

- [6] Shabgah AG, Fattahi E, Shahneh FZ. Interleukin-17 in human inflammatory diseases [J]. Postepy Dermatol Alergol, 2014, 31 (4): 256 - 261.
- [7] 蔡成, 俞继卫, 吴巨钢, 等. TGF- $\beta$ 1 诱导胃癌细胞上皮间质转化及促进干细胞特性获得的研究[J]. 国际外科学杂志, 2012, 39 (12): 824-829, 封 3.
- [8] 郭增清, 叶韵斌, 余家密, 等. 细胞因子诱导的杀伤细胞联合化疗治疗晚期结直肠癌的临床观察[J]. 肿瘤研究与临床, 2012, 24(10): 663 - 666.
- [9] Stoian M, State N, Stoica V, et al. Apoptosis in colorectal cancer[J]. J Med Life, 2014, 7(2): 160 - 164.
- [10] Blake SJ, Teng MW. Role of IL-17 and IL-22 in autoimmunity and cancer[J]. Actas Dermosifiliogr, 2014, 105 Suppl 1: 41 - 50.
- [11] 王建升, 吕元鹏, 孟军涛, 等. IL-23 和 IL-17 在结直肠癌患者中的表达及意义[J]. 中国肿瘤临床, 2014, 41(9): 580 - 584.
- [12] Farid IM, Hamza IM, El-Abd DM, et al. Transforming growth factor- $\beta$ 1 gene expression in hepatocellular carcinoma: a preliminary report [J]. Arab J Gastroenterol, 2014, 15(3 - 4): 142 - 147.
- [13] Nakamura S, Yaguchi T, Kawamura N, et al. TGF- $\beta$ 1 in tumor micro-environments induces immunosuppression in the tumors and sentinel lymph nodes and promotes tumor progression [J]. J Immunother, 2014, 37(2): 63 - 72.
- [14] 郭勤, 沈守荣, 李夏雨, 等. 炎症因子促进结直肠癌发生发展 [J]. 中南大学学报(医学版), 2011, 36(7): 646 - 649.
- [15] 李晓勇, 刘少平. 结直肠癌患者血清 TGF- $\beta$ 1 的检测及临床意义 [J]. 广西医科大学学报, 2011, 28(1): 82 - 84.

收稿日期: 2015 - 02 - 14 修回日期: 2015 - 03 - 20 编辑: 王国品

· 临床研究 ·

## ERCC1、RRM1、TYMS、TUBB3 表达对晚期非小细胞肺癌个体化治疗的应用分析

朱铁峰, 崔贵, 景凯, 孟凡宇, 许明召, 齐冬

阜新矿业集团总医院胸心外科, 辽宁 阜新 123000

**摘要:** **目的** 探讨基因 ERCC1、RRM1、TYMS、TUBB3 表达的应用晚期非小细胞肺癌个体化化疗疗效和预后的影响。**方法** 将 2012 年 10 月至 2014 年 10 月 72 例晚期非小细胞肺癌化疗患者随机分为两组, 对照组采用 DP (多西紫杉醇 + 顺铂) 方案, 研究组进行 ERCC1、RRM1、TYMS、TUBB3 基因的 mRNA 表达水平检测, 并根据检测结果针对性地选择 DP 方案、DF (多西紫杉醇 + 5-FU) 方案、GP (吉西他滨 + 顺铂) 方案、GF (吉西他滨 + 5-FU) 方案、DPF (多西紫杉醇 + 顺铂 + 5-FU) 方案。观察两组患者的不良反应、生活质量、化疗有效率 (RR) 和中位生存时间 (mOS)。**结果** 研究组的有效率明显高于对照组 (80.0% vs 56.2%,  $P < 0.05$ ); 研究组与对照组 mOS 分别为 16.7 个月和 12.2 个月, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 对照组不良反应包括骨髓抑制、肝肾损害, 其发生率均明显高于研究组 ( $P < 0.05$ ); 两组生活质量改善率比较差异也有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。**结论** ERCC1、RRM1、TYMS、TUBB3 联合检测及基于其基础上的个体化化疗对晚期非小细胞肺癌患者具有安全性高、针对性强、毒副作用小等优点, 明显改善患者预后, 提高患者的生活质量。

