

## DNA 修复基因 SNPs 与脑胶质瘤易感性研究进展

敖日格勒<sup>1</sup> 综述 刘海波<sup>2</sup> 审校

1. 内蒙古医科大学 呼和浩特市 010059

2. 内蒙古医科大学附属医院神经外科 呼和浩特市 010059

**摘要:**碱基切除修复 (base excision repair, BER) 和同源重组 (homologous recombination repair, HRR) 是 DNA 损伤修复系统中重要的两个途径。而 XRCC1 和 XRCC3 基因影响 BER 和 HRR 通路中重要酶和蛋白质的功能, 其多态性能够改变 DNA 修复功能和效率、影响肿瘤易感性。XRCC1 基因 Arg194Trp 位点及 XRCC3 基因 Thr241Met 位点多态性很可能在胶质瘤发病中起着重要作用。目前研究认为此二基因位点多态性对胶质瘤易感性的影响不一, 本文尝试就此进行论述以期对胶质瘤的有效预防提供线索。

**关键词:** DNA 修复基因; 单核苷酸多态性; XRCC1; XRCC3; 胶质瘤; 易感性

胶质瘤是中枢神经系统最常见的恶性肿瘤, 手术全切较困难, 且易复发、预后差。目前治疗方法主要包括手术切除、放射治疗、化学治疗和免疫治疗, 但疗效均不甚理想。胶质瘤的发生与其他肿瘤一样是多因素、多基因作用的结果, 其中抑癌基因的失活、癌基因的活化以及在 DNA 复制过程中各种修复基因缺陷与胶质瘤发生有密切关系。而碱基切除修复途径和同源重组修复途径相关基因与肿瘤发生的关系是目前研究的热点。肿瘤发生过程中, 各种基因与肿瘤是否存在相互影响、相互作用的关系, 他们相互作用的方式和结果是什么仍不明确。本文对此二途径中部分基因的研究进展予以综述。

### 1 DNA 损伤与修复

多种物理或化学的外源性因素及细胞代谢产物的内源性因素均可引起不同形式的 DNA 损伤。物理因素常见于紫外线和电离辐射引起的 DNA 损伤。化学因素常指突变剂或致癌剂对 DNA 的损伤, 各种内源性的细胞生理进程也会引起 DNA 损伤<sup>[1]</sup>。DNA 损伤修复系统是机体应对 DNA 损伤、维持基因完整性的关键机制, 包括至少 4 种通路: 碱基切除修复 (base excision repair, BER) 通路, 核苷酸切除修复 (nucleotide excision repair, NER) 通路, 错配修复 (mismatch repair, MMR) 通路<sup>[2]</sup> 及双链 DNA 断裂修复 (double-strand break repair, DSB) 通路<sup>[3]</sup> 等。DNA 修复基因对应于不同的修复系统, 各基

因之间以及各修复通路之间相互协调, 对不同类型 DNA 损伤发挥修复作用, 其中任何一个功能基因的表达降低或功能缺陷都将可能影响细胞对 DNA 损伤的修复效率, 从而导致肿瘤的发生。DNA 修复基因单核苷酸多态性可能是决定肿瘤易感性的重要因素, 与多种肿瘤易感性相关<sup>[2]</sup>。

### 2 单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP)

单核苷酸多态性是一种遗传变异形式, 是指相同或不同物种个体的基因组 DNA 序列同一位置上的单个核苷酸存在差异的现象。在种群中的发生率最小为 1% 的核苷酸变异。它在人类基因组中的分布比较广泛, 平均每 500 ~ 1000 个碱基对中至少有 1 个, 目前已发现总数达 3700 万。随着人类后基因组时代的开始, SNP 已作为继限制性片段长度多态性 (restriction fragment length polymorphism, RFLP) 和简单序列重复 (simple sequence repeat, SSR) 之后的第三代遗传标记, 被广泛应用于致病基因的定位、药物基因组学及生物多样性分析研究。许多以往的研究也说明了疾病的发生、进展与相关基因 SNP 有关, 研究两者的关系及阐述其根本原因对相关疾病的筛查、诊断、预防及治疗具有很大意义<sup>[4]</sup>。

