대한방사선종양학회지 2006;24(1):30~36

대장, 직장암 환자에서 화학방사선치료의 급성 부작용과 XRCC1 유전자 다형성과의 상관관계

인하대학교 의과대학 방사선종양학교실*, 일반외과학교실†, 임상중앙연구소‡, 서울대학교 의과대학 예방의학교실§

김우철* · 홍윤철§ · 최선근† · 우제홍† · 남정현‡ · 최광성‡ · 이문희‡ · 김순기‡ · 송순욱‡ · 노준규*

목 적: 방사선치료와 항암제치료의 급성부작용은 환자 개인에 따라 차이가 많다는 것은 임상경험을 통하여 널리 알려져 있다. 그러나 아직 이를 미리 예측할 수 있는 인자로 알려진 것은 없다. XRCC1 유전자는 DNA base-excision repair에 관여하는 유전자로 알려져 있다. 저자들은 대장 직장암 환자를 대상으로 방사선치료와 항암제치료로 인한 급성부작용과 XRCC1 유전자의 다형성이 관련이 있는지를 알아보고자 본 연구를 수행하게 되었다.

대상 및 방법: 1997년 7월부터 2003년 6월까지 인하대학교병원에서 치료를 받은 대장 직장암 환자 86명을 대상으로 하였다. 대장암이 2명, S자결장암이 13명, 직장암이 71명이었다. 병기는 B기가 22명, C기가 50명, D기가 8명이었고 절제 불가능한 경우가 6명이었다. 방사선치료 범위는 골반강만 조사된 경우가 81명, extended field로 조사된 경우가 5명이었고 방사선량은 일일 1.8 Gy로 주 5회 조사하여 총 30.6 Gy~59.4 Gy (중앙값: 54 Gy)를 조사하였다. 항암제치료는 전 환자에서 5 FU를 근간으로 한 약제를 투여받았고 방사선 치료기간 중에 시행된 횟수는 1회가 24명, 2회가 45명이었고 17명은 동시에 투여 받지는 않았다. 치료의 급성부작용은 상부위장관과 하부위장관으로 나누어 기록하였고 증상이 전혀 없는 경우를 0, 증상이 있으나 투약이 필요하지 않은 경우를 1, 투약이 필요한 경우를 2, 투약에도 불구하고 증상이 심하여 치료의 휴식 또는 입원을 한 경우를 3으로 분류하였고 전 치료기간 중 최초, 최저 수치와 방사선치료기간 중 최초, 최저 백혈구, 혈소판 수치를 조사하였다. 환자의 동의 하에 혈액을 채취하여 림프구를 분리한 후 DNA를 추출하여 PCR-RFLP 방법으로 XRCC1 유전자의 코돈 194, 280, 399번 위치의 다형성을 분석하였다. 통계는 Chi-square, t-test, logistic regression, ANOVA를 사용하였다.

결 과: 다변량 분석결과 상부위장관 부작용에 영향을 미치는 인자는 재발유무였고, 하부위장관의 부작용에 영향을 미치는 인자는 XRCC1 339 다형성, 방사선량, 방사선 중 항암제횟수 순이었다. 방사선 치료 중 백혈구 감소에 영향을 미치는 인자는 XRCC1 399 다형성, 194 다형성이었고, 혈소판 감소에 영향을 미치는 인자는 진단명, XRCC1 399 다형성이었다.

결 론: 대장 직장암 환자에서 방사선치료와 항암제의 치료에 따른 정상조직의 급성부작용을 예측하는데 XRCC1 유전자의 코돈 399번의 다형성이 사용될 가능성이 있을 것으로 생각된다.

핵심용어: 다형성, XRCC1, 대장직장암, 부작용

서 론

항암제와 방사선치료를 시행할 경우 피할 수 없는 것이 치료에 의한 부작용이다. 이런 부작용은 항암제나 방사선의 용량이 증가할수록 증가하는 것은 자명한 사실이나, 환자에 따라서는 같은 양의 치료를 한다고 하더라도 부작용 발생의 정도와 빈도에서 차이를 보인다. 따라서 환자 개개인을 놓고 볼 때는 부작용이 어느 정도 발생할 것이라는 예측이 어려우며 지금까지는 부작용을 미리 예측할 수 있는 방법도 거의 전무하다고 할 수 있다. 그렇지만 이런 부작용을 예측하려는 시도는 꾸준히 진행되어왔다. 대표적인 예로 말초혈액의 림프구에서 chromosome의 변이를 통해 부작용을 예측하거나[1] 2 Gy 때 생존분획을 사용[2]하거나

