

Pol ι 表达水平对行食管癌术后辅助放疗患者的生存影响

周俊东^{1*}, 宁忠华², 邹士涛¹, 刘 标¹, 吴锦昌¹

¹南京医科大学附属苏州医院放疗科, 江苏 苏州 215001; ²常州市第一人民医院放疗科, 江苏 常州 213000

[摘要] 目的:探讨DNA聚合酶 ι (DNA polymerase ι , Pol ι)表达水平对行食管癌术后辅助放疗患者的生存影响。方法:采用免疫组化方法检测97例行术后辅助放疗的食管癌患者组织中Pol ι 的表达情况,分析Pol ι 表达水平对这些患者生存的影响。结果:20例食管癌患者组织中Pol ι 呈低表达,77例食管癌患者组织中Pol ι 呈高表达;生存曲线显示Pol ι 表达水平与行术后辅助放疗的食管癌患者生存呈负相关;COX回归分析显示Pol ι 表达水平是影响食管癌根治术后辅助放疗患者生存的独立预后因素。结论:Pol ι 可能是判断行食管癌术后辅助放疗患者预后的潜在分子标志物。

[关键词] Pol ι ; 食管癌; 术后辅助放疗

[中图分类号] R735.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2018)11-1525-03

doi:10.7655/NYDXBNS20181108

The effect of Pol ι expression on overall survival of ESCC patients with postoperative adjuvant radiotherapy

Zhou Jundong^{1*}, Ning Zhonghua², Zou Shitao¹, Liu Biao¹, Wu Jinchang¹

¹Department of Radio-Oncology, Affiliated Suzhou Hospital of NMU, Suzhou 215001; ²Department of Radio-Oncology, First People's Hospital of Changzhou, Changzhou 213000, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Pol ι expression on overall survival of esophageal squamous-cell carcinoma (ESCC) patients with postoperative adjuvant radiotherapy. **Methods:** The correlation between Pol ι expression and overall survival of 97 ESCC patients with postoperative adjuvant radiotherapy was analyzed using immunohistochemical method. **Results:** There were 20 cases with low expression of Pol ι and 77 cases with high expression of Pol ι in these patients. Survival curve showed Pol ι expression was negatively correlated with overall survival of ESCC patients with postoperative adjuvant radiotherapy, and COX regression analysis indicated that Pol ι expression was one of the independent prognostic factors of postoperative adjuvant radiotherapy for esophageal cancer. **Conclusion:** Pol ι may be a potential molecular markers for postoperative adjuvant radiotherapy in esophageal cancer.

[Key word] Pol ι ; esophageal cancer; postoperative adjuvant radiotherapy

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(11):1525-1527, 1544]

DNA聚合酶 ι (DNA polymerase ι , Pol ι)是跨损伤DNA合成途径(translesion DNA synthesis, TLS)中的一种DNA聚合酶,在不同肿瘤组织中有着不同的表达谱^[1-2]。前期研究中发现Pol ι 在食管癌组织中表达水平较癌旁组织明显增高,其表达水平与食管癌患者预后呈负相关^[3-4];抑制Pol ι 表达可提高食管

癌细胞的放射敏感性^[5]。那么,Pol ι 在食管癌组织中的表达水平是否影响食管癌术后辅助放疗的疗效?为了回答这一问题,本研究选取97例行术后辅助放疗的食管癌患者,采用免疫组化方法检测Pol ι 在术后肿瘤组织中的表达水平,观察Pol ι 对行食管癌术后辅助放疗患者生存的影响。

[基金项目] 国家自然科学基金(81372433, 81672975);江苏省333人才项目(BRA2016071);江苏省六大人才高峰项目(WSN-095)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: zhoujundong330@163.com

1 对象和方法

1.1 对象

选取2006年1月—2009年12月在常州市第一人民医院行食管癌根治术后辅助放疗的患者97例,

术后病理显示均为食管鳞状细胞癌。其中男77例,女20例;中位年龄为58岁,<60岁54例,≥60岁43例;肿瘤分期按照2002年美国肿瘤研究联合委员会食管癌分期标准(6版)进行。本研究经所在单位伦理委员会批准通过,患者对样本采集知情同意。

