



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



**저작자표시.** 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



**비영리.** 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



**변경금지.** 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

의학 석사학위 논문

ERCC-1 (excision repair  
cross-complementation-1)의 발현이  
소세포 폐암 환자의 예후에 미치는 영향

아주대학교 대학원

의학과

이명희

ERCC-1 (excision repair  
cross-complementation-1)의 발현이  
소세포 폐암 환자의 예후에 미치는 영향

지도교수 최진혁

이 논문을 의학 석사학위 논문으로 제출함.

2008년 2월

아주대학교 대학원

의학과

이명희

이명희의 의학 석사학위 논문을 인준함.

심사위원장 최진혁 인

심사위원 오영택 인

심사위원 한재호 인

아주대학교 대학원

2007년 12월 21일

## ERCC-1 (excision repair cross-complementation-1)의 발현이 소세포 폐암 환자의 예후에 미치는 영향

배경: 세포 자멸사 관련 단백질과 DNA 손상 복구 단백질의 이상 변화는 소세포 폐암의 치료 실패의 가장 중요한 원인인 항암화학요법이나 방사선치료에 대한 저항성과 관련이 있다.

대상 및 방법: 소세포 폐암을 진단 받은 환자 77명 (제한기:40명, 전신기:37명)의 치료 시작 전 종양 조직으로부터 면역조직화학 염색을 통해 p53, bcl-2, bax, ERCC1의 발현을 조사하였다. 모든 환자는 platinum을 근간으로 한 항암화학요법을 사용하여 치료하였으며 etoposide/cisplatin이 가장 많이 사용된 (50명) 요법이었다. 제한기 환자의 경우 항암화학요법과 동시에 혹은 순차적인 방법으로 흉부 방사선치료를 병행하였다.

결과: p53, bcl-2, bax, ERCC1의 고발현이 각각 40명 (52%), 72명 (94%), 39명 (49%), 13명 (17%)에서 관찰되었으며, ERCC1이 고발현될 수록 전체 생존기간 (overall survival)이 짧았다 (1년, 23% vs. 53%;  $p=0.026$ ). 또한 각각의 병기로 나누어 보았을 경우 이러한 관련성이 제한기에서만 의미 있게 나타났다 ( $p=0.017$ ). p53, bcl-2, bax의 고발현과 환자의 예후와는 관련이 없었다. 다변량 분석 결과, 전신기 ( $p=0.006$ )와 남성 ( $p=0.009$ )이 불량한 예후를 예측할 수 있는 독립적인 인자였으며, ERCC1의 고발현은 통계적으로 유의하지는 않았으나 불량한 예후를 시사하는 경향을 보였다 ( $p=0.057$ ). 그러나 제한기의 환자의 경우 ERCC1의 고발현 ( $p=0.046$ )은 남성 ( $p=0.033$ )과 함께 불량한 예후를 예측할 수 있는 독립적인 인자였다.

결론: ERCC1 단백질의 고발현은 항암화학요법과 방사선 병용요법 혹은 항암화학요법을 시행 받은 소세포 폐암 환자, 특히 제한기에서 불량한 예후를 예측하는데

유용할 것으로 생각된다.

---

핵심어: 소세포 폐암, ERCC1, 항암화학요법, 예후

# 차 례

국문요약 .....	i
차례 .....	iii
그림차례 .....	iv
표 차례 .....	v
I. 서론 .....	1
II. 연구 대상 및 방법 .....	2
A. 연구 대상 .....	2
B. 항암화학요법 .....	2
C. 방사선치료 .....	3
D. 치료 효과의 평가 .....	3
E. 약제 내성 관련 단백질에 대한 면역조직화학 염색 .....	3
F. 통계 방법 .....	6
III. 결과 .....	7
A. 환자 특성 .....	7
B. 약제 내성과 연관된 단백질의 발현과 임상적, 병리학적 특징의 연관성 .....	9
C. 약제 내성과 연관된 단백질의 발현과 환자의 임상 결과와의 연관성 .....	11
IV. 고찰 .....	18
V. 결론 .....	22
참고문헌 .....	23
ABSTRACT .....	30

## 그림 차례

Fig. 1. Immunohistochemical staining of drug resistance-related proteins in small cell lung cancer (grade in the intensity) .....	5
Fig. 2. Overall survival of patients with small cell lung cancer according to the expression of ERCC1 .....	15



## 표차 례

Table 1. Characteristics of patients .....	8
Table 2. ERCC1 expression and clinicopathologic characteristics .....	9
Table 3. Univariate analysis of overall survival .....	12
Table 4. Multivariate analysis of overall survival .....	13

## I. 서 론

소세포 폐암은 초기에 전이를 잘하는 가장 공격적인 폐암으로 미국과 유럽, 한국에서 새로 진단된 폐암 환자의 14%를 차지한다 (Sandler, 2003; Shin 등, 2004; Spira와 Ettinger, 2004; Jackman과 Johnson, 2005). 소세포 폐암은 항암화학요법에 대한 초기 반응이 좋기 때문에 제한기나 전신기 모두 복합 항암화학요법이 주요한 치료이다 (Sandler, 2003; Spira와 Ettinger, 2004; Jackman과 Johnson, 2005). 전신 수행 상태가 좋은 제한기의 소세포 폐암 환자의 경우 etoposide와 cisplatin을 사용한 항암화학요법과 흉부 방사선치료의 병용 요법이 표준 치료로 완전 관해율이 50-80%, 5년 생존률이 12-25%로 보고되고 있다 (Sandler, 2003; Spira와 Ettinger, 2004; Jackman과 Johnson, 2005). Platinum을 근간으로 etoposide나 irinotecan과의 복합 항암화학요법을 사용한 경우 전신기의 소세포 폐암 환자에서는 60-80%의 반응율과 7-12개월의 중앙 생존 기간을 나타낸다 (Sandler, 2003; Spira와 Ettinger, 2004; Jackman과 Johnson, 2005).

그러나 항암화학요법이나 방사선치료에 대한 초기 반응이 좋더라도 대부분의 소세포 폐암 환자의 경우 병이 진행하여 95% 이상이 암으로 사망하게 되며 (Sandler, 2003; Spira와 Ettinger, 2004; Jackman과 Johnson, 2005), 항암화학요법이나 방사선치료에 대한 저항성이 소세포 폐암 환자가 불량한 예후를 보이는 중요한 원인이 된다 (Dingemans 등, 1999; Viktorsson 등, 2005). 따라서 항암화학요법과 방사선치료에 대한 반응을 예상 할 수 있는 지표를 규명하는 것이 임상적인 관심의 대상이 되고 있으며 항암제나 방사선에 대한 저항성과 관련된 단백질들이 그러한 지표들로 고려되고 있다. 본 저자들은 platinum을 근간으로 한 항암화학요법과 방사선치료를 병용하거나 항암화학요법만 단독으로 시행한 소세포 폐암 환자를 대상으로 항암제나 방사선에 대한 저항성과 관련된 단백질인 p53, bcl-2, bax, 그리고 excision repair cross-complementation group 1(ERCC1)의 예후 인자로서의 유용성을 조사 연구하였다.

