

· 论著 ·

DNA 修复基因 XRCC1 多态性与颅底脑膜瘤易感性关联研究

黄冠又¹, 冯洁², 郝淑煜², 王科², 万虹², 吴震², 张力伟², 张俊廷²

1. 贵阳市第二人民医院神经外科, 贵州 贵阳 550081

2. 首都医科大学附属北京天坛医院神经外科, 北京 100050

摘要:目的 探讨 DNA 修复基因 XRCC1 单核苷酸多态性 (SNP) 与颅底脑膜瘤易感性的关系。方法 采用病例-对照研究方法, 收集 124 例颅底脑膜瘤患者和 218 例健康对照, 运用多重单碱基延伸 SNP 分型 (Multiplex SNaPshot) 技术检测 XRCC1 基因 rs1799782 位点在脑膜瘤组和对照组中的分布情况。结果 XRCC1 rs1799782 位点中 CT 基因型携带者患颅底脑膜瘤的风险降低 (OR = 0.606, 95% CI: 0.374 ~ 0.982, $P = 0.041$)。在颅底脑膜瘤组中, ≥ 50 岁组相比 < 50 岁组的个体, 其发病风险降低 (OR = 0.4160, 95% CI = 0.201 ~ 0.862)。XRCC1 基因 rs1799782 多态性与颅底脑膜瘤的生长部位、瘤周水肿、骨质破坏及硬膜侵袭之间不存在关联性 ($P > 0.05$)。结论 XRCC1 基因 rs1799782 位点 CT 基因型携带者可降低颅底脑膜瘤发病风险, rs1799782 多态位点可能与颅底脑膜瘤发病风险相关, 相对低龄患者更容易发病, 但仍需大样本量的颅底脑膜瘤流行病学研究加以证实。

关键词: XRCC1; 脑膜瘤; 单核苷酸多态性

Association between DNA repair gene XRCC1 polymorphism and susceptibility to skull base meningioma

HUANG Guan-you¹, FENG Jie², HAO Shu-yu² et al. 1. Department of Neurosurgery, Guiyang Second People's Hospital, Guiyang Guizhou Province 550081 2. Department of Neurosurgery, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050

Abstract: Objective To investigate the association between the single nucleotide polymorphism (SNP) in XRCC1 gene and the susceptibility to skull base meningioma. **Methods** A total of 124 patients with skull base meningioma and 218 healthy controls were collected for this case-control study. The genotype distributions of XRCC1 SNP rs1799782 in the two groups were determined by Multiplex SNaPshot. **Results** The carriers of CT genotype in XRCC1 rs1799782 had a lower risk of skull base meningioma than others (OR = 0.606, 95% CI: 0.374 - 0.982, $P = 0.041$). In the skull base meningioma group, the individuals ≥ 50 years of age had a lower risk of skull base meningioma than those < 50 years of age (OR = 0.416, 95% CI: 0.201 - 0.862, $P = 0.017$). XRCC1 rs1799782 polymorphism was not associated with tumor location, peritumoral edema, bone destruction, and dural invasion ($P > 0.05$).

Conclusions The carriers of CT genotype in XRCC1 rs1799782 have a lower risk of skull base meningioma. XRCC1 rs1799782 polymorphism may be associated with the risk of skull base meningioma. The younger patients have a higher susceptibility to skull base meningioma. However, these results need to be confirmed in epidemiological studies with larger samples.

Key words: XRCC1; Meningioma; Skull base; Single nucleotide polymorphism

脑膜瘤为多因素致病, 发病可能涉及环境暴露和遗传易感性, 并非单一因素造成, 其发生、发展的机理还不十分明确, 有研究表明脑膜瘤的发生可能与颅脑创伤、电离辐射、雌激素水平、乳腺癌及脑膜瘤家族史等因素有关^[1]。流行病学研究显

示一级亲属患脑膜瘤者越多, 其后代脑膜瘤的发病风险越高^[2], 表明遗传因素在脑膜瘤的发病可能起重要作用。存在于基因上的单核苷酸多态性 (SNPs) 位点, 可能通过影响基因转录活性和蛋白表达水平引起个体间的遗传差异, 从而造成以胶质

