

## 基础研究

DOI: 10.3969/j.issn.0253-3626.2012.08.011

## II b/III a 期非小细胞肺癌患者肿瘤 RRM1 蛋白的表达意义

赵美玲<sup>1</sup>, 杨海虹<sup>2</sup>, 张亚雷<sup>2</sup>, 何建行<sup>2</sup>

(1. 南方医科大学研究生学院, 广州 510515; 2. 广州医学院第一附属医院胸外科广州呼吸疾病研究所, 广州 510120)

**【摘要】**目的: 研究核苷酸还原酶 M1 亚基(Ribonucleotide reductase subunit M1, RRM1)蛋白在 II b/III a 期非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)术后患者中的表达及 RRM1 蛋白表达对辅助化疗无疾病生存期(Disease free survival, DFS)的影响。方法: 采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶染色(Streptavidin-peroxidase, SP)法回顾性检测 100 例 II b/III a 期 NSCLC 根治术后患者肿瘤组织 RRM1 蛋白表达, 分析其表达状况与患者临床特征之间的关系, 并使用 SPSS 13.0 进行统计, 研究分析其对患者预后的影响。结果: (1) RRM1 蛋白在不同的性别、吸烟状况、分化程度、病理分期及不同治疗组中表达无明显差异( $P>0.05$ ), RRM1 蛋白表达在鳞癌患者中高于非鳞癌患者, 但无统计学差异(44.1%/30.3%,  $P=0.172$ ); (2) 在入组患者中, RRM1 蛋白低表达较 RRM1 蛋白高表达患者 DFS 时间明显延长(中位时间, 14 月/8 月,  $P=0.0194$ ); (3) 亚组分析中, 吉西他滨/顺铂方案辅助化疗组, 鳞癌患者较非鳞癌患者 DFS 时间明显延长(中位时间, 14 月/11 月,  $P=0.0119$ ); 接受吉西他滨/顺铂方案辅助化疗组的患者中, RRM1 蛋白低表达患者 DFS 较高表达患者明显延长(中位时间, 13 月/6 月,  $P=0.0217$ ), 但在单纯接受手术组的患者中不同 RRM1 蛋白表达的患者中 DFS 无明显差异(中位时间, 15.5 月/13 月,  $P>0.05$ ); (4) COX 多因素分析显示只有 RRM1 蛋白表达和病理类型是 II b/III a 期 NSCLC 的独立影响因素( $P$  均 $<0.005$ )。结论: 在 II b/III a 期 NSCLC 患者中, RRM1 蛋白可能是患者吉西他滨/顺铂辅助化疗方案疗效的预测因子。

**【关键词】** II b/III a 期; 非小细胞肺癌; 术后辅助化疗; 吉西他滨; 核苷酸还原酶 M1 亚基; 蛋白免疫组化

**【中国图书分类法分类号】** R734.2

**【文献标志码】** A

**【收稿日期】** 2012-04-17

## Expression and clinical significance of RRM1 protein in non-small cell lung cancer at stage of II b/III a

ZHAO Meiling<sup>1</sup>, YANG Haihong<sup>2</sup>, ZHANG Yalei<sup>2</sup>, HE Jianxing<sup>2</sup>

(1. Department of Postgraduate, Southern Medical University; 2. Guangzhou Institution of Respiratory Disease, Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital, Guangzhou Medical College)

