

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2014.09.013

• 临床研究 •

DNA双链断裂修复基因遗传多态性与非小细胞肺癌预后关联研究

李晓玉, 何斐, 叶超, 蔡琳

Association between DNA Double-strand Break Repair Gene Polymorphisms and Prognosis of Non-small Cell Lung Cancer Patients

LI Xiaoyu, HE Fei, YE Chao, CAI Lin

Department of Epidemiology, School of Public Health, Fujian Medical University, Fuzhou 350004, China

Corresponding Author: CAI Lin, E-mail: cailin_cn@hotmail.Com

Abstract: Objective To investigate the association between DNA double-strand break repair gene (DSBR) polymorphisms and prognosis of patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** PCR-RFLP and TaqMan probe technique were used to identify the polymorphism of 10 SNPs in DSBR gene, rs6869366, rs1056503, rs3734091, rs861539, rs861537, rs1799794, rs16942, rs144848, rs1805794 and rs2735383, in 679 NSCLC patients. Prognosis was analyzed by Kaplan-Meier, Log-rank test and Cox regression model. **Results** The estimated 5-year OS of NSCLC patients was 29.8% (95%CI: 26.1%-33.5%). Subgroup analysis revealed that XRCC3 rs861539 CT+TT was associated with lower death risk than CC in patients treated with chemotherapy (MST: 32 vs. 60 months; HR=0.629, 95%CI: 0.411-0.962, $P=0.032$; aHR=0.623, 95%CI: 0.399-0.973, $P=0.038$). BRCA1 rs16942 AG+GG was associated with worse survival than AA in patients with the squamous subtype (MST: 24 vs. 31 months; aHR=1.622, 95%CI: 1.139-2.310, $P=0.007$). NBS1 rs2735383 GC+CC was associated with higher survival than GG in non-smoking female with adenocarcinoma (MST: 41 vs. 32 months; aHR=0.420, 95%CI: 0.247-0.714, $P=0.001$). XRCC3 rs861539 CT+TT was associated with lower death risk than CC in clinic early-stage patients (aHR=0.444, 95%CI: 0.192-1.025, $P=0.057$). NBS1 rs1805794 CG+GG was associated with higher death risk than CC in clinic early-stage smoking men (aHR=2.768, 95%CI: 1.273-6.017, $P=0.01$). XRCC3 rs861537 AG or AA was associated with higher death risk than GG in clinic advanced patients (aHR=1.750, 95%CI: 1.021-3.001, $P=0.042$). NSCLC patients with four or five unfavorable genotypes had a significantly worse OS than those with less than three unfavorable genotypes (aHR=1.153, 95%CI: 1.005-1.322, $P_{trend}=0.042$). **Conclusion** DSBR gene polymorphism may be a reference for the prognosis evaluation of NSCLC patients.

Key words: NSCLC; Prognosis; DNA double strand breaks repair (DSBR) gene; Polymorphism; Biomarker

摘要: **目的** 探讨DNA双链断裂修复 (DSBR) 基因遗传多态性与非小细胞肺癌 (NSCLC) 预后的关联。**方法** 应用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 和TaqMan探针技术检测679例NSCLC新发病例的DSBR 10个SNP (rs6869366、rs1056503、rs3734091、rs861539、rs861537、rs1799794、rs16942、rs144848、rs1805794、rs2735383) 的基因分型, 应用Kaplan-Meier、Log rank检验和Cox回归模型进行预后分析。**结果** 患者总体5年生存率为29.8% (95%CI: 26.1%~33.5%)。化疗患者携带XRCC3 rs861539 CT+TT基因型的死亡风险低于携带CC基因型患者 (MST: 32月 vs. 60月 HR=0.629, 95%CI: 0.411~0.962, $P=0.032$; aHR=0.623, 95%CI: 0.399~0.973, $P=0.038$); 鳞癌患者携带BRCA1 rs16942 AG+GG等位基因型比携带AA基因型的预后差 (MST: 24月 vs. 31月; aHR=1.622, 95%CI: 1.139~2.310, $P=0.007$); 非吸烟女性腺癌患者携带NBS1 rs2735383 GC+CC

基因型较携带GG基因型的死亡风险低 (MST: 41月 vs. 32月; aHR=0.420, 95%CI: 0.247~0.714, $P=0.001$); 携带XRCC3 rs861539 CT+TT基因型的临床早期病例较携带CC基因型的死亡风险降低 (aHR=0.444, 95%CI:

收稿日期: 2013-07-12; 修回日期: 2013-08-26

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30771845; 81172766)

