

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.16.010

ERCC1 和 RRM1 在非小细胞肺癌组织中的表达及意义*

杨波^{1,2} 谢先锋¹ 赵瑞星¹ 任宏^{2△} 何爱丽³

(1 陕西省西安市第四医院 陕西 西安 710000;

2 西安交通大学第一附属医院 陕西 西安 710000;3 西安交通大学 陕西 西安 710000)

摘要 目的:观察非小细胞肺癌中 ERCC1 和 RRM1 表达,并探讨其临床意义。**方法:**选择本院及西安交通大学第一附属胸外二科于 2013 年 1 月-2013 年 6 月收治的经术后病理证实为非小细胞肺癌患者 40 例作为研究对象,均采取免疫组化技术测定组织中 ERCC1 和 RRM1 表达水平,并分析 ERCC1 和 RRM1 表达水平与患者年龄、病理分期、是否淋巴结转移等相关因素之间的关系。**结果:**40 例非小细胞肺癌患者中,ERCC1 表达阴性 28 例(70.0%),阳性 12 例(30.0%);RRM1 表达阴性 9 例(22.5%),阳性 31 例(77.5%)。ERCC1 和 RRM1 表达阴性非小细胞肺癌患者生存期均优于表达阳性患者,均 $P<0.05$ 。患者非小细胞肺癌 TNM 分期及淋巴结转移转移情况与 ERCC1 及 RRM1 表达情况具有相关性,均 $P<0.05$ 。**结论:**非小细胞肺癌 ERCC1 和 RRM1 表达水平测定有助于预后情况,具有重要临床价值。

关键词:非小细胞肺癌;切除修复交叉互补基因 1;核糖核苷酸还原酶 M1

中图分类号:R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)16-3042-04

Expression of ERCC1 and RRM1 Expression in Patients with Non Small Cell Lung Cancer and Its Clinical Significance*

YANG Bo^{1,2}, XIE Xian-feng¹, ZHAO Rui-xing¹, REN Hong^{2△}, HE Ai-li³

(1 Fourth Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710000, China; 2 First Affiliated Hospital, Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710000, China;

3 Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of ERCC1 and RRM1 in non small cell lung cancer, and to explore its clinical significance. **Methods:** 40 patients were selected from the 2nd Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, who were confirmed non-small cell lung cancer. Then the levels of ERCC1 and RRM1 were detected by immunohistochemistry technology, and the relationship between ERCC1 and RRM1 expression, patient age, and disease stage were analyzed. **Results:** 40 patients with non small cell lung cancer, the expression of ERCC1 was negative in 28 patients (70 %) and positive in 12 patients (30 %); the expression of RRM1 was negative in 9 cases (22.5 %) and positive in 34 patients (77.5 %). The survival time of patients with ERCC1 and RRM1 in negative expression was better than that of positive expression patients ($P<0.05$). ERCC1 and RRM1 expression in the patients with non small cell lung cancer had correlation with TNM staging and lymph node metastasis ($P<0.05$). **Conclusions:** The determination of ERCC1 and RRM1 expression in non small cell lung cancer is helpful for prognosis, so it has important clinical value.

Key words: Non small cell lung cancer; ERCC1; RRM1

Chinese Library Classification(CLC): R734.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)16-3042-04

前言

研究表明,肺癌已成为全球范围内死亡率最高的恶性肿瘤,其每年新增患者高达 120 万例,且 80% 为非小细胞癌^[1]。肺癌的发生发展严重威胁患者生命安全,并给家庭带来极大心理压力及经济负担。临床极为重视非小细胞肺癌的治疗,据统计,65%-70% 肺癌患者经确诊时已处于疾病晚期,已丧失手术治疗机会^[2,3]。对于此类患者,化疗为主要治疗手段,切除修复交叉

互补基因 1 (excision repair cross-complementing group 1, ERCC1) 及核糖核苷酸还原酶 M1 (ribonucleotide reductase M1, RRM1) 为非小细胞肺癌常见靶点,其表达情况与化疗疗效具有重要关联^[4-6]。本研究旨在探讨 ERCC1 和 RRM1 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

