

切除修复交叉互补基因 1、核苷酸还原酶 M1 亚基和 β -微管蛋白 III 的表达对 I ~ III 期非小细胞肺癌术后辅助化疗疗效的预测意义

石 燕¹, 陈 丽¹, 李 杰², 吕亚莉², 焦顺昌¹

解放军总医院 ¹ 肿瘤内科 ² 病理科, 北京 100853

通信作者: 焦顺昌 电话: 010-66939761, 电子邮件: jiaosc@vip.sina.com

摘要: **目的** 探讨切除修复交叉互补基因 1 (ERCC1)、核苷酸还原酶 M1 亚基 (RRM1) 和 β -微管蛋白 III 与接受不同辅助化疗方案的非小细胞肺癌患者预后的关系。**方法** 回顾性分析 2004 年 1 月至 2007 年 12 月我院接受手术治疗且术后行辅助化疗的 I ~ III 期非小细胞肺癌病例。利用免疫组织化学法检测 ERCC1、RRM1 和 β -微管蛋白 III 的表达, 分析所有患者的临床病理特征、治疗特征、分子特征与生存规律的关系。**结果** ERCC1、RRM1 和 β -微管蛋白 III 的高表达率分别为 36.4%、43.7% 和 38.4%, 三者表达程度无相关性, ERCC1 ($P=0.008$) 和 RRM1 ($P=0.028$) 在腺癌中的高表达率显著低于非腺癌, 而 β -微管蛋白 III 在腺癌中的高表达率显著高于非腺癌 ($P=0.001$)。所有患者中位随访时间 35.8 个月, 80 例出现复发或转移, 40 例死亡, 中位生存期未达到, 中位无疾病生存期 (DFS) 为 24.1 个月。单因素分析显示男性 ($P=0.036$)、临床分期早 ($P=0.001$) 及非腺癌 ($P=0.004$) 患者较女性、临床分期晚及腺癌患者中位 DFS 显著延长, 而年龄、吸烟与否、化疗方案的类型及 ERCC1、RRM1 和 β -微管蛋白 III 的表达程度对 DFS 无影响。分层分析显示, RRM1 高表达时, 含吉西他滨方案组较其他方案组 DFS 有缩短的趋势 ($P=0.054$); β -微管蛋白 III 高表达时, 紫杉类方案组较长春瑞滨和吉西他滨组 DFS 有缩短的趋势 ($P=0.076$)。而在 RRM1 或 β -微管蛋白 III 低表达以及 ERCC1 不同表达程度层中, 各化疗方案组对 DFS 的影响无差异。COX 多因素分析显示, 腺癌与否和临床分期是影响 DFS 的独立预后因素。**结论** 对于接受手术治疗及术后辅助化疗的非小细胞肺癌患者, RRM1 高表达者对吉西他滨耐药, 而 β -微管蛋白 III 高表达者对紫杉类耐药, 在耐药人群中似乎能给患者带来更多的生存获益。免疫组织化学法检测 ERCC1、RRM1 和 β -微管蛋白 III 的表达有助于筛选辅助化疗药物及预测化疗疗效。

关键词: 非小细胞肺癌; 切除修复交叉互补基因 1; 核苷酸还原酶 M1 亚基; β -微管蛋白 III; 辅助化疗

中图分类号: R734.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-503X(2010)04-0375-08

DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2010.04.004

Expression and Predictive Role of Excision Repair Cross Complementation Group 1, Ribonucleotide Reductase Subunit M1, and β -tubulin III in Postoperative Patients with Non-small Cell Lung Cancer Receiving Adjuvant Chemotherapy

SHI Yan¹, CHEN Li¹, LI Jie², LÜ Ya-li², JIAO Shun-chang¹

¹Department of Medical Oncology, ²Department of Pathology, PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Corresponding author: JIAO Shun-chang Tel: 010-66939761, E-mail: jiaosc@vip.sina.com

ABSTRACT: Objective To determine the predictive value of excision repair cross complementation group

