

ERCC1 反义寡核苷酸对肺癌铂类药物敏感性的研究进展

陈瑞彬¹⁾, 李高峰²⁾, 王巍炜²⁾, 郭刚¹⁾, 陈楠²⁾, 张继朋¹⁾

(1) 昆明医学院, 云南昆明 650000; 2) 云南省肿瘤医院胸外科, 云南昆明 650000)

[摘要] ERCC-1 基因是目前恶性肿瘤基因治疗研究中的新靶点. 采用反义寡核苷酸技术可以抑制 ERCC1 基因的表达, 从而降低肿瘤细胞 DNA 修复的能力, 增强对铂类化疗药物的敏感性. 为肺癌特别是非小细胞肺癌 (NSCLC) 的治疗提供了新的思路.

[关键词] ERCC-1; 反义寡核苷酸; 肺癌

[中图分类号] R734.2 [文献标识码] A [文章编号] 1003 - 4706 (2012) 04 - 0157 - 04

ERCC1 Antisense Oligonucleotides on Lung Cancer Platinum Drug Sensitivity

CHEN Rui - bin¹⁾, LI Gao - feng²⁾, WANG Wei - wei²⁾, GUO Gang¹⁾, CHEN Nan²⁾, ZHANG Ji - peng¹⁾

(1) Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650500; 2) Dept. of Thoracic Surgery, Yunnan Province Tumor Hospital, Kunming Yunnan 650000, China)

[Abstract] ERCC-1 gene is a new target in cancer gene therapy research. The antisense oligonucleotides can inhibit the expression of the ERCC1 gene, which reduces the ability of tumor cell DNA repair and enhances the sensitivity to platinum-based chemotherapy drugs, and provide a new approach for the treatment of lung cancer, especially non-small cell lung cancer (NSCLC).

[Key words] ERCC-1; Antisense oligonucleotide; Lung cancer

肺癌是一种严重影响人类生命健康的疾病之一, 其发病率和死亡率不仅在欧美国家位居首位^[1], 在我国也已成为城市居民恶性肿瘤死亡率的第一位^[2], 其中非小细胞肺癌 (NSCLC) 约占全部肺癌的 80%^[3]. 由于肺癌早期症状少, 目前缺乏有效的早期诊断和筛查方法, 当确诊为肺癌时往往是晚期, 失去手术时机, 预后较差, 所以化疗是治疗肺癌的主要方法, 但是肿瘤细胞对化疗药物特别是铂类药物的耐药性往往导致治疗的失败.

目前有关研究发现肺癌的易感性与 DNA 的修复能力缺陷有关^[4,5]. 核苷酸切除修复系统 (NER) 是细胞修复损伤 DNA 的系统, 在肺癌的铂类制剂耐药中发挥重要作用^[6,7]. 核苷酸切除修复交叉互补组 1 (excision repair cross-complementa-

tion group1, ERCC1) 基因是 NER 途径的关键基因, 其高度表达可使损伤的 DNA 迅速修复, 对铂类制剂产生耐药性. 用反义寡核苷酸技术抑制 ERCC1 表达可以降低 DNA 的修复能力, 提高对铂类药物的敏感性.

1 ERCC1 概述

核苷酸切除修复系统 (nucleotides excision repair, NER) 是 DNA 损伤修复的重要途径, 它在 DNA 损伤的修复中发挥着重要作用^[8]. ERCC1 是一种 DNA 修复基因, 其正常表达是维持 DNA 修复酶功能的分子基础, 是 NER 途径的关键基因, 其功能活性的高低可反映整个 NER 修复活性的水平^[9].

[基金项目] 云南省社会发展重点基金资助项目 (2010CA015); 云南省科技厅联合基金资助项目 (2010CD185); 云南省科技厅社会发展科技计划资助项目 (2009ZC120M); 云南省教育厅科研基金资助项目 (09y0173)

[作者简介] 陈瑞彬 (1985 ~), 男, 河北邢台市人, 在读硕士研究生, 主要从事胸部微创外科研究工作.

[通讯作者] 李高峰. E-mail:ligaofenghl@126.com

ERCC1 基因定位于染色体 19q13.2, 基因全长 15kb, 编码含 297 个氨基酸的蛋白质, 是核苷酸剪切修复家族中的关键生物分子, 与 XPF 形成异源二聚体, 在 DNA 单链受损处的 5' 端进行剪切而发挥功能, 在 NER 中起到限速或调节的作用, 其活性的高低可反映整个 NER 修复合活性的水平^[10]. ERCC1 过度表达可使停滞在 G2/M 期细胞的损伤 DNA 得到迅速修复, 导致其对顺铂耐药^[11]. 在一些肿瘤细胞中, 如果核苷酸切除修复因子 mRNA 表达降低, 如 ERCC1, 提示核苷酸剪切修复能力的降低, 会常伴随着肺癌发病率的增加, 而高表达往往与铂类制剂耐药相关^[12].

2 ERCC1 与铂类药物化疗敏感性的关系

化疗是非小细胞肺癌 (NSCLC) 治疗的主要手段之一, 目前, 以铂类为基础的化疗仍是 NSCLC 一线治疗的首选^[13]. 在人类肿瘤细胞中, 铂类药物主要作用于肿瘤细胞的 DNA, 阻止其复制及转录, 导致 DNA 损伤及断裂, 加速细胞凋亡^[14], 其作用机制在于进入肿瘤细胞后与 DNA 结合, 形成 DDP-DNA 加合物, 导致 DNA 的链间或链内交联, 引起 DNA 复制障碍, 从而抑制肿瘤细胞分裂^[15]. 而 ERCC1 在 NER 途径中起着 DNA 损伤识别和链间切割的关键作用, ERCC1 过度表达可使损伤的 DNA 快速修复, 导致其对铂类制剂耐药.

国外相关研究也发现, 核酸切除修复参与肿瘤的发病和铂类制剂耐药等^[16]. Monzo 等研究了 56 例用吉西他滨 + 顺铂化疗的 NSCLC 患者, 发现其反应率与 ERCC1mRNA 呈负相关. 一些临床试验^[17,18]也表明这些基因的表达和临床结果有关; Rosell 等对 100 例 III B 和 IV 期 NSCLC 进行研究, 健择 / 顺铂治疗组经过检测 mRNA 水平, 发现 ERCC1 与 RRM1 均低表达组的中位生存期明显长于均高表达组 ($P=0.016$); Chen 等^[19]分析显示, ERCC1 无或低表达的 NSCLC 患者的含铂方案化疗疗效明显优于 ERCC1 有或高表达者.

除肺癌外, 其它癌组织中 ERCC1 的高表达也和耐药性有关. Ferry 等研究显示, 在卵巢上皮性癌细胞和组织中, ERCC1mRNA 水平的增高与顺铂耐药相关联 ($r=0.99$). 耐药的卵巢癌患者的肿瘤组织中 ERCC1mRNA 水平显著高于敏感者. 刘国艳等^[20]通过相关技术特异性地降低 ERCC1 的表达, 结果显示细胞对顺铂的敏感性增加了 50 余倍, 这提示通过干扰 ERCC1 的表达, 能增强顺铂对卵巢癌细胞的毒性作用, 进一步证实了 ERCC1

在决定铂类制剂敏感性中的重要作用.

3 ERCC1 和肺癌预后关系

在一些较大宗病例的研究中, NSCLC 的 ERCC1 阳性表达率约为 40% ~ 45%^[21], 但也有文献报道高达 62.7%^[22]. 目前, 相关研究^[23]显示 ERCC1 在肺鳞癌及腺癌中的表达无显著差异, 同时有关研究结果进一步显示 ERCC1 在 NSCLC 中的阳性表达明显高于小细胞肺癌患者 ($P=0.039$)^[24], 因此我们主要阐述同 NSCLC 的预后关系.

ERCC1 的表达与 NSCLC 患者预后生存期关系的研究尚未完全定论, 有待进一步研究. 目前, 许多文献^[25]报道的只是晚期 NSCLC 的研究结果. 一般认为在晚期患者 ERCC1 高表达, 往往导致癌细胞对铂类制剂耐药, 从而导致化疗失败^[26]. 因此, ERCC1 表达与生存情况的关系多为负相关的报道. ERCC1 高表达患者接受含铂方案化疗时, 客观缓解率低, 生存期短. 有关研究报道 ERCC1 的表达与肺癌预后及铂类化疗耐药有关, 在早期术后患者中 ERCC1 高表达者生存时间显著延长, 预后好^[27], 但是容易引起铂类制剂耐药, 预示着辅助化疗的无效, 所以 ERCC1 的表达阴性的患者较 ERCC1 的表达阳性的患者, 在接受含铂方案化疗后更能受益. 因此, 检测手术 NSCLC 标本瘤内 ERCC1 的表达, 不但有助于选择患者接受辅助化疗, 对预后评估也有一定的指导价值, 可作为 NSCLC 患者预后的指标之一. 手术完全切除的 ERCC1 阴性的 NSCLC 患者更适合基于铂类药物辅助化疗; 对于未予辅助化疗的患者, ERCC1 阴性就是一个预示着较短生存期的独立预后因素. ERCC1 表达水平可能是手术治疗的早期肺癌预后判定有比较实用价值的生物指标, 也能作为分子检测指标来预测 DDP 的化疗效果, 用于指导 DDP 的个体化使用. ERCC1 蛋白的两面性与近年把 DNA 修复看作双刃剑的理论相符, 这说明 ERCC1 在肿瘤细胞中具有双重作用.

4 ERCC1 反义寡核苷酸对肺癌化疗敏感性研究

4.1 ERCC1 反义寡核苷酸

反义寡核苷酸 (antisense oligonucleotide) 通常指进行了某些化学修饰的短链核酸 (约 15 ~ 25 个核苷酸组成), 它的碱基顺序排列与特定的靶标 RNA 序列互补, 进入细胞后可按照 Watson-Crick

碱基互补配对的原则与靶标序列形成双链结构。反义寡核苷酸可用于基因沉默, 所以是一种研究基因功能的重要工具。大多药物属于靶标基因(或疾病基因)的抑制剂, 因此反义寡核苷酸模拟了药物的作用, 这功能丢失(LOF)的研究方法比传统的功能获得(GOF)方法更具优势。同时, 那些在靶标实验中证明有效的反义寡核苷酸本身还可以被进一步开发成为反义寡核苷酸药物, 比如 ERCC1 反义寡核苷酸。目前, 有效抑制基因表达的方法主要有: 基因敲除^[28]、反义核苷酸技术^[29]和 RNAi 技术^[30]。反义核苷酸技术已经成为一门成熟的技术, 易于操作, 基因抑制效果较好, 它利用碱基互补原理, 用人工合成或生物合成的特定互补 DNA 或 RNA 序列, 导入靶细胞, 形成 mRNA 或 mRNA-RNA 杂交双链, 从而抑制或封闭特异性基因的表达, 使其丧失活性, 达到基因控制和治疗的目的。

4.2 ERCC1 反义寡核苷酸对非小细胞肺癌化疗敏感性的影响

目前, 晚期 NSCLC 一线治疗的首选仍是以铂类为基础的化疗。由于癌细胞对铂类药物的耐药性, 含铂一线化疗方案的有效率仅为 30%~40%, 单凭化疗药物治疗已不能对肿瘤细胞的杀伤起到更好的作用, 距离理想的治疗效果还是有一定的差距, 但是从基因治疗的方法出发会获得较好的效果。

利用反义核苷酸技术通过将 ERCC1 反义寡核苷酸导入 ERCC1 基因中可以降低 ERCC1 基因的表达, 从而降低 DNA 修复基因修复的能力, 增强化疗药对肺癌细胞的毒性, 增加肺癌细胞等肿瘤对铂类药物的敏感性, 提高患者的预后生存期, 使其成为一种有效的治疗方法。

5 前景和展望

ERCC1 作为一种 DNA 修复基因, 参与细胞周期, 可用于肿瘤的早期诊断, 发现癌前病变; 用于肿瘤的预后, 指导正确的治疗方案。利用 ERCC1 基因的表达情况, 为病人设计一个最适宜的“个体化”治疗方案, 可以解决目前以“经验性”选择化疗方案所存在的“盲目性”、“统一性”以及“过度治疗”的弊端, 使治疗更准确高效。因此, ERCC1 反义寡核苷酸可作为治疗肺癌耐药的新策略, 从而为指导肿瘤治疗开辟新天地, 具有重要的社会价值和科学意义。

[参考文献]

- [1] PARKIN D M, BRAY F, FERLAY J, et al. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin*, 2005, 55(2): 74 - 108.
- [2] YANG L, PARKIN D M, FERLAY J, et al. Estimates of cancer incidence in China for 2000 and projection for 2005 [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14 (1): 243 - 250.
- [3] JEMAL A, SIEGEL R, WARD E, et al. Cancer statistics [J]. *Cancer Clin*, 2007, 57(1): 43 - 66.
- [4] PERERA F P, MOONEY L A, STAMPFER M, et al. Associations between carcinogen DNA damage, glutathione S-transferase genotypes, and risk of lung cancer in the prospective Physicians, Health Cohort Study [J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23(10): 1 641 - 1 646.
- [5] WEIQ, CHENG L, AMOS C I, et al. Repair of tobacco carcinogen induced DNA adducts and lung cancer risk: a molecular epidemiologic study [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(21): 1 764 - 1 772.
- [6] ZHOU W, LIU G, PARK S, et al. Gene-smoking interaction associations for the ERCC1 polymorphisms in the risk of lung cancer [J]. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2005, 14(2): 491 - 496.
- [7] SIMONGR, SHARM A S, CANTORA, et al. ERCC1 expression is a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer [J]. *Chest*, 2005, 127 (3): 978 - 983.
- [8] DIP R, CAMENISCH U, NAEGELI H. Mechanisms of DNA damage recognition and strand discrimination in human nucleotide excision repair [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2004, 3: 1 409 - 1 423.
- [9] ORELLI B, MCCLENDON T B, TSODIKOV O V, et al. The XPA-binding domain of ERCC1 is required for nucleotide excision repair but not other DNA repair pathways [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(6): 3 705 - 3 712.
- [10] TSODIKOV O V, IVANOV D, ORELLI B, et al. Structural basis for the recruitment of ERCC1-XPF to nucleotide excision repair complexes by XPA [J]. *EMBO*, 2007, 6: 4 768 - 4 776.
- [11] DE LAAT W L, JASPERS N G, HOEIJMAKERS J H. Molecular mechanism of nucleotide excision repair [J]. *Genes Dev*, 1999, 13(7): 768 - 785.
- [12] LORD R V, 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: 2 286 - 2 291.
- [13] SCHILLER J H, HARRINGTON D, BELANIC P, et al.

- Eastern cooperative oncology group comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small cell lung cancer [J]. *N Engl J Med*, 2002, 346: 92 - 98.
- [14] 林莉, 刘晓晴. DNA 损伤修复与铂类耐药研究进展 [J]. *中国肿瘤*, 2006, 15: 29 - 31.
- [15] ROSELL R, LORD R V, TARON M, et al. DNA repair and cisplatin resistance in non-small cell lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2002, 38: 217 - 227.
- [16] SIMON G R, SHARMA S, CANTOR A, et al. ERCC1 expression is a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer [J]. *Chest*, 2005, 127: 978 - 983.
- [17] AZUMA K, KOMOHARA Y, SASADA T, et al. Excision repair cross-complementation group predicts progression-free and overall survival in non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(9): 1336 - 1343.
- [18] ROSELL R, CUELLO M, CECERE F, et al. Usefulness of predictive tests for cancer treatment [J]. *Bull Cancer*, 2006, 93(8): 101 - 108.
- [19] CHEN S, ZHANG J, WANG R, et al. The platinum-based treatments for advanced non-small cell lung cancer, is low/negative ERCC1 expression better than high/positive ERCC1 expression: A meta-analysis [J]. *Lung Cancer*, 2010-06-9 [Epub ahead of print] http://www.cancer.gov/cancer_topics/types/lung.
- [20] 刘国艳, 瞿全新, 糜若然, 等. RNA 干扰技术抑制切除修复交叉互补基因1对卵巢上皮性癌细胞顺铂敏感性的影响 [J]. *中华妇产科杂志*, 2006, 41(5): 339 - 342.
- [21] AZUMA K, KOMOHARA Y, SASADA T, et al. Excision repair cross-complementation group predicts progression-free and overall survival in non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy [J]. *Cancer Sci*, 2007, 98(9): 1336 - 1343.
- [22] 宁瑞玲, 宋向群, 罗元, 等. ERCC1、MT、p53和bcl-2表达与含铂方案治疗晚期NSCLC的关系研究 [J]. *中国肺癌杂志*, 2006, 9(4): 373 - 375.
- [23] HAO Y Y, HU X J, LIU Y P, et al. The expression of ERCC1, DNA-PKcs protein and the relation to prognosis in non-small cell lung cancer [J]. *Chin J Lung Cancer*, 2008, 11(2): 226 - 230.
- [24] 许崇安, 冯丹, 李琳, 等. ERCC1和GST-pi在肺癌中的表达及预后意义 [J]. *中国肺癌杂志*, 2010, 3(3): 195 - 200.
- [25] ROSELL R, CUELLO M, CECERE F, et al. Usefulness of predictive tests for cancer treatment [J]. *Bull Cancer*, 2006, 93(8): 101 - 108.
- [26] SIMON G R, SHARMA S, CANTOR A, et al. ERCC1 expression is a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer [J]. *Chest*, 2005, 127(3): 978 - 983.
- [27] 邓首军, 郭刚, 陈楠, 等. ERCC1在非小细胞肺癌中的表达及预后意义 [J]. *医学综述*, 2011, 2(3): 460 - 462.
- [28] GAMA SOSA M A, DE GASPERI R, ELDER G A. Animal transgenesis: an overview [J]. *Brain Struct Funct*, 2010, 214(2-3): 91 - 109.
- [29] MALECOVA B, MORRIS K V. Transcriptional gene silencing through epigenetic changes mediated by non-coding RNAs [J]. *Curr Opin Mol Ther*, 2010, 12(2): 214 - 222.
- [30] GAGLIONE M, MESSERE A. Recent progress in chemically modified siRNAs [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2010, 10(7): 578 - 595.

(2012-01-14 收稿)