* 基金项目:国家自然科学基金项目(30971284)

作者简介:杨波(1973-),男,硕士,主任医师,主要研究方向:胸部肿瘤治疗

△ 通讯作者:任宏,男,博士,主治医师,主要研究方向:胸部肿瘤治疗

(收稿日期:2015-01-17 接受日期:2015-01-30)

选择本科室收治的 40 例经手术切除术后病理检查证实为非小细胞肺癌患者入选本研究,均经患者及家属知情同意,且符合伦理委员会基本要求。患者男 23 例,女 17 例,年龄 43~69 岁,平均(51.2±8.3)岁。

1.2 入选标准

纳入标准:1) 术后病例检查明确为非小细胞肺癌患者;2) 术前均未进行化疗及其他抗肿瘤治疗;3) 均签署知情同意。排除标准:1) 其他类型肺癌患者,肺脓肿、支气管扩张患者等;2) 合并先天性心脏病、严重肝肾功能不全及其他恶性肿瘤患者;3) 不能耐受手术者。

1.3 方法

1.3.1 资料收集 收集 40 例患者临床资料,记录患者年龄、性别、病理分期,是否淋巴结转移,并随访至 2014 年 10 月,记录患者生存时间。

1.3.2 免疫组化染色 应用 EnVision 二步法,兔抗人单克隆抗体(Rs-0891R)购自瑞齐生物科技有限公司,免疫组化 SP 试剂盒(PV-9000)购自北京唐生物科技有限公司。40 例患者手术切除标本均经 10 %中性甲醛溶液固定,常规脱水,石蜡包埋,4 μm 切片,3 %H₂O₂ 37 ℃ 孵育 10 min;抗原修复,枸橼酸缓冲液煮沸、冷却、PBS 冲洗,血清工作液封闭,37 ℃ 放置 10 min, DAB 显色,流水冲洗、苏木素复染,并采取常规脱水透明后中性树胶封片,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.4 免疫组化结果判断标准

依据 Olausson 等标准,ERCC1 定位于癌细胞细胞核,RRM1 定位于胞质,根据染色程度及染色阳性细胞百分比进行评定,随机挑选 5 个视野,每个视野计数 100 个癌细胞。阳性判定标准为计数中粒细胞细胞核或者胞浆中出现棕黄色染色颗粒,依据肿瘤细胞染色程度及染色阳性细胞百分比进行评分,其中,0 分为基本不染色,1 分为胞浆或者细胞核中出现稀疏棕色颗粒,2 分为出现较多棕黄色颗粒,3 分为弥漫粗大棕黄色颗粒。将染色程度评分乘以着色阳性细胞占计数细胞百分比得出 H 值,H 值为 0 分表示阴性(-),H 值为 0-1 为弱阳性(+),H 值为 1-2 为中度阳性(++),H 值为 2-3 为强阳性(+++)^[9]。

1.5 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,并采取 t 检验,采用 χ^2 检验计数资料, $P < 0.05$ 认为差异显著,有统计学意义。

2 结果

2.1 非小细胞肺癌免疫组化 ERCC1 和 RRM1 蛋白表达结果

40 例非小细胞肺癌患者中,ERCC1 表达阴性 28 例(70.0 %),阳性 12 例(30.0 %);RRM1 表达阴性 9 例(22.5 %),阳性 31 例(77.5 %)。见表 1。

表 1 非小细胞肺癌免疫组化 ERCC1 和 RRM1 蛋白表达结果比较[n(%)]

Table 1 Results of ERCC1 and RRM1 expression in Non-small cell lung cancer by immunohistochemistry [n(%)]

Items	Case	(-)	(+)	(++)	(+++)
ERCC1	40	28(70.0 %)	8(20.0 %)	3(7.5 %)	1(2.5 %)
RRM1	40	9(22.5 %)	24(60.0 %)	4(10.0 %)	3(7.5 %)