### 3 XRCC1 和 XRCC3 基因的结构、功能及其 SNPs

#### 3.1 XRCC1

人类 X 射线交错互补修复基因 1 (X-ray repair

收稿日期: 2014-06-01; 修回日期: 2014-07-31

作者简介: 敖日格勒 (1988-), 男, 蒙古族, 2012 级内蒙古医科大学在读硕士研究生。研究方向: 神经肿瘤。

通讯作者: 刘海波, 男, 教授, 硕士生导师, 主任医师, 研究方向: 神经肿瘤。

cross-complementing gene 1, XRCC1) 是第一个分离到的影响细胞对电离辐射敏感性的哺乳动物基因, XRCC1 基因位于人 19 号染色体长臂 (19q13.2-19q13.3), 其基因组大小约 31.9 kb, 包括 17 个外显子, 共同编码一种 633 个氨基酸的蛋白质, 相对分子量约 69.5 ku (经查阅大量国内外文献, 只提及此蛋白的功能, 未见具体名称)。XRCC1 基因主要参与碱基切除修复途径, 作用于 DNA 损伤修复蛋白, 包括 ADP 核糖聚合酶, DNA 连接酶 3, DNA 聚合酶  $\beta$ , 来修复包括氧化应激在内的各种伤害引起的 DNA 损伤<sup>[6]</sup>。XRCC1 基因共有 8 个单核苷酸多态性位点, 目前研究比较多的是在第 6、9 和 10 外显子中, 导致的改变依次为 C26304T (Arg194Trp)、G27466, A (Arg280His) 和 G28152A (Arg399Gln)<sup>[6]</sup>。

### 3.2 XRCC3

人类 X 射线交错互补修复基因 3 (X-ray repair cross-complementing gene3, XRCC3) 首先从 DNA 转染的中国仓鼠卵巢细胞的突变体 irslSF 株被分离, 位于 14 号染色体长臂 (14q32.3)<sup>[7]</sup>, 全基因长度为 19843 bp, 位于人类染色体 14q32.3, 有 11 个外显子。它主要经同源重组途径参与 DNA 双链断裂/重组修复<sup>[8]</sup>, 也是 Rad-51 相关蛋白家族的成员。在 DNA 损伤修复过程中 RAD51 定位在 DSB 损伤位点依赖于其与 XRCC3 的直接作用。XRCC3 对以 Rad-51 为中心的重组多聚体形成稳定存在是必要的<sup>[9]</sup>, 它可使 Rad-51 聚集于 DNA 损伤位点, 从而稳定 Rad-51 修复复合物的形成、参与 DNA 损伤修复。在 XRCC3 基因第 7 外显子上的 Thr241Met (rs861539), 含羟基的苏氨酸可被含硫的蛋氨酸所取代, 从而形成野生型 CC、杂合突变型 CT、纯和突变型 TT 等三种基因型。氨基酸的改变会影响酶的功能及其与参与 DNA 损伤修复的其他相关蛋白的相互作用, 从而导致 DNA 损伤修复能力改变, 故其多态性可能与胶质瘤的易感性有关<sup>[10]</sup>。

### 4 XRCC1 和 XRCC3 基因多态性与肿瘤

许多研究报道这此二基因位点多态性可能和肿瘤易感性有关, 有研究表明 XRCC1 的 Arg194Trp 位点多态性与甲状腺肿瘤、白血病、膀胱肿瘤、子宫内膜癌、乳腺癌和结直肠癌易感性有关, XRCC3 的 Thr241Met 位点多态性与胃癌、结直肠癌、膀胱癌、肝癌、白血病和肺癌易感性相关。但也有很多无相关性的报道, 结论不一致可能与种族、地域等