**关键词:** 非小细胞肺癌, 晚期; 基因检测; 切除修复交叉互补基因 1; 核苷酸还原酶 M1; 胸苷酸合成酶; 3 型  $\beta$  微管蛋白; 个体化治疗

中图分类号: R 734.2 文献标识码: B 文章编号: 1674 - 8182(2015)06 - 0736 - 04

原发性支气管肺癌是当前世界上发病率和病死率均较高的一种恶性肿瘤, 非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 大约占到所有肺癌总数的 80%<sup>[1-2]</sup>, 很多患者初诊时已属局部晚期或存在远处转移。因此, 化疗仍是 NSCLC 的主要治疗手段之一。

随着化疗药物的不断研发、进步, 晚期 NSCLC 患者的生存期已较前大大延长。然而, 常用化疗药物的原发或继发性耐药仍是导致患者疾病进展的一个重要原因<sup>[3]</sup>。此外化疗药物在不同患者之间疗效差异较大, 因此针对一些身体素质较差的晚期患者, 如何选择高效能低毒性的化疗药物成为能否延长患者生存期的关键。近年来, 随着肺癌分子病理学研究的飞速发展, 以及对肺癌发病机制及其生物学行为研究的不断深入, 个体之间独特的临床因素以及肿瘤异质的生物学行为与基因背景的不均一性密切相关, 因此通过

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2015.06.015

基金项目: 辽宁省阜新市 2014 年度卫生类科技计划项目 (2014W22)

通讯作者: 景凯, E-mail: fxfl\_2886278@sina.com

检测患者肿瘤细胞的基因、蛋白等生物学指标,从而选择最佳的化疗方案,有可能实现 NSCLC 的个体化治疗。本研究通过检测与 NSCLC 治疗与预后密切相关的四种基因,即切除修复交叉互补基因 1 (excision repair cross-complementing 1, ERCC1)、核苷酸还原酶 M1 (ribonucleotide reductase subunit 1, RRM1)、胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TYMS)及 3 型  $\beta$  微管蛋白 ( $\beta$ -Tubulin-III, TUBB3) 在 NSCLC 中的表达情况,分析其表达水平与 NSCLC 患者预后的关系,来指导晚期 NSCLC 患者的化疗方案的选择。

### 1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2012 年 10 月至 2014 年 10 月阜新矿务局集团总医院收治的晚期 NSCLC 患者共 72 例,其中男 34 例,女 38 例;年龄 42 ~ 79 岁,平均 60.4 岁。入组的晚期 NSCLC 患者包括确诊时已属局部晚期病变,无法切除或已经存在远处转移,以外还包括根治术后复发的 NSCLC,所有患者均经病理组织学明确诊断为 NSCLC。将患者随机分为两组,其中研究组 40 例,对照组 32 例。两组性别、年龄、病理分化、病理类型比较差异均无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ )。见表 1。所有患者及家属均知情同意,且通过医院伦理委员会审核。

1.2 基因 mRNA 检测 通过荧光定量 PCR 技术,检测肺癌标本中 ERCC1、RRM1、TYMS、TUBB3 的 mRNA 表达量,根据上述基因 mRNA 表达量的中位数为界,分为“高表达组”和“低表达组”。

表 1 两组 NSCLC 晚期患者一般资料比较 (例)

项目	研究组 (n = 40)	对照组 (n = 32)	P 值
性别			
男	18	16	0.673
女	22	16	
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$ )	59.8 $\pm$ 9.5	61.2 $\pm$ 9.8	0.976
病理分化			
低	17	14	0.971
中	12	10	
高	11	8	
病理类型			
腺癌	23	18	0.916
鳞癌	17	14	

1.3 治疗方法 所有患者治疗前均签署化疗知情同意书。每个患者均接受不少于 4 个疗程的化疗。对照组均采用 DP (多西紫杉醇 + 顺铂) 方案。研究组根据 ERCC1、RRM1、TYMS、TUBB3 基因 mRNA 表达量来选择具体的化疗方案,即 DPF (多西紫杉醇 + 顺铂 + 5-FU) 方案 17 例 (均为低表达)、DP 方案

(TUBB3、ERCC1 低表达)、DF (多西紫杉醇 + 5-FU) 方案 (TUBB3、TYMS 低表达)、GP (吉西他滨 + 顺铂) 方案 (RRM1、ERCC1 低表达)、GF (吉西他滨 + 5-FU) 方案 (RRM1、TYMS 低表达)。

