

## · 临床研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.03.017

**ERCC1 在鼻咽癌组织中的表达及其与顺铂化疗敏感性的关系**

曹轶林\*, 邱小芬, 刘陶文, 徐李容, 屈元姣, 陈 熙(广西壮族自治区南溪山医院 肿瘤科, 广西 桂林 541002)

[摘要] 目的: 探讨核苷酸切除修复交叉互补基因 1( excision repair cross-complementing 1, ERCC1 )在鼻咽癌( nasopharyngeal carcinoma, NPC )组织中的表达及其与顺铂化疗敏感性的关系。方法: 选取广西南溪山医院 2006 年 6 月至 2008 年 6 月确诊的 82 例中晚期 NPC 患者, 接受顺铂 + 5-FU 的基础化疗加放疗, 应用免疫组化法检测 NPC 癌组织中 ERCC1 蛋白的表达及其中的 34 例患者癌旁上皮组织( 对照组)中 ERCC1 蛋白的表达。结果: NPC 癌旁上皮组织中 ERCC1 的阳性率为 88.2%, 显著高于 NPC 癌组织中 ERCC1 的阳性率 63.4% ( $P < 0.05$ )。ERCC1 表达与 NPC 患者年龄有关 ( $P < 0.05$ ), 而与性别、T 分期、N 分期、M 分期无关 ( $P > 0.05$ )。ERCC1 蛋白表达阳性的 NPC 患者化疗有效率为 36.5%, ERCC1 阴性患者化疗有效率为 63.3%, 两者差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论: ERCC1 在中晚期 NPC 癌组织中低表达, ERCC1 表达与顺铂 + 5-FU 方案的疗效呈负相关, 检测 ERCC1 表达有助于预测 NPC 患者对顺铂化疗的敏感性。

[关键词] 鼻咽癌; 核苷酸切除修复交叉互补基因 1( ERCC1 ); 顺铂; 免疫组织化学染色

[中图分类号] R739.63; R730.5

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)03-0292-04

**Expression of ERCC1 in nasopharyngeal carcinoma tissues and its relationship with chemosensitivity to cisplatin**

CAO Yi-lin\*, QIU Xiao-fen, LIU Tao-wen, XU Li-rong, QU Yuan-jiao, CHEN Xi( Department of Oncology, Nanxisan Hospital of Guangxizhuang Autonomous Region, Guilin 541002, Guangxi, China )

[Abstract] **Objective:** To examine the expression of ERCC1 ( excision repair cross-complementing 1, ERCC1 ) in nasopharyngeal carcinoma ( NPC ) tissues and its relationship with chemosensitivity to cisplatin-based chemotherapy. **Methods:** Eighty-two patients with advanced NPC, who were diagnosed at Nanxisan hospital of Guangxizhuang autonomous region from June 2006 to June 2008, were treated with cisplatin + 5-FU regimen. The expression of ERCC1 in 82 nasopharyngeal carcinoma ( NPC ) tissues and in 34 adjacent normal tissues was detected by immunohistochemistry assay. **Results:** The positive rate of ERCC1 expression in NPC adjacent normal tissues was significantly higher than that in NPC tissues ( 88.2% vs 63.4%,  $P < 0.05$  ). Expression of ERCC1 in NPC was positively correlated with patients' age, but not with gender, T stage, N stage and M stage ( $P > 0.05$  ). The efficacy rate of cisplatin-based chemotherapy in ERCC1 positive NPC patients was significantly higher than that in ERCC1 negative patients ( 63.3% vs 36.5%,  $P < 0.05$  ). **Conclusion:** ERCC1 is lowly expressed in advanced NPC tissues; its expression is negatively correlated with the chemosensitivity to cisplatin + 5-FU regimen. ERCC1 can be used to predict the sensitivity of NPC patients to cisplatin-based chemotherapy.