1 (ERCC1), ribonucleotide reductase subunit M1 (RRM1), and β -tubulin III expressions in postoperative patients with stage I - III non-small cell lung cancer (NSCLC) receiving adjuvant chemotherapy. **Methods** All NSCLC patients received surgery therapy followed by at least one cycle of adjuvant chemotherapy in our hospital from January 2004 to December 2007. The expressions of ERCC1, RRM1, and β -tubulin III were detected by immunohistochemical methods. The relationships among clinicopathologic characteristics, chemotherapy regimens, biomarkers' expressions and disease-free survival (DFS) were analyzed. **Results** The high-expression rates of ERCC1, RRM1, and β -tubulin III were 36.4%, 43.7%, and 38.4%, respectively. The expressions of these three biomarkers were not correlated. After a median follow-up of 35.8 months, 80 patients experienced metastatic or recurrent tumors and 40 patients died. The median overall survival was not reached and the median DFS was 24.1 months. Univariate survival analysis showed that sex, clinical stage, and adenocarcinoma or not were related to DFS, while age, smoke history, chemotherapy regimens, and expression levels of ERCC1, RRM1, and β -tubulin III has no prognostic significance in these surgically resected NSCLC patients who were receiving adjuvant chemotherapy. Male ($P=0.036$), earlier clinical stage ($P=0.001$), and non-adenocarcinoma ($P=0.004$) predicted better DFS. Stratified analysis indicated that in RRM1 high-expression strata, the regimens with gemcitabine had curtailed DFS compared with other regimens ($P=0.054$); in β -tubulin III high-expression strata, the regimens containing taxane (including paclitaxel and docetaxel subgroups) had curtailed DFS compared with other regimens ($P=0.076$), although there was no statistical significance. However, there were no similar predictive significance in RRM1 and β -tubulin III low-expression strata or in ERCC1 strata with different expression levels. COX proportional regression analysis showed that adenocarcinoma or not and clinical stage were independent risk factors of DFS in this population. **Conclusions** In postoperative NSCLC patients who are receiving adjuvant chemotherapy, patients with high expression of RRM1 tends to be resistant to gemcitabine and patients with high expression of β -tubulin III tends to be resistant to taxane drugs. ERCC1, RRM1, and β -tubulin III detected by immunohistochemistry can be biomarkers to help to choose better chemotherapy regimen and predict the effectiveness of adjuvant chemotherapy.

Key words: non-small cell lung cancer; excision repair cross complementation group 1; ribonucleotide reductase subunit M1; β -tubulin III; adjuvant chemotherapy

Acta Acad Med Sin, 2010,32(4):375-382

近年来, 多项国际大型临床研究已初步证实辅助化疗能改善完全切除的非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者的生存^[1-3]。然而, 目前研究的辅助化疗方案仅能使5%~15%的患者在长期生存中获益^[4], 更多的患者可能仅承受了化疗药物的毒性。因此, 需要新的个体化治疗策略协助筛选可能从辅助化疗中获益的人群, 以及选择最佳辅助化疗方案。大量研究表明, 肿瘤组织的特殊分子标记物的检测有助于预测化疗药物的疗效^[5-8]。切除修复交叉互补基因1 (excision repair cross complementation group 1, ERCC1) 是较早发现与铂类耐药相关的分子预测标记。Olaussen等^[5]采用免疫组织化学法检测了761例患者的ERCC1表达, 证实ERCC1阴性患者更能从含铂的辅助化疗中受益。核苷酸还原酶M1亚基 (ribonucleotide reductase subunit M1,

RRM1)、 β 微管蛋白III是近年发现可能与吉西他滨 (gemcitabine, GEMZ)、紫杉类耐药相关的分子标记物。但上述研究结论多基于国外临床研究结果或是仅检测1或2种分子标记物, 尚缺乏对多项分子标记物的联合检测。

目前临床中常用的辅助化疗方案, 包括较多循证医学证据支持的长春瑞滨 (vinorelbine, NVB) 联合顺铂, 紫杉醇 (paclitaxel, PTX) 联合卡铂方案^[9]; 以及基于晚期NSCLC研究经验推荐的多西他赛 (docetaxel, TXT) 或GEMZ联合铂类的方案等。为明确常见分子标记物对NSCLC术后常用辅助化疗方案疗效的预测价值, 本研究拟检测ERCC1、RRM1和 β -微管蛋白III等耐药相关分子在NSCLC中的表达情况, 以探讨各分子标记物的表达程度与接受不同辅助化疗方案的NSCLC患者预后的关系。

对象和方法

对象 选取 2004 年 1 月至 2007 年 12 月在解放军总医院接受手术治疗且术后行辅助化疗的 I ~ III 期 NSCLC 患者, 并进行随访。其中 151 例随访资料完整且病理标本充足, 被纳入本研究。术前接受新辅助放疗或化疗者被排除。收集的临床资料包括: 年龄、性别、吸烟史、病理类型、手术方式、病理分期、辅助化疗方案及周期、放疗与否、复发转移及死亡时间。随访方式包括电话及门诊随访。

