

• 临床研究 •

PDI 多态性与晚期非小细胞肺癌铂类化疗敏感性 及骨髓抑制的关系*

赵万[△], 奉林, 余玲玲, 许丽华, 程文秀

215153 江苏 苏州, 南京医科大学附属苏州科技城医院 肿瘤科

[摘要] 目的: 探讨程序性细胞死亡受体 1 (programmed cell death 1, *PDI*) 单核苷酸多态性与晚期非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者铂类药物化疗疗效及化疗后骨髓抑制的相关性。方法: 对 103 例接受铂类药物化疗的晚期 NSCLC 患者进行临床疗效及骨髓抑制评价。采用 RT-PCR 法对 *PDI* 基因 rs36084323A/G、rs2227982C/T 多态性位点进行基因型分析。探讨不同基因型与铂类药物化疗效果、骨髓抑制之间的关系。结果: rs2227982C/T 多态性与晚期 NSCLC 铂类化疗敏感性密切相关, 随着等位基因 T 数目的增加, 患者的化疗有效率逐渐升高 (CC: 20.0%、CT: 46.3%、TT: 64.7%)。至少携带一个等位基因 T (CT + TT 基因型) 的患者化疗反应率为 CC 型的 2.58 倍 (95% CI: 1.370 ~ 4.880, $\chi^2 = 10.84, P = 0.001$)。rs36084323A/G 多态性与化疗后骨髓抑制之间存在密切关联, 随着等位基因 G 数目的增加, III ~ IV 度骨髓抑制的发生率逐渐升高 (AA: 12.2%、AG: 35.0%、GG: 40.9%)。携带 G 等位基因 (AG + GG 基因型) 患者 III ~ IV 度骨髓抑制的发生率是 AA 型的 3.04 倍 (95% CI: 1.258 ~ 7.356, $\chi^2 = 7.625, P = 0.006$)。结论: *PDI* 基因多态性与晚期 NSCLC 铂类化疗临床反应、骨髓抑制之间存在关联, 携带 rs2227982 T 等位基因的患者有更高的化疗反应率, 而 rs36084323 G 等位基因携带者更容易出现 III ~ IV 度骨髓抑制, *PDI* 基因多态性检测有可能作为晚期 NSCLC 铂类化疗敏感性及化疗后骨髓抑制的预测指标。

[关键词] 程序性细胞死亡受体 1; 单核苷酸多态性; 非小细胞肺癌; 化疗

[中图分类号] R730.53; R734.2 **[文献标志码]** A doi: 10.3969/j.issn.1674-0904.2020.08.004

引文格式: Zhao W, Feng L, Yu LL, et al. Relation of *PDI* gene polymorphism to sensitivity of platinum-based chemotherapy drugs and myelosuppression after chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients [J]. J Cancer Control Treat, 2020, 33(8): 651-657. [赵万, 奉林, 余玲玲, 等. *PDI* 多态性与晚期非小细胞肺癌铂类化疗敏感性及骨髓抑制的关系 [J]. 肿瘤预防与治疗, 2020, 33(8): 651-657.]

Relation of *PDI* Gene Polymorphism to Sensitivity of Platinum-Based Chemotherapy Drugs and Myelosuppression after Chemotherapy in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients

Zhao Wan, Feng Lin, Yu Lingling, Xu Lihua, Cheng Wenxiu

Department of Oncology, Suzhou Science & Technology Town Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Suzhou 215153, Jiangsu, China

Corresponding author: Zhao Wan, E-mail: zwleslie@163.com

This study was supported by grants from Suzhou Science & Technology Town Hospital Affiliated to Nanjing Medical University (NO. 2019Y08).

[Abstract] **Objective:** To investigate the relation of *PDI* single nucleotide polymorphism (SNP) to efficacy of platinum-based chemotherapy drugs and myelosuppression after chemotherapy in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods:** Efficacy and myelosuppression after chemotherapy were assessed in 103 patients with advanced

NSCLC who received platinum-based chemotherapy drugs. Real-time PCR was used to analyze rs36084323A/G and rs2227982C/T *PDI* SNPs. And relation of different genotypes to efficacy of platinum-based chemotherapy drugs and myelosuppression were discussed. **Results:** *PDI* rs2227982C/T

