

## ERCC1 基因多态性与胃癌发生发展的关系\*

师 怡<sup>①②</sup> 陈 刚<sup>①②</sup> 林贤东<sup>①②</sup> 张丽媛<sup>①</sup> 胡 丹<sup>①</sup> 何银珠<sup>①</sup> 郑雄伟<sup>①②</sup>

**摘要 目的:**本研究拟探讨切除修复互补交叉基因1(ERCC1)3个单核苷多态性(SNPs)与胃癌发生发展的关系。**方法:**选取2007年1月至2009年12月福建地区组织学确诊的452例胃癌患者和469例健康体检人群,利用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)方法进行rs11615 T>C、rs2298881 C>A和rs3212930 T>C、3个位点多态性检测,以评估ERCC1不同基因型与胃癌发病风险和病理特征的关系。**结果:**rs11615 T>C位点携带C等位基因的个体患胃癌的风险较野生纯合基因型降低一半(OR=0.49;95%CI: 0.52~0.47;P=0.01),但是罹患弥漫型胃癌的风险上升1.68倍,预后更差(OR=1.68;95%CI:0.76~0.61;P=0.048)。单体型分析显示,基于这3个位点的单体型C-C-C降低了体患胃癌的风险(OR=0.729;95%CI:0.531~1.001;P=0.0499),而单体型T-C-T则增加了胃癌患病风险(OR=1.321;95%CI:1.063~1.641;P=0.0118)。**结论:**ERCC1基因rs11615 T>C位点多态性与胃癌发生发展密切相关,携带该基因2种不同单型型的个体在胃癌患病风险上存在差异。

**关键词** 胃癌 切除修复互补交叉基因1 单核苷酸多态性 单体型

doi:10.3969/j.issn.1000-8179.2012.13.008

## Association of ERCC1 Gene Single Nucleotide Polymorphisms with Gastric Cancer Development and Progression

Yi SHI<sup>1,2</sup>, Gang CHEN<sup>1,2</sup>, Xiandong LIN<sup>1,2</sup>, Liyuan ZHANG<sup>1</sup>, Dan HU<sup>1</sup>, Yinzhu HE<sup>1</sup>, Xiongwei ZHENG<sup>1,2</sup>

Correspondence to: Xiongwei ZHENG; E-mail: agu1960@126.com

<sup>1</sup>Department of Molecular Pathology, Fujian Provincial Tumor Hospital, Fuzhou 350014, China

<sup>2</sup>Fujian Provincial Key Laboratory of Translational Cancer Medicine, Fuzhou 350014, China

This work was supported by the Science Research Fund of the Ministry of Health (No. WKJ2008-2-43) and the Youth Science Foundation of the Fujian Bureau of Public Health (No.2011-1-22)

**Abstract Objective:** To explore the correlations of single nucleotide polymorphisms ( SNPs ) in the excision repair cross-complementation group 1 ( ERCC1 ) gene with the development and progression of gastric carcinoma ( GC ). **Methods:** A total of 452 gastric carcinoma patients in Fujian province and 469 cancer-free controls in a population frequency-matched by age and sex were included in this study. Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry was used to determine the genotype of three SNPs, including rs11615 T > C, rs2298881 C > A, and rs3212930 T > C. The correlations of these polymorphisms with the susceptibility to gastric cancer were evaluated. **Results:** Compared with the TT genotype, rs11615 T > C with the C allele lowered the risk of GC ( OR = 0.49, 95 % CI: 0.52 ~ 0.47, P = 0.01 ), indicating some protective effect on GC risk. However, rs11615 T > C with the C allele caused a higher risk for diffused GC, signifying poor prognosis ( OR = 1.68, 95 % CI = 0.76 ~ 0.61, P = 0.048 ). SHEsis software analysis revealed that the haplotype C-C-C based on rs11615 T > C, rs2298881 C > A, and rs3212930 T > C polymorphisms lowered the risk of GC, with OR = 0.729 ( 95 % CI: 0.531 ~ 1.001, P = 0.0499 ). In contrast, the haplotype T-C-T had a dangerous effect on GC, with OR = 1.321 ( 95 % CI: 1.063 ~ 1.641, P = 0.0118 ). **Conclusion:** The rs11615 SNP of the ERCC1 gene contributes to the susceptibility to GC. The interactions among rs11615 T > C, rs2298881, and rs3212930 T > C had synergistic effects on GC.