分子标记物的免疫组织化学染色 由病理医师复习上述病例的病理标本 HE 染色切片并核实诊断, 选出肿瘤细胞特征典型的标本, 3 ~ 4 μm 连续切片置于 APES 防脱片上。经二甲苯及梯度酒精脱蜡, 置于 3% H_2O_2 溶液中灭活内源性过氧化物酶 (室温, 10 min)。抗原修复采用 0.01 mmol/L 枸橼酸钠缓冲液 (pH 6.0) 高压修复法 (100 $^\circ\text{C}$, 2.5 min), 山羊血清封闭非特异性抗原位点 (室温, 10 min) 采用美国 ZYMED 公司的 SuperPictureTM Polymer 非生物素二步法检测系统, 以 PBS 溶液代替一抗作为阴性对照, 以已知阳性片作为阳性对照。鼠抗人 ERCC1 单克隆抗体购于英国 Abcam 公司 (克隆号 8F1, 稀释比例 1:50, 4 $^\circ\text{C}$, 12 h); 兔抗人 RRM1 多克隆抗体购于美国的 Proteintech 公司 (稀释比例 1:125, 4 $^\circ\text{C}$, 12 h); 兔抗人 β 微管蛋白 III 单克隆抗体购于美国的 Epitomics 公司 (克隆号 EP1569Y, 稀释比例 1:250, 4 $^\circ\text{C}$, 12 h)。兔鼠通用型二抗购于美国 ZYMED 公司, 反应条件为 37 $^\circ\text{C}$ 30 min, DAB 显色系统显色。各步骤间以 PBS 溶液冲洗 3 次 (5 min/次)。

组织切片由 2 位病理医师 (无法获知临床治疗及预后的情况) 独立阅片并给予评分。评价标准采用组织化学 (histochemical, H) 评分法^[10], 随机选取 10 个高倍镜视野, 分别计数 100 个肿瘤细胞中阳性细胞比例 (%), 取其平均值, 并根据阳性细胞着色强弱评判染色强度 (0、1、2 分); 二者分数相乘为该标本最终得分。H 评分范围由 0 ~ 200, 取各分子的中位分值作为划分标准^[11]。

统计学处理 所有数据均采用 SPSS 16.0 软件包进行统计分析。分类变量的组间差异采用 Pearson's χ^2 检验 (或 Fisher 精确概率) 分析。采用 Kaplan-Meier 乘积极限法估算生存曲线, Log-rank 法进行单因素生存分析, 临床及病理因素对无疾病生存时间

(disease-free survival, DFS) 的影响采用 COX 比例风险回归模型进行多因素生存分析。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

临床特征 本研究纳入男性 111 例、女性 40 例; 年龄 31 ~ 81 岁 (中位年龄 55 岁); 吸烟者 86 例; 主要病理类型为鳞癌 (41.0%) 和腺癌 (39.1%); 临床 I、II、III 期分别为 54、47 和 50 例。手术方式以肺叶切除为主 123 例 (81.5%), 而楔形切除和全肺切除分别为 5 和 23 例。全组均在术后接受 1 ~ 8 周期不等的辅助化疗 (中位 4 周期), 其中多数 (74.2%) 完成 4 ~ 6 周期化疗。化疗方案集中在以 TXT (40 例)、GEMZ (51 例)、NVB (40 例) 和 PTX (20 例) 为主的联合或不联合铂类的方案 (含铂方案 145 例, 96.0%)。术后接受辅助放疗者 35 例 (23.2%)。

ERCC1、RRM1 和 β -微管蛋白 III 在 NSCLC 中的表达特点 ERCC1 主要表达于肿瘤细胞核, 阳性细胞的胞核呈棕褐色, 少部分胞质有浅棕色局限性表达, 集中在核膜附近; 一般染色强度为阳性 (2 分) 居多, 但阳性细胞比例不高 (图 1)。RRM1 主要表达于肿瘤细胞核和胞浆, 本组病例大部分肿瘤细胞以浆阳为主 (图 2), 与 ERCC1 不同, 平均染色强度较前者稍弱, 但细胞阳性率较高。 β -微管蛋白 III 主要表达于肿瘤细胞浆, 阳性细胞的胞浆呈棕褐色颗粒, 多数集中在细胞膜附近, 染色强度高时越靠近膜阳性信号越强, 有类似膜阳的表现, 但染色强度弱, 细胞阳性比例较高 (图 3)。上述各分子标记物在肿瘤间质及癌旁正常肺组织中均无表达。按照前述 H 评分标准, ERCC1 的中位 H 评分为 10 分 (0 ~ 160 分), RRM1 的中位 H 评分为 40 分 (0 ~ 180 分), β -微管蛋白 III 的中位 H 评分为 30 分 (0 ~ 150 分)。分别以上述中位分值作为高表达与低表达的判别标准, 将 $>$ 中位分值视为高表达, \leq 中位分值视为低表达。ERCC1、RRM1 和 β -微管蛋白 III 的高表达率分别为 36.4%、43.7% 和 38.4%, 且三者表达程度无相关性。ERCC1 (腺癌 23.7% 比非腺癌 45.1%, $\chi^2 = 7.010$, $P = 0.008$) 和 RRM1 (腺癌 32.8% 比非腺癌 51.1%, $\chi^2 = 4.850$, $P = 0.028$) 在腺癌中的高表达率显著低于非腺癌, 而在其他临床特征组中 (如不同性别、年龄阶段、吸烟状况及

