

ercc1 基因在食管鳞癌中的表达及其临床意义

张天赐¹ 郭明发¹ 解明然¹ 林涛¹ 王华² 马冬春¹

摘要 目的 探讨切除修复交叉互补基因 1 (*ercc1*) 在食管鳞癌中的表达规律及临床意义。方法 采用免疫组织化学染色法检测 110 例食管鳞癌组织及 110 例远癌组织中 *ercc1* 蛋白的表达水平,分析 *ercc1* 基因的表达水平与食管鳞癌临床病理特征的关系以及预后之间的关系。结果 *ercc1* 基因在食管鳞癌组织中高表达的比率为 63% (69/110),在远癌组织中高表达的比率为 7% (8/110);*ercc1* 基因的阳性表达与食管鳞癌患者年龄 ($\chi^2 = 0.006, P = 0.940$)、性别 ($\chi^2 = 0.034, P = 0.854$)、肿瘤大小 ($\chi^2 = 1.844, P = 0.175$)、肿瘤浸润深度 ($\chi^2 = 0.020, P = 0.889$)、淋巴结转移 ($\chi^2 = 0.979, P = 0.323$) 以及长期饮酒史 ($\chi^2 = 3.816, P = 0.051$) 无关,而与肿瘤分化程度 ($\chi^2 = 4.542, P = 0.033$) 和临床分期 ($\chi^2 =$

6.203, $P = 0.013$) 存在相关性;并且 *ercc1* 基因的表达水平与食管鳞癌患者预后存在相关关系。结论 *ercc1* 基因在食管癌组织中的高表达的比率远高于远癌组织,*ercc1* 基因的表达与临床分期和分化程度存在相关关系,并且 *ercc1* 基因的高表达影响患者预后。检测食管鳞癌组织中 *ercc1* 基因的表达水平有助于判断肿瘤的恶性程度,对食管鳞癌患者的术后个体化治疗及预后分析具有一定的指导意义。

关键词 切除修复交叉互补基因 1;食管鳞癌;个体化治疗
中图分类号 R 735.1

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2017)06-0896-04
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2017.06.026

2017-02-13 接收

基金项目:新世纪优秀人才支持计划(编号:NCET-13-0644);安徽省
皖江学者计划

作者单位:¹ 安徽医科大学附属医院胸外科,合肥 230001

² 安徽医科大学第一附属医院肿瘤科,合肥 230022

作者简介:张天赐,男,硕士研究生;

马冬春,男,教授,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:madongchun126@126.com

王华,男,博士,教授,责任作者,E-mail:wanghua@ahmu.edu.cn

食管癌是世界九大恶性肿瘤之一,在全球范围内,其死亡率排第六位^[1]。我国食管癌的病理类型以鳞状细胞癌为主^[2]。临床上对于可手术切除的食管癌,主要治疗方法是手术治疗,但远期疗效仍较差。不少资料报道^[3-4]在食管癌切除术后适当给予相应剂量的辅助化疗可以使患者从中获益。随着人类基因组学研究的不断深入,根据药物敏感相关基因靶标检测的结果,结合患者的临床病理特征,选择术后辅助化疗用药方案,成为近年来关注的热点。

exhaled breath condensate (EBC) of patients with chronic obstructive pulmonary disease (COPD) and pulmonary hypertension (PH) and its clinical significance. **Methods** A total of 40 cases of patients with COPD and PH were randomly divided into the control group and the treatment group, 20 cases in each group. The control group was administered with the conventional treatments such as anti-infection, bronchodilator, antiasthma, expectorant and oxygen therapy; the treatment group was administered with Lipo PGE1 (10 $\mu\text{g}/\text{d}$, iv, for 10 days) besides the conventional treatments. ET-1 and IL-6 in EBC, pulmonary artery systolic pressure (PASP), arterial blood PaO_2 and PaCO_2 , lung function FEV_1/FVC , $\text{FEV}_1\%$ pred in both groups were assayed before and after the treatment. **Results**

There were no statistical difference between the two groups in the ET-1 and IL-6 in EBC, PASP, arterial blood PaO_2 and PaCO_2 , FEV_1/FVC , $\text{FEV}_1\%$ pred before the treatment. After the treatment, the ET-1, IL-6 in EBC, PASP and arterial blood PaCO_2 of the treatment group were lower than those of the control group ($P < 0.05$); the arterial blood PaO_2 , FEV_1/FVC , $\text{FEV}_1\%$ pred of the treatment group were higher than those of the control group ($P < 0.05$); The levels of ET-1 and IL-6 in EBC were both positively correlated with PASP in the two groups. **Conclusion** Lipo PGE1 can reduce the levels of ET-1 and IL-6 in EBC of patients with COPD and PH. ET-1 and IL-6 may become a curative effect judgment index of COPD and PH, which has a certain clinical significance.