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学实验

人食管癌组织切片70℃孵育过夜,二甲苯脱蜡,酒精梯度脱水,枸橼酸钠高温高压抗原修复。经牛血清白蛋白封闭后,滴加兔抗人Polι一抗(1:100,Proteintech公司,美国),放置4℃过夜,然后滴加二抗(HRP标记的抗兔二抗,DAKO公司,丹麦),PBS漂洗,DAB显色,最后经脱水、透明、封片,置于显微镜下观察和分析。

1.2.2 染色评定及分组

在光学显微镜下随机观察3个高倍镜视野,计算染色阳性率和染色强度。染色阳性率计分方式:0分(0~10%),1分(11%~25%),2分(26%~50%),3分(51%~75%),4分(76%~100%)。染色强度计分方式:0分(未着色),1分(淡黄色),2分(棕黄色),3分(深褐色)。蛋白表达得分为染色阳性率评分和染色强度评分的乘积,<2分为低表达组,≥2分为高表达组。

1.3 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行统计学分析。采用卡方检验分析Polι表达与行食管癌术后辅助放疗患者病理参数的相关性;采用Kaplan-Meier生存分析法和Log-rank统计检验Polι表达与食管癌术后辅助放疗预后的相关性;采用COX比例风险回归模型分析Polι表达对食管癌术后辅助放疗预后因素的影响。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Polι表达与行食管癌术后辅助放疗患者的临床病理特征相关性分析

采用免疫组化方法检测97例行食管癌术后辅助放疗患者肿瘤组织中的Polι表达水平,结果显示20例肿瘤组织中Polι呈低表达,77例肿瘤组织中Polι呈高表达。采用卡方检验分析Polι与患者临床病理特征的相关性,结果显示Polι表达水平与患者性别、年龄及肿瘤TNM分期均无明显相关性(表1)。

2.2 Polι表达水平与行食管癌术后辅助放疗患者生存的相关性分析

随访行食管癌术后辅助放疗患者至100个月,患者中位生存时间为37个月,5年生存率为38%,患

表1 Polι表达与临床病理特征的关系

Table 1 Relation between Polι expression and clinicopathologic index

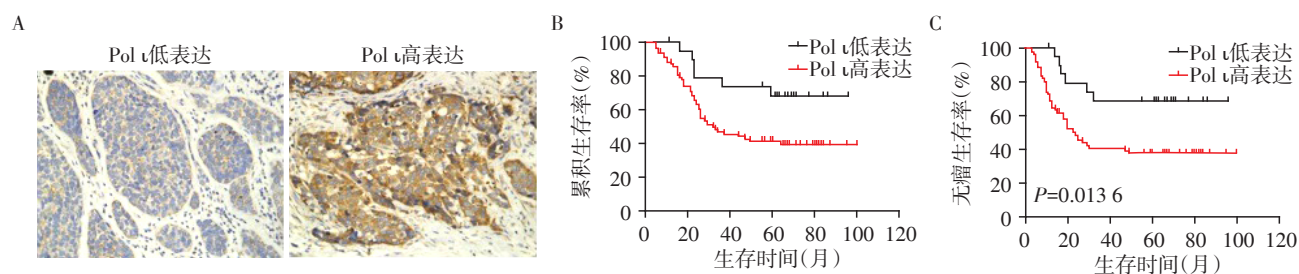
特征	Polι低表达 (n=20)	Polι高表达 (n=77)	P值
性别			0.188
女	2	18	
男	18	59	
年龄			0.346
<60岁	13	41	
≥60岁	7	36	
T分期			0.661
T1~T2	4	19	
T3~T4	16	58	
N分期			0.511
N0	9	41	
N1	11	36	
TNM分期			0.764
IIA~IIB	12	49	
IIIA~IIIC	8	28	
病理分级			0.061
G1~G2	7	45	
G3~G4	13	32	

者中位无瘤生存时间为27个月,5年无瘤生存率为36%。Polι低表达患者的中位生存时间为64.5个月,5年生存率为60%,中位无瘤生存时间为62.5个月,5年无瘤生存率为60%。Polι高表达患者的中位生存时间为29个月,5年生存率为32%,中位无瘤生存时间为23个月,5年无瘤生存率为30%。Kaplan-Meier生存分析法和Log-rank统计检验方法分析Polι表达水平与行食管癌术后辅助放疗患者生存的相关性,结果表明Polι低表达患者5年总生存期和无瘤生存期均显著高于Polι高表达的患者($P < 0.05$,图1),该结果提示Polι表达水平可能是影响食管癌术后辅助放疗患者生存的因素之一。