临床分期), ERCC1 和 RRM1 的表达程度差异均无统计学意义。 β -微管蛋白 III 在女性 ($\chi^2 = 5.942, P = 0.015$)、不吸烟 ($\chi^2 = 6.466, P = 0.011$)、腺癌 ($\chi^2 = 10.543, P = 0.001$) 中高表达率显著高于男性、吸烟者及非腺癌。相关分析显示, 性别、吸烟状况与腺癌与否等临床特征间存在一定相关性 ($P < 0.05$), 影响 β -微管蛋白 III 高表达的因素主要为病理类型, 在腺癌中 β -微管蛋白 III 的高表达率为 55.2% (32/58), 显著高于非腺癌中的高表达率 28.6% (26/91)。

临床及病理特征与预后 全组病例中位随访时间为 35.8 个月 (16.4 ~ 63.7 个月), 80 例出现复发或转移 (53.0%), 40 例死亡 (26.5%), 其中 3 例为非 NSCLC 相关死亡, 分别死于继发宫颈癌、放疗后放射性肺炎及骨髓抑制并发的肺部感染。中位生存期未达到, 1、2 和 3 年生存率分别为 92.7%、84.4% 和 70.0%; 中位 DFS 为 24.1 个月, 1、2 和 3 年无疾病生存率分别为 69.5%、51.1% 和 42.5%。

Log-rank 单因素分析显示, 性别、临床分期及病理类型分别是 DFS 相关的预后因子; 而年龄、吸烟与否、手术方式及化疗方案的类型对 DFS 无显著影响。男性 (中位 DFS: 男性 32.99 个月比女性 21.13 个月, $P = 0.036$, 图 4A)、临床分期早 (中位 DFS: I 期未到达比 II 期 33.64 个月比 III 期 15.18 个月, $P = 0.001$, 图 4B)、非腺癌患者 (中位 DFS: 非腺癌 48.16 个月比腺癌 17.41 个月, $P = 0.004$, 图 4C) 较对应组中位 DFS 显著延长; 其中性别与病理类型 (腺癌/非腺癌) 中度相关 ($r = 0.343, P < 0.001$)。 β 微管蛋白 III 低表达组较高表达中位 DFS 有延长的

趋势 (31.97 个月比 18.60 个月, $P = 0.1$, 图 4D), 但差异无统计学意义。ERCC1 和 RRM1 的表达程度均对 DFS 无影响。