**【Abstract】Objective:** To investigate the postoperative expression of ribonucleotide reductase subunit M1 (RRM1) protein in non-small cell lung cancer (NSCLC) at stage of II b/III a and to discuss the effect of RRM1 protein expression on disease free survival (DFS) of patients underwent adjuvant chemotherapy. **Methods:** Totally 100 patients with NSCLC at stage of II b/III a who underwent radical surgery were included in this study. The expression of RRM1 protein in tumor specimens was assayed by streptavidin-peroxidase (SP) immunohistochemistry retrospectively. Correlations between the expression of RRM1 protein and the clinical features or DFS time after operation were analyzed. SPSS 13.0 was used to analyze the effect of RRM1 protein expression on the patients' prognosis. **Results:** (1) No difference in the expression of RRM1 protein was found among patients with different genders, ages, smoking habits, pathological differentiation and stages ( $P>0.05$ ). RRM1 protein expression was increased in squamous carcinoma than in non-squamous carcinoma although there was no significant difference (44.1% vs. 30.3%,  $P=0.172$ ); (2) Patients with lower RRM1 protein expression experienced longer DFS time compared with those with higher RRM1 protein expression (median DFS, 14 months vs. 8 months,  $P=0.0194$ ); (3) In patients with adjuvant chemotherapy of Gemcitabine/Cisplatin, squamous carcinoma led to longer DFS time than non squamous carcinoma (median DFS, 14 months vs. 11 months,  $P=0.0119$ ); lower RRM1 protein expression led to longer DFS time than higher RRM1 protein expression (median DFS, 13 months vs. 6 months,  $P=0.0217$ ). No difference in the length of DFS time was found in the patients with only surgery (median DFS, 15.5 months vs. 13 months,  $P>0.05$ ). (4) COX multivariate regression analysis showed that the expression of RRM1 protein and pathological type were the independent prognostic factors of DFS in NSCLC at stage of II b/III a. **Conclusion:** RRM1 protein is a valuable predictive factor for Gemcitabine/Cisplatin adjuvant chemotherapy in NSCLC at stage of II b/III a.

**【Key words】** stage of II b/III a; non-small cell lung cancer (NSCLC); postoperative adjuvant chemotherapy; Gemcitabine; ribonucleotide reductase subunit M1 (RRM1); immunohistochemistry

作者介绍: 赵美玲(1986-), 女, 硕士,

研究方向: 肺癌化疗。

通信作者: 何建行, 男, 教授, Email: hejx@vip.163.com。

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,其中约 80%是非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)。目前,早期 NSCLC 可以通过手术治疗获得治愈,但术后的复发和转移仍是目前治疗的难点之一,术后辅助化疗可以清除手术难以发现切除的微转移灶,以减少肿瘤局部复发及远处转移风险。多个术后辅助化疗前瞻性临床研究证明包括第 3 代化疗药物在内的联合铂类两药辅助化疗方案较单纯手术组 5 年生存率有所改善( $P<0.03$ ),但仅提高约 4.0%<sup>[1-3]</sup>。Ⅱb/Ⅲa 期患者多为伴有淋巴结转移或者肿块较大,属于可手术患者中复发风险较高的人群,其术后复发率高达 50%以上,目前对于该部分患者术后推荐予第 3 代含铂的化疗辅助方案<sup>[4]</sup>。若能通过生物标记来帮助筛选第 3 代化疗药物,对该部分患者进行个体化治疗,不仅可能提高化疗疗效,还能避免不必要的毒副反应。

近年来,关于核苷酸还原酶 M1 亚基(Ribonucleotide reductase subunit M1, RRM1)等药敏生物标记得到广泛的研究。其中普遍认为肿瘤组织中 RRM1 mRNA 与蛋白高表达与吉西他滨耐药有关<sup>[5-7]</sup>。因为肿瘤组织 mRNA 与蛋白表达具有一定相关性,因此采用免疫组化 SP 法回顾性分析Ⅱb/Ⅲa 期 NSCLC 患者术中肿瘤组织 RRM1 蛋白的表达,并分析其与患者预后的关系。

## 1 资料与方法

### 1.1 患者入组标准

随机选取 2008 年 3 月至 2010 年 12 月在广州医学院第一附属医院胸外科行肺癌根治术患者,并且参照 UICC-7<sup>[8]</sup>进行术后病理分期确诊为Ⅱb/Ⅲa 期 NSCLC 100 例。全部患者中有 58 例接受了术后辅助化疗,方案为吉西他滨联合顺铂,化疗共 4 周期。其余 42 例为单纯手术治疗,术后未接受任何抗肿瘤治疗。剔除标准:(1)伴有其他恶性肿瘤病史;(2)术后 3 个月内死亡;(3)术前行新辅助化疗;(4)非根治性手术。