[Key words] nasopharyngeal neoplasm; excision repair cross-complementing 1( ERCC1 ); cisplatin; immunohistochemistry

[ Chin J Cancer Biother, 2009, 16( 3 ): 292-295 ]

鼻咽癌( nasopharyngeal carcinoma, NPC )具有浸润性强、易远处转移等生物学特性, 就诊时约 75% 为中晚期。以往 NPC 以放疗为首选, 近年推荐放疗前实施新辅助化疗, 认为可提高整体疗效<sup>[1-3]</sup>, 而且以顺铂 + 5-FU 化疗方案最为有效<sup>[4,6]</sup>。然而有部分患者对化疗耐药, 给治疗带来盲目性。目前, 药物敏感相关基因检测的快速发展, 使个体化化疗成为可能。核苷酸切除修复交叉互补基因 1( excision

repair cross-complementing 1, ERCC1 )是核苷酸切除修复系统最关键的基因, 其正常表达是维持核苷酸

[基金项目] 广西桂林市科学研究与技术开发计划项目( No. 20070514 )。Supported by the Scientific Research and Technological Development Program of Guilin, Guangxi Province ( No. 20070514 )

[作者简介] 曹轶林( 1967- ), 男, 硕士, 广西桂林市人, 副主任医师, 从事肿瘤内科临床研究工作, E-mail: cylvyl-310310@163.com

\* 通讯作者( Corresponding author ). E-mail: cylvyl-310310@163.com

修复酶功能的分子基础,过度表达可使停滞在 G<sub>2</sub>/M 期损伤的脱氧核糖核酸(DNA)迅速修复,导致其对顺铂耐药<sup>[7]</sup>。国外研究<sup>[8]</sup>发现,ERCC1 表达上调的头颈部癌患者,其生存率低,对顺铂耐药性增加。本研究应用免疫组化法检测中晚期 NPC 患者癌组织中 ERCC1 表达,探讨 ERCC1 在 NPC 中表达及其与顺铂化疗敏感性的关系,希望为中晚期 NPC 患者实施个体化新辅助化疗提供预测指标。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本的采集

随机选取广西壮族自治区南溪山医院 2006 年 6 月至 2008 年 6 月经病理确诊为中晚期 NPC 患者病理标本 82 例为治疗组,其中男 59 例,女 23 例,患者年龄 29 ~ 71 岁,中位年龄 52 岁。按 1992 年鼻咽癌福州会议分期如下: T1 7 例, T2 21 例, T3 35 例, T4 19 例; N0 9 例, N1 21 例, N2 38 例, N3 14 例; M0 69 例, M1 13 例, II 期 17 例, III 期 42 例, IV 期 23 例。所有患者均符合以下几个条件: (1) 预期生存期 6 个月以上; (2) 体力评分 0 ~ 2 级; (3) 中性粒细胞  $\geq 1.5 \times 10^9/L$ , 血小板  $\geq 100 \times 10^9/L$ , 血肌酐  $< 106 \mu\text{mol}/L$ , 总胆红素、ALT、AST、AKP 不超过正常值的 2.5 倍; (4) 患者均签知情同意书。采集其中 34 例 NPC 患者癌旁上皮组织(距癌灶 0.5 ~ 3 mm)为对照组,其中男 25 例,女 9 例,年龄 25 ~ 70 岁,中位年龄 50 岁。