## II. 연구 대상 및 방법

### A. 연구 대상

1996년 9월부터 2004년 12월까지 아주대 병원에서 조직학적으로 소세포 폐암으로 진단 받고 이전에 치료를 받지 않았던 82명의 환자들을 대상으로 방사선 치료와 병용하여 혹은 단독으로 항암화학요법을 시행하였다. 이들 중 5명의 환자에서 조직 표본을 찾지 못하거나 면역조직화학 염색이 불충분하여 연구에서 제외되었다. 70개의 조직은 원발 부위 종양을 기관지경이나 흉강경을 통해서, 7개의 조직은 전이 부위로부터 얻을 수 있었다 (경부 림프절:4, 간:2, 뇌:1).

각각의 환자들의 병기 결정을 위해 진행한 검사는 다음과 같다: 신체 검사, 단순 방사선 촬영, 흉부나 상부 복부 전산화 단층 촬영, 뇌 전산화 단층 촬영, 전신 뼈 스캔, 말초혈액 검사, 일반화학 검사. 환자들의 병기는 The Veterans Administration Lung Study Group system을 사용하여 결정하였다 (Zelen, 1973). 본 연구는 아주대 의료원 의학연구윤리심의위원회 (Institutional Review Board)의 승인하에 시행되었다.

### B. 항암화학요법

가장 많이 사용한 항암화학요법은 EP (etoposide 100 mg/m<sup>2</sup>, cisplatin 25 mg/m<sup>2</sup>, 1-3일; 50명)였고 다음은 CI (ifosfamide 1.5 g/m<sup>2</sup>, 1-3일, carboplatin 5 or 6 AUC, 1일), IP (irinotecan 60 mg/m<sup>2</sup>, 1일, 8일, cisplatin 60 mg/m<sup>2</sup>, 1일), IC (irinotecan 60 mg/m<sup>2</sup>, 1일, 8일, carboplatin 5 or 6 AUC, 1일)의 순이었다. 항암화학요법은 매 3주마다 반복 시행하였으며 전신기의 소세포 폐암 환자의 경우에는 2주기의 항암화학요법 후에 반응을 평가하여 반응을 나타낸 경우 2-4주기의 항암화학요법을 추가하였다. 흉부 방사선치료는 주치 의사의 판단에 따라 동시 항암화학-방사선요법 혹은 순차적 항암화학-방사선요법으로 시행하였다. 동시 항암화학-방사선요법을 시행하는 경우에는 두 번째 주기의 항암화학요법일에 방사선치료

를 시작하여 방사선치료가 끝난 직후 세 번째 주기의 항암화학요법을 시행하였다. 순차적 항암화학-방사선요법은 대개 항암화학요법이 모두 종료된 후 시행하였으나, 폐쇄성 폐렴이 있는 경우에는 방사선치료를 우선적으로 시행하기도 하였으며, 일부 환자들은 두 번째와 세 번째 주기의 항암화학요법 사이에 방사선치료를 시행 받았다.

#### C. 방사선치료

방사선치료는 6 또는 15 MV LINAC (CLINAC 2100CD, Varian Medical Systems, Palo Alto, CA, USA)를 사용하였다. 동시 항암화학-방사선요법을 하는 경우 총 45Gy를 시행하였고 (1.5Gy를 하루에 두 번씩, 총 30차례, 매주 5일) 경우에 따라 3-6Gy의 추가적인 방사선치료를 하였다. 순차적 항암화학-방사선요법을 하는 경우에는 항암화학요법이 종료된 후 총 55.8Gy를 31회로 나누어 시행하였다 (1.8Gy/fraction/day, 5일/주). 폐쇄성 폐렴이 있는 환자들은 30Gy의 방사선치료 (2.5Gy/fraction/day, 12 fractions)가 항암화학요법 전에 시행되었다. 항암화학-방사선요법 후 완전 관해를 보인 제한기 환자들은 두개부에 예방적 뇌 방사선치료를 시행받았다 (총 25Gy, 2.5Gy/fraction/day).

#### D. 치료 효과의 평가

전신기의 소세포 폐암 환자는 두 번째와 네 번째 주기의 항암화학요법 종료 후에, 제한기의 환자는 네 번째 주기의 항암화학요법이 종료된 후에 흉부 전산화 단층 촬영을 시행하여 세계 보건 기구 기준 (Miller등, 1981)에 따라 치료에 대한 반응을 평가하였다. 치료가 모두 종료된 후에 처음 1년 동안에는 매 3개월마다 흉부 단순 방사선 촬영과 전산화 단층 촬영을 하였고 다음 해에는 4개월마다, 그 다음에는 6개월 간격으로 3년간, 이후에는 매년 한 번씩 검사를 시행하였다.

#### E. 약제 내성 관련 단백질에 대한 면역조직화학 염색

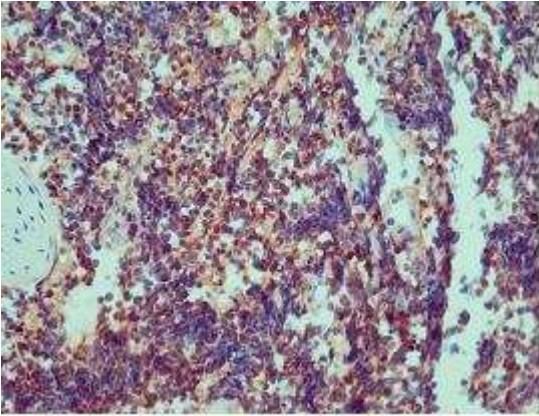
치료를 시작하기 전 얻어진 포르말린으로 고정하여 파라핀으로 포매한 종양

조직을 대상으로 생쥐의 단클론항체를 이용하여 면역조직화학 염색을 시행하였으며 [p53 (DO-7, dilution 1:20, Novocastra Laboratories Ltd, Newcastle upon Tyne, United Kingdom), bcl-2 (NCL-bcl-2, dilution 1:50, Novocastra Laboratories Ltd), ERCC1 (ERCC1 Ab-2, dilution 1:100, Neomarkers, Fremont, CA, USA)], bax에 대해서는 토끼의 단클론항체 (dilution 1:1,000, DAKO, Carpinteria, CA, USA)를 사용하였다.

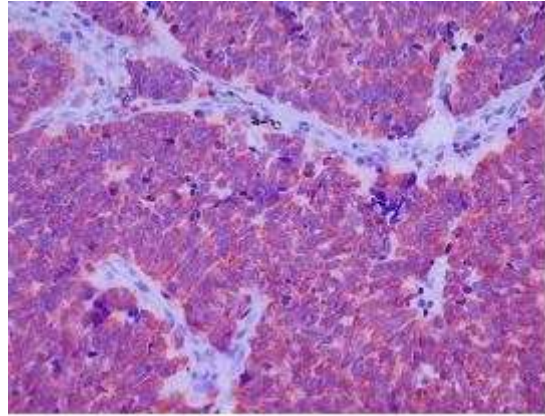
각 조직 절편은 xylene을 사용하여 파라핀을 제거한 후 단계적으로 알코올과 물에서 재수화한 후 10분 동안 3%의 과산화 수소를 처리하여 내인성 과산화효소 활성을 억제하였다. 이후 단백 억제 용액 (protein-blocking solution)을 처리하여 원발 항체를 넣고 4°C에서 하룻밤 동안 보관하였다. 절편을 PBS (phosphate-buffered saline)로 수차례 세척한 후 이차 항체를 처리하였으며 항체는 the streptavidin-biotin method로 a Cap-Plus detection kit (Zymed Laboratories Inc, San Francisco, CA, USA)을 이용하여 탐지하였다. 이 슬라이드를 다시 PBS로 세척하여, diaminobenzidine으로 탈색시킨 후 Mayer's hematoxylin으로 대조염색하였다. 이에 대한 음성 대조군은 면역조직화학 염색의 과정에서 일차 항체를 제거하여 염색한 것을 사용하였다. Bax와 bcl-2에 대한 양성 대조군은 각각 정상 림프절의 germinal center와 interfollicular area의 림프구가 사용되었다. p53이 고발현되는 것으로 알려진 대장암의 조직 절편을 p53의 양의 대조군으로 사용하였다. ERCC1의 양의 대조군은 편도의 내피세포를 사용하였다.

