

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00452

• 短篇论著 •

## 江浙沪地区人群中修复基因 XRCC1 多态性与鼻咽癌易感性的关系

朱秋蓓, 范静平, 吴建, 郎军添, 刘环海, 赵舒薇\*

第二军医大学长征医院耳鼻喉科, 上海 200003

**[摘要]** **目的** 探讨我国江浙沪地区人群中 DNA 损伤修复基因 XRCC1 多态性与鼻咽癌易感性的关系。**方法** 选取 87 例江浙沪地区汉族鼻咽癌患者, 并随机选取同地区同种族的 94 例健康者作为对照, 两组年龄、性别差异无统计学意义。采用限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP)方法分析研究对象的 XRCC1 基因 Arg194Trp 及 Arg399Gln 两个位点的基因多态性, 并比较不同基因型与鼻咽癌发病之间的关系。**结果** XRCC1 Arg194Trp 及 Arg399Gln 各基因型在鼻咽癌组和对照组间的分布频率基本相同。与携带 Arg/Arg 基因型者相比携带 194 位点 Trp/Trp 基因型者鼻咽癌的发生风险有所降低, 但差异无统计学意义(OR=0.41, 95% CI:0.08~1.65, P=0.21)。194 位点其他基因型以及 399 位点各基因型对鼻咽癌的发病无明显影响。**结论** XRCC1 基因 194 和 399 位点的单核苷酸多态性可能与鼻咽癌的易感性无关, 但 194 位点的 Trp 等位基因可能会降低鼻咽癌发病风险。

**[关键词]** 鼻咽肿瘤; 修复基因; XRCC1; 单核苷酸多态性; 疾病易感性

**[中图分类号]** R 739.6 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2014)04-0452-04

### Polymorphism of XRCC1 gene and its relation with genetic susceptibility of nasopharyngeal carcinoma in Chinese living in Jiangsu, Zhejiang Province and Shanghai

ZHU Qiu-bei, FAN Jing-ping, WU Jian, LANG Jun-tian, LIU Huan-hai, ZHAO Shu-wei\*

Department of Otolaryngology, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200003, China

**[Abstract]** **Objective** To study the polymorphism of XRCC1 gene and its relation with genetic susceptibility of the nasopharyngeal carcinoma (NPC) in Chinese living in Jiangsu, Zhejiang Province and Shanghai. **Methods** A case-control study was performed with 87 NPC patients and 94 healthy controls of Han nationality in Chinese living in Jiangsu, Zhejiang Province and Shanghai. The two groups were matched by sex and age. PCR-RFLP technique was used to explore the relation of different XRCC1 polymorphisms with the susceptibility of NPC. **Results** The frequencies of the genotypes of XRCC1 Arg194Trp and Arg399Gln were similar between NPC and control groups. The risk of NPC individuals with the Trp194Trp genotype was reduced compared with that in those with Arg194Arg genotype, but with no significant differences (OR=0.41, 95% CI:0.08-1.65, P=0.21). No association was observed between the genetic susceptibility of NPC and other Arg194Trp variants or all Arg399Gln variants. **Conclusion** Our findings suggest that the polymorphism of XRCC1 has no association with the risk of nasopharyngeal carcinoma in Chinese living in Jiangsu, Zhejiang Province and Shanghai, but the Trp194Trp variant genotype may be associated with a reduced risk of NPC.

**[Key words]** nasopharyngeal neoplasms; repair gene; XRCC1; single nucleotide polymorphism; disease susceptibility

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(4):452-455]

鼻咽癌是我国南方地区常见的头颈部恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>, 不易早期发现, 治疗效果也不甚理想<sup>[2-3]</sup>。基因易感性、潜在 EB 病毒感染以及过度摄入亚硝胺食品是鼻咽癌发病的高危因素<sup>[4-6]</sup>。DNA 损伤及修

复机制在多种癌症的发生发展中起重要作用<sup>[7]</sup>, 而 DNA 修复基因的单核苷酸多态性(SNP)是癌症易感性的重要原因和分子基础<sup>[8-10]</sup>。人类 X 射线交错互补修复基因 1(X-ray repair cross-complementing

