

# 비소세포 폐암환자의 객담 내 ERCC1 발현정도와 cisplatin 복합화학요법 후 치료반응

고신대학교 의과대학 내과학교실

양성우, 최평락, 류홍준, 김진구, 옥철호, 장태원, 정만홍

## Relation between ERCC1 Expression in Sputum and Survival after Cisplatin-Based Chemotherapy in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer

Sung Woo Yang, M.D., Pyoung Rak Choi, M.D., Hong Jun You, M.D., Jin Gu Kim, M.D., Chul Ho Oak, M.D., Tae Won Jang, M.D., Maan Hong Jung M.D.

Department of Internal Medicine, Kosin University, College of Medicine

**Background :** Excision repair cross complementing gene 1 (ERCC1) not only has a protective role against carcinogens, but plays an important role in cisplatin-resistance via the repair of cisplatin-DNA adducts. This study investigated the association between the ERCC1 expression levels in sputum and survival after cisplatin-based chemotherapy in patients with inoperable non-small cell lung cancer (NSCLC).

**Methods :** Using the sputum collected from 67 inoperable (stage IIIa-IV) NSCLC patients treated with either taxanes (33 cases) or gemcitabine (34 cases) plus cisplatin, the relative expression levels of ERCC1 and the expression of the tumor specific antigen, MAGE, were examined by the quantitative RT-PCR and RT-PCR, respectively. The response and survival were compared with the relative level of ERCC1 or MAGE expression and the treatment modality.

**Results :** In the sputum, ERCC1 and MAGE was detected in 74.6% and 40.2% of patients, respectively. Using the median ERCC1 level, the patients were classified as having high or low ERCC1 expression. The median overall survival (MST) was significantly longer in patients with a high ERCC1 expression level than those with a low expression level (84 weeks vs. 44 weeks respectively,  $P=0.017$ ). In the taxane-based treatment group, the MST was longer than the gemcitabine group (79 weeks vs. 47 weeks, respectively,  $P=0.03$ ). The levels of ERCC1 were significantly higher in patients who were MAGE-positive ( $P=0.003$ ). In the MAGE-negative patients, the MST was longer in the high ERCC1 group (103 weeks vs. 43 weeks,  $P=0.008$ ), but not in the MAGE-positive patients (62 weeks vs. 44 weeks,  $P=0.348$ ).

**Conclusion :** ERCC1 expression in the sputum can be a prognostic factor for survival after chemotherapy in patients with inoperable NSCLC. (*Tuberc Respir Dis 2006; 60: 151-159*)

**Key words :** ERCC1, MAGE, Non-small cell lung cancer, Sputum

### 서 론

우리나라에서는 매년 15000명 정도의 새로운 폐암 환자가 발생하며 2000년부터는 암 사망 원인의 수위를 차지하고 있다<sup>1</sup>. 폐암의 75%이상을 차지하는 비소세포 폐암은, 진단될 때 65% 이상에서 이미 절제 수

술이 불가능한 상태로 발견되며<sup>2</sup>, 이 경우 화학요법을 받더라도 2년 생존율은 12% 정도에 불과하다<sup>3</sup>. 화학요법은 현재 주로 platinum계 약물을 중심으로 taxane계 약물, gemcitabine, vinorelbine, irinotecan 등을 병용해서 사용하는데, 그 효과는 큰 차이가 없는 것으로 알려져 있다<sup>3,4</sup>. 따라서 진행된 폐암환자의 생존율을 더 증가시키기 위해서는 새로운 방법의 치료가 필요한 상황이다<sup>5</sup>.

암세포는 다양한 유전자 변화와 세포기능 이상을 나타내면서 진행성 암으로 발전하게 된다. 그 과정에서 종양유전자의 과발현, 종양억제 유전자의 기능소실, 그리고 발암물질에 의해 손상된 DNA의 복구 장애로 변형된 유전자를 가진 암세포들이 증식하게 된다. 그리고 주위조직으로 침윤과 전이를 용이하게 해

This work was supported by Kosin University Research Grant.  
Address for correspondence : **Maan Hong Jung, M.D.**,  
Department of Internal Medicine, Kosin University  
College of Medicine, 34 Amnam Dong, Suh Gu, Busan,  
602-702, Korea  
Phone : 82-51-990-6210 Fax : 82-51-248-5686  
E-mail : jungmh@ns.kosinmed.or.kr  
Received : Nov. 25. 2005  
Accepted : Jan. 23. 2006

주는 물질의 분비와 혈관 신생이 생기면서 전신적인 병으로 진행하게 된다<sup>6</sup>. 이런 과정에서 발견되는 이상을 조기에 진단하여 치료 하려는 새로운 개념의 맞춤형 표적치료(tailored and targeted therapy)가 개발되고 있다<sup>7-9</sup>.