多种因素有关。

XRCC1 基因被敲除的胚胎不能存活, Christina 等通过 PCR 基因分型检测 XRCC1 (+/-) 小鼠繁育后代, 没有发现 XRCC1 (-/-) 纯合幼仔。Saribasak 等发现, XRCC1 低表达的小鼠体细胞对甲磺酸甲酯 (methyl methanesulfonate, MMS) 更加敏感, DNA 单双链断裂更多<sup>[11]</sup>。Hai-Bo Liu 等<sup>[12]</sup>对来自南方医院及内蒙古医科大学附属医院的 197 例胶质瘤患者及 213 例对照进行研究, 应用 Sequenom Assay Design 3.1 software 进行引物的设计, 用 Sequenom MassARRAY 技术平台进行基因分析, 再用统计软件 Stata 8.0 进行处理, 检验水准设定为双侧  $P < 0.05$ , 对基因型频率和等位基因频率组间差异分析采用了卡方检验和 Hardy-Weinberg 平衡原理分析, 再进行非条件 logistic 回归分析, 对年龄和性别进行修正后得出结论为: Arg194Trp 多态性基因 C/C 基因型在病例组及对照组分别为 66.3%、75.5%, C/T 基因型在病例组及对照组分别为 23.6%、20.1%, T/T 基因型在病例组及对照组分别为 10.1% 及 4.4%。实验结果表明 XRCC1 Arg194Trp 基因的多态性与胶质瘤易感性有关。得到相同结果的还有 Xu<sup>[13]</sup>、Zhang<sup>[14]</sup>、Pan<sup>[15]</sup>等。相反, Zhang 等<sup>[16]</sup> 1440 例病例组及 2562 例对照组进行荟萃分析得出结论为: XRCC1 Arg194Trp 基因的多态性与胶质瘤没有明显的相关性。Sun<sup>[17]</sup>、Adel Fahmideh<sup>[18]</sup>、Zhang<sup>[16]</sup>等通过实验得到相同结果。

基础研究已证实 XRCC3 缺失的细胞对辐射、DNA 交联剂更敏感, 更易发生各种类型的基因损伤。临床研究表明, 在因职业因素经常接触射线的人群中, XRCC T241M 多态性与基因损伤程度相关, 突变基因 M 携带者基因损伤程度更严重<sup>[20]</sup>。Wang 等<sup>[21]</sup>对 1994 ~ 2000 年从德克萨斯大学 M. D. 癌症中心的胶质瘤患者及对照组进行研究 (胶质瘤 309 例, 对照组 342 例)。其病例中有 151 多形性胶质母细胞瘤, 被视为高度恶性, 70 例星形细胞瘤, 还有其他 88 例低度恶性胶质瘤, 而对照组为 342 名非癌症患者血样来自 M. D. 安德森血库。通过对多态性位点经 PCR-RFLP 检测, 分别对各自三种基因型数据进行统计, 获得数据为 Thr/Thr 基因型在病例组及对照组分别为 134 例 (43.4%)、147 例 (43.0%), Thr/Met 基因型在病例组及对照组分别为 138 例 (44.7%)、147 例

(43.0%) ,Met / Met 基因型在病例组及对照组分别为 37 例(12.0%)及 48 例(14.0%)。而 Thr / Met 基因型 + Met / Met 基因型在病例组及对照组分别为 175 例(56.6%)、195 例(57.0%)。再经 Statistical Analysis System software (Version 8) 软件进行分析,检验水准设定为双侧  $P < 0.05$ ,对基因型频率和等位基因频率组间差异分析采用了卡方检验和 Hardy-Weinberg 平衡原理分析,采用 univariate 及 multivariate logistic 回归分析计算基因型多态在病例组和对照组中的差异,并计算出比值比及 95% 可信区间。研究结果表明 XRCC3 Thr241Met 基因频率的分布符合 H-W 平衡,  $P = 0.727$ ,多态性与胶质瘤无明显相关性。还有 Feng<sup>[22]</sup>、Rodriguez-Hernandez<sup>[23]</sup> 等的实验报告结果同上。而 Luo 等<sup>[24]</sup> 在 2007 到 2011 年间从孙逸仙纪念医院收集 297 例胶质瘤患者和 458 例非肿瘤患者进行对比,结果却为 XRCC3 Thr241Met 基因的多态性可能对胶质瘤易感性产生影响。Liang 等人<sup>[25-27, 29]</sup> 等也得出实验结论:XRCC3 Thr241Met 基因的多态性与胶质瘤易感性有关。

然而一些更深层次问题,如:XRCC1 参与的 BER 途径和 XRCC3 参与的 HRR 途径之间是否有协调作用?如果有,是如何进行的?当此二基因参与的途径单独或同时缺失时还有哪种途径承担 DNA 损伤修复过程等等问题,目前尚未出现相关报告,有待研究。若此类研究得到进一步进展,也许可以根据患者的基因特征设计治疗方案,进行个体化治疗,从而提高疗效,降低不良反应,减少医疗费用。