基金项目: 卫生行业科研专项项目 (200902004); 贵阳市卫生系统高层次创新型青年卫生人才培养计划项目 (2014 筑卫计科技合同 009 号)。

收稿日期: 2015-2-13; 修回日期: 2015-04-19

作者简介: 黄冠又 (1982-), 男, 主治医师, 硕士研究生, 主要从事脑膜瘤的基础和临床研究。

通讯作者: 张俊廷: 北京天坛医院神经外科中心主任, 博士研究生导师, 主要从事颅底及脑干肿瘤的临床及基础研究。

瘤和脑膜瘤为主的脑肿瘤遗传易感性的不同。

颅底脑膜瘤是指肿瘤基底与前、中、后和侧颅底附着的脑膜瘤,其解剖结构复杂,肿瘤与周围重要的神经、血管毗邻。目前国内文献未见关于颅底脑膜瘤基因多态性的系统性研究,关于其发病原因了解不多。本课题采用基于医院的病例-对照研究方法,进行候选基因的遗传多态性与脑膜瘤的关联研究。选取 XRCC1 基因 rs1799782 位点作为候选基因进行中国人群颅底脑膜瘤的 SNP 分析,从遗传学角度初步探讨颅底脑膜瘤的病因及发病机制,为颅底脑膜瘤的个体化预防和治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象及分组

本研究包括 124 例颅底脑膜瘤患者和 218 例正常对照。颅底脑膜瘤患者来自首都医科大学附属北京天坛医院 2010 年 5 月至 12 月收治的临床资料完整的住院病人,所有病例均有颅脑 CT 和(或)MRI 检查,术后病理确诊为脑膜瘤。本组 124 例颅底脑膜瘤共包括:嗅沟脑膜瘤 8 例,鞍结节脑膜瘤 20 例,蝶骨嵴脑膜瘤 21 例,中颅窝底脑膜瘤 6 例,小脑幕脑膜瘤 14 例,岩斜区脑膜瘤 34 例,桥小脑角脑膜瘤 16 例,枕大孔区脑膜瘤 5 例。对照组来自北京天坛医院体检中心的健康体检人群。所有研究人群具体分组情况如下:①颅底脑膜瘤组:共 124 例,其中男 28 例,女 96 例,年龄范围 28~69 岁,平均年龄:49.77±9.49 岁。②对照组:共 218 例,男 74 例,女 144 例,年龄范围 24~79 岁,平均年龄:48.46±9.67 岁。两组间的年龄、性别差异无显著差别($P>0.05$)。

1.2 XRCC1 位点的多态性分析

采用离心柱法提取全基因组血 DNA,利用多重单碱基延伸 SNP 分型技术(Multiplex SNaPshot)对 342 个样本进行 XRCC1 基因 rs1799782 的 SNP 位点分型。rs4968451 的上游引物序列为 5'-CCAGCCTCCAGACCTCTCAA-3',下游引物序列为 5'-TCCGTGTGAAGGAGGAGGAT-3',延伸引物:5'-TTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTATAGT-TAAGAGCAGTGTACAGACAT-3',扩增产物大小为 279 bp。多重 PCR 反应体系总体积为 20 μ L,含有 ddH₂O 14.2 μ L,DNA 模版 1 μ L,10×缓冲液 2.0 μ L,0.5 μ L dNTP 混合物(10 mmol/L),0.8 μ L MgCl₂(50 mmol/L),Platinum Taq DNA 聚合酶 0.5 μ L,上游引物 0.5 μ L,下游引物 0.5 μ L。降落式 PCR

(Touch-Down PCR) 扩增反应:95℃变性 2 min;94℃变性 20 s,61℃退火 30 s,每两个循环下降 1℃,72℃延伸 40 s(共 6 个循环);然后 94℃变性 20 s,58℃退火 30 s,72℃延伸 40 s(共 5 个循环);94℃变性 30 s,57℃退火 30 s,72℃延伸 40 s(共 25 个循环)。最后 72℃延伸 5 min。结束后 4℃保存。PCR 扩增后,取 PCR 反应产物 1.5 μ L 进行琼脂糖凝胶电泳检测,电泳条带清晰,大小正确,表明实验成功。随机选取样本直接测序,运行 GeneMapper 3.7 软件分析基因分型结果。

1.3 统计学处理

采用 SPSS (Version 17.0) 分析软件对实验数据进行处理。病例组和对照组间基因型频率和等位基因频率组间差异分析采用 Pearson χ^2 检验。以非条件 Logistic 回归计算比值比(odds ratio,OR)及 95% 可信区间(confidence interval,CI)以评估相对风险度。统计检验水平为双侧概率检验。

2 结果

2.1 XRCC1 位点基因型与等位基因的分布

XRCC1 位点 rs1799782 基因型及等位基因在颅底脑膜瘤及对照者中的分布符合 Hardy-Weinberg 平衡检验。颅底脑膜瘤组 CC、CT、TT 基因型频率分别为 50.8%、33.1%、16.1%;对照组的基因型频率分别为 43.6%、46.8%、9.6%。以基因型 CC 的 OR 为 1,基因型 CT 能降低颅底脑膜瘤发病风险(OR=0.606,95% CI:0.374~0.982, $P=0.041$)。颅底脑膜瘤组 C、T 等位基因频率为 67.3%和 32.7%,与对照组(67.0%和 33.0%)相比差异无统计学意义($P=0.922$,表 1)。