2.2 ERCC1 和 RRM1 表达结果不同非小细胞肺癌患者生存期比较

ERCC1 和 RRM1 表达阴性非小细胞肺癌患者生存期均优于表达阳性患者($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 ERCC1 和 RRM1 表达结果不同患者生存期比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the survival of patients with different expression of ERCC1 and RRM1 ($\bar{x} \pm s$)

ERCC1	Case	Survival time (mon)	RRM1	Case	Survival time (mon)
Positive	12	17.6±2.5	Positive	31	16.5±3.1
Negative	28	20.1±2.9	Negative	9	19.4±2.7
t		7.785	t		9.122
P		<0.05	P		<0.05

2.3 非小细胞肺癌患者 ERCC1 表达相关影响因素分析

非小细胞肺癌患者 TNM 分期及淋巴结转移情况与 ERCC1 表达水平具有相关性($P < 0.05$)。非小细胞肺癌患者年龄、性别、吸烟史及临床分型与 ERCC1 表达无明显相关关系($P > 0.05$)。见表 3。

2.4 非小细胞肺癌患者 RRM1 表达相关影响因素分析

非小细胞肺癌患者 TNM 分期和淋巴结转移情况与 RRM1 表达水平具有相关性($P < 0.05$)。非小细胞肺癌患者年龄、性别、吸烟史及临床病理分型与 RRM1 表达无明显相关关系($P > 0.05$)。

见表 4。

3 讨论

相关研究表明,肺癌已成为我国发病率及死亡率最高的恶性肿瘤。化疗为晚期非小细胞癌的主要治疗手段,辅助化疗可有效改善完全切除的非小细胞肺癌患者生存状况^[7,8]。还有研究表明,对于晚期肺癌,采取铂类化疗其有效率较低,约为 20 %~40 %,患者中位生存期不足 10 个月^[9]。也有文献报道,辅助化疗方案仅使 5 %~15 %患者于长期生存中受益,而更多患者可

表 3 非小细胞肺患者 ERCC1 表达相关影响因素分析[n(%)]
Table 3 Analysis of related factors in non-small cell lung in patients with ERCC1 expression(%)

		Positive	Negative	X ²	P
Age(year)	<60	6(27.3%)	16(72.7%)	0.173	>0.05
	≥ 60	6(33.3%)	12(66.7%)		
Gender	Male	7(30.4%)	16(69.6%)	0.005	>0.05
	Female	5(29.4%)	12(70.6%)		
Smoking	Yes	9(31.0%)	20(69.0%)	0.054	>0.05
	No	3(27.3%)	8(72.7%)		
Pathologic types	SC	7(28.0%)	18(72.0%)	0.127	>0.05
	Adenocarcinoma	5(33.3%)	10(66.7%)		
TNM stages	I/II	2(7.1%)	26(92.9%)	23.220	<0.05
	III	10(83.3%)	2(16.7%)		
Lymphatic metastasis	Yes	8(42.1%)	11(57.9%)	4.525	<0.05
	No	4(19.0%)	17(81.0%)		

表 4 非小细胞肺癌患者 RRM1 表达相关影响因素分析[n(%)]
Table 4 Analysis of related factors of RRM1 expression in non-small cell lung patients (%)

		Positive	Negative	X ²	P
Age(year)	<60	15(68.2%)	7(31.8%)	0.637	>0.05
	≥ 60	16(57.1%)	12(42.9%)		
Gender	Male	17(73.9%)	6(26.1%)	0.399	>0.05
	Female	14(82.4%)	3(17.6%)		
Smoking	Yes	23(79.3%)	6(20.7%)	0.198	>0.05
	No	8(72.7%)	3(27.3%)		
Pathologic types	SC	20(80.0%)	5(20.0%)	0.239	>0.05
	Adenocarcinoma	11(73.3%)	4(26.7%)		
TNM stages	I/II	20(71.4%)	8(28.6%)	4.038	<0.05
	III	11(91.7%)	1(8.3%)		
Lymphatic metastasis	Yes	17(89.5%)	2(10.5%)	5.119	<0.05
	No	14(66.7%)	7(33.3%)		