여러 가지 발암물질 등에 의해서 손상된 세포의 DNA는 자체 복구과정을 갖고 있다. 이런 과정이 제대로 작동하지 않고 다양한 유전자 변이가 축적되면 종양세포로 변할 수 있다. 폐암 환자에서 건강 대조군보다 DNA 복구 유전자의 일종인 *XPD* (xeroderma pigmentosum D)의 polymorphism 빈도가 높고 wild type에 비해 DNA복구능이 낮다고 한다<sup>10,11</sup>. 폐암치료의 가장 효과적인 약제로 알려진 cisplatin은 DNA와 강하게 결합하여(platinum-DNA adduct) 종양세포의 DNA의 분열을 차단한다<sup>9</sup>. 이 경우 종양세포는 platinum-DNA adduct가 생긴 부위를 끊어서 제거한 후 복구하는 과정(nucleotide excision repair :NER)을 활성화 시킬 수 있는데, 이 과정에 관여하는 대표적인 유전자가 excision repair cross complementing 1 (*ERCC1*) 이다<sup>12</sup>. 종양세포 안에 *ERCC1*이 높을 경우 cisplatin내성이 생겨 치료 효과가 낮다는 보고가 있고<sup>13,14</sup>, *ERCC1* polymorphism의 종류에 따라 화학요법 후의 생존기간이 달라진다는 보고도 있다<sup>15-17</sup>. 이처럼 *ERCC1*은 비정상세포를 복구하는 중요한 역할도 하지만 cisplatin과 같은 항암제의 작용을 무력화시키기 때문에 약제 반응 지표로서의 역할은 상황에 따라서 달라질 것으로 생각된다.

본 연구는 진행된 비소세포 폐암환자에서 기관지 내시경검사 후에 채취한 객담에서 melanoma antigen *MAGE*의 발현을 조사하고 또 *ERCC1*을 정량 측정하여 cisplatin과 taxane계 혹은 cisplatin과 gemcitabine 화학요법 후의 치료반응 및 생존기간과의 관계를 조사하였다.

## 대상 및 방법

### 1. 대상 환자

2001년 4월부터 2003년 8월 사이에 고신의대 부속

복음병원에서 조직학적으로 비소세포 폐암으로 진단되었고, 초진 당시에 기관지내시경 검사 후 배출된 객담에서 분리한 cDNA로 *MAGE*발현 여부가 확인되었으며, ECOG performance status 0-2로, 2회 이상 화학요법을 받은 후 초기 치료 반응 및 2004년 9월까지 생존여부를 확인 할 수 있었던 환자 67명을 대상으로 하였다. 모든 환자들의 병기 판정을 위해 흉부 X-사진, 상복부를 포함한 흉부 전산화 단층촬영, 기관지 내시경검사, 골 주사, 상복부 초음파 검사, 증상이 있을 경우 뇌 전산화 단층촬영을 하였다. 화학요법은 6회를 목표로 하였고, 3회째 치료를 위해 입원한 때 흉부 X-선 사진, 흉부 전산화 단층촬영, 기관지 내시경검사를 실시하여 WHO기준으로 치료 반응을 평가하였다. 진행이 된 경우 환자의 선택에 따라서 2차 치료를 시작하거나 약물치료를 중지하였고, 안정화되거나 부분관해 이상의 호전이 있을 경우는 치료를 계속하였다. Cisplatin과 병용한 약제에 따라 taxane계 사용 군이 33명, gemcitabine 사용 군이 34명이었다. 약제는 각 군별로 3주 주기마다 cisplatin 60 mg/m<sup>2</sup> 과 paclitaxel 150 mg/m<sup>2</sup>(10명) 혹은 docetaxel 75 mg/m<sup>2</sup>(23명)을 제 1일에 주거나, cisplatin 60 mg/m<sup>2</sup>을 제 1일에, gemcitabine 1200 mg/m<sup>2</sup>을 제 1, 8일에 정주하였다.

### 2. 객담에서 RNA 분리 및 cDNA 합성

기관지 내시경검사를 받은 후 안정된 상태에서 기침을 하여 배출된 객담을 눈으로 확인한 후 즉시 동량의 보존제(guanidium isothiocyanate, Triton X-100)와 섞은 시험관을 Vortex Genie2 (Bohemia, N.Y.) 위에서 10-20초 정도 작동하여 완전히 액화시켰다. 조직검사를 실시한 후 선혈이 많이 나오는 경우나 기침을 시키기 힘든 경우는 제외하였다. RNA의 분리와 cDNA의 합성은 이전의 연구방법과 동일하며<sup>18</sup>, 분리된 cDNA는 deep freezer에 보관한 후 사용하였다.

### 3. *MAGE* 발현을 조사하기 위한 nested RT-PCR

*MAGE* 검사는 Jheon 등<sup>19</sup>의 방법과 동일하게, 각

각의 subtypes를 찾는 것이 아니라 MAGE 1-6에 공통으로 존재하는 common primer로 RT-PCR을 시행하였다. 이때 사용한 primer는 CTGAAGGAGAAG-ATCTGC와 CTCCAGGTAGTTTTCTGCAC, 그리고 CTGAAGGAGAAGATCTGCC(A/T)GTG와 CCAGCATTCTGCCTTTGTGA였다.

