

XPC和XRCC1基因多态性与肝细胞癌根治术后预后的关联研究

潘冬香¹ 仇小强^{1,2} 曾小云¹ 刘顺¹ 柏桦¹ 谭超¹ 黄慧¹

1. 广西医科大学公共卫生学院流行病与卫生统计学教研室, 广西 南宁 530021 ;
2. 桂林医学院公共卫生学院, 广西 桂林 541004

[摘要] **背景与目的:** 近几年的文献表明, XPC、XRCC1基因多态性与多种肿瘤预后生存相关, 但其与肝癌预后关联研究的文献报道较少。本研究旨在探讨XPC939和XRCC1-399位点单核苷酸多态性与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)根治术后患者预后的关系。**方法:** 收集2007年2月—2008年10月广西医科大学第一附属医院行肝癌根治性切除术, 且经病理诊断为HCC的广西新发病例临床特征, 血液DNA和预后生存资料, 对其中143例有完整随访资料病例进行分析。采用TaqMan-MGB实时荧光定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-PCR)技术对XPC939、XRCC1-399多态位点进行基因分型。应用Kaplan-Meier法进行生存分析, 组间比较用Log-rank检验, 多因素分析采用Cox模型分析。**结果:** 总的1、2、3年生存率分别为81.8%、76.2%和67.1%, 中位无进展生存时间为27个月。生存分析显示, 携带XPC939 C等位基因基因型AC+CC患者中位无进展生存时间(32个月)长于携带XPC939 A等位基因(AA)基因型患者(16个月), 差异有统计学意义($\chi^2=4.320, P<0.05$)。按肿瘤直径大小分层分析显示, 携带XRCC1-399 GG基因型患者的总体生存率高于携带XRCC1-399 GA+AA基因型患者, 差异有统计学意义($\chi^2=4.105, P<0.05$)。多因素Cox回归分析未发现XRCC1-399基因与HCC根治术后患者预后独立相关。**结论:** 在行HCC根治术后的患者预后中, XPC939和XRCC1-399基因多态性与临床特征无关, XPC939基因多态性与无进展生存期相关, XRCC1-399基因多态性可能对HCC根治术后患者远期预后有一定影响。

[关键词] 肝细胞癌; XPC939、XRCC1-399基因; 单核苷酸多态性; 生存分析

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2013.04.005

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2013)04-0267-06

Association between XPC and XRCC1 polymorphism and prognosis of primary hepatocellular carcinoma after radical resection PAN Dong-xiang¹, QIU Xiao-qiang^{1,2}, ZENG Xiao-yun¹, LIU Shun¹, BAI Hua¹, TAN Chao¹, HUANG Hui¹ (1. Department of Epidemiology and Health Statistics, School of Public Health, Guangxi Medical University, Nanning Guangxi 530021, China; 2. School of Public Health, Guilin Medical University, Guilin Guangxi 541004, China)

Correspondence to: QIU Xiao-qiang E-mail: xqiu9999@sina.com

[Abstract] **Background and purpose:** The literature suggests, XPC and XRCC1 gene polymorphisms were associated with tumors prognosis in recent years, but fewer studies have reported their association with liver cancer prognosis. This study aimed to investigate the association between single nucleotide polymorphism of XPC939, XRCC1-399 and prognosis of hepatocellular carcinoma (HCC) after radical resection. **Methods:** The blood of DNA and the data of clinical pathology, prognosis of survival of HCC patients who underwent radical resection and were hospitalized at Guangxi Medical University First Affiliated Hospital between Feb. 2007 and Oct. 2008 were analyzed, 143 cases with complete follow-up data were respectively analyzed. XPC939, XRCC1-399 genotypes were tested by TaqMan-MGB real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) technology. Kaplan-Meier method was used to analyze prognosis, log-rank test was used to compare between groups, and the Cox proportional hazards model was used for multivariate analysis. **Results:** The 1-, 2- and 3-year survival rates were 81.8%, 76.2%,

基金项目: 国家自然科学基金(No: 81241100); 2011广西科技开发项目(No: 1140003-74); 2010年广西教育厅重点课题(No: 201012MS166); 2010桂林市科学研究与技术开发项目(No: 20100315-8)。