[收稿日期] 2020-01-15 **[修回日期]** 2020-05-19

[基金项目] * 苏州科技城医院中青年骨干预研基金 (编号: 2019Y08)

[通讯作者] [△] 赵万, E-mail: zwleslie@163.com

polymorphism was closely related to the sensitivity of platinum-based chemotherapy drugs for advanced NSCLC. As the number of T allele increased, the chemotherapy became more effective (CC: 20.0%, CT: 46.3%, TT: 64.7%). The response rate of chemotherapy in CT or TT genotype (patients with at least one T allele) was 2.58 times higher than that in CC genotype (95% CI: 1.370–4.880, $\chi^2 = 10.84$, $P = 0.001$). rs36084323A/G polymorphism was closely related to myelosuppression after chemotherapy. As the number of G allele increased, the incidence of grade III-IV myelosuppression gradually increased (AA: 12.2%, Ag: 35.0%, GG: 40.9%). The incidence of grade III-IV myelosuppression in AG or GG genotype (patients with G allele) was 3.04 times higher than that in AA genotype (95% CI: 1.258–7.356, $\chi^2 = 7.625$, $P = 0.006$). **Conclusion:** *PDI* gene polymorphism is associated with myelosuppression and advanced NSCLC patients' clinical response to platinum-based chemotherapy drugs. Patients with rs2227982 T allele are more likely to respond to chemotherapy, while those with rs36084323 G allele are prone to grade III-IV myelosuppression. *PDI* gene polymorphism may be used as a predictor of sensitivity of platinum-based chemotherapy drugs and myelosuppression after chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer patients.

[Key words] *PDI*; Single nucleotide polymorphism; Non-small cell lung cancer; Chemotherapy

肺癌是全世界发病率、死亡率最高的恶性肿瘤, 5 年生存率仅 16%^[1]。非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 约占肺癌总数的 85%, 并且新发病例中约 2/3 是晚期患者, 化疗是治疗晚期 NSCLC 的主要方法^[2]。目前临床上 NSCLC 常用的化疗是以铂类为基础的两药联合治疗方案, 总体药物反应率仅 30%~40%, 肿瘤耐药是化疗失败的主要原因。

铂类药物主要作用靶点在 DNA, 损伤 DNA 的功能, 诱导肿瘤细胞凋亡。因此, 对于铂类耐药的肿瘤细胞, 通过诱导凋亡能够有效逆转细胞的耐药性^[3-4]。另外, 多项研究发现免疫治疗联合化疗的效果优于单用化疗^[5-7]。这些研究通过正向调节免疫功能增强了化疗效果, 提示机体的不同免疫状态能够影响患者的化疗反应性。程序性细胞死亡受体 1 (programmed cell death 1, PD1) 是一种表达在活化的 T 细胞、B 细胞和髓系细胞的免疫抑制受体。PD1 与配体 PD-L1 结合后可下调细胞因子的分泌, 导致 T 细胞增殖抑制、凋亡、失活, 而阻断 PD1 信号能够使 CD8⁺ T 细胞激活, 恢复细胞毒性能力, 从而影响机体免疫状态^[8]。张丽萍等^[9]对子宫内膜癌的研究发现, PD1 高表达与患者总生存期延长相关。此外, PD1 过表达还能促进凋亡, 进而增强卵巢癌对顺铂的化疗敏感性^[10]。因此, *PDI* 单核苷酸多态性可能造成不同个体间 *PDI* 基因表达差异, 改变 PD1 受体的结构或功能, 调节机体免疫状态, 导致疾病的发生、发展, 影响化疗反应性。已有研究发现 *PDI* 单核苷酸多态性与食管癌^[11]、基底细胞癌^[12]、乳腺癌^[13] 的发病存在密切关联, 但国内外尚未见 *PDI* 多态性与肿瘤化疗疗效相关研究报道。

本研究对 103 例采用含铂方案化疗的晚期 NSCLC 患者的近期疗效及化疗后骨髓抑制进行了

评价, 并对 *PDI* 基因 rs36084323A/G、rs2227982C/T 多态性位点进行基因型分析, 探讨 *PDI* 基因多态性与铂类药物化疗敏感性及其骨髓抑制之间的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象