Key words chronic obstructive pulmonary disease; pulmonary hypertension; Lipo PGE1; exhaled breath condensate; endothelin-1; interleukin-6

切除修复交叉互补基因 1 (excision repair cross complementing 1 *ercc1*) 属于核苷酸切除修复系统 (nucleotide excision repair, NER), 有修复 DNA 加合物以及其他 DNA 螺旋扭曲损伤的能力^[5]。现通过对 *ercc1* 蛋白在食管鳞癌及远癌组织中的表达情况进行研究, 初步探讨 *ercc1* 基因同肿瘤发生发展、侵袭转移以及与患者预后之间的关系, 为食管癌患者的临床诊疗及个体化用药提供理论依据, 同时为食管癌分子生物学方面的研究提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 病例资料 选取安徽医科大学附属省立医院胸外科 2012 年 8 月 ~ 2016 年 3 月确诊并进行根治性切除的食管鳞状细胞癌患者的癌组织以及远癌组织石蜡标本 110 例, 术后病理均经安徽医科大学附属省立医院病理科诊断证实。其中男 82 例, 女 28 例, 年龄 42 ~ 84 岁, 中位年龄 60.3 岁。所有患者临床资料完整, 病理类型为鳞状细胞癌。食管癌 TNM 分期按照国际抗癌联盟/美国癌症联合委员会 (UICC/AJCC) 2010 年分期标准进行。选取相应患者的远癌组织石蜡标本 110 例 (距离癌组织边缘 > 5 cm, 术后证实残端无癌残留) 作为对照。

1.2 实验方法及判定标准 采用 Supervision TM 检测法, 将获得食管癌及远癌组织蜡块标本制成 4 μm 厚的石蜡切片, 常规脱蜡水化后进行预处理, 以 3% H_2O_2 溶液室温培育 10 min 灭活内源性过氧化酶, 以柠檬酸盐缓冲液高压抗原修复, 滴加 1 : 100 稀释的 *ercc1* 单克隆抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱过夜, 0.1 mol/L PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min, 滴加即用型 IgG 抗体-HRP 多聚体 50 U, 室温下孵育 0.5 h, PBS 缓冲液洗涤 3 次, DAB 显色 5 min, 苏木精复染, 脱水, 二甲苯透明, 中性树脂固定封片。*ercc1* 主要呈细胞核染色, 在 $\times 400$ 视野下, 计算 1 000 个肿瘤细胞中阳性细胞数。参照 Wachters et al^[6] 的方法来分析 *ercc1* 基因的表达水平, 即低表达阳性细胞数 < 10%; 高表达 (+): 视野中阳性细胞 > 10%。

1.3 随访 所有患者采用电话随访的方式, 随访间隔每 3 个月 1 次, 随访时间截止至 2016 年 7 月, 获取患者的相关临床信息和生存情况, 包括影像学检查 (胸腹部 CT、PET-CT 等) 及病理穿刺检查结果等。

1.4 统计学处理 所有数据采用 SPSS 17.0 软件进行分析, *ercc1* 基因在食管鳞癌中的表达情况与远癌组织及不同临床病理特征之间关系的比较采用 χ^2 检验。生存分析应用 Kaplan-Meier 生存曲线比

较, 生存率采用 Log-Rank 检验比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *ercc1* 基因在食管鳞状细胞癌及远癌组织的表达情况 *ercc1* 基因在 110 例癌组织中高表达 69 例, 低表达 41 例; 在 110 例远癌组织中高表达 8 例, 低表达 102 例 ($\chi^2 = 34.774$, $P = 0.000$), 即 *ercc1* 基因在癌组织及远癌组织中的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1。