#### 4. ERCC1 정량분석을 위한 정량적 PCR

정량적 PCR 시행: 합성된 cDNA를 대상으로 ER-CCI 및 세포 구조물질인 GAPDH의 정량적 중합효소연쇄반응을 Light Cycler (Roche, Mannheim, Germany)를 이용하여 실시하였다. 중합효소연쇄반응 시약은 LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I (Roche, Mannheim, Germany) 시약을 사용하였는데, 이 시약에는 정량적 중합효소연쇄반응을 위한 SYBR<sup>R</sup> green 염색제와 중합효소연쇄반응의 위양성을 방지하기 위한 dUTP가 함유되어 있다. 연쇄반응 조건은 10분 동안 AmpliTaq<sup>R</sup> gold DNA polymerase를 활성화 한 다음, 35회 증폭하였다. ERCC1 및 GAPDH의 증폭을 위하여 사용한 시발체의 염기서열, 결합온도 및 증폭되는 핵산의 크기는 표 1에 요약하였다.

약하였다.

중합효소연쇄반응의 상대적 정량화 : 증폭된 중합효소연쇄반응 산물의 정량화를 위하여, 먼저 배양된 결핵균에서 추출한 핵산의 농도를 TKO 100 fluorometer (Hofer Scientific Instruments, San Francisco, USA)로 측정하였다. 이를 희석하여 100 pg, 10 pg, 1 pg, 100 fg, 10 fg의 표준 검체를 제작하였으며, LightCycler로 결핵균의 IS6110 유전자를 증폭하여 threshold cycle(이하 C<sub>T</sub>치)을 얻었다. C<sub>T</sub>치를 기준으

로 결핵균핵산의 주입 양을 산출하는 공식을 구한 다음, 이 공식을 ERCC1 및 GAPDH의 C<sub>T</sub>치에 대입하여 각각의 산물을 정량화 하는 상대적 정량법을 사용하였다. 이렇게 해서 정량한 ERCC1를 GAPDH로 나눈 비(ERCC1/GAPDH)를 산출하였다. 실험실에서는 환자의 임상 정보를 전혀 모르는 상태에서 모든 유전자 발현 분석을 하였다.

#### 5. 통계 분석

MAGE의 발현 여부 및 ERCC1/GAPDH가 중앙값보다 높고 낮음에 따른 성별, 전신 상태, 체중감소, 조직형태, 약제 및 치료반응에 따른 검증을 Fisher's exact test로, 임상적 병기는 Pearson 카이제곱법으로 검증하였다. 생존분석은 Kaplan-Meier 방법으로, 각 군 간의 생존을 비교는 log-rank test로 분석하였다. 생존율에 영향을 미치는 요인들의 다변량 분석은 Cox의 비례위험회귀모형으로 산출하였다. 통계처리는 SPSS version 12 software(SPSS, Inc., Chicago, IL)를 사용하였고 모든 분석은 양측검증으로 유의수준은 0.05로 하였다.

## 결 과

### 1. 환자 및 종양의 특징

폐암 환자들의 연령의 중앙값은 60세(40 - 75세)였으며 남자가 49명, 여자가 18명이었다. 전신 상태는 ECOG performance score가 0, 1인 경우가 27명(40.2%), 2가 40명(59.8%)이었다. 진단 전 6개월 동안 5% 이상 체중감소가 있었던 경우가 33명(49.1%)이었다. 임상적 병기는 TNM IIIa 6명(8.9%), IIIb 35명

Table 1. Oligonucleotide primers used for RT-PCR

| Target        | Sequence                              | Ta(°C) | Size(bp) |
|---------------|---------------------------------------|--------|----------|
| ERCC1 Forward | 5'-CTG GAG TGG CCA AGC CCT TAT CC-3'  |        |          |
| ERCC1 Reverse | 5'-GCG GCG ATG AGC TGT TCC AGA GAT-3' | 62     | 700      |
| GAPDH Forward | 5'-CGT CTT CAC CAC CAT GGA GA-3'      |        |          |
| GAPDH Reverse | 5'-CGG CCA TCA CGC CAC AGT TT-3'      | 58     | 233      |

**Table 2. Patients characteristics**

|                                     | N (%)     |
|-------------------------------------|-----------|
| No. of patients                     | 67 (100)  |
| Sex                                 |           |
| Male                                | 49 (73.1) |
| Female                              | 18 (26.9) |
| Age, yr                             |           |
| Median                              | 60        |
| Range                               | 40 - 75   |
| Performance status                  |           |
| ECOG 0-1                            | 27 (40.2) |
| ECOG 2                              | 40 (59.8) |
| Weight loss ( $\geq 5\%$ / 6months) |           |
| Yes                                 | 33 (49.1) |
| No                                  | 34 (50.9) |
| Clinical TNM stage                  |           |
| IIIa                                | 6 (8.9)   |
| IIIb                                | 35 (52.2) |
| IV                                  | 26 (38.8) |
| Histology                           |           |
| Squamous cell carcinoma             | 24 (35.8) |
| Adenocarcinoma                      | 42 (62.6) |
| Large cell carcinoma                | 1 (1.6)   |
| MAGE*                               |           |
| Positive                            | 27 (40.2) |
| Negative                            | 40 (59.8) |

\*MAGE: melanoma antigen gene

(52.2%), IV 26명(38.8%)이었다. 조직진단은 편평상피암이 24명(35.8%), 선암이 42명(62.6%), 대세포암 1명(1.6%)이었다 (Table 2).