通信作者: 仇小强 E-mail: xqiu9999@sina.com

67.1%, respectively. Median progression-free survival time was 27 months. Survival analysis showed that patients carrying allelic genotype of XPC939 C(AC + CC) had a longer median progression-free survival time (32 months) than the those carrying XPC939 A alleles (AA) genotype (16 months) ($\chi^2=4.320, P<0.05$). Tumor diameter stratified analysis showed that overall survival of patients carrying genotype of XRCC1-399 GG was higher than those carrying XRCC1-399 GA + AA genotype ($\chi^2=4.105, P<0.05$). Cox multivariate analysis did not show that XRCC1-399 was independently associated with HCC prognosis. **Conclusion:** Of all HCC patients after radical resection, there is no association between XPC939, XRCC1-399 polymorphism and clinical features, but XPC939 polymorphism is associated with progression-free survival and XRCC1-399 polymorphism may have a certain influence on the long-term prognosis of HCC patients after radical resection.

[**Key words**] Hepatocellular carcinoma; XPC939 and XRCC1-399; Single nucleotide polymorphisms; Survival analysis

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)可改变修复酶的活性, 进而引起DNA损伤修复。研究发现, 着色性干皮病基因C(xeroderma pigmentosum group C, XPC)、X线修复交叉互补基因1(X-rag repair cross-complementing groups 1, XRCC1)的SNP不仅影响多种肿瘤的发病风险, 还与多种肿瘤如肺癌、胃癌、膀胱癌等患者接受铂类药物治疗的敏感性、临床病理特征、生存情况等相关^[1-2], 但其与肝癌预后关联研究国内外文献极为少见。本研究旨在初步探讨XPC939、XRCC1-399基因位点多态性与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)根治术后患者预后的关系, 以期为临床诊治和客观评估HCC根治术后患者预后提供参考。

1 资料和方法

1.1 研究对象

收集广西医科大学第一附属医院2007年2月—2008年10月收治的肝癌新发病例。所有患者来自具有相似暴露背景的广西南部地区的武鸣县、扶绥县、隆安县等, 且为首次确诊并符合根治性肝切除指征而行根治性肝切除术, 术后经病理诊断为HCC。其中, 143例有完整随访资料的患者进入本研究。男性120例, 女性23例。年龄26~75岁, 中位年龄49岁。HBV表面抗原(HBsAg)阳性116例, 术前辅助治疗42例, 围手术期输血60例, 大体分型为巨块型57例、结节型29例、弥漫型4例、巨块-结节型10例, 肿瘤

直径<5 cm 67例、5~10 cm 49例、>10 cm 27例, 肝硬化87例, 门静脉癌栓33例, 包膜侵犯73例, 术后化疗104例。肝癌根治性切除的标准为临床常用标准^[3-4]。

1.2 随访

总生存时间(overall survival, OS)和无进展生存时间(progression-free survival, PFS)作为最终评价指标, 按月计算。OS为根治性手术之日起到死亡或末次随访的时间。PFS为根治性手术之日起到首次复发、转移或死亡(死于原发肿瘤或并发症)的时间; 复发、转移均经影像学检查证实出现复发灶、转移(包括肝内转移和肝外转移)为事件终点。随访资料来自患者住院病历记录, 定期门诊复查和电话随访记录。随访期为根治性手术之日起至死亡或至随访截止时间2011年12月15日。

1.3 样本收集

研究对象入院次日清晨采集空腹静脉血3 mL, 置于真空ACD抗凝管中, 混匀备用, 于当日提取基因组DNA。

1.4 基因组DNA提取和储存

采用常规酚/氯仿法提取基因组DNA, -20 °C保存备用。采用紫外分光光度法(A_{260}/A_{280} 比值)确定DNA的纯度, A_{260} 确定DNA的浓度。

1.5 基因分型

应用TaqMan MGB荧光定量实时PCR技术对XPC939, XRCC1-399多态位点进行基因分型。PCR反应体系总体积为25 μ L, 包括2 \times TaqMan Universal PCR Mix 12.50 μ L、20 \times SNP Genotyping Assay Mix 1.25 μ L、模板