#### 结语

通过上述分析对于 DNA 损伤修复 BER 通路中 XRCC1 及 HRR 通路中 XRCC3 基因单核苷酸多态性与胶质瘤易感性的关系,我们可以看到相关的研究还存在很大的分歧,缺乏重复性,统计结果还存在着很大的差异。造成这些分歧的原因可能与不适当的研究设计,如非随机抽样、有限的样本量、未知的混杂因素和修饰因素等有关。另外由于某种基因的多态可能与多种疾病的发生有关,而且基因与基因之间,与人种、生活习惯(吸烟、饮酒)、家族史、环境因素之间可能存在着复杂的关系,所以这些 DNA 修复相关基因与胶质瘤发生的关系很难从因果关系上得到确认。因此还需要进行大规模,设计完备,质量控制好的实验研究来补充,揭示

DNA 修复相关基因与胶质瘤发生之间的关系原因,进一步明确多种修复途径之间的相互作用机制,为胶质瘤的有效预防提供线索,从而可对肿瘤高危人群进行筛选,为危险度评价及预警、分子诊断、肿瘤的治疗、预后判断及肿瘤药物的开发等提供线索。

#### 参考文献

- [1] 周渝斌,车国卫. DNA 修复基因多态性与肺癌易感性的研究进展. 中国肿瘤临床, 2013, 40(9): 551-554.
- [2] 朱守民. DNA 损伤修复基本方式的研究进展. 国外医学(分子生物学分册), 2003, 25(5): 270-272.
- [3] 郭焕焕,孟祥宁,白静,等. DNA 双链断裂修复与基因扩增关系的研究进展. 国际遗传学杂志, 2011, 34(6): 306-310.
- [4] 杨春晓,张玉,师少军. SNP 基因分型检测技术及应用进展. 中国药师, 2013, 16(6): 811-816.
- [5] 牛华涛,罗林,胡早秀,等. XRCC1 在脑胶质瘤中的表达及与放疗的相关性研究. 昆明医科大学学报, 2013, 34(11): 29-32.
- [6] Hung RJ, Hall J, Brennan P, et al. Genetic polymorphisms in the base excision repair pathway and cancer risk: A HuGE review. Am J Epidemiol, 2005, 162(10): 925-942.
- [7] Tebbs RS, Zhao Y, Tucker JD, et al. Correction of chromosomal instability and sensitivity to diverse mutagens by a cloned cDNA of the XRCC3 DNA repair gene. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92(14): 6354-6358.
- [8] 孙静锋,闻鉴非,赵何伟,等. XRCC3 Thr241Met 基因多态性与结直肠癌易感性的 Meta 分析. 中华临床医师杂志, 2013, 7(5): 2087-2090.
- [9] 胡佳,王雅杰. DNA 修复基因 XRCC3 与肿瘤发生及治疗耐受的研究进展. 癌症进展, 2012, 10(4): 369-373.
- [10] Liu N, Schild D, Thelen M. Involvement of Rad51C in two distinct protein complexes of Rad51 paralogs in human cells. Nucleic Acids Res, 2002, 30(4): 1009-1015.
- [11] 纪建永,范月超. XRCC1 与胶质瘤的关系研究进展. 山东医药, 2013, 53(25): 88-90.
- [12] Liu HB, Peng YP, Dou CW, et al. Comprehensive Study on Associations Between Nine SNPs and Glioma Risk. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2012, 13(10): 4905-4908.
- [13] Xu G, Wang M, Xie W, et al. Three polymorphisms of DNA repair gene XRCC1 and the risk of glioma: a case-control study in northwest China. Tumor Biology, 2014, 35(2): 1389-1395.
- [14] Zhang H, Liu H, Knauss JL, et al. Associations between three XRCC1 polymorphisms and glioma risk: a meta-analysis.