### 1.2 免疫组化法检测鼻咽癌组织及癌旁上皮组织中 ERCC1 的表达

主要试剂有浓缩型鼠抗人 ERCC1 单克隆抗体(一抗)、即用型快捷免疫组化 Maxvision™ 鼠抗兔-HRP(二抗)广谱检测试剂盒及 DAB 显色试剂盒,均购自福建迈新公司。组织切片经常规脱蜡水化后,置入 0.01 mol/L、pH 6.0 柠檬酸盐缓冲液中进行高温高压抗原修复(压力锅喷气 1.5 min),自然冷却取出切片自来水冲洗后, PBS 冲洗 5 min  $\times$  3 次;滴加 3% 过氧化氢室温下孵育 10 min, PBS 冲洗 5 min  $\times$  3 次;滴加一抗 ERCC1(1:50 稀释),置 4 °C 冰箱过夜, PBS 冲洗 5 min  $\times$  3 次;滴加二抗,室温下孵育 15 min, PBS 冲洗 5 min  $\times$  3 次; DAB 显色,苏木精复染,中性树胶封片。镜下观察采用双盲法,在切片上、下、左、右、中部位各随机选取一个染色均匀的 400 倍视野,观察 5 个视野中细胞染色情况,以细胞核出现棕黄色颗粒为 ERCC1 阳性细胞,计算阳性细胞百分率(总细胞数不少于 1 000 个)。结果判定如下:阳性细胞百分率  $< 10\%$  为阴性(-);  $10\% \sim 25\%$  为弱阳性(+);  $26\% \sim 75\%$  为中度阳性(++);

为强阳性(+++)。

### 1.3 治疗方法

患者接受化疗和放疗综合治疗模式。顺铂 + 5-FU 联合化疗方案为:顺铂 30 mg/m<sup>2</sup>, 静滴, 1 ~ 3 d; 5-FU 500 mg/m<sup>2</sup>, 静滴 6 h, 1 ~ 5 d, 21 d 为一疗程,完成 2 个疗程后评价化疗疗效。放疗采用 <sup>60</sup>Co 或直线加速器,常规分割照射,5 次/周,1.8 ~ 2.0 Gy/次,鼻咽平均剂量:74 Gy(70 ~ 78 Gy),颈部及锁骨:50 ~ 79 Gy。

### 1.4 疗效评定

按照世界卫生组织规定的实体瘤近期疗效评价标准判定。完全缓解(CR):肿瘤完全消失超过 1 个月以上;部分缓解(PR):病灶最大横径及其最大垂直径乘积缩小 50% 以上,持续超过 1 个月;疾病稳定(SD):病灶两径乘积缩小不足 50%,增大不超过 25%,持续 1 个月以上;进展(PD):病灶两径的乘积增大 25% 以上或有新病灶出现;以 CR + PR 计算有效率。

### 1.5 统计学处理

用 SPSS13.0 统计软件对数据进行  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ERCC1 在中晚期 NPC 组织中的表达

免疫组化检测中晚期 NPC 组织中晚期 ERCC1 的表达(图 1),检测结果显示,实验组 82 例 NPC 组织中 ERCC1 表达阳性 52 例,阳性率为 63.4%(52/82);其中 9.6%(5/52)为强阳性(++),30.7%(16/52)为中度阳性(++),59.6%(31/52)为弱阳性(+). 对照组 34 例 NPC 癌旁上皮组织 ERCC1 阳性表达率为 88.2%(30/34),其中 43.3%(13/30)为强阳性(++),26.7%(8/30)为中度阳性(++),9.6%(9/30)为弱阳性(+). NPC 组织中 ERCC1 阳性表达显著低于 NPC 癌旁上皮组织,差异具有统计学意义( $\chi^2 = 4.528, P = 0.035$ ).

### 2.2 ERCC1 表达与中晚期 NPC 患者临床病理特征的关系

ERCC1 表达与 NPC 患者年龄有关:年龄  $< 60$  岁组的 ERCC1 表达率高于年龄  $\geq 60$  岁 NPC 患者组,而与性别、T 分期、N 分期、M 分期无关(表 1)。

### 2.3 中晚期 NPC 组织中 ERCC1 表达与化疗疗效的关系

82 例 NPC 患者的化疗总有效率(CR + PR)为 46.3%(38/82);ERCC1 阳性 NPC 患者化疗有效率为 36.5%(19/52),ERCC1 阴性 NPC 患者化疗有效

率为 63.3% (19/30), 两者差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 5.493, P = 0.019$ ), 提示 ERCC1 表达与顺铂 + 5-FU 化疗疗效呈负相关 (表 2)。