각 슬라이드는 환자에 대한 임상적 정보를 제공하지 않고 두 명의 병리 의사가 각각 판독하였다. 약제 내성에 관계된 단백질 발현 정도는 염색 강도 (graded on a scale of 0 to 3; 0 = no staining, 1 = weak staining, 2 = moderate staining, 3 = strong staining)와 양성 종양 세포의 비율 (graded on a scale of 0 to 3; 0=none, 1=1-9%, 2=10-49%, 3≥50%)에 따라 분류하였다. 또한 양성 종양 세포의 비율과 염색 강도가 모두 2점 이상인 경우에 이 단백질들의 발현을 양성으로 간주하였다 (Fig.1).

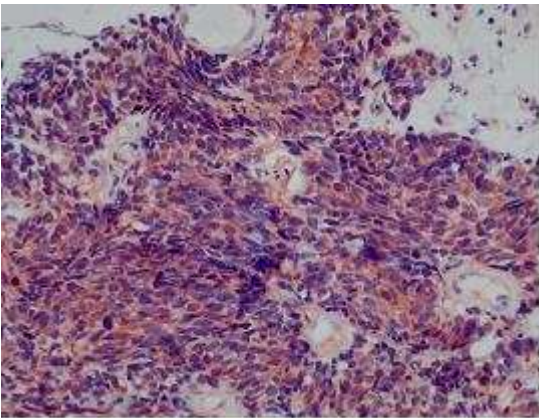
A.



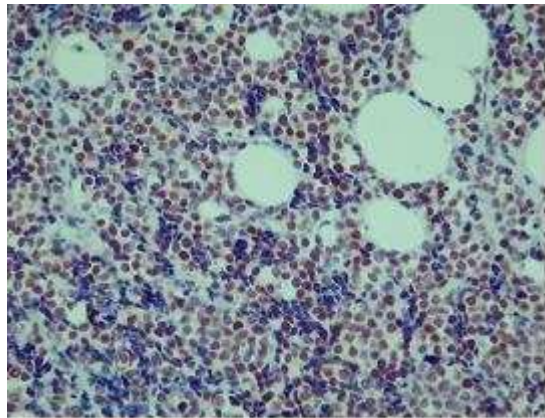
B.



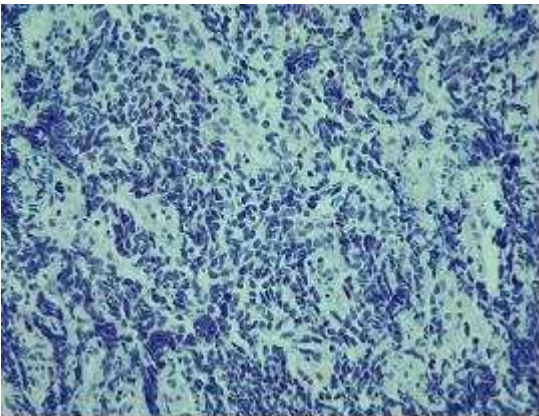
C.



D.



E.



**Fig. 1 Immunohistochemical staining of drug resistance-related proteins in small cell lung cancer (grade in the intensity) (X400).** (A) High expression of p53: nuclear staining (grade 3). (B) High expression of bcl-2: cytoplasmic staining (grade 3). (C) High expression of bax: cytoplasmic staining (grade 3). (D) High expression of ERCC1: nuclear staining (grade 3). (E) Low expression of ERCC1 (grade 0).

#### F. 통계 방법

전체 생존기간 (overall survival, OS)은 the Kaplan-Meier method를 사용하여 산출하였다 (Kaplan과 Meier, 1958). 전체 생존기간은 조직학적 진단이 된 시점에서 사망할 때까지의 기간으로 정의하였고 생존자의 경우에는 마지막 추적 기간까지의 기간으로 하였다. 생존 곡선의 차이는 log-rank test를 사용하였으며 생존에 영향을 미치는 여러 가지 변수를 고려하여 The Cox proportional-hazards regression model을 이용하였다 (Cox, 1972). 여러 임상적, 병리학적인 특성들의 비교는 the Fisher's exact test를 사용하였고 모든 분석은 SPSS for Windows 12.0 software를 사용하였다.

### III. 결과

#### A. 환자 특성

77명의 환자들의 임상-병리학적 특성은 Table 1.과 같다. 40명의 환자가 제한기였고 37명이 전신기였으며 제한기의 환자 중 16명이 etoposide와 cisplatin을 사용하여 동시 항암화학-방사선요법을 시행 받았다.



**Table 1. Characteristics of patients**

Characteristics	Number (%)
Age (years)	
Median	61
Range	41-76
Gender	
Male	69 (90)
Female	8 (10)
Performance status (ECOG)	
0	3 (4)
1	53 (69)
2	19 (25)
3	2 (2)
Stage	
Limited	40 (52)
Extensive	37 (48)
Weight loss ( $\geq 5\%$ )	
No	47 (61)
Yes	30 (39)
Chemotherapy regimens	
Etoposide/cisplatin	50 (65)
Ifosfamide/carboplatin <sup>a</sup>	15 (19)
Irinotecan/cisplatin	6 (8)
Irinotecan/carboplatin	6 (8)
Treatment modality in limited stage	
CCRT	17 (42)
CTX followed by RT	8 (20)
RT followed by CTX	6 (15)
RT between CTX	4 (10)
CTX alone	5 (13)

<sup>a</sup>Including a patient treated with etoposide, ifosfamide, carboplatin. ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; CCRT, concurrent chemoradiotherapy; CTX, chemotherapy; RT, radiotherapy.

B. 약제 내성과 연관된 단백질 발현과 임상적, 병리학적 특징의 연관성

p53, bcl-2, bax, ERCC1이 각각 40명 (52%), 72명 (94%), 39명 (49%), 13명 (17%)에서 고발현되었다. ERCC1의 고발현과 치료에 대한 반응을 비롯한 임상적, 병리적 특성간에 유의한 관계는 보이지 않았고 bax의 고발현과만 관련이 있었다 (Table 2.). p53, bcl-2, bax의 고발현과 임상적, 병리적 특징과는 유의한 연관성은 없었다.