이 논문은 2006년 1월 23일 접수하여 2006년 3월 10일 채택되었음.
이 논문은 인하대학교의 지원에 의하여 연구되었음.
책임저자: 김우철, 인하대학교병원 방사선종양학과
Tel: 032)890-3070, Fax: 032)890-3082
E-mail: cancer@inha.ac.kr

DNA의 두가닥 절단을 이용[3]하는 등이 있어 왔었는데 현재 임상적으로 사용되는 방법은 없다. 최근에는 DNA 회복에 관여하는 유전자들이 방사선치료의 부작용과 관련이 있다는 것이 밝혀졌다. 이런 유전자에 다형성(polymorphism)이 있으면 DNA의 회복 능력이 손상되어 암에 걸릴 확률이 높고[4~6] 항암제나 방사선치료의 부작용에도 관련이 있다고 한다. 이런 DNA 회복에 관여하는 유전자 중에 X-ray Repair Cross Complementing group 1 (XRCC1)이 있다. XRCC1은 chinese hamster ovary mutant cell line인 EM9에서 DNA 회복능력이 있음이 밝혀졌다.[7] 그후 실제로 XRCC1 유전자의 다형성이 있는 사람에게서 각종 암의 발생 빈도가 높아진다는 많은 보고가 발표되고 있다.[5,6,8,9] XRCC1 유전자는 DNA base-excision repair에 관여하는데 DNA ligase III, DNA polymerase B, poly (ADP-ribose) polymerase (PARP), polynucletide kinase, AP endonuclease I과 같이 작용한다.[10~13] 인간에서는 XRCC1 유전자 중에서 Arg 194Trp, Arg280His, Arg399Gln의 3부위의 코돈에서 다형성이 발견되었다.[8,14] 손상된 DNA의 회복능력과 XRCC1의 다형성이 관련이 있다면, XRCC1의 다형성은 항암제나 방사선치료의 부작용과도 관련이 있을 것으로 추측할 수 있다. Stoehlmacher 등[15]의 보고에 의하면 XRCC1의 다형성이 항암제의 반응과 관련이 있다고 한다. 따라서 저자는 화학방사선치료를 시행받은 대장직장암 환자를 대상으로 XRCC1 유전자의 다형성과 치료에 의한 부작용과의 상관관계를 분석하여 XRCC1 유전자의 다형성이 치료 부작용을 예측하는 도구로 쓰일 수 있는지를 알아보고자 하였다.

대상 및 방법

1. 대상 환자 및 시료의 채취

1997년 7월부터 2003년 6월까지 인하대학교병원 방사선종양학과에서 치료를 받은 86명의 대장 직장암 환자를 대상으로 하였다. 본 연구는 인하대학교병원 윤리위원회의 승인을 받았으며, 환자에게 동의서를 받아 방사선치료기간 중 전혈을 채혈하였다.

2. 환자의 특성

환자의 특성을 Table 1에 나타내었다. 대상 환자는 남자가 45명, 여자가 41명이었고, 연령은 38세에서 89세(중앙값 59세)까지였다. 86명의 환자 중 대장이 2명, S자 결장이 13명, 직장이 71명이었고, 화학방사선치료를 시작할 때 국소적으로 국한된 종양을 가진 환자가 61명(70.9%)이었고, 재발이나 전이가 된 상태로 치료를 시작한 환자가 25명(29.1%)이었다. Mucinous carcinoma 2명을 제외하고는 모두 선암이었다. 환자의 병기는 Modified Astler Coller 병기 분류로 나누었을 때 B2가 16명, C2가 46명으로 대부분을 차지하였다. 수술은 복회음절제술을 시행한 경우가 24명(27.9%), 전방절제술(anterior resection)을 시행한 경우가 9명(10.5%), 하전방절제술(low anterior resection)을 시행한 경우가 38명(44.2%)이었고 결장조루술(colostomy)이나 기타의 수술이 시행된 경우가 15명(17.4%)이었다. 방사선치료의 범위는 대부분이 전 골반강만 시행되었고 10MV X-ray를 이용하여 1일 180 cGy씩 주 5 회, 총 30.6~59.4 Gy (중앙

Table 1. Patients Characteristics

Characteristics		No. of patients	Characteristics		No. of patients
Sex	Male	45	Location	Colon	2
	Female	41		Sigmoid	13
Age (median)		38~89 (59)		Rectum	71
Pathology	Adenocarcinoma	84	Operation	APR‡	24
	Others	2		AR§	9
Stage	B1	5		LAR‖	38
	B2	16		colostomy	7
	B3	1		Others	8
	C1	3	RT field	Pelvis	81
	C2	46		Extended	5
	C3	1	RT dose (median)		30.6~59.4 (54) Gy
	D	8	CT* during RT†	None	17
	Unresectable	6		1 cycle	24
Disease status	Localized	61		2 cycles	45
	Recurant or Metastatic	25			