1.4 观察指标 (1) 化疗疗效评价:遵循 WHO 实体瘤治疗疗效评价标准 (RECIST) 进行化疗效果评估。评价包括完全缓解 (CR)、部分缓解 (PR)、疾病稳定 (SD) 和疾病进展 (PD), CR + PR 计算有效率。(2) 生活质量:参照 KPS 评分标准进行,检测并记录所有入组患者的 KPS 评分;治疗后再行 KPS 检测并进行对比。将治疗后 KPS 评分较治疗前增加 10 分以上为改善,减少 10 分以上为下降,增加或减少的分值  $< 10$  分为稳定。(3) 不良反应评价:观察化疗期间骨髓抑制程度、肝肾功能变化并对化疗期间毒副反应进行分级。(4) 预后评价:包括疾病中位进展时间 (mTTP)、中位生存时间 (mOS)。

1.5 预后随访 随访方式采用住院、门诊复查以及电话随访,总生存期 (OS) 为首次化疗后至随访截止日期 (2015 年 1 月 31 日),或因复发、转移导致死亡以及失访的日期。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件对数据进行分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用独立样本  $t$  检验,计数资料比较采用  $\chi^2$  检验,生存分析采用 Kaplan-Meier 法。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 2 结果

2.1 化疗疗效、生活质量和不良反应比较 研究组的有效率明显高于对照组 (80.0% vs 56.2%,  $P < 0.05$ );研究组与对照组 mOS 分别为 16.7 个月和 12.2 个月,两组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );对照组不良反应包括骨髓抑制、肝肾损害,其发生率均明显高于研究组 ( $P < 0.05$ );两组生活质量改善率比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

2.2 预后生存 生存分析表明,研究组患者的总生存期明显长于对照组,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2、图 1。

表 2 两组 NSCLC 晚期患者采用不同化疗方案治疗后观察指标比较 (例 (%))

组别	例数	有效率 (%)	mOS (月)	生活质量改善	骨髓抑制	肝肾损害
研究组	40	80.0	16.7	34 (85.0)	1 (2.5)	1 (2.5)
对照组	32	56.2	12.2	20 (62.5)	7 (21.9)	8 (25.0)
P 值		0.030	0.021	0.028	0.018	0.015

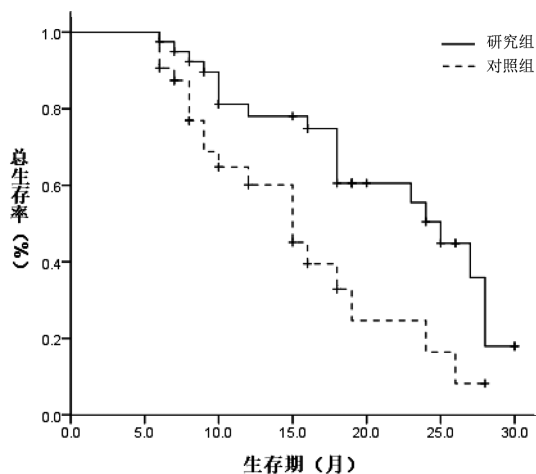


图1 两组晚期 NSCLC 患者不同化疗方案后生存曲线

### 3 讨论

近年来,尽管分子靶向药物给晚期 NSCLC 的治疗带来了曙光,但化疗在 NSCLC 临床综合治疗中仍占有非常重要的地位。然而,在临床工作中经常发现,即便采用相同化疗方案和相同药物剂量的情况下,两个相同病理类型的患者的化疗效果却大相径庭。随着对肺癌化疗药物耐药性研究的不断深入,研究者发现肿瘤组织中某些特定基因的表达水平会影响其合成蛋白质的表达,并进一步导致其生物学活性的变化。这就解释了为何同一种抗癌药物会对不同患者产生不同的疗效及预后。因此,如何在治疗前通过相应的检测手段对患者疗效及预后做出预估,如何针对不同患者实施个体化治疗成为研究的重点。

目前大家较为熟知的能够预测化疗疗效的基因主要包括 ERCC1、RRM1、TYMS 及 TUBB3, 研究人员发现 ERCC1 与铂类耐药及预后密切相关, RRM1 可能影响吉西他滨治疗的耐药及预后, TYMS 与氟类药物及培美曲塞耐药及预后密切相关, TUBB3 则与抗微管类药紫杉醇类及长春碱类治疗耐药及预后相关。