作者单位: 350004 福州, 福建医科大学公共卫生学院

通信作者: 蔡琳, E-mail: cailin_cn@hotmail.Com

作者简介: 李晓玉 (1988-), 女, 硕士在读, 主要从事肿瘤 (分子) 流行病学研究

0.192~1.025, $P=0.057$); 男性吸烟的早期患者携带 NBS1 rs1805794 CG+GG 基因型比 CC 基因型的死亡风险高 ($aHR=2.768$, 95%CI: 1.273~6.017, $P=0.010$); 携带 XRCC3 rs861537 AA 基因型的临床晚期病例较携带 GG 基因型的死亡风险增加 ($aHR=1.750$, 95%CI: 1.021~3.001, $P=0.042$)。联合分析发现, 患者携带4个或5个不利基因型比携带 ≤ 3 个不利基因型的死亡风险增加 ($aHR=1.153$, 95%CI: 1.005~1.322, $P_{trend}=0.042$)。结论 DSBR 基因遗传多态性可作为 NSCLC 患者预后评价的参考。

关键词: 非小细胞肺癌; 预后; DNA 双链断裂修复基因; 多态性; 生物标志

中图分类号: R734.2 **文献标识码:** A

0 引言

肺癌是当今全球发病率和死亡率均很高的一种恶性肿瘤, 非小细胞肺癌 (NSCLC) 占原发性支气管肺癌发病数的80%以上, 居恶性肿瘤死因首位^[1]。目前, 肺癌的5年生存率仍低于15%^[1], 具有相同临床特征的不同个体在预后结局等方面常存在较大差异^[2-6]。DNA 双链断裂修复 (double strand breaks repair, DSBR) 基因对保持细胞和机体的存活起着至关重要的作用^[4], DNA 修复基因的多态性可改变基因的表达和活性, 影响个体损伤 DNA 的修复能力, 从而影响肿瘤患者的疗效和预后。DSBR 基因遗传多态性显著影响肺癌的发病风险^[7-8], 但与生存结局的关联研究甚少。本课题组前期探讨了 DSBR 基因的 rs6869366、rs1056503、rs3734091、rs861539、rs861537、rs1799794、rs16942、rs144848、rs1805794、rs2735383 与肺癌易感性的关联^[7,9], 本研究将进一步探讨其多态性与 NSCLC 预后的关联, 为临床诊治和患者预后评估提供参考。

1 资料与方法

1.1 病例资料

收集福建医科大学附属第一医院、福建医科大学附属协和医院、南京军区福州总院2006年12月至2010年1月 NSCLC 病例679例。纳入标准:

(1) 经纤维支气管镜或手术取得组织病理、脱落细胞学确诊的 NSCLC 病例; (2) 原发性 NSCLC 新发病例; (3) 确诊时未经历过化疗或放射治疗者; (4) 在福建本地居住10年以上。排除标准: (1) 继发性肺癌患者; (2) 病情危重或不能清晰回答问题者; (3) 不愿配合问卷调查者; (4) 不愿提供联系方式、身份证号码及不愿配合随访的患者。对每位新发病例在治疗前采用 EDTA-2K 抗凝管采集外周静脉血5 ml, 2 000 r/min

离心10 min, 分装后置 -80°C 超低温冰箱冻存。本研究通过了福建医科大学伦理委员会审批, 研究对象均签署了书面知情同意书。

1.2 随访

患者的一般人口学资料、肿瘤临床资料、治疗情况、吸烟史等信息采用统一编制的调查表, 由经过统一培训的调查员面访、查阅病案资料收集。病例确诊后每半年随访一次, 随访截止日期为2013年5月10日, 中位随访期为27月(0~77月)。采用电话随访为主, 通过电话随访与患者或其家属交流, 进一步核实患者生存状态及临床治疗信息。如果出现无法接通、关机、电话欠费等情况, 间隔数天继续电话随访, 三次无法联系到患者或其家属则通过省疾控死亡登记系统或患者身份证号码到公安局查证患者的生存结局, 查不到者根据末次电话随访到的时间, 或病案室收集到的末次出院时间作为其截止时间。

1.3 标签 SNP 的选择

应用 HapMap 计划 (<http://www.hapmap.org/>) 的通用基因组浏览器 (HapMap Genome Browser) 获得中国人群 SNP 基因型数据, 运行 Haploview 4.2 软件, 设置最小等位基因频率 (MAF) 的界值为 0.10, $r^2>0.8$, 选择具有潜在功能 SNPs 进行分析。