COX多因素分析结果表明:Polι表达是影响食管癌术后辅助放疗患者生存的独立预后因素($P < 0.05$,表2)。

3 讨论

局部复发和远处转移是食管癌根治术后失败的主要方式。术后辅助放疗虽是可降低食管癌根治术后局部复发率的主要手段,但能否提高患者总生存率仍存在争议。梅泽如等^[6]对165例食管癌患者术后放疗前瞻性研究显示:术后放疗组患者5年生



A:免疫组化检测组织中Pol ι 的表达($\times 40$);B:Pol ι 表达与总生存期的相关性;C:Pol ι 表达与无瘤生存期的相关性。

图1 Pol ι 表达与食管癌患者生存的相关性

Figure 1 The relationship between Pol ι expression and survival of patients with esophageal cancer

表2 多因素COX比例风险回归模型检验

Table 2 Multivariate Cox proportional hazards analysis for the candidate variables

预后因子	总生存			无病生存		
	危险系数	95% CI	P值	危险系数	95% CI	P值
年龄(≥ 60 岁/ < 60 岁)	1.002	0.565~1.780	0.994	0.874	0.496~1.541	0.642
性别(男/女)	1.219	0.595~2.497	0.588	1.066	0.540~2.106	0.854
T分期	1.670	0.815~3.424	0.161	1.528	0.769~3.038	0.226
N分期	2.900	1.585~5.305	0.001	3.030	1.680~5.463	0.000
Pol ι (高表达/低表达)	2.964	1.252~7.018	0.014	3.312	1.403~7.822	0.006

存获益不明显;Schrelber等^[7]亦报道术后辅助放疗未能提高II期食管癌患者的生存率。因而,如何筛选术后辅助放疗获益的患者是目前研究的难点和热点。

DNA是放射治疗的重要靶点,放射线可通过直接作用或间接作用引起不同形式的DNA损伤,如DNA单链断裂(single-strand breaks, SSB)和DNA双链断裂(double-strand breaks, DSB)^[8],诱导肿瘤细胞死亡。因此,DNA修复途径与肿瘤细胞放射抗拒性关系密切,而其对食管癌放疗疗效的影响亦受到较多研究者关注^[9]。TLS途径是DNA自身修复的一种十分重要的方式,属于复制后修复,是生物体长期进化过程中形成的一套应急机制。近来研究报道显示:TLS途径相关蛋白参与修复放射线诱导的DNA损伤,并影响肿瘤细胞的放射抗拒性^[10]。

Pol ι 是TLS途径中一种DNA聚合酶,属于Y家族成员,由715个氨基酸残基组成,具有修复多种DNA损伤的功能^[11]。Pol ι 相较于复制性DNA聚合酶而言,保真度极低,在进行DNA复制过程具有高度错误倾向^[11]。Pol ι 在不同肿瘤组织中具有不同表达谱,并与肿瘤发生发展相关,但是关于Pol ι 对肿瘤细胞放射敏感性影响的报道甚少。在食管鳞癌细胞模型中,本研究发现抑制Pol ι 表达可增加食管鳞癌细胞放射敏感性。为了在临床验证Pol ι 对食管鳞癌细胞放射敏感性的影响,本研究回顾分析了

97例行术后辅助放疗的食管鳞癌患者,生存曲线显示Pol ι 表达水平与食管鳞癌根治术后辅助放疗患者的生存呈负相关;COX回归分析提示Pol ι 表达水平是影响食管癌根治术后辅助放疗患者生存的独立因素。因此,Pol ι 表达水平可能是影响食管癌根治术后辅助放疗患者生存的关键因素之一。

综上,Pol ι 可能是判断行食管癌根治术后辅助放疗患者预后的潜在分子标志物。但是如何根据Pol ι 在食管鳞癌组织中的表达水平或结合其他影响食管癌根治术后的高危因素,如术后TNM病理分期、转移淋巴结数目、切缘阳性等,帮助患者合理选择术后辅助放疗,仍需要大量临床数据进一步验证。

[参考文献]

- [1] Yang J, Chen Z, Liu Y, et al. Altered DNA polymerase iota expression in breast cancer cells leads to a reduction in DNA replication fidelity and a higher rate of mutagenesis [J]. *Cancer Res*, 2004, 64(16): 5597-5607
- [2] Lee GH, Matsushita H. Genetic linkage between Pol iota deficiency and increased susceptibility to lung tumors in mice [J]. *Cancer Sci*, 2005, 96(5): 256-259
- [3] Zhou J, Zhang S, Xie L, et al. Over-expression of DNA polymerase iota in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2012, 103(8): 1574-1579
- [4] Zou S, Shang ZF, Liu B, et al. DNA polymerase iota (Pol ι)