DNA 1.00 μ L、H₂O 10.25 μ L。PCR反应条件为95 $^{\circ}$ C, 10 min \rightarrow (92 $^{\circ}$ C, 15 s \rightarrow 60 $^{\circ}$ C, 1 min) \times 40个循环。基因分型试剂盒、7500 Fast 实时定量PCR仪、基因分型7500 Fast System V1.3.1 SDS分析软件均购于美国应用生物系统(ABI)公司。

1.6 统计学处理

数据录入和统计分析分别采用Epidata 3.0和SPSS 13.0软件, 采用 χ^2 检验或蒙特卡罗确切概率法比较不同基因分型和患者临床特征的差异; 乘积极限法(Kaplan-Meier)绘制生存曲线, 并进行单因素生存分析; 时序检验(Log-rank test)比较不同基因型患者中位生存时间、无进展生存期的差异; Cox比例风险回归模型进行预后影响因素的多因素分析。所有统计检验均为双侧概率检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ 。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 随访结果和生存情况

143例HCC根治性切除术后患者, 随访期为38~58个月, 中位随访期为47个月。随访期间有60例(42.0%)患者复发, 28例(19.6%)转移(其中17例既复发又转移), 56例(39.2%)死亡。全组患者中位无进展生存时间为27个月, 1、2、3年累计生存率分别为81.8%、76.2%、67.1%。

2.2 基因型分布

143例HCC患者中, 63例(44.1%)携带XPC939 AA基因型, 65例(45.5%)携带AC基因型, 15例(10.5%)携带CC基因型。86例(60.1%)携带XRCC1-399 GG基因型, 11例(7.7%)携带GA基因型、46例(32.2%)携带AA基因型。

2.3 XPC939、XRCC1-399基因多态性与HCC临床特征的关系

XPC939 AA、AC、CC基因型和XRCC1-399 GG、GA、AA基因型与年龄、HBsAg慢性感染、肿瘤直径大小、门静脉癌栓、术后化疗等临床特征均无统计学关联(P均>0.05); 经蒙特卡罗确切概率法分析, 与大体分型、肿瘤位置无统计学关联(P均>0.05, 表1)。

2.4 基因型与HCC患者预后的关系

XPC939位点携带突变等位基因C基因型(AC+CC)患者的中位无进展生存时间(32个月)长于携带XPC939 A等位基因型(AA)患者(16个月), 用Log-rank检验比较其PFS曲线, 差异有统计学意义(P<0.05, 图1)。XRCC1-399位点中携带突变等位基因A基因型(GA+AA)与携带XRCC1-399 G等位基因型(GG)的PFS差异无统计学意义(P>0.05)。

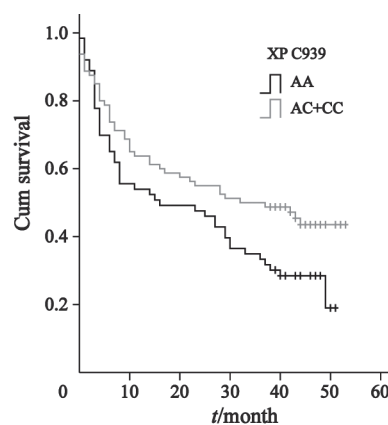


图1 XPC939 SNP与HCC患者的PFS曲线

Fig. 1 The Kaplan-Meier PFS curves of HCC patient with XPC939 SNP

$\chi^2=4.320, P=0.038$.