从 2016 年 5 月至 2019 年 3 月苏州科技城医院肿瘤科住院患者中收集 103 例初治晚期 NSCLC 患者, 所有患者均经组织病理学检查确诊。患者年龄 30~78 岁, 平均年龄 (56.82 ± 6.08) 岁, 均为汉族。纳入标准: 1) 东部肿瘤协作组评分 ≤ 2 分, 心电图无异常, 肝肾功能在正常值范围, 骨髓功能正常 (白细胞 ≥ 4.0 × 10⁹/L, 中性粒细胞计数 ≥ 2.0 × 10⁹/L, 血小板计数 ≥ 100 × 10⁹/L, 血红蛋白 ≥ 100 g/L); 2) 需经组织病理学确诊; 3) CT 扫描证实具有可测量评价的肿瘤病灶。排除标准: 1) 存在第二原发肿瘤; 2) 既往曾接受过任何形式的抗肿瘤治疗, 如手术、化疗、放疗等。所有受试者均在完全自愿的基础上参与本研究, 并签订知情同意书, 本研究经苏州科技城医院伦理委员会批准。

1.2 化疗方案、临床疗效评估、毒副反应评价

103 例患者均接受以顺铂 (cisplatin, DDP) 或卡铂 (carboplatin, CBP) 为基础的化疗方案。63 例 (61.2%) 接受 DDP/CBP 加培美曲塞 (pemetrexed, PEM), 22 例 (21.3%) 接受 DDP/CBP 加紫杉醇 (paclitaxel, TAX), 18 例 (17.5%) 接受 DDP/CBP 加吉西他滨 (gemcitabine, GEM) 治疗。化疗剂量为: PEM 500 mg/m², 第 1 天; TAX 135~175 mg/m², 第 1 天; GEM 1 250 mg/m², 第 1、8 天; DDP 75 mg/m², 第 1 天, 或 CBP 取 AUC 曲线下面积等于 5~6, 第 1 天。所有患者均为初治, 每 3 周为 1 个化疗周期, 每化疗

2 个周期后根据 RECIST1.1 实体瘤疗效评定标准^[14]进行疗效评价,分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、稳定(stable disease, SD)和进展(progressive disease, PD)。其中 CR、PR 判定为对铂类化疗敏感;如为 SD 或 PD,则对铂类化疗不敏感。按 WHO 化疗毒副反应分级^[15]将化疗后骨髓抑制分为 0~IV 度,比较 III、IV 度骨髓抑制的发生率在不同基因型患者中的差异。

1.3 DNA 提取和基因型分析

所有 103 例患者均于首次化疗前抽取静脉血 5 mL,置于抗凝管中,于 -20℃ 下冷冻保存。用 DNA 快速提纯试剂盒(美国 Promega 生物试剂公司)提取外周血 DNA,并检测总的 DNA 浓度、纯度和完整性,显示样本浓度适中,适合进行多重 PCR 扩增。采用 RT-PCR 法对所有受试对象行 *PD1* 基因多态位点的基因型检测,每个 PCR 反应体系含 1 μL (300 ng) 基因组 DNA, 0.45 μL 氯化镁(50 mM), 0.3 μL 引物, 1.5 μL PCR 缓冲液(10×), 0.45 μL dNTP(10 mM), 1 μL Taq DNA 聚合酶(5U/μL) 和 10.9 μL 无核酸酶水。循环中的温度和时间参数如下:最初在 95℃ 预变性 5 min,紧接 94℃ 变性 30 s,而后 64℃ 退火 30 s,进而 72℃ 延伸 30 s,共计行 35 个循环,最后在 72℃ 下延伸 5 min。PCR 产物 3 μL、引物 1 μL,与 11 μL 缓冲液混合,获得 25 μL 总体系,在 2% 琼脂糖凝胶上电泳,在 95℃ 变性 3 min 后立即冰水浴,获得终产物,按照 ABI3100 型测序仪的说明书对 *PD1* 多态性进行测序,确定基因型。随机抽取 20% 样本,双盲法重复检测加以验证,结果完全一致。各基因位点引物如下,rs36084323 上游引物:5'-GCCATCCACAAGGTGGAAGCT,下游引物:5'-CTCAACCCCACTCCCATTCTG;rs2227982 上游引物:5'-GGACAGCTCAGGTAAGCAG,下游引物:5'-GCATACTCCGTCTGCTCAGG。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 23.0 软件统计,用拟合优度 χ^2 检验各位点基因型是否符合 Hardy-Weinberg 平衡。以 χ^2 检验或 Fisher 精确概率法比较不同基因型对化疗敏感性、骨髓抑制的影响。以比值比(odds ratios, OR)及 95% 可信区间(confidence intervals, CI)表示各基因型与治疗效果、骨髓抑制的关系。OR 值及 95% CI 以非条件 Logistic 回归模型计算,并经患者年龄、性别、吸烟、组织类型、分化程度等校正。 $P < 0.05$ 表示