1.4 基因分型

采用 DNAzol 试剂 (北京百泰克生物技术有限公司产品) 提取基因组 DNA, 紫外分光光度法 (OD_{260}/OD_{280} 比值) 测定 DNA 的纯度, OD_{260} 测定 DNA 的浓度。应用 TaqMan 探针基因分型技术和 ABI-7500 荧光定量 PCR 仪进行 rs3734091 的基因分型, 基因分型检测试剂盒 (包含引物和探针) 购于 ABI 公司。PCR 反应体系为 10 ng DNA/10 μl , 反应条件: 95°C 预变性 10 min, 95°C 变性 15 s, 60°C 退火复性 1 min, 共 40 个循环。根据 PCR 扩增后荧光信号的种类判断基因型。采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP) 技术进行其余 9 个位点的基因分型, 引物由上海生工生物工程有限公司设计合成。PCR 反应体系均为 25 μl , 其中模板 DNA 1 μl , 上下游引物各 1 μl (10 $\mu\text{mol/L}$), ddH₂O 9.5 μl , PCR MIX (北京天根科技有限公司) 12.5 μl 。PCR 反应条件: 94°C 预变性 5 min, 94°C 变性 30 s, 55°C (58°C) 退火 30 s 和 72°C 延伸 30 s, 35 个循环后 72°C 延伸 10 min。取酶切产物 10 μl 经琼脂糖凝胶电泳, 分析基因型。

1.5 质量控制

流行病学调查采用统一制定的工作手册, 培

训调查人员，统一方法和标准。所有调查表由专人编码，并在复核无误后用Epidata3.1软件进行独立双录入计算机。实验过程遵循实验操作规范，防止污染和错误编号。基因检测采用盲法并随机抽取10%的样本进行复测。

1.6 统计学方法

数据录入与分析分别采用EpiData 3.2和SPSS 18.0软件。 χ^2 检验分析基因型频率分布差异，Kaplan-Meier法估计5年生存率和中位生存时间(MST)。Log rank检验比较不同组间总生存(OS)的差异。OS为确诊之日起到死亡或末次随访的时间。采用Cox比例风险模型进行预后影响因素的单因素分析和多因素分析，计算调整HR和95%CI。统计学检验均为双侧概率检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的一般特征及总体生存的单因素分析

NSCLC患者共679例，其中男505例，占74.37%，女174例，占25.63%，男女比为：2.9:1；

最小年龄23岁，最大年龄85岁，平均年龄(58±11.14)岁。存活219例，占32.3%；死亡460例，占67.7%；随访成功563例，占82.92%；失访者与未失访者的年龄、性别、临床分期、病理类型、治疗情况等指标的比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。患者5年总生存率是29.8%(95%CI: 26.1~33.5)。单因素分析结果显示，性别、年龄、临床分期、治疗情况与OS有显著关联($P < 0.05$)，见表1。

2.2 基因型分布

XRCC3、XRCC4、BRCA1、BRCA2、NBS1基因10个位点的基因型分布见表2，基因分型成功率(CR) > 98.95%，各基因型分布经检验均符合Hardy-Weinberg平衡。

2.3 DSBR基因SNPs与NSCLC预后关联分析

分层分析显示，在化疗的病例中，携带XRCC3 rs861539 CT+TT基因型比携带CC基因型的死亡风险降低(MST: 32月 vs. 60月；HR=0.629，95%CI: 0.411~0.962， $P = 0.032$ ；aHR=0.623，

表1 患者性别、年龄、病理类型、临床分期、治疗情况、吸烟量对总生存时间影响的单因素分析

Table1 Univariate analysis of the effects of gender, age, histology, clinical stage, therapy and smoking on overall survival

Variables	n	Event(%)	MST(95%CI)	5-years OSR(%)	P^a	HR(95%CI)	P^b
Gender							
Male	505	355(70.3)	26(22.6-29.4)	28.15		Ref.	
Female	174	105(59.8)	36(30.5-41.5)	37.29	0.019	0.774(0.622-0.962)	0.021
Age(years)							
≤45	102	59(57.8)	32(21.6-42.4)	38.0		Ref.	
46-70	496	338(68.1)	30(26.0-34.0)	31.2		1.210(0.918-1.596)	0.176
≥71	81	63(77.8)	22(16.8-27.2)	19.7	0.018	1.640(1.149-2.340)	0.006
Histology							
Adenocarcinoma	376	249(66.2)	32(27.8-36.2)	32.3	0.389	Ref.	
Squamous cell carcinoma	222	154(69.4)	29(22.1-35.9)	29.2		1.092(0.893-1.335)	0.393
Adenosquamous carcinoma	26	19(73.1)	22(14.5-29.5)	24.6		1.185(0.743-1.890)	0.476
Large cell carcinoma	30	21(70.0)	16(7.1-24.9)	17.3		1.454(0.931-2.271)	0.100
Other ^c	25	17(68.0)	24(16.4-31.6)	26.7		---	---
Clinical stage							
Early(I - II a)	183	86(47)	63(50.1-75.9)	50.4	0.000	Ref.	
Middle(II b- III a)	156	100(64.1)	35(28.7-41.3)	35.4		1.602(1.200-2.137)	0.001
Advanced(III b-IV)	238	198(83.2)	18(15.5-20.5)	11.8		3.115(2.411-4.025)	0.000
Undefined	102	76(74.5)	24(17.5-30.5)	25.9		---	---
Therapy							
None ^d	106	89(84.0)	17(14.2-19.8)	8.0		Ref.	
Chemotherapy	216	178(82.4)	19(15.9-22.1)	42.4		0.807(0.626-1.042)	0.100
Surgery	71	39(54.9)	38(13.1-62.9)	42.4		0.383(0.263-0.559)	0.000
Surgery+ Chemotherapy	286	154(53.8)	51(38.9-63.1)	45.5	0.000	0.313(0.241-0.408)	0.000
Smoking Pack-years^e							
0	256	166(64.8)	33(27.4-38.5)	32.2		Ref.	
≤30	111	79(71.2)	24(17.0-31.0)	—		1.233(0.943-1.612)	0.125
>30	312	215(68.9)	29(24.2-33.8)	28.5	0.276	1.115(0.911-1.365)	0.292