**Keywords** Gastric carcinoma; Excision repair cross-complementation group 1; Single nucleotide polymorphisms; Haplotype

ERCC1基因是DNA损伤修复主要途径(NER途径)的关键基因,其正常表达能及时有效修复损伤的DNA,但它的单核苷酸多态性可能导致个体间DNA损伤修复能力的差异。rs11615是ERCC1基因中报道最多的单核苷酸位点<sup>[1-2]</sup>,位于ERCC1基因第4外显子第118位密码子,发生的T>C的替换,属于同义突变,均编码ASN。文献报道该位点的单核苷酸多态

性与前列腺癌、肺癌和淋巴瘤发生密切相关。rs2298881C>A位于内含子1区域,rs3212930 T>C位于启动子区域。Yu等<sup>[3]</sup>曾报道达两个位点携带C等位基因的个体患肺癌的风险增加。目前有关ERCC1与胃癌发生发展关系的报道并不多,本研究选取了ERCC1基因这3个SNP位点,分析其单个位点的多态性或联合作用与胃癌发生发展的关系。

作者单位:①福建省肿瘤医院病理科分子病理室(福州市350014);②福建省肿瘤转化医学重点实验室

\* 本文课题受卫生部科学研究基金(编号:WKJ2008-2-43)和福建省卫生厅青年课题(编号:2011-1-22)资助

通信作者:郑雄伟 agu1960@126.com

1 材料与方法

1.1 研究对象

采用病例-对照研究。病例组为2007年1月至2009年12月在福建省肿瘤医院全胃切除经组织病理学确诊的452例胃癌患者,术前均未接受放疗和化疗。对照组为随机选取的在福建省肿瘤医院同期进行健康体检的人员469例,无肿瘤史。研究对象的基本资料如表1。

表1 研究对象的基本资料 例(%)

Table 1 Basic data of patients in the study and control groups

项目	病例组(n=452)	对照组(n=469)*	$\chi^2$	P
性别				
男	329(72.79)	342(72.92)	0.14	0.71
女	123(27.21)	121(25.80)		
年龄(岁)				
≤60	258(57.08)	263(59.10)	0.38	0.54
>60	194(42.92)	182(40.90)		
分化程度(lauren分型)				
肠型	159(35.18)			
弥漫型	293(64.82)			
TNM分期				
0~I	56(12.39)			
II	93(20.58)			
III	285(63.05)			
IV	18(3.98)			

\*:由于标本收集的分散性,对照组中性别资料有6例缺失,年龄资料有24例缺失

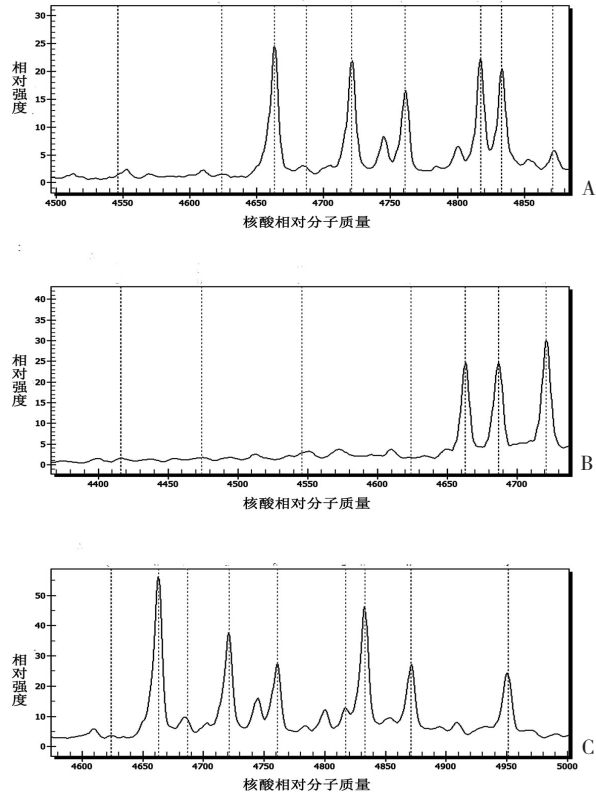
1.2 基因组DNA提取

病例组:选取胃癌患者癌旁组织石蜡标本,按OMEGA组织DNA提取试剂盒操作说明提取基因组DNA。对照组:采集1 mL正常人群静脉血,EDTA抗凝,按BioTeke Corporation全血提取DNA试剂盒操作说明提取基因组DNA。ND1000分光计测定DNA浓度,OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>在1.8~2.0之间。

