

文章编号 1006-8147(2019)01-0051-03

论著

# RRM1 mRNA 与吉西他滨药物膀胱灌注治疗膀胱癌疗效的关系

刘志飞<sup>1,2</sup>, 张志宏<sup>1</sup>, 邢力永<sup>2</sup>, 朱研峰<sup>2</sup>, 石鹏<sup>2</sup>, 邓刚<sup>2</sup>

(1.天津医科大学第二医院泌尿外科,天津市泌尿外科研究所,天津 300211;2.唐山市人民医院泌尿外科,唐山 063000)

**摘要** 目的:研究分析 RRM1 mRNA 在膀胱癌患者中的表达及其与吉西他滨药物膀胱灌注化疗效果敏感性的关系,旨在为临床膀胱癌患者术后辅助化疗提供个体化治疗方案。方法:采用液相芯片技术检测 RRM1 mRNA 在膀胱癌患者中的表达,并分析其临床意义。结果:RRM1 mRNA 在高级别膀胱尿路上皮癌患者中呈现高表达为 12 例(30%),呈现低表达为 6 例(15%);在低级别尿路上皮癌患者中高表达为 4 例(10%),低表达为 18 例(45%);应用吉西他滨药物膀胱灌注的膀胱癌患者术后随访 1 年,其中 RRM1 mRNA 低表达的患者复发 1 例(2.5%),RRM1 mRNA 高表达的患者复发 5 例(12.5%)。结论:RRM1 mRNA 在膀胱癌患者中的表达与肿瘤病理分级呈正相关关系。RRM1 mRNA 表达与吉西他滨膀胱灌注辅助化疗药物敏感性呈负相关关系。RRM1 mRNA 在膀胱癌患者中的表达对膀胱癌患者术后辅助化疗药物的选择具有重要指导意义。

**关键词** RRM1;膀胱癌;液相芯片技术

中图分类号 R737.14

文献标志码 A

## The relationship between expression of RRM1 mRNA and efficacy of intravesical of gemcitabine in patients with nonmuscle-invasive bladder cancer

LIU Zhi-fei<sup>1,2</sup>, ZHANG Zhi-hong<sup>1</sup>, XING Li-yong<sup>2</sup>, ZHU Yan-feng<sup>2</sup>, SHI Peng<sup>2</sup>, DENG Gang<sup>2</sup>

(1. Department of Urology, The Second Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin Institute of Urology, Tianjin 300211, China; 2. Department of Urology, Tangshan People's Hospital, Tangshan 063000, China)

**Abstract Objective:** To explore and analysis the expression of RRM1 mRNA and the relationship of gemcitabine intravesical chemotherapy in patients with bladder cancer. **Methods:** We detected the expression levels of RRM1 mRNA in NMIBC by the branch DNA-chip technology and assessed the association between T RRM1 mRNA levels and the efficacy of gemcitabine. **Results:** Of the 40 patients, 12 (30%) had high expression levels of RRM1 mRNA in high grade bladder urothelial carcinoma, and 6 (15%) participants had low levels. Four (10%) had high levels of expression levels of RRM1 mRNA in low-grade bladder urothelial carcinoma, and 18(45%) participants had low levels. In bladder cancer patients with anthracycline intravesical postoperative follow-up of one year, 1 case (2.5%) of recurrence of the RRM1 mRNA low expression of was found, 5 cases (12.5%) of recurrence of RRM1 mRNA high expression were found. The mRNA expression level of RRM1 was more significantly associated with high-grade tumor than with patients with low-grade tumors ( $P < 0.05$ ). The expression levels of RRM1 mRNA showed a strong negative correlation with the efficacy of intravesical gemcitabine ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** RRM1 mRNA expression and tumor grade in bladder cancer patients may have a positive correlation. And RRM1 mRNA and gemcitabine sensitivity are positively correlated. RRM1 mRNA expression in bladder cancer patients has important guiding significance in the selection of drug in adjuvant chemotherapy for bladder cancer patients.