*chemotherapy, † radiation therapy, ‡ abdominoperineal resection, §anterior resection, ‖low anterior resection

값: 54 Gy)를 치료하였다. 방사선치료 도중 항암제가 들어간 횟수는 1회가 24명(27.9%), 2회가 45명(52.3%)이었고 방사선 단독으로 치료한 환자도 17명(19.8%)있었다. 항암제는 5FU와 Leucovorin을 근간으로 하는 복합요법으로 1회에서 17회까지(중앙값: 6회) 치료하였다.

3. 급성 부작용의 분석

환자의 급성 부작용의 객관적인 검사로 백혈구와 혈소판 수치를 검사하였는데, 방사선치료기간 중에는 매주 1회씩 시행하였고, 치료 후에는 매 1~3개월마다 시행하였다. 비교를 위하여 방사선치료를 시작할 때와 치료기간 중 최저 백혈구와 혈소판 수를 기록하였고, 전체 화학방사선치료 기간 중 최초와 최저 백혈구와 혈소판 수를 기록하였다. 방사선치료기간 중에는 주 1회 이학적 검사와 문진을 통하여 급성 부작용의 증세를 기록하였고, 상부위장관 부작용으로 오심과 구토를, 하부위장관 부작용으로 하복부 통증과 설사를 기록하였다. 부작용의 분류는 RTOG (Radiation Therapy Oncology Group)의 급성 부작용 분류[16]를 참고하여 다음과 같이 정하였다.

Grade 0: no specific symptoms
Grade 1: mild symptoms not requiring medication
Grade 2: moderate symptoms requiring medication
Grade 3: requiring rest of radiation therapy or admission

4. XRCC1 유전자의 다형성 분석

QIAmp DNA blood mini kit을 이용하여 전혈에서 림프구를 분리한 후 genomic DNA를 추출하였고, PCR-RFLP 방법으로 XRCC1 genotype을 결정하였다.[17,18] 50 ng의 DNA를 1U Taq polymerase가 들어있는 1X PCR buffer에 넣은 후 1.5 mg $MgCl_2$, 250 uM dNTPs와 각 primer 1 uM을 넣어 PCR을 시행하였다. DNA 시료를 94°C에서 5분간 예열하여 변성시킨 후 PCR을 시행하였다. PCR조건은 denaturation 94°C 1분, annealing (Arg194Trp와 Arg399Gln은 62°C, Arg 280His는 68°C) 1분, extension 72°C 1분으로 30 주기를 시행한 후 마지막 주기에서는 extension을 7분 더 하였다. 합성된 DNA는 Arg194Trp와 Arg399Gln은 MspI으로, Arg280 His는 RsaI으로 용해시킨 후 3% Metaphor gel (BMA, Walkersville, ME)에 loading시켜 band를 확인하였다.

5. 통계학적 분석

통계학적 분석은 급성 부작용(이학적검사 및 문진, 최초와 최저 백혈구와 혈소판 수의 차이)과 XRCC1 다형성, 나이, 성별, 병리학적 분류, 수술 방법, 방사선치료범위, 방사선량, 항암제의 횟수, 방사선치료 휴식기간 등을 비교하였는데 두 변수 간의 관계 분석은 Chi-square test와 t-test로 하였고, 백혈구와 혈소판 수와 같은 연속되는 자료의 증감과 다른 인자와의 관계는 ANOVA 분석을 시행하였으며, 다변량 분석은 로지스틱 회귀분석 방법을 이용하여 다른 인자의 영향을 배제하고 급성 부작용과 XRCC1의 다형성과의 상관관계를 분석하였다.