### 1.2 术后辅助化疗方案

所有患者治疗前白细胞计数  $4 \times 10^9$  个/L 以上,血小板计数  $100 \times 10^9$  个/L 以上,肝肾功能及心功能正常。化疗方案:所有患者根据体表面积予吉西他滨/顺铂(Gemcitabine/Cisplatin, GP)方案,即吉西他滨(健择,礼来公司)1 000 mg/m<sup>2</sup> 静脉滴注第 1、8 天,顺铂 75 mg/m<sup>2</sup> 分 3 d 静脉滴注。健择静脉滴注 30 min,化疗前地塞米松做预处理,化疗中常规应用 5-HT<sub>3</sub> 受体拮抗剂止吐。本方案 21 d 为 1 周期,完成 4 周期。

### 1.3 免疫组化的测定和判断

采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物染色法(Streptavidin-peroxidase, SP)免疫组化检测病理片中 RRM1 的表达,

其中鼠抗人 RRM1 多克隆抗体、SP 试剂盒、DAB 显色剂购自北京中杉金桥公司。将获得的组织标本制成 4  $\mu$ m 厚的石蜡切片,常规脱蜡、水化后进行预处理,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温培育 10 min,蒸馏水洗 3 次,每次 2 min,滴加 1:100 稀释的抗 RRM1 多克隆抗体,室温培育 20 min, DAB 显色,苏木精对比染色,脱水,二甲苯透明,中性树脂封固,用 PBS 代替一抗作为阴性对照,用已知的阳性切片作为阳性对照,显微镜下观察。

评估标准:以肿瘤细胞核出现棕黄色颗粒着色为阳性。制定免疫组化标准:每例标本在 400 倍视野下随机选取 500~1 500 个肿瘤细胞,观察阳性细胞染色强度,并计数阳性细胞百分数。按细胞染色强度记为 0~3 分:无着色为 0 分,淡黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,深棕色或棕褐色为 3 分。按阳性细胞百分数的构成比记为 0~3 分:<10%为 0 分,10%~25%为 1 分,26%~50%为 2 分,>50%为 3 分。以染色强度记分和阳性细胞百分数记分相加所得总分进行判断,总分 0~1 分为低表达(-),2 分及其以上为高表达(+).

### 1.4 随访方法、内容和无疾病生存时间计算

采用查阅病历及电话随访患者的吸烟状况和无疾病生存期(Disease free survival, DFS)。其中吸烟状况以终身吸烟少于 100 支记录为不吸烟,否则为吸烟。以 2012 年 1 月 17 日或者术后随访满 3 年为随访截止时间。DFS 是以手术当日为起点,以患者首次出现复发或远处转移为终点事件,截尾数据为随访结束时患者仍无疾病生存或者死于与肿瘤无关疾病。

### 1.5 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件进行处理,数据中样本率的比较采用  $\chi^2$  检验。生存分析采用 Kaplan-Meier 法, Log-rank 检验进行单因素分析,对生存多个影响因素采用 COX 比例风险回归模型分析,  $P<0.05$  认为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 患者临床特征

入组 100 例患者,其中男 69 例,女 31 例,年龄 15~84 岁,中位年龄 60 岁;其中有吸烟患者 44 例,病理类型:肺鳞癌 34 例,肺腺癌 55 例,其他病理类型 11 例;低分化癌 28 例,中高分化癌 72 例;临床分期:Ⅱb 期 24 例,Ⅲa 期 76 例;58 例患者接受 4 疗程 GP 方案辅助化疗,42 例患者因拒绝术后放化疗等辅助治疗,仅接受单纯手术治疗。接受 GP 方案术后辅助化疗的 58 例患者与 42 例单纯手术患者在性别、年龄、吸烟状况、病理类型、分化程度、病理分期上无明显差异( $P>0.05$ )(表 1)。

### 2.2 RRM1 蛋白表达和临床特征的关系

RRM1 蛋白免疫组化显色是在肿瘤细胞核出现棕黄色颗粒(图 1)。患者中 RRM1 蛋白低表达者 65 例(65/100, 65%),高表达者 35 例(35/100, 35%)。RRM1 蛋白在不同的性别、吸烟状况、分化程度、病理分期及不同治疗组中表达无明显差异( $P>0.05$ ),RRM1 蛋白表达在鳞癌患者中高于非鳞癌患者,但无统计学差异(44.1% vs. 30.3%,  $P=0.172$ )(表 2)。