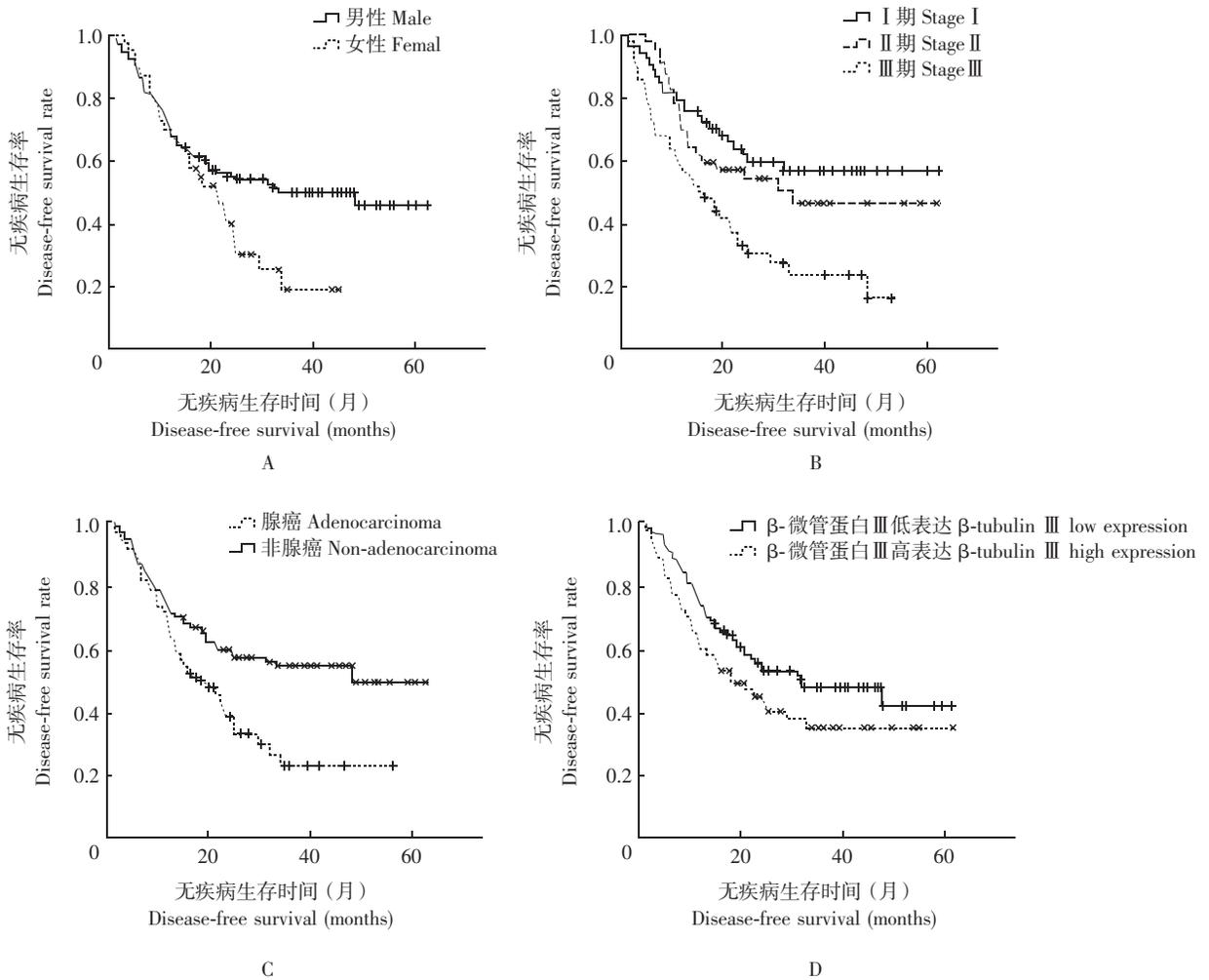
分子标记物的表达与辅助化疗的疗效预测 进一步以各分子标记物的表达为分层因素, 分别对 TXT、GEMZ、NVB 和 PTX 为主的化疗方案与 DFS 的关系进行分层分析。结果显示: 无论 ERCC1 的表达程度高低, 各化疗方案组对 DFS 的影响差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。在 RRM1 高表达层中, 含 GEMZ 方案组较其他方案组 DFS 有明显缩短趋势, 但差异无统计学意义 (14.13 个月比 48.16 个月, $P = 0.054$) (图 5); 而其他化疗方案组间 DFS 差异无统计学意义。RRM1 低表达层中, 各化疗方案组对 DFS 的影响差异亦无统计学意义。在 β -微管蛋白 III 高表达层中, 紫杉类方案组 (包括含 TXT 及含 PTX 方案组) 较其他组 DFS 有缩短趋势, 但差异无统计学意义 (18.33 个月比 24.84 个月, $P = 0.076$) (图 6)。而其他化疗方案组间 DFS 差异无统计学意义, β -微管蛋白 III 低表达层中, 各化疗方案组对 DFS 的影响差异亦无统计学意义。

影响预后的多因素分析 将性别等各临床病理因素以及 ERCC1、RRM1 和 β -微管蛋白 III 的表达状态纳入 COX 回归模型, 多因素分析显示: 仅病理类型 (腺癌与否, $P = 0.02$) 和临床分期 ($P < 0.001$) 是影响 DFS 的独立预后因素 (表 1)。接受辅助化疗的 NSCLC 患者中, 腺癌的复发转移风险是非腺癌的 1.895 倍, 临床分期的增加致复发转移风险增加 1.690 倍。

表 1 非小细胞肺癌的临床及病理特征对无疾病生存期影响的 COX 生存分析

Table 1 Multivariate analysis of factors related to disease-free survival using the Cox proportional hazard model among patients with non-small cell lung cancer

影响因素 Effect factor	Wald	风险比 Hazard ratio	95% 可信区间 95% confidence interval	P
性别 (男性) Sex (male)	1.094	0.751	0.439 ~ 1.284	0.296
病理类型 (腺癌) Histology (adenocarcinoma)	5.399	1.895	1.105 ~ 3.250	0.020
临床分期 Clinical stage	12.936	1.690	1.270 ~ 2.249	0.000
切除修复交叉互补基因 1 Excision repair cross complementation group 1	0.782	1.234	0.775 ~ 1.965	0.376
核苷酸还原酶 M1 亚基 Ribonucleotide reductase subunit M1	0.562	0.840	0.533 ~ 1.325	0.454
β 微管蛋白 III β -tubulin III	0.011	1.028	0.619 ~ 1.707	0.915



+ , × : 删失
 + , × : censored

A. 性别: 男性中位无疾病生存率高于女性 ($P=0.036$); B. 临床分期: 临床分期早者中位无疾病生存率高于分期晚者 ($P=0.001$); C. 病理类型: 非腺癌者中位无疾病生存率高于腺癌 ($P=0.004$); D. β -微管蛋白 III 的表达程度: β -微管蛋白 III 低表达者中位无疾病生存率有高于高表达者的趋势 ($P=0.1$)

