

**MARCADORES FARMACOGENÉTICOS PREDICTIVOS
DE EFICACIA Y TOXICIDAD EN CÁNCER DE PULMÓN DE CÉLULA PEQUEÑA**

ANDRÉS BARBA JOAQUÍN

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



**MARCADORES FARMACOGENÉTICOS PREDICTIVOS
DE EFICACIA Y TOXICIDAD EN CÁNCER DE PULMÓN
DE CÉLULA PEQUEÑA**

TESIS DOCTORAL

ANDRÉS BARBA JOAQUÍN



TESIS DOCTORAL

**Marcadores farmacogenéticos predictivos de eficacia y toxicidad en
cáncer de pulmón de célula pequeña**

Doctorando:

Andrés Barba Joaquín

Directoras:

Juliana Salazar Blanco

Ivana Gabriela Sullivan

Tutor:

Jordi Sierra i Gil

Programa de Doctorado en Medicina

Departamento de Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Barcelona, 2025

A mi madre.... A mi familia

A mis amigos... Mi otra familia

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido posible sin todos aquellos que forman parte de mi vida.

Debo comenzar con mis directoras de tesis. Ivana Sullivan, gracias por cuidarme, motivarme y enseñarme en mis inicios en el cáncer de pulmón, y por inspirarme a iniciar este proyecto. Juliana Salazar, gracias por tu paciencia, docencia y apoyo incondicional durante estos años; he aprendido mucho, y sin duda esta tesis no hubiera sido posible sin ti.

Jordi Sierra, gracias por aceptar ser mi tutor.

Laura López, gracias por tus sonrisas, tu positivismo y por sacar tiempo de donde no lo había, compartiendo momentos incluso cuando el estrés nos superaba... Se te echa de menos.

Malena Ferré y Olga Bell, ha sido un placer aprender de vosotras.

A mi equipo, Marga Majem, de quien he aprendido gran parte de lo que sé, gracias por ayudarme a crecer y estar presente en los momentos buenos y no tan buenos. ¡Mil gracias! Sergio Martínez, el mejor compañero, cuyo humor ácido hace más fáciles los días difíciles y de quien aprendo cada día. Laia Lavernia, que, después de bastantes años, ha sido un gran apoyo, tanto en el trabajo y fuera de él.

A Agustí Barnadas, gracias por confiar en mí, por tu apoyo en la oncología y en este proyecto, y por tu calidez y cercanía.

A mis compañeros y amigos oncólogos: no podría haber compartido el día a día con nadie mejor. Anna Virgili, gracias por estar siempre, tanto en la medicina como en mi vida. Marta Andrés, eres la mejor co-R que podría haber tenido, y con tu positividad logras atenuar mi negatividad. Ana Callejo, mi gran descubrimiento, aunque estés lejos, siempre estás cerca. Y mis resis mayores, Andrea, Núria, Georgia y Cris, gracias por tantos buenos momentos y aprendizajes.

Al resto de mis amigos, sé que a veces no he sido una persona fácil, y aun así siempre habéis estado ahí. Gracias por haberme acompañado en el camino.

A la familia que eliges, Raquel, Olga, Dulce, gracias por darme luz en momentos de oscuridad.

Y a mi familia, Mama, Pepi, Coraima, Nina, Richard, Judith... que, pese a que somos muy diferentes, sois el pilar de mi vida.

Para acabar, y la más importante de todos, mi madre, quien, pese a todas las dificultades, ha luchado y creído en mí. Nada de lo que soy hubiera sido posible sin ella.

Papa, pese a nuestras diferencias, te echo mucho de menos.

LISTA DE ABREVIATURAS

ABCB1 o **MDR1**: *ATP-binding cassette sub-family B member 1* o *Multidrug Resistance Protein 1*

ADC: *Antibody–Drug Conjugate*

ADN: Ácido desoxirribonucleico

ARN: Ácido ribonucleico

ARNm: Ácido ribonucleico mensajero

ASCO: *American Society of Clinical Oncology*

ASCL-1: *Achaete-Scute Family BHLH Transcription Factor 1*

B7-H3: *B7 homolog 3*

BER: *Base Excision Repair* (reparación por escisión de bases)

BID: *Bis in Die* (dos veces al día)

BiTE: *Bispecific T-cell Engager* (reclutador biespecífico de linfocitos T)

CAV: Cyclophosphamide, Adriamycin (doxorubicin), Vincristine

CAF: *Cancer-Associated Fibroblasts* (fibroblastos asociados a tumor)

CD274 o **PD-L1**: *Programmed Death-Ligand 1*

CDK4/6: *Cyclin-Dependent Kinases 4 and 6*

CPCNP: Cáncer de Pulmón de Célula No Pequeña

CPCP o **SCLC**: Cáncer de Pulmón de Célula Pequeña

CPCP-EE: Cáncer de Pulmón de Célula Pequeña con Enfermedad Extensa

CPCP-EL: Cáncer de Pulmón de Célula Pequeña con Enfermedad Limitada

CPS: *Combined Positive Score*

CTLA-4: *Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4*

DLL3: *Delta-like ligand 3*

DPYD: *Dihydropyrimidine Dehydrogenase*

ECOG: *Eastern Cooperative Oncology Group*

ERCC: *Excision Repair Cross-Complementation*

FOXP3: *Forkhead box P3*

G-CSF: Granulocyte Colony-Stimulating Factor (factor estimulante de colonias de granulocitos)

IASLC: *International Association for the Study of Lung Cancer*

ICI: *Immune Checkpoint Inhibitor* (inhibidor de puntos de control inmunitario)

IHQ: Inmunohistoquímica

IL-6: *Interleucina 6*

ILP: Intervalo Libre de Platino

KDM5A: *Lysine Demethylase 5A*

MDR1 o ABCB1: *Multidrug Resistance Protein 1 o ATP-binding cassette sub-family B member 1*

MHC: *Major Histocompatibility Complex* (complejo mayor de histocompatibilidad)

MDSC: *Myeloid-Derived Suppressor Cells*

miR o miRNA: *MicroRNA* (microARN)

NER: *Nucleotide Excision Repair* (reparación por escisión de nucleótidos)

NK: *Natural Killers Cells*

NeuroD1: *Neuronal Differentiation 1*

PD-1: *Programmed Death-1*

PD-L1 o CD274: *Programmed Death-Ligand 1*

P-gp: *P-glycoprotein*

PCI: *Prophylactic Cranial Irradiation* (irradiación craneal profiláctica)

PLA: *Proximity Ligation Assay* (ensayo de ligadura por proximidad)

PM2.5: *Particulate Matter $\leq 2.5 \mu m$*

POU2F3: *POU Class 2 Homeobox 3*

Rb1: *Retinoblastoma 1*

RT: *Radioterapia*

SG: *Supervivencia Global*

SCLC o CPCP: *Small Cell Lung Cancer* (cáncer de pulmón de célula pequeña)

SLP: *Supervivencia Libre de Progresión*

SNP: *Single-Nucleotide Polymorphism* (polimorfismo de un solo nucleótido)

TAM: *Tumor-Associated Macrophages* (macrófagos asociados a tumor)

TGF- β : *Transforming Growth Factor Beta*

TIGIT: *T cell immunoreceptor with Ig and ITIM domains*

TILs: *Tumor-Infiltrating Lymphocytes*

TFIID: *Transcription Factor II D*

Treg: *Regulatory T cells* (células T reguladoras)

TP53: *Tumor Protein p53*

TPS: *Tumor Proportion Score*

UGT1A1: *UDP-Glucuronosyltransferase 1A1*

VEGF: *Vascular Endothelial Growth Factor*

XPD o ERRC2: *Xeroderma Pigmentosum group D*

XPF o ERCC4: *Xeroderma Pigmentosum group F*

YAP1: *Yes-Associated Protein 1*

ÍNDICE

RESUMEN	01
ABSTRACT	03
1. INTRODUCCIÓN	05
1.1. Epidemiología del cáncer de pulmón de célula pequeña (CPCP).....	05
1.2. Patrones genéticos, transcripcionales y funcionales en el CPCP.....	07
1.3. Microambiente tumoral en el CPCP	09
1.4. Bases del tratamiento con quimioterapia en el CPCP	11
1.5. Toxicidad de la quimioterapia basada en platino y etopósido en el CPCP...12	
1.6. Tratamiento sistémico en el CPCP con enfermedad limitada (CPCP-EL) ...13	
1.7. Radioterapia torácica en el CPCP-EL	14
1.8. Irradiación craneal profiláctica (PCI) en el CPCP-EL	15
1.9. Cirugía en estadios precoces (T1-2 N0) en el CPCP	16
1.10. Tratamiento sistémico en el CPCP con enfermedad extensa (CPCP-EE) ..16	
1.11. Tratamiento sistémico en el CPCP previamente tratado	19
1.12. Mecanismo de acción de los principales agentes de quimioterapia de primera línea en el CPCP.....	20
1.13. Factores predictivos de eficacia y/o toxicidad a la quimioterapia con platino y etopósido en el CPCP	21
1.13.1.1. Marcadores clínicos y socioeconómicos	21
1.13.1.2. Marcadores farmacogenómicos y farmacogenéticos	22
2. HIPÓTESIS	27
3. OBJETIVOS	29
4. COMPENDIO DE PUBLICACIONES	31
1. ARTICULO 1: <i>ERCC1 and ERCC2 Polymorphisms Predict the Efficacy and Toxicity of Platinum-Based Chemotherapy in Small Cell Lung Cancer</i>	33