表 1 入组患者临床特征及治疗特征

Tab.1 Clinical and treatment characteristics of enrolled patients

|      | 临床特征  | 人数<br><i>n</i> (%) | GP<br>辅助化疗 | 单纯<br>手术 | <i>P</i> 值 |
|------|-------|--------------------|------------|----------|------------|
| 性别   | 女性    | 31 (31%)           | 20         | 11       | 0.290      |
|      | 男性    | 69 (69%)           | 38         | 31       |            |
| 年龄   | ≤60 岁 | 50 (50%)           | 32         | 18       | 0.226      |
|      | >60 岁 | 50 (50%)           | 26         | 24       |            |
| 吸烟状况 | 吸烟    | 44 (44%)           | 24         | 20       | 0.338      |
|      | 不吸烟   | 56 (56%)           | 34         | 22       |            |
| 病理类型 | 鳞癌    | 34 (34%)           | 20         | 14       | 0.905      |
|      | 非鳞癌   | 66 (66%)           | 38         | 28       |            |
| 分化程度 | 低分化癌  | 28 (28%)           | 17         | 11       | 0.456      |
|      | 中高分化癌 | 72 (72%)           | 41         | 31       |            |
| 分期   | Ⅱb 期  | 24 (24%)           | 13         | 11       | 0.664      |
|      | Ⅲa 期  | 76 (76%)           | 45         | 31       |            |
| 总数   |       | 100                | 58         | 42       |            |

## 2.3 临床特征、RRM1 蛋白表达和生存预后的分析

入组患者中,虽然在不同的性别、年龄、吸烟状况、病理类型、分化程度、病理分期和治疗组中的患者 DFS 时间无明显差异( $P>0.05$ ),但 RRM1 蛋白低表达较 RRM1 蛋白高表达患者 DFS 时间明显延长(中位时间,14 月/8 月, $P=0.019\ 4$ )(图 2A)。

## 2.4 GP 方案辅助化疗及单纯手术亚组的生存预后分析

在亚组分析中发现,接受 GP 方案辅助化疗组,鳞癌患者较非鳞癌患者 DFS 时间明显延长(中位时间,14 月/11 月, $P=0.011\ 9$ )(图 2B)。并且接受 GP 方案辅助化疗的患者中,RRM1 蛋白低表达患者 DFS 较高表达患者明显延长(中位时间,13 月/6 月, $P=0.021\ 7$ ),但在单纯接受手术的患者中不同 RRM1 蛋白表达的患者中 DFS 无明显差异(中位时间,15.5 月/13 月, $P>0.05$ )(图 2C、D)。

## 2.5 生存预后的多因素分析

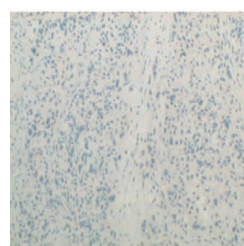
把患者的 RRM1 蛋白表达状况、吸烟状况、性别、年龄、病理类型、分化程度、病理分期和是否接受辅助化疗作为可能影响无病生存期的因素采用 COX 比例风险回归模型进行多因素分析。将  $P$  值为 0.05 作为协变量进入多元方程的界限, $P$  值为 0.1 作为协变量剔除出多元方程的界限。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。结果显示只有 RRM1 蛋白表达和病理类型具有统计学意义( $P$  均 $<0.005$ )(表 3)。

## 3 讨 论

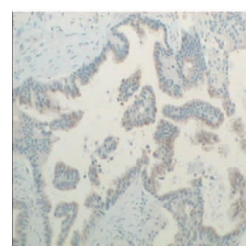
分子药敏生物标记是当前肿瘤个体化治疗的一个研究热点。其中 RRM1 是核苷酸还原酶的 1 个亚单位,不仅能调节核苷酸还原酶的活性,还能增加 DNA 损伤后的修复和凋亡,从而抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭。而吉西他滨是通过干扰核苷酸还原酶

表 2 RRM1 蛋白表达与临床特征( $n, \%$ )Tab.2 Association between RRM1 expression and clinical variables ( $n, \%$ )