**2. MAGE 및 ERCC1 발현정도**

모든 환자의 객담에서 GAPDH가 발현된 것을 확인하였다. MAGE 발현은 27명(40.2%)에서, ERCC1은 50명(74.6%)에서 발현되었다. ERCC1이 발현되지 않은 경우는 그 값을 0으로 처리하여 전체 대상환자의 ERCC1/GAPDH 비의 중앙값을 구하였다. 그 값이  $4.85 \times 10^{-3}$ ( $0.01 - 940.6 \times 10^{-3}$ )이었지만 편의상 4.85로 지칭하였으며, 이보다 높은 군과 낮은 군으로 나뉘어서 분석하였다. 성별, 약제, 조직형태에 따른 ERCC1의 발현정도는 차이가 없었다. MAGE가 발

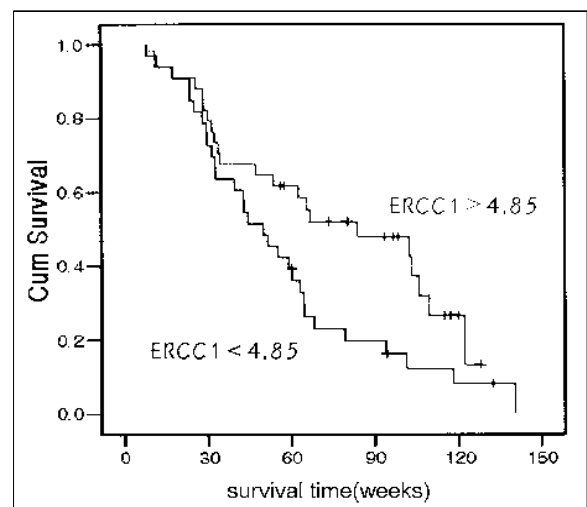
현될 때 ERCC1이 높았던 경우가 74%(20/27)로, MAGE가 발현되지 않을 때의 35%(14/40)보다 높았다( $P=0.003$ ). 임상적 병기 IIIb에서는 65.7%에서 ERCC1이 높은 군으로 나타나 병기 IV나 IIIa보다 ERCC1의 발현정도가 더 높았다( $P=0.037$ ). MAGE 발현여부는 ERCC1을 제외한 다른 변수들과는 상관관계가 없었다 (Table 3).

**3. 화학치료에 대한 반응**

완전관해 1명(1.5%), 부분관해 33명(49.2%), 안정화 26명(38.8%), 진행 7명(10.4%)으로 전체 반응율은 50.7%였다. 반응군과 비반응군으로 나눠 비교한 결과 ERCC1의 발현정도나 MAGE 발현여부와는 상관관계가 없었다 (Table 3).

**4. ERCC1 값에 따른 환자의 생존분석**

전체 환자들의 중앙생존기간은 57.3주(8-140주)였다. 단변량 분석에서 화학치료에 반응이 있었던 군의 중앙생존기간은 67주(95% CI:35 - 75주)로 반응이 없었던 군의 55주(95% CI:12-121주)보다( $P=0.02$ ), taxane계 약제군이 79주(95% CI:37 - 121주)로 gemcitabine군의 47주(95% CI:25 - 69주)보다( $P=0.03$ ), 그

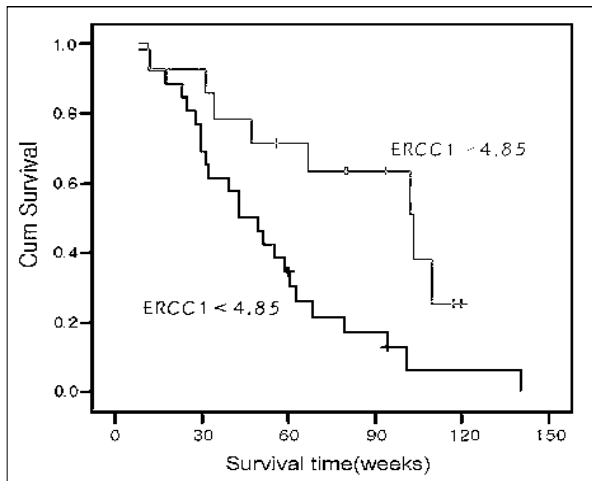


**Figure. 1.** Kaplan-Meier survival curve of the patients according to sputum ERCC1 levels above and below the median ERCC1 level of 4.85( $p=0.01$ ).

**Table 3. Comparison of demographic and clinical parameters between two groups of patients according to ERCC1 level**

| Variables            | N             |              | P value |
|----------------------|---------------|--------------|---------|
|                      | ERCC1* < 4.85 | ERCC1 ≥ 4.85 |         |
| Sex                  |               |              |         |
| Male                 | 26            | 23           | 0.413   |
| Female               | 7             | 11           |         |
| Drugs                |               |              |         |
| Taxanes              | 17            | 16           | 0.809   |
| Gemcitabine          | 16            | 18           |         |
| MAGE <sup>2</sup>    |               |              |         |
| Positive             | 7             | 20           | 0.003   |
| Negative             | 26            | 14           |         |
| Pathology            |               |              |         |
| Squamous cell ca     | 9             | 15           | 0.208   |
| Adenocarcinoma       | 23            | 19           |         |
| Clinical Stage       |               |              |         |
| IIIa                 | 4             | 2            | 0.037   |
| IIIb                 | 12            | 23           |         |
| IV                   | 17            | 9            |         |
| Response             |               |              |         |
| CR + PR <sup>+</sup> | 18            | 16           | 0.628   |
| Stable + Progression | 15            | 18           |         |

\*The median ERCC1 expression level, relative to the expression of internal control GAPDH, was 4.85 X 10<sup>-3</sup> (values shown here without X 10<sup>-3</sup>, e.g., median 4.85) <sup>+</sup>CR: Complete response, PR: Partial response.