결 과

상부와 하부 위장관 급성부작용과 백혈구 및 혈소판 감소에 영향을 미치는 인자로 진단명, 나이, 성별, 재발해서 치료한 경우와 처음 수술 후 치료한 경우, 병기, 조직학적 유형, 수술 방법, 방사선 조사야의 크기, 방사선량, 방사선치료 동안의 항암제 횟수, XRCC1 194, 280, 399 코돈의 다형성 등을 분석하였다. 단변량 분석결과를 Table 2에 나타내었다. 단변량 분석 결과 상부 위장관 부작용에 영향을 미치는 인자는 재발하여 치료한 경우와 처음 수술 후 치료한 경우 간에 차이가 있었다. 수술 후 치료를 받지 않다가 재발하여 항암제와 방사선치료를 받은 환자에서 상부 위장관의 부작용이 많이 나타났다. 하부 위장관 부작용에 영향을 미치는 인자는 치료시점의 재발 유무와 방사선치료 선량이었다. 즉 재발하여 항암제와 방사선치료를 받은 환자에서, 그리고 방사선량이 증가할수록 하부 위장관의 부작용이 많았다. 방사선치료 기간 중에 백혈구의 감소에 영

Table 2. Univariate Analysis for Factors Correlated with Acute Complication

Complication	Factors	p-value
Lower GI* complication	Localized vs recurrent or metastatic	0.01
Upper GI complication	Localized vs recurrent or metastatic	0.01
Lower GI complication	RT dose	0.02
Difference of WBC count during RT† (initial-lowest)	Codon 194 polymorphism (+/-)	0.055
	Codon 280 polymorphism (+/-)	0.076
	Codon 399 polymorphism (+/-)	<0.001
Difference of PLT count during RT (initial-lowest)	Codon 194 polymorphism (+/-)	0.427
	Codon 280 polymorphism (+/-)	0.044
	Codon 399 polymorphism (+/-)	0.063

*gastrointestinal, † radiation therapy

Table 3. Multivariate Analyses for Factors Correlated with Acute Complication

Complication	Factors	p-value
Lower GI* complication	Codon 399 polymorphism (+/-)	0.009
	RT dose	0.034
	Cycles of CT† during RT‡	0.047
Upper GI complication	Localized vs. Recurrentor Metastatic	0.037
	Codon 399 polymorphism (+/-)	0.082
Difference of WBC count during RT (initial-lowest)	Codon 399 polymorphism (+/-)	0.007
	Codon 194 polymorphism (+/-)	0.056
Difference of PLT count during RT (initial-lowest)	Tumor location	0.001
	Codon 399 polymorphism (+/-)	0.029

*gastrointestinal, † chemotherapy, ‡ radiation therapy

Table 4. Lower GI Complication According to the Arg399Gln Polymorphisms

Lower GI complication grade	XRCC399 Arg/Arg N=46 (%)	XRCC399 Arg/Gln, Gln/Gln N=40 (%)
0	18 (39.1)	23 (57.5)
1	11 (23.9)	5 (12.5)
2	13 (28.3)	11 (27.5)
3	4 (8.7)	1 (2.5)

Table 5. Upper GI Complication According to the Arg399Gln Polymorphisms

Upper GI Complication grade	XRCC399 Arg/Arg N=46 (%)	XRCC399 Arg/Gln, Gln/Gln N=40 (%)
0	23 (50.0)	23 (57.5)
1	16 (34.8)	16 (40.0)
2	5 (10.9)	1 (2.5)
3	2 (4.3)	0

Table 6. Difference between Initial and Lowest WBC and PLT Count during Radiation Therapy According to the Arg399Gln Polymorphisms

	XRCC399 Arg/Arg N=46	XRCC399 Arg/Gln, Gln/Gln N=40
Difference of WBC count during RT	2,409±1,665	1,755±879
Difference of PLT count during RT	81,500±59,539	64,125±44,376

향을 미치는 인자는 XRCC1 유전자 399번 코돈의 다형성이었고, 혈소판의 감소에 영향을 미치는 인자는 280번 코돈의 다형성이었다. 399번 코돈의 다형성은 p-value 0.063으로 통계학적으로 의미가 있지는 않았으나 연관이 있을 가능성은 있었다.

여러 인자의 영향력을 배제하기 위하여 다변량 분석을 시행하였다(Table 3). 이 분석에서는 상부위장관의 부작용에 영향을 미치는 인자로는 재발하여 치료한 경우가 의미가 있었고, 하부위장관 부작용에는 399번 코돈의 다형성과 방사선량, 방사선치료기간 중에 들어간 항암제의 횟수가 영향이 있었다. 방사선치료 기간 중에 백혈구의 감소에 영향을 미치는 인자는 399번 코돈의 다형성이었고 혈소판 감소에 영향을 미치는 인자는 종양의 위치와 399번 코돈의 다형성이었다.