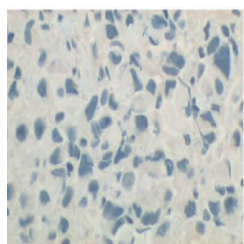
|      | 临床特征      | RRM1 (-)   | RRM1 (+)   | <i>P</i> 值 |
|------|-----------|------------|------------|------------|
| 性别   | 女性        | 23 (74.2%) | 8 (25.8%)  | 0.199      |
|      | 男性        | 42 (60.9%) | 27 (39.1%) |            |
| 吸烟状态 | 吸烟        | 26 (59.1%) | 18 (40.9%) | 0.187      |
|      | 不吸烟       | 39 (69.6%) | 17 (30.4%) |            |
| 病理类型 | 鳞癌        | 19 (55.9%) | 15 (44.1%) | 0.172      |
|      | 非鳞癌       | 46 (69.7%) | 20 (30.3%) |            |
| 分化程度 | 低分化       | 19 (67.9%) | 9 (32.1%)  | 0.448      |
|      | 中高分化      | 46 (58.3%) | 26 (41.7%) |            |
| 分期   | Ⅱb 期      | 14 (58.3%) | 10 (41.7%) | 0.435      |
|      | Ⅲa 期      | 51 (67.1%) | 25 (32.9%) |            |
| 术后治疗 | GP 方案辅助化疗 | 37 (63.8%) | 21 (36.2%) | 0.767      |
|      | 单纯手术      | 28 (66.7%) | 14 (33.3%) |            |



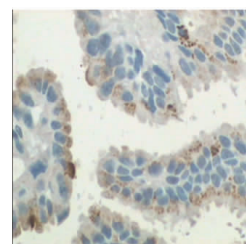
A. RRM1 蛋白免疫组化在 NSCLC 中低表达 (100×)



B. RRM1 蛋白免疫组化在 NSCLC 中高表达,肿瘤细胞核出现棕黄色颗粒 (100×)



C. RRM1 蛋白免疫组化在 NSCLC 中低表达 (400×)



D. RRM1 蛋白免疫组化在 NSCLC 中高表达,肿瘤细胞核出现棕黄色颗粒 (400×)

图 1 RRM1 蛋白免疫组化结果图像

Fig.1 RRM1 protein expression detected by immunohistochemistry

的功能而影响 DNA 合成,从而发挥细胞毒作用。因此,RRM1 既是肿瘤抑制因子,也是吉西他滨的分子作用靶点<sup>[9]</sup>。国外研究发现在早期术后无放化疗等辅助治疗患者中,特别是 I 期 R0 切除患者,RRM1 基因及蛋白高表达患者的 DFS 明显优于 RRM1 低表达患者<sup>[10,11]</sup>。可能 RRM1 表达有助于修复损伤的 DNA,所以 RRM1 高表达对延长未接受化疗的早期手术患者的生存期有积极作用。而在晚期患者中,已有多项研究表明 RRM1 mRNA 低表达患者能从含吉

