

## ERCC1、RRM1 预测 NSCLC 患者 GP 方案化疗敏感性的对比研究

张 菁,朱晓莉,张 立,林 勇

(东南大学附属中大医院呼吸内科,江苏 南京 210009)

**[摘要]** **目的:** 对比切除修复交叉互补基因 1 (excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1, ERCC1) 和核苷酸还原酶 M1 (ribonucleotide reductase M1, RRM1) 低表达患者选择健择联合顺铂 (gemcitabine and cisplatin, GP) 方案和未经筛选经验性选用 GP 方案治疗晚期非小细胞肺癌 (non-small-cell lung carcinoma, NSCLC) 的临床疗效。**方法:** 采用前瞻性的方法, 根据组织标本是否适宜使用免疫组织化学方法检测分子标志物, 在确诊为晚期 NSCLC 的患者中, ERCC1 和 RRM1 低表达者归为 A 组, 未经分子标志物检测的经验治疗者归为 B 组, 经过 4~6 个周期的 GP 方案化疗, 观察两组的疗效、无进展生存期 (progressive-free survival, PFS)、总生存期 (overall survival, OS) 及化疗过程中的不良反应。**结果:** 基于分子标志物结果选用 GP 方案较经验性选用 GP 方案有效率明显提高 ( $\chi^2 = 5.377, P = 0.02$ ), PFS 明显延长 ( $P = 0.03$ ), 差异有统计学意义; 两组 OS 无显著性差异; 不良反应无明显差异。**结论:** 对 ERCC1 和 RRM1 低表达患者选择 GP 方案可以明显提高化疗有效率。

**[关键词]** 切除修复交叉互补基因 1; 核苷酸还原酶 M1; 非小细胞肺癌; 化疗

**[中图分类号]** R374.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2013)01-105-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20130123

### Comparison study with ERCC1 and RRM1 to predict clinical efficacy of chemotherapy in NSCLC patients

Zhang Qiang, Zhu Xiaoli, Zhang Li, Lin Yong

(Department of Respiration Medicine, Zhongda Hospital Affiliated to Southeast University, Nanjing 210029, China)

**[Abstract]** **Objective:** To compare the clinical efficacy of chemotherapy in late stage NSCLC by two types of methodologies: selective gemcitabine and cisplatin (GP) treatment based on ERCC1 and RRM1 low expression *vs.* non-selective standard treatment.

**Methods:** This prospective, open study was based on whether target tissue is appropriate for immunohistochemical detection of molecular markers. The enrolled late stage NSCLC patients were divided into two groups, including the group A: low expression in ERCC1 and RRM1 markers, and the group B: no molecular marker pre-selection. After 4-6 weeks treatment with GP chemotherapy, the clinical outcome, progressive-free survival (PFS), overall survival (OS) and toxic/adverse reactions from chemotherapy were compared between the two groups. **Results:** The Group A (GP method based on ERCC1 and RRM1) has shown significant improvement in efficacy ( $\chi^2 = 5.377, P = 0.02$ ) as well as statistically significant extension in PFS ( $P = 0.03$ ) comparing to the Group B. There was no significant difference in OS and toxic/adverse reactions between the two groups. **Conclusion:** GP chemotherapy method which selected based on ERCC1 and RRM1 low expression could significantly improve the efficacy and PFS in patients of NSCLC late stage.

**[Key words]** excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1; ribonucleotide reductase M1; non-small cell lung cancer; chemotherapy

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(1): 105-109]

目前全球肺癌病死率高居恶性肿瘤的首位<sup>[1]</sup>, 非小细胞肺癌 (non-small-cell lung carcinoma, NSCLC) 占肺癌的 75%~80%, 近 2/3 患者初诊时已属中晚期, 失去手术根治的机会, 因此化疗作为综合

治疗的重要组成部分, 在晚期 NSCLC 治疗中占有非常重要的地位。铂类联合新细胞毒药物的两药联合化疗是体力状况 (performance status, PS) 评分 0~1 分的晚期 NSCLC 的标准一线治疗方案, 有效率 25%~