1.3 SNP位点选择及基因型

采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱(MALDI-TOF-MS)分析ERCC1基因3个位点的多态性。具体实验操作按文献[4]进行。各位点PCR引物序列如下:扩增rs11615 T>C的上游引物为5'-ACGT TGGATGGCACATAGTCGGAATTACG-3',下游引物为5'-ACGTTGGATGGGCAATCCCGTACTGAAGTT-3',质谱引物为5'-AAATTCACAGGCAC-3'。扩增rs2298881 C>A的上游引物为5'-ACGTTGGATGCGGATTCTAT TGGCTCCGTC-3',下游引物为5'-ACGTTGGATGGGAGGGCGTCCAGATGCTA-3',质谱引物为5'-CCCCCGCCTTCCGTT-3'。扩增rs3212930 T>C的上游引物为5'-ACGTTGGATGATCCCAGACCTGCCATTCT-3',下

游引物为5'-ACGTTGGATGTTGTCTCCCGGAGCTT AC-3',质谱引物为5'-CTGGAACGTGTCTG-3'。基因分析图谱如图1所示。



A: rs11615 T>C; B: rs2298881 C>A; C: rs3212930 T>C

图1 rs11615 T>C,rs2298881 C>A,rs3212930 T>C基因型示意图

Figure 1 Genotyping diagram of rs11615T>C, rs2298881C>A, and rs3212930 T>C

1.4 统计学分析

采用SPSS 12.0软件进行统计分析。病例组与对照组之间基本情况的比较采用 $\chi^2$ 检验。用Hardy-Weinberg平衡吻合度检验、 $\chi^2$ 检验分析对照组各位点基因型频率的观察值与预期值,评估其代表性。以非条件Logistic回归法计算表示相对风险度的比值比(OR)及其95%可信区间(CI)。

2 结果

2.1 Hardy-Weinberg平衡吻合度检验

将rs11615 T>C,rs2298881 C>A和rs3212930 T>C SNPs位点在对照组中的基因型频率分布进行Hardy-Weinberg平衡吻合度检验,结果显示:3个位点吻合度检验P值分别为0.21,0.90和0.97,表明各基因型的分布频率符合Hardy-weinberg平衡。

2.2 ERCC1基因rs11615 T>C、rs2298881 C>A和rs3212930 T>C位点多态性与胃癌发生的关系

本研究对452例胃癌和469例对照人群进行3个位点的基因分型,结果如表2所示:在胃癌病例组中,

rs11615 T>C 等位基因及基因型分布频率与正常人群相比较,两者差别有统计学意义( $P<0.05$ )。携带突变等位基因 C 的个体较野生型纯合基因型携带者患胃癌的风险显著下降至 0.49 倍(OR=0.49; 95% CI: 0.52 ~ 0.47;  $P=0.01$ )。而 rs2298881 C>A 等位基因及基因型分布频率与正常人群相比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。rs3212930 T>C 位点,至少携带一个等位基因 C 的个体患胃癌风险较野生型纯合基因型携带者下降至 0.73 倍,但差异尚未达到统计学意义(OR=0.73; 95% CI=0.77 ~ 0.70;  $P=0.07$ )。

表 2 ERCC1 基因 rs11615 T>C、rs2298881 C>A 和 rs3212930 T>C 位点等位基因频率、基因型频率及其与胃癌发病风险的关系 例(%)

Table 2 Association of ERCC1 polymorphism with the occurrence of gastric cancer

基因型	病例组(n=452)	对照组(n=469)	$\chi^2$	P
rs11615 T>C				
TT	36(7.98)	19(4.05)	6.12	0.01*
CT+CC	415(92.02)	445(94.88)		
rs2298881 C>A				
CC	159(35.41)	155(33.84)	0.25	0.62
CA+CC	290(64.58)	303(66.15)		
rs3212930 T>C				
TT	351(82.39)	357(77.44)	3.37	0.07
CT+CC	75(17.61)	104(22.56)		

\*由于技术上偶然性,rs11615 位点病例组有 1 个样本,对照组有 5 个样本;rs2298881 位点病例组有 3 个样本,对照组有 11 个样本;rs3212930 位点病例组有 26 个样本,对照组有 8 个样本检测失败,未纳入统计