(下转第1544页)

[参考文献]

- [1] Mantovani A, Rigolon R, Civettini A, et al. Hyperuricemia is associated with an increased prevalence of paroxysmal atrial fibrillation in patients with type 2 diabetes referred for clinically indicated 24-h Holter monitoring[J]. *J Endocrinol Invest*, 2018, 41(2):223-231
- [2] Han Y, Zhang ML, Lu JX, et al. Hyperuricemia and overexcretion of uric acid increase the risk of simple renal cysts in type 2 diabetes[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):3802
- [3] Li Y, Fan X, Li C, et al. The relationships among hyperuricemia, body mass index and impaired renal function in type 2 diabetic patients[J]. *Endocr J*, 2018, 65(3):281-290
- [4] Cheng YB, Li Y. Hyperuricemia: does it matter for the progression from prehypertension to hypertension? [J]. *Hypertension*, 2018, 71(1):66-67
- [5] Borghi C. The management of hyperuricemia: back to the pathophysiology of uric acid [J]. *Curr Med Res Opin*, 2017, 33(sup3):1-4
- [6] Dawson J, Wyss A. Chicken or the egg? Hyperuricemia, insulin resistance, and hypertension [J]. *Hypertension*, 2017, 70(4):698-699
- [7] Jaruvongvanich V, Ahuja W, Wirunsawanya K, et al. Hyperuricemia is associated with nonalcoholic fatty liver disease activity score in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis [J]. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 2017, 29(9):1031-1035
- [8] Wu J, Qiu L, Cheng XQ, et al. Hyperuricemia and clustering of cardiovascular risk factors in the Chinese adult population [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):5456
- [9] Dong H, Xu Y, Zhang X, et al. Visceral adiposity index is strongly associated with hyperuricemia independently of metabolic health and obesity phenotypes [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):8822
- [10] Mahbub MH, Yamaguchi N, Takahashi H, et al. Association of plasma free amino acids with hyperuricemia in relation to diabetes mellitus, dyslipidemia, hypertension and metabolic syndrome [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):17616
- [11] Zhang Y, Wei F, Chen C, et al. Higher triglyceride level predicts hyperuricemia: A prospective study of 6-year follow-up [J]. *J Clin Lipidol*, 2017, 12(1):185-192
- [12] 吴永娣, 张 坤, 高静伟, 等. 高尿酸血症与血管钙化的关系 [J]. *中国心血管病杂志*, 2017, 45(10):902-905
- [13] Martínez-Ramírez M, Flores-Castillo C, Sánchez-Lozada LG, et al. Hyperuricemia is associated with increased Apo AI fractional catabolic rates and dysfunctional HDL in new Zealand rabbits [J]. *Lipids*, 2017, 52(12):999-1006

[收稿日期] 2018-07-08

(上接第1527页)

- promotes invasion and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(22):32274-32285
- [5] 刘 瑾, 吴锦昌, 周俊东. POL I 基因对人食管癌细胞放化疗敏感性的影响 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2013, 33(1):6-10
- [6] 梅泽如, 项其昌, 吴维继, 等. 食管癌术后预防性放疗前瞻性研究 [J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 1997, 6(3):188-189
- [7] Schrelber D, Rineer J, Vongtama D, et al. Impact of post-operative radiation after esophagectomy for esophageal cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2010, 5(2):244-250
- [8] Thoms J, Bristow RG. DNA repair targeting and radiotherapy: a focus on the therapeutic ratio [J]. *Semin Radiat Oncol*, 2010, 20(4):217-222
- [9] Allal AS, Kähne T, Reverdin AK, et al. Radioresistance-related proteins in rectal cancer [J]. *Proteomics*, 2004, 4(8):2261-269
- [10] Sharma S, Hicks JK, Chute CL, et al. REV1 and polymerase zeta facilitate homologous recombination repair [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(2):682-691
- [11] Tissier A, McDonald JP, Frank EG, et al. poliota, a remarkably error-prone human DNA polymerase [J]. *Genes Dev*, 2000, 14(13):1642-1650

[收稿日期] 2017-12-13