**Table 2. ERCC1 expression and clinicopathologic characteristics**

Characteristics	ERCC1 Expression (%)		
	High	Low	<i>P</i>
Age <sup>a</sup>			0.377
≤ 61	5 (38)	34 (53)	
> 61	8 (62)	30 (47)	
Gender			1.000
Male	12 (92)	57 (89)	
Female	1 (8)	7 (11)	
Performance status (ECOG)			0.325
0, 1	8 (62)	48 (75)	
2, 3	5 (38)	16 (25)	
Weight loss (≥5%)			0.067
No	11 (85)	36 (56)	
Yes	2 (15)	28 (44)	
Stage			0.367
Limited	5 (38)	35 (55)	
Extensive	8 (62)	29 (45)	
Chemotherapy regimens			0.352
Etoposide+cisplatin	11 (84)	39 (61)	
Ifosfamide+carboplatin <sup>b</sup>	1 (8)	14 (22)	
Irinotecan+cisplatin	0 (0)	6 (9)	
Irinotecan+carboplatin	1 (8)	5 (8)	
p53 expression			0.549

High	8 (62)	32 (50)	
Low	5 (38)	32 (50)	
Bcl-2 expression			0.582
High	13 (100)	59 (92)	
Low	0 (0)	5 (8)	
Bax expression			0.036
High	10 (77)	28 (44)	
Low	3 (23)	36 (56)	
Response of treatment			1.000
CR, PR	11 (85)	53 (83)	
Others <sup>c</sup>	2 (15)	11 (17)	
CR to treatment			1.000
CR	1 (8)	9 (14)	
Others <sup>d</sup>	12 (92)	55 (86)	
Treatment modality in limited stage			0.634
CCRT	3 (60)	14 (40)	
Others	2 (40)	21 (60)	

<sup>a</sup>Median age.

<sup>b</sup>Including a patient treated with etoposide, ifosfamide, carboplatin.

<sup>c</sup>Stable disease, progressive disease, not evaluable.

<sup>d</sup>Partial response, stable disease, progressive disease, not evaluable.

ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group; CR, complete response; PR, partial response; CCRT, concurrent chemoradiotherapy.

### C. 약제 내성과 연관된 단백질 발현과 환자의 임상 결과와의 연관성

증상 추적 관찰 기간은 12개월 (범위; 3-123개월)이었으며 추적 중단된 환자는 없었다. 9명의 환자가 조사 시점까지 생존하였다. 모든 환자의 증상 생존 기간은 12개월로 제한기 소세포 폐암의 경우 14개월, 전신기는 11개월이었고 2년 생존률은 17%였다. 단변량 분석 결과 ERCC1이 고발현된 경우 전체 생존 기간이 짧았다 (1년, 23% vs. 53%;  $P=0.026$ ) (Fig. 2A. and Table 3.). ERCC1의 고발현과 환자의 예후 간의 유의한 상관 관계는 제한기의 환자에서만 관찰되었다 ( $p=0.017$ ) (Fig. 2B. and Fig 2C.). 조사 시점까지 생존한 9명의 환자는 모두 제한기로 ERCC1은 음성이었다. p53, bcl-2, bax의 고발현은 환자의 생존 기간과는 무관하였다 (Fig. 2D. to 2F.). 다변량 분석 결과, 치료 시작 전의 특성 중 전신기 ( $P=0.006$ )와 남성 ( $P=0.009$ )이 짧은 생존 기간을 예상할 수 있는 독립 인자였으며 ERCC1의 고발현은 통계적으로 의미는 없었으나 불량한 예후와 연관되는 경향을 보였다 ( $P=0.057$ ) (Table 4.). 반면 제한기의 소세포 폐암 환자의 경우 ERCC1의 고발현은 남성 ( $P=0.033$ )과 함께 불량한 예후를 예상할 수 있는 독립적인 예후 인자였다 ( $P=0.046$ ) (Table 4.).

**Table 3. Univariate analysis of overall survival**

Prognostic Factors	1-year OS (%)	<i>P</i>
Age <sup>a</sup>		0.136
≤ 61	46	
> 61	50	
Gender		0.002
Male	43	
Female	88	
Performance status (ECOG)		0.021
0, 1	50	
2, 3	43	
Weight loss (≥5%)		0.272
No	38	
Yes	63	
Stage		0.0002
Limited	60	
Extensive	35	
ERCC1 expression		0.026
Low	53	
High	23	

<sup>a</sup>Median age.

OS, overall survival; ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group.

Table 4. Multivariate analysis of overall survival

Prognostic Factors	Hazard Ratio	95% CI	<i>P</i>
All patients			
Age <sup>a</sup>			0.618
≤ 61	1		
> 61	1.14	0.69-1.87	
Gender			0.009
Female	1		
Male	4.78	1.48-15.48	
Performance status (ECOG)			0.748
0, 1	1		
2, 3	1.11	0.59-2.08	
Weight loss (≥5%)			0.878
No	1		
Yes	0.96	0.56-1.65	
Stage			0.006
Limited	1		
Extensive	2.07	1.24-3.47	
ERCC-1 expression			0.057
Low	1		
High	1.84	0.98-3.46	
Patients with limited stage			
Age <sup>a</sup>			0.736
≤61	1		
> 61	1.15	0.52-2.52	
Gender			0.033
Female	1		
Male	8.92	1.20-66.50	
Performance status (ECOG)			0.088
0, 1	1		
2, 3	2.63	0.87-8.00	

Weight loss			0.194
No	1		
Yes	0.59	0.27-1.30	
CCRT vs others			0.459
CCRTx	1		
Others	1.34	0.62-2.93	
ERCC1 expression			0.046
Low	1		
High	2.8	1.02-7.70	

---

<sup>a</sup>Median age.

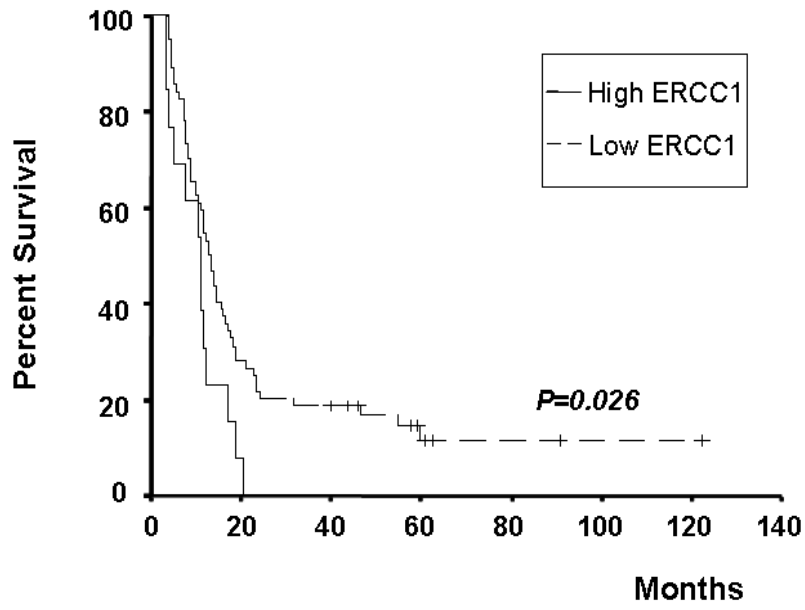
ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group;

CCRT, concurrent chemoradiotherapy; CTX, chemotherapy;