**Figure. 2.** Kaplan-Meier survival curve for MAGE-negative patients with sputum ERCC1 levels above and below the median ERCC1 level of 4.85. (P=0.008)

리고 ERCC1이 높은 군이 84주(95% CI:32 - 135주)로 낮은 군의 44주(95% CI:36 - 64주)보다 유의하게 생존기간이 길었다(P=0.01)(Fig. 1, Table 4).

약제별 반응을 다시 성별과 조직형태로 나눠서 비교한 결과 남자에서는 taxane계를 사용한 군의 중앙 생존기간이 79주(95% CI:39 - 119주)로 gemcitabine 군의 40주(95% CI:16 - 63주)보다 유의하게 길었지만 (P=0.011), 여자에서는 각각 50주 및 59주로 차이가 없었고 조직형태에 따른 약제별 생존기간의 차이도 발견할 수 없었다.

MAGE가 발현되지 않고 ERCC1이 높은 군의 중앙 생존기간은 103주(95% CI:58 - 148주)로 낮은 군의 43주(95% CI:28 - 58주)보다 유의하게 길었다(P=0.008).

**Table 4. Factors associated with overall survival**

|                      | Mediansurvival(wk) | Univariable analysis |         | Multivariable analysis |         |
|----------------------|--------------------|----------------------|---------|------------------------|---------|
|                      |                    | Log-rank statistics  | P value | Hazard ratio (95% CI)  | P value |
| <i>ERCC1</i> levels* |                    | 5.60                 | 0.01    | 2.24(1.25-4.01)        | 0.007   |
| Low                  | 44                 |                      |         |                        |         |
| High                 | 84                 |                      |         |                        |         |
| Drug                 |                    | 4.35                 | 0.03    | 1.81(1.00-3.27)        | 0.047   |
| Gemcitabine          | 47                 |                      |         |                        |         |
| Taxanes              | 79                 |                      |         |                        |         |
| Response             |                    | 5.04                 | 0.02    | 0.51(0.28-0.92)        | 0.025   |
| Yes                  | 67                 |                      |         |                        |         |
| No                   | 55                 |                      |         |                        |         |

\**ERCC1* expression levels are categorized according to whether there was less than the *ERCC1* median value of 4.85(low) or greater than the median(high)

그러나 MAGE 발현군에서는 각각 62주와 44주로 그 차이를 발견할 수 없었다( $P=0.348$ )(Fig. 2).

비례위험도는 gemcitabine을 사용한 군이 1.815 (95% CI:1.01 - 3.27,  $P=0.047$ ), 치료반응이 있었던 군이 0.508(95% CI:0.28 - 0.90,  $P=0.025$ ), 그리고 *ERCC1*이 낮았던 군에서 2.242(95% CI:1.25 - 4.01,  $P=0.007$ )였다 (Table 4).

### 고 찰

약성종양의 치료에 사용되는 항암제의 작용기전은 정상세포에 작용하는 발암물질의 작용과 유사한 면이 있다. 폐암치료에서 가장 효과적인 약제로 알려진 cisplatin은 DNA와 공유 결합하면서 화학적으로 변화된 base를 만들게 되는데 이런 상태를 adduct라고 한다<sup>12</sup>. 자외선이나 cisplatin과 같은 약제로 DNA가 손상되면 RNA polymerase II가 작용하지 못하여 전사(transcription)가 생기지 않는데, 손상된 DNA부위를 선택적으로 제거한 후 복구하여 세포 분열이 계속 되도록 하는 과정을 nucleotide excision repair (NER) 라고 한다<sup>6</sup>. 이런 과정이 활성화 될 경우 정상세포에서는 손상된 세포가 증식하는 것을 막을 수 있지만, 종양세포에서는 cisplatin과 같은 약물에 내성이 생기면서 치료 반응은 나빠지게 된다.

NER 과정은 복구 작용이 활성화 되는 부위에 따라서 transcription-coupled repair (TCR 혹은 TC-

NER)와 global genomic repair (GGR 혹은 GG-NER)로 나눌 수 있는데 TCR은 전사가 일어나는 DNA 부위의 transcription-blocking lesions을, GGR은 전사가 일어나지 않는 부위를 복구하게 된다<sup>20</sup>. NER 과정의 장애가 있는 대표적인 질환인 xeroderma pigmentosum (XP)은 열성으로 유전되는데 자외선에 과민하게 반응하여 색소침착과 피부암이 잘 발생한다. XP에서는 TCR 및 GGR의 두 가지 경로의 장애가 모두 생기는데, 관여하는 효소로는 XPA부터 XPG까지 7개 정도가 알려져 있다. GGR의 경우 XPC가 활성화되면서, helicases인 XPB 및 XPD를 함유하는 basal transcription factor (TFIIH)와 XPG가 DNA와 결합하여 손상된 DNA 주위에 약 30-bp DNA segment를 열어 놓게 된다. 이 부위는 replication protein A (RPA)와 XPA에 의해서 안정화된 후 endonuclease로 작용하는 XPG와 ERCC1/XPF에 의해 절단된다. 절단할 때 손상된 DNA의 3' 부위는 XPG가, 5' 부위는 ERCC1/XPF가 관여한다. 이렇게 잘려나간 DNA 부위는 replication factors와 DNA polymerases에 의해서 채워져서 최종적으로 복구된다<sup>8</sup>.