Notes:^a:Log rank test for the comparison of variables; ^b:univariate analysis by Cox proportional hazards model; ^c: undefined histology; ^d: without operation,radiotherapy or chemotherapy; ^e:smoking pack-years = packs per day×smocking years;—:no cases lived for five years;---:not concerned about

95%CI: 0.399~0.973, $P=0.038$)。鳞癌患者携带BRCA1 rs16942 AG+GG基因型较携带AA基因型者预后差(MST: 24月 vs. 31月; aHR=1.622, 95%CI: 1.139~2.310, $P=0.007$)；在临床早期病例中,携带XRCC3 rs861539 CT+TT基因型较携带CC基因型的死亡风险降低(aHR=0.444, 95%CI: 0.192~1.025, $P=0.057$)，男性吸烟的早期病例携带NBS1 rs1805794 CG+GG基因型比CC基因型的死亡风险高(aHR=2.768, 95%CI: 1.273~6.017,

$P=0.010$)。临床晚期病例携带XRCC3 rs861537 AA基因型较携带GG基因型的死亡风险高(aHR=1.750, 95%CI: 1.021~3.001, $P=0.042$)。非吸烟女性腺癌患者携带NBS1 rs2735383 GC+CC基因型较携带GG基因型的死亡风险低(MST: 41月 vs. 32月; aHR=0.420, 95%CI: 0.247~0.714, $P=0.001$)，见表3, 图1~6。

2.4 Cox回归分析

根据上述分析结果, XRCC3 rs861539 CC、

表2 多态性位点的基因型频率及分型成功率分布

Table 2 Genotype frequencies of SNPs and the success rate of Genotyping

Gene symbol	Polymorphism ID	Genotype Base change	Gene			
			1/1(%)	1/2(%)	2/2(%)	CR(%)
XRCC4	rs6869366	T>G	599 (88.22)	78 (11.49)	2 (0.29)	99.08
	rs1056503	T>G	405 (59.65)	274 (40.35)	0 (0)	98.95
	rs3734091	C>A	597 (87.92)	81 (11.93)	1 (0.15)	99.08
XRCC3	rs861539	C>T	610 (89.84)	65 (9.57)	4 (0.59)	99.87
	rs861537	G>A	204 (30.04)	339 (49.93)	136 (20.03)	99.74
	rs1799794	A>G	230 (33.87)	312 (45.95)	137 (20.18)	100
BRCA1	rs16942	A>G	303 (44.62)	297 (43.74)	79 (11.64)	100
BRCA2	rs144848	T>G	419 (61.71)	240 (35.35)	20 (2.94)	100
NBS1	rs1805794	C>G	170 (25.04)	327 (48.16)	182 (26.80)	100
	rs2735383	C>G	236 (34.76)	328 (48.31)	115 (16.93)	100