能仅承受了化疗药物毒性,对患者疾病治疗带来负面影响^[10]。因此,评估患者化疗后疗效对患者治疗具有重要意义。

目前,ERCC1 及 RRM1 成为非小细胞肺癌化疗中常见肿瘤标靶^[11]。ERCC1 含 10 个外显子,主要参与脱氧核苷酸链切割及损伤修复,其表达产物经 DNA 修复酶缺乏互补基因形成异二聚体,对核酸损伤进行识别等^[12,13]。多项研究表明,ERCC1 表达水平与铂类药物化疗效果呈密切相关,ERCC1 低水平表达患者对含铂类化疗方案较为敏感,ERCC1 表达水平高患者则耐药性较强^[14-17]。RRM1 为核苷酸还原酶 M 亚单位,作为肿瘤抑制因子的同时,还可作为吉西他滨分子靶点,其过度表达可产生耐药性^[18]。据文献证实,RRM1 表达水平与吉西他滨药物疗效具有密切相关,RRM1 表达水平低者应用吉西他滨治疗后疗效显著更优^[19,20]。

本研究结果显示,非小细胞肺癌患者中 ERCC1、RRM1 均有一定程度表达,而表达水平较低患者生存期较长,生存状况更优(P<0.05)。结果说明,ERCC1 水平的高低在一定程度上可反映机体核苷酸切除修复水平。提示我们,恶性肿瘤患者血清 ERCC1 高表达可使处于停滞期的损伤 DNA 双链结构修复,导致机体耐药,影响疗效及生存状况。

综上所述,ERCC1、RRM1 水平与 TNM 分期及淋巴结转移转移情况具有密切相关,晚期、淋巴结转移患者 ERCC1、RRM1 水平愈高,临床应注意并及时采取治疗措施。

参考文献(References)

- [1] Charles BS, Joseph S, Friedberg A, et al. Eli Glatstein, Photodynamic therapy for the treatment of non-small cell lung cancer [J]. J Thorac Dis, 2012, 4(1): 63-75