다변량 분석에서 399번 코돈의 다형성이 많은 영향이 있음을 알 수 있었기 때문에 환자를 399번 코돈이 wild type인 경우와 다형성이 있는 경우로 환자를 다시 분류하여 부작용의 정도와 백혈구 혈소판의 감소 정도를 확인해 보았다. 하부위장관의 부작용은 399번 코돈의 다형성이 있는 경우에 비하여 다형성이 없는 경우가 grade 1, 3의 부작용이 많이 나타났고, 상부위장관 부작용의 경우도 399번 코돈의 다형성이 없는 경우에서 grade 2, 3의 부작용이 많이 나타났다(Table 4, 5). 객관적인 자료인 방사선치료기간 중 백혈구와 혈소판의 감소도 399번 코돈의 다형성이 없을 경우에 감소하는 폭이 컸다(Table 6).

자료는 제시하지 않았지만 전체 항암제 전체기간 중의 백혈구와 혈소판 감소에 영향을 미치는 의미있는 인자는 없었다.

고안 및 결론

본 연구의 결과는 대장 직장암 환자에서 XRCC1 코돈 399번의 다형성이 대장 직장암 환자의 수술 후 화학방사선치료의 급성 부작용과 관련이 있음을 시사하고 있다. XRCC1 유전자는 약 10여 년 전에 발견되었다. 지금까지 XRCC1 유전자에 대하여 알려진 사항은 이 유전자가 DNA 가닥 절단(strand break)에 관여하는 여러 가지 enzymatic components (Poly β, APE1, PARP-1&2, PNK, Lig3α)와 상호작용을 한다는 것이다. 따라서 이 유전자의 변이가 있을 경우 DNA 한 가닥 절단(single strand break)이나 두 가닥

절단(double strand break)의 회복을 저해하여 DNA 복구를 지연시킨다.[19] XRCC1 유전자 변이가 있는 세포주들(EM7, EM9, EM-C11, and EM-C12)에서는 방사선이나 alkylating agents에 감수성이 높다.[20,21] 또한 DNA 손상을 인지하는 유전자나 복구하는 유전자에 다형성이 있을 경우에도 방사선에 의한 반응이 달라질 수 있다. 여기에는 XRCC1, ATM, hHR21, TGF β1 등이 있는데 이 유전자에 다형성이 있을 때는 방사선치료에 의한 정상조직의 부작용의 위험도가 증가한다.[22] 이들 중 XRCC1 유전자는 방사선이나 oxidative stress에 의한 DNA 손상을 복구하는데 필요한 유전자이다. 인간에서는 Arg194Trp, Arg280His, Arg399Gln의 다형성이 나타나는데 Moullan 등[23]의 보고에 의하면 코돈 194의 다형성이 유방암 환자에서 방사선치료의 부작용이 증가하는데 관련이 있으며 코돈 399의 다형성과 복합되어 있는 경우가 방사선에 민감한 유방암 환자에서 더 많이 발견된다고 하였다. 그러나 Wang 등[24]은 chromosome의 손상과 XRCC1 genotype 사이의 연관성에 대하여 연구하였는데, exon 6 Arg/Arg wild type을 가진 사람에서 Bleomycin 치료 후 chromosome의 절단이 더 많이 나타났다고 한다. 또한 Borgmann 등[22]에 의하면 심각한 만성 부작용이 나타난 환자에서도 ataxia telangiectasia (AT), Nijmegen Breakage Syndrome (NBS), DNA ligase IV 유전자들의 변이는 없었다고 하며, Oppitz 등[26]도 방사선에 의한 급성 피부 부작용과 in vitro에서 fibroblast의 clonogenic data와는 연관성이 없다고 보고하였다. 최근 Ruyck 등[27]의 보고에서도 XRCC1 유전자의 코돈 194의 다형성이 방사선치료의 부작용을 억제해 준다고 보고하였고, Stoehlmacher 등[15]도 코돈 399의 다형성이 있는 경우 항암제의 반응이 좋을 것으로 예상하였으나 결과는 반대로 항암제에 저항성이 있다고 보고하고 있다. 본 연구에서도 연구 전에 XRCC1 유전자의 다형성이 있을 경우 DNA 회복 능력이 떨어지기 때문에 환자에게 급성 부작용이 증가할 것으로 예상하였었다. 그러나 결과는 코돈 399의 다형성이 대장 직장암 환자의 항암제 방사선치료의 급성 부작용을 보호해 주는 것으로 나타났다. XRCC1 유전자의 다형성이 급성 부작용을 보호해주는 기전에 대해서는 아직 알려진 바가 없으며, 저자의 생각으로 p53 유전자가 DNA가 손상되면 세포주기를 억제해서 손상된 DNA의 복구를 도와주지만, 손상된 DNA를 갖고 있는 세포가 다른 oncogene들의 발현에 의해 세포주기의 활성이 계속 유지된다면, p53은 세포사멸을 촉진시키는 것처럼 XRCC1 유전자도 상황에 따라서 방사선에 의한 급성 부작용을 촉진할 수도 있지만 보호해 주는 쪽의 기능을 할 수도 있는 것으로 생각된다. 따라서 이 유전자의 기능에 대해서는 더욱 많은 연구가 필요하다고 생각된다. 그리고 본 연구에서는 다른 연구와 달리 객관적인 자료를 제시하기 위하여 환자의 부작용을 의사가 기록한 것 이외에 환자의 백혈구와 혈소판 수의 증감을 같이 조사하여 객관적인 부작용의 자료로 이용하고자 하였다. 방사선치료 기간 중에 감소한 백혈구와 혈소판의 수도 코돈 399에 다형성이 없는 환자에서 의미있게 감소하였기 때문에 결과는 신뢰할 만하다고 생각한다. 따라서 XRCC1 유전자 같은 DNA 복구 유전자의 다형성이 방사선치료의 부작용과 관련이 있다고 할 수는 있으나 그 역할과 기능에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다 하겠다.