2. ARTICULO 2: <i>CD274 (PD-L1) Polymorphisms as Predictors of Efficacy in First-Line Platinum-Based Chemotherapy for Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer</i>	55
5. RESUMEN GLOBAL DE RESULTADOS	77
6. RESUMEN GLOBAL DE DISCUSIÓN	79
6.1. Limitaciones	84
7. CONCLUSIÓN	87
8. LÍNEAS DE FUTURO	89
9. BIBLIOGRAFÍA	91

RESUMEN

El cáncer de pulmón de célula pequeña (CPCP) es un tumor agresivo con altas tasas de respuesta a la quimioterapia con platino-etopósido, aunque dichas respuestas suelen ser de corta duración y los tratamientos posteriores ofrecen resultados subóptimos, especialmente en enfermedad platino-resistente. Actualmente no existen biomarcadores validados que predigan la eficacia ni la toxicidad del tratamiento en esta población. Polimorfismos de nucleótido único (SNPs) podrían constituir potenciales biomarcadores predictivos de eficacia y/o toxicidad a esta quimioterapia basada en platino-etopósido.

Se realizó un estudio retrospectivo unicéntrico en 145 pacientes con CPCP (45 con enfermedad limitada y 100 con enfermedad extensa) tratados con platino-etopósido, con o sin radioterapia torácica. Se evaluaron SNPs germinales en genes relacionados con la reparación del ADN, la metabolización del etopósido y el control inmunitario, y se analizó su asociación con la eficacia y la toxicidad. Se determinó la expresión tumoral de ERCC1 y PD-L1 por inmunohistoquímica, y del complejo ERCC1-XPF mediante ensayo de ligadura por proximidad (PLA).

Variantes en genes implicados en la reparación del ADN se asociaron con la supervivencia y la toxicidad hematológica, destacando la asociación de *ERCC1* rs11615 con supervivencia libre de progresión (SLP) en enfermedad limitada y de *ERCC2* rs1799793 con trombocitopenia grado 3-4 en la cohorte total. La variante *ERCC1* rs11615 no se asoció con la expresión tumoral de ERCC1. Se observó una relación del complejo funcional ERCC1-XPF con la SLP en la cohorte total y en enfermedad limitada.

En enfermedad extensa, las variantes rs2297136, rs2282055 y rs822336 de *CD274* (*PD-L1*), así como *CTLA-4* rs231775, se asociaron con la SLP, mientras que *CD274* rs2297136 y rs822336 se asociaron con la sensibilidad a platino. No obstante, las variantes en *CD274* (*PD-L1*) no se correlacionaron con la expresión tumoral de PD-L1.

En conclusión, la evaluación de variantes en genes de reparación del ADN y en genes de puntos de control inmunitario, junto con la expresión proteica del complejo ERCC1-XPF, podría contribuir a estratificar el pronóstico y la toxicidad en pacientes tratados con platino-etopósido, así como orientar un enfoque terapéutico más individualizado en poblaciones seleccionadas.

ABSTRACT

Small-cell lung cancer (SCLC) is an aggressive tumor with high response rates to platinum–etoposide chemotherapy; however, these responses are usually short-lived, and subsequent treatments provide suboptimal outcomes, particularly in platinum-resistant disease. Currently, no validated biomarkers are available to predict either treatment efficacy or toxicity in this population. Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) may represent potential predictive biomarkers of efficacy and/or toxicity to platinum-etoposide-based chemotherapy.

A single-center retrospective study was conducted in 145 patients with SCLC (45 with limited-stage and 100 with extensive-stage disease) treated with platinum-etoposide, with or without thoracic radiotherapy. Germline SNPs in genes involved in DNA repair, etoposide metabolism, and immune regulation were evaluated, and their association with treatment efficacy and toxicity was analyzed. Tumor expression of ERCC1 and PD-L1 was assessed by immunohistochemistry, and expression of the ERCC1-XPF complex was determined using a proximity ligation assay (PLA).

Variants in DNA repair genes were associated with survival and hematologic toxicity, notably *ERCC1* rs11615 with progression-free survival (PFS) in limited-stage disease, and *ERCC2* rs1799793 with grade 3-4 thrombocytopenia in the overall cohort. The *ERCC1* rs11615 variant was not associated with tumor ERCC1 expression. A relationship between the functional ERCC1-XPF complex and PFS was observed in both the overall cohort and in limited-stage disease.

In extensive-stage disease, *CD274* (*PD-L1*) variants rs2297136, rs2282055, and rs822336, as well as *CTLA-4* rs231775, were associated with PFS, while *CD274* rs2297136 and rs822336 were associated with platinum sensitivity. However, *CD274* (*PD-L1*) variants did not correlate with tumor PD-L1 expression.

In conclusion, the evaluation of variants in DNA repair genes and in immune checkpoint genes, together with the protein expression of the ERCC1-XPF complex, could contribute to stratifying prognosis and toxicity in patients treated with platinum-etoposide, as well as to guiding a more individualized therapeutic approach in selected populations.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Epidemiología del cáncer de pulmón de célula pequeña (CPCP)

El cáncer de pulmón es la primera causa en incidencia y mortalidad por cáncer en el mundo. Es más frecuente en hombres y presenta una asociación directa con el gradiente socioeconómico, aumentando en niveles altos en el contexto de una población más envejecida con mayor exposición a factores de riesgo, mayor consciencia de la salud y una mayor capacidad de diagnóstico (1).

El consumo de tabaco es el principal factor de riesgo bien documentado en cáncer de pulmón, correlacionándose tanto con la cantidad como por la duración del consumo. Las tasas de tabaquismo han estado disminuyendo durante las últimas décadas y la reducción en el consumo en países desarrollados ha conducido a la disminución en la incidencia y la mortalidad por cáncer de pulmón en esta población, y se espera que continúe en descenso durante las próximas décadas (2). Este fenómeno es más pronunciado en hombres, por una mayor reducción en el hábito tabáquico (3). Estos cambios, han implicado que en cohortes de pacientes más jóvenes y en ciertos grupos raciales de estados unidos se haya invertido la incidencia de cáncer de pulmón por sexos, siendo ya superior en mujeres que en hombres (4). Además, hay proyecciones que sugieren que para 2045 la incidencia de cáncer de pulmón en mujeres también supere a la de hombres en el resto de la población (2). La reducción en el consumo tabáquico también implica cambios en la patología, con una mayor proporción de histología de adenocarcinoma y una reducción de histología escamosa y célula pequeña (5).

Entre un 15-20% de los pacientes con cáncer de pulmón son no fumadores (6) y la evolución actual sugiere un aumento progresivo en la incidencia de este tipo de pacientes, independientemente de la edad, sexo o etnia, si bien estos hallazgos no se objetivaron en pacientes con histología escamosa y célula pequeña (7). Se estima que el cáncer de pulmón en personas que nunca han fumado es la quinta causa más común de muertes relacionadas con el cáncer en todo el mundo en 2023, ocurriendo preferentemente en mujeres (relación 2:1) y poblaciones asiáticas (8). Se estima que solo cerca del 2% de los pacientes con diagnóstico de cáncer de pulmón de célula pequeña (CPCP) nunca han fumado (9).

El tabaco no es el único factor implicado en el cáncer de pulmón. El radón es la segunda causa ambiental tras el tabaco en pacientes fumadores y la primera causa en pacientes no fumadores. Además, la exposición al radón se ha asociado con mayor riesgo de CPCP respecto a cáncer de pulmón de célula no pequeña (CPCNP) (10). Otros factores de riesgo descritos son el humo de segunda mano, carcinógenos ocupacionales, contaminación ambiental por partículas PM2.5 o humos y partículas generadas por la cocción, entre otros (8). El consumo de marihuana también se ha relacionado con la incidencia de cáncer de pulmón (11), aunque la evidencia es insuficiente para establecer relación causal sólida, mayormente por el solapamiento con el consumo de tabaco y por un tiempo insuficiente de seguimiento. La falta de seguimiento a largo plazo hace que por el momento tampoco se haya podido establecer la relación entre el consumo de cigarrillos electrónicos y vapeo con el cáncer de pulmón.

El CPCP es un tipo de neoplasia neuroendocrina de pulmón, que junto al carcinoma neuroendocrino de célula grande forman los carcinomas neuroendocrinos de pulmón (también llamadas neoplasia neuroendocrina de pulmón de alto grado, poco diferenciadas o grado 3) (12). Constituye aproximadamente el 15% de todos los casos de cáncer de pulmón (13) y está estrechamente relacionado con la exposición al tabaco, con apenas un 2.5% de pacientes que nunca han fumado(14). En los países desarrollados, en el contexto de los cambios en la conducta tabáquica, en las últimas décadas se está describiendo una reducción en la proporción de hombres con CPCP y un aumento de la proporción de mujeres con este diagnóstico(15). Aunque el cribado para la detección precoz ha demostrado reducir de forma significativa la mortalidad específica en CPCNP (16,17), los protocolos de cribado con TC no han conseguido evidenciar una mejoría en la supervivencia del CPCP (18).