**Key words** RRM1; bladder cancer; liquid-chip technology

膀胱癌为泌尿系统恶性肿瘤中最常见的恶性肿瘤之一,随着社会的发展,人们生活水平的提高,目前其发病率愈发升高,且明显呈现低龄化趋势,经尿道膀胱肿瘤电切术后非肌层浸润性膀胱癌患者在早期及时给予膀胱灌注吉西他滨药物已作为一种较好的辅助治疗方案,然而,目前对于如何监测非肌层浸润性膀胱癌患者对吉西他滨药物的敏感

性尚待进一步解决。国外学者已经研究发现核糖核苷还原酶 M1 亚单位基因(RRM1)表达水平与膀胱癌患者生存时间有重要关系,通过检测 RRM1 的表达水平可以评估膀胱癌患者膀胱灌注化疗药物的敏感程度,对临床上选择辅助治疗方案具有重要指导意义<sup>[1]</sup>。本研究通过 DNA 基因液相芯片技术检测膀胱癌组织中 RRM1 的表达水平,分析 RRM1 与膀胱癌患者各项临床指标的相关性及与膀胱灌注吉西他滨药物疗效的敏感性,旨在为日后临床上膀胱癌患者术后行膀胱灌注治疗选择最佳化疗药物

基金项目 河北省卫计委医学研究课题计划资助项目(20171274)

作者简介 刘志飞(1981-)男,主治医师,博士在读,研究方向:泌尿系统肿瘤;通信作者:张志宏,E-mail:zhangzhihong1202@163.com。

提供一定的指导依据<sup>[2]</sup>。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性分析唐山市人民医院自 2013 年 1 月-2017 年 3 月的 40 例行经尿道膀胱肿瘤电切术的非肌层浸润性膀胱癌患者。患者年龄为 31~78 岁,中位年龄为(57.6±8.9)岁;男性患者 23 例,女性患者 17 例;肿瘤最大直径 0.8~3.5 cm,直径 ≥ 2 cm 为 16 例,直径 < 2 cm 为 24 例;肿瘤单发为 23 例,肿瘤多发为 17 例。术后病理结果显示均为非肌层浸润性尿路上皮癌,其中高级别尿路上皮癌患者 18 例,低级别尿路上皮癌患者 22 例。术后所有患者均行吉西他滨药物膀胱灌注 1 年(吉西他滨注射液 1 g 与 50 mL 0.9%NaCl 注射液配组灌注,保留灌注时间 1 h,初始为 1 次/周,共计 8 周,后改为 1 月/次,共计 8 月),术后随访膀胱灌注吉西他滨药物的膀胱癌患者复发情况,通过行泌尿系彩超、CT、膀胱镜检查诊断患者是否出现术后复发,随访 1 年期间膀胱癌复发患者 6 例(表 1)。

表 1 RRM1 mRNA 的表达与膀胱癌临床病理特征的关系(例)

Tab 1 Relationship between the expression of RRM1 mRNA and the clinicopathological features of bladder cancer (cases)

分类	n(%)	RRM1 高表达 n(%)	RRM1 低表达 n(%)
性别	男	23(57.5)	9(22.5)
	女	17(42.5)	7(17.5)
年龄/岁	≤60	18(45.0)	10(25.0)
	>60	22(55.0)	6(15.0)
肿瘤大小/cm	≤2	24(60.0)	9(22.5)
	>2	16(40.0)	7(17.5)
肿瘤数目	单发	20(50.0)	10(25.0)
	多发	20(50.0)	6(15.0)
是否出现	是	0	0
远处转移	否	40(100)	16(40.0)

1.2 实验方法 取适量术后新鲜标本组织与裂解液混匀,温度设为 65 ℃,1 400 r/min 振荡孵育 2 h。然后温度设为 25 ℃,13 000 r/min 离心 5 min,取上层清液,作为样本检测。将上层清液转移至 96 孔板,加入支持探针-微球、支持延伸探针、缓冲液,温度调为 54 ℃,750 r/min 振荡 14~18 h。次日将孵育板放在磁力架上 1 min,弃去上层清液。加入洗涤液,震荡洗涤 1 min,弃去上层清液;重复洗涤 4 次。加入扩增延伸探针和标记探针,温度设为 45 ℃震荡反应 1 h;弃去上层清液;用洗涤液洗 3 次;加入链霉亲和素-藻红蛋白,温度设为 50 ℃震荡反应 30 min;用洗涤液洗 2 次;加入洗涤液,震荡 5 min,于 Luminex 阅读仪上读取数据,分析实验数据(本实验

检测出的物质为 mRNA,本研究以 mRNA 体现蛋白表达水平)。

1.3 结果判定 通过读取 Luminex IS2.3 仪器显示结果,其中 RRM1 mRNA 在膀胱癌组织中检测表达率 < 50% 为低表达, ≥ 50% 为高表达。