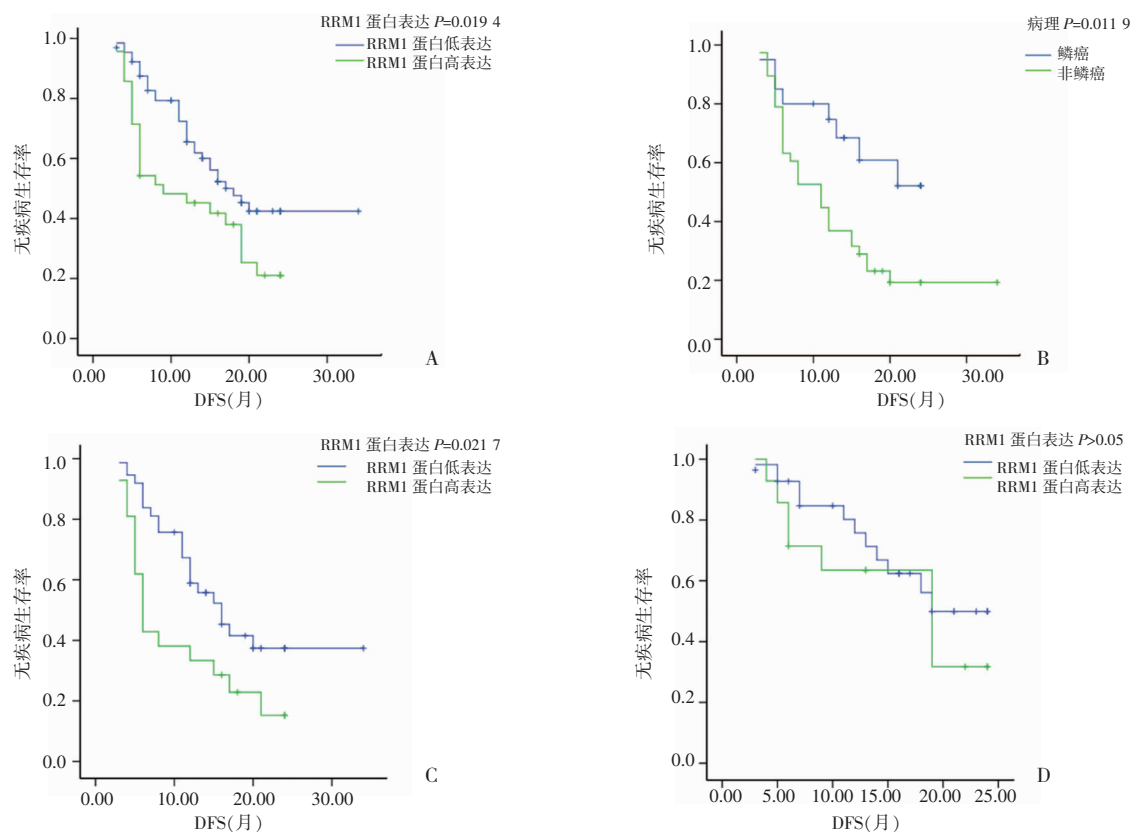


图 2 临床特征和 RRM1 蛋白表达的 DFS 生存曲线

Fig.2 DFS curves according to clinical characteristics and RRM1 protein expressions

表 3 II b/III a 期 NSCLC 预后因子的 COX 模型多因素分析

Tab.3 Multivariate analysis on prognostic factors in NSCLC at stage of II b/III a using COX proportional hazard model

| 影响因素     | B      | SE    | Wald  | df | Sig.  | EXP ( B ) | 95.0%CI for Exp ( B ) |       |
|----------|--------|-------|-------|----|-------|-----------|-----------------------|-------|
|          |        |       |       |    |       |           | Lower                 | Upper |
| 性别       | 0.370  | 0.377 | 0.960 | 1  | 0.327 | 1.447     | 0.691                 | 3.031 |
| 年龄       | -0.017 | 0.013 | 1.786 | 1  | 0.181 | 0.983     | 0.959                 | 1.008 |
| 吸烟状态     | 0.149  | 0.341 | 0.192 | 1  | 0.662 | 1.161     | 0.595                 | 2.263 |
| 病理类型     | 0.692  | 0.249 | 7.725 | 1  | 0.005 | 1.998     | 1.226                 | 3.256 |
| 分化程度     | -0.028 | 0.322 | 0.008 | 1  | 0.931 | 0.972     | 0.517                 | 1.829 |
| 分期       | 0.217  | .338  | 0.412 | 1  | 0.521 | 1.242     | 0.641                 | 2.406 |
| 术后治疗     | 0.456  | 0.290 | 2.469 | 1  | 0.116 | 1.577     | 0.893                 | 2.785 |
| RRM1 IHC | 0.721  | 0.278 | 6.743 | 1  | 0.009 | 2.056     | 1.193                 | 3.542 |