表3 DSBR基因SNPs与总体生存

Table3 SNPs of DSBR gene and overall survival

Category	Polymorphism	n	Event(%)	MST (95%CI)	P^a	HR(95%CI) univariate	P^b	aHR(95%CI) multivariate	P^c	
Hemotherapy	XRCC3 rs861539									
	CC	438	296(67.6)	32(28.301-35.699)	0.081	Ref.		Ref.		
	CT	42	22(52.4)	51(25.458-76.542)		0.653(0.423-1.008)	0.054	0.638(0.404-1.007)	0.054	
	TT	3	1(33.3)	—		0.346(0.049-2.466)	0.290	0.414(0.056-3.048)	0.387	
	CT+TT	45	23(51.1)	60(34.463-85.537)	0.029	0.629(0.411-0.962)	0.032	0.623(0.399-0.973)	0.038	
Squamous carcinoma	BRCA1 rs16942									
	AA	97	65(67.0)	31(21.388-40.612)	0.342	Ref.		Ref.		
	AG	99	70(70.7)	24(15.349-32.651)		1.253(0.893-1.757)	0.191	1.604(1.107-2.325)	0.013	
	GG	26	19(73.1)	27(10.680-43.320)		1.308(0.784-2.181)	0.304	1.692(0.978-2.928)	0.060	
	AG+GG	125	89(71.2)	24(16.582-31.418)	0.146	1.264(0.918-1.742)	0.151	1.622(1.139-2.310)	0.007	
Early-stage	XRCC3 rs861539									
	CC	163	78(47.9)	60(43.121-76.879)	0.431	Ref.		Ref.		
	CT	19	8(42.1)	—		0.707(0.341-1.467)	0.325	0.458(0.197-1.065)	0.070	
	TT	1	0(0)	—		—	0.969	—	0.975	
	CT+TT	20	8(40.0)	—	0.258	0.661(0.318-1.370)	0.265	0.444(0.192-1.025)	0.057	
Early-stage smoking men	NBS1 rs1805794									
	CC	29	11(37.9)	—	0.104	Ref.		Ref.		
	CG	51	33(64.7)	33(21.005-44.995)		2.055(1.036-4.076)	0.039	2.958(1.339-6.535)	0.007	
	GG	35	18(51.4)	51(19.236-82.764)		1.596(0.753-3.384)	0.223	2.297(0.905-5.835)	0.080	
	CG+GG	86	51(59.3)	37(21.61-52.39)	0.056	1.865(0.9703.585)	0.062	2.768(1.273-6.017)	0.01	
Advanced stage	XRCC3 rs861537									
	GG	75	62(82.7)	22(14.624-29.376)	0.065	Ref.		Ref.		
	AG	116	94(81.0)	17(14.260-19.740)		1.222(0.886-1.685)	0.220	1.324(0.922-1.903)	0.129	
	AA	47	42(89.4)	17(10.444-23.556)		1.583(1.066-2.352)	0.023	1.750(1.021-3.001)	0.042	
	AG+AA	163	138(84.7)	17(14.434-19.566)	0.071	1.312(0.970-1.774)	0.078	1.365(0.955-1.951)	0.088	
Non-smoking female adenocarcinoma	NBS1 rs2735383									
	GG	47	32(68.1)	27(11.375-42.625)	0.037	Ref.		Ref.		
	GC	66	31(47.0)	60(31.898-88.102)		0.537(0.327-0.882)	0.014	0.340(0.191-0.607)	0.000	
	CC	16	10(62.5)	43(31.318-54.682)		0.880(0.433-1.792)	0.725	0.829(0.381-1.807)	0.638	
	GC+CC	82	41(50.0)	46(27.113-64.887)	0.025	0.594(0.374-0.944)	0.028	0.420(0.247-0.714)	0.001	

Notes: ^a:first P value shown in the column refers to the comparison between all three genotypic categories,while the second P value refers to the combined heterozygotes and polymorphic homozygotes versus wide-type homozygotes, ^b:univariate analysis by Cox proportional hazards model, ^c: multivariate analysis by Cox proportional hazards model;—:there is not enough number of cases to get the result