1.4 统计学方法 应用 SPSS19.0 医学统计软件,描述分析 40 例膀胱癌患者年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤单发或多发、肿瘤组织分级、RRM1 mRNA 的表达水平等临床病理特征的分布情况,对 RRM1 mRNA 的表达及其与非肌层浸润性膀胱癌患者年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤单发或多发、肿瘤组织分级等临床病理特征的关系及 RRM1 mRNA 的表达水平与吉西他滨药物敏感性的相关性采用  $\chi^2$  检验、Fisher 确切概率法进行统计分析,将  $P < 0.05$  作为其间差异有统计学意义。

## 2 结果

40 例非肌层浸润性膀胱癌患者中检测出 RRM1 mRNA 高表达为 16 例,表达率为 40%;RRM1 mRNA 低表达为 24 例,表达率为 60%。RRM1 mRNA 的表达与患者年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤单发或多发等参数无显著相关。

膀胱癌患者 RRM1 表达水平与膀胱癌分级的关系(表 2),RRM1 在高级别膀胱尿路上皮癌患者中呈现高表达为 12 例(30%),呈现低表达为 6 例(15%);在低级别尿路上皮癌患者中高表达为 4 例(10%),低表达为 18 例(45%)。高级别尿路上皮癌与低级别尿路上皮癌患者中 RRM1 表达水平行  $\chi^2$  检验, $\chi^2=6.8 > \chi_{0.05}^2(1)$ ,所以  $P < 0.05$ ,因此高级别膀胱癌患者与低级别膀胱癌患者中 RRM1 表达水平差异有统计学意义,高级别尿路上皮癌患者中 RRM1 水平呈现高表达,低级别尿路上皮癌患者 RRM1 水平呈现低表达。

表 2 RRM1 在不同病理分级膀胱癌中的表达情况(例)

Tab 2 Expression of RRM1 in bladder cancer with different pathological grades(cases)

病理分级	RRM1 高表达	RRM1 低表达	合计	P
高级别	12	6	18	<0.05*
低级别	4	18	22	
合计	16	24	40	

\* $\chi^2=6.842, P < 0.05$

膀胱癌患者 RRM1 的表达水平与膀胱灌注吉西他滨药物治疗效果敏感性关系(表 3):术后随访膀胱灌注吉西他滨药物的膀胱癌患者复发情况,其中 RRM1 低表达的患者复发 1 例(2.5%),RRM1 高表达的患者复发 5 例(12.5%),RRM1 高表达患者

复发率是 RRM1 低表达患者的 5 倍, 统计学分析  $\chi^2=6.3 > \chi_{0.05}^2(1)$ , 所以  $P < 0.05$ , 表明经吉西他滨药物膀胱灌注的膀胱癌患者中 RRM1 高表达的尿路上皮癌患者复发率明显高于 RRM1 低表达的尿路上皮癌患者, 所以吉西他滨药物在 RRM1 低表达膀胱癌患者中疗效优于 RRM1 高表达患者。

表 3 RRM1 与吉西他滨药物敏感性关系(例)

Tab 3 Relationship between RRM1 and the sensitivity of gemcitabine drug (cases)

复发情况	RRM1 高表达	RRM1 低表达	合计	P
复发	5	1	6	<0.05
未复发	11	23	34	
合计	16	24	40	

### 3 讨论

非肌层浸润膀胱癌患者行经尿道膀胱肿瘤电切术(TUR-BT)术后早期进行膀胱灌注敏感的化疗药物可以降低患者术后肿瘤的复发<sup>[3]</sup>, 同时也有学者研究发现膀胱癌患者术后行膀胱内灌注化疗药物, 术后复发率仍可达 60%<sup>[4]</sup>。核糖核苷还原酶 M1 亚单位基因(RRM1)为 DNA 修复过程的限速酶<sup>[5]</sup>, 定位于染色体 11P15.5, 这个染色体区域命名为 LOH11A。Bergman 研究表明 RRM1 基因是促使吉西他滨产生耐药的关键性靶点<sup>[6]</sup>。吉西他滨进入机体后, 其吉西他滨 RR 的活性被吉西他滨磷酸化产物所竞争性抑制, 导致 dNTPs 少量生成或不再生成, 由于 dNTPs 是 DNA 合成所必需的底物<sup>[7]</sup>, 所以抑制 RR 的活性便可以阻止 DNA 的合成从而诱导细胞凋亡, 达到阻止肿瘤细胞增殖的目的<sup>[8]</sup>。有相关文献报道非小细胞肺癌患者在进行铂类及吉西他滨联合化疗时, mRNA 表达水平较低的患者化疗后具有相对较长的生存期, 表明 RRM1 基因是研究吉西他滨耐药的一个主要指标<sup>[9]</sup>。Reynolds 等<sup>[10]</sup>研究发现, RRM1 和 ERCC1 蛋白表达水平与化疗有效率之间具有显著的相关性, 高表达者有效率低, 二者在膀胱癌患者术后膀胱灌注化疗药物中有何作用仍需进一步研究, 该研究结果将会在临床上为患者提供个体化治疗方案<sup>[11]</sup>。