암조직에서 *ERCC1* mRNA가 과다 발현될 경우 폐, 위 및 대장암 환자에서 cisplatin 효과가 떨어지면서 생존기간이 짧다는 연구보고가 있다<sup>14,21,22</sup>. 최근 TCR과 GGR에 모두 관여하는 XPD를 말초 혈액 림프구의 DNA에서 분리한 후 polymorphism을 검사하여 DNA 복구능(repair capacity)과의 관계를 조사하

고 있다<sup>11,15,16</sup>. 폐암환자와 흡연자를 대상으로 실시한 역학조사에서 *XPD*의 *Lys751Gln*이 *Gln751Gln*으로 *Asp312Asn*이 *Asn312Asn*으로 바뀔 경우 DNA 복구 능력이 떨어지면서, wild type보다 발암위험도가 더 높다고 한다<sup>11</sup>. 향후 DNA 복구능을 평가하는 것이 고위험군에서의 폐암의 예방이나, 화학치료에서 cisplatin 내성여부를 예측하는 연구의 한 방법이 될 것으로 기대된다.

Keller 등<sup>23</sup>은 완전 절제된 병기 II/IIIa 비소세포 폐암환자에서 수술 후 방사선치료를 받은 군과 화학치료를 받은 군의 중앙생존기간은 각각 38개월 및 39개월로 차이가 없다고 하였고 ( $P=0.58$ ), Depierre 등<sup>24</sup>은 병기 I - IIIa 비소세포 폐암 환자들에서 neoadjuvant chemotherapy를 받은 군의 중앙생존기간이 36개월로 대조군의 26개월과 유의한 차이가 없다고 하였다 ( $P=0.15$ ). 그러나 병리학적 병기 I - IIIa인 비소세포 폐암 환자 1867명을 대상으로 한 다른 연구에서는 수술 후 adjuvant chemotherapy를 받은 경우의 5년 생존율이 44.5%로 경과만 관찰한 경우의 40.4% 보다 높았다는 보고도 있다<sup>25</sup>. 이런 경우 수술 전후 화학치료가 도움이 되는 지를 예측할 수 있다면 보다 더 효율적으로 폐암치료를 할 수 있을 것이다.

화학치료를 받은 비소세포 폐암환자의 생존과 DNA 복구능에 대한 연구로 Bosken 등<sup>17</sup>은 화학치료를 받은 군에서는 복구능이 낮을수록 생존기간이 길었지만, 수술만 받은 폐암환자들에서는 복구능이 높을수록 생존기간이 긴 경향이 있다고 보고하였다. Rosell 등<sup>26</sup>은 gemcitabine/platinum의 neoadjuvant 치료 후 수술을 받은 비소세포 폐암환자의 폐조직의 NER 값이 낮을수록 예후가 더 좋다고 하였고, Simon 등<sup>27</sup>은 수술치료만 받은 비소세포 폐암환자들은 종양세포의 *ERCCI* 발현이 높을수록 예후가 좋다고 하였다.

본 연구는 cisplatin을 포함하는 화학요법을 받은 비소세포 폐암환자의 객담에서 종양특이 유전자로 알려진 *MAGE*의<sup>28,29</sup> 존재를 확인하고, 또 *ERCCI*을 정량 분석하여 그 결과에 따른 생존기간을 조사하였다. 그 결과 치료 반응군, taxane계 약물을 사용한 군, 그리고 객담내 *ERCCI*이 발현이 높은 군에서 중앙생존기간이 유의하게 길었다. 이 것은 종양세포 내

*ERCCI*이 높을수록 cisplatin과 gemcitabine 치료 후에 생존기간이 짧았다는 Lord 등<sup>14</sup>의 보고와는 약간 다른 결과였다. 이러한 차이는 파라핀 포매 조직에서 종양세포만을 선별적으로 채취한 그들의 연구와는 달리 본 연구에서는 정상세포와 종양세포가 혼재된 객담을 사용한 것이 가장 중요한 이유라고 생각한다. 그리고 대상환자의 구성 및 검사 방법이 다른 것도 요인이 될 수 있을 것이다. 본 연구에서는 객담 내 종양세포의 상대적인 분포를 간접적으로 반영한다는 가정 하에 *MAGE*를 같이 측정하였다. *MAGE*가 발현되지 않는 경우 *ERCCI*이 높은 군에서 낮은 군에 비해 생존기간이 더 길었지만, *MAGE*가 발현된 경우에는 양군 간에 차이가 없었다. 이것은 *MAGE* 발현군은 유도객담 속 종양세포의 *ERCCI* 변화를 상대적으로 더 많이 반영되었고, 이 경우 종양세포내 *ERCCI*가 높으면 cisplatin치료 반응이 낫다는 Lord 등<sup>14</sup>의 보고와 어느 정도는 근접한 결과라고 판단된다.