본 연구에서도 세 곳의 다형성 부위를 모두 조사하였지만 코돈 399가 하부위장관 부작용과 방사선치료 중 백혈구 혈소판의 감소에 모두 의미 있는 인자로 판명되었다. 코돈 399는 BRCT-1 도메인의 중앙에 위치하며 이곳은 PARP의 BRCT 도메인과 결합하는 곳이다.[28] 이 코돈에 대해서는 많은 연구가 이루어졌는데, 이 코돈의 변이는 DNA 손상,[29] 돌연변이의 유발,[30] 방사선에 의한 세포주기의 지연,[31] 방사선 감수성의 증가[32] 등과 관련이 있다고 알려져 있다.

또한 최근에는 이런 DNA 복구 유전자와 종양의 치료결과를 연관지어 예측하려는 시도도 되고 있다.[33~35] Gurubhagavatula 등[36]에 의하면 비소세포성 폐암 환자에서 XPD와 XRCC1 유전자의 다형성이 있는 환자가 생존율이 낮다고 한다. 이런 연구 결과들을 종합해 보면 앞으로 이런 여러 가지 DNA 복구 유전자가 환자의 정상조직의 부작용뿐만 아니라 예후에도 연관이 있음이 밝혀지고 있고 보다 많은 환자를 대상으로 연구를 진행할 필요가 있다고 생각된다.

결론적으로 환자의 수가 적은 관계로 단정적인 결론을 내리기에는 미흡하지만, 본 연구의 결과에 의하면 XRCC1 유전자의 코돈 399번의 다형성 유무가 대장 직장암 환자에서 화학방사선 동시병합요법의 급성 부작용을 예측하는데 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. Hoeller U, Borgmann K, Bonacker M, et al. Individual radiosensitivity measured with lymphocytes may be used to predict the risk of fibrosis after radiotherapy for breast cancer. Radiother Oncol 2003;69:137-144
2. Rudat V, Dietz A, Conradt C, Flentje M. In vitro radiosensitivity of primary human fibroblasts: lack of correlation with acute radiation toxicity in patients with head and neck cancer. Radiother Oncol 1997;43:181-188
3. Kiltie AE, Ryan AJ, Swindell R, et al. A correlation be-