El CPCP es un tumor que presenta una elevada agresividad. Al diagnóstico, aproximadamente el 65% de los pacientes presentan enfermedad metastásica y el 85% presentan la enfermedad en estadios III-IV (19). Aunque clásicamente, se han clasificado en enfermedad limitada (CPCP-EL) aquellos pacientes con afectación torácica exclusiva que podían abarcarse en un campo de radioterapia, y en enfermedad extensa (CPCP-EE) los pacientes cuya enfermedad no podría incluirse en un campo radioterápico. Los resultados obtenidos a partir de una gran base de la IASLC con datos de 4.453 pacientes con CPCP mostraron que la supervivencia a los dos años en pacientes diagnosticados en estadio IV fue del 10% y en pacientes diagnosticados en estadios IIIC, IIIB y IIIA fue del 25%, 37% y 49%, respectivamente (19).

1.2. Patrones genéticos, transcripcionales y funcionales en el CPCP

Hasta el 90% de estos tumores se caracteriza por una inactivación bialélica en los genes supresores tumorales *RB1* y *TP53*(20). Pese a esto, es una enfermedad heterogénea, con una elevada tasa de resistencias terapéuticas (21).

A destacar, se ha descrito que más del 80% de los CPCP tienen baja actividad de *NOTCH*, con hasta un 25% de los tumores con mutaciones específicas en el propio gen(20), el cual actúa como un supresor tumoral que regula negativamente la diferenciación neuroendocrina (22). Uno de los mecanismos descritos implicados en la supresión de *NOTCH* es la represión de la señalización de este por parte de la histona desmetilasa KDM5A, la cual en condiciones normales es inhibida por la proteína RB(22). Los tumores con baja activación de la vía de *NOTCH* expresan marcadores neuroendocrinos tradicionales y presentan una alta expresión de *achaete-scute homologue 1* (*ASCL1* o también conocido como *ASH1*), esencial en el desarrollo del linaje neuroendocrino (22) y que regula la expresión de *DLL-3*, que a su vez está implicado en la señalización de *NOTCH* en CPCP(23). Un estudio reveló que una mutación inactivadora en *NOTCH* era suficiente para producir una diferenciación a células tumorales neuroendocrinas en células precursoras no neuroendocrinas(24).

La amplificación de genes de la familia *MYC* ocurre en aproximadamente el 20% de CPCP y son excluyentes de mutaciones en *NOTCH*(25), impulsando un subtipo tumoral con bajo perfil neuroendocrino (“neuroendocrino-low”) y con alta expresión de *neurogenic differentiation factor 1* (*NeuroD1*) (26).

En los últimos años, estudios transcriptómicos han revelado una marcada heterogeneidad intertumoral en el CPCP, lo que ha permitido su subclasificación molecular en subtipos definidos por la expresión de factores de transcripción(27) :

- **SCLC-A:** caracterizado por una alta expresión de *ASCL1*, asociado a un fenotipo neuroendocrino clásico.
- **SCLC-N:** dominado por *NEUROD1*, también con características neuroendocrinas, aunque con un patrón más mesenquimal y con mayor plasticidad.
- **SCLC-P:** definido por la expresión de *POU2F3*, representa un subtipo no neuroendocrino, con posible origen en células tuft pulmonares.

- **SCLC-Y**: caracterizado por una alta expresión de *YAP1*, presenta un perfil poco neuroendocrino, con características de transición epitelio-mesenquimal y una mayor capacidad de evasión terapéutica.

Esta clasificación molecular ha sido respaldada por estudios de secuenciación de ARN, que revelan patrones diferenciales en cuanto a características neuroendocrinas, vías de diferenciación celular, respuesta inmune y señalización oncogénica (27).

En los últimos años se ha propuesto un quinto subtipo funcional, independiente de los factores de transcripcionales clásicos:

- **SCLC-I ("inflamado")**: definido por una firma génica immuno-inflamatoria con expresión de genes relacionados con la respuesta a interferón gama, MHC de clase I y mayor infiltración de linfocitos T CD8+ (28).

Pese a esta subclasificación, existe un solapamiento parcial entre los subtipos SCLC-Y y SCLC-I, ya que muchos YAP1 presentan una firma immunoactiva, sin embargo, no son equivalentes. Algunos SCLC-I presentan baja expresión de YAP1 o pertenecen a los subtipos SCLC-P o SCLC-N, lo que refuerza la idea de que SCLC-I constituye un grupo funcional transversal.

Además, existe una plasticidad transcripcional entre los diferentes subtipos, que en parte puede estar favorecida por la exposición a las diferentes terapias y por la progresión tumoral, que puede reflejar una evolución desde perfiles altamente neuroendocrinos, como SCLC-A, hacia fenotipos no neuroendocrinos, como SCLC-Y o SCLC-I.

Desde una perspectiva terapéutica, estos subtipos podrían tener implicaciones clínicas relevantes, dado que presentan expresión diferencial de genes que podrían ser utilizados como potenciales biomarcadores de sensibilidad a terapias dirigidas o tratamiento con inhibidores de control inmunitario (ICI por sus siglas en inglés) (29–31). Sin embargo, el solapamiento entre subgrupos y la plasticidad tumoral suponen un desafío para su aplicación terapéutica directa, dificultando por el momento la utilización rutinaria de esta subclasificación en la práctica clínica (30,31).

Los datos disponibles en CPCP en pacientes no fumadores sugieren que esta es una entidad distinta al CPCP clásico, con menos posibilidades de tener aberraciones en

TP53 y *RB1*, así como, presentar baja carga mutacional y alteraciones accionables que pueden estar presentes por su asociación en esta población de histologías mixtas (9,32).

1.3. Microambiente tumoral en el CPCP

El CPCP presenta una de las cargas mutacionales más elevadas entre los tumores sólidos, lo que, en teoría, debería favorecer el reconocimiento inmunitario mediante la generación de neoantígenos, no obstante, se comporta como un tumor inmunológicamente "frío" (33). Esta paradoja podría explicarse por mecanismos de inmunoescape altamente eficientes, tanto intrínsecos (defectos en la presentación antigénica) como extrínsecos (reclutamiento de células inmunosupresoras y exclusión de linfocitos citotóxicos)

Uno de los mecanismos fundamentales de evasión inmune en el CPCP es la disfunción en la presentación de antígenos. Las células tumorales exhiben una pérdida significativa de la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad clase I (MHC-I), impidiendo su reconocimiento por los linfocitos T citotóxicos (CD8+). Estudios inmunohistoquímicos han evidenciado que hasta el 70% de los tumores de CPCP expresan escasamente MHC-I y carecen del transportador asociado al procesamiento de antígenos (TAP1). De manera complementaria, la expresión del MHC clase II, indispensable para la activación de linfocitos T CD4+, también está ausente en las células tumorales y es escasa en las células inmunitarias infiltrantes (31).

La infiltración de linfocitos T CD8+ en el CPCP es de 5,4 a 6 veces menor que CPCNP, y su localización se restringe mayoritariamente al estroma, con escasa penetración en el parénquima tumoral (34). Esto sugiere la existencia de barreras estructurales o señales inhibitorias que impiden el reclutamiento y la migración efectiva de estas células efectoras. Diversos factores secretados por el tumor y su estroma contribuyen a esta exclusión inmunológica. Por ejemplo, la sobreexpresión de VEGF por parte de células tumorales y estromales reduce la expresión de moléculas de adhesión endotelial, disminuyendo la adhesión y trans migración de células inmunes (35). Asimismo, la deficiencia en quimiocinas clave, necesarias para guiar la infiltración de linfocitos T, está vinculada al silenciamiento epigenético de los genes que las codifican en las células tumorales (36).

A pesar de la limitada respuesta mediada por linfocitos T CD8+ y CD4+, la actividad de las células asesinas naturales (NK) también se ve comprometida. Aunque la menor expresión de MHC-I debería facilitar el reconocimiento por células NK, el CPCP muestra una de las expresiones más bajas del receptor activador de células NK grupo 2, miembro D (NKG2D) entre todos los tumores sólidos, como consecuencia de un silenciamiento epigenético con efecto a nivel transcripcional (37).

Además de estas barreras físicas y funcionales, el microambiente tumoral del CPCP está densamente infiltrado por poblaciones inmunosupresoras como las células T reguladoras (Tregs), los macrófagos asociados a tumor (TAM) y las células supresoras derivadas de linaje mieloide (MDSC) (31). Las Tregs, principal subpoblación de linfocitos T CD4+ inmunorreguladores, median su efecto supresor a través de citoquinas como IL-10, TGF- β e IL-35, así como la expresión de moléculas inhibitoras como CTLA-4 y PD-1 (38). Más del 70% de las muestras tumorales de CPCP muestran una elevada densidad de Tregs FOXP3+, en contraste con la escasa presencia de linfocitos T CD8+ (39). Su proporción es aún mayor en pacientes con CPCP-EE y supera claramente la observada en sujetos sanos.