2.2 XRCC1 位点与颅底脑膜瘤临床表型的关系

将颅底脑膜瘤患者按照不同的临床表型进行分层分析,因 TT 基因型例数较少,将 CT+TT 基因型联合进行分析。将 124 例颅底脑膜瘤患者按年龄、肿瘤部位、瘤周水肿、骨质破坏及硬膜侵袭与否进行分组。颅底脑膜瘤患者以平均年龄 50 岁为界分为 <50 岁和 \geq 50 岁两组,结果显示在发病年龄 <50 岁组中携带 T 等位基因的基因型频率为 37.1%,与 CC 基因型的 62.9% 相比显著降低, \geq 50 岁组相比 <50 岁组的个体其发病风险降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。在颅底脑膜瘤其他临床表型不同组别之间,rs1799782 多态性的基因型频率分布无明显统计学差异($P>0.05$,表 2)。

表1 XRCC1 rs1799782 基因型与等位基因分布频率在颅底脑膜瘤组与对照组的比较

项目	脑膜瘤组	对照组	P 值	OR(95% CI)
基因型				
CC	63(50.8)	95(43.6)	-	1.000
CT	41(33.1)	102(46.8)	0.041	0.606(0.374~0.982)
TT	20(16.1)	21(9.6)	0.303	1.436(0.720~2.864)
CT+TT	61(49.2)	123(55.4)	0.197	0.748(0.481~1.164)
等位基因				
C	167(67.3)	292(67.0)	-	1.000
T	81(32.7)	144(33.0)	0.922	0.984(0.706~1.371)

表2 XRCC1 基因 rs1799782 与颅底脑膜瘤临床表型的关系

分组	例数	基因型(n%)		P 值	OR(95% CI)
		CT+TT	CC		
年龄					
<50 岁	54	34(62.9)	20(37.1)	0.017	0.416(0.201~0.862)
≥50 岁	70	29(41.4)	41(58.6)		
肿瘤部位					
前颅底	28	13(46.4)	15(53.6)	0.898	1.071(0.372~3.089)
中颅底	27	13(48.1)	14(51.9)		
后颅底	69	37(53.6)	32(46.4)		
瘤周水肿					
有	63	30(47.6)	33(52.4)	0.471	1.296(0.640~2.626)
无	61	33(54.1)	28(45.9)		
骨质破坏					
有	20	13(65.0)	7(35.0)	0.166	0.499(0.184~1.3501)
无	104	50(48.1)	54(51.9)		
硬膜侵袭					
有	54	28(51.9)	26(48.1)	0.838	0.929(0.456~1.889)
无	70	35(50.0)	35(50.0)		

3 讨论

脑膜瘤是最常见的颅内良性肿瘤,颅底是其好发部位。与其他部位脑膜瘤相比,颅底脑膜瘤解剖结构复杂,常包裹重要的颅神经及血管结构,甚至挤压脑干,多数患者在首次确诊时肿瘤已生长较大,手术风险及难度大,有较高的致残率和死亡率。对于多数颅底脑膜瘤来说,手术治疗是最佳的治疗手段,同时联合放射外科治疗也是较好的选择^[3,4]。在积极研究颅底脑膜瘤治疗的同时,我们也应积极探索颅底脑膜瘤发病风险的相关遗传特征,对于早期发现颅底脑膜瘤有重要的临床意义。

单核苷酸多态性是最丰富的遗传变异形式,占所有已知多态性的90%以上,其遗传变异引起的DNA序列多态性可导致一些肿瘤的发生。目前已有文献报道在大剂量离子辐射暴露下,脑膜瘤的发生率能显著增高,这可能与电离辐射造成细胞内DNA损伤和修复紊乱,不排除引起脑膜瘤的可能^[5]。自然界中的物理或化学因素,如电离辐射极

易造成DNA的损伤,引起DNA结构与功能改变,导致遗传信息改变或细胞功能异常,可能是脑膜瘤发生过程中最主要的环境危险因素^[5]。

XRCC1(X-ray repair cross-complementing group 1)即X射线损伤修复交叉互补基因,定位于19q13.2,作为一种重要的DNA修复基因,能和其他酶结合,主要参与单链断裂修复和碱基切除修复机制,其编码的蛋白在维持基因组稳定性方面有重要意义^[6]。有报道显示,XRCC1基因多态性与多种肿瘤的易感性相关,如恶性胶质瘤、肺癌、乳腺癌、肌萎缩侧索硬化等^[7]。但是关于DNA修复基因XRCC1基因多态性与脑膜瘤易感性关系的研究较少^[8,9],而针对颅底脑膜瘤与XRCC1多态性研究方面的研究国内外尚未见文献报道。