差异有统计学意义,统计检验均为双侧概率检验。

2 结果

2.1 化疗效果及化疗后骨髓抑制

103 例晚期 NSCLC 患者化疗后,2 例(1.9%) CR, 37 例(35.9%) PR, 28 例(27.3%) SD, 36 例(34.9%) PD。总体临床化疗有效率(CR + PR) 37.8%。化疗后出现 0 度骨髓抑制 2 例(1.9%), I 度骨髓抑制 40 例(38.8%), II 度骨髓抑制 33 例(32.0%), III 度骨髓抑制 19 例(18.4%), IV 度骨髓抑制 9 例(8.7%),其中 III 度及 IV 度骨髓抑制累计 28 例(27.1%)。DDP/CBP 联合 PEM、DDP/CBP 联合 TAX、DDP/CBP 联合 GEM 化疗后出现 III、IV 度骨髓抑制分别有 16 例(25.4%)、7 例(31.8%)、5 例(27.8%),组间比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.337, P = 0.845$);不同性别、年龄、病理类型、分化程度、吸烟状态、化疗方案与化疗有效率之间无显著性关联($P > 0.05$)。患者临床特征及其与化疗反应关系详情见表 1。

2.2 基因型分布

rs36084323 及 rs2227982 多态性在所有受试者(103 例)中均能被明确行基因分型,rs36084323 AA、AG、GG 基因型分别为 41(39.8%)、40(38.8%)及 22(21.4%)例;rs2227982 CC、CT、TT 基因型分别为 45(43.6%)、41(39.8%)及 17(16.6%)例。以上 2 个多态性位点各基因型分布均符合群体遗传学 Hardy-Weinberg 平衡($P > 0.05$)。

2.3 基因多态性与化疗敏感性

rs36084323 AA、AG、GG 基因型患者化疗有效率分别为 16/41(39.0%)、15/40(37.5%)及 8/22(36.3%),该多态性位点不同基因型的化疗有效率之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。

rs2227982 CC、CT、TT 基因型患者化疗有效率分别为 9/45(20.0%)、19/41(46.3%)、11/17(64.7%),CT 基因型化疗有效率为 CC 基因型的 2.32 倍(95% CI: 1.185~4.532, $\chi^2 = 6.779, P = 0.009$);TT 基因型化疗有效率为 CC 基因型的 3.23 倍(95% CI: 1.636~6.397, $\chi^2 = 11.28, P = 0.001$);至少携带一个 T 等位基因的患者(CT + TT 基因型)化疗有效率是 CC 型的 2.58 倍(95% CI: 1.370~4.880, $\chi^2 = 10.84, P = 0.001$)。各位点基因型与化疗反应关系、OR 值及 95% CI 见表 2。

表 1 患者临床特征与化疗反应的关系

Table 1. Relationship between Clinical Characteristics and Chemotherapy Response [*N*(%)]

Variable	<i>N</i> (%)	CR + PR(%)	SD + PD(%)	χ^2	<i>P</i>
Gender				0.002	0.968
Male	61(59.2)	23(37.7)	38(62.3)		
Female	42(40.8)	16(38.1)	26(61.9)		
Age(year)				0.595	0.441
≤60	63(61.1)	22(34.9)	41(65.1)		
> 60	40(38.9)	17(42.5)	23(57.5)		
Types of pathology				0.083	0.959
Adenocarcinoma	65(63.1)	24(36.9)	41(63.1)		
Squamous cell carcinoma	30(29.1)	12(40.0)	18(60.0)		
Others ^a	8(7.8)	3(37.5)	5(62.5)		
Tobacco use				0.179	0.689
Yes	50(48.5)	20(40.0)	30(60.0)		
No	53(51.5)	19(35.8)	34(64.2)		
Degree of differentiation				1.035	0.629
High differentiation	13(12.6)	5(38.5)	8(61.5)		
Middle differentiation	52(50.5)	22(42.3)	30(57.7)		
Low differentiation	38(36.9)	12(31.6)	26(68.4)		
Chemotherapy plan				1.413	0.527
DDP/CBP + GEM	18(17.5)	6(33.3)	12(66.7)		
DDP/CBP + TAX	22(21.3)	8(36.4)	14(63.6)		
DDP/CBP + PEM	63(61.2)	25(47.2)	28(52.8)		

^a Including adenosquamous carcinoma and large cell lung cancer.