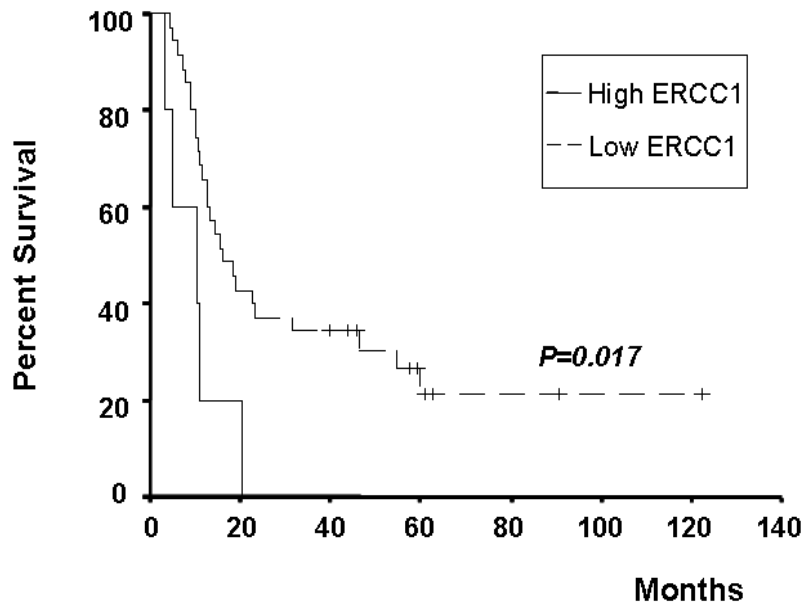
RT, radiotherapy. CR, complete response; PR, partial response;

OS, overall survival; CI, confidence interval.

A.

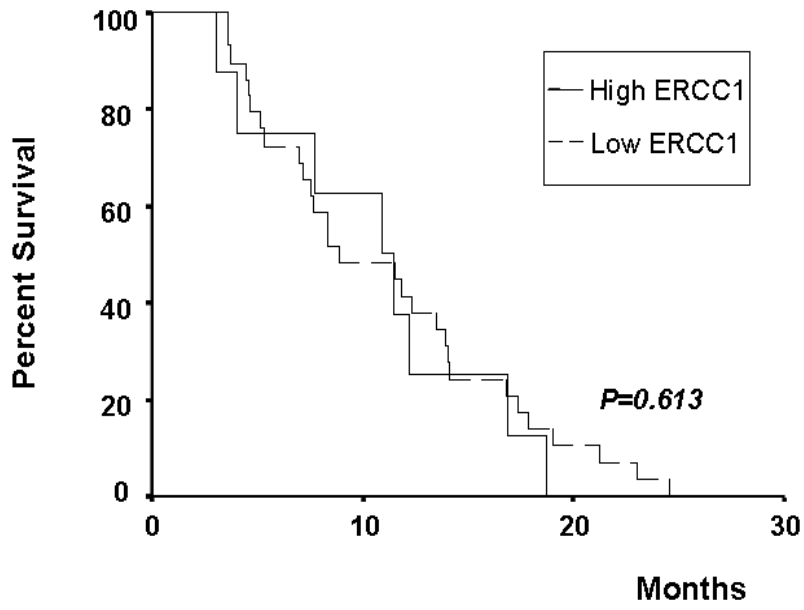


B.

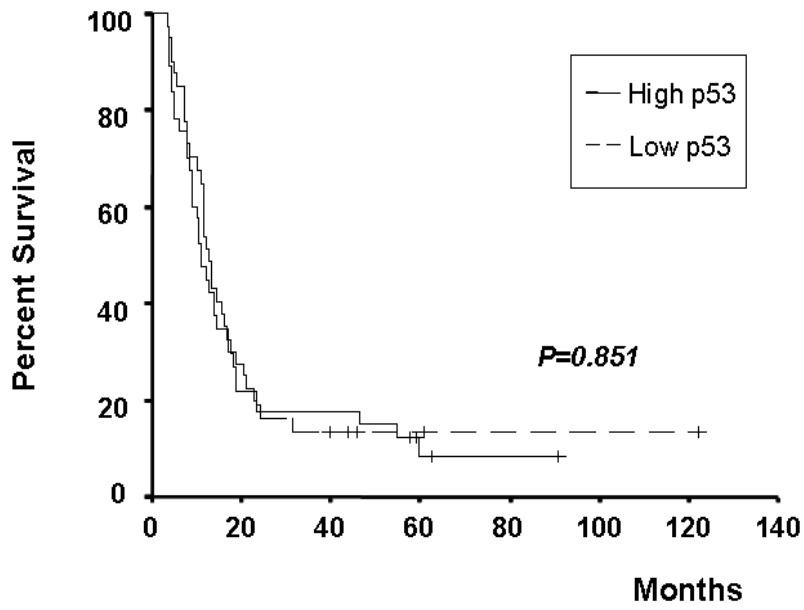




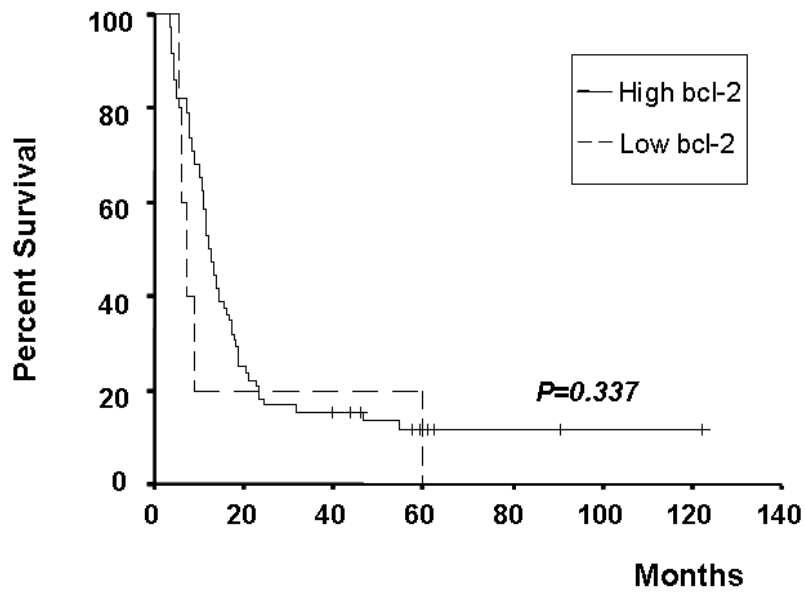
C.



D.



E.



F.

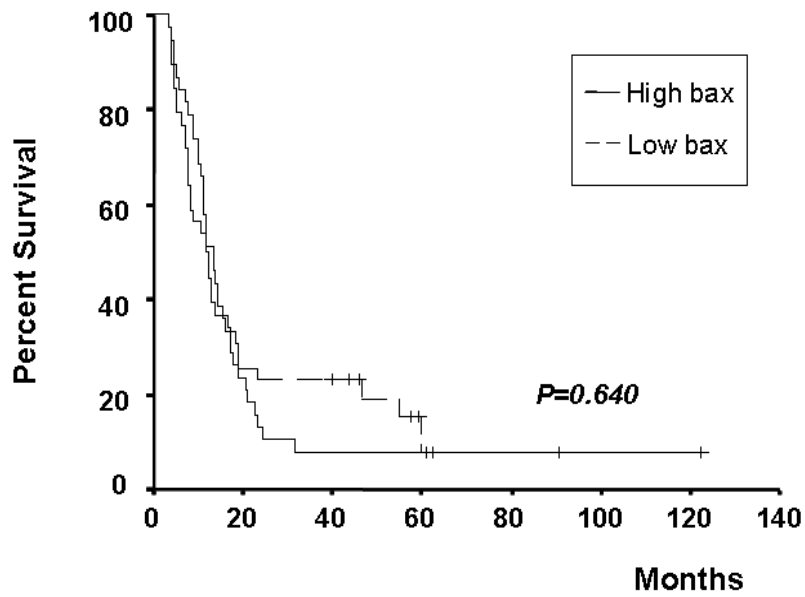


Fig. 2. Overall survival of patients with small cell lung cancer according to the expression of ERCC1 (A), ERCC1 in limited stage (B), ERCC1 in

extensive stage (C), p53 (D), bcl-2 (E), and bax (F).