西他滨化疗中获益<sup>[5-7]</sup>;此外,Reynolds等<sup>[12]</sup>前瞻性Ⅲ期研究显示,晚期 NSCLC 肿瘤组织 RRM1 蛋白表达水平与含吉西他滨方案疗效显著负相关( $r=-0.41$ ,  $P=0.001$ )。Bepler 等<sup>[13]</sup>报道 RRM1 蛋白定量检测低表达较高表达患者有从术后辅助化疗获益的趋势( $HR=0.84$ ,  $P=0.25$ ),和本研究的结果类似。本实验也发现在所有 II b/III a 期患者中,RRM1 蛋白低表达较 RRM1 蛋白高表达患者 DFS 时间明显延长(中位时间,14 月/8 月,  $P=0.0194$ ),并且在亚组分析中考虑 RRM1 蛋白低表达患者的 DFS 获益主要来源于 GP 方案辅助化疗。因为实验结果提示,接受 GP 方案辅助化疗亚组的患者中,RRM1 蛋白低表达患者 DFS

较高表达患者明显延长,但在单纯接受手术组中不同 RRM1 蛋白表达的患者中 DFS 无明显差异。在 II b/III a 期患者中,这种 GP 辅助化疗的获益与上述晚期患者化疗的获益类似。GP 化疗主要通过干扰肿瘤细胞核苷酸还原酶的功能,从而影响肿瘤细胞的 DNA 合成,而肿瘤细胞中的 RRM1 蛋白恰能调节核苷酸还原酶的功能及修复 DNA 损伤,使得肿瘤细胞得以逃脱化疗的杀伤作用,因而 RRM1 蛋白高表达对吉西他滨/顺铂化疗耐药。

另一方面的研究结果显示在 II b/III a 期单纯手术组的患者中不同 RRM1 的表达对 DFS 时间的影响无明显差异。与其他早期单纯接受手术治疗患

者,特别是 I 期患者,RRM1 蛋白高表达的 DFS 时间较 RRM1 低表达延长<sup>[10,11]</sup>的研究结果不同,提示 RRM1 的表达对 I 期 NSCLC 单纯手术患者中的预后意义更大。这是因为 II b/III a 进展期患者多数伴有淋巴结转移和微转移,需要术后辅助化疗改善生存,因此 RRM1 在肺癌早期手术患者中的预后意义和辅助化疗、晚期患者的化疗预测意义是不同的。

文献报道 RRM1 mRNA 在肺鳞癌中的表达高于腺癌<sup>[14-16]</sup>,研究中同样发现 II b/III a 期 NSCLC 患者中 RRM1 蛋白在鳞癌中的表达较非鳞癌稍高,虽然无统计学差异,考虑主要为样本量不足引起。并且在接受 GP 方案辅助化疗的 II b/III a 期患者的亚组中,鳞癌患者较非鳞癌患者 DFS 时间明显延长 ( $P=0.0119$ ),因此在鳞癌患者中 GP 方案辅助化疗具有生存优势,这和晚期 NSCLC 中的报道相符<sup>[17]</sup>。但术后辅助化疗中 GP 方案在鳞癌病理类型和 RRM1 低表达患者中的生存优势,却和鳞癌患者 RRM1 有高表达这点有矛盾。这可能与鳞癌中还存在其他影响吉西他滨疗效的基因等混杂因素有关,因此本研究中鳞癌患者中 GP 方案辅助化疗具有生存优势可能来源于多基因的综合作用,将会作进一步深入研究。

在多因素生存分析中将 RRM1 蛋白表达、吸烟状况、性别、年龄、病理类型、分化程度、病理分期和是否接受辅助化疗等因素引入 COX 多因素回归模型,结果显示 RRM1 蛋白表达和病理类型是 II b/III a 期患者的独立预后因素,因此 RRM1 低表达的鳞癌是 GP 辅助化疗方案的适宜人群。