Los TAM, ampliamente presentes en el microambiente tumoral del CPCP, adoptan predominantemente un fenotipo M2, asociado a funciones protumorales e inmunosupresoras. Se estima que los TAM-M2 representan entre el 22% y el 45% del infiltrado inmunitario total (40). Por su parte, las MDSC suprimen de forma potente la proliferación y función de células T y NK mediante la producción de diversas enzimas (41).

El eje PD-1/PD-L1, blanco terapéutico principal de ICI, tiene un papel limitado en el CPCP. La expresión de PD-L1 es considerablemente más baja que en el CPCNP y, en su mayoría, se restringe a células inmunitarias en lugar de tumorales, lo que refleja la inmunofragilidad del microambiente tumoral en CPCP (33). Además, se ha investigado el papel de otras moléculas inmunorreguladoras como CTLA-4, TIGIT y B7-H3, aunque sin una clara validación clínica hasta la fecha (31).

Además del componente celular inmunitario, los fibroblastos asociados a tumor (CAFs) constituyen una de las poblaciones no malignas más abundantes del microambiente tumoral en el CPCP. Lejos de ser elementos pasivos, los CAFs contribuyen activamente a la inmunosupresión al secretar citoquinas como TGF- β e IL-6, que inhiben la función de células T y NK, y promueven la expansión de células T-reg. Además, remodelan la

matriz extracelular aumentando su rigidez, lo que limita la infiltración de células inmunitarias y la penetración de fármacos. Su interacción con células tumorales puede favorecer transiciones fenotípicas y adaptaciones que promueven la progresión y resistencia al tratamiento, consolidando su papel clave en la evasión inmunitaria del CPCP (42).

1.4. Bases del tratamiento con quimioterapia en el CPCP

Un metaanálisis de 21 ensayos clínicos fase III y de la base de datos de la SEER (*Surveillance, Epidemiology, and End Results*) de pacientes con enfermedad extensa tratados desde 1972 a 1974 mostró una mejoría en supervivencia global de hasta 2 meses en aquellos pacientes que recibían regímenes de quimioterapia basada en cisplatino respecto a los que no (43). Posteriormente, un metaanálisis de 19 ensayos clínicos con 4054 pacientes, que incluían tanto enfermedad limitada como extensa, reportó una mejoría de supervivencia global del 4.4% al año con regímenes basados en cisplatino (44). Un metaanálisis posterior del Grupo Europeo de Trabajo sobre Cáncer de Pulmón, con 7173 pacientes y 36 ensayos clínicos, confirmó el beneficio en supervivencia de los esquemas basados en cisplatino y también un beneficio en supervivencia para las combinaciones con etopósido respecto a las que no lo incluían (45). Además, un ensayo fase III randomizado, demostró una mejor supervivencia de la combinación de cisplatino y etopósido respecto al régimen previo con esquema CAV (ciclofosfamida, epirubicina y vincristina) en pacientes con enfermedad limitada sin diferencias en enfermedad extensa (46). Dos metaanálisis, el Rossi et al con 4408 pacientes, no encontraron diferencias en respuesta ni supervivencia en función del régimen de platino utilizado (cisplatino o carboplatino) (47,48). En base a estos resultados la quimioterapia basada en platino, carboplatino o cisplatino, y etopósido se considera el pilar del tratamiento en CPCP.

Un ensayo clínico fase III japonés (JCOG 9511), que incluyó 154 pacientes, comparó el tratamiento de cisplatino-etopósido con un esquema alternativo con cisplatino–irinotecan en pacientes con CPCP con enfermedad extensa, demostrando superioridad de la rama de combinación con irinotecan en tasa de respuestas y supervivencia. Además, la combinación con irinotecan demostró una menor toxicidad respecto a etopósido, tanto a nivel hematológico como digestivo (49). Estos resultados llevaron al cierre prematuro del estudio. Dos estudios posteriores realizados en población caucásica no lograron demostrar superioridad de la combinación con irinotecan respecto

a etopósido (50,51). Un metaanálisis de seis ensayos con 1476 pacientes, reportó una mejoría de la combinación con irinotecan en tasa de respuestas y supervivencia global (SG), pero no en supervivencia libre de progresión (SLP) y, además, se asoció con menor tasa de toxicidad hematológica (52). Estos resultados se han de interpretar con mucha cautela dado que solo incluyó seis ensayos clínicos aleatorizados, algunos datos no habían sido informados y se observó importante heterogeneidad en SLP y SG que podría justificarse por temas raciales, por el uso diferente de fármacos, como el carboplatino en vez del cisplatino o diferente intensidad de dosis. Esto ha hecho que el estándar de quimioterapia continúe siendo la combinación de platino y etopósido, especialmente en población caucásica.

1.5. Toxicidad de la quimioterapia basada en platino y etopósido en el CPCP

La quimioterapia basada en platino y etopósido es un esquema potencialmente tóxico, siendo la toxicidad hematológica la más frecuente y severa. Más del 70% de los pacientes presentarán algún grado de toxicidad hematológica, más frecuentemente asociada a carboplatino que a cisplatino, y siendo esta diferencia especialmente marcada a nivel plaquetar. Otras toxicidades, como la digestiva y la neurotoxicidad, son más comunes con cisplatino que con carboplatino (48). En cuanto a las toxicidades de grado 3-4, la más habitual es la neutropenia, que se observa en hasta en el 40% de los casos, seguida de la anemia y la trombocitopenia, que aparecen en torno al 10%, siendo también más frecuente con carboplatino (53). Además, aproximadamente el 1% de los pacientes presentarán toxicidad fatal asociada al tratamiento, principalmente por neutropenia febril (54–56).

Un ensayo clínico aleatorizado con 211 pacientes con CPCP tratados en 1999 con un esquema de quimioterapia basado en ciclofosfamida, doxorubicina y etopósido, demostró que la adición de factor estimulante de crecimiento de colonias granulocíticas (G-CSF), frente a placebo, redujo el riesgo de neutropenia febril de un 77% a un 40%. Además, redujo la duración media de neutropenia grado 4 de 6 días a 1 día y redujo aproximadamente al 50% el número de días de hospitalización y la incidencia de infecciones confirmadas (57). Un metaanálisis de tres ensayos clínicos aleatorizados con 606 pacientes reportó una reducción del riesgo de neutropenia febril de un 68.3% a un 38.7% con la adición de G-CSF (58). Otro metaanálisis de 11 ensayos clínicos

aleatorizados publicados entre 1990 y 1998 con 1141 pacientes y no específico de CPCP reportó una tendencia no significativa en la reducción del riesgo de muerte por neutropenia febril con el uso de G-CSF (59). La falta de evidencia robusta no hace recomendable el uso de G-CSF preventivo de manera generalizada, aunque se puede plantear en población de riesgo o como prevención secundaria.

El inhibidor de CDK4/6 trilaciclib ha mostrado eficacia en la prevención de mielosupresión en CPCP. En un ensayo fase Ib/II en primera línea con platino-etopósido se redujo de un 65% a un 11% el uso de G-CSF y de un 24% a un 5% la necesidad de transfusiones de hematíes (60). Un ensayo fase II en pacientes tratados con platino-etopósido en combinado con atezolizumab disminuyó de un 49.1% a un 1.9% la tasa de neutropenia grado 4 y de un 37.7% a un 1.9% la de trombocitopenia grado 3-4, con una tendencia no significativa a una menor necesidad de G-CSF (61). En base a estos resultados, la ASCO ha recomendado trilaciclib como agente de apoyo mieloide en pacientes con CPCP-EE no tratados previamente y que reciben tratamiento con quimioterapia basada en platino con o sin inmunoterapia con una calidad de evidencia moderada y una solidez de recomendación débil (62)

1.6. Tratamiento sistémico en el CPCP con enfermedad limitada (CPCP-EL)

La enfermedad limitada representa aproximadamente el 35% de todos los diagnósticos de CPCP (19). Aunque se considera un estadio potencialmente curativo, la mediana de SG se encuentra alrededor de 25-30 meses y la SG a 5 años alrededor de un 30% (54,63).

El tratamiento estándar se basa en la combinación de quimioterapia basada en platino y etopósido con radioterapia (64). Como se ha comentado en el apartado 1.4. no se han demostrado diferencias en eficacia entre el uso de carboplatino o cisplatino, aunque los principales ensayos clínicos en enfermedad limitada, como el CONVERT o CALGB30610, incluyeron pacientes exclusivamente tratados con cisplatino (54,63).

Recientemente, la adición de durvalumab como tratamiento de consolidación ha cambiado el estándar de tratamiento. El ensayo clínico ADRIATIC, fase III, aleatorizado,

doble ciego, controlado con placebo, reportó una mejoría de 9.2 a 16.6 meses en SLP y de 33.4 a 55.9 meses en SG, para aquellos pacientes que no progresaban tras recibir quimio–radioterapia concomitante y que recibían durvalumab de consolidación por un máximo de dos años. El beneficio fue independiente del tipo de platino utilizado, de la realización de irradiación craneal profiláctica (PCI) o del tipo de fraccionamiento de radioterapia torácica realizado (normofraccionado vs. hiperfraccionado) (65).

