



DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.01.006

http://www.gjbl.net/gjblkx/fileup/PDF/20130137.pdf

晚期非小细胞肺癌中 β -tubulin III 表达水平 对化学治疗敏感性的影响

陈佳, 何松, 王森舟, 郭燕, 张晓东, 吉志固, 朱亚芳, 陆俊国, 陶玉,
朱兴华, 王建红, 杨书云, 尹海兵, 谭清和

(江苏省南通市肿瘤医院肿瘤内科, 江苏 南通 226361)

[摘要] 目的: 分析非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 患者 β -tubulin III 的表达水平与化学治疗 (化疗) 敏感性的关系。方法: 经病理确诊的晚期 NSCLC 患者以 1:2 随机分配至对照组和基因型组: 对照组使用吉西他滨联合顺铂化疗; 基因型组根据 ERCC1 及 RRM1 的表达情况进行个体化治疗。检测病理标本中 β -tubulin III 的表达水平, 比较 β -tubulin III 蛋白表达水平与临床疗效之间的关系。结果: 基因型组最终有 118 例 NSCLC 病例可评价, 均可成功检测 β -tubulin III 的表达情况。对照组有效率 (37.5%) 与基因型组有效率 (47.5%) 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。基因型组中各组间有效率比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$); 但 β -tubulin III 低表达组有效率 (55.1%) 显著高于 β -tubulin III 高表达组 (36.7%, $P<0.05$)。结论: 在晚期 NSCLC 腺癌亚型中, β -tubulin III 低表达患者疗效较好, β -tubulin III 高表达可能意味着对多西他赛耐药。

[关键词] 非小细胞肺癌; β -tubulin III; ERCC1 基因; RRM1 基因

Effect of beta-tubulin III expression levels on chemotherapy sensitivity for advanced non-small cell lung cancer

CHEN Jia, HE Song, WANG Miaozhou, GUO Yan, ZHANG Xiaodong, JI Zhigu, ZHU Yafang, LU Junguo,
TAO Yu, ZHU Xinghua, WANG Jianhong, YANG Shuyun, YIN Haibin, TAN Qinghe

(Department of Internal Medicine-Oncology, Nantong Tumor Hospital, Nantong Jiangsu 226361, China)

Abstract **Objective:** To analyze the relation between β -tubulin III expression level and chemosensitivity in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods:** The patients were divided into a control group and a genotype group with a proportion of 1:2. The control group received the treatment of gemcitabine and cisplatin, while the genotype group received individual therapy according to the level of ERCC1 and RRM1. The correlation between β -tubulin III

收稿日期 (Date of reception): 2012-07-20

作者简介 (Biography): 陈佳, 硕士, 主治医师, 主要从事肺癌的基础和临床研究。

通信作者 (Corresponding author): 谭清和, Email: tanqinghe@csc.org.cn

基金项目 (Foundation item): 江苏省卫生厅面上项目 (H200867)。This work was supported by the Department of Public Health of Jiangsu Province, P. R. China (H200867).

expression level and chemosensitivity in NSCLC was analyzed. **Results:** β -Tubulin III expression was detected in all patients in the genotype group. Compared with the genotype group (47.5%), efficiency in the control group (37.5%) was not significantly different. Efficiency in patients with low expression of β -tubulin III was significantly higher than that of patients with high expression of β -tubulin III (55.1% vs 36.7%, $P < 0.05$). **Conclusion:** In advanced NSCLC subtypes, patients with low expression of β -tubulin III have good therapeutic effect. High β -tubulin III expression may indicate resistance to docetaxel.

Key words non-small cell lung cancer; β -tubulin III; ERCC1 gene; RRM1 gene

非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)占有肺癌病例的75%~80%, 60%~70%的病例在确诊时已属晚期(IIIb及IV期), 无法行根治性治疗, 仅能通过化学治疗(化疗)或放射治疗(放疗), 改善症状, 延长生存时间^[1]。由于NSCLC的异质性, 化疗疗效在不同个体之间存在较大差异^[2-3]。随着耐药性分子标志物的被开发, 已有研究^[4]表明对NSCLC进行耐药性分子标志物如修复交叉互补基因1(ERCC1)、核糖核苷酸还原酶M1(RRM1)及 β -微管蛋白III(β -tubulin III)的检测分析, 可为临床进行个体化治疗提供实验依据。本研究通过测定NSCLC患者瘤组织内 β -tubulin III蛋白表达与临床疗效的关系, 旨在指导肺癌个体化化疗的研究。

1 资料与方法

1.1 一般临床资料

2008年8月至2010年8月收集的NSCLC患者184例, 男108例, 女76例, 年龄36~72岁, 患者分期为IIIb和IV期。病例按照随机数字表法分为基因型组124例和对照组60例, 记录入选患者的性别、年龄、吸烟情况、病理类型及TNM分期、基础合并症等。检测基因型组ERCC1及RRM1表达情况, 并予不同治疗方案: ERCC1低表达, RRM1高表达(A组)30例; ERCC1低表达, RRM1低表达(B组)30例; ERCC1高表达, RRM1高表达(C组)28例; ERCC1高表达, RRM1低表达(D组)30例。本研究已获得南通市肿瘤医院伦理委员会批准, 患者签署知情同意书。

1.2 试剂

免疫组织化学(免疫组化)试剂: ERCC1(美国NeoMarkers公司, 1:350)、RRM1(美国Proteintech Group公司, 1:500)、 β -tubulin III(美国BioGenex公司, 1:1 000)一抗为鼠单克隆抗体; ERCC1染色所

用二抗为PV9000Anti-Mouse/Rabbit(北京中杉生物技术有限公司), RRM1及 β -tubulin III染色所用二抗为EnVion Anti-Mouse/Rabbit(丹麦DaKo公司)。用PBS代替一抗作为阴性对照, 用已知ERCC1, RRM1, β -tubulin III阳性的乳腺癌组织作为阳性对照。

1.3 标志物检测

ERCC1阳性定位于细胞核, RRM1及 β -tubulin III均定位于细胞质。参照复旦大学附属肿瘤医院提出的结果判断标准^[5], 首先将染色强度计分: 0分为无色; 1分为淡黄色; 2分为棕黄色; 3分为棕黑色。再按阳性细胞占肿瘤细胞的百分比计分: 无阳性细胞为0分; 阳性细胞数 $\leq 10\%$ 为1分; 11%~50%为2分; 51%~75%为3分; $> 75\%$ 为4分。将染色强度得分与阳性细胞百分比得分的乘积作为判断依据: 0~3分为“-”, 4~6分为“+”, 7~9分为“++”, 10~12分为“+++”。为使检测结果更方便地使用于临床, 笔者将染色结果“-”及“+”合并定义为该标志物“低表达”, 而将染色结果“++”及“+++”定义为“高表达”。

1.4 治疗

1.4.1 对照组

吉西他滨+顺铂: 吉西他滨1000 mg/m², 静脉滴注30 min, 第1天及第8天使用; 顺铂总量75 mg/m², 分3 d静脉滴注, 每21 d为1个治疗周期。

1.4.2 基因型组

A组予以多西他赛+顺铂: 多西他赛60 mg/m², 静脉滴注, 第1天使用; 顺铂总量75 mg/m², 分3 d静脉滴注, 每21 d为1个周期。B组予以吉西他滨+顺铂: 吉西他滨1000 mg/m², 静脉滴注30 min, 第1天及第8天使用; 顺铂总量75 mg/m², 分3 d静脉滴注, 每21 d为1个周期。C组予以多西他赛单药: 多西他赛75 mg/m², 静脉滴注, 第1天使用, 每

21 d为1个周期。D组给予多西他赛+吉西他滨: 多西他赛60 mg/m², 静脉滴注, 第1天使用; 吉西他滨1000 mg/m², 静脉滴注30 min, 第1天及第8天使用, 每21 d为1个周期。每位患者至少完成2周期化疗, 一般给予4~6周期的化疗。

1.5 评价标准及观察指标

基因型组患者于治疗前检测肿瘤组织内 β -tubulin III 的蛋白表达水平, 治疗后分析该蛋白表达水平与化疗疗效之间的关系。主要观察患者有效率(response rate, RR)及疾病无进展时间(progression-free survival, PFS: 治疗当日至疾病进展日)。采用实体肿瘤的疗效评价标准(response evaluation criteria in solid tumors, RICIST)评价目标病灶实体瘤。完全缓解(complete response, CR)为所有目标病灶消失; 部分缓解(partial response, PR)为基线病灶长径总和缩小 $\geq 30\%$; 疾病进展(progression disease, PD)为基线病灶长径总和增加 $\geq 20\%$ 或出现新病灶; 疾病稳定(stable disease, SD)为基线病灶长径总和缩小或增加, 但未达到PR或PD。近期客观有效率为RR=CR+PR。随访并比较中位疾病无进展生存期(median PFS, mPFS)、中位生存期(median overall survival, mOS)和1年生存率。

1.6 统计学处理

采用SPSS10.0统计软件, 等级资料用Mann-Whitney检验(两组资料)或Kruskal Wallis检验(多组资料), 其余资料用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 β -tubulin III 免疫组化染色结果

对照组3例患者因仅完成1周期化疗, 1例拒绝进一步治疗无法进行疗效评价而脱落; 基因型

组中, 4名患者组织标本无法获得明确的ERCC1及RRM1表达情况, 2名患者仅完成1疗程治疗后拒绝进一步治疗, 共6名患者脱落。最终对照组56例入选, 基因型组118例为可评价患者。在可供评价的118例基因型组中, 共112例组织可检测出 β -tubulin III表达情况, 其中63例 NSCLC 组织出现 β -tubulin III高表达, 49例出现 β -tubulin III低表达(图1)。

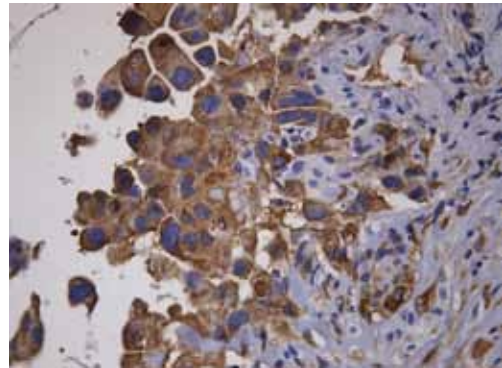


图1 肺穿刺活检, 鳞状细胞癌 β -tubulin III 高表达 (免疫组化二步法, DAB 显色, $\times 400$)。

Figure 1 Lung biopsy, squamous cell carcinoma with high expression of β -tubulin III (DAB, $\times 400$).

2.2 β -tubulin III与疗效的关系

可评价疗效患者总体近期有效率为44.2%(73/174), 其中对照组有效率37.5%(21/56)与基因型组有效率47.5%(56/118)比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。基因型组中各组间有效率比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 而 β -tubulin III低表达组有效率50.8%(32/63)显著高于 β -tubulin III高表达组36.7%(18/49), 差异有统计学意义($P < 0.05$, 表1)。

在晚期NSCLC腺癌亚型中, β -tubulin III低表达患者有效率为57.6%, 高于其他3组(表2)。

表1 各组疗效比较

Table 1 Therapeutic effect of each group

组别	n	疗效/[例(%)]				有效率/%	mOS/月	1年生存率/%	mPFS/月
		CR	PR	SD	PD				
对照组	56	2(3.6)	19(33.9)	15(26.8)	20(35.7)	37.5	10.5	42.3	4.8
基因型组	112	3(2.7)	47(41.9)	27(24.1)	35(31.3)	44.6	11.2	39.9	5.8
基因型组									
β -tubulin III 低表达	63	2(3.2)	30(47.6)	14(22.2)	17(27.0)	50.8*	11.4	58.0	6.4
β -tubulin III 高表达	49	1(2.0)	17(34.7)	13(26.5)	18(36.7)	36.7	10.6	30.6	5.7

与 β -tubulin III 高表达比较, * $P < 0.05$ 。

表2 β -tubulin III 低表达组与 β -tubulin III 高表达组的疗效比较Table 2 Therapeutic effect of low expression and high expression of β -tubulin III groups

组别	n	疗效				RR/%
		CR	PR	SD	PD	
β -tubulin III 低表达组	63					
腺癌 + 腺鳞癌	33	2	17	7	7	57.6
非腺癌	30	0	13	7	10	43.3
β -tubulin III 高表达组	49					
腺癌 + 腺鳞癌	24	0	10	5	9	41.6
非腺癌	25	1	7	8	9	32.0

3 讨论

化疗是治疗晚期NSCLC的主要治疗手段,多西他赛是治疗NSCLC的常用化疗药物^[6]。目前对NSCLC的化疗尚无统一标准方案可循,多西他赛联合顺铂的联合化疗方案已被广泛应用在NSCLC的治疗上,并显示出比较好的疗效^[7-8]。

Stathmin蛋白是近年来发现的十分重要的一类可溶性蛋白质,可通过影响肿瘤细胞内微管蛋白的聚合与解聚,而影响化疗药物的疗效。作为细胞骨架的重要组成部分,细胞内微管蛋白分为 α 、 β 两个亚型,它是真核生物内的细胞骨架,人类细胞中存在6种类型的 β 微管蛋白同型体,其中以作用于微管的3型 β 微管蛋白(β -tubulin-III)与化疗药物敏感性的关系最密切^[9-10]。有研究^[11-12]证明, β -tubulin III的表达水平可能在化疗反应方面具预测价值(尤其对于紫杉烷类化疗药物),同时,在晚期NSCLC中具有一定的诊断价值,并证明其高表达与癌转移率增加相关;另外, β -tubulin III基因突变与NSCLC晚期病人的紫杉烷药物抵抗也有关系^[13]。

β -tubulin III的表达水平与多西他赛药物疗效存在密切联系。研究^[14]发现, β -tubulin III的表达与以紫杉烷为基础的化疗抵抗相关,单独实施多西他赛药物治疗后,对预测mPFS无作用,在术后复发的NSCLC中,其可作为抗多西他赛药物化疗的分子标志物。另外,ERCC1低表达患者中使用个体化治疗可获得更高的临床有效率,而其中ERCC1高表达患者可能意味着对铂类耐药^[15]。本次研究对NSCLC患者实施个体化化疗方案,对多西他赛药物敏感性分子标志物 β -tubulin III进行检测,根据 β -tubulin III蛋白表达高低分组比较多西他赛联合化疗方案的有效率。结果表明,晚期NSCLC腺癌亚型中, β -tubulin III低表达患者疗效较好,而 β -tubulin III高表达表现为对多西他赛耐药。

本组资料显示,以免疫组化法检测肿瘤组织 β -tubulin III的表达, β -tubulin III低表达患者疾病mPFS和高表达者无明显差异,与文献报道结果基本一致^[14-15]。近期疗效的 β -tubulin III低表达组化疗有效率达50.8%, β -tubulin III高表达组有效率仅36.7%,差异有统计学意义。同时,在晚期NSCLC腺癌亚型中, β -tubulin III低表达患者有效率为57.6%,而 β -tubulin III高表达患者有效率较低。由此表明,在晚期NSCLC腺癌亚型中依据 β -tubulin III表达水平选择化疗敏感药物具有一定的研究价值。由于本研究样本量较小,仍需进一步扩大样本研究。

参考文献

1. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Non-Small Cell Lung Cancer[EB/OL].(2012-03-05) http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp.
2. Fanucchi M, Khuri FR. Taxanes in the treatment of non-small cell lung cancer[J]. Treat Respir Med, 2006, 5(3): 181-191.
3. Chang A. Chemotherapy, chemoresistance and the changing treatment landscape for NSCLC[J]. Lung Cancer, 2011, 71(1): 3-10.
4. Bonomi M, Pilotto S, Milella M, et al. Adjuvant chemotherapy for resected non-small-cell lung cancer: future perspectives for clinical research[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2011, 30(12): 115.
5. 许良中, 杨文涛. 免疫组织化学反应结果的判断标准[J]. 中国癌症杂志, 1996, 6(2): 229-230.
XU Liangzhong, YANG Wentao. Criteria of the results of the immunohistochemical reaction[J]. China Oncology, 1996, 6(2): 229-230.
6. Xue C, Hu Z, Jiang W, et al. National survey of the medical treatment status for non-small cell lung cancer (NSCLC) in China[J]. Lung

- Cancer, 2012[Epub ahead of print].
7. Koh Y, Jang B, Han SW, et al. Expression of class III beta-tubulin correlates with unfavorable survival outcome in patients with resected non-small cell lung cancer[J]. J Thorac Oncol, 2010, 5(3): 320-325.
 8. Hayashi Y, Kuriyama H, Umezu H, et al. Class III beta-tubulin expression in tumor cells is correlated with resistance to docetaxel in patients with completely resected non-small-cell lung cancer[J]. Intern Med, 2009, 48(4): 203-208.
 9. Kang CH, Jang BG, Kim DW, et al. The prognostic significance of ERCC1, BRCA1, XRCC1, and betaIII-tubulin expression in patients with non-small cell lung cancer treated by platinum- and taxane-based neoadjuvant chemotherapy and surgical resection[J]. Lung Cancer, 2010, 68(3): 478-483.
 10. McCarroll JA, Gan PP, Liu M, et al. betaIII-tubulin is a multifunctional protein involved in drug sensitivity and tumorigenesis in non-small cell lung cancer[J]. Cancer Res, 2010, 70(12): 4995-5003.
 11. Sève P, Dumontet C. Is class III beta-tubulin a predictive factor in patients receiving tubulin-binding agents? [J]. Lancet Oncol, 2008, 9(2): 168-175.
 12. Campostrini N, Marimpietri D, Totolo A, et al. Proteomic analysis of anti-angiogenic effects by a combined treatment with vinblastine and rapamycin in an endothelial cell line[J]. Proteomics, 2006, 6(15): 4420-4431.
 13. Kaira K, Takahashi T, Murakami H, et al. The role of β III-tubulin in non-small cell lung cancer patients treated by taxane-based chemotherapy[J]. Int J Clin Oncol, 2012 [Epub ahead of print].
 14. Sève P, Lai R, Ding K, et al. Class III beta-tubulin expression and benefit from adjuvant cisplatin/vinorelbine chemotherapy in operable non-small cell lung cancer: analysis of NCIC JBR.10[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(3): 994-999.
 15. Gan PP, Pasquier E, Kavallaris M. Class III beta-tubulin mediates sensitivity to chemotherapeutic drugs in non small cell lung cancer[J]. Cancer Res, 2007, 67(19): 9356-9363.

(本文编辑 陈丽文)

本文引用: 陈佳, 何松, 王淼舟, 郭燕, 张晓东, 吉志固, 朱亚芳, 陆俊国, 陶玉, 朱兴华, 王建红, 杨书云, 尹海兵, 谭清和. 晚期非小细胞肺癌中 β -tubulin III 表达水平对化学治疗敏感性的影响 [J]. 国际病理科学与临床杂志, 2013, 33(1): 37-41. DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.01.006

Cite this article as: CHEN Jia, HE Song, WANG Miaozhou, GUO Yan, ZHANG Xiaodong, JI Zhigu, ZHU Yafang, LU Junguo, TAO Yu, ZHU Xinghua, WANG Jianhong, YANG Shuyun, YIN Haibin, TAN Qinghe. Effect of beta-tubulin III expression levels on chemotherapy sensitivity for advanced non-small cell lung cancer[J]. International Journal of Pathology and Clinical Medicine, 2013, 33(1): 37-41. DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.01.006