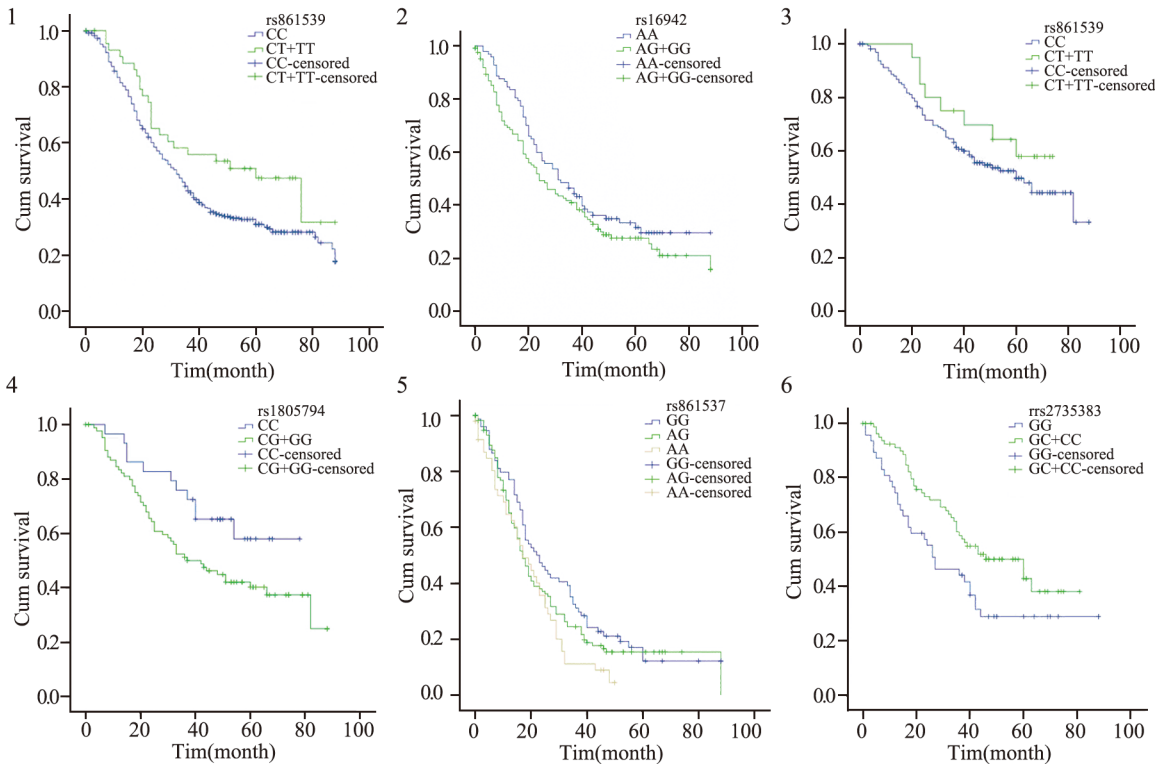


图1 rs861539基因多态NSCLC化疗患者Kaplan-Meier生存曲线

Figure1 Kaplan-Meier overall survival curves of NSCLC patients with rs861539 polymorphism after chemotherapy

图2 rs16942基因多态肺鳞癌患者Kaplan-Meier生存曲线

Figure2 Kaplan-Meier overall survival curves of squamous cell carcinomas patients with rs16942 polymorphism

图3 rs861539基因多态临床早期NSCLC患者Kaplan-Meier生存曲线

Figure3 Kaplan-Meier overall survival curves of early-stage NSCLC patients with rs861539 polymorphism

图4 rs1805794基因多态男性吸烟临床早期NSCLC患者Kaplan-Meier生存曲线

Figure4 Kaplan-Meier overall survival curves of smoking male early-stage NSCLC patients with rs1805794 polymorphism

图5 rs861537基因多态晚期NSCLC患者Kaplan-Meier生存曲线

Figure5 Kaplan-Meier overall survival curves of advanced NSCLC patients with rs861537 polymorphism

图6 rs2735383基因多态女性非吸烟肺腺癌患者Kaplan-Meier生存曲线

Figure6 Kaplan-Meier overall survival curves of non-smoking female adenocarcinoma patients with rs2735383 polymorphism

rs861537 AG/AA、BRCA1 rs16942 AG/GG、NBS1 rs1805794 CG/GG、rs2735383 GG基因型为不利基因型 (unfavorable genotype)，携带不利基因型患者的预后较差。把携带不利基因型数分组 (≤3个; 4个; 5个) 评价其联合效应，并把单因素分析中对生存期有影响的因素 (性别、年龄、临床分期、治疗方式) 纳入Cox比例风险回归模型进行多因素分析。结果显示性别、病理类型、临床分期、治疗情况、携带不利基因数是NSCLC预后的独立危险因素，见表4。

3 讨论

DNA修复基因多态性与肺癌易感性的关系被广泛研究，而与肺癌患者生存结局的关联作用才开始被关注。目前，DNA双链断裂修复通路与肺

表4 患者生存期的Cox多因素分析结果

Table4 Multivariate analysis by Cox proportional hazards model

Variable	B	P	RR	95%CI	
				Lower	Upper
Gender	-0.227	0.044	0.797	0.640	0.994
Age	0.098	0.292	1.103	0.919	1.323
Clinical stage	0.183	0.000	1.201	1.093	1.320
Therapy	-0.346	0.000	0.708	0.648	0.774
Number of unfavorable gene	0.142	0.042	1.153	1.005	1.322

癌预后的关系研究较少，且结果不一致。本研究探讨了5个DNA双链断裂修复基因10个位点多态性及不利基因联合作用与NSCLC预后的关系。结果显示DSBR基因位点rs861539、rs861537、rs16942、rs1805794和rs2735383与NSCLC患者的OS显著关联。

XRCC3蛋白不仅参与碱基切除修复,也是DNA双链断裂同源重组(HR)路径的关键酶,参与因电离辐射和氧自由基等诱导的DNA双链断裂修复。本研究发现在化疗、临床早期的NSCLC患者中,携带XRCC3第241位密码子(rs861539, C>T, Thr to Met)的CT+TT基因型比携带CC基因型死亡风险低。这与许多学者的研究结论一致,有学者报道在用顺铂/吉西他滨治疗的NSCLC患者中, Met等位基因是预后较好的决定因素^[10-11]。Matullo等^[12]认为该SNP与健康者外周血白细胞的高水平加合物相关,推测Met的转变能降低DNA的修复能力(DRC),提高化疗患者对药物的敏感度,从而提高化疗患者的预后。DRC是一把双刃剑,对于未化疗的其他病例,DRC能力的降低会增加死亡风险,如Butkiewicz等^[2]对术后NSCLC预后研究中发现241Met/Met基因型显著增加总体死亡风险,认为XRCC3 rs168539 T/T(Met/Met)基因型可作为化疗NSCLC患者较易存活的生物标志。