#### IV. 고찰

세포 자멸사 관련 단백질과 DNA 손상 복구 단백질의 이상 변화는 소세포 폐암의 치료 실패의 가장 중요한 원인인 항암화학요법이나 방사선치료에 대한 저항성과 관련이 있다 (Dingemans등, 1999; Reed, 2005; Viktorsson등, 2005). 항암화학요법과 방사선치료에 의한 종양 세포 사멸의 가장 주된 기전은 세포 자멸사 (apoptosis)의 유도이며 (Fulda와 Debatin, 2006) bcl-2계의 항-세포 자멸사 단백질과 bax나 p53과 같은 사멸 유도 단백질 사이의 긴밀한 상호 작용이 세포 자멸사 과정에 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다 (Fulda와 Debatin, 2006). 따라서 이러한 단백질들의 유전자적 이상은 항암화학요법과 방사선치료에 대한 저항성을 유발하게 된다 (Ling 등, 1995).

소세포 폐암의 경우 p53, bcl-2를 포함한 여러 가지 세포 자멸 관련 단백질의 예후 인자로서의 의의에 대한 연구들은 상반된 결과를 보여주고 있다 (D'Amico등, 1992; Kaiser등, 1996; Takayama등, 1996; Kawasaki등, 1998; Dingemans등, 1999; Maitra등, 1999; Gemba등, 2000; Rodriguez-Salas등, 2001; Zereu등, 2003; Viktorsson등, 2005; Paik등, 2006). 소세포 폐암에서 p53의 돌연 변이와 낮은 치료 반응 및 불량한 생존률과의 연관성이 몇몇 연구에서 보고되었다 (Kawasaki등, 1998; Gemba등, 2000; Rodriguez-Salas등, 2001; Viktorsson등, 2005). 그러나 본 연구에서는 p53의 고발현과 소세포 폐암 환자의 치료 반응 및 예후와는 관련성이 없었다. 이전의 소세포 폐암을 대상으로 한 연구에서 보고된 것과 같이 본 연구에서도 종양 세포에서 bcl-2나 bax의 고발현이 높은 비율로 관찰되었다 (Ben-Ezra등, 1994; Ikegaki등, 1994; Kaiser등, 1996; Reeve등, 1996). 한 연구에서 bcl-2가 고발현될 수록 예후가 좋지 못하다는 보고가 있었으나 본 연구에서는 bcl-2나 bax의 고발현은 치료 결과와 관련이 없었다 (Dingemans등, 1999).

본 연구에서 가장 주목해 볼 결과는 ERCC1 고발현의 예후 인자로서의 중요성이다. 소세포 폐암에서 사용되는 cisplatin등 platinum계 약제들은 단일 부가물

을 만들고 종양 세포의 DNA (deoxyribonucleic acid)에서 가닥 내 혹은, 가닥 사이의 교차 연결을 만든다 (Rosell등, 2004; Reed, 2005; Ceppi등, 2006; Olaussen등 2006). DNA에서 부가물을 제거하는 것은 nucleotide excision repair pathway에 의해 매개되는데 ERCC1은 이 과정에서 중요한 효소 중 하나이다 (Reardon등, 1999; Rosell등, 2004; Ceppi등, 2006; Olaussen등 2006; Reed, 2005). ERCC1은 또한 DNA 가닥 사이의 교차 연결로 인해 생성된 겹 가닥의 파손을 수복하는 과정에도 관여한다 (Niedernhofer등, 2004; Ceppi등, 2006; Olaussen등, 2006).

소세포 폐암을 대상으로 한 본 연구에서 ERCC1이 17%의 양성율을 보였는데 이것은 비소세포 폐암 조직에 대해 면역조직화학 염색을 시행했던 다른 연구들에서 보다 낮은 결과로서 고발현에 대한 평가 기준의 차이에 기인할 수 있다 (Wachters등, 2005; Olaussen등 2006). 그리고 본 연구에서는 61%의 소세포 폐암 조직에서 ERCC1이 염색되지 않았다. 이러한 결과는 ERCC1의 발현 소실로 인한 nuclear excision repair의 이상이 유전자의 불안정성을 증가시켜 생물학적으로 더 공격적인 종양을 유발하기 때문에 소세포 폐암의 높은 악성도가 ERCC1 발현의 소실과 연관성이 있음을 시사한다 (Simon등, 2005). 또한 ERCC1 발현이 낮은 환자들은 bax의 발현 역시 낮은 경향을 볼 수 있었는데 이것은 소세포 폐암에서의 광범위한 유전자 손상을 시사하며 이러한 가설을 뒷받침할 수 있는 연구가 더 필요하겠다.

치료를 시작하기 전 소세포 폐암 환자의 불량한 예후를 예측할 수 있는 인자들로 전신 기, 남성, 불량한 전신 수행 상태 등이 고려되어 왔다 (Jackman과 Johnson, 2005). ERCC1의 변형이 소세포 폐암 치료의 중요한 약제인 cisplatin과 carboplatin에 대한 내성 발현의 중요한 기전 중 하나이므로 본 연구에서 확인된 ERCC1의 고발현과 불량한 예후와의 연관성은 임상적 의의가 있다고 볼 수 있다 (Rosell등, 2004; Jackman과 Johnson, 2005; Reed, 2005). 또한 본 연구의 결과는 항암화학요법이나 동시 항암화학-방사선요법을 시행 받는 소세포 폐암 환자들에서 ERCC1의 고발현 유무는 예후 인자로서 유용할 수 있음을 뒷받침해 준다.

ERCC1의 발현과 platinum을 근간으로 한 항암화학요법에 대한 저항성 및

예후와의 연관성은 비소세포폐암을 비롯한 다양한 악성 종양에서 보고 되어 왔다 (Dabholkar등, 1994; Metzger등, 1998; Shirota등, 2001; Lord등, 2002; Rosell등, 2004; Joshi등, 2005; Ceppi등, 2006; Olaussen등 2006; Simon등, 2005). ERCC1 mRNA가 고발현될 수록 gemcitabine/cisplatin이나 gemcitabine 단독으로 고식적 항암화학요법을 시행 받은 진행성 비소세포 폐암 환자의 생존률이 낮았다 (Lord등, 2002; Rosell등, 2004; Ceppi등, 2006). 또한 최근에 발표된 International Adjuvant Lung Cancer Trial의 환자군을 대상으로 한 보고에서는 ERCC1이 양성인 비소세포 폐암 환자의 경우 cisplatin을 근간으로 한 복합 항암화학요법이 효과를 보여주지 않았으나 ERCC1이 음성인 환자에서는 보조 항암화학요법이 의미 있게 생존률을 향상시키는 것으로 나타났다 (Olaussen등, 2006). 본 연구의 결과에서도 ERCC1이 낮게 발현된 소세포 폐암 환자의 경우 광범위한 유전자적 손상으로 악성도가 높음에도 불구하고 platinum을 근간으로 한 항암화학요법 혹은 항암화학-방사선요법에 보다 효과를 볼 수 있을 가능성을 시사했다.