CR: Complete response; PR: Partial response; SD: Stable disease; PD: Progressive disease; DDP: Cisplatin; CBP: Carboplatin; GEM: Gemcitabine; TAX: Paclitaxel; PEM: Pemetrexed.

表 2 各位点基因型分布及与化疗反应的相关性

Table 2. Distributions of rs36084323 and rs2227982 and Their Associations with Chemotherapy Response [*N*(%)]

Genotype	CR + PR(%)	SD + PD(%)	*OR(95%CI)	χ^2	<i>P</i>
rs36084323					
AA	16(39.1)	25(60.9)	1.000		
AG	15(37.5)	25(62.5)	0.961(0.552 - 1.672)	0.020	0.888
GG	8(36.3)	14(63.7)	0.932(0.476 - 1.825)	0.043	0.836
AG + GG	23(37.1)	39(62.9)	0.951(0.576 - 1.570)	0.039	0.843
AG + AA	31(38.3)	50(61.7)	1.000		
GG	8(36.3)	14(63.7)	0.950(0.512 - 1.763)	0.027	0.870
rs2227982					
CC	9(20.0)	36(80.0)	1.000		
CT	19(46.3)	22(53.7)	2.323(1.185 - 4.532)	6.779	0.009
TT	11(64.7)	6(35.3)	3.235(1.636 - 6.397)	11.28	0.001
CT + TT	30(51.7)	28(48.3)	2.581(1.370 - 4.880)	10.84	0.001
CT + CC	28(32.5)	58(67.5)	1.000		
TT	11(64.7)	6(35.3)	1.987(1.249 - 3.162)	6.235	0.013

* Adjusted for gender, age, tobacco use, type of pathological, degree of differentiation and chemotherapy plan.

Abbreviations as indicated in Table 1.

2.4 基因多态性与化疗后骨髓抑制

rs36084323AA、AG、GG 基因型患者化疗后 III ~ IV 度骨髓抑制发生率分别为 5/41 (12.2%)、14/40 (35.0%) 及 9/22 (40.9%), AG 基因型 III ~ IV 度骨髓抑制发生率为 AA 基因型的 2.87 倍 (95% CI: 1.140 ~ 7.227, $\chi^2 = 5.783$, $P = 0.019$); GG 基因型 III ~ IV 度骨髓抑制发生率为 AA 基因型的 3.35 倍 (95% CI: 1.281 ~ 8.785, $\chi^2 = 6.570$, $P = 0.013$); 至少携带一个 G 等位基因的患者 (AG + GG 基因

型) III ~ IV 度骨髓抑制发生率是 AA 型的 3.04 倍 (95% CI: 1.258 ~ 7.356, $\chi^2 = 7.625$, $P = 0.006$)。

rs2227982CC、CT、TT 基因型患者化疗后 III ~ IV 度骨髓抑制发生率分别为 12/45 (26.6%)、10/41 (24.3%) 及 6/17 (35.3%), 该多态性位点不同基因型患者的 III ~ IV 度骨髓抑制发生率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各位点基因型与化疗后骨髓抑制关系、OR 值及 95% CI 见表 3。

表 3 各位点基因型分布及与骨髓抑制的相关性

Table 3. Distributions of rs36084323 and rs2227982 and Their Associations with Myelosuppression [N(%)]