### 2.3 ERCC1 基因 rs11615 T>C、rs2298881 C>A 和 rs3212930 T>C 位点多态性与胃癌临床病理学特征的关系

经 Logistic 回归分析表明,在调整性别、年龄因素后,对 rs11615 T>C、rs2298881 C>A 和 rs3212930 T>C 位点用混杂因素进行分层分析(表 3)。根据组织学分型,将病例分为肠型组和弥漫型组。在肠型组中,rs11615 T>C 等位基因及基因型分布频率与弥漫型组相比,两者差别有统计学意义( $P<0.05$ )。携带突变等位基因 C 的个体较野生纯合基因型携带者罹患弥漫型胃癌的风险显著上升至 1.68 倍,预后更差(OR=1.68; 95% CI: 0.76 ~ 0.61;  $P=0.048$ )。而 rs2298881 C>A 和 rs3212930 T>C 位点的基因型分布与肿瘤保护、浸润深度、组织分化及淋巴结转移均未见相关性( $P>0.05$ )。

### 2.4 ERCC1 基因 SNPs 间配对单体型频率比较

采用 SHEsis 软件进行连锁不平衡及单体型分析显示,rs11615 T>C、rs2298881 C>A 和 rs3212930 T>C 呈现高度的连锁不平( $D' = 0.857, r^2 = 0.029$ )。基于这三个

位点,共构建 4 种单体型(表 4),其中两种有统计学意义:单体型 C-C-C 降低了个体患胃癌风险,OR 为 0.729(95% CI: 0.531 ~ 1.001;  $P=0.049$ );单体型 T-C-T 则提高胃癌患病的风险,OR 为 1.321(95% CI: 1.063 ~ 1.641;  $P=0.012$ )。

表 3 rs11615 T>C 位点多态性及其与临床病理学特征关系  
Table 3 Correlation between rs11615 T>C polymorphism and pathological features of gastric carcinoma

病理学参数	TT	CT+CC	$\chi^2$	P
肿物大小				
≤5cm	20(9.00)	202(91.00)	0.63	0.420
>5cm	16(7.00)	213(93.00)		
浸润深度				
肌层	6(8.22)	67(91.78)	0.01	0.930
浆膜及浆膜外	30(7.94)	348(92.06)		
病理类型				
肠型	9(5.70)	149(94.30)	3.90	0.048*
弥漫型	27(11.59)	206(88.41)		
淋巴结转移				
无	9(7.63)	109(92.37)	0.03	0.870
有	27(8.11)	306(91.89)		

\*由于技术上偶然性,rs11615 位点肿物大小≤5 cm 组中有 1 个标本未检出,在浆膜及浆膜外组中有 1 个标本未检出,在肠型组中有 1 个标本未检出,淋巴结转移组中有 1 个标本未检出

表 4 rs11615 T>C、rs2298881 C>A 和 rs3212930 T>C 位点配对单体型频率比较

Table 4 Distribution of ERCC1 haplotypes and gastric cancer

单体型	1	2	3	病例组 (%)	对照组 (%)	P	OR	95%CI
1	C	A	T	38.8	40.9	0.411	0.923	0.761 ~ 1.118
2	C	C	C	8.6	11.4	0.049	0.729	0.531 ~ 1.001
3	C	C	T	24.4	25.0	0.816	0.974	0.784 ~ 1.212
4	T	C	T	27.8	22.7	0.012	1.321	1.063 ~ 1.641

### 3 讨论

本研究基于大样本临床病例数量且设计符合统计要求。以胃癌病例组与正常人群相比较为例,rs11615 T>C 位点携带突变等位基因 C 的个体较野生型纯合基因型携带者患胃癌的风险显著下降至 0.49 倍( $P=0.01$ ),统计效能为 0.76,说明该位点基因型分布频率在两组人群中差异有统计学意义。其次,随机抽取 10% 的样品行测序鉴定进行质控核对。所有 SNPs 分型检测设置 1% 阴性对照、1% 室内标准品对照及 5% 重复检验复核对照。当这 3 个对照符合度大于或等于 98% 时,即认为实验结果真实可靠。

本研究的创新之处在于,目前关于 ERCC1 和胃癌的关系的报道<sup>[5-7]</sup>,多集中在与铂类药物化疗预后

的关系上,有关ERCC1与胃癌发生发展的关系的报道并不多,其基因多态性与胃癌发生发展的关系的研究在国内外亦刚起步,且选择的位点数较少,样本量有限。本研究首次报道在福建人群中通过大样本的研究探讨ERCC1基因的多个位点与胃癌发生发展的关系。再者,本研究采用飞行质谱的方法,具有大样本高通量和单样本多重检测的优势。