**[收稿日期]** 2014-02-20 **[接受日期]** 2014-03-13

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年科学基金(81300837)。Supported by National Natural Science Foundation of China for Young Scientists (81300837)。

**[作者简介]** 朱秋蓓, 硕士, 主治医师。E-mail: fortheonlyjulia@hotmail.com

\* 通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-81885964, E-mail: zhaosw1@163.com

gene, XRCC1)是DNA碱基切除修复系统的重要组成部分<sup>[11]</sup>。在XRCC1中共发现3个SNP位点(Arg194Trp、Arg280His和Arg399Gln)<sup>[12]</sup>,其中194、399位点的基因多态性可能与多种肿瘤的发病相关<sup>[13-14]</sup>,且399位点的多态性可能与鼻咽癌的发病有关<sup>[15]</sup>,但各项研究的结果并不一致,推测可能与研究对象的人种不同因而基因频率也有所差异有关。目前尚无关于中国江浙沪地区人群中XRCC1基因多态性与鼻咽癌易感性关系的报道。本研究采用限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP)技术对XRCC1 194、399位点基因多态性进行检测和分析,探讨我国江浙沪地区汉族人群中XRCC1与鼻咽癌易感性的关系。

## 1 材料和方法

1.1 研究对象 2012年1月至2013年9月就诊于第二军医大学长征医院耳鼻咽喉科的鼻咽癌患者共87例,其中男性52例,女性35例。发病年龄37~76岁,平均(58.5±19.7)岁。患者均为汉族,长期居住在江浙沪地区。病理诊断全部为鳞状细胞癌,其中低分化50例,中、高分化37例。按照国际抗癌协会(NCCN)2010年头颈部肿瘤TNM分类标准,87例患者中T<sub>1</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>29例(T<sub>1a</sub>15例,T<sub>1b</sub>14例),T<sub>2</sub>N<sub>0</sub>M<sub>0</sub>26例,T<sub>2</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>19例,T<sub>3</sub>N<sub>1</sub>M<sub>0</sub>11例,T<sub>3</sub>N<sub>2</sub>M<sub>0</sub>2例。对照组为自愿参加的健康体检人员,均为汉族,长期居住在江浙沪地区,共94例,其中男性58例,女性36例,年龄35~70岁,平均为(55.6±20.2)岁。鼻咽癌组与对照组的年龄、性别差异无统计学意义( $P>0.05$ ),两组具有可比性。

1.2 DNA提取及纯化 每一实验对象抽取外周静脉血4mL。采用酚/氯仿抽提、无水乙醇沉淀法分别提取鼻咽癌患者、对照者外周血DNA。采用玻璃奶沉淀法纯化DNA。

1.3 引物设计 根据XRCC1基因多态性位点对应的基因序列,利用Primer 5.0软件设计PCR扩增引物。引物由长征医院药物基因组学实验室合成。基因扩增引物序列 Arg194Trp:上游5'-GCC CCG TCC CAG GTA AGC-3',下游5'-AGC CCC AAG ACC CTT TCA-3'; Arg399Gln:上游5'-TTG TGC TTT CTC TGT GTC CA-3',下游5'-TCC TCC AGC CTT TTC TGA TA-3'。

1.4 PCR反应体系及反应条件 PCR扩增体系: ddH<sub>2</sub>O 20 μL, 10×PCR(内含Mg<sup>2+</sup>)缓冲液 2.5 μL; 10 mmol/L dNTP 1 μL, Taq酶 0.5 μL(5U/μL),上、下游引物各 0.5 μL(20 μmol/L),DNA模板 1 μL(500 ng)。PCR扩增程序: 94.2℃预变性 3 min, 94.5℃变性 40 s→退火 40 s,温度为60℃→72℃延伸 40 s,共39个循环,最后在72℃条件下延伸 5 min。