携带XRCC1-399G等位基因型(GG)和突变A等位基因型(GA+AA)患者1年生存率分别为81.4%、82.5%, 2年生存率分别为74.4%、75.4%, 3年生存率分别为70.9%、59.6%。Log-rank分析显示, 两者OS曲线差异无统计学意义(P>0.05), 但生存曲线显示预后远期两者明显分离(图2)。将肿瘤直径大小进行分层分析发现, 携带XRCC1-399GG和GA+AA基因型患者的OS差异有统计学意义($\chi^2=4.006, P=0.045$)。其中, 在肿瘤直径<5 cm层, 携带XRCC1-399GG基因型和GA+AA基因型的平均生存时间分别为48、40个月; 在肿瘤直径为5~10 cm层和肿瘤直径>10 cm层, GG基因型和GA+AA基因型患者的中位生存时间分别为53、40个月和41、31个月。按大体分型、门静脉癌栓、包膜侵犯和是否术后化疗进行分层分析, 均未发现XRCC1-399、XPC939基因多态性与患者OS有关联(P>0.05)。

表 1 XPC939、XRCC1-399基因型分布与HCC临床特征的关系

Tab. 1 Association between XPC939, XRCC1-399 genotypes and clinical characteristics of HCC

Variables	XPC939			χ^2	P	XRCC1-399			χ^2	P
	AA	AC	CC			GG	GA	AA		
Age/year				0.293	0.864				0.700	0.705
49	31	35	8			43	5	26		
>49	32	30	7			43	6	20		
HBsAg				0.356	0.837				2.589	0.274
(-)	12	13	2			14	4	9		
(+)	51	52	13			72	7	37		
Preoperative adjuvant therapy				2.643	0.267				0.900	0.638
No	47	46	8			61	9	31		
Yes	16	19	7			25	2	15		
Perioperative blood transfusion				0.069	0.966				2.403	0.301
No	37	37	9			52	8	23		
Yes	26	28	6			34	3	23		
General classification					0.639 ^a					0.398 ^a
Bulky	23	27	7			34	4	19		
Nodules	13	12	4			20	3	6		
Widespread	3	1	0			2	1	1		
Bulky-nodules	4	5	1			4	0	6		
Location of the tumor					0.808 ^a					0.611 ^a
Left hepatic	6	7	2			11	0	4		
Right hepatic	55	55	12			71	11	40		
Other	2	3	1			4	0	2		
Tumor size/cm				0.282	0.868				0.603	0.704
<5	31	29	7			39	8	20		
5-10	21	22	6			29	2	18		
>10	11	14	2			18	1	8		
Cirrhosis				4.933	0.085				0.041	0.98
No	31	21	4			34	4	18		
Yes	32	44	11			52	7	28		
Portal vein tumor thrombus				0.099	0.952				1.317	0.518
No	48	50	12			65	10	35		
Yes	15	15	3			21	1	11		
Capsule				5.846	0.054				0.857	0.651
No	28	38	4			44	6	20		
Yes	35	27	11			42	5	26		
Postoperative chemotherapy				1.649	0.439				2.765	0.251
No	18	19	2			20	5	14		
Yes	45	46	13			66	6	32		

Note: ^a means using model Carlo exact method analysis.

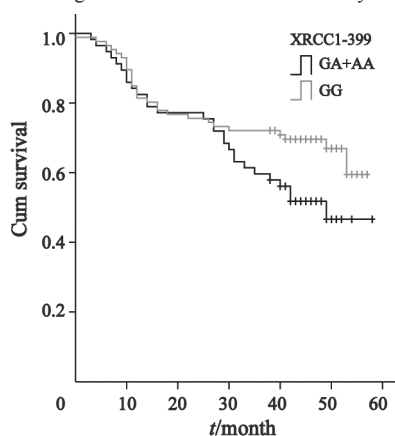


图 2 XRCC1-399 SNP与HCC患者的OS曲线

Fig. 2 The Kaplan-Meier survival curves of HCC patient with XRCC1-399 SNP

$\chi^2=3.412$, $P=0.065$.

单因素分析显示, 术后化疗、大体分型、肿瘤直径大小、门静脉癌栓、包膜侵犯与患者OS相关; 分层分析后, XRCC1-399基因型与患者OS有关。年龄、HBsAg慢性感染、术前辅助治疗、围手术期输血、肿瘤位置、肝硬化、XPC939基因型与患者OS均无相关性(表2)。将单因素分析结果有统计学意义的因素采用Cox比例风险模型的Forward:Wald进行多因素分析。结果显示, 术后化疗和门静脉癌栓是影响根治性切除术HCC患者OS的独立因素(表3)。其中, HCC根治性切除术后化疗患者预后优于术后未化疗患者。在Cox回归分析中, 未发现XRCC1-399基因型是影响HCC根治术后患者预后的独立因素