ERCC1 是人体内一种 DNA 核酸内切酶的编码基因,其编码的蛋白是核酸切除修复途径(nucleotide excision repair, NER)的限速酶,而 NER 是顺铂耐药的重要机制之一<sup>[4]</sup>。因此 ERCC1 表达量的多少直接影响 DNA 修复过程。多项临床研究已证实 ERCC1 与铂类化疗药物耐药的发生密切相关<sup>[5]</sup>。Lord 等<sup>[6]</sup>收集 56 例晚期 NSCLC 患者,通过分析患者 ERCC1 mRNA 的表达量与吉西他滨联合顺铂方案化疗效果的关系,研究人员发现 ERCC1 的表达量与化疗疗效之间存在明显相关性, ERCC1 mRNA 高表达组患者的中位生存期明显低于低表达组(20.4 周 vs 61.6 周,  $P < 0.05$ )。Cobo 等<sup>[7]</sup>关于 ERCC1 mRNA 的表达水平与铂类药物关系一项多中心、随机 III 期对照研究

发现,将纳入研究的 444 例患者根据 ERCC1 mRNA 表达量进行分组,最终发现选择性用药组的客观缓解率明显高于非选择用药组(59.7% vs 39.3%,  $P < 0.05$ )。2009 年美国国立综合癌症网络(NCCN)正式提出在接受铂类药物化疗前,应对患者进行 ERCC1 mRNA 表达检测,根据检测结果选择相应治疗可提高治疗有效率和患者生存率。

RRM1 是细胞 DNA 合成与修复过程中的一个关键酶<sup>[8]</sup>,它与 RRM2 共同构成核糖核苷酸还原酶(ribose nucleotide reductase, RR),而 RR 是 DNA 合成的限速酶。因此,RRM1 主要通过控制 DNA 的合成来控制细胞的增殖。吉西他滨是一种嘧啶类抗代谢药物,通过转化成具有活性的二磷酸核苷及三磷酸核苷,达到抑制细胞 DNA 合成,从而消灭肿瘤细胞<sup>[9]</sup>,故 RRM1 表达量增加与吉西他滨耐药的发生密切相关。Rosell 等<sup>[10]</sup>证实,在一项顺铂联合吉西他滨方案化疗的研究中, RRM1 mRNA 表达量较高组患者的中位生存期(13.7 个月)明显低于表达量较低组(3.6 个月),差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。Lee 等<sup>[11]</sup>亦发现 RRM1 表达阴性的患者,其生存期(12.9 个月 vs 5.1 个月,  $P < 0.05$ )和疾病控制率(56% vs 23%,  $P < 0.05$ )方面均高于 RRM1 阳性患者。两项研究均显示 NSCLC 患者的 RRM1 表达与肿瘤的预后呈负相关。

TYMS 是一种叶酸依赖性酶,参与构成三磷酸胸腺嘧啶,而后者是 DNA 合成和修复的基本原料。培美曲塞作为新一代的多靶点抗叶酸制剂,通过抑制包括 TYMS、二氢叶酸还原酶和甘氨酸酰胺核苷甲酰转移酶的合成,控制参与嘌呤和嘧啶的合成,达到抑制肿瘤生长的目的<sup>[12]</sup>。Liu 等<sup>[13]</sup>研究发现给予培美曲塞化疗的患者中, TYMS 低表达的患者的预后更佳。Scagliotti 等<sup>[14]</sup>也证实,培美曲塞治疗肺腺癌的疗效要优于肺鳞癌。而肺鳞癌患者的 TYMS 表达量明显高于其他病理类型。此外,有一项关于多西他赛联合培美曲塞二线治疗 NSCLC 的 III 期随机对照研究中发现,鳞癌患者应用多西他赛的疗效优于培美曲塞<sup>[15]</sup>;而在非鳞癌患者中,培美曲塞的疗效优于多西他赛<sup>[16]</sup>。说明 TYMS 表达量的增加可能导致培美曲塞耐药。

有研究证实, TUBB3 编码的 3 型微管蛋白(Tubulin-III)与抗微管化疗药物的敏感性密切相关。细胞内微管蛋白具有维持细胞形态、参与细胞运动和分裂增殖等多种功能,是细胞骨架的重要组成部分。紫杉醇类等抗微管类药物则作用于微管蛋白,通过促进微管蛋白聚合抑制解聚以保持微管蛋白稳定,从而抑



制细胞有丝分裂和增殖。多项研究发现 TUBB3 mRNA 低表达的患者更能从抗微管类化疗药物中获益,中位生存期更长。反之,高表达可使药物对细胞内微管蛋白的特异性降低,从而产生耐药。