본 연구에서 흥미 있는 결과 중 하나는 제한기 소세포 폐암의 경우에만 ERCC1이 양성인 경우 불량한 예후를 나타낸 것이다. 이러한 결과는 ERCC1 고발현은 항암화학요법뿐 아니라 방사선치료에 대한 종양 세포의 저항성과도 연관이 있을 수 있음을 시사한다. ERCC1은 아직 그 기전이 명확히 알려져 있지 않지만 몇몇 실험실 연구에서 방사선으로 인한 DNA 손상과 관련이 있음이 보고 되었다 (Murray와 Rosenberg, 1996; Murray등, 2002). 제한기의 소세포 폐암 환자의 표준 치료는 etoposide와 cisplatin의 항암화학요법과 흉부 방사선치료를 동시에 시행하는 것이므로 ERCC1이 고발현되는 환자에서는 새로운 항암제를 사용하거나 항암화학요법과 방사선치료의 순서를 달리하는 등의 새로운 치료 방침이 도움이 될 수 있을 것으로 생각된다 (Sandler, 2003; Spira와 Ettinger, 2004; Jackman과 Johnson, 2005). 그러나 이러한 추론을 검증하기 위해서는 더 많은 연구가 필요하겠다.

본 연구는 소세포 폐암 환자에서 ERCC1의 고발현의 예후 인자로서의 중요성을 제시하였음에도 불구하고 여러 가지 한계점을 지니고 있다. 먼저, 본 연구는 비교적 적은 수의 환자를 대상으로 한 후향적 연구라는 점이다. 둘째, 항암화학요법

에 사용된 약제들과 동시 항암화학-방사선요법의 순서가 모든 환자군에서 동일하지 않았다. 셋째, 다변량 분석에서 ERCC1의 독립적인 예후 인자로서의 역할이 경향성을 보이기는 하였으나 통계적으로 유의하게 나타나지 않았다. 마지막으로, 본 연구에서 시행한 치료 시작 전 내시경적 조직 검사를 통한 표본의 면역조직화학 염색의 결과가 전체 원발성 종양이나 전이 조직의 염색 결과와 상이할 가능성이 있다는 점이다. 그러나 본 연구는 소세포 폐암 환자의 ERCC1 발현의 예후 인자로서의 의미를 연구한 첫 번째 보고로 생각된다.

## V. 결론

ERCC1이 고발현될 수록 항암화학요법 혹은 항암화학-방사선요법을 시행 받은 소세포 폐암 환자, 특히 제한기 환자의 생존 기간이 짧았다. 더 많은 수의 환자를 대상으로 한 전향적인 연구를 통해 ERCC1 고발현이 예후 인자로서 유용하다는 점이 규명된다면, 치료 시작 전 ERCC1에 대한 간단한 면역조직화학 염색을 통해 예후가 좋지 않을 환자들을 선별하여, 새로운 치료 방법을 고려하거나 더 적극적인 추적 관찰을 하도록 결정하는데 유용할 것으로 생각된다.

## 참고 문헌

1. Ben-Ezra JM, Kornstein MJ, Grimes MM, Krystal G. Small cell carcinomas of the lung express the Bcl-2 protein. *Am J Pathol* 145: 1036-1040, 1994
2. Ceppi P, Volante M, Novello S, Rapa I, Danenberg K, Danenberg P, Cambieri A, Selvaggi G, Saviozzi S, Calogero R, Papotti M, Scagliotti G. 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. *Ann Oncol* 17: 1818-1825, 2006
3. Cox DR. Regression model and life-tables. *J Roy Statist Soc Ser* 34: 187-220, 1972
4. Dabholkar M, Vionnet J, Bostick-Bruton F, Yu JJ, Reed E. Messenger RNA levels of XPAC and ERCC1 in ovarian cancer tissue correlate with response to platinum-based chemotherapy. *J Clin Invest* 94: 703-708, 1994
5. D'Amico D, Carbone D, Mitsudomi T, Nau M, Fedorko J, Russell E, Johnson B, Buchhagen D, Bodner S, Phelps R, et al. High frequency of somatically acquired p53 mutations in small-cell lung cancer cell lines and tumors. *Oncogene* 7: 339-346, 1992
6. Dingemans AM, Witlox MA, Stallaert RA, van der Valk P, Postmus PE, Giaccone G. Expression of DNA topoisomerase IIalpha and topoisomerase IIbeta genes predicts survival and response to chemotherapy in patients



with small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 5: 2048-2058, 1999

7. Fulda S, Debatin KM. Extrinsic versus intrinsic apoptosis pathways in anticancer chemotherapy. *Oncogene* 25: 4798-4811, 2006
8. Gemba K, Ueoka H, Kiura K, Tabata M, Harada M. Immunohistochemical detection of mutant p53 protein in small-cell lung cancer: relationship to treatment outcome. *Lung Cancer* 29: 23-31, 2000
9. Ikegaki N, Katsumata M, Minna J, Tsujimoto Y. Expression of bcl-2 in small cell lung carcinoma cells. *Cancer Res* 54(1): 6-8, 1994
10. Jackman DM, Johnson BE. Small-cell lung cancer. *Lancet* 366: 1385-1396, 2005
11. Joshi MB, Shirota Y, Danenberg KD, Conlon DH, Salonga DS, Herndon JE, 2nd, Danenberg PV, Harpole DH, Jr. High gene expression of TS1, GSTP1, and ERCC1 are risk factors for survival in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer. *Clin Cancer Res* 11: 2215-222, 2005.
12. Kaiser U, Schilli M, Haag U, Neumann K, Kreipe H, Kogan E, Havemann K. Expression of bcl-2-protein in small cell lung cancer. *Lung Cancer* 15: 31-40, 1996
13. Kaplan E, Meier P. Non-parametric estimations from incomplete observations. *J Am Statistical Assoc* 53: 457-481, 1958

14. Kawasaki M, Nakanishi Y, Kuwano K, Takayama K, Kiyohara C, Hara N. Immunohistochemically detected p53 and P-glycoprotein predict the 21 response to chemotherapy in lung cancer. *Eur J Cancer* 34: 1352-1357, 1998
15. Ling CC, Guo M, Chen CH, Deloherey T. Radiation-induced apoptosis: effects of cell age and dose fractionation. *Cancer Res* 55: 5207-5212, 1995
16. Lord RV, Brabender J, Gandara D, Alberola V, Camps C, Domine M, Cardenal F, Sanchez JM, Gumerlock PH, Taron M, Sanchez JJ, Danenberg KD, Danenberg PV, Rosell R. Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine<sup>24</sup> chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 8: 2286-2291, 2002
17. Maitra A, Amirkhan RH, Saboorian MH, Frawley WH, Ashfaq R. Survival in small cell lung carcinoma is independent of Bcl-2 expression. *Hum Pathol* 30: 712-717, 1999
18. Metzger R, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Lenz HJ, Hayashi K, Groshen S, Salonga D, Cohen H, Laine L, Crookes P, Silberman H, Baranda J, Konda B, Leichman L. ERCC1 mRNA levels complement thymidylate synthase mRNA levels in predicting response and survival for gastric cancer patients receiving combination cisplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 16: 309-316, 1998
19. Miller AB, Hoogstraten B, Staquet M, Winkler A. Reporting results of cancer treatment. *Cancer* 47: 207-214, 1981