- sis. *Tumor Biology*, 2013, 34 (5): 3003-3013.
- [15] Pan WR, Li G, Guan JH. Polymorphisms in DNA repair genes and susceptibility to glioma in a chinese population. *International journal of molecular science*, 2013, 14 (2): 3314-3324.
- [16] Zhang L, Wang Y, Qiu Z, et al. The XRCC1 Arg194Trp polymorphism is not a risk factor for glioma: A meta analysis involving 1,440 cases and 2,562 controls. *Exper Therapeutic Medicine*, 2012, 4 (6): 1057-1062.
- [17] Sun JY, Zhang CY, Zhang ZJ, et al. Association between XRCC1 gene polymorphisms and risk of glioma development: a meta-analysis. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 2012, 13 (9): 4783-4788.
- [18] Adel Fahmideh M, Schwartzbaum J, Frumento P, et al. Association between DNA repair gene polymorphisms and risk of glioma: A systematic review and meta-analysis. *Neuro Oncol*, 2014, 16 (6): 807-814.
- [19] Custódio AC1, Almeida LO, Pinto GR, et al. Variation in DNA repair gene XRCC3 affects susceptibility to astrocytomas and glioblastomas. *Genet Mol Res*, 2012, 11 (1): 332-339.
- [20] 胡佳,王雅杰. DNA 修复基因 XRCC3 与肿瘤发生发展及治疗耐受的研究进展. *癌症进展*, 2012, 10 (4): 369-373.
- [21] Wang LE, Bondy ML, Shen H, et al. Polymorphisms of DNA Repair Genes and Risk of Glioma. *Cancer Res*, 2004, 64 (16): 5560-5563.
- [22] Feng Y, Zeng M, Xu Q. Association between XRCC3 T241M polymorphism and glioma risk: a meta-analysis. *Tumor Biology*, 2014, 35 (6): 5589-5592.
- [23] Rodríguez-Hernández I, Perdomo S, Santos-Briz A, et al. Analysis of DNA repair gene polymorphisms in glioblastoma. *Gene*, 2014, 536 (1): 79-83.
- [24] Luo KQ, Mu SQ, Wu ZX, et al. Polymorphisms in DNA Repair Genes and Risk of Glioma and Meningioma. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14 (1): 449-452.
- [25] Liang H, Yan YL, Liu ZM, et al. Association of XRCC3 Thr241Met polymorphisms and gliomas risk: evidence from a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14 (7): 4243-4244.
- [26] Lin J, Kou Y. Association between the Thr241Met polymorphism of X-ray repair cross-complementing group 3 gene and glioma risk: evidence from a meta-analysis based on 4,136 cases and 5,233 controls. *Tumor Biology*, 2014, 35 (1): 425-432.
- [27] Zhao B1, Ye J, Li B, et al. DNA repair gene XRCC3 Thr241Met polymorphism and glioma risk: a meta-analysis. *Exper and Ther Med*, 2013, 6 (6): 438-443.

## 贝伐单抗在抗血管生成方面治疗高级别胶质瘤的进展

丁一鸣 综述 于书卿 审校

首都医科大学附属北京天坛医院神经外科, 北京 100050

**摘要:**高级别胶质瘤是目前脑肿瘤中最常见的恶性肿瘤,尽管采取诸多积极治疗方案,但患者预后仍不理想。目前,抗血管生成药物(特别是血管内皮生长因子 Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF)作为术后辅助化疗药物成为研究热点。贝伐单抗能特异性结合血管内皮生长因子,从而使肿瘤内部血管正常化,改善内部微环境,抑制肿瘤生长。本文就贝伐单抗在抗血管生成方面的作用机制以及其在治疗高级别胶质瘤化疗中的疗效进行综述。

**关键词:**贝伐单抗;抗血管治疗;血管正常化;高级别胶质瘤;疗效

胶质母细胞瘤 (Glioblastoma, GBM) 是最常见的原发性脑肿瘤,在脑胶质瘤中占 45%,中位生存期为 8.5 ~ 10 个月。尽管目前的积极治疗方式是手术治疗为主,联合辅助放化疗,但是患者的预后仍不理想<sup>[1]</sup>,一般平均存活仅 9 ~ 12 个

月。随着对于胶质瘤的血管生成机制的深入研究以及血管正常化的提出,抗血管生成药物成为了治疗胶质瘤方案中的热点。本文主要针对贝伐单抗在抗血管生成方面治疗胶质瘤的机制及进展进行描述。

收稿日期:201406-17;修回日期:2014-08-13

作者简介:丁一鸣(1990-)男,硕士,主要从事神经外科学的研究。