1.5 DNA序列分析 以10个基因组DNA样本为模板,通过PCR扩增,获得XRCC1基因Arg194Trp、Arg399Gln位点的序列大小分别为466、497 bp,经琼脂糖凝胶电泳检测,结果符合预期。目的条带清晰单一。阳性克隆重新培养,抽提质粒,ABI 3700型DNA测序仪进行焦磷酸DNA测序,测序引物为T7、SP6。测序结果采用DNASar软件分析,并与GenBank进行比较。

1.6 统计学处理 采用SPSS 13.3软件进行统计学分析。采用Mann-Whitney检验比较鼻咽癌组与对照组之间的年龄分布差异,采用 $\chi^2$ 检验比较性别分布的差异。用HWE软件检测Hardy-Weinberg平衡,判断研究对象是否具有人群代表性。各组间基因型频率和等位基因频率比较采用 $\chi^2$ 检验(Pearson Chi-Square)或Fisher's确切概率法。以非条件logistic回归计算相对危险度比值比(OR)及95%可信区间(CI),分析各种基因型与鼻咽癌发生的相关性。检验水准( $\alpha$ )为0.05。

## 2 结果

2.1 XRCC1 Arg194Trp基因型分布及与鼻咽癌的关系 由表1可见,鼻咽癌组中Arg、Trp等位基因频率分别为67.8%、32.2%,对照组中Arg、Trp等位基因频率分别为62.8%、37.2%,两组都以Arg/Trp基因型为主。分布频率不符合Hardy-Weinberg平衡( $P=0.03$ , $\chi^2$ 检验)。鼻咽癌组3种基因型频率与对照组相比差异无统计学意义( $P=0.40$ )。对各种基因型在鼻咽癌组和对照组中的分布进行比较,发现携带Trp/Trp基因型者与携带Arg/Arg基因型者比较,鼻咽癌的发生风险有所降低但差异无统计学意义(OR=0.41,95% CI:0.08~1.65, $P=0.21$ )。Arg/Trp基因型与Arg/Arg基因型相比,鼻咽癌的发生风险无明显差异(OR=0.82,95% CI:0.44~1.52, $P=0.52$ )。

2.2 XRCC1 Arg399Gln 基因型分布及与鼻咽癌的关系 由表 1 可见,鼻咽癌组中 Arg、Gln 等位基因频率分别为 81.0%、19.0%,对照组中 Arg、Gln 等位基因频率分别为 84.0%、16.0%,两组都以 Arg/Arg 基因型为主。分布频率符合 Hardy-Weinberg 平衡( $P=0.96, \chi^2$  检验)。鼻咽癌组 3 种基因型频率

与对照组相比差异无统计学意义( $P=0.73$ )。对各种基因型在鼻咽癌组和对照组中的分布进行比较,携带 Arg/Gln 基因型以及 Gln/Gln 基因型与携带 Arg/Arg 基因型相比,鼻咽癌的发生风险差异无统计学意义( $OR=1.20, 95\%CI: 0.63 \sim 2.30, P=0.58$ ;  $OR=1.69, 95\%CI: 0.25 \sim 14.97, P=0.59$ )。

表 1 鼻咽癌组和对照组 XRCC1 基因型与鼻咽癌患病风险之间的联系

基因型	鼻咽癌组 (N=87)	对照组 (N=94)	OR (95%CI)	P
XRCC1 Arg194Trp				
Arg/Arg n(%)	34(39.1)	31(33.0)	1	
Arg/Trp n(%)	50(57.5)	56(59.6)	0.82 (0.44-1.52)	0.52
Trp/Trp n(%)	3(3.4)	7(7.4)	0.41 (0.08-1.65)	0.21
Allele of Arg (%)	67.8	62.8		
Allele of Trp (%)	32.2	37.2		
XRCC1 Arg399Gln				
Arg/Arg n(%)	57(65.5)	66(70.2)	1	
Arg/Gln n(%)	27(31.0)	26(27.7)	1.20 (0.63-2.30)	0.58
Gln/Gln n(%)	3(3.4)	2(2.1)	1.69 (0.25-14.97)	0.59
Allele of Arg (%)	81.0	84.0		
Allele of Gln (%)	19.0	16.0		