A. sex: male predicts better disease-free survival rate than female ($P=0.036$); B. clinical stage: earlier stages predict better disease-free survival rate than later stages ($P=0.001$); C. histology: non-adenocarcinoma predicts better disease-free survival rate than adenocarcinoma ($P=0.004$); D. expression level of β -tubulin III: disease-free survival rate of low expression of β -tubulin III has a trend of increase compared to that of high expression group ($P=0.1$)

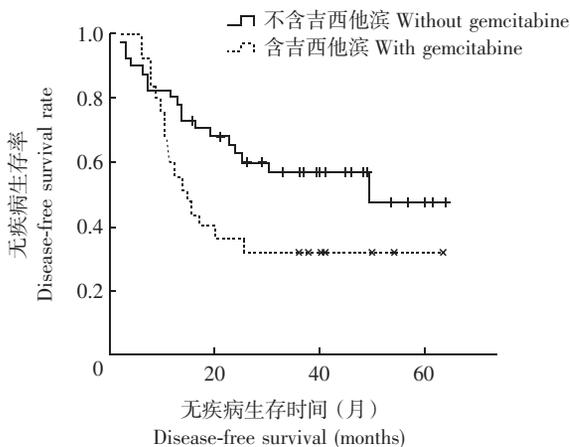
图 4 非小细胞肺癌中不同临床病理特征组的无疾病生存曲线

Fig 4 Disease-free survival curves according to different clinical and pathological characteristics groups in non-small cell lung cancer

讨 论

ERCC1 是单链 DNA 内切酶, 核苷酸切除修复途径中的关键酶, 已证实与铂类耐药有关。有研究显示, ERCC1 是双刃剑, 低表达者能从含铂的辅助化疗中获益, 但若不接受治疗, 则预后差于高表达者^[12]。Cobo 等^[13] 2007 年发表了基于分子标志物选择化疗方案的前瞻性随机对照研究结果, 研究对象为

IV 期 NSCLC 患者, 对照组均接受 TXT + 顺铂治疗, 研究组根据 ERCC1 mRNA 水平分组, 低水平者接受非铂方案 (TXT + GEMZ) 化疗, 高水平者接受 TXT + 顺铂化疗, 结果显示 ERCC1 低水平者对两种方案均表现较好的反应性, 但高水平者未见明显获益。Breen 等^[14] 系统回顾了 1996 ~ 2007 年发表的关于 ERCC1 对术后 NSCLC 影响的相关文献, 9 项研究中 4 项检测了 ERCC1 mRNA 水平的表达, 4 项应用免疫组织化学法检测了 ERCC1 蛋白水平的表达, 1 项涵盖了



核苷酸还原酶 M1 亚基高表达层中不含吉西他滨组的无疾病生存率有高于含吉西他滨组的趋势 ($P = 0.054$); +, ×: 删失

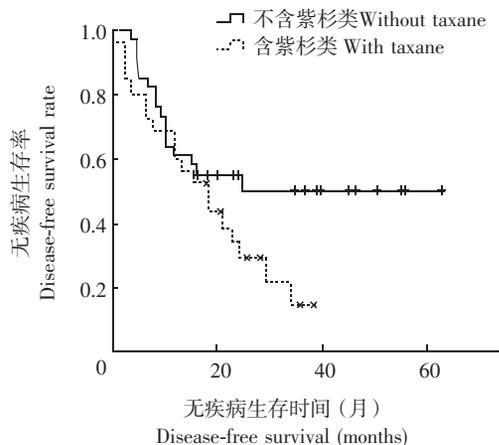
Disease-free survival rate of the regimens with gemcitabine have a trend of curtailing compared to those of other regimen without gemcitabine in ribonucleotide reductase subunit M1 high-expression strata ($P = 0.054$); +, ×: censored

图 5 核苷酸还原酶 M1 亚基高表达层中是否含吉西他滨的无疾病生存率的比较

Fig 5 Comparison of disease-free survival rate between gemcitabine regimen group and other group without gemcitabine in ribonucleotide reductase subunit M1 high-expression strata

2 种检测手段。结果证实, 早期 NSCLC 中 ERCC1 高表达者如果仅接受手术生存时间较长, 相反, 如 ERCC1 低表达者术后接受辅助化疗对生存期有益。