Previamente, el ensayo clínico ETOP/IFCT 4-12 STIMULI, fase II, aleatorizado y abierto, comparó la consolidación con nivolumab más ipilimumab (cuatro ciclos seguidos de nivolumab en monoterapia hasta 12 meses) frente a observación en pacientes que no habían progresado tras quimio-radioterapia concurrente (66) y el ensayo LU-005, también fase II, aleatorizado y abierto, evaluó la adición de atezolizumab a la quimio-radioterapia concurrente seguida de un año de mantenimiento con el mismo fármaco (67), no consiguieron demostrar una mejoría en supervivencia respecto a la rama control.

Datos comunicados recientemente de un ensayo nórdico fase II, aleatorizado, controlado con placebo, con atezolizumab (anti-PD-L1) en pacientes que no habían progresado tras quimio-radioterapia concurrente tampoco consiguió demostrar diferencias en supervivencia (68).

1.7. Radioterapia torácica en el CPCP-EL

Dos metaanálisis publicados en la década de los 90 establecieron la quimio-radioterapia como el tratamiento estándar en CPCP-EL, al demostrar una mejoría de SG de un 5% tras la adición de radioterapia (RT) torácica a la quimioterapia (69,70). Posteriormente, un estudio aleatorizado japonés con 231 pacientes evaluó la adición a la quimioterapia de radioterapia, en régimen de concomitancia o secuencialidad, observando una ganancia del 5.4% en supervivencia a 5 años en los pacientes que hacían tratamiento concurrente (71).

Dos metaanálisis posteriores evaluaron el momento óptimo del inicio de la concurrencia, confirmando un beneficio en supervivencia para los regímenes de RT más tempranos y cuando esta se iniciaba en los 30 días tras el inicio de la quimioterapia (72,73).

En relación al fraccionamiento, Turrisi y colaboradores en 1999, demostraron que en la RT hiperfraccionada, 45 Gy en 30 fracciones de 1,5 Gy dos veces al día (BID),

aumentaba un 10 % la supervivencia frente a la RT normofraccionada, 45 Gy en 25 fracciones diarias, estableciendo a la RT hiperfraccionada como el estándar, aunque a expensas de un aumento en toxicidad esofágica severa (32 vs. 16%) (74). Posteriormente, dos ensayos fase III, CONVERT(54) y CALGB30610 (Alliance) (63) compararon el normofraccionamiento con una dosis de 66Gy en 33 fracciones con el hiperfraccionamiento con una dosis de 45Gy en 30 fracciones BID junto a quimioterapia. No se observaron diferencias en SG y la toxicidad en ambos grupos fue comparable, si bien el ensayo CONVERT se desarrolló como un estudio de superioridad, y por este motivo los investigadores concluyeron que el hiperfraccionamiento debía seguir siendo el estándar de tratamiento (63,75). La ausencia de diferencias objetivas en ambos estudios y la difícil implantación del hiperfraccionamiento en práctica clínica habitual hace que el normofraccionamiento sea el régimen más utilizado. Las directrices de la ASTRO (76) consideran el hiperfraccionamiento como el régimen más óptimo, sin embargo la radioterapia normofraccionada entre 60 y 70 Gy se considera una alternativa aceptable.

Recientemente, dos ensayos clínicos han reportado una mejoría en SG con la escalada de dosis de RT torácica en régimen de hiperfraccionamiento sin incremento en toxicidades grado 3-4. El grupo de Grønberg comparó, en un ensayo clínico fase II, la dosis de 45Gy en 30 fracciones BID con 60Gy en 40 fracciones BID, reportando una mejoría en SG con la dosis de 60Gy (43.5 vs. 22.5 meses). Un ensayo clínico fase III, realizado en población china que incluyó pacientes de hasta 70 años, comparó la dosis de 45Gy en 30 fracciones con 54Gy en 30 fracciones, reportando una mejoría en SG con la dosis de 54Gy (60.7 vs. 39.5 meses) (77).

Cabe destacar, que la RT concurrente va asociada a una tasa no despreciable de toxicidades. Hasta un 16-20% de los pacientes presentarán esofagitis grado 3 o superior y aproximadamente el 2% de los pacientes neumonitis grado 3 o superior (54,63) .

1.8. Irradiación craneal profiláctica (PCI) en el CPCP-EL

Hasta el 50-60% de pacientes con CPCP-EL desarrollarán metástasis cerebrales en algún momento de la enfermedad (78). Un metaanálisis del 1999 reportó una reducción significativa en la incidencia de metástasis cerebrales a 3 años en un 25.3% y una

mejoría en SG a 3 años de un 5.4% en aquellos pacientes con buen control locorregional que realizaron PCI (79). Un metaanálisis más reciente confirmó la mejoría en supervivencia, aunque con una variabilidad significativa entre los diferentes estudios(80). Un ensayo fase III no evidenció beneficio en SG frente a observación con RM-cráneo en pacientes con CPCP-EE (81), lo que mantiene el debate de si la PCI aumentaría la supervivencia en pacientes con un seguimiento radiológico estrecho con RM-Cráneo. Dos ensayos clínicos, PRIMALung y MAVERICK, intentarán resolver esta pregunta.

1.9. Cirugía en estadios precoces (T1-2N0) en el CPCP

En pacientes con estadios muy precoces (cT1-2N0), el papel de la cirugía sigue siendo controvertido (82). La cirugía podría considerarse tras la evaluación por un comité multidisciplinar y una estadificación mediastínica previa y con una indicación posterior de quimioterapia adyuvante basada en platino. A pesar del abordaje multimodal, la supervivencia en esta población es pobre, con alrededor de un 50% de pacientes vivos a los 5 años (83). En la resección R1–2 o afectación incidental N2, se puede contemplar añadir RT a la quimioterapia, y la concurrencia sería de elección (84). En la actualidad no existe evidencia para considerar el tratamiento neoadyuvante en el CPCP.

1.10. Tratamiento sistémico en el CPCP con enfermedad extensa (CPCP-EE)

La enfermedad extensa es la forma más frecuente de presentación del CPCP, representando aproximadamente el 65% de todos los diagnósticos (19). Al igual que en la enfermedad limitada, el pilar del tratamiento es la quimioterapia basada en platino y etopósido, que en este contexto tiene un carácter paliativo con una SLP de aprox. 5 meses (48) y una SG de 8-10 meses (47,48).

En los últimos años, varios ensayos clínicos fase III han demostrado que la adición de fármacos anti-PD(L)1 a la quimioterapia mejora tanto la SLP como la SG, superando el umbral de un año en SG (Tabla 1) (55,56,85–87). Esta evidencia ha convertido a la combinación de quimio-inmunoterapia en el estándar terapéutico en pacientes con CPCP-EE que no presentan contraindicación para ICI.

A su vez, se ha evaluado la incorporación de ICI distintos a anti-PD(L)1, así como la adición de tratamientos antiangiogénicos a la combinación de quimio-inmunoterapia. Mientras que la inclusión de otros ICI no ha mostrado un beneficio claro, la adición de agentes antiangiogénicos ha arrojado resultados prometedores (88–91).

Recientemente, el ensayo fase III IMforte aleatorizó a 483 pacientes sin progresión tras tratamiento de inducción con platino-etopósido y atezolizumab a recibir lurbinectedina más atezolizumab frente a atezolizumab en monoterapia. La combinación con lurbinectedina más atezolizumab logró una mejoría en SLP (5.4 vs. 2.1 meses), SG (13.2 vs. 10.6 meses) y tasa de respuestas (19.4 vs. 10.4 %), con un perfil de toxicidad aceptable, siendo la hematológica la toxicidad más frecuente (92). Estos resultados respaldan a esta combinación como un posible nuevo estándar en el mantenimiento en pacientes con CPCP-EE que no progresan tras la inducción con quimioterapia y atezolizumab.

Tabla 1. Ensayos clínicos fase III de primera línea en CACP-EE: combinación de quimioterapia con platino-etopósido y anti-PD(L)1

Ensayo	n	Brazo experimental	Brazo control	TR (%) Exp. vs. Cont.	SLP (meses) Exp. vs. Cont. (IC 95%)	SG (meses) Exp. vs. Cont. (IC 95%)	SG-3años (%) Exp. vs. contr.
IMpower133 (55,93)	403	PE-Atezolizumab x 4 → Atezolizumab	PE-Placebo x 4 → Placebo	60.2 vs. 64.4	5.2 vs.4.3 HR = 0.77 (0.62 – 0.96)	12.3 vs. 10.3 HR = 0.70 (0.54 – 0.91)	16 (no reportado brazo control)
CASPIAN (56,89)	805	PE-Durvalumab x 4 – 6 → Durvalumab	PE x 4-6	68 vs. 58	5.1 vs. 5.4 HR = 0.78 (0,65 – 0,94)	12.9 vs. 10.5 HR = 0.71 (0.60 – 0.86)	17.6 vs. 5.8
KEYNOTE-604 (86,94)	445	PE-Pembrolizumab x 4 → Pembrolizumab	PE-Placebo x 4 → Placebo	70.6 vs. 61.8	4.8 vs. 4.3 HR = 0.70 (0.57 – 0.85)	10.8 vs. 9.7 HR = 0.76 (0.63 – 0.93)	15.5 vs. 5.9
CAPSTONE-1+ (87,95)	389	PE-Adebrelimab x 4 – 6 → adebrelimab	PE-Placebo x 4 → Placebo	70.4 vs. 65.9	5.8 vs. 5.6 HR = 0.67 (0.54 – 0.83)	15.3 vs. 12.8 HR = 0.73 (0.60 – 0.89)	21.1 vs. 10.5
ASTRUM-005 (85,96)	585	PE-Serplulimab x 4 – 6 → Serplulimab	PE-Placebo x 4 → Placebo	68.9 vs. 58.7	5.8 vs 4.3 HR = 0.47 (0.38 – 0.57)	15.8 vs. 11.1 HR = 0.60 (0.49 – 0.73)	25.3 vs. 10.1