tween residual radiation-induced DNA double-strand breaks in cultured fibroblasts and late radiotherapy reactions in breast cancer patients. Radiother Oncol 1999;51:55-65
4. Casse C, Hu YC, Ahrendt SA. The XRCC1 codon 399 Gln allele is associated with adenine guanine p53 mutations in non-small cell lung cancer. Mutat Res 2003;25:19-27
5. Zhou W, Liu G, Miller DP, et al. Polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1 and ERCC2, smoking, and lung cancer risk. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003;12:359-365
6. Smith TR, Miller MS, Lohman K, et al. Polymorphisms of XRCC1 and XRCC3 genes and susceptibility to breast cancer. Cancer Lett 2003;190:183-190
7. Thompson LH, Brookman KW, Jones NJ, Allen SA, Carrano AV. Molecular cloning of the human XRCC1 gene, which corrects defective DNA strand break repair and sister chromitid exchange. Mol Cell Biol 1990;10:6160-6171
8. Lee SG, Kim B, Choi J, Kim C, Lee I, Song K. Genetic polymorphisms of XRCC1 and risk of gastric cancer. Cancer Lett 2002;187:53-60
9. Lee JM, Lee YC, Yang SY, et al. Genetic polymorphisms of XRCC1 and risk of the esophageal cancer. Int J Cancer 2001;95:240-246
10. Caldecott KW, McKeown CK, Tucker JD, Ljungquist S, Thompson LH. An interaction between the mammalian DNA repair protein XRCC1 and DNA ligase III. Mol Cell Biol 1994; 14:68-76
11. Gryk MR, Marintchev A, Maciejewski MW, Robertson A, Wilson SH, Mullen GP. Mapping of the interaction interface of DNA polymerase beta with XRCC1. Structure 2000; 10:1709-1720
12. Whitehouse CJ, Taylor RM, Thistlethwaite A, et al. XRCC1 stimulates human polynucleotide kinase activity at damaged DNA termini and accelerates DNA single-strand break repair. Cell 2001;104:107-117
13. Vidal AE, Boiteux S, Hickson ID, Radicella JP. XRCC1 coordinates the initial and late stages of DNA abasic site repair through protein-protein interactions. EMBO J 2001;20: 6530-6539
14. Shen MR, Jones IM, Mohrenweiser H. Nonconservative amino acid substitution variants exist at polymorphic frequency in DNA repair genes in healthy humans. Cancer Res 1998; 58:604-608
15. Stoehlmacher J, Ghaderi V, Iobal S, et al. A polymorphism of the XRCC1 gene predicts for response to platinum based treatment in advanced colorectal cancer. Anticancer Res 2001;21:3075-3079
16. Cox JD, Stetz J, Pajak TF. Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). Int J Radiat Oncol Biol Phys 1995;31:1341-1346
17. Lunn RM, Langlois RG, Hsieh LL, Thompson CI, Bell DA. XRCC1 polymorphisms: effects on aflatoxin B1-DNA adducts and glycophorin A variant frequency. Cancer Res 1999;59:2557-2561
18. Tuimala J, Szekely G, Gundy S, Hirvonen A, Norppa H. Genetic polymorphisms of DNA repair and xenobiotic-metabolizing enzymes: role in mutagen sensitivity. Carcinogenesis 2002;23:1003-1008
19. Caldecott KW. XRCC1 and DNA strand break repair. DNA Repair 2003;2:955-969
20. Shen NR, Zdzienicka MZ, Mohrenweiser H, Thompson LH, Thelen MP. Mutations in hamster single-strand break repair gene XRCC1 causing defective DNA repair. Nucleic Acids Res 1998;26:1032-1037
21. Churchill ME, Peak JG, Peak MJ. Correlation between cell-survival and DNA-strand break repair proficiency in the Chinese hamster ovary cell-lines AA8 and EM9 irradiated with 365-nm ultraviolet-a radiation. Photochem Photobiol 1991;53: 229-236
22. Fernet M, Hall J. Genetic biomarkers of therapeutic radiation sensitivity. DNA Repair 2004;3:1237-1243
23. Moullan N, Cox DG, Angele S, Romenstaing P, Gerard JP, Hall J. Polymorphisms in the DNA repair gene XRCC1, breast cancer risk and response to radiotherapy. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2003;12:1168-1174
24. Wang Y, Spitz MR, Zhu Y, Dong Q, Shete S, Wu X. From genotype to phenotype: correlating XRCC1 polymorphisms with mutagen sensitivity. DNA Repair 2003;2:901-908
25. Borgmann K, Roper B, El-Awady R, et al. Indicators of late normal tissue response after radiotherapy for head and neck cancer: fibroblasts, lymphocytes, genetics, DNA repair, and chromosome aberrations. Radiother Oncol 2002;64:141-152
26. Oppitz U, Schulte S, Stopper H, et al. In vitro radiosensitivity measured in lymphocytes and fibroblasts by colony formation and comet assay: comparison with clinical acute reactions to radiotherapy in breast cancer patients. Int J Radiat Biol 2002;78:611-616
27. Ruyck KD, Eijkeren MV, Claes K, et al. Radiation-induced damage to normal tissues after radiotherapy in patients treated for gynecologic tumors: association with single nucleotide polymorphisms in XRCC1, XRCC3, and OGG1 genes and in vitro chromosomal radiosensitivity in lymphocytes. Int J Radiat Oncol Biol Phys 2005;62:1140-1149
28. Masson M, Niedergang C, Schreiber V, Muller S, Menissier-de Murcia J, de Murcia G. XRCC1 is specifically associated with poly(ADP-ribose)polymerase and negatively regulates its activity following DNA damage. Mol Cell Biol 1998;18:3563-3571
29. Duell EJ, Wiencke JK, Cheng TJ, et al. Polymorphisms in the DNA repair genes XRCC1 and ERCC2 and biomarkers of DNA damage in human blood mononuclear cells. Carcinogenesis 2000;21:965-971
30. Lunn RM, Langlois RG, Hsieh LL, Thompson CL, Bell DA. XRCC1 polymorphisms: effects on aflatoxin B1-DNA adducts and glycophorin A variant frequency. Cancer Res 1999; 59:2557-2561
31. Hu JJ, Smith TR, Miller MS, Lohman K, Case LD. Genetic regulation of ionizing radiation sensitivity and breast

cancer risk. Environ Mol Mutagen 2002;39:208-215
32. Hu JJ, Smith TR, Miller MS, Mohrenweiser HW, Golden A, Case LD. Amino acid substitution variants of APE1 and XRCC1 genes associated with ionizing radiation sensitivity. Carcinogenesis 2001;22:917-922
33. Krajinovic M, Labuda D, Mathonnet G, et al. Polymorphisms in genes encoding drugs and xenobiotic metabolizing enzymes, DNA repair enzymes, and response to treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. Clin Cancer Res 2002;8:802-810
34. Liu D, O'Day SJ, Yang D, et al. Impact of gene polymorphisms on clinical outcome for stage IV melanoma patients treated with biochemotherapy: an exploratory study. Clin Cancer Res 2005;11:1237-1246
35. Sak SC, Harnden P, Johnston CF, Paul AB, Kiltie AE. APE1 and XRCC1 protein expression levels predict cancer-specific survival following radical radiotherapy in bladder cancer. Clin Cancer Res 2005;11:6205-6211
36. Gurubhagavatula S, Liu G, Park S, et al. XPD and XRCC1 genetic polymorphisms are prognostic factors in advanced non-small-cell lung cancer patients treated with platinum chemotherapy. J Clin Oncol 2004;22:2519-2521

Abstract

Relationship between XRCC1 Polymorphism and Acute Complication of Chemoradiation Therapy in the Patients with Colorectal Cancer

Woo Chul Kim, M.D.*, Yun Chul Hong, M.D.§, Sun Keun Choi, M.D.†, Ze Hong Woo, M.D.†, Jeong Hyun Nam, M.D.‡, Gwang Seong Choi, M.D.‡, Moon Hee Lee, M.D.‡, Soon Ki Kim, M.D.‡, Sun U. Song, Ph.D.‡ and John JK Loh, M.D.*

Departments of *Radiation Oncology, †Surgery, ‡Clinical Research Center, Inha University College of Medicne, Incheon, §Department of Preventive Medicine, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

Purpose: It is well known from clinical experience that acute complications of chemoradiation therapy vary from patients to patients. However, there are no known factors to predict these acute complications before treatment starts. The human XRCC1 gene is known as a DNA base excision repair gene. We investigated the possibilities of XRCC1 gene polymorphisms as a predictor for the acute complications of chemoradiation therapy in colorectal cancer patients.

Materials and Methods: From July 1997 to June 2003, 86 colorectal cancer patients (71 rectal cancer, 13 sigmoid colon cancer and 2 colon cancer patients) were treated with chemoradiation therapy at the Department of Radiation Oncology, Inha University Hospital. Twenty-two patients were in stage B, 50 were in stage C, 8 were in stage D and 6 patients were unresectable cases. External radiation therapy was delivered with 10MV X-ray at a 1.8 Gy fraction per day for a total dose of radiation of 30.6~59.4 Gy (median: 54 Gy). All the patients received 5-FU based chemotherapy regimen. We analyzed the acute complications of upper and lower gastrointestinal tract based on the RTOG complication scale. The initial and lowest WBC and platelet count were recorded during both the RT period and the whole treatment period. Allelic variants of the XRCC1 gene at codons 194, 280 and 399 were analyzed in the lymphocyte DNA by performing PCR-RFLP. Statistical analyses were carried out with the SAS (version 6.12) statistical package.

Results: When all the variables were assessed on the multivariate analysis, recurrent disease revealed the factors that significantly correlated with upper gastrointestinal acute complications. Arg399Gln polymorphisms of the XRCC1 gene, the radiation dose and the frequencies of chemotherapy during radiation therapy were significantly correlated with lower gastrointestinal complications. Arg399Gln polymorphisms also affected the decrease of the WBC and platelet count during radiation therapy.

Conclusion: Although the present sample size was too small for fully evaluating this hypothesis, this study suggests that Arg399Gln polymorphisms of the XRCC1 genes may be used as one of the predictors for acute complications of chemoradiation therapy in colorectal cancer patients.

Key Words: Polymorphism, XRCC1, Colorectal cancer, Complication