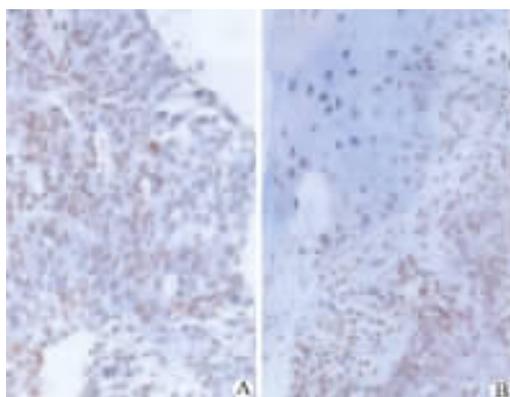


图 1 中晚期鼻咽癌及癌旁组织中 ERCC1 的表达 (×400)

Fig.1 Expression of ERCC1 in advanced nasopharyngeal carcinoma and adjacent normal tissues (×400)

A: Nasopharyngeal carcinoma tissues; B: Adjacent normal tissues

表 1 中晚期 NPC 患者 ERCC1 表达与临床特征的关系  
Tab.1 Relationship between clinical features and expression of ERCC1 in advanced NPC tissues

Group	N	ERCC1 [n(%) ]	$\chi^2$	P
Gender			0.045	0.832
Male	59	37(62.7)		
Female	23	15(65.2)		
Age			4.852	0.028
<60	51	37(72.5)		
≥60	31	15(48.4)		
N stage			1.804	0.614
N0	9	5(55.5)		
N1	21	12(57.1)		
N2	38	27(71.1)		
N3	14	8(57.1)		
T stage			1.776	0.183
T1	7	4(57.1)		
T2	21	11(52.4)		
T3	35	27(77.1)		
T4	19	10(52.6)		
M stage			0.000	1.000
M0	69	44(63.8)		
M1	13	8(61.5)		

表 2 中晚期 NPC 患者 ERCC1 表达与化疗疗效的关系  
Tab.2 Relationship between efficacy of chemotherapy and expression of ERCC1 in advanced NPC

Group	N	CR	PR	SD	CR + PR [n(%) ]
ERCC1 positive	52	0	19	33	19(36.5)*
ERCC1 negative	30	2	17	11	19(63.3)

\* P < 0.05 vs ERCC1 negative

### 3 讨论

ERCC1 基因位于染色体 19q13.2-13.3, 编码一种含有 297 个氨基酸的蛋白质, 这种蛋白质与 ERCC11、XPF 和 ERCC4 分子共同组成一复合体, 参与 DNA 链的切割和损伤修复<sup>[8]</sup>。ERCC1 是核苷酸切除修复最关键的酶, DNA 的修复能力是铂类化疗耐药的重要原因。研究<sup>[9]</sup>表明 ERCC1 参与非小细胞肺癌发病以及铂类化疗药物耐药, ERCC1 低水平表达患者的中位生存期高于 ERCC1 高表达患者。研究<sup>[10-13]</sup>发现在卵巢癌、食管癌、宫颈癌、胃癌、结肠癌以及头颈癌组织中 ERCC1 表达增加, 提示这些肿瘤患者的生存率低, 也预示着对顺铂的抗药性增加。本研究结果显示, NPC 患者中 ERCC1 表达阳性率为 63.4%, 显著低于 NPC 癌旁上皮组织的 88.2%。其原因可能与 ERCC1 编码的 DNA 修复酶与进行性 DNA 损伤在上皮细胞内积聚引发的癌变有关, 提示 ERCC1 在 NPC 发生和发展中起重要作用。ERCC1 基因表达与年龄也有关, 年龄 < 60 岁组患者 ERCC1 表达高于年龄 ≥ 60 岁组, 而与性别、T 分期、N 分期、M 分期无关, 其原因不详。