### 3 讨论

鼻咽癌发病具有明显的地域性和种族性,我国南方地区属于世界范围内的高发地区<sup>[1]</sup>。因此,在研究 XRCC1 基因多态性与鼻咽癌发病的相关性时,将不同地域及种族人群作为独立因素加以分析,更具有实际意义。有研究显示,相较于 194、399 位点, XRCC1 Arg280His 的多态性与 DNA 修复能力和癌症发病关系较小<sup>[14]</sup>,且由于 280 位点基因多态性发生频率较低,所以在本实验中,本研究只对 XRCC1 的 194 和 399 位点进行了研究。

本研究结果显示,我国江浙沪地区汉族人群中 XRCC1 基因的 Arg194Trp、Arg399Gln 多态性分布与中国广东地区及亚洲其他地区人群相近,而与美国、欧洲和印度人群有明显差异<sup>[16-17]</sup>。399 位点 Arg/Arg 基因型频率在亚洲人群较高,为 50%~70%,欧美人群较低,为 40%~50%; Gln/Gln 基因型多见于欧美人群,为 9%~13%,亚洲人群为 5%~8%<sup>[16-19]</sup>。由此可见,Arg194Trp、Arg399Gln 位点的基因多态性存在种族和地区差异。

本研究结果显示,我国江浙沪地区汉族人群中 XRCC1 基因 194 位点中 3 种基因型 Arg/Arg、

Arg/Trp、Trp/Trp 以及 399 位点中 3 种基因型 Arg/Arg、Arg/Gln、Gln/Gln 在鼻咽癌组和对照组中分布基本类似,其分布的差异无统计学意义。本研究结果还显示, XRCC1 基因 Arg194Trp、Arg399Gln 位点多态性与鼻咽癌易感性无明显相关性,这与既往报道的鼻咽癌及其他系统癌症的相关性研究的结果<sup>[16-18]</sup>并不完全一致,然而对比各种基因型在鼻咽癌组和对照组中的分布,我们发现,194 位点中携带 Trp/Trp 基因型者鼻咽癌的发生风险与携带 Arg/Arg 基因型相比有所降低( $OR=0.41, 95\%CI: 0.08 \sim 1.65, P=0.21$ ),虽然其差异没有统计学意义,但结合相关文献中 194 位点的 Trp 等位基因可能对 DNA 损伤有保护作用的结论<sup>[16,20]</sup>,我们推测 194 位点的 Trp 等位基因或许能降低鼻咽癌发病风险。此外,Huang 等<sup>[16]</sup>根据多项研究进行 meta 分析,发现 399 位点的 Gln 等位基因可能增加鼻咽癌的发病风险,这一点在本研究中未得到证实。

由于不同种族不同地域之间的基因频率可能存在差异,而本研究的研究人群均为汉族人,且集中在江浙沪地区,因此,这些因素可能是导致本研究结果与其他研究结果不一致的原因之一。另外,样本量小、非随机抽样、未知的混杂因素和修饰因素等也可

能影响研究结果。癌症的发病是多因素、多途径共同作用的结果。不同致癌物可能引起不同类型的DNA损伤,基因的相互作用也可能在癌症的发生发展中起到作用。因此,XRCC1基因多态性对于鼻咽癌发病的影响,需要进一步做多中心、大样本的临床研究进行验证,也需要细胞学等基础研究进行进一步论证。