本文结果表明 RRM1 的表达水平与膀胱癌肿瘤分级呈现正相关关系, 经吉西他滨药物膀胱灌注的膀胱癌患者中 RRM1 低表达的尿路上皮癌患者复发明显低于 RRM1 高表达的尿路上皮癌患者, 由此表明嘧啶类药物在 RRM1 低表达膀胱癌患者中疗效优于 RRM1 高表达患者。高级别尿路上皮癌与低级别尿路上皮癌患者术后均可出现复发, 笔者发现高级别尿路上皮癌患者中 RRM1 mRNA 高表达

者对吉西他滨药物灌注疗效差, 易出现复发, 而低级别膀胱癌患者中 RRM1 mRNA 高表达者同样对吉西他滨药物灌注疗效差容易出现复发, 这表明 RRM1 mRNA 表达水平与吉西他滨药物灌注疗效呈负相关关系。此结果与国内外多位学者研究相符。RRM1 表达水平与患者预后密切相关性, 其表达状况直接影响化疗药物的选择, RRM1 活性升高或表达水平升高均会导致化疗药物的耐药性产生。因此, 非肌层浸润性膀胱癌患者行膀胱灌注治疗前通过检测 RRM1 基因表达水平, 有助于判断吉西他滨药物敏感性, 可以为患者选择最敏感的膀胱灌注药物提供一定指导依据, 由于本研究数据有限, 可能存在一定偏倚, 尚需扩充研究对象数量以进一步探讨 RRM1 在膀胱灌注治疗选择合理药物中的重要性。

### 参考文献:

- [1] Matsumura N, Kusumoto H, Sasaki Y, et al. 1893 the significance of combined analysis of human equilibrative nucleoside transporter 1 (HENT1) and ribonucleotide reductase M1 (RRM1) in advanced bladder cancer patients with gemcitabine-based chemotherapy[J]. J Urol, 2012, 187(4):e763
- [2] 南勇. 羟基喜树碱与吡柔比星膀胱灌注预防非肌层浸润性膀胱癌术后复发的疗效比较[J]. 海南医学, 2014(23):113
- [3] Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(1):10
- [4] Leopardo D, Cecere S C, Di Napoli M, et al. Intravesical chemo-immunotherapy in non muscle invasive bladder cancer[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2013, 17(16):2145
- [5] Sarries C, Haura E B, Roig B, et al. Pharmacogenomic strategies for developing customized chemotherapy in non-small cell lung cancer[J]. Pharmacogenomics, 2002, 3(6):763
- [6] Bergman A M, Eijk P P, Ruiz Van Haperen V W, et al. In vivo induction of resistance to Gemcitabine results in increased expression of ribonucleotide reductase subunit MI as the major determinant[J]. Cancer Res, 2005, 65(20):9510
- [7] 王琪. 肿瘤相关基因 RRM1 和 TUBB3 mRNA 表达水平的检测在个体化用药中的初步应用[D]. 西安: 西北大学, 2013
- [8] Mini E. Cellular pharmacology of gemcitabine[J]. Ann Oncol, 2006, 17(S5):7
- [9] Bepler G, Kusmartseva I, Sharma S, et al. RRM1 modulated in vitro and in vivo efficacy of gemcitabine and Platinum in non-small-cell lung cancer[J]. J Clin Oncol, 2006, 24(29):4731
- [10] 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
- [11] Vilmar A C, Santoni-Rugiu E, Sorensen J. Predictive impact of RRM1 protein expression on vinorelbine efficacy in NSCLC patients randomly assigned in a chemotherapy phase III trial[J]. Ann Oncol, 2013, 24(2):309