Genotype	0 + I + II (%)	III + IV (%)	* OR(95% CI)	χ^2	P
rs36084323					
AA	36(87.8)	5(12.2)	1.000		
AG	26(65.0)	14(35.0)	2.870(1.140 ~ 7.227)	5.783	0.019
GG	13(59.1)	9(40.9)	3.355(1.281 ~ 8.785)	6.570	0.013
AG + GG	39(62.9)	23(37.1)	3.042(1.258 ~ 7.356)	7.625	0.006
AG + AA	62(76.5)	19(23.5)	1.000		
GG	13(59.1)	9(40.9)	1.744(0.921 ~ 3.301)	2.513	0.113
rs2227982					
CC	33(73.4)	12(26.6)	1.000		
CT	31(75.7)	10(24.3)	0.915(0.443 ~ 1.888)	0.058	0.809
TT	11(64.7)	6(35.3)	1.324(0.591 ~ 2.962)	0.427	0.541
CT + TT	42(72.5)	16(27.5)	1.034(0.546 ~ 1.960)	0.011	0.917
CT + CC	64(74.5)	22(25.5)	1.000		
TT	11(64.7)	6(35.3)	1.380(0.660 ~ 2.885)	0.346	0.551

* Adjusted for gender, age, tobacco use, type of pathological, degree of differentiation and chemotherapy plan.

Abbreviations as indicated in Table 1.

3 讨论

目前临床上治疗晚期 NSCLC 的化疗方案仍然是以铂类药物为基础的, 例如 DDP 或 CBP 联合 PEM、TAX、GEM 等。然而, 相同治疗方案的化疗效果却因人而异, 提示不同个体之间存在遗传异质性, 导致个体间化疗敏感性的差异, 因此, 根据患者的遗传学特征选择合理的个体化治疗方案是肿瘤治疗的热点^[16]。已有研究证实促进凋亡可逆转肿瘤细胞化疗耐药性^[3-4], 而机体免疫状态的改变同样会影响化疗反应性及临床预后^[5]。因而, 免疫调节通路、凋亡信号传导途径基因多态性可能与铂类化疗的疗效之间存在关联。

PDI 基因位于人类染色体 2q37.3, 基因编码产物 PD1 是免疫球蛋白受体超家族成员, PD1 有两个

配体 PD-L1 及 PD-L2, 其中 PD-L1 是主要配体, 广泛表达于活化的 T、B 细胞、巨噬细胞、抗原提呈细胞^[17]。PD1 与 PD-L1 结合后引起 PI3K/蛋白激酶 B (Akt) 及 RAS 通路去磷酸化, 抑制 T 细胞活性、诱导凋亡, 并促使 CD4⁺T 细胞分化为调节性 T 细胞, 对免疫应答进行负向调控, 导致肿瘤免疫逃逸的发生^[18]。钟根深等^[6]研究奥沙利铂对小鼠结肠癌的治疗效果, 在联合 PD1 抗体治疗后, 抗肿瘤活性较单用奥沙利铂明显提升, 且发现 CD8⁺T 细胞在奥沙利铂的抗肿瘤活性中发挥重要作用。在另一项动物试验中, 研究也发现 PD1 抗体与紫杉醇联合治疗能显著增强小鼠乳腺癌的化疗效果^[7]。同样, 针对晚期 NSCLC 一线治疗的 KEYNOTE-189 研究也显示, 与 PEM 加 DDP/CBP 化疗组相比, PD1 单抗联合化疗能明显提升治疗反应率 (47.6% vs 18.9%, $P <$

0.001), 并延长了患者的无进展生存期及总生存期^[5]。Gadgeel 等^[19]与 Landre 等^[20]也发现在化疗的同时进行免疫检查点阻断, 能明显增强肺癌化疗疗效。此外, Li 等^[10]研究发现 PD1 过表达能促进凋亡, 增强卵巢癌细胞对顺铂的敏感性, 进而抑制卵巢癌细胞的增殖。以上体内外动物实验及临床研究均提示 PD1 及其配体所介导的信号通路发生异常时, 会改变机体的免疫状态, 影响细胞凋亡, 进而改变化疗的反应性。因此, 我们推测 PD1 基因多态性可能通过调节基因表达、改变 PD1 受体的结构或功能, 导致个体间化疗敏感性的差异。

