.

survival rate of patients with AC/CC genotype was shorter (log rank=5.035, $P=0.0248$). The 5-year survival rates of AA genotype and Ag / GG genotype at GSTP1-rs1695 locus were 78.85% and 71.43%, respectively. There was no significant difference (log rank=0.594 0, $P=0.440$ 9). **Conclusion** the polymorphism of MTHFR-rs1801131 locus could affect the chemotherapy prognosis of patients with stage II cervical squamous cell carcinoma, and the polymorphism of GSTP1-rs1695 locus was related to the chemotherapy sensitivity of patients with stage II cervical squamous cell carcinoma.

Keywords: cervical squamous carcinoma; methylenetetrahydrofolate reductase; glutathione S transferase P1

宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤之一^[1-2],尽管近年来宫颈癌的综合防治水平逐渐提高,但晚期宫颈癌患者复发和耐药机制尚不清楚^[3-5]。新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NACT)是宫颈癌的规范治疗方法,可显著改善宫颈癌患者的预后,基于顺铂联合5-氟尿嘧啶(PF)化疗方案是治疗宫颈癌的常见方案^[6]。前期研究发现,患者的遗传背景如单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)可影响化疗药物在机体内的药物代谢动力学,导致不同患者对化疗的敏感度和耐受性的不同^[7-8]。对参与药物代谢以及DNA合成和修复的基因编码酶,如:亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)和谷胱甘肽S转移P1(glutathione S transferase P1, GSTP1)的多态性研究对于提高化疗效果、改善预后具有重要的意义^[9]。本研究聚焦于MTHFR-rs1801131和GSTP1-rs1695位点的多态性与II期宫颈鳞癌化疗敏感度及预后的关系,以期为临床治疗提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取2015年1月~2016年1月西北妇女儿童医院收治的80例行PF化疗方案的II期宫颈鳞癌患者为研究对象。年龄42~68岁,平均年龄 45.88 ± 9.52 岁。本研究经西北妇女儿童医院伦理委员会批准,患者及家属签署知情同意书。

纳入标准:①患者及家属签署知情同意书;②我院伦理委员会审批同意;③病理学证实宫颈鳞癌;④宫颈癌国际妇产科联盟(FIGO)临床分期为II期;⑤无心肝肾功能衰竭。

排除标准:①并发其他恶性肿瘤;②铂类或5-氟尿嘧啶类化疗过敏;③病理诊断为腺癌或不明确者。

1.2 仪器与试剂 5-氟尿嘧啶(上海旭东海普药业有限公司,国药准字H31020593),顺铂(昆明贵研药业有限公司,国药准字H53020409),实时荧光定量PCR仪,DNA测序仪以及DNA提取试剂盒均购自美国赛默飞公司,引物由上海生工公司设计合成。

1.3 方法 化疗方案:所有宫颈癌患者采用PF化疗方案:5-氟尿嘧啶 $500\text{mg}/\text{m}^2$ 微量泵入和顺铂 $20\text{mg}/\text{m}^2$ 静脉滴注,行2个疗程化疗,间隔20天,

当患者出现严重不良反应时停止用药,并依据血药浓度的结果调整用药剂量。化疗后第9天评估化疗敏感度,2周后行宫颈癌根治术。

基因多态性检测:患者化疗前抽取静脉血,离心后按照试剂盒的说明书提取外周血中的DNA。采用PCR法检测MTHFR-rs1801131和GSTP1-rs1695位点的多态性,DNA测序仪对扩增结果进行分析,确定研究位点等位基因的情况。

化疗敏感度评价:化疗敏感度评价参见实体肿瘤的疗效评价标准1.1版(response evaluation criteria in solid tumor, RECIST version 1.1),化疗疗效分为完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial remission, PR)、疾病进展(progression of disease, PD)和疾病稳定(stable disease, SD)。化疗敏感定义为CR+PR,化疗不敏感定义为PD+SD。