PE: Platino-Etopósido; TR: Tasa de respuesta; SLP: Supervivencia libre de progresión; SG: Supervivencia global; Exp. vs. Cont.: Brazo experimental vs. Brazo placebo;

HR: Hazard Ratio; IC95%: Intervalo de confianza 95%

+Estudio realizado exclusivamente en población China

1.11. Tratamiento sistémico en el CPCP previamente tratado

A pesar de la elevada tasa de respuestas a la quimioterapia de primera línea, más de la mitad de pacientes habrán progresado en menos de seis meses, con independencia de la adición de anti-PD(L)1 (Tabla 1). Solo el 45-50% recibe posteriormente alguna línea de tratamiento (55,89), y los tratamientos posteriores muestran una eficacia limitada por la creciente resistencia asociada a la plasticidad tumoral (97,98).

La eficacia del tratamiento de segunda línea es variable y está condicionado, en parte, al intervalo libre de platino (ILP), definido como el tiempo transcurrido entre la finalización de la quimioterapia de primera línea y la progresión de la enfermedad. Tradicionalmente, se ha considerado enfermedad sensible a platino cuando el ILP es ≥ 90 días, sin embargo las guías recomiendan el retratamiento con platino en aquellos pacientes con ILP ≥ 180 días (64,84). Aquellos pacientes con enfermedad resistente (ILP < 90 días) o refractaria (progresión en curso de la quimioterapia basada en platino) presentarán mala respuesta a los tratamientos posteriores y un pronóstico desfavorable.

Hasta la fecha, topotecan continúa siendo el estándar de segunda línea. Fue el único fármaco que demostró superioridad, frente a placebo, en un ensayo clínico fase III y mostró una eficacia comparable al esquema CAV, con un perfil de toxicidad más favorable (99,100). Un metaanálisis con 1347 pacientes evaluó la eficacia de topotecan según la sensibilidad a platino: en ILP < 90 días, la SG a seis meses y a un año fue del 37% y del 9%, respectivamente, con una tasa de respuesta de solo el 5%. En pacientes con ILP ≥ 90 días, la SG a seis meses y a un año aumentó al 57% y 27%, respectivamente, con una tasa de respuestas del 17%. Las toxicidades hematológicas grado 3-4 fueron frecuentes y un 2% fallecieron a causa de la toxicidad (101).

La lurbinectedina, un alcaloide derivado de la ecteinascidina, demostró ser eficaz y tener un buen perfil de toxicidades en un ensayo clínico fase II, lo que llevó a que en algunos países se considere un estándar alternativo a topotecan por su mejor perfil de seguridad (102). Además, su combinación con otros agentes, en especial anti-PD(L)1, ha mostrado resultados alentadores (103,104), siendo este el racional para el ensayo clínico IMforte, previamente comentado (92).

El fármaco tarlatamab, un anticuerpo biespecífico reclutador de linfocitos T (BiTE por sus siglas en inglés) dirigido frente a DLL3, mostró en ensayos fase I-II, en pacientes con progresión tras dos o más líneas de tratamiento, una tasa de respuesta de hasta el 40% con una mediana de duración de respuesta de 14.9 meses, una SLP de 4.9 meses y una SG de 14.3 meses, junto a un perfil de toxicidad aceptable (29% de eventos grado 3-4 sin toxicidades fatales) (105,106). En el ensayo fase III DeLLphi-304, que aleatorizó a recibir tarlatamab o topotecan en pacientes previamente tratados con quimioterapia basada en platino, con o sin anti-PD(L)1, tarlatamab mejoró la tasa de respuesta (35 vs. 20%), la SLP (4.2 vs. 3.7 meses) y la SG (13.6 vs. 8.3 meses) (107), consolidándose como un probable nuevo estándar en pacientes que progresan a una primera línea en platino, con o sin inmunoterapia.

Actualmente se están desarrollando varios fármacos biespecíficos y triespecíficos reclutadores de linfocitos T dirigidos contra DLL3, que han mostrado resultados preliminares prometedores en estudios fase I/II (108–110). Además, se están evaluando anticuerpos conjugados (ADCs por sus siglas en inglés), dirigidos frente a proteínas de superficie como son B7-H3 (111,112), TROP-2 (113,114), SEZ-6 (115) o DLL3 (116), con actividad tumoral inicial, cuya eficacia y perfil de toxicidad deberán confirmarse en ensayos clínicos aleatorizados.

1.12. Mecanismo de acción de los principales agentes de quimioterapia de primera línea en el CPCP

PLATINO (Carboplatino y Cisplatino)

Los compuestos de platino son agentes citotóxicos que inducen la muerte celular programada mediante la formación de enlaces covalentes que alteran la estructura del ADN e interfieren con su replicación y transcripción (117).

Los derivados de platino, una vez dentro de la célula, sufren un proceso de activación por acuación que les permite formar uniones covalentes con bases de purina, preferentemente la guanina, generando aductos intrahebra o entre hebras del ADN (118,119). Estas alteraciones conformacionales impiden la replicación y transcripción del ADN, lo que desencadena la activación de mecanismos celulares de detección y

señalización del daño en el ADN, principalmente a través de quinasas ATM y ATR y la proteína p53. Paralelamente, las vías de reparación del ADN intentan eliminar las lesiones (120). La reparación por escisión de nucleótidos (NER por sus siglas en inglés) es la principal responsable de eliminar los grandes aductos generados por el platino (121), mientras que la reparación por escisión de bases (BER por sus siglas en inglés) se ocupa de lesiones más pequeñas que pueden surgir como consecuencia del estrés replicativo y la oxidación inducida por el tratamiento (119,121). Cuando la reparación resulta insuficiente, la persistencia del daño activa las vías de apoptosis, conduciendo a la muerte celular programada.

ETOPÓSIDO

El etopósido es un agente citotóxico derivado de la podofilotoxina y forma parte del grupo de los inhibidores de topoisomerasa II. Actúa interfiriendo en el desarrollo y la regulación del ADN durante la replicación y la transcripción (122). La topoisomerasa II es una enzima nuclear que induce las roturas transitorias de doble cadena para aliviar el ADN superhelicoidal, y posteriormente religa las cadenas de ADN para mantener la integridad genómica (123).

El etopósido se une de forma estable al complejo ADN-topoisomerasa II, estabilizando el complejo de rotura e impidiendo la religación de las cadenas de ADN (124,125). Como consecuencia, se produce un acúmulo de roturas de doble cadena que activa la respuesta celular al daño del ADN, principalmente a través de ATM y ATR, induciendo la detección del ciclo celular en G2/M, y si este daño no se repara, induciendo a la apoptosis (122,125). Esta actividad explica la sinergia con los compuestos de platino, al combinar la formación de aductos con la generación de roturas de doble cadena.

1.13. Marcadores predictivos de eficacia y/o toxicidad a la quimioterapia con platino y etopósido en el CPCP

1.13.1. Marcadores clínicos y socioeconómicos

Diversos factores clínicos, analíticos y epidemiológicos se han relacionado con el pronóstico del cáncer de pulmón de célula pequeña. Un buen estado funcional, ECOG 0-1, se asocia con una mayor SG (126,127). Las mujeres, especialmente las más jóvenes,

presentan un pronóstico más favorable que los hombres, en parte por una menor carga tabáquica y comorbilidad (14,127,128). La comorbilidad, evaluada mediante la Escala Simplificada de Comorbilidad (ESC), también impacta en la evolución; una puntuación superior a 9 identifica a pacientes con peor supervivencia tanto en enfermedad limitada como en extensa, y con menor tasa de respuesta en enfermedad extensa (129).

El estado nutricional previo al tratamiento es igualmente relevante. Un índice nutricional pronóstico pretratamiento (PNI) bajo se ha asociado de manera independiente con mayor riesgo de mortalidad en un metaanálisis de nueve estudios que incluyó 4164 pacientes, aunque sin correlación significativa con SLP. En el ámbito analítico, la lactato deshidrogenasa (LDH) es el único factor pronóstico consolidado. Un metaanálisis de 28 estudios y 4785 pacientes reportó una peor SG en pacientes con niveles de LDH elevados. La extensión de la enfermedad también influye en el pronóstico, observándose una peor supervivencia en pacientes con diseminación hepática u ósea (130).

En lo referente a factores epidemiológicos y socioculturales, el tabaquismo, presente en aproximadamente el 98% de los casos, un nivel sociocultural bajo y el hecho de ser soltero, se han asociado con un peor pronóstico, mientras que la población asiática presenta una asociación con una mejor SG en enfermedad extensa (14).