($P=0.053$)。

表 2 XPC939、XRCC1-399基因型及临床特征与HCC患者预后的关系

Tab. 2 Association between XPC939, XRCC1-399 genotypes and clinical characteristics of patients with HCC prognosis

Variables	χ^2	P
Postoperative chemotherapy	9.738	0.002
General classification	11.472	0.009
Tumor size	7.869	0.02
Portal vein tumor thrombus	9.928	0.002
Capsule	4.628	0.031
XRCC1-399	4.006	0.045
Age	1.086	0.297
HBsAg	1.486	0.223
Preoperative adjuvant therapy	0.299	0.584
Perioperative blood transfusion	0.826	0.364
Location of the tumor	1.367	0.505
Cirrhosis	0.184	0.668
XPC939	0.583	0.445

表 3 影响HCC根治术后患者OS的多因素分析

Tab. 3 Multivariate analysis of influencing factors for HCC patient survival after radical resection

Variables	OS					
	β	SE	Wald	P	OR	95%CI
Postoperative chemotherapy	-1.051	0.309	11.551	0.001	0.349	0.191-0.641
Portal vein tumor thrombus	1.02	0.316	10.43	0.001	2.773	1.493-5.151

本研究分析了143例HCC根治术后患者的临床特征和随访资料。结果显示，HCC患者XPC939、XRCC1-399基因型在年龄、大体分型、肿瘤直径大小、肝硬化、门静脉癌栓、包膜侵犯分布差异均无统计学意义($P>0.05$)，与其他报道一致^[9-10]。提示XRCC1-399、XPC939基因型可能不是判断HCC相关生物学行为的预测指标。

本研究发现，携带XPC939 C等位基因型(AC+CC)HCC根治术后患者中位无进展生存期明显长于携带XPC939 A等位基因型(AA)患者，未发现与总生存时间相关。Long等^[10]报道高水平黄曲霉毒素暴露条件下的广西肝癌患者，携带XPC939 A等位基因的中位生存时间长于携带XPC939 C等位基因患者。由于研究方法及人群的不同，同类研究结果存在差异，XPC939 C变异基因与肝癌患者预后的关系尚需要进一步研究。在按肿瘤直径大小进行分层分析表明，携带XRCC1-399 GG基因型患者累积生存率高于携带GA+AA基因型患者，与Sreeja等^[11]的研究结

3 讨论

XPC是核苷酸切除修复系统的核心基因，其基因突变可能引起整个核苷酸切除通路的缺陷，对肿瘤的发生及预后有一定的影响。XRCC1是一种重要的DNA修复基因，主要参与单链断裂修复和碱基切除修复机制，对维持基因组稳定十分关键。XPC、XRCC1基因多态性与多种肿瘤如肺癌、胃癌、食管癌、膀胱癌等预后关联已有相关报道，但研究结果不尽一致^[1-2,5-7]。而关于DNA修复基因多态性与肝癌预后的研究仅检索到1篇^[8]，国内外鲜有对XPC、XRCC1基因多态性与HCC根治术后患者预后关系的文献报道。

果相似。提示携带XRCC1-399 A等位基因可能对患者的预后产生不良的影响。

本研究分析广西地区人群XPC939、XRCC1-399基因多态性与HCC根治术后患者预后的关系，结果提示XPC939、XRCC1-399基因多态性对术后患者生存状况可能具有重要影响。目前，国内外关于DNA修复基因多态性与肝癌预后的研究工作相对较少，样本量相对偏小，同时由于不同种族或人群地域差异、研究设计等因素不同，研究结果存在一定程度的分歧。因此，要全面阐明DNA修复基因多态性对肝癌预后的影响，尚需进一步应用大样本的前瞻性研究予以证实。

[参考文献]

- [1] TAHARA T, SHIBATA T, NAKAMURA M, et al. Effect of genetic polymorphisms related to DNA repair and the xenobiotic pathway on the prognosis and survival of gastric cancer patients [J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(2): 705-710.
- [2] GIACHINO D F, GHIO P, REGAZZONI S, et al. Prospective assessment of XPD Lys751Gln and XRCC1 Arg399Gln single