随访:对化疗后病人采取来院随访或者电话随访,总体随访时间为60个月,随访主要指标为总体生存率(overall survival, OS)。

1.4 统计学分析 所有数据资料采用SPSS24.0统计软件进行处理、分析,分类变量以率来表示,采用 χ^2 检验分析SNP和相关指标的关系,Kaplan-Meier曲线法评估宫颈癌患者的生存率。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MTHFR-rs1801131和GSTP1-rs1695位点基因型分布的比较 80例宫颈癌化疗患者的MTHFR-rs1801131和GSTP1-rs1695位点的分布符合Hardy-Weinberg平衡($\chi^2=2.069$, 5.123, 均 $P > 0.05$),具有群体代表性。MTHFR-rs1801131位点中AA[62(77.50%)]基因型占比高于AC[10(12.50%)]和CC[8(10.00%)]基因型($\chi^2=105.450$, $P < 0.001$),GSTP1-rs1695位点中AA[52(65.00%)]基因型占比高于AG[19(23.75%)]和GG[9(11.25%)]基因型($\chi^2=56.963$, $P < 0.001$),差异均有统计学意义。

2.2 MTHFR-rs1801131和GSTP1-rs1695位点基因型与化疗敏感度的关系 见表1。MTHFR-rs1801131位点AA基因型的化疗敏感度为24.19%,AC/CC型为33.33%,其差异无统计学意义($\chi^2=0.602$, $P=0.438$)。GSTP1-rs1695位点AA基因型和AG/GG基因型的化疗敏感度分别为17.31%和39.29%,G等位基因型对化疗的敏感度更强并且其差异具有统

计学意义 ($\chi^2=4.689$, $P=0.030$)。

表1 MTHFR-rs1801131 和 GSTP1-rs1695 位点基因型与化疗敏感度的关系

基因型	n	化疗敏感度 [n(%)]		OR(95%CI)	χ^2 值	P 值
		敏感	不敏感			
MTHFR-rs1801131 AA	62	15(24.19)	47(75.81)	0.087(0.501 ~ 4.896)	0.602	0.438
AC/CC	18	6(33.33)	12(66.67)			
GSTP1-rs1695 AA	52	9(17.31)	43(82.69)	0.242(1.088 ~ 8.788)	4.689	0.030
AG/GG	28	11(39.29)	17(60.71)			

2.3 MTHFR-rs1801131 和 GSTP1-rs1695 位点基因型与预后的相关性 见图1。通过随访患者的OS, 发现 MTHFR-rs1801131 位点 AA 基因型 5 年生存率为 75.81%, AC/CC 型为 50.00%。与 AA 基因型相比, AC/CC 型患者的 5 年生存率较短 (Log-rank=5.035, $P=0.0248$)。GSTP1-rs1695 位点 AA 基因型和 AG/GG 基因型的 5 年生存率分别为 78.85% 和 71.43%, 差异无统计学意义 (Log-rank=0.594 0, $P=0.440$ 9)。

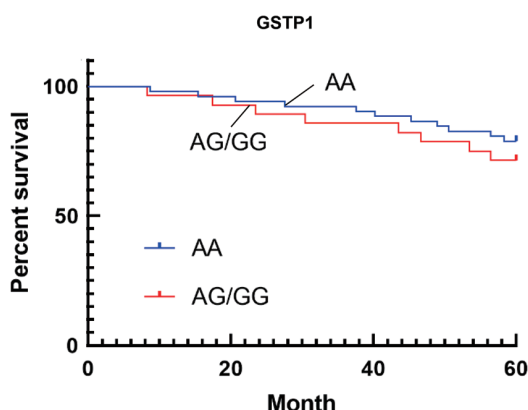


图1 MTHFR-rs1801131 和 GSTP1-rs1695 位点基因型的生存曲线

3 讨论

宫颈癌是发展中国家最常见的女性恶性肿瘤之一, 也是女性死亡的主要原因。目前宫颈癌的患病率和年轻患者的数量逐年增加, 以手术为主的综合治疗是宫颈癌的主要治疗模式^[10]。许多学者认为新辅助化疗可提高肿瘤手术切除率, 减少盆腔浸润和远处转移的发生, 但由于肿瘤的异质性及个体差异的原因, 仍然会出现化疗不敏感甚至化疗失败。因此, 探究宫颈癌患者化疗敏感度及预后的影响因素对于指导临床治疗具有重要的意义。宫颈癌最常见的病理类型是鳞癌, 其次是宫颈腺癌和宫颈腺鳞癌。虽然三种病理类型存在差异, 但美国国家综合癌症网络指南和国际妇产科联盟 (FIGO) 指南并未将三种类型宫颈癌的治疗进行区分^[11]。因此, 本研究选取宫颈鳞癌患者作为研究对象, 以探讨化疗敏感度及预后的影响因素。