La respuesta al tratamiento de primera línea y la posibilidad de recibir múltiples líneas se consideran factores pronósticos favorables (127). En pacientes de más de 65 años con enfermedad extensa, el número de ciclos de quimioterapia se ha identificado como un predictor independiente de SG (131). Además, en una serie retrospectiva de 235 pacientes reportó que una mayor reducción tumoral durante la primera línea se correlaciona con mejores resultados en términos de supervivencia (132).

1.13.2. Marcadores farmacogenómicos y farmacogenéticos

La farmacogenómica y la farmacogenética son disciplinas que estudian la influencia de la variabilidad genética en la respuesta a los tratamientos farmacológicos. La farmacogenética se centra en el estudio de variantes en genes que afectan a la absorción, distribución, metabolismo, eliminación o interacción con la diana terapéutica de un fármaco. La farmacogenómica, por su parte, incluye el estudio de perfiles de expresión

génica, para identificar patrones que puedan explicar la eficacia o la toxicidad de un tratamiento.

Pese a que se han identificado variantes germinales relevantes, como son *DPYD* y *UGT1A1* asociadas a la toxicidad por fluoropirimidinas e irinotecan, respectivamente, (133,134), y que han dado lugar a protocolos clínicos específicos (135) (136) y a la incorporación de estos biomarcadores en la cartera de servicios del Sistema Nacional de Salud (SNS), hasta la fecha no se han descrito marcadores farmacogenómicos o farmacogenéticos predictivos de eficacia o toxicidad de la quimioterapia basada en platino y etopósido, en especial en cáncer de pulmón de célula pequeña.

A continuación, se resume la evidencia sobre marcadores farmacogenómicos y farmacogenéticos descritos en pacientes con cáncer de pulmón tratados con quimioterapia basada en platino con o sin etopósido, que pueden ser relevantes en la presente tesis:

Excision repair cross-complementation group 1 (ERCC1)

La proteína ERCC1 es una endonucleasa clave del sistema de reparación por escisión de nucleótidos. Actúa mediante la formación de un heterodímero con XPF (Xeroderma Pigmentosum Group F), proteína codificada por el gen *ERCC4* (*excision repair cross-complementation group 4*), que realiza el corte 5' de las lesiones en el ADN durante NER (137,138). Además, está implicada en la reparación de roturas de doble cadena mediante recombinación homóloga (139).

ERCC1 participa en la reparación de lesiones en el ADN inducidas por agentes químicos o irradiación, entre ellos los compuestos de platino o la radioterapia y su expresión proteica en el tumor ha sido estudiada como biomarcador pronóstico y como predictivo de respuesta a la quimioterapia basada en platino (138,140,141). *ERCC1* puede generar 4 isoformas por *splicing* alternativo (isoformas 201-204). La isoforma 202 es la única que se traduce en una proteína completa y activa de ERCC1, ya que las otras isoformas carecen de los dominios que permiten la unión a XPF en el extremo C-terminal o la región de unión al ADN. Estas otras isoformas no participan en la reparación del ADN por NER y por lo tanto no influirían en la resistencia al platino (140–142).

La sobreexpresión de ERCC1 confiere resistencia a los compuestos de platino al mejorar la capacidad de la célula tumoral de reparar los aductos de ADN antes de que se desencadena la apoptosis (138,140,141).

Variantes genéticas en *ERCC1* han sido estudiadas extensamente en CPCNP como posibles biomarcadores predictivos de respuesta a la quimioterapia con platino, aunque los resultados han sido poco consistentes (143,144). Los SNPs más estudiados son rs11615 (Asn118Asn, C>T), polimorfismo sinónimo, que puede alterar el uso de codones, afectando potencialmente la traducción o estabilidad del ARNm, y por ende los niveles funcionales de ERCC1 (145), y rs3212986 (C8092A, situado en la región 3'-UTR), que podría influir en la estabilidad del ARNm y la regulación post-transcripcional (146).

Excision Repair Cross-Complementation Group 2 (ERCC2), también conocido como Xeroderma Pigmentosum group D (XPD)

La proteína ERCC2 (XPD) es una helicasa dependiente de ATP, perteneciente a la superfamilia 2, esencial del sistema NER (147,148). Esta proteína constituye una subunidad esencial del complejo TFIIH (factor de transcripción II H), desempeñando un papel dual en dos procesos celulares críticos, la reparación del ADN por escisión de nucleótidos y la iniciación de la transcripción por la ARN polimerasa II. En la reparación, ERCC2 participa en el desenrollamiento local de la doble hélice en torno a lesiones del ADN inducidas por agentes genotóxicos, como radiación ultravioleta o quimioterapia basada en platinos, permitiendo que endonucleasas específicas eliminen el fragmento dañado y se complete la síntesis de reparación (147). Las variantes que disminuyen la actividad helicasa de ERCC2 reducen la reparación de aductos de ADN en las células tumorales (149), aumentando la sensibilidad al platino (150).

Los polimorfismos más estudiados de *ERCC2* son rs1799793 (Asp312Asn, G>A), un polimorfismo no sinónimo que provoca un cambio de aminoácido en la proteína, y rs50872 (C8092A), menos caracterizado, localizado en una región intrónica y que podría afectar a la regulación transcripcional de ERCC2 (143).

ATP-Binding Cassette sub-family B member 1 (ABCB1), también conocido como Multidrug Resistance Protein 1 (MDR1)

El gen *ABCB1* (*MDR1*) codifica la proteína P-glicoproteína (P-gp), un transportador de membrana que bombea activamente fármacos y otras sustancias fuera de las células, protegiendo a las células normales de toxinas y eliminando fármacos (151). El etopósido es un sustrato de P-gp lo que implica que puede expulsarlo de células sanas y tumorales, afectando su eficacia (152,153).

Los polimorfismos más reportados son rs1045642 (C3435T) y rs1128503 (C1236T/A), ambos polimorfismos sinónimos ubicados en exones codificantes, que pueden afectar a la expresión y estabilidad del ARNm, y rs2032582 (G2677T/A), polimorfismo no sinónimo ubicado en exón codificante que puede modificar la actividad del transportador y alterar la expulsión de fármacos de la célula (143,154).

Puntos de control inmune (Immunecheckpoints)

Aunque la expresión de PD-L1 es un biomarcador tumoral validado para predecir la eficacia de los ICI (155), su papel como predictor a la quimioterapia basada en platino sigue siendo incierto. En un estudio que incluyó 86 pacientes con CPCNP tratados con quimioterapia basada en platino neoadyuvante, un mayor nivel de expresión tumoral de PD-L1 se asoció con un pronóstico clínico desfavorable (153). Hasta la fecha no se ha demostrado que la expresión de PD-L1 sea un predictor fiable de eficacia del tratamiento en CPCP.

Además, estudios exploratorios han investigado la relación entre variantes germinales en genes de punto de control inmunitario y la eficacia de la quimioterapia en cáncer de pulmón. En un estudio de 261 pacientes con CPCP, la variante *CD155* rs1058402 G>A se asoció con peor respuesta y supervivencia, mientras que, la variante *CD226* rs763361 C>T se asoció con mejor respuesta y SG (156). En otro estudio que incluyó 379 pacientes con CPCNP tratados con cisplatino–paclitaxel, la variante en *CD274* (*PD-L1*) rs2297136 T>C se asoció con peor respuesta y SG, y la variante en *CD227* rs4143815 C>G con peor respuesta. Además, el haplotipo rs2297136C-rs4143815G se relacionó con una mayor respuesta y supervivencia (157).

2. HIPOTESIS

El cáncer de pulmón de célula pequeña presenta una elevada tasa de respuesta a la quimioterapia basada en platino y etopósido. En enfermedad limitada, la intención del tratamiento es radical, sin embargo, la mayoría de los pacientes presentará progresión de la enfermedad. En el caso de la enfermedad extensa, esta progresión será de manera temprana. Además, la sensibilidad a esta primera línea de tratamiento puede condicionar la eficacia de líneas terapéuticas posteriores y la supervivencia. Aunque la adición del tratamiento con inhibidores de puntos de control inmunitario ha logrado mejorar la supervivencia de los pacientes con enfermedad extensa, este beneficio es modesto y la quimioterapia basada en platino y etopósido continúa siendo el pilar de tratamiento. Hasta la fecha, en CPCP no se dispone de marcadores establecidos, con la excepción del estado general (ECOG), que permitan predecir la eficacia o la toxicidad de la quimioterapia con platino y etopósido en esta población.

Fundamentándose en estas premisas, la hipótesis de esta tesis es que polimorfismos en genes implicados en la reparación del ADN, en la metabolización del etopósido y en la regulación del sistema inmune a través de puntos de control inmunitario pueden ser potenciales biomarcadores predictivos de eficacia y/o toxicidad a la quimioterapia basada en platino y etopósido, con o sin radioterapia, en el cáncer de pulmón de célula pequeña.

3. OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

Identificar biomarcadores farmacogenéticos y farmacogenómicos predictivos de eficacia y/o toxicidad al tratamiento con quimioterapia basada en platino y etopósido en pacientes con cáncer de pulmón de célula pequeña.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Evaluar la asociación entre polimorfismos en genes de la vía de reparación por escisión de nucleótidos (NER) y en genes implicados en la metabolización del etopósido, y la respuesta al tratamiento, la toxicidad y la supervivencia, en pacientes con cáncer de pulmón de célula pequeña tratados con quimioterapia basada en platino-etopósido, con o sin radioterapia.
2. Analizar la relación entre la expresión proteica de ERCC1 en tejido tumoral y polimorfismos germinales en *ERCC1*, así como evaluar la relación del complejo funcional ERCC1–XPF y la supervivencia de pacientes con cáncer de pulmón de célula pequeña tratados con quimioterapia basada en platino-etopósido.
3. Investigar la posible asociación entre polimorfismos en genes que codifican proteínas de puntos de control inmunitario y la respuesta al tratamiento y la supervivencia de pacientes con enfermedad extensa tratados con quimioterapia basada en platino-etopósido. Analizar la relación entre polimorfismos en *CD274* (*PD-L1*) y la expresión de PD-L1 en tejido tumoral de estos pacientes.

4. COMPENDIO DE PUBLICACIONES

ARTICULO 1: *ERCC1 and ERCC2 Polymorphisms Predict the Efficacy and Toxicity of Platinum-Based Chemotherapy in Small Cell Lung Cancer*



Barba A, López-Vilaró L, Ferre M, Majem M, Martinez-Recio S, Bell O, Arranz MJ, Salazar J, Sullivan I. ***ERCC1 and ERCC2 Polymorphisms Predict the Efficacy and Toxicity of Platinum-Based Chemotherapy in Small Cell Lung Cancer***. Pharmaceutics. 2024;16(9):1121. doi:10.3390/pharmaceutics16091121

Article

ERCC1 and ERCC2 Polymorphisms Predict the Efficacy and Toxicity of Platinum-Based Chemotherapy in Small Cell Lung Cancer

Andrés Barba ^{1,2}, Laura López-Vilaró ³ , Malena Ferre ³, Margarita Majem ¹ , Sergio Martinez-Recio ¹, Olga Bell ⁴, María J. Arranz ⁵ , Juliana Salazar ^{4,*}  and Ivana Sullivan ^{1,*} 

¹ Department of Medical Oncology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, 08041 Barcelona, Spain; abarba@santpau.cat (A.B.); mmajem@santpau.cat (M.M.); smartinezre@santpau.cat (S.M.-R.)

² Department of Medicine, Faculty of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, 08035 Barcelona, Spain

³ Department of Pathology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, 08041 Barcelona, Spain; llopezv@santpau.cat (L.L.-V.); mferref@santpau.cat (M.F.)

⁴ Translational Medical Oncology Laboratory, Institut de Recerca Sant Pau (IR Sant Pau), 08041 Barcelona, Spain; obell@santpau.cat

⁵ Research Laboratory Unit, Fundació Docència i Recerca Mútua Terrassa, 08221 Terrassa, Spain; mjarranz@mutuaterrassa.es

* Correspondence: jsalazar@santpau.cat (J.S.); isullivan@santpau.cat (I.S.)



Citation: Barba, A.; López-Vilaró, L.; Ferre, M.; Majem, M.; Martinez-Recio, S.; Bell, O.; Arranz, M.J.; Salazar, J.; Sullivan, I. ERCC1 and ERCC2 Polymorphisms Predict the Efficacy and Toxicity of Platinum-Based Chemotherapy in Small Cell Lung Cancer. *Pharmaceutics* **2024**, *16*, 1121. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16091121>

Academic Editors: Ravi P. Sahu and Anita Thyagarajan

Received: 10 July 2024

Revised: 14 August 2024

Accepted: 22 August 2024

Published: 25 August 2024



Copyright: © 2024 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Standard first-line chemotherapy in small cell lung cancer (SCLC) is based on the platinum plus etoposide combination. Despite a high objective response rate, responses are not durable and chemotherapy-induced toxicity may compromise treatment. Genetic variants in genes involved in the DNA-repair pathways and in etoposide metabolism could predict treatment efficacy and safety and help personalize platinum-based chemotherapy. Germline polymorphisms in *XRCC1*, *ERCC1*, *ERCC2*, *ABCB1*, *ABCC3*, *UGT1A1* and *GSTP1* genes were investigated in 145 patients with SCLC. The tumor expression of ERCC1 was determined using immunohistochemistry, and the tumor expression of ERCC1-XPF was determined via a proximity ligation assay. Survival analyses showed a statistically significant association between the *ERCC1* rs11615 variant and median progression-free survival (PFS) in patients with limited-stage (LS) SCLC (multivariate: hazard ratio 3.25, [95% CI 1.38–7.70]; $p = 0.007$). Furthermore, we observed differences between the ERCC1-XPF complex and median PFS in LS-SCLC, although statistical significance was not reached (univariate: positive expression 10.8 [95% CI 4.09–17.55] months versus negative expression 13.3 [95% CI 7.32–19.31] months; $p = 0.06$). Safety analyses showed that the *ERCC2* rs1799793 variant was significantly associated with the risk of grade ≥ 3 thrombocytopenia in the total cohort (multivariate: odds ratio 3.15, [95% CI 1.08–9.17]; $p = 0.04$). Our results provide evidence that *ERCC1* and *ERCC2* variants may predict the efficacy and safety of platinum-based chemotherapy in SCLC patients. LS-SCLC patients may benefit most from ERCC1 determination, but prospective studies are needed.

Keywords: ERCC1; ERCC2; platinum-based chemotherapy; small cell lung cancer; pharmacogenomics

1. Introduction

Small cell lung carcinoma (SCLC) is a poorly differentiated neuroendocrine tumor that accounts for approximately 15% of all lung cancers. It is characterized by rapid tumor growth and early development of metastasis [1]. The standard treatment for patients with limited-stage (LS) is the combination of platinum compounds plus etoposide (PE) chemotherapy and radiotherapy [2]. However, the disease progresses in half of the patients within 15 months [2], and no other treatment has yet shown to be superior to chemoradiotherapy. Patients with extensive-stage (ES) are treated with PE-based chemotherapy [3–5], and although 60% of patients initially respond, only 34% maintain this response at 6 months [4]. The combination of chemotherapy and immune checkpoint inhibitors (ICI)

has become a new standard of treatment in ES-SCLC, but the benefit in overall survival (OS) is modest [3,4]. Furthermore, 60% of SCLC patients have severe toxicity to chemotherapy [3,4], and 3 to 19% of patients experience severe toxicity due to concurrent thoracic radiotherapy [2]. Advanced age and poor performance status (PS) have been correlated with higher toxicity and poorer survival [6,7]. Additionally, comorbidities and high pre-treatment lactate dehydrogenase (LDH) levels have been correlated with an increased risk of mortality [8–10]. However, these factors do not accurately predict the clinical outcome in SCLC patients, and additional validated predictors of treatment efficacy and toxicity are needed.

Platinum compounds such as cisplatin and carboplatin are DNA alkylating agents. Their antineoplastic effects are decreased by the activation of cellular DNA repair mechanisms, mainly nucleotide excision repair (NER) and base excision repair (BER) pathways [11,12]. Ionizing radiation effects have also been shown to be affected by these DNA-repair pathways [13,14]. During DNA repair processes, excision repair cross-complementation group 1 (ERCC1) and xeroderma pigmentosum complementation group F (XPF) proteins form a heterodimer with endonuclease activity, which catalyzes the incision at the 5'-side of the damaged DNA strand [15]. In vitro studies have found that cell lines that are defective in terms of the ERCC1-XPF complex are more sensitive to cisplatin [16,17]. Low ERCC1 expression in tumor tissue has been correlated with better survival in non-small-cell lung cancer (NSCLC) [18–20] and in SCLC patients treated with platinum-based chemotherapy [21,22]. Furthermore, many studies have examined the influence of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in the *ERCC1* gene on clinical outcomes in platinum-containing regimens in NSCLC [23,24], but to a lesser extent in SCLC [25,26]. The most studied SNPs are *ERCC1* rs11615 located at codon 118 at exon 4, and *ERCC1* rs3212986 located in the 3'-untranslated region.

Etoposide is mainly metabolized through cytochrome P450 (CYP) 3A4 and 3A5, glutathione S-transferases (GSTs) and uridine 5'-diphosphate glucuronosyltransferase (UGT1A1). Genetic variants in the genes encoding these enzymes may contribute to the treatment toxicity in SCLC [27,28].

ERCC1 expression and variants in genes involved in DNA repair pathways and in etoposide pharmacokinetics may be predictors of efficacy and toxicity to PE-based treatment [18,22,24,27], but data concerning SCLC are insufficient and inconsistent [29–31]. Moreover, to the best of our knowledge, research exploring the role of ERCC1-XPF complex as a biomarker in SCLC is lacking. Our aim was to identify predictive biomarkers of clinical outcome in a cohort of SCLC patients treated with platinum plus etoposide chemotherapy. We analyzed polymorphisms in genes related to PE chemotherapy and radiotherapy in germline DNA, and evaluated the expression of ERