

ОЦЕНКА ПРОГНОСТИЧЕСКОЙ ЗНАЧИМОСТИ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА ERCC1 У ПАЦИЕНТОВ С НЕМЕЛКОКЛЕТОЧНЫМ РАКОМ ЛЕГКОГО

Смирнов С.Ю., Пашкевич А.М., Бабенко А.С., Смолякова Р.М.

Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии им. Н.Н. Александрова», Минск, Республика Беларусь

Реферат. Определить прогностическую значимость уровня экспрессии гена ERCC1 в образцах опухолевой ткани немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени. Установлено преобладание пониженного уровня экспрессии гена ERCC1 у пациентов с IА стадией заболевания и Т2 степенью распространенности первичной опухоли. Также обнаружена связь между гипоэкспрессией гена ERCC1 и риском прогрессирования заболевания (развитие отдаленных метастазов) ($p < 0,01$). Выводы. Экспрессия гена ERCC1 может являться маркером неблагоприятного течения заболевания в группе пациентов с немелкоклеточным раком легкого без адъювантной химиотерапии.

Ключевые слова: ПЦР, ERCC1, немелкоклеточный рак легкого, экспрессия гена.

Summary. To determine the prognostic significance of ERCC1 gene expression level in tumor tissue samples of non-small cell lung cancer (NSCLC) using real time polymerase chain reaction

(PCR). Results. Low levels of ERCC1 gene expression prevails in patients with stage IIA disease and T2 extent of the primary tumor. Also an association between low expression of ERCC1 gene and risk of disease progression (the development of distant metastases) ($p < 0.01$) was found. Conclusion. ERCC1 gene expression can be a marker of unfavorable course of the disease in patients with non-small cell lung cancer without adjuvant chemotherapy.

Keywords: PCR, ERCC1, non-small cell lung cancer, gene expression.

Введение. Рак легкого (РЛ) является ведущей причиной смертности в большинстве развитых стран мира. Ежегодно новообразования легкого диагностируются примерно у 1,2 млн человек, причем более 1 млн жителей планеты погибают от рака легкого. [1]. В структуре онкологической заболеваемости на рак легкого приходится 12,8% [2]. Показатели 5-летней выживаемости при раке легкого даже в странах с самым высоким стандартом здравоохранения составляют всего 15%, а при среднем уровне развития медицины эта цифра едва достигает 5–7%. [3]. Около 80% всех случаев заболевания раком легкого составляет немелкоклеточный рак легкого (НМРЛ) [4].

Многочисленные исследования демонстрируют взаимосвязь низкого уровня экспрессии ERCC1 с более агрессивным течением заболевания, но вместе с этим и с хорошим ответом опухоли на лечение препаратами платины при злокачественных опухолях различной локализации [5]. Однако данные большинства работ противоречивы как при использовании одного, так и различных методов исследования [6]. Возможными причинами этого являются наличие множества изоформ белка ERCC1 [7], неспецифичность антитела 8F1 [8], использованного в большинстве работ для оценки уровня экспрессии ERCC1 и отсутствие стандартизованных подходов к оценке результатов, полученных как с помощью иммуногистохимического метода исследования, так и с помощью полимеразной цепной реакции с детекцией результатов в режиме реального времени. В настоящее время отсутствуют коммерчески доступные антитела к активной изоформе ERCC1, и единственным из широкодоступных и чувствительных методов оценки активности гена ERCC1 остается количественная ПЦР в режиме реального времени.

Цель исследования — определение прогностической значимости уровня экспрессии гена ERCC1 в образцах опухолевой ткани немелкоклеточного рака легкого (НМРЛ) методом ПЦР в режиме реального времени.

Материалы и методы. Материалом исследования послужили 78 образцов опухолевой ткани пациентов с НМРЛ I–IIIА стадии. У 43 пациентов с НМРЛ выявлено преобладание I стадии опухолевого процесса, что составило 52,4% ($n = 24$). У 20 (26,8%) исследуемых пациентов, страдающих немелкоклеточным раком легкого, диагностирована II стадия. Третья стадия выявлена у 15 (20,8%) пациентов.

Диагноз установлен на основании классификации ВОЗ и подтвержден патологами РНПЦ ОМР им. Н.Н. Александрова. Ни один из пациентов не получал лучевую или химиотерапию до операции. Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом ПЦР в режиме реального времени. В качестве референсного гена использовали RNA18S5. Оценка экспрессии генов ERCC1 проведена с использованием метода $-2\Delta\Delta Ct$. Количество мРНК ERCC1 анализировалось с использованием максимума второй производной (пороговый цикл), рассчитанной при помощи программного обеспечения Origin 8.1. В качестве контроля использовались образцы нормальной ткани легкого 42 пациентов.

Результаты и их обсуждение. Количественные данные ПЦР получены для всех образцов НМРЛ и морфологически неизменной ткани легкого. Среднее значение ΔC_p составило 15,36 отн.ед. для нормальной ткани легкого и 15,04 отн.ед для опухолевой ткани, стандартное отклонение, рассчитанное при помощи программного обеспечения Bestkeeper 1.0, составило 2,00 и 3,01 отн.ед соответственно. Диапазон нормальных значений для относительного уровня экспрессии гена ERCC1 ($\Delta\Delta Ct$) составил 0,25–4,06 отн.ед.

Уровень экспрессии ERCC1 превысил верхнее пороговое значение (4,06 отн.ед) у 30 (38,5%) пациентов. Гипоэкспрессия гена ERCC1 ($\Delta\Delta Ct$ меньше 0,25 отн.ед) выявлена у 11 (14,1%) пациентов. У 37 (47,4%) пациентов уровень экспрессии гена ERCC1 находился в преде-

лах нормы. Установлено статистически значимое различие по частоте выявления пониженного уровня экспрессии гена ERCC1 в группе пациентов со IIА стадией заболевания (37,5%) в сравнении с IА стадией (4,76%, $p < 0,05$). При анализе частот встречаемости гипер- и гипоекспрессии гена ERCC1 у пациентов с НМРЛ в зависимости от степени распространенности первичной опухоли согласно TNM классификации обнаружено статистически значимое понижение экспрессии исследуемого гена в группе Т2 (19,15%) в сравнении с Т1 группой (7,14%, $p < 0,05$).

Прогрессирование заболевания (развитие отдаленных метастазов) в течение года с момента постановки диагноза отмечено у двоих пациентов (2,6% от общего числа пациентов), в обоих случаях опухолевая ткань характеризовалась пониженным уровнем экспрессии гена ERCC1 (18,2% от случаев гипоекспрессии гена ERCC1). В результате статистической обработки данных установлена достоверно значимая связь между гипоекспрессией гена ERCC1 и риском метастазирования ($r_s = 0,552$; $p < 0,01$). Предварительный анализ не выявил прогрессирования заболевания среди обследованных пациентов группы химиотерапии ($n = 16$).

Заключение. Таким образом, экспрессия гена ERCC1 может являться маркером неблагоприятного течения заболевания в группе пациентов с немелкоклеточным раком легкого без адъювантной химиотерапии, позволяя выявлять группы лиц «высокого риска» при данной патологии. Пониженный уровень экспрессии гена ERCC1 достоверно чаще встречается у пациентов с IIА стадией заболевания, чем у пациентов с IА стадией, что возможно является объяснением низкой чувствительности к препаратам платины НМРЛ на ранних стадиях заболевания, продемонстрированной в ряде клинических испытаний.

Статистически значимое преобладание частоты встречаемости гипоекспрессии гена ERCC1 при Т2 степени распространенности первичной опухоли позволяет использовать для стратификации пациентов по вероятности выявления прогностического уровня экспрессии гена ERCC1 не только клиническую стадию заболевания, но и размер опухоли.

Литература

1. Dela Cruz, C.S. Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention / C.S. Dela Cruz, L.T. Tanoue, R.A. Matthay // Clin. Chest Med. — 2011. — Vol. 32, № 4. — P. 605–644.
2. Имянитов, Е.Н. Молекулярная патология рака легкого: клинические аспекты / Е.Н.Имянитов // Практик. онкология. — 2006. — № 3. — С. 131–137.
3. Mendelson, J. Status of epidermal growth factor receptor antagonists in the biology and treatment of cancer / J. Mendelson, J. Baselga // J. Clin. Oncol. — 2003. — Vol. 21, № 14. — P. 2787–2789.
4. Effect of delays on prognosis in patients with non-small cell lung cancer / G. Myrdal [et al.] // Thorax. — 2004. — Vol. 59, № 1. — P. 45–49.
5. Переводчикова, Н.И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний / Н.И. Переводчикова // Практик. медицина. — 2005. — С. 123–141.
6. RT-PCR versus immunohistochemistry for correlation and quantification of ERCC1, BRCA1, TUBB3 and RRM1 in NSCLC / A. Vilmar [et al.] // Lung Cancer. — 2012. — Vol. 75, № 3. — P. 306–312.
7. ERCC1 isoform expression and DNA repair in non-small-cell lung cancer / L. Friboulet [et al.] // N. Engl. J. Med. — 2013. — Vol. 368, № 12. — P. 1101–1110.
8. Choline phosphate cytidylyltransferase- α is a novel antigen detected by the anti-ERCC1 antibody 8F1 with biomarker value in patients with lung and head and neck squamous cell carcinomas / A. Vaezi [et al.] // Cancer. — 2014. — Vol. 120, № 12. — P. 1898–1907.