rs1805794多态性是错义突变(Glu185Gln),位于乳腺癌羧基末端(BRCT)结构域,该结构域可促进NBS1与BRCA1相互作用,并形成BRCA-1相关基因监视复合物(BASC),该复合物负责识别并修复受损DNA^[13-14],Glu185Gln转变可干扰蛋白与蛋白间的相互作用从而影响DNA修复能力。最近一项Meta分析阐明了rs1805794多态性与多种癌症的发生有关联^[15],然而很少报道此多态性与肺癌预后的关系。欧洲学者对258例经铂/5-氟尿嘧啶/甲酰四氢叶酸化疗的食管癌和胃腺癌进行研究,未发现rs1805794与上述两种癌症的复发和OS相关。Xu等^[16]研究NBS1基因rs1805794多态性与147例化疗的晚期NSCLC患者临床结局关系,未发现早期NSCLC患者rs1805794与肺癌预后相关,但发现其与无进展生存期(PFS)具有显著关联:携带rs1805794 CC或CG基因型比GG具有更长的PFS(CC/CG vs. GG: aHR=0.62, 95%CI: 0.39~0.99; CC vs. CG/GG: aHR=0.56, 95%CI: 0.32~0.97)。我们的研究发现了rs1805794 C>G与早期NSCLC患者的预后相关。早期病例携带CG+GG基因型比CC基因型的死亡风险高(aHR=2.768, 95%CI: 1.273~6.017, P=0.010),可能与rs1805794 G等位基因比野生型C等位基因更能降低MRN(MRE11/RAD50/NBS1)复合物的水平有关,从而降低DNA的修复能力影响预后。

BRCA1是一种抑癌基因,其表达的蛋白具

有重要的生物学功能,可影响DNA损伤修复、细胞周期调节、基因转录调节等。BRCA1与MRN(MRE1/RAD50/NBS1)复合物相互作用,共同参与DNA双链断裂修复。本研究结果显示,鳞癌患者携带BRCA1 rs16942 AG+GG等位基因型较携带AA基因型的预后更差(aHR=1.622, 95%CI: 1.139~2.310, P=0.007),提示鳞癌患者较易出现A>G的突变,从而提高BRCA1 mRNA的表达,增加死亡风险。许多研究表明BRCA1 mRNA的过表达与NSCLC预后的关联: Rosell等^[17]对126例手术切除患者的研究发现, BRCA1 mRNA过表达可导致较差的预后。该研究还显示BRCA1 mRNA的表达在鳞癌患者中显著高于腺癌患者,这与我们的研究结果一致。目前对于吸烟与肺癌预后的关联仍然存在争议。一些研究认为吸烟可导致更差的生存^[18-19],也有研究发现吸烟与肺癌预后无存在关联^[20]。本研究虽未发现吸烟与否及吸烟量与NSCLC预后存在关联,但联合DSBR基因分析发现,临床早期的吸烟男性携带NBS1 rs1805794突变基因CG+GG预后较差。而非吸烟女性腺癌中携有NBS1 rs2735383突变基因GC+CC生存结局较好。研究显示NBS1 rs1805794基因多态性与吸烟存在交互作用^[7], Kawai等^[21]发现吸烟缩短男性肺癌患者生存。研究报道XRCC3 rs861537、NBS1 rs2735383多态性与肿瘤发病危险性有关,包括肺癌、乳腺癌、膀胱癌、直肠癌等^[22],然而,较少研究他们与肺癌预后的关系。本研究发现XRCC3 rs861537、NBS1 rs2735383、rs1805794与晚期、早期吸烟男性NSCLC患者、非吸烟女性肺癌患者的预后相关,但因分层后样本量较少,此结果还须在更大样本量人群中进行验证。

国内外有关DNA修复基因多态性相关的生物标志物与肺癌预后的研究结果尚不一致,需考虑可能的影响:(1)肿瘤患者的预后涉及多阶段、多基因通路,单独的任何一种基因多态性不可能对生存结局产生巨大的效应,因此,基于通路的联合分析和研究、评估通路中相互影响的多态性的联合效应很重要。(2)肿瘤细胞可发生多种体细胞突变,如SNPs、微卫星、插入和(或)缺失突变、拷贝数变异(CNVs),非整倍体和杂合子丢失、这些都可导致肿瘤的增长和侵袭等,DNA修复通路的单系变异在NSCLC的肿瘤表型和临床结局上不大可能产生广泛的效应^[23]。(3)需较大的人群样本量,尤其在分层分析时。本研究发现XRCC3、BRCA1、NBS1基因多态性位点与

NSCLC预后相关,有可能作为NSCLC患者预后的参考生物标志物,但其结论仍需更大的队列研究和功能验证。

参考文献:

- [1] Jemal A, Siegel R, Ward E, *et al.* Cancer statistics, 2009[J]. *CA Cancer J Clin*,2009,59(4):225-49.
- [2] Butkiewicz D, Rusin M, Sikora B, *et al.* An association between DNA repair gene polymorphisms and survival in patients with resected non-small cell lung cancer[J]. *Mol Biol Rep*,2011,38(8):5231-41.
- [3] Kim M, Kang HG, Lee SY, *et al.* Comprehensive analysis of DNA repair gene polymorphisms and survival in patients with early stage non-small-cell lung cancer[J]. *Cancer Sci*,2010,101(11):2436-42.
- [4] 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.
- [5] Sun Z, Chen J, Aakre J, *et al.* Genetic variation in glutathione metabolism and DNA repair genes predicts survival of small-cell lung cancer patients[J]. *Ann Oncol*,2010,21(10):2011-6.
- [6] Brundage MD, Davies D, Mackillop WJ. Prognostic factors in non-small cell lung cancer: a decade of progress[J]. *Chest*,2002,122(3):1037-57.
- [7] Fan LH, Chen JL, Cai L. Study on the association between DNA double-strand break repair gene NBS1 polymorphisms and susceptibility on lung cancer[J]. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*,2010,31(2):213-7.[樊丽辉,陈俊磊,蔡琳. DNA双链断裂修复基因NBS1多态性与肺癌易感性的关联研究[J]. *中华流行病学杂志*,2010,31(2):213-7.]
- [8] 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):138-46.
- [9] Chen X, Fan LH, Qiu YF, *et al.* Association of the polymorphisms in DNA double-strand break repair gene XRCC4 with susceptibility of lung cancer[J]. *Zhong Liu*, 2010,10(30):852-9.[陈星,樊丽辉,邱月锋,等. DNA双链断裂修复基因XRCC4多态性与肺癌易感性的关系[J]. *肿瘤*,2010,10(30):852-9.]
- [10] Improtà G, Sgambato A, Bianchino G, *et al.* Polymorphisms of the DNA repair genes XRCC1 and XRCC3 and risk of lung and colorectal cancer: a case-control study in a Southern Italian population[J]. *Anticancer Res*,2008, 28(5B):2941-6.
- [11] Ren S, Zhou S, Wu F, *et al.* Association between polymorphisms of DNA repair genes and survival of advanced NSCLC patients treated with platinum-based chemotherapy[J]. *Lung Cancer*,2012, 75(1):102-9.
- [12] Matullo G, Dunning AM, Guarrera S, *et al.* DNA repair polymorphisms and cancer risk in non-smokers in a cohort study[J]. *Carcinogenesis*,2006, 27(5):997-1007.
- [13] Wang Y, Cortez D, Yazdi P, *et al.* BASC, a super complex of BRCA1-associated proteins involved in the recognition and repair of aberrant DNA structures[J]. *Genes Dev*,2000, 14(8):927-39.
- [14] Futaki M, Liu JM. Chromosomal breakage syndromes and the BRCA1 genome surveillance complex[J]. *Trends Mol Med*,2001, 7(12):560-5.
- [15] Lu M, Lu J, Yang X, *et al.* Association between the NBS1 E185Q polymorphism and cancer risk: a meta-analysis[J]. *BMC Cancer*,2009,9:124.
- [16] Xu JL, Hu LM, Huang MD, *et al.* Genetic variants of NBS1 predict clinical outcome of platinum-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer in Chinese[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*,2012, 13(3):851-6.
- [17] Rosell R, Skrzypski M, Jassem E, *et al.* BRCA1: a novel prognostic factor in resected non-small-cell lung cancer[J]. *PLoS One*,2007, 2(11):e1129.
- [18] Nakamura H, Haruki T, Adachi Y, *et al.* Smoking affects prognosis after lung cancer surgery[J]. *Surg Today*,2008, 38(3):227-31.
- [19] Sardari Nia P, Weyler J, Colpaert C, *et al.* Prognostic value of smoking status in operated non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*,2005, 47(3):351-9.
- [20] Baser S, Shannon VR, Eapen GA, *et al.* Smoking cessation after diagnosis of lung cancer is associated with a beneficial effect on performance status[J]. *Chest*,2006, 130(6):1784-90.
- [21] Kawai H, Tada A, Kawahara M, *et al.* Smoking history before surgery and prognosis in patients with stage IA non-small-cell lung cancer-a multicenter study[J]. *Lung Cancer*,2005, 49(1):63-70.
- [22] Park SL, Bastani D, Goldstein BY, *et al.* Associations between NBS1 polymorphisms, haplotypes and smoking-related cancers[J]. *Carcinogenesis*,2010, 31(7):1264-71.
- [23] Manuguerra M, Matullo G, Veglia F, *et al.* Multi-factor dimensionality reduction applied to a large prospective investigation on gene-gene and gene-environment interactions[J]. *Carcinogenesis*,2007, 28(2):414-22.

[编辑: 黄园玲; 校对: 杨卉]