rs2227982C/T 多态性位于 PD1 基因外显子 5, 属于非同义 cSNP (Val215Ala), 编码氨基酸位于 PD1 受体胞内区, 包括免疫受体酪氨酸抑制物基序和免疫受体酪氨酸开关基序, 可能影响信号转导, 进而改变 PD1 在免疫调节通路中的作用^[21]。Tang 等^[22]研究了 rs2227982 多态性与胃贲门癌的相关性, 相较于 CC 基因型, TT 或 TT + CT 基因型增加了胃贲门癌的发病风险。同样, 另一研究也发现 rs2227982 多态性 CT 基因型增加了女性罹患食管鳞状细胞癌 (esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) 的风险, 而携带 CT 基因型且伴吸烟史的食管癌患者预后较好^[11]。然而, 至今尚未见 PD1 多态性位点与化疗反应性之间的研究报道。本研究发现 PD1 rs2227982C/T 多态性与晚期 NSCLC 铂类化疗敏感性存在密切相关, 随着等位基因 T 数目的增加, 患者的化疗有效率逐渐升高 (CC: 20.0%、CT: 46.3%、TT: 64.7%)。至少携带一个等位基因 T 的患者化疗反应率为 CC 型的 2.58 倍 (95% CI: 1.370 ~ 4.880, $P = 0.001$)。我们推测 rs2227982 多态性所致核苷酸 C-T 突变引起编码的缬氨酸 (Val)-丙氨酸 (Ala) 转换可能影响了 PD1 分子结构、功能, 抑制了 PD1 的负向免疫调控作用, 激活 T 细胞, 减少肿瘤细胞的免疫逃逸, 从而使患者对铂类化疗具有更好的反应性。此外, 我们研究了 rs2227982C/T 多态性与化疗后 III ~ IV 度骨髓抑制发生率之间的关系, 但二者间未见明显的相关性 ($P > 0.05$)。

PD1 另外一个常见的多态性位点 rs36084323A/G, 位于基因启动子区, 涉及 UCE-2 转录调控子的结合位点, G 等位基因携带者具有更高的启动子活性, 预示着 T 淋巴细胞的活力下降和增殖抑制, 导致清除病毒和癌细胞的能力较差, 但机体免疫耐受性较好^[23]。该多态性位点与肿瘤的相关性研究很少, Hua 等^[13]研究结果显示 rs36084323GG

基因型能降低乳腺癌的发病风险, 而另一研究发现 AG 基因型能降低有上消化道癌家族史 ESCC 患者的死亡风险 ($HR = 0.339, 95\% CI: 0.115 \sim 0.996$)^[11]。

本研究探讨了 rs36084323A/G 多态性与晚期 NSCLC 化疗临床反应之间的关系, 未发现不同基因型患者之间存在统计学差异 ($P > 0.05$)。但是, 我们发现该多态性与化疗后 III ~ IV 度骨髓抑制之间存在密切关联, 随着等位基因 G 数目的增加, 患者 III ~ IV 度骨髓抑制发生率逐渐升高 (AA: 12.2%、AG: 35.0%、GG: 40.9%)。至少携带一个 G 等位基因的患者 (AG + GG 基因型) III ~ IV 度骨髓抑制发生率是 AA 型的 3.04 倍 (95% CI: 1.258 ~ 7.356, $P = 0.006$)。目前尚未见 PD1 多态性与化疗毒副反应之间关系的研究报道, 我们推测 rs36084323G 等位基因能激活 PD1 基因启动子, 上调 PD1 受体的表达, 抑制 T 淋巴细胞的活化、增殖, 进而可能阻碍了化疗后淋巴细胞的生成, 加重了化疗后骨髓抑制的程度。当然, 这些结果还需要该多态性位点的功能学研究来进一步证实。

综上所述, 本研究发现 PD1 基因多态性与晚期 NSCLC 铂类化疗临床反应、毒副反应之间存在关联, 携带 rs2227982T 等位基因的患者有更高的化疗反应率, 而 rs36084323G 等位基因携带者更容易出现 III ~ IV 度骨髓抑制, 该研究结果可能在提升临床化疗效果、减轻毒副反应方面有一定的指导作用。

作者声明: 本文全部作者对于研究和撰写的论文出现的不端行为承担相应责任; 并承诺论文中涉及的原始图片、数据资料等已按照有关规定保存, 可接受核查。

学术不端: 本文在初审、返修及出版前均通过中国知网 (CNKI) 科技期刊学术不端文献检测系统的学术不端检测。

同行评议: 经同行专家双盲外审, 达到刊发要求。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

文章版权: 本文出版前已与全体作者签署了论文授权书等协议。

[参考文献]

- [1] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics [J]. CA Cancer J Clin, 2013, 63(1): 11-30.
- [2] Molina JR, Yang P, Cassivi SD, et al. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship [J]. Mayo Clin Pro, 2008, 83(5): 584-594.

- [3] Xin Y, Huang X, Li Z, *et al.* Versatile Pt NCs-based chemotherapeutic agents significantly induce the apoptosis of cisplatin-resistant non-small cell lung cancer[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 512(2) : 218-223.
- [4] Zhu Z. Mitirone-induced apoptosis in cisplatin-resistant lung cancer cells through upregulation of p53 signaling pathways[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(6) : 8841-8846.
- [5] Gandhi L, Rodriguez-Abreu D, Gadgeel S, *et al.* Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(5) : 2078-2092.
- [6] 钟根深, 孙智洋, 陈亚楠, 等. PD-1 抗体增强奥沙利铂体内外抗结肠癌的效果[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(10) : 41-47.
- [7] 张福明, 朱春凯, 孙晓芳. PD1 抗体联合紫杉醇化疗增强乳腺癌小鼠抗肿瘤疗效[J]. *免疫学杂志*, 2019, 35(10) : 874-878.
- [8] Pauken KE, Wherry EJ. Overcoming T cell exhaustion in infection and cancer[J]. *Trends Immunol*, 2015, 36(4) : 265-276.
- [9] 张丽萍, 林雪萍, 宋辉, 等. 免疫检查点分子在子宫内腺癌中的表达及临床意义[J]. *肿瘤预防与治疗*, 2019, 32(6) : 486-493.
- [10] Li Q, Gao JF, Qi BL. PDCD1 strengthens the sensitivity of ovarian cancer to cisplatin chemotherapy by promoting apoptosis[J]. *J BUON*, 2017, 22(3) : 746-756.
- [11] Zhou RM, Li Y, Wang N, *et al.* Association of programmed death-1 polymorphisms with the risk and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Genet*, 2016, 209(9) : 365-375.
- [12] Fathi F, Ebrahimi M, Eslami A, *et al.* Association of programmed death-1 gene polymorphisms with the risk of basal cell carcinoma[J]. *Int J Immunogenet*, 2019, 46(6) : 444-450.
- [13] Hua Z, Li D, Xiang G, *et al.* PD-1 polymorphisms are associated with sporadic breast cancer in Chinese Han population of Northeast China[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2011, 129(1) : 195-201.
- [14] Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, *et al.* New response evaluation criteria in solid tumours: Revised RECIST guideline (version 1.1)[J]. *Eur J Cancer*, 2009, 45(2) : 228-247.
- [15] 徐瑞华. 临床肿瘤内科学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2014.
- [16] Simon GR, Ismail-Khan R, Bepler G. Nuclear excision repair-based personalized therapy for non-small cell lung cancer: From hypothesis to reality[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(7-8) : 1318-1328.
- [17] Ghiotto M, Gauthier L, Serriari N, *et al.* PD-L1 and PD-L2 differ in their molecular mechanisms of interaction with PD-1[J]. *Int Immunol*, 2010, 22(8) : 651-660.
- [18] Ji M, Liu Y, Li Q, *et al.* PD-1/PD-L1 pathway in non-small-cell lung cancer and its relation with EGFR mutation[J]. *J Transl Med*, 2015, 13 : 5.
- [19] Gadgeel SM, Stevenson JP, Langer CJ, *et al.* Pembrolizumab and platinum-based chemotherapy as first-line therapy for advanced non-small-cell lung cancer: Phase 1 cohorts from the KEYNOTE-021 study[J]. *Lung Cancer*, 2018, 125(11) : 273-281.
- [20] Landre T, Des Guetz G, Chouahnia K, *et al.* First-line PD-1/PD-L1 inhibitor plus chemotherapy vs chemotherapy alone for negative or < 1% PD-L1-expressing metastatic non-small-cell lung cancers[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2020, 146(2) : 441-448.
- [21] Qin H, Zheng L, Tang W, *et al.* Programmed death-1 (PD-1) polymorphisms in Chinese patients with esophageal cancer[J]. *Clin Biochem*, 2014, 47(7-8) : 612-617.
- [22] Tang WF, Chen Y, Chen SC, *et al.* Programmed death-1 (PD-1) polymorphism is associated with gastric cardia adenocarcinoma[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(5) : 8086-8093.
- [23] Ishizaki Y, Yukaya N, Kusahara K, *et al.* PD1 as a common candidate susceptibility gene of subacute sclerosing panencephalitis[J]. *Hum Genet*, 2010, 127(4) : 411-419.