#### 4 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

#### [参考文献]

- [1] Jemal A, Bray F, Center M M, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61: 69-90.
- [2] Saman D M. A review of the epidemiology of oral and pharyngeal carcinoma: update[J]. *Head Neck Oncol*, 2012, 4: 1.
- [3] Colaco R J, Betts G, Donne A, Swindell R, Yap B K, Sykes A J, et al. Nasopharyngeal carcinoma: a retrospective review of demographics, treatment and patient outcome in a single centre[J]. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*, 2013, 25: 171-177.
- [4] Chen C J, Liang K Y, Chang Y S, Wang Y F, Hsieh T, Hsu M M, et al. Multiple risk factors of nasopharyngeal carcinoma: Epstein-Barr virus, malarial infection, cigarette smoking and familial tendency [J]. *Anticancer Res*, 1990, 10: 547-553.
- [5] Zheng Y M, Tuppin P, Hubert A, Jeannel D, Pan Y J, Zeng Y, et al. Environmental and dietary risk factors for nasopharyngeal carcinoma: a case-control study in Zangwu County, Guangxi, China [J]. *Br J Cancer*, 1994, 69: 508-514.
- [6] Chien Y C, Chen J Y, Liu M Y, Yang H I, Hsu M M, Chen C J, et al. Serologic markers of Epstein-Barr virus infection and nasopharyngeal carcinoma in Taiwanese men [J]. *N Engl J Med*, 2001, 345: 1877-1882.
- [7] Jin B, Robertson K D. DNA methyltransferases, DNA damage repair, and cancer [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2013, 754: 3-29.
- [8] Kazak L, Reyes A, Holt I J. Minimizing the damage: repair pathways keep mitochondrial DNA intact [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 659-671.
- [9] Sperka T, Wang J, Rudolph K L. DNA damage checkpoints in stem cells, ageing and cancer [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2012, 13: 579-590.
- [10] Karahalil B, Bohr V A, Wilson D M. Impact of DNA polymorphisms in key DNA base excision repair proteins on cancer risk [J]. *Hum Exp Toxicol*, 2012, 31: 981-1005.
- [11] Thacker J, Zdzienicka M Z. The mammalian XRCC genes: their roles in DNA repair and genetic stability [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2003, 2: 655-672.
- [12] Wood R D, Mitchell M, Sgouros J, Lindahl T. Human DNA repair genes [J]. *Science*, 2001, 291: 1284-1289.
- [13] Chen B, Zhou Y, Yang P, Wu X T. Polymorphisms of XRCC1 and gastric cancer susceptibility: a meta-analysis [J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39: 1305-1313.
- [14] Zeng F R, Ling Y, Yang J, Tian X C, Yang X, Luo R C. X-ray repair cross-complementing group 1 Arg399Gln gene polymorphism and susceptibility to colorectal cancer: a meta-analysis [J]. *Tumour Biol*, 2013, 34: 555-563.
- [15] Cho E Y, Hildesheim A, Chen C J, Hsu M M, Chen I H, Mittl B F, et al. Nasopharyngeal carcinoma and genetic polymorphisms of DNA repair enzymes XRCC1 and hOGG1 [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2003, 12: 1100-1104.
- [16] Huang G L, Guo H Q, Yu C Y, Liu X Y, Li B B, Wu J J, et al. XRCC1 polymorphisms and risk of nasopharyngeal carcinoma: a meta-analysis [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2011, 12: 2329-2333.
- [17] Cao Y, Miao X P, Huang M Y, Deng L, Hu L F, Ernerberg I, et al. Polymorphisms of XRCC1 genes and risk of nasopharyngeal carcinoma in the Cantonese population [J]. *BMC Cancer*, 2006, 6: 167.
- [18] Huang J, Zhang J, Zhao Y, Liao B, Liu J, Li L, et al. The Arg194Trp polymorphism in the XRCC1 gene and cancer risk in Chinese Mainland population: a meta-analysis [J]. *Mol Biol Rep*, 2011, 38: 4565-4573.
- [19] Laantri N, Jalbout M, Khyatti M, Ayoub W B, Dahmoul S, Ayad M, et al. XRCC1 and hOGG1 genes and risk of nasopharyngeal carcinoma in North African countries [J]. *Mol Carcinog*, 2011, 50: 732-737.
- [20] Zhang H, Li W, Franklin M J, Dudek A Z. Polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 and skin cancer risk: a meta-analysis [J]. *Anticancer Res*, 2011, 31: 3945-3952.