Taxane계 약제를 cisplatin과 병용 투여한 경우가 gemcitabine을 병용 투여한 군에 비해서 생존기간이 길었지만 대상 환자수가 적어 정확한 비교는 어려울 것으로 생각된다. 그리고 성별에 따른 생존기간을 비교한 결과 남자에서는 taxane계를 병용한 군에서 18.4개월로 gemcitabine을 사용한 군의 9.3개월보다 유의하게 길었지만, 여자에서는 gemcitabine을 사용한 군 13.8개월, taxane계를 사용한 군 11.7 개월로 차이가 없었다. 편평상피암과 선암으로 나뉘서 약제에 따른 치료 반응 및 생존기간을 조사해 보았으나 그 차이는 없었다. Gefitinib의 치료 반응이 epidermal growth factor receptor의 변이가 있는 군에서 더 좋은 것이 밝혀진 것처럼<sup>30</sup>, 앞으로 약물유전학이 더 발전하게 되면 폐암 환자의 치료에 개개인에게 더 적합한 약물을 예측 가능하게 하는 다양한 표지자들이 밝혀질 것으로 생각한다.

본 연구는 대상 환자가 적고, 가검물이 폐암 조직이 아닌 유도 객담이기 때문에 종양세포와 정상세포를 구분하여 *ERCCI*을 정량하지 못한 문제점과 후향적 연구라는 제한점이 있다. 그러나 기관지경검사 후에 얻은 객담에서도 *ERCCI*을 정량 분석할 수 있었고, 객담속 *ERCCI*이 증가된 비소세포 폐암환자들에

서 화학치료 후 생존기간이 더 길다는 것을 관찰할 수 있었다. 그리고 종양특이항원인 *MAGE*가 같이 발현되는 경우에는, *ERCC1*이 높아도 생존기간이 연장되지 않는다는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 사실로 폐암환자에서 객담으로 *MAGE* 및 *ERCC1*을 검사하는 것이 cisplatin 치료를 받는 환자들의 예후를 예측하는 한 지표가 될 수 있을 것으로 추정한다.

## 요 약

### 목 적 :

폐암치료에 가장 널리 사용되는 cisplatin은 DNA와 결합하여 DNA 복제를 방해한다. 이렇게 손상된 부위를 복구하는 과정에 excision repair cross complementing gene 1 (*ERCC1*)이 작용한다. *ERCC1*이 활성화 되면, 정상세포는 DNA 손상을 줄일 수 있지만 종양세포의 경우 cisplatin의 효과는 감소하게 된다. 비소세포 폐암(non-small cell lung cancer, NSCLC) 환자에서 cisplatin을 포함하는 화학치료를 할 경우 예후인자로서 객담 *ERCC1* 정량측정의 의의를 조사하였다.

### 대상 및 방법 :

2001년 4월부터 2003년 8월 사이에 NSCLC로 진단되어 cisplatin과 taxane계(33명) 혹은 cisplatin과 gemcitabine(34명) 복합 화학치료를 받은 환자를 대상으로 하였다. 기관지 내시경검사를 실시한 후에 즉각 채취한 객담을 처리하여 c-DNA를 분리한 후, 객담속의 종양특이 유전자인 melanoma antigen gene (*MAGE*) 발현 여부는 RT-PCR로, *ERCC1*의 상대적 정량적 측정은 real-time PCR로 하였다. 환자의 치료반응 및 생존기간과 *MAGE* 발현여부 및 *ERCC1*의 발현정도와의 상관관계를 조사하였다.

### 결 과 :

객담에서 *MAGE*는 40.2%, *ERCC1*은 74.6%에서 발현되었다. *ERCC1*이 중앙값 이상인 경우와 미만인 군으로 나뉘어서 비교한 결과 *ERCC1*이 증가된 군의 중앙생존기간이 84주로 미만인 군의 44주보다 길었다( $P=0.017$ ). Taxane계를 사용한 군의 중앙생존기간이 79주로 gemcitabine 사용군의 47주에 비해 길었다

( $P=0.03$ ). *MAGE*의 발현 여부는 생존기간과 유의한 관계는 없었으나, *MAGE* 발현군에서 *ERCC1*이 유의하게 증가되어 있었다( $P=0.003$ ). *MAGE*가 발현되지 않고 *ERCC1*이 증가된 군의 중앙생존기간은 103주로 그렇지 않은 군의 43주보다 길었고( $P=0.008$ ), *MAGE*가 발현된 경우는 두 군 간에 차이가 없었다(각각 62주 및 44주,  $P=0.348$ ).