本研究 ERCC1 的表达率为 36.4%, 较国外报道略低^[5,10]; 但其在腺癌中表达较低, 与国外文献相符。由于本研究中位生存期未达到, 且总生存时间受复发转移后治疗等多种因素的影响, 而本研究对象均为接受辅助化疗者, DFS 较总生存时间更能准确反应术后辅助化疗疗效, 故以 DFS 作为主要观测指标。生存分析显示 ERCC1 高表达组与低表达组间 DFS 差异无统计学意义, 且分层分析显示 ERCC1 对常用的 4 种辅助化疗方案无选择作用。阴性结果可能与研究对象选取有关, 本研究 NSCLC 患者均接受了辅助化疗, 且 96% 患者的化疗方案中含有铂类。而国外研究设计多为比较 ERCC1 的表达对接受辅助化疗者与单纯手术者生存的影响。在进一步分层分析时发现 ERCC1 低表达组中完成 4 周期及更多周期化疗者的 DFS 明显高于化疗周期少的组 ($P = 0.001$), 而高表达组中 DFS 无差异; 尽管化疗周期数不能作为影响 DFS 的因素, 但也提示, ERCC1 低



β -微管蛋白 III 高表达层中不含紫杉类组的无疾病生存率有高于含紫杉类组的趋势 ($P = 0.076$); +, ×: 删失

Disease-free survival rate of the regimens with taxane have a trend of curtailing compared to those of other regimen without taxane in β -tubulin III high-expression strata ($P = 0.076$); +, ×: censored

图 6 β -微管蛋白 III 高表达层中是否含紫杉类的无疾病生存率的比较

Fig 6 Comparison of disease-free survival rate between taxane regimen (docetaxel and paclitaxel) group and other group without taxane in β -tubulin III high-expression strata

表达者或许能从至少 4 周期的标准辅助化疗方案中获益。而高表达者是否不需要化疗或选用非铂类方案化疗, 有待前瞻性临床研究证实。

RRM1 是 DNA 合成途径中的限速酶, 在 DNA 合成和修复中发挥重要作用。临床研究表明, 低 RRM1 mRNA 水平的肺癌患者对 GEMZ 和顺铂敏感性较高, 高表达者接受 GEMZ 联合铂类化疗的收益有限^[15]。鉴于 RRM1 和 ERCC1 对 GEMZ 与铂类的选择性, Simon 等^[16]进行了一项 II 期治疗晚期 NSCLC 的临床研究, 推荐 ERCC1 mRNA 阳性/RRM1 mRNA 阴性选择 TXT + GEMZ 化疗; 均阳性可选择 NVB + TXT; 均阴性可选择铂类 + GEMZ; ERCC1 阴性/RRM1 阳性可选择铂类 + TXT。结果证实, 上述分组治疗方案可行, 耐受好, 有一定的改善预后的前景。本研究 RRM1 的表达率为 45.1%, 与 ERCC1 表达无关, 目前对 RRM1 的研究多集中 mRNA 水平, 缺乏 RRM1 免疫组织化学的相关报道, 较难比对。对于 RRM1 与 ERCC1 表达相关的研究集中在 mRNA 水平^[6], 是否在转录后翻译过程中还存在其他调控机制目前尚不清楚。生存分析显示 RRM1 的表达与

DFS 无关, 提示 RRM1 并非 NSCLC 的预后因子。而以 RRM1 表达程度分层分析时显示, RRM1 高表达时, 含 GEMZ 方案组较其他方案组 DFS 有缩短趋势, 但差异无统计学意义 ($P = 0.054$), 与国外研究结论一致; 低表达时各化疗方案组间 DFS 差异无统计学意义。提示 RRM1 高表达者对 GEMZ 耐药, 选择非 GEMZ 方案进行辅助化疗可能有助于改善 DFS; 且免疫组织化学法检测 RRM1 简便易操作, 可在临床中推广。

β -微管蛋白 III 是一类微管蛋白, 研究表明其表达程度与紫杉类耐药有关。Seve 等^[7]对加拿大国家癌症中心 JBR. 10 临床研究进行回顾分析显示, β -微管蛋白 III 高表达者预后差, 但较低表达者似乎更能从 NVB + 顺铂的辅助化疗中获益; 另一项研究选取了 91 例 III ~ IV 期 NSCLC, 分组给予紫杉类加铂类或 GEMZ 加铂类方案, 结果显示 β -微管蛋白 III 低表达组对紫杉加铂类的受益程度明显高于高表达组及 GEMZ 组^[8]。上述研究提示, β -微管蛋白 III 高表达时可从 NVB + 顺铂的辅助化疗中获益; 而低表达时可从紫杉加铂类的化疗中获益。本研究显示, 与 ERCC1 及 RRM1 不同, β -微管蛋白 III 在腺癌中表达率较高, 与国外报道类似。生存分析显示, β -微管蛋白 III 高表达组中位 DFS 低于低表达组, 尽管 $P = 0.1$ 尚未达到统计学意义, 但仍支持高表达组预后差, 对辅助化疗的获益率低观点; 分层分析提示, β -微管蛋白 III 高表达时, 紫杉类方案组较 NVB 和 GEMZ 组 DFS 缩短, 尽管 $P = 0.076$ 无统计学意义, 但两组生存曲线明显分开, 提示 β -微管蛋白 III 高表达者对紫杉类耐药。病例删失数据多可能是影响 P 值的重要原因, 有待进一步跟踪随访。多因素分析显示, 仅病理类型 (腺癌与否)、临床分期是 DFS 的独立预后因素。提示 ERCC1、RRM1 和 β -微管蛋白 III 等分子标志物的表达状态可能仅对化疗方案的疗效有一定预测价值, 而非 DFS 的预后因子。