30%<sup>[2]</sup>,中位生存期8个月,1年存活率达33%。

切除修复交叉互补基因1(excision repair cross-complementing rodent repair deficiency, complementation group 1, ERCC1)和核苷酸还原酶 M1(ribonucleotide reductase M1, RRM1)作为参与 DNA 合成和损伤修复的分子,目前已有大量文献证实可有效预测铂类和吉西他滨的药物敏感性<sup>[3-4]</sup>,但多属回顾性资料,且往往仅限于单个标志物研究<sup>[4-5]</sup>,尚未见联合检测的前瞻性研究报道。本研究自2007年1月~2011年6月采用前瞻性开放入组的方法,根据组织标本是否适宜免疫组织化学方法检测分子标志物为依据,将一线治疗的晚期 NSCLC 患者分为治疗组和对照组,比较两组治疗方案的有效性及其安全性,探讨 ERCC1 联合 RRM1 检测指导健择联合顺铂(gemcitabine and cisplatin, GP)方案在晚期 NSCLC 患者化疗中的价值。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

2007年1月~2011年6月入住东南大学附属中大医院呼吸科并确诊为 NSCLC 的患者,入组标准:经细胞学或病理学确诊并完成全身评估的初诊未经治疗的ⅢB或Ⅳ期 NSCLC 的患者,经 CT 扫描证实具有可测量的肿瘤病灶,美国东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG)PS 评分0~1分,18岁以上,预计生存期3个月以上,依从性好。排除标准:妊娠期或哺乳期妇女,PS 评分 $\geq 2$ 分,存在严重合并症、肝肾功能严重障碍患者,合并脑转移,之前接受过化疗,预计生存期少于3个月,自身原因拒绝化疗的患者。研究经东南大学附属中大医院伦理委员会审核批准,所有患者均签署知情同意书。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 标本采集

通过气管镜或经 CT 引导下经皮肺穿刺活检获取病理标本,对于病理组织充足、适宜使用免疫组化方法检测分子标志物者,根据检测结果分组,A组:选取 ERCC1、RRM1 无表达和低表达者为免疫组化指导治疗组;B组:病理组织不充足或仅有细胞学证据而无法使用免疫组化方法检测的患者作为对照组。两组均给予吉西他滨联合顺铂治疗,具体剂量:吉西他滨 1 000 mg/m<sup>2</sup>,第1、8天;顺铂 25 mg/m<sup>2</sup>,第1~3天,21 d 为1个周期。

#### 1.2.2 标本 ERCC1 及 RRM1 的蛋白水平检测

经气管镜肺活检或经皮肺活检获取的病理组织

经 10% 的福尔马林固定液常温固定后送中大医院病理科,通过免疫组织化学法行 ERCC1 和 RRM1 蛋白表达的检测。检测 ERCC1 的一抗为鼠抗人 ERCC1 单克隆抗体,二抗为鼠兔通用抗体;检测 RRM1 的一抗为兔抗人 RRM1 多克隆抗体,二抗为鼠兔通用抗体。抗体均购自北京中杉金桥试剂公司。具体操作步骤根据说明书按照标准免疫组织化学技术进行操作。以 PBS 代替一抗作为阴性对照,用已知阳性切片作阳性对照,由2位病理科医生独立评分,分析组织切片的免疫染色情况:0 定义为无表达,+ 定义为低表达;+ + 为中表达,+ + + 及以上定义为高表达。

### 1.2.3 疗效评估

所有患者化疗前均完善病史采集、体格检查、血常规及生化检查、血液肿瘤标志物检查、5 mm 层厚的胸部螺旋 CT(包括上腹部和肾上腺)、骨 ECT 及头颅核磁共振检查进行全身评估。每组患者至少化疗2个周期,每2个周期化疗结束后予以复查以进行疗效评价。依据实体瘤疗效评价的 RECIST 标准评价近期疗效,分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、疾病稳定(stable disease, SD)和进展(progression disease, PD),有效率(response rate, RR)为 CR+PR。无进展生存期(progressive-free survival, PFS)为入组至疾病进展或死亡时间;总生存期(overall survival, OS)为入组至死亡或最后1次临床随访的时间,作为研究终点。如疗效达 PR 或 SD,则继续原方案至4~6个周期。病情进展、死亡或出现难以耐受继续化疗的不良反应时则终止化疗。化疗不良反应按 WHO 抗癌药物急性及亚急性不良反应分度标准,分为0~Ⅳ度。

### 1.3 统计学方法

使用 SPSS17.0 统计软件,率的比较使用  $\chi^2$  检验,生存分析使用 Kaplan-Meier 法及 log-rank 检验, $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者特征

自2007年1月~2011年6月,共63例确诊ⅢB或Ⅳ期 NSCLC 患者入组。2组临床基本情况见表1,组间性别、年龄、病理类型有可比性( $P > 0.05$ )。