### 결 론 :

NSCLC 환자의 객담에서 *ERCC1*을 정량 측정하는 것이 화학치료를 받는 환자의 생존기간을 예측하는 한 인자로 유용할 것으로 추정된다. *ERCC1*, *MAGE*, 비소세포 폐암, 객담, 화학치료

## 참 고 문 헌

1. Korea National Statistical Office. Death rate by the causes, 2004. <http://www.kosis.nso.go.kr>
2. Scientific Committee of Korean Academy of Tuberculosis and Respiratory Disease. The National Survey of Lung Cancer in Korea. Tuberc Respir Dis 1999;46: 455-65.
3. Bunn PA Jr, Kelly K. New chemotherapeutic agents prolong survival and improve quality of life in non-small cell lung cancer: a review of the literature and future directions. Clin Cancer Res 1998;4:1087-100.
4. Schiller JH, Harrington D, Belani CP, Langer C, Sandler A, Krook J et al. Comparison of four chemotherapy regimens for advanced non-small-cell lung cancer. N Engl J Med 2002;346:92-8.
5. Carney DN. Lung cancer: time to move on from chemotherapy. N Engl J Med 2002;346:126-8.
6. Fong KM, Sekido Y, Gazdar AF, Minna JD. Molecular biology of lung cancer: clinical implications. Thorax 2003;58:892-900.
7. Green MR. Targeting targeted therapy. N Engl J Med 2004;350:2191-3.
8. Rosell R, Taron M, Ariza A, Barnadas A, Mate JL, Reguart N, et al. Molecular predictors of response to chemotherapy in lung cancer. Semin Oncol 2004;31 (Suppl 1):20-7.
9. Hande KR. Lung cancer: principles and practice. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 270-83.
10. Butkiewicz D, Rusin M, Enewold L, Shields PG, Chorzay M, Harris CC. Genetic polymorphisms in DNA repair genes and risk of lung cancer. Carcinogenesis 2001;22:593-7.



11. Spitz MR, Wu X, Wang Y, Wang LE, Shete S, Amos CI, et al. Modulation of nucleotide excision repair capacity by XPD polymorphisms in lung cancer patients. *Cancer Res* 2001;61:1354-7.
12. Reed E. Platinum-DNA adducts, nucleotide excision repair and platinum based anti-cancer chemotherapy. *Cancer Treat Rev* 1998;24:331-44.
13. Dabholkar M, Vionnet J, Bostick-Brunton 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* 1994;94:703-8.
14. Lord RV, Brabender J, Gandara D, Alberola V, Camps C, Domine M, et al. Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:2286-91.
15. Ryu JS, Hong YC, Han HS, Lee JE, Kim S, Park YM, et al. Association between polymorphism of ERCC1 and XPD and survival in non-small-cell lung cancer patients treated with cisplatin combination chemotherapy. *Lung Cancer* 2004;44:311-6.
16. Zhou W, Gurubhagavatula S, Liu G, Park S, Neuberg DS, Wain JC, et al. Excision repair cross-complementation group 1 polymorphism predicts overall survival in advanced non-small cell lung cancer patients treated with platinum-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2004;10:4939-43.
17. Bosken CH, Wei Q, Amos CI, Spitz MR. An analysis of DNA repair as a determinant of survival in patients with non-small-cell lung cancer. *J Natl Cancer Inst* 2002;94:1091-9.
18. Yook DS, Shin HS, Choi P, Kim JH, Shin SH, Ok CH, et al. Expression of MAGE in the induced sputum of lung cancer patients. *Tuberc Respir Dis* 2002;53:265-74.
19. Jheon S, Hyun DS, Lee SC, Yoon GS, Jeon CH, Park JW, et al. Lung cancer detection by a RT-nested PCR using MAGE AS 1: 6 common primers. *Lung Cancer* 2004;43:29-37.
20. Cullinane C, Mazur SJ, Essigmann JM, Phillips DR, Bohr VA. Inhibition of RNA polymerase II transcription in human cell extracts by cisplatin DNA damage. *Biochemistry* 1999;38:6204-12.
21. Metzger R, Leichman CG, Danenberg KD, Danenberg PV, Lenz HJ, Hayashi K, et al. 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* 1998;16:309-16.
22. Shirota Y, Stoehlmacher J, Brabender J, Xiong YP, Uetake H, Danenberg KD, et al. ERCC1 and thymidylate synthase mRNA levels predict survival for colorectal cancer patients receiving combination oxaliplatin and fluorouracil chemotherapy. *J Clin Oncol* 2001;19:4298-304.
23. Keller SM, Adak S, Wagner H, Herskovic A, Komaki R, Brooks BJ, et al. A randomized trial of postoperative adjuvant therapy in patients with completely resected stage II or IIIa non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2000;343:1217-22.
24. Depierre A, Milleron B, Moro-Sibilot D, Chevret S, Quoix E, Lebeau B, et al. Preoperative chemotherapy followed by surgery compared with primary surgery in resectable stage I (except T1N0), II, and IIIa non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2002;20:247-53.
25. Arriagada R, Bergman B, Dunant A, le Chevalier T, Pignon JP, Vansteenkiste J. Cisplatin-based adjuvant chemotherapy in patients with completely resected non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2004;350:351-60.
26. Rosell R, Felip E, Taron M, Majo J, Mendez P, Sanchez-Ronco M, et al. Gene expression as a predictive marker of outcome in stage IIB-IIIa-IIIb non-small cell lung cancer after induction gemcitabine-based chemotherapy followed by resectional surgery. *Clin Cancer Res* 2004;10:4215s-9s.
27. 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* 2005;127:978-83.
28. van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, de Plaen E, van den Eynde B, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991;254:1643-7.
29. de Plaen E, Arden K, Traversari C, Gaforio JJ, Szikora JP, de Smet C, et al. Structure, chromosomal localization, and expression of 12 genes of the MAGE family. *Immunogenetics* 1994;40:360-9.
30. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 2004;350:2129-39.