本研究中,对所有患者均检测 ERCC1、TYMS、RRM1、TuBB3 的表达,再根据其表达量选择合适的化疗方案。从而给患者提供适合的治疗方案,避免反复选择药物,造成治疗时间的延误和治疗费用的浪费。与全部采用 DP 方案的对照组相比,实验组个体化化疗的有效率及不良反应发生率明显低于对照组,其生活质量改善率也明显高于对照组。研究组的预后指标(mOS = 16.7 个月)亦显著超过对照组(mOS = 12.2 个月),与文献所述基本一致,验证了 ERCC1 与铂类、RRM1 与吉西他滨、TYMS 与氟类药物、TUBB3 与紫杉醇类的药物疗效相关。此外,本研究在随访中还注意到,对照组由于对化疗的耐受性不佳,仅有 52% 的患者完成 6 周期的化疗,研究组由于化疗的耐受性好,87% 的患者接受一线化疗达到 6 个周期,而化疗疗程也可能是影响患者预后的重要因素。

综上所述,目前常用化疗药物的相关标志物在指导临床用药方面具备极大的潜力。通过检测针对不同化疗药物的基因 mRNA 表达量,再结合肿瘤病理学组织类型,来筛选适合晚期 NSCLC 患者个体的化疗药物,将明显提高患者治疗的针对性、敏感性、有效性和安全性,并提高其生活质量、延长患者生存期,为未来 NSCLC 个体化治疗奠定基础。

#### 参考文献

- [1] Parkin DM. Global cancer statistics in the year 2000 [J]. *Lancet Oncol*, 2001, 2(9): 533 - 543.
- [2] Reynolds C, Obasaju C, Schell MJ, et al. Randomized phase III trial of gemcitabine - based chemotherapy with in situ RRM1 and ERCC1 protein levels for response prediction in non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(34): 5808 - 5815.
- [3] 汪宏斌, 杨俊泉, 王晓红, 等. 晚期非小细胞肺癌 ERCC1 表达与顺铂化疗疗效相关性研究 [J]. *第四军医大学学报*, 2009, 30(4): 351 - 354.
- [4] Altaf R, Liang X, Yu JJ, et al. Excision repair cross complementing-group 1: gene expression and platinum resistance [J]. *Int J Mol Med*, 2004, 14(6): 959 - 970.
- [5] 莫汉文, 李丽萍, 刘琦, 等. ERCC1、BRCA1、RRM1 表达与含铂类方案治疗晚期 NSCLC 的关系研究 [J]. *中国临床研究*, 2011, 24(4): 283 - 284.
- [6] Lord RV, Brabender J, Gandara D, et al. Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(7): 2286 - 2291.
- [7] 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.
- [8] Smith BD, Karp JE. Ribonucleotide reductase: an old target with new potential [J]. *Leuk Res*, 2003, 27(12): 1075 - 1076.
- [9] Pereira S, Fernandes PA, Ramos MJ. Mechanism for ribonucleotide reductase inactivation by the anticancer drug gemcitabine [J]. *J Comput Chem*, 2004, 25(10): 1286 - 1294.
- [10] Rosell R, Danenberg KD, Alberola V, et al. Ribonucleotide reductase messenger RNA expression and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(4): 1318 - 1325.
- [11] Lee JJ, Maeng CH, Baek SK, et al. The immunohistochemical overexpression of ribonucleotide reductase regulatory subunit M1 (RRM1) protein is a predictor of shorter survival to gemcitabine-based chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *Lung Cancer*, 2010, 70(2): 205 - 210.
- [12] Sorensen JB. Pharmacokinetic evaluation of pemetrexed [J]. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 2011, 7(7): 919 - 928.
- [13] Liu Y, Yin TJ, Zhou R, et al. Expression of thymidylate synthase predicts clinical outcomes of pemetrexed-containing chemotherapy for non-small-cell lung cancer: a systemic review and meta-analysis [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2013, 72(5): 1125 - 1132.
- [14] Scagliotti GV, Parikh P, von Pawel J, et al. Phase III study comparing cisplatin plus gemcitabine with cisplatin plus pemetrexed in chemotherapy-naive patients with advanced-stage non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(21): 3543 - 3551.
- [15] Peterson P, Park K, Fossella F, et al. Is pemetrexed more effective in adenocarcinoma and large cell lung cancer than in squamous cell carcinoma? A retrospective analysis of a phase III trial of pemetrexed vs docetaxel in previously treated patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *J Thorac Oncol*, 2007, 2 Suppl 4: s851.
- [16] 何锋, 李远航, 林钟轩. 非小细胞肺癌患者 ERCC1、TYMS、TUBB3、RRM1 表达及 EGFR (E19/E21) 突变率的检测 [J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2011, 5(5): 1447 - 1450.

收稿日期: 2015 - 02 - 15 修回日期: 2015 - 03 - 20 编辑: 王国品