### 2.2 组间治疗效果比较

2组间疗效的比较见表2。A组及B组的治疗有效率分别为63.2%和31.8%。经统计学检验,2组间比较差异具有统计学意义( $\chi^2=5.377, P=0.020$ )。

表 1 入组患者的基本情况

**Table 1 The basic situation of patients in the study**

基本特征	A 组 (n=19)	B 组 (n=44)
性别(例)		
男	12	29
女	7	15
年龄(岁)	29~73	34~85
中位年龄(岁)	51	53
病理类型[n(%)]		
鳞癌	8(42.1)	19(43.2)
腺癌	11(57.9)	25(56.8)
分期(例)		
ⅢB 期	7	18
Ⅳ期	12	26

表 2 2 组化疗疗效的比较

**Table 2 The comparison of chemotherapy efficiency between the two groups**

观察指标	A 组	B 组
CR(例)	0	0
PR(例)	12	14
SD(例)	6	20
PD(例)	1	10
治疗有效率(%)	63.2	31.8
中位 PFS(d)	173	129
中位 OS(d)	285	257

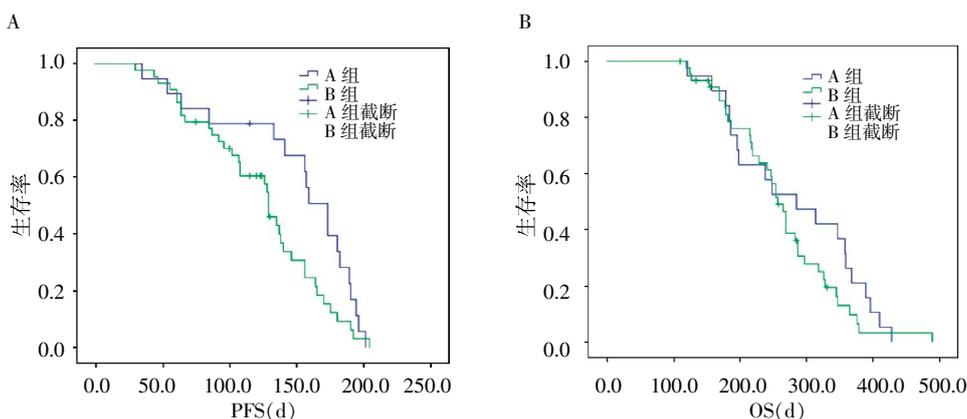
2 组 PFS 及 OS 的生存曲线图见图 1。A 组中位 PFS 较 B 组明显延长( $P = 0.030$ ), 差异具有统计学意义; 2 组间 OS 比较, 差异无统计学意义( $P = 0.271$ )。

2.3 2 组化疗不良反应比较

治疗过程中 2 组出现的主要不良反应为骨髓抑制、恶心呕吐等胃肠道反应及肝肾功能异常(表 3), 经卡方检验, 2 组间不良反应比较无统计学差异; 其中 A 组出现Ⅲ级以上的血液、胃肠道及肝肾功能不良反应分别为 1、0、1 例, B 组分别为 4、3、1 例, 在治疗过程中经积极干预, 如皮下注射集落细胞刺激因子、促红细胞生成素, 静注中枢止吐药, 静注或口服保肝药等, 2 组患者的不良反应均可得到控制和缓解。

3 讨论

目前 NSCLC 的标准治疗方案是以铂类为基础的包括一个第三代化疗药在内的两药联合方案, 但尚没有大规模循证医学证据证明哪种方案在 OS 方面更有优势。吉西他滨联合顺铂作为标准化疗方案之一, 广泛应用于各期 NSCLC, 近来有学者对 15 个随机试验进行 Meta 分析<sup>[6]</sup>, 证实吉西他滨联合顺铂方案的 OS 及 PFS 均优于其他含铂新药方案。在临床工作中也因其价格适中、患者耐受度好, 将其作为一线治疗的首选。但 GP 方案并非适用于所有患者, 抗药性多来源于基因水平的差异, 如何进一步提高化疗疗效和



A: 两组 PFS 生存曲线比较; B: 两组 OS 生存曲线比较。

图 1 两组 PFS(A) 间和 OS(B) 生存曲线比较

Figure 1 Survival curves of PFS(A) and OS(B) between the two groups

患者生活质量, 个体化治疗日益受到关注。

ERCC1 是核酸外切修复家族中重要成员, 是 DNA 基因修复中的一个关键因素<sup>[7]</sup>, ERCC1 低表达者对含铂类化疗药的辅助化疗显示良好的获益率<sup>[8]</sup>,