总而言之,RRM1 蛋白可能是 II b/III a 期患者 GP 辅助化疗方案疗效的预测因子。

## 参 考 文 献

- [1] Arriagada R, Bergman B, Dunant A, et al. Cisplatin based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(4):351-360.
- [2] Winton T, Livingston R, Johnson D, et al. Vinorelbine plus cisplatin vs. observation in resected non-small-cell lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2005, 352(25):2589-2597.
- [3] Douillard J Y, Rosell R, De Lena M, et al. Adjuvant vinorelbine plus cisplatin versus observation in patients with completely resected stage I B-III A non-small-cell lung cancer (Adjuvant Navelbine International Trialist Association [ANITA]): a randomised controlled trial[J]. *Lancet Oncol*, 2006, 7(9):719-727.
- [4] Mountain C F. Revisions in the international system for staging lung cancer[J]. *Chest*, 1997, 111(6):1710-1717.
- [5] Ceppi P, Volante M, Novello S, et al. ERCC1 and RRM1 gene expressions but not EGFR are predictive of shorter survival in advanced non-small-cell lung cancer treated with cisplatin and gemcitabine[J]. *Ann Oncol*, 2006, 17(12):1818-1825.
- [6] Boukovinas I, Papadaki C, Mendez P, et al. Tumor BRCA1, RRM1 and RRM2 mRNA expression levels and clinical response to first-line gemcitabine plus docetaxel in non-small-cell lung cancer patients[J]. *PLoS One*, 2008, 3(11):e3695.
- [7] Simon G, Sharma A, Li X, et al. Feasibility and efficacy of molecular analysis-directed individualized therapy in advanced non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(19):2741-2746.
- [8] Kassis E S, Vaporciyan A A, Swisher S G, et al. Application of the revised lung cancer staging system (IASLC staging project) to a cancer center population[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2009, 138(2):412-418.
- [9] Rosell R, Cobo M, Isla D, et al. Pharmacogenomics and gemcitabine[J]. *Ann Oncol*, 2006, 17(s5):v13-16.
- [10] Bepler G, Sharma S, Cantor A, et al. RRM1 and PTEN as prognostic parameters for overall and disease-free survival in patient with non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(10):1878-1885.
- [11] Zheng Z, Chen T G, Li X L, et al. DNA synthesis and repair genes RRM1 and ERCC1 in lung cancer[J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(8):800-808.
- [12] Reynolds C, Obasaju C, Schell M J, et al. Randomized phase III trial of gemcitabine-based chemotherapy with in situ RRM1 and ERCC1 protein levels for response prediction in non-small-cell lung cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2009, 27(34):5808-5815.
- [13] Bepler G, Olaussen K A, Vataire A L, et al. ERCC1 and RRM1 in the international adjuvant lung trial by automated quantitative in situ analysis[J]. *Am J Pathol*, 2011, 178(1):69-78.
- [14] 陈 芹, 周彩存, 张 颀. ERCC1、RRM1 和 BRCA1 在非小细胞肺癌中的表达及预后意义[J]. *肿瘤*, 2007, 27(9):719-722.
- Chen Q, Zhou C C, Zhang J. Expression and prognostic significance of ERCC1, RRM1, and BRCA1 mRNA in non-small cell lung cancer[J]. *Tumor*, 2007, 27(9):719-722.
- [15] 廖日强, 林嘉颖, 乔贵宾, 等. 非小细胞肺癌组织芯片中 RRM1 表达和预后因子分析[J]. *中国肺癌杂志*, 2006, 9(5):423-427.
- Liao R Q, Lin J Y, Qiao G B, et al. RRM1 expression in tissue microarray and prognosis analysis in non-small cell lung cancer[J]. *Chin J Lung Cancer*, 2006, 20(5):423-427.
- [16] 梁伟军, 胡成平, 顾其华, 等. ERCC1、RRM1 表达对肺癌患者术后吉西他滨联合顺铂化疗生存趋势的影响[J]. *中国肺癌杂志*, 2009, 12(5):403-407.
- Liang W J, Hu C P, Gu Q H, et al. Effects of expression of ERCC1, RRM1 on survival trend of lung cancer with Cisplatin combine Gemcitabine chemotherapy after surgical resection[J]. *Chin J Lung Cancer*, 2009, 12(5):403-407.
- [17] 朱 军, 张 洁, 周彩存. 吉西他滨联合铂治疗晚期非鳞癌与非腺癌疗效分析[J]. *同济大学学报(医学版)*, 2009, 12(30):78-80.
- Zhu J, Zhang J, Zhou C C. Curative effect of gemcitabine combined with platinum drugs on treatment of advanced squamous carcinoma and adenocarcinoma of lung[J]. *Journal of Tongji University (Medical Science)*, 2009, 30(1):77-80.

(责任编辑:冉明会)