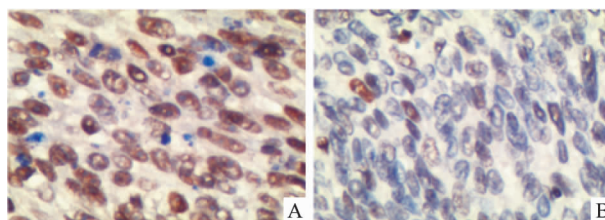


图 1 *ercc1* 基因在食管癌及癌旁组织中的表达 SP $\times 400$
A: *ercc1* 基因在食管癌中的表达; B: *ercc1* 基因在食管癌远癌组织中的表达

2.2 *ercc1* 基因在食管鳞癌中的表达情况与不同临床病理特征之间关系的比较 *ercc1* 基因在食管鳞癌不同的分化程度和病理分期之间的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 在不同性别、年龄、浸润深度、淋巴结转移、肿瘤大小和饮酒史之间的表达存在差异, 但差异无统计学意义。见表 1。

2.3 *ercc1* 基因高表达与预后之间的关系 *ercc1* 基因表达与食管鳞癌患者预后显著相关, Log-Rank 检验 $P < 0.05$, 单因素预后分析提示 *ercc1* 基因低表达患者预后优于 *ercc1* 基因高表达患者, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2。

3 讨论

ercc1 基因是核苷酸外切修复家族中的一个重要成员。该基因定位于人类染色体 19q13.2, 经转录加工可分别形成两个 mRNA, 其中大小 1.1 ku 的 mRNA 所编码的包含有 293 个氨基酸的蛋白质拥有核苷酸切除修复功能^[7]。*ercc1* 基因和着色性干皮病基因 F (xeroderma pigmentosum gene F, XPF) 都是 NER 的重要成员。两者是通过组成高活性的催化异质二聚体 *ercc1*-XPF 来发挥作用的。该二聚体可以特异性连接 5' 端, 拥有损伤识别和切除 5' 端两种作用^[8], 两者协同发挥切除修复受损 DNA 的作用。

ercc1 基因在食管鳞癌组织中的表达显著高

表1 *ercc1* 基因表达与食管鳞癌患者
临床病理之间的关系 [n(%)]

项目	n	<i>ercc1</i> 高 表达(+)	<i>ercc1</i> 低 表达(-)	χ^2 值	P 值
性别					
男	82	51(62)	31(38)	0.034	0.085
女	28	18(64)	10(36)		
年龄(岁)					
≤60	39	25(64)	14(36)	0.006	0.940
>60	71	45(63)	26(37)		
分化程度					
高分化	34	16(47)	18(53)	4.542	<0.050
中低分化	76	52(68)	24(32)		
浸润深度					
T1+T2	34	21(62)	13(38)	0.020	0.889
T3+T4	76	48(63)	28(37)		
淋巴结转移					
有	63	42(67)	21(33)	0.979	0.323
无	47	27(57)	20(43)		
病理分期					
I~II	59	33(56)	26(44)	6.203	<0.050
III~IV	51	40(78)	11(22)		
肿瘤大小(cm)					
≤3	42	23(55)	18(45)	1.844	0.175
>3	68	46(68)	22(32)		
酗酒史					
有	35	17(49)	18(51)	3.816	0.051
无	75	51(68)	24(32)		

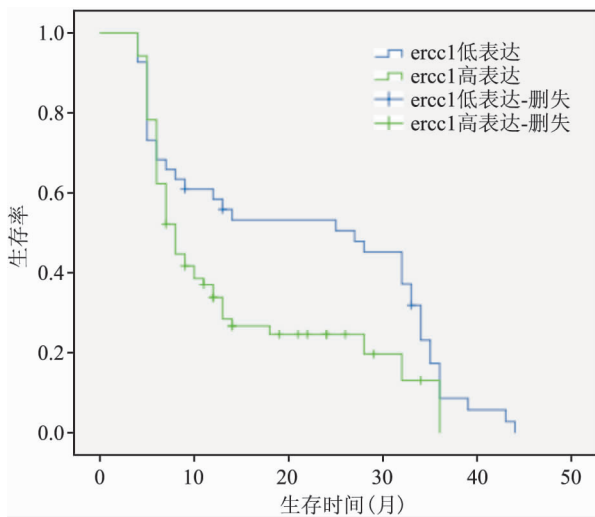


图2 *ercc1* 基因高表达与低表达患者生存曲线

于远癌组织提示 *ercc1* 基因表达可能与食管鳞癌的发生关系密切。研究^[9-11]显示 *ercc1* 基因的表达与乳腺癌、胰腺癌以及神经胶质瘤等肿瘤的发生存在密切关系。*ercc1* 基因食管鳞癌组织较癌旁组织表达较高,一方面考虑可能是因为食管癌组织中出现大量损伤的 DNA,所以 *ercc1* 基因表达水平上调进而修复这些损伤的 DNA。另一方面,癌组织本身基

因不稳定以及癌组织中可能存在某类 DNA 损伤修复抑制物,这些原因均能降低修复效率,而在机体自身反馈调节机制下,导致 *ercc1* 的表达水平明显升高。

ercc1 基因的表达与食管鳞癌的分化程度以及病理分期密切相关,分化程度低、病理分期晚的食管鳞癌组织中 *ercc1* 基因表达更高,差异有统计学意义。由于分化程度低、病理分期晚的癌组织内存在大量的损伤 DNA,而 *ercc1* 蛋白是 NER 修复系统中的主要组成部分,是 NER 系统的限速酶^[9]。所以病理分期晚,分化程度低的食道鳞状细胞癌组织中 *ercc1* 基因表达增高,以满足机体修复损伤 DNA 的需要。

DNA 损伤修复能力增强和 *ercc1* 高表达可能是导致铂类药物耐药的主要原因。Ojima et al^[3]、Tanaka et al^[12] 的研究均认为 *ercc1* 基因表达与食管鳞状细胞癌对铂类药物敏感性呈正相关性。因为铂类药物是通过与肿瘤细胞内的 DNA 形成 Pt-DNA 聚合物,扰乱正常的 DNA 双螺旋结构,同时破坏细胞膜结构,从而达到了抗肿瘤的效果。*ercc1*-XPF 可以切除修复损伤的 DNA 片段,将 Pt-DNA 聚合物从基因组中解离下来,从而修复铂类药物引起的 DNA 损伤,导致铂类药物耐药^[8]。

本研究显示 *ercc1* 基因表达与食管鳞癌患者预后显著相关,单因素预后分析提示 *ercc1* 基因低表达患者预后优于 *ercc1* 基因高表达患者。Bilen et al^[13]、Kim et al^[14] 研究结果均提示 *ercc1* 基因表达的食管癌患者的预后相关,其中 Kim et al^[14] 认为 *ercc1* 基因是预测食管癌患者预后的独立因素。本研究推测造成 *ercc1* 高表达患者较低表达患者预后更差的原因为:① 分化程度低,病理分期晚的癌组织肿瘤恶性程度高,预后差;② 癌组织内存在大量基因损伤、基因组不稳定以及癌组织中可能存在某类 DNA 损伤修复抑制物,这些原因均能降低修复效率,使 *ercc1* 基因表达升高,而 *ercc1* 高表达是导致铂类药物耐药的主要原因。这使 *ercc1* 高表达患者在术前术后辅助化疗中获益较小,因而预后更差。

综上所述,本研究显示 *ercc1* 基因表达蛋白与食管癌的发生发展及预后存在相关关系。且 *ercc1* 基因表达蛋白可以作为铂类药物敏感性的指标物。本研究样本量偏少,随访时间较短。需要进一步扩大样本量及更长期的随访来探究 *ercc1* 基因与食管癌预后的关系,进一步验证基因检测在食管癌个体化治疗中的价值。同时多基因联合检测指导个体化治

疗值得进一步的研究。

参考文献

- [1] Torre L A ,Bray F ,Siegel R L , et al. Global cancer statistics , 2012[J]. *CA Cancer J Clin* ,2015 65(2) : 87 - 108.
- [2] Torre L A ,Siegel R L ,Ward E M , et al. Global cancer incidence and mortality rates and trends-an update [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* ,2016 25(1) :16 - 27.
- [3] Ojima T ,Nakamori M ,Nakamura M , et al. Neoadjuvant chemotherapy with divided-dose docetaxel , cisplatin and fluorouracil for patients with squamous cell carcinoma of the esophagus[J]. *Anti-cancer Res* ,2016 ,36(2) :829 - 34.
- [4] Ando N ,Iizuka T ,Ide H , et al. Surgery plus chemotherapy compared with surgery alone for localized squamous cell carcinoma of the thoracic esophagus: a japan clinical oncology group study-JCOG9204[J]. *J Clin Oncol* ,2003 21(24) :4592 - 6.
- [5] de Laat W L ,Jaspers N G ,Hoeijmakers J H. Molecular mechanism of nucleotide excision repair[J]. *Genes Dev* ,1999 ,13(7) :768 - 85.
- [6] Wachters F M ,Wong L S ,Timens W , et al. *ercc1* , hRad51 , and BRCA1 protein expression in relation to tumour response and survival of stage III/IV NSCLC patients treated with chemotherapy [J]. *Lung Cancer* ,2005 50(2) :211 - 9.
- [7] Croteau D L ,Peng Y ,Van Houten B. DNA repair gets physical: mapping an XPA-binding site on *ercc1* [J]. *DNA Repair (Amst)* , 2008 7(5) :819 - 26.
- [8] 丁征平 张 杰 邵晋晨. *ercc1* 表达对 I 期非小细胞肺癌患者术后生存率的影响[J]. *中国肺癌杂志* 2010 13(5) :522 - 5.
- [9] Guo X G ,Wang Q ,Xia Y , et al. The C8092A polymorphism in the *ercc1* gene and breast carcinoma risk: a meta-analysis of case-control studies[J]. *Int J Clin Exp Med* ,2015 8(3) :3691 - 9.
- [10] Zhao F ,Shang Y ,Zeng C , et al. Association of single nucleotide polymorphisms of DNA repair genes in NER pathway and susceptibility to pancreatic cancer [J]. *Int J Clin Exp Pathol* ,2015 ,8(9) :11579 - 86.
- [11] Jiang C ,Shen F ,Du J , et al. DNA repair gene *ercc1* polymorphisms and glioma susceptibility among Chinese population: a meta-analysis [J]. *Int J Clin Exp Med* ,2015 ,8(7) :10248 - 55.
- [12] Tanaka K ,Mohri Y ,Ohi M , et al. Excision-repair cross-complementing 1 predicts response to cisplatin-based neoadjuvant chemoradiotherapy in patients with esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Mol Med Rep* ,2009 ,2(6) :903 - 9.
- [13] Bilen N ,Tekin S B ,Topdagi O. *ercc1* expression in non-small cell lung and esophageal cancer [J]. *Eurasian J Med* ,2014 46(2) : 84 - 8.
- [14] Kim M K ,Cho K J ,Kwon G Y , et al. *ercc1* predicting chemoradiation resistance and poor outcome in oesophageal cancer [J]. *Eur J Cancer* ,2008 44(1) :54 - 60.

Study on the expression of *ercc1* gene in esophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance

Zhang Tianci , Guo Mingfa , Xie Mingran , et al

(Dept of Thoracic Surgery , The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University , Hefei 230001)

Abstract Objective To investigate the expression of excision repair cross complementing 1 (*ercc1*) gene in esophageal squamous cell carcinoma and its clinical significance. **Methods** The expression of *ercc1* were detected in 110 cases of esophageal squamous cell carcinoma and 110 cases of adjacent normal esophagus by immunohistochemical method , the correlations between the expression of *ercc1* and clinical pathological characteristics and prognosis were analyzed. **Results** The positive expression rate of *ercc1* in esophageal squamous cell carcinoma was 63% (69/110) and 25% (28/110) in adjacent normal esophagus. The positive expression of *ercc1* was not associated with patient's age ($\chi^2 = 0.006$, $P = 0.940$) , gender ($\chi^2 = 0.034$, $P = 0.854$) , tumor size ($\chi^2 = 0.034$, $P = 0.854$) , depth of tumor infiltration depth ($\chi^2 = 0.020$, $P = 0.889$) , lymph nodes metastasis ($\chi^2 = 0.979$, $P = 0.323$) and alcohol abuse ($\chi^2 = 3.816$, $P = 0.051$). But it was related to the degree of tumor differentiation ($\chi^2 = 4.542$, $P = 0.033$) and clinical stage ($\chi^2 = 6.203$, $P = 0.013$). The positive expression of *ercc1* was related to prognosis. **Conclusion** The expression of *ercc1* in esophageal squamous cell carcinoma significantly high than adjacent normal esophagus and it is associated with the degree of tumor differentiation and clinical stage. It is of great significance to detect the expression level of *ercc1* in esophageal squamous cell carcinoma for judging malignant degree of the tumor. It is helpful to the individualized treatment and prognosis analysis of patients with esophageal squamous cell carcinoma.

Key words excision repair cross complementing 1 ; esophageal squamous cell ; carcinoma individual therapy