而 ERCC1 mRNA 高表达和 ERCC1 的上调则导致铂类药物的耐药。Olaussen 等<sup>[9]</sup>曾通过回顾性研究证实 ERCC1 水平在铂类联合化疗方案中的指导价值。Cobo 等<sup>[4]</sup>的前瞻性随机临床研究, 通过 RT-PCR 法

表3 2组不良反应的比较

Table 3 The comparison of toxicity between two groups

[n(%)]

不良反应	A组		B组	
	0	I+II+III+IV	0	I+II+III+IV
血液毒性	6(31.6)	13(68.4)	11(25.0)	33(75.0) <sup>1)</sup>
胃肠道反应	5(26.3)	14(73.7)	18(40.9)	26(59.1) <sup>2)</sup>
肝肾功能异常	13(68.4)	6(31.6)	30(68.2)	14(31.8) <sup>3)</sup>

与A组比较,<sup>1)</sup>P = 0.589,<sup>2)</sup>P = 0.270,<sup>3)</sup>P = 0.985。

检测 ERCC1 mRNA 水平指导治疗, ERCC1 低水平表达使用顺铂联合多西他赛, ERCC1 高水平表达使用多西他赛联合吉西他滨, 对照组使用顺铂联合多西他赛, 结果基因检测指导治疗组 RR 有改善, 但2组的 PFS 和 OS 无差异。近期1项 Meta 分析结果认为 ERCC1 作为铂类药物的预测指标尚不成熟<sup>[10]</sup>。

RRM1 是 DNA 合成途径中的限速酶, 肿瘤细胞 RRM1 的表达水平增高会使其 DNA 的合成及化学损伤的修复效率提高, 从而导致吉西他滨耐药性的增加, 因而 RRM1 是核苷类似物吉西他滨敏感性的重要预测因子<sup>[11]</sup>。Gong 等<sup>[12]</sup>通过 Meta 分析进一步证实晚期 NSCLC 中 RRM1 阴性或低表达患者, 含吉西他滨的方案更有效, 预后更好。高志强等<sup>[13]</sup>通过免疫组织化学法检测晚期 NSCLC 组织中的 RRM1 蛋白表达, 发现 RRM1 高表达组的化疗有效率(31.1%)低于 RRM1 低表达组(41.3%), 进一步证实晚期化疗的 NSCLC 患者中 RRM1 蛋白的表达水平与肿瘤细胞对吉西他滨耐药及患者预后密切相关。

Simon 等<sup>[14]</sup>通过前瞻性 II 期临床研究, 根据实时定量 RT-PCR 方法检测晚期 NSCLC 肺活检标本 ERCC1 和 RRM1 的 mRNA 水平选择不同的两药方案化疗, 观察个体化治疗的可行性及临床效果, 但并未对不同方案的疗效进行对照研究。国内有学者对手术切除肿瘤及其周边组织通过半定量 RT-PCR 法行 ERCC1、RRM1 等分子标志物联合检测, 术后患者随机接受不同方案化疗, 分析各种标志物水平与化疗方案疗效的相关性, 结果认为联合检测基因的 mRNA 表达有利于化疗疗效个体化的评估从而延长患者生存时间<sup>[15]</sup>。

气管镜组织活检或经皮肺穿刺活检的组织量没有手术标本丰富, 但近年来已有研究证实经气管镜或肺穿刺活检获取的有限肿瘤组织进行基因表达检测的有效性和适用性<sup>[16]</sup>, 本研究进一步验证了活检小标本分子标志物测定的可行性。

分子标志物的定量检测方法近年来不断发展<sup>[8]</sup>, 目前免疫组织化学<sup>[9]</sup>、实时 RT-PCR<sup>[16]</sup>和原位蛋白定量分析<sup>[17]</sup>等方法的有效性在回顾性研究中都得到证

实, 但究竟哪种方法更具有优势、更值得临床推广应用, 尚有待进一步研究<sup>[18]</sup>。免疫组化由于结果稳定、受限条件少、临床适用性好有望得到推广, 不足之处为结果半定量, 易受检测人员主观因素影响。