本研究结果显示rs11615位点携带突变等位基因C的个体较野生型纯合基因型携带者患胃癌的风险显著下降至0.49倍,这与Vogel等<sup>[8]</sup>在肺癌中的研究结果一致。但携带突变等位基因C的个体较野生型纯合基因型携带者罹患弥漫型胃癌的风险显著上升至1.68倍,预后更差。结果还显示,在rs11615、rs2298881和rs3212930这3个位点存在着连锁不平衡,单体型C-C-C的患者个体患胃癌风险降低至0.729倍,而单体型T-C-T则提高了胃癌患病的风险至1.321。这个结果提示ERCC1的功能受到多个位点突变及其累积效应的影响,其中rs11615位点可能是强效位点,可作为胃癌早期诊断的分子靶点,以寻找胃癌风险的遗传因素。

ERCC1是一种高度保守的单链DNA核酸内切酶,其表达产物和DNA修复酶缺乏互补基因F(XPF)形成紧密的异二聚体,具有识别和切除DNA 5'端的双重作用,在核苷酸切除修复途径(NER)中起到限速和调节的重要作用<sup>[9-10]</sup>。有关SNP的作用机制的研究有许多争议,主要包括两个方面,一是通过改变mRNA及蛋白的产量水平,但ERCC1rs11615位点的SNP与其表达水平之间的关系仍未有定论<sup>[11]</sup>。二是通过改变mRNA的构象、蛋白的折叠及细胞定位,进而影响基因功能的发挥<sup>[12]</sup>。ERCC1的单核苷酸多态性影响基因功能的研究已成为研究的热点,但SNP对胃癌细胞的生长、增殖、凋亡和细胞周期的影响的研究仍处于空白,需要进行更为深入的探讨以阐明其对生化和细胞水平的作用,为全面了解胃癌的发病机制提供科学依据。

#### 参考文献

- 1 张慧,刘巍,王淑琴. ERCC1、ERCC2的多态性对常见消化系统肿瘤的影响[J]. 医学综述, 2009, 15(3): 327-331.
- 2 梁军,吕红英,张克,等. 汉族晚期大肠癌ERCC1和XRCC1基因多态性与奥沙利铂化疗敏感相关性的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2008, 15(17): 1329-1332.
- 3 Yu D, Zhang X, Yuan P, et al. Characterization of functional excision repair cross-complementation group 1 variants and their association with lung cancer risk and prognosis[J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(9): 2878-2886.
- 4 Justenhoven C, Hamann U, Pesch B, et al. ERCC2 genotype and a corresponding haplotype are linked with breast cancer risk in a German population[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2004, 13(12):

2059-2064

- 5 魏嘉,邹征云,钱晓萍,等. ERCC1 mRNA表达水平与胃癌铂类化疗预后的相关性研究[J]. 中华病理学杂志, 2008, 37(8): 551-552.
- 6 黄朝晖,华东,李莉华,等. ERCC1 mRNA表达及基因多态性对胃癌辅助化疗预后的影响[J]. 南京医科大学学报, 2008, 28(4): 453-456.
- 7 姜韬,梁军,宋珊爱,等. 晚期胃癌患者外周血ERCC1基因多态性与奥沙利铂疗效相关性的研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2009, 14(9): 792-796.
- 8 Vogel U, Sorensen M, Hansen RD, et al. Gene environment interactions between smoking and a haplotype of RAI, ASE-1 and ERCC1 polymorphisms among women in relation to risk of lung cancer in a population-based study[J]. Cancer Lett, 2007, 247(1): 159-165.
- 9 张增利,周彩存,张颀,等. DNA修复基因ERCC1多态性与肺癌易感性的关系[J]. 中国肺癌杂志, 2008, 11(2): 183-188.
- 10 宋勇,吴颖,申萍. 进展期非小细胞肺癌中ERCC1单核苷酸多态性与铂类化疗敏感性的Meta分析[J]. 循证医学, 2009, 9(2): 98-104.
- 11 刘娟妮,张中冕,陈琛,等. ERCC1、P27~(kip1)、CyclinE在胃癌组织中的表达及其临床意义[J]. 肿瘤防治研究, 2010, 37(5): 540-543.
- 12 刘越,吕社民. 单核苷酸多态性影响基因功能的机制[J]. 生命的化学, 2008, 28(2): 214-216.

(2011-12-19收稿)

(2012-02-23收稿)

(本文编辑:郑莉)