- [2] Emma S, Thomas H, George R. Molecular pathways and therapeutic targets in lung cancer[J]. *Oncotarget*, 2014, 5(6): 1392-1433
- [3] Alberto A, Stefano C, Alice I, et al. EGFR-Targeted Therapy for Non-Small Cell Lung Cancer: Focus on EGFR Oncogenic Mutation [J]. *Int J Med Sci*, 2013, 10(3): 320-330
- [4] Markus C, Bernd K. Transcriptional regulation of human DNA repair genes following genotoxic stress: trigger mechanisms, inducible responses and genotoxic adaptation [J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(18): 8403-8420
- [5] Matthias B, Enni M, Barbara L, et al. Base Excision Repair in Physiology and Pathology of the Central Nervous System [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(12): 16172-16222
- [6] Neal IL, Philip TC, Mary BB, et al. Molecular Testing Guideline for Selection of Lung Cancer Patients for EGFR and ALK Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline from the College of American Pathologists, International Association for the Study of Lung Cancer, and Association for Molecular Pathology[J]. *J Thorac Oncol*, 2013, 8(7): 823-859
- [7] Shimizu J, Horio Y, Osada H, et al. mRNA expression of RRM1, ERCC1 and ERCC2 is not associated with chemosensitivity to cisplatin, carboplatin and gemcitabine in human lung cancer cell lines [J]. *Respirology*, 2008, 13(4): 510-517
- [8] Li PY, Hu XM, Gan Y, et al. Mechanistic Insight into DNA Damage and Repair in Ischemic Stroke: Exploiting the Base Excision Repair Pathway as a Model of Neuroprotection [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(10): 1905-1918
- [9] Adebanye FF, Barbara O. Regulation of endonuclease activity in human nucleotide excision repair [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2011, 10(7): 722-729
- [10] Fadi SF, Wissam H. Targeted therapies in non-small cell lung carcinoma: what have we achieved so far?[J]. *Ther Adv Med Oncol*, 2013, 5(4): 249-270
- [11] Tae-Hong K, Joyce TR, Aziz S, et al. Regulation of nucleotide excision repair activity by transcriptional and post-transcriptional control of the XPA protein [J]. *Nucleic Acids Res*, 2011, 39(8): 3176-3187
- [12] Sanath RW, Md FA, Hai X, et al. Targeting the Large Subunit of Human Ribonucleotide Reductase for Cancer Chemotherapy [J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2011, 4(10): 1328-1354
- [13] Zhang CG, Liu GQ, Huang MX. Ribonucleotide reductase metallocofactor: assembly, maintenance and inhibition [J]. *Front Biol (Beijing)*, 2014, 9(2): 104-113
- [14] Nicholas OR, Betty KS. Imexon enhances gemcitabine cytotoxicity by inhibition of ribonucleotide reductase [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011, 67(1): 183-192
- [15] Ramon AM, Dânia SM, Rui M. Epidermal growth factor receptor and K-Ras in non-small cell lung cancer-molecular pathways involved and targeted therapies[J]. *World J Clin Oncol*, 2011, 2(11): 367-376
- [16] Charles AK, Kathryn W, Adam P, et al. Dicker, Ribonucleotide Reductase Expression in Cervix Cancer: a Radiation Therapy Oncology Group Translational Science Analysis [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2013, 23(4): 615-621
- [17] Charles AK, Valdir CC. Radiosensitization of human cervical cancer cells by inhibiting ribonucleotide reductase: Enhanced radiation response at low-dose-rates [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2011, 80(4): 1198-1204
- [18] Shu F, Wang ZH. EGFR mutations as a prognostic and predictive marker in non-small-cell lung cancer[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2014, 8(11): 1595-1611
- [19] Muhammad F, Mansour AM, Khawaja F, et al. Individualised Treatment of Metastatic Non-Small-Cell Lung Carcinoma (NSCLC) [J]. *Sultan Qaboos Univ Med J*, 2013, 13(2): 202-217
- [20] Timothy AY, Sanjay P. Toward precision medicine with next-generation EGFR inhibitors in non-small-cell lung cancer [J]. *Pharmacogenomics Pers Med*, 2014, 7(3): 285-295

(上接第 3018 页)

- [17] Wu MM, Sun H, Nan Q. Expression and clinical significance of PLUNC protein in nasal polyp and chronic sinusitis tissue [J]. *Ear Nose Throat J*, 2012, 91(7): 282-285
- [18] 陆奇胜, 张佳, 张涵, 等. 天然免疫蛋白 PLUNC 在鼻息肉中的表达及与鼻息肉临床特征的关联性 [J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2014, 28(11): 764-767
- Luo Qi-shen, Zhang Jia, Zhang Han, et al. Expression of palate, lung, and nasal epithelial clone in primary and recurrent nasal polyps [J]. *J Clin Otorhinolaryngology Head Neck Surg*, 2014, 28(11): 764-767
- [19] 梁芳, 曾朝阳, 李桂源. 鼻咽癌相关固有免疫分子及其潜在临床转化前景[J]. *转化医学杂志*, 2013, (01): 1-3
- Liang Fang, Zeng Zhao-yang, Li Gui-yuan. Nasopharyngeal carcinoma related innate immune molecules and their potential value in translational medicine[J]. *Translational Med J*, 2013, (01): 1-3
- [20] Wang K, Demir IE, D'Haese JG, et al. The neurotrophic factor neurturin contributes toward an aggressive cancer cell phenotype, neuropathic pain and neuronal plasticity in pancreatic cancer [J]. *Carcinogenesis*, 2014, 35(1): 103-113