本研究采用免疫组化法检测气管镜活检或肺穿刺组织的分子标志物指导临床用药, 改善了患者的 PFS, 提高了化疗有效率, 提示有一定的临床参考意义, 但是否较其他方法具有更高的经济-效益比尚需同步对照研究。即使有众多数据支持, 但至今肺癌的个体化治疗仍多为回顾性研究, 研究方法也存在较大差异, 制定标准的国际通用检测方法及组织更加严谨的多中心前瞻性研究势在必行。

本研究采用 GP 方案治疗, 经积极的预处理, 2 组不良反应的发生率无差异, 其中 III 级以上的严重不良反应发生率均较低, 从而证实晚期 NSCLC 患者选择 GP 方案治疗具有良好的耐受性, 有助于提高患者化疗的依从性。

本研究根据活检肺组织是否足够行免疫组化检测进行分组, 具有一定的随机性, 研究结果提示基于分子标志物选择 GP 化疗方案的有效率明显优于经验性 GP 方案化疗组, 中位 PFS 有明显改善, 个体化治疗具有可行性。但两组 OS 比较差异无统计学意义, 可能由于入组病例数尚不够多, 有待进一步积累病例或进行多中心研究、通过更加严谨的前瞻性随机对照研究以期进一步证实。

## [参考文献]

- [1] Jemal A, Brang F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90
- [2] Ardizzone A, Boni L, Tiseo M, et al. Cisplatin-versus carboplatin-based chemotherapy in first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer: an individual patient data meta-analysis[J]. J Natl Cancer Inst, 2007, 99(11): 847-857
- [3] Davies AM, Mack PC, Lara Jr PN, et al. Predictive molecular markers: has the time come for routine use in lung cancer? [J]. J Natl Compr Canc Netw, 2004, 2(2): 125-131
- [4] 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
- [5] Vilmar A,Santoni-Rugiu E,Sorensen JB. ERCC1,toxicity and quality of life in advanced NSCLC patients randomized in a large multicentre phase III trial [J]. *Eur J Cancer*,2010,46(9):1554-1562
- [6] Le Chevalier T,Scagliotti G,Natale R,et al. Efficacy of gemcitabine plus platinum chemotherapy compared with other platinum containing regimens in advanced non-small-cell lung cancer;a meta-analysis of survival outcomes[J]. *Lung Cancer*,2005,47(1):69-80
- [7] Fisher LA,Bessho M,Bessho T. Processing of a psoralen DNA interstrand cross-link by XPF-ERCC1 complex in vitro[J]. *J Biol Chem*,2008,283(3):1275-1281
- [8] Simon GR,Ismail-Khan R,Beppler 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
- [9] Olausson 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
- [10] Hubner RA,Riley RD,Billingham LJ,et al. Excision repair cross-complementation group 1 (ERCC1) status and lung cancer outcomes;a meta-analysis of published studies and recommendations[J]. *PLoS One*,2011,6(10):e25164
- [11] Beppler G,Kusmartseva I,Sharma S,et al. RRM1 modulated *in vitro* and *in vivo* efficacy of gemcitabine and platinum in non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*,2006,24(29):4731-4737
- [12] Gong W,Zhang X,Wu J,et al. RRM1 expression and clinical outcome of gemcitabine-containing chemotherapy for advanced non-small-cell lung cancer:A meta-analysis [J]. *Lung Cancer*,2012,75(3):374-380
- [13] 高志强,韩宝惠,沈洁,等. 晚期非小细胞肺癌 RRM1 蛋白表达与吉西他滨联合顺铂化疗疗效的关系[J]. *中国肺癌杂志*,2011,14(4):340-344
- [14] 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
- [15] Leng XF,Chen MW,Xian L,et al. Combined analysis of mRNA expression of ERCC1,BAG-1,BRCA1,RRM1 and TUBB3 to predict prognosis in patients with non-small cell lung cancer who received adjuvant chemotherapy[J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2012,31(1):25-35
- [16] Ceppi P,Volante M,Novello S,et al. ERCC1 and RRM1 gene expressions but not EGFR are predictive of shorter survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin and gemcitabine[J]. *Ann Oncol*,2006,17(12):1818-1825
- [17] McCabe A,Dolled-Filhart M,Camp RL,et al. Automated quantitative analysis (AQUA) of in situ protein expression,antibody concentration,and prognosis [J]. *J Natl Cancer Inst*,2005,97(24):1808-1815
- [18] Zalcmán G,Bergot E,Creveuil C,et al. Integrating biomarkers into clinical trials;methodological issues for a new paradigm in nonsmall cell lung cancer[J]. *Curr Opin Onco*,2011,23(1):106-111

[收稿日期] 2012-09-21