20. Murray D, Rosenberg E. The importance of the ERCC1/ERCC4[XPF] complex for hypoxic-cell radioresistance does not appear to derive from its participation in the nucleotide excision repair pathway. *Mutat Res* 364: 217-226, 1996
21. Murray D, Vallee-Lucic L, Rosenberg E, Andersson B. Sensitivity of nucleotide excision repair-deficient human cells to ionizing radiation and cyclophosphamide. *Anticancer Res* 22: 21-26, 2002
22. Niedernhofer LJ, Odijk H, Budzowska M, van Drunen E, Maas A, Theil AF, de Wit J, Jaspers NG, Beverloo HB, Hoeijmakers JH, Kanaar R. The 23 structure-specific endonuclease Ercc1-Xpf is required to resolve DNA interstrand cross-link-induced double-strand breaks. *Mol Cell Biol* 24: 5776-5787, 2004
23. Olaussen KA, Dunant A, Fouret P, Brambilla E, Andre F, Haddad V, Taranchon E, Filipits M, Pirker R, Popper HH, Stahel R, Sabatier L, Pignon JP, Tursz T, Le Chevalier T, Soria JC. DNA repair by ERCC1 in non-smallcell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 355: 983-991, 2006
24. Paik KH, Park YH, Ryoo BY, Yang SH, Lee JC, Kim CH, Ki SS, Kim JM, Park MJ, Ahn HJ, Choi W, Chung JH. Prognostic value of immunohistochemical staining of p53, bcl-2, and Ki-67 in small cell lung cancer. *J Korean Med Sci* 21: 35-39, 2006
25. Reardon JT, Vaisman A, Chaney SG, Sancar A. Efficient nucleotide excision

repair of cisplatin, oxaliplatin, and Bis aceto ammine dichloro cyclohexylamine platinum(IV)(JM216) platinum intrastrand DNA diadducts. *Cancer Res* 59: 3968–3971, 1999

26. Reed E. ERCC1 and clinical resistance to platinum-based therapy. *Clin Cancer Res* 11: 6100–6102, 2005
27. Reeve JG, Xiong J, Morgan J, Bleehen NM. Expression of apoptosisregulatory genes in lung tumour cell lines: relationship to p53 expression and relevance to acquired drug resistance. *Br J Cancer* 73: 1193–1200, 1996
28. Rodriguez-Salas N, Palacios J, Moreno G, de Castro J, Gonzalez-Baron M, Gamallo C. Correlation of p53 oncoprotein expression with chemotherapy response in small cell lung carcinomas. *Lung Cancer* 34: 67–74, 2001
29. Rosell R, Danenberg KD, Alberola V, Bepler G, Sanchez JJ, Camps C, Provencio M, Isla D, Taron M, Diz P, Artal A. Ribonucleotide reductase messenger RNA expression and survival in gemcitabine/cisplatin-treated advanced non-small cell lung cancer patients. *Clin Cancer Res* 10: 1318–1325, 2004
30. Rosell R, Taron M, Ariza A, Barnadas A, Mate JL, Reguart N, Margel M, Felip E, Mendez P, Garcia-Campelo R. Molecular predictors of response to chemotherapy in lung cancer. *Semin Oncol* 31: 20–27, 2004
31. Sandler AB. Chemotherapy for small cell lung cancer. *Semin Oncol* 30: 9–25,

32. Shin H-R, Jung K-W, Won Y-J, Park J-G. 2002 annual report of the Korea Central Cancer Registry: based on registered data from 139 hospitals. *Cancer Research and Treatment* 36: 103-114, 2004
33. Shirota Y, Stoehlmacher J, Brabender J, Xiong YP, Uetake H, Danenberg KD, Groshen S, Tsao-Wei DD, Danenberg PV, Lenz HJ. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 19: 4298-4304, 2001
34. Simon GR, Sharma S, Cantor A, Smith P, Bepler G. ERCC1 expression is a predictor of survival in resected patients with non-small cell lung cancer. *Chest* 127: 978-983, 2005
35. Spira A, Ettinger DS. Multidisciplinary management of lung cancer. *N Engl J Med* 350: 379-392, 2004
36. Takayama K, Ogata K, Nakanishi Y, Yatsunami J, Kawasaki M, Hara N. Bcl-2 expression as a predictor of chemosensitivities and survival in small cell lung cancer. *Cancer J Sci Am* 2: 212-216, 1996
37. Viktorsson K, De Petris L, Lewensohn R. The role of p53 in treatment responses of lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 331: 868-880, 2005

38. Wachters FM, Wong LS, Timens W, Kampinga HH, Groen HJ. ERCC1, hRad51, and BRCA1 protein expression in relation to tumour response and survival of stage III/IV NSCLC patients treated with chemotherapy. *Lung Cancer* 50: 211-219, 2005
39. Zelen M. Keynote address on biostatistics and data retrieval. *Cancer Chemother Rep* 4: 31-42, 1973
40. Zereu M, Vinholes JJ, Zettler CG. p53 and Bcl-2 protein expression and its relationship with prognosis in small-cell lung cancer. *Clin Lung Cancer* 4: 298-302, 2003

-ABSTRACT-

**Expression of Excision Repair Cross-Complementation  
Group 1 Protein Predicts Poor Outcome in Patients with  
Small Cell Lung Cancer**

Myoung Hee Lee

Department of Medical Sciences  
The Graduate School, Ajou University

(Supervised by Associate Professor Jin-Hyuk Choi)

Background: Alterations in apoptosis-related proteins and DNA damage repair proteins are associated with resistance to chemotherapy or radiotherapy, which is the most important cause of treatment failure in small cell lung cancer (SCLC).

Patients and methods: Pretreatment tumor biopsy specimens from 77 patients with SCLC (limited stage: 40, extensive stage: 37) were analyzed for p53, bcl-2, bax and ERCC1 expression by immunohistochemistry. All patients were treated with platinum-based doublets. The most commonly used regimen was etoposide/cisplatin (50 patients). In patients with limited stage SCLC, thoracic irradiation was performed either concurrently with chemotherapy or sequentially.

Results: High expression of p53, bcl-2, bax and ERCC1 was observed in 40 (52%), 72 (94%), 38 (49%) and 13 (17%) patients, respectively. High expression of ERCC1 was associated with poor OS (1-year, 23% vs. 53%;  $p=0.026$ ). When grouped according to stage, a significant correlation between high expression of ERCC1 and poor outcome was observed only in patients with limited stage SCLC ( $p=0.017$ ). High expression of p53, bcl-2 and bax was not correlated with patient outcome. Multivariate analysis showed that extensive stage ( $p=0.006$ ) and male gender ( $p=0.009$ ) were independent predictors of poor OS, while high expression of ERCC1 failed to reach statistical significance despite a trend ( $p=0.057$ ). In limited stage patients, high expression of ERCC1 was an independent prognostic factor for poor OS ( $p=0.046$ ), along with male gender ( $p=0.033$ ).

Conclusions: High expression of ERCC1 protein may be a useful predictor of poor outcome in SCLC patients treated with chemotherapy with or without radiotherapy, especially in limited stage SCLC.

---

**Key words:** Small cell lung cancer, ERCC1, Chemotherapy, Prognosis