- nucleotide polymorphisms in lung cancer [J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(10): 2876-2881.
- [3] 王悦华, 刘永雄. 原发性肝癌的分期、根治切除标准及预后指标 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2003, 9(1): 3-7.
- [4] 黄力文, 马曾辰. 原发性肝癌的根治性切除标准 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2003, 9(1): 8-9.
- [5] HAN J Y, YOON K A, PARK J H, et al. DNA repair gene polymorphisms and benefit from gefitinib in never-smokers with lung adenocarcinoma [J]. Cancer, 2011, 117(14): 3201-3208.
- [6] GANGWAR R, MANDHANI A, MITTAL R D. XPC gene variants: a risk factor for recurrence of urothelial bladder carcinoma in patients on BCG immunotherapy [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2010, 136(5): 779-786.
- [7] YUAN P, LIU L, WU C, et al. No association between XRCC1 polymorphisms and survival in non-small-cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy [J]. Cancer Biol Ther, 2010, 10(9): 854-859.
- [8] 谢伟敏, 翟芸, 周钢桥, 等. DNA修复基因XPG His1104Asp多态性与原发性肝癌临床表型及预后的关联研究 [J]. 中国癌症杂志, 2012, 22(6): 458-463.
- [9] 刘新姿, 钱晓萍, 刘宝瑞, 等. XRCC1、XPD单核苷酸多态性与肺癌铂类化疗的临床预后研究 [J]. 实用临床医药杂志, 2008, 12(5): 7-11.
- [10] LONG X D, MA Y, ZHOU Y F, et al. Polymorphism in xeroderma pigmentosum complementation group C codon 939 and aflatoxin B1-related hepatocellular carcinoma in the Guangxi population [J]. Hepatology, 2010, 52(4): 1301-1309.
- [11] SREEJA L, SYAMALA V S, SYAMALA V, et al. Prognostic importance of DNA repair gene polymorphisms of XRCC1 Arg399Gln and XPD Lys751Gln in lung cancer patients from India [J]. Cancer Res Clin Oncol, 2008, 134(6): 645-652.

(收稿日期: 2012-12-04 修回日期: 2013-03-20)

《中国癌症杂志》举办继续教育函授班通知

经本刊编委会讨论决定, 本刊从2012年下半年起举办2013年度继续医学教育函授班。具体方法如下:

一、2012年第7期起开设2013年度函授继续医学教育专栏, 本年度的主要内容包括: 乳腺癌、肺癌、肠癌的病理诊断、放射治疗及内外科治疗等。每期刊登1讲, 共12讲, 2013年第6期刊登考试试题, 第7期刊登正确答案, 要求学员认真阅读讲座后答题, 并将答案寄至编辑部(复印无效), 考卷经专人统一审阅, 合格者授予Ⅱ类继续教育学分10分, 学分证书由复旦大学附属肿瘤医院颁发。

二、参加对象: 所有正在从事医学专业技术工作的卫生技术人员。预参加者请写好本人姓名、年龄、性别、职称、职务、学历、选派单位名称(地址及邮政编码)、所在科室、联系电话等寄往本编辑部(E-mail: zgaz@chinajournal.net.cn; zgazz@163.com), 同时通过邮局汇款(单位名称: 《中国癌症杂志》编辑部; 地址: 上海市徐汇区东安路270号)的方式支付函授教育费, 请在汇款备注中注明“2013年度函授继续教育”。编辑部收到学员报名和函授教育费后编号登记注册, 随即寄出注册费发票, 并按时寄上每期刊物。即日起开始报名。

三、学员每人收费200元, 赠送12期杂志。编辑部依据学员报名登记注册编号、交费记录和考试成绩于2013年8月30日以前寄发学分证书。

四、为保证函授教育质量, 编委会邀请有关专家进行出题、阅卷工作, 编辑部设专人负责。咨询电话: 021-64188274; 传真: 021-64043766; 邮编: 200032; 联系人: 王露。欢迎广大医务人员踊跃参加。