目前, NPC 仍以放射治疗为首选, 总的 5 年生存率约 50.0%, 而晚期 NPC ( III、IV ) 5 年生存率在 10% ~ 40%, 治疗失败的主要原因是局部复发或 ( 和 ) 远处转移<sup>[14-15]</sup>。中晚期 NPC 由于侵犯周围组织及区域淋巴结转移, 需扩大照射范围或增加剂量, 其不良反应也相应增加。研究<sup>[1-3]</sup>证实联合化疗和放疗治疗局部中、晚期鼻咽癌, 有利于迅速缓解症状、减少肿瘤荷瘤量、降低远处转移率和提高生存率, 且不增加放疗的不良反应。目前国内外公认的诱导化疗方案中顺铂 + 5-FU 是治疗头部肿瘤中最有效和安全的方案<sup>[4-6]</sup>, 其有效率为 50% ~ 60%, 其中 10% ~ 20% 患者达完全缓解。因此, 化疗前筛选出对顺铂敏感的患者可望提高疗效。国外学者已将化疗药物敏感试验用于指导肿瘤患者化疗, 对减少盲目性、延长病人生存期取得了显著效果<sup>[16-18]</sup>。本

研究结果显示,ERCC1 阴性表达患者化疗有效率为 63.3%,高于 ERCC1 阳性表达患者的 36.5% ( $P < 0.05$ ),提示 NPC 患者 ERCC1 表达与化疗疗效呈负相关,与 Jun<sup>[19]</sup>报道一致。这与 ERCC1 在 DNA 修复中的作用相关,尤其是 ERCC1 能使顺铂诱导的 DNA 络合物的清除增加<sup>[20-21]</sup>,从而降低了疗效。

总之,NPC 患者癌组织中 ERCC1 低表达,其 ERCC1 表达水平与 NPC 患者对顺铂联合 5-FU 化疗的敏感性密切相关,ERCC1 可望成为 NPC 患者化疗疗效的预测指标,为 NPC 患者制定个体化化疗方案提供依据。

### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] 蔡永广,符爱珍,劳逸. 新辅助化疗联合放疗治疗中晚期鼻咽癌疗效观察[ J ]. 现代肿瘤医学, 2007, 15( 2 ): 187-189.
- [ 2 ] 王凤明,孙健,朱莉,等. 放化疗综合治疗局部晚期鼻咽癌 113 例疗效观察[ J ]. 实用癌症杂志, 2007, 22( 1 ): 77-79.
- [ 3 ] Atasoy BM, Dane F, Yumuk PF, *et al.* Toxicity and feasibility analysis for cisplatin-based concomitant chemoradiotherapy in locally advanced nasopharyngeal carcinoma[ J ]. J Buon, 2008, 13( 1 ): 43-50.
- [ 4 ] 王芳,王汉渝,胡伟汉,等. 调强放疗联合西妥昔单抗及顺铂治疗晚期鼻咽癌[ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2008, 15( 5 ): 489-452.
- [ 5 ] 梁颖,高剑铭,胡伟汉,等. 诱导化疗联合同期放疗对局部晚期鼻咽癌的远期疗效[ J ]. 癌症, 2007, 26( 8 ): 885-889.
- [ 6 ] Hui EP, Ma BB, Leung SF, *et al.* Randomized phase II trial of concurrent cisplatin-radiotherapy with or without neoadjuvant docetaxel and cisplatin in advanced nasopharyngeal carcinoma[ J ]. J Clin Oncol, 2009, 27( 2 ): 242-249.
- [ 7 ] 谢方云,亓姝楠,胡伟汉,等. 泰素帝联合顺铂( TP )与顺铂联合 5-Fu( PF )方案治疗局部晚期鼻咽癌比较[ J ]. 癌症, 2007, 26( 8 ): 880-884.
- [ 8 ] Fujii T, Toyooka S, Ichimura K. ERCC1 protein expression predicts the response of cisplatin-based neoadjuvant chemotherapy in non-small-cell lung cancer[ J ]. Lung Cancer, 2008, 59( 3 ): 377-384.
- [ 9 ] Handra-Luca A, Hernandez J, Mountzios G, *et al.* Excision repair cross complementation group 1 immunohistochemical expression predicts objective response and cancer-specific survival in patients treated by cisplatin-based induction chemotherapy for locally advanced head and neck squamous cell carcinoma[ J ]. Clin Cancer Res, 2007, 13( 13 ): 3855-3859.
- [ 10 ] Olaussen KA, Mountzios G, Soria JC. ERCC1 as a risk stratifier in platinum-based chemotherapy for non small-cell lung cancer[ J ]. Curr Opin Pulm Med, 2007, 13( 4 ): 284-289.
- [ 11 ] 肖永营,宋勇,施毅,等. 非小细胞肺癌患者 ERCC1 蛋白表达与铂类标准方案化疗敏感性的关系研究[ J ]. 临床肿瘤学杂志, 2007, 12( 5 ): 339-342.
- [ 12 ] Smith S, Su D, Rigault de la Longrais IA, *et al.* ERCC1 genotype and phenotype in epithelial ovarian cancer identify patients likely to benefit from paclitaxel treatment in addition to platinum-based therapy[ J ]. J Clin Oncol, 2007, 25( 33 ): 5172-5179.
- [ 13 ] Kim MK, Cho KJ, Kwon GY, *et al.* ERCC1 predicting chemoradiation resistance and poor outcome in oesophageal cancer[ J ]. Eur J Cancer, 2008, 44( 1 ): 54-60.
- [ 14 ] Matsubara J, Nishina T, Yamada Y, *et al.* Impacts of excision repair cross-complementing gene 1( ERCC1 ), dihydropyrimidine dehydrogenase, and epidermal growth factor receptor on the outcomes of patients with advanced gastric cancer[ J ]. Br J Cancer, 2008, 98( 4 ): 832-839.
- [ 15 ] 陈创珍,李德锐,陈志坚,等. N0 期鼻咽癌上半颈预防照射的长期随访结果[ J ]. 癌症, 2008, 27( 3 ): 295-298.
- [ 16 ] Mi Z, Holmes FA, Hellerstedt B, *et al.* Feasibility assessment of a chemoresponse assay to predict pathologic response in neoadjuvant chemotherapy for breast cancer patients[ J ]. Anticancer Res, 2008, 28( 3B ): 1733-1740.
- [ 17 ] Shnitsar V, Eckardt R, Gupta S, *et al.* Expression of human organic cation transporter 3 in kidney carcinoma cell lines increases chemosensitivity to melphalan, irinotecan, and vincristine[ J ]. Cancer Res, 2009, 69( 4 ): 1494-1501.
- [ 18 ] Tozawa K, Oshima T, Kobayashi T, *et al.* Oxaliplatin in treatment of the cisplatin-resistant MKN45 cell line of gastric cancer[ J ]. Anticancer Res, 2008, 28( 4B ): 2087-2092.
- [ 19 ] Jun HJ, Ahn MJ, Kim HS, *et al.* ERCC1 expression as a predictive marker of squamous cell carcinoma of the head and neck treated with cisplatin-based concurrent chemoradiation[ J ]. Br J Cancer, 2008, 99( 1 ): 167-172.
- [ 20 ] Su D, Ma S, Liu P, *et al.* Genetic polymorphisms and treatment response in advanced non-small cell lung cancer[ J ]. Lung Cancer, 2007, 56( 2 ): 281-288.
- [ 21 ] Ota S, Ishii G, Goto K, *et al.* Immunohistochemical expression of BCRP and ERCC1 in biopsy specimen predicts survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin-based chemotherapy[ J ]. Lung Cancer, 2009, 64( 1 ): 98-104.

[ 收稿日期 ] 2009 - 02 - 22

[ 修回日期 ] 2009 - 05 - 11

[ 本文编辑 ] 徐红梅