本研究对中国人群进行了XRCC1基因多态性rs1799782位点与颅底脑膜瘤易感性关系的研究,结果显示携带XRCC1基因型CT的个体其颅底脑膜瘤发病风险降低(OR=0.606,95%CI=0.374~

0.982, $P = 0.041$) ,提示 rs179782 位点 C→T 的突变可能降低 XRCC1 修复 DNA 的活性,进而降低颅底脑膜瘤的发病风险。针对 124 例颅底脑膜瘤,我们发现年龄小于 50 岁组中携带 T 等位基因的基因型频率为 37.1% ,与 CC 基因型的 62.9% 相比显著降低,年龄小于 50 岁组比年龄大于 50 岁的脑膜瘤发病风险高($OR = 0.4160$, $95\% CI = 0.201 \sim 0.862$) ,这与 XRCC1 基因多态性 rs1799782 与脑膜瘤关联研究相似^[8] ,说明由 T 等位基因造成的 DNA 修复缺陷容易引发相对早发性的颅底脑膜瘤,rs1799782 多态位点可能与颅底脑膜瘤发病风险相关,相对低龄患者更容易发病。

关于 XRCC1 基因多态性与颅底脑膜瘤临床表型关系方面,本研究未发现 T 等位基因颅底脑膜瘤的生长部位、瘤周水肿、骨质破坏及硬膜侵袭之间存在关联性,说明 XRCC1 基因位点 rs1799782 的 T 等位基因可能不是判断颅底脑膜瘤相关生物学行为的预测指标,仍需进一步深入研究 rs1799782 多态位点与颅底脑膜瘤预后是否存在潜在关系,有必要对颅底脑膜瘤患者术后的临床特征和随访资料进行分析,从而明确 XRCC1 基因多态性与颅底脑膜瘤患者预后的相关性。

国内外关于 DNA 修复基因多态性与颅底脑膜瘤相关性及预后的研究工作还处于起步阶段,研究样本量偏小,同时种族及人群的差异性,也导致研究结果存在一定程度分歧^[10]。只有全面考虑各种因素(如环境、遗传因素等),才有可能建立起 XRCC1 多态性与颅底脑膜瘤易感性之间的关联,为颅底脑膜瘤的早期诊断、治疗和预防提供有效措施。

参 考 文 献

- [1] Wiemels J, Wrensch M, Claus EB. Epidemiology and etiology of meningioma. *J Neurooncol*, 2010, 99(3): 307-314.
- [2] Hemminki K, Tretli S, Sundquist J, et al. Familial risks in nervous-system tumours: a histology-specific analysis from Sweden and Norway. *Lancet Oncol*, 2009, 10(5): 481-488.
- [3] 罗斌,刘阿力.伽玛刀治疗脑膜瘤的现状中华神经外科杂志,2014,30(2): 208-210.
- [4] Rogers L, Barani I, Chamberlain M, et al. Meningiomas: knowledge base, treatment outcomes, and uncertainties. A RANO review. *J Neurosurg*, 2015, 121(1): 4-23.
- [5] Godlewski B, Drummond KJ, Kaye AH. Radiation-induced meningiomas after high-dose cranial irradiation. *J Clin Neurosci*, 2012, 19(12): 1627-1635.
- [6] 王芹,刘强,樊赛军,等.XRCC1 基因单核苷酸多态性与肿瘤易感性.中华临床医师杂志(电子版),2014,8(6): 1123-1127.
- [7] 徐诚,严丽锋,王心如,等.DNA 损伤修复蛋白 XRCC1 的研究进展.东南大学学报(医学版),2014,33(3): 376-380.
- [8] 黄冠又,冯洁,郝淑煜,等.XRCC1 遗传变异 Arg194Trp 与脑膜瘤的关联研究中华神经外科杂志,2012,28(4): 406-409.
- [9] Rajaraman P, Hutchinson A, Wichner S, et al. DNA repair gene polymorphisms and risk of adult meningioma, glioma, and acoustic neuroma. *Neuro-Oncology*, 2010, 12(1): 37-48.
- [10] 黄冠又,冯洁,郝淑煜,等.脑膜瘤的易感基因研究进展.国际神经病学神经外科学杂志,2011,38(2): 178-182.