随着药物基因组学的进步, 参与药物代谢动力学相关酶的基因多态性逐渐为人们所了解, 多项研究报道了其基因的多态性影响了患者对化疗的敏感度以及预后效果^[12]。MTHFR 是叶酸代谢途径中的关键代谢酶, 其可将 5,10- 亚甲基四氢叶酸转化为具有生物学功能的 5- 甲基四氢叶酸, 进而参与 DNA 合成、修饰和甲基化等过程。研究报道 MTHFR 基因位点的突变可直接影响 5- 氟尿嘧啶在体内代谢的过程, 进而影响化疗效果。刘畅等^[13]人研究发现 MTHFR C667T 位点发生 C-T 突变降低了 5- 氟尿嘧啶和卡培他滨化疗对胃癌患者的疗效。此外, 赵帅等^[14]人也报道, MTHFR-rs1801131 位点的突变可作为独立因素引起结肠癌患者新辅助化疗疗效的下降。然而, MTHFR-rs1801131 位点与 II 期宫颈鳞癌化疗敏感度及预后的关系未见相关报道。本研究发现 II 期宫颈鳞癌患者 MTHFR-rs1801131 位点 AC/CC 型患者的 5 年生存率短于 AA 基因型患者, 这与其在结肠癌中报道结果相一致^[15]。

GSTP1 是一种胞质解毒酶, 功能障碍的 GSTP1 可产生大量 ROS 诱导的氧化应激, 从而参与食管癌、胃癌、肺癌、乳腺癌和结直肠癌等多种肿瘤的发病机制^[16]。文献报道, GSTP1-rs1695 位点 A 到 G 的突变可引起 DNA 损伤修复效率的变化, 并导致铂类化疗药物的代谢改变。此外, GSTP1-rs1695 位点 A 到 G 也可导致结肠癌对铂类化疗药物的敏感度增强。目前 GSTP1-rs1695 位点的多态性在宫颈癌化疗敏感度中未见报道, 本研究发现 GSTP1-rs1695 位点 AA 基因型和 AG/GG 基因型的化疗敏感度分别为 17.31% 和 39.29%, G 等位基因型对化疗的敏感度更强, 且差异有统计学意义。周力恒^[17]也在采用紫杉醇联合顺铂化疗的乳腺癌患者中观察到了与我们相一致的结果。

同一基因可能存在多个突变位点, 本研究仅选择同一基因中一个突变位点, 阐明此位点与化疗敏感度及预后的相关性, 这是本研究的局限性, 并没有纳入全部位点, 无进行分析位点间协同作用的单倍体分析。未来我们将通过全基因组测序分析, 以

获得所有的相关基因及突变位点。分析位点之间的协同作用和不同基因之间的交互作用,以期对宫颈癌化疗敏感度和预后进行更深的理解。

综上所述, MTHFR-rs1801131 位点的多态性可影响 II 期宫颈鳞癌患者的化疗预后, C 等位基因突变可导致更短的 5 年生存率; GSTP1-rs1695 位点的多态性则与 II 期宫颈鳞癌患者的化疗敏感度相关, G 等位基因突变可引起更敏感的化疗效果。

参考文献:

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA-A Cancer Journal for Clinicians, 2015, 65(2): 87-108.
- [2] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA-A Cancer Journal for Clinicians, 2018, 68(6): 394-424.
- [3] 周静, 李智, 周玉, 等. 宫颈癌组织中 Ep-CAM 和 Ki67 的表达及临床意义 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34 (6) : 24-27.
ZHOU Jing, LI Zhi, ZHOU YU, et al. Expression and clinic value of Ep-CAM and Ki67 in the cervical carcinoma tissue [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34 (6): 24-27.
- [4] 顾益凤, 朱自力, 史跃燕, 等. 血浆硫氧还蛋白还原酶水平检测对宫颈癌早期诊断的价值研究 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34 (2) : 40-43.
GU Yifeng, ZHU Zili, SHI Yueyan, et al. Study on the value of plasma thioredoxin reductase level in the early diagnosis of cervical cancer [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019, 34 (2): 40-43.
- [5] 高红敏, 杨红英, 刘鑫. 血清中 microRNA-106b 对宫颈癌患者的早期诊断及预后预测价值 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35 (6) : 85-86, 182.
GAO Hongmin, YANG Hongying, LIU Xin. Value analysis of serum microRNA-106b in early diagnosis of cervical cancer [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35 (6): 85-86, 182.
- [6] 高怡, 高铭君. PF, TP 同步放化疗在宫颈癌治疗中的疗效差异及对血清 CA125, CA199 水平的影响 [J]. 中国现代医生, 2021, 59 (19) : 14-17.
GAO Yi, GAO Mingjun. The difference of curative effect of PF and TP concurrent radiotherapy and chemotherapy in the treatment of cervical cancer and its influence on serum CA125 and CA199 levels [J]. China Modern Doctor, 2021, 59 (19): 14-17.
- [7] 孟丽, 李海迎, 马兆龙, 等. GSTP1 基因多态性与局部晚期食管癌同步放化疗疗效及预后相关性研究 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2020, 27 (12) : 969-973.
MENG Li, LI Haiying, MA Zhaolong, et al. Correlation between GSTP1 gene polymorphism and the efficacy and prognosis of concurrent chemoradiotherapy for locally advanced esophageal carcinoma [J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2020, 27 (12): 969-973.
- [8] 查华英, 吴岩, 尚洛南, 等. 结肠癌患者谷胱甘肽巯基转移酶 P1(GSTP1) 基因多态性与奥沙利铂敏感性和中医证型的相关性研究 [J]. 世界华人消化杂志, 2021, 29 (9) : 488-495.
CHA Huaying, WU Yan, SHANG Luonan, et al. Association of glutathione thioltransferase P1(GSTP1) gene polymorphism with sensitivity to oxaliplatin and traditional Chinese medicine syndrome types in colon cancer patients [J]. World Chinese Journal of Digestology, 2021, 29 (9): 488-495.
- [9] 吴沛鸿, 焦子晗, 张率然, 等. MTHFR 基因多态性与晚期结直肠癌患者临床病理特征及预后分析 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2021, 28 (2) : 131-136.
WU Peihong, JIAO Zihan, ZHANG Shuiran, et al. Relationship between MTHFR gene polymorphism and clinicopathological features and prognosis in patients with advanced colorectal cancer [J]. Chinese Journal of Cancer Prevention and Treatment, 2021, 28 (2): 131-136.
- [10] SCHIAVON G, RUGGIERO A, SLEIJFER S, et al. Tumor volumes measurement(3D)versus Response Evaluation Criteria in Solid Tumors(RECIST version 1.1,1D)and Choi criteria(C)in assessing response of gastrointestinal stromal tumors(GIST)to imatinib(IM) [J]. Journal of Clinical Oncology, 2011, 29(15): 2696-2696.
- [11] 关德凤, 黄涛, 张钊红, 等. 术前同步放化疗与新辅助化疗在局部晚期宫颈癌中的疗效: 倾向评分匹配研究 [J]. 兰州大学学报(医学版), 2021, 47(4):75-82.
GUAN Defeng, HUANG Tao, ZHANG Chaihong, et al. Clinical results of preoperative concurrent chemoradiotherapy versus neoadjuvant chemotherapy for locally advanced cervical cancer: A propensity score matching study [J]. Journal of Lanzhou University(Medical Sciences), 2021, 47 (4): 75-82.
- [12] HUANG Tianqiao, WANG Ru, FANG Jugao, et al. Induction chemotherapy for the individualised treatment of hypopharyngeal carcinoma with cervical oesophageal invasion: a retrospective cohort study[J]. World Journal of Surgical Oncology, 2020, 18(1): 330.
- [13] 刘畅, 任铁军, 王丽娟, 等. 亚甲基四氢叶酸还原酶基因多态性对胃癌化疗患者治疗疗效及预后的影响 [J]. 黑龙江医学, 2020, 44 (10) : 1417-1419.
LIU Chang, REN Tiejun, WANG Lijuan, et al. Effect of MTHFR gene polymorphism on chemotherapy efficacy and prognosis in patients with gastric cancer[J]. Heilongjiang Medical Journal, 2020, 44 (10): 1417-1419.
- [14] 赵帅, 魏从真, 金素丽, 等. MTHFR, GSTP1 和 GSTM1 基因多态性与 III 期结肠癌术后辅助化疗敏感度及疗效的关系研究 [J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42 (15) : 1847-1852.
ZHAO Shuai, WEI Congzhen, JIN Suli, et al. Study on relationship between MTHFR, GSTP1 and GSTM1 gene polymorphisms with sensitivity and effect of postoperative adjuvant chemotherapy in patients with stage III colon cancer [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2021, 42 (15): 1847-1852.