综上, 本研究显示对于接受手术治疗的 NSCLC 患者, RRM1 高表达者对 GEMZ 耐药, 而 β -微管蛋白 III 高表达者对紫杉类耐药, 在耐药人群中使用其他方案似乎能给患者带来更好的收益。而 ERCC1 的表达对常用含铂化疗方案却无类似预测价值。受回顾性研究限制, 本研究缺乏严格的随机分组及对照研究, 所得结论, 仍需进一步研究验证。下一步可考虑根据 ERCC1、RRM1 和 β -微管蛋白 III 的表达状态分组选择适当的辅助化疗方案, 开展前瞻性随机

对照临床研究, 验证上述结论, 为预测辅助化疗疗效、延长早中期 NSCLC 患者无疾病生存期提供有价值的分子标志物。

(本文图 1~3 见插图第 1 页)

参 考 文 献

- [1] Arriagada R, Bergman B, Dunant A, *et al.* Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2004, 350 (4):351-360.
- [2] Winton T, Livingston R, Johnson D, *et al.* Vinorelbine plus cisplatin *vs.* observation in resected non-small-cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(25):2589-2597.
- [3] Douillard J, Rosell R, Delena M, *et al.* Adjuvant vinorelbine plus cisplatin versus observation in patients with completely resected stage I B-III A non-small-cell lung cancer (Adjuvant Navelbine International Trialist Association [ANITA]): a randomised controlled trial [J]. *Lancet Oncol*, 2006, 7(9):719-727.
- [4] Hotta K, Matsuo K, Ueoka H, *et al.* Role of adjuvant chemotherapy in patients with resected non-small-cell lung cancer: reappraisal with a meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22 (19):3860-3867.
- [5] Olaussen KA, Dunant A, Fouret P, *et al.* DNA repair by ERCC1 in non-small cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy [J]. *N Engl J Med*, 2006, 355(10):983-991.
- [6] Bepler G, Sommers KE, Cantor A, *et al.* Clinical efficacy and predictive molecular markers of neoadjuvant gemcitabine and pemetrexed in resectable non-small cell lung cancer [J]. *J Thorac Oncol*, 2008, 3(10):1112-1118.
- [7] Seve P, Lai R, Ding K, *et al.* Class III beta-tubulin expression and benefit from adjuvant cisplatin/vinorelbine chemotherapy in operable non-small cell lung cancer: analysis of NCIC JBR. 10 [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(3):994-999.
- [8] Seve P, Isaac S, tredan O, *et al.* Expression of class III beta-tubulin is predictive of patient outcome in patients with non-small cell lung cancer receiving vinorelbine-based chemotherapy [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(15):5481.
- [9] Strauss GM, Herndon JE 2nd, Maddaus MA, *et al.* Adjuvant paclitaxel plus carboplatin compared with observation in stage IB non-small-cell lung cancer: CALGB 9633 with the Cancer and Leukemia Group B, Radiation Therapy Oncology Group, and North Central Cancer Treatment Group Study

- Groups [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(31):5043-5051.
- [10] Lee KH, Min HS, Han SW, *et al.* ERCC1 expression by immunohistochemistry and EGFR mutations in resected non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2008, 60(3):401-407.
- [11] Rakha EA, Abd El Rehim D, Pinder SE, *et al.* E-cadherin expression in invasive non-lobular carcinoma of the breast and its prognostic significance [J]. *Histopathology*, 2005, 46(6):685-693.
- [12] Simon GR, Sharma S, Cantor A, *et al.* ERCC1 expression is a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer [J]. *Chest*, 2005, 127(3):978-983.
- [13] Cobo M, Isla D, Massuti B, *et al.* Customizing cisplatin based on quantitative excision repair cross-complementing 1 mRNA expression: a phase III trial in non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(19):2747-2754.
- [14] Breen D, Barlési F. The place of excision repair cross complementation 1 (ERCC1) in surgically treated non-small cell lung cancer [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2008, 33(5):805-811.
- [15] Zheng Z, Chen T, Li X, *et al.* DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(8):800-808.
- [16] Simon G, Sharma A, Li X, *et al.* Feasibility and efficacy of molecular analysis-directed individualized therapy in advanced non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(19):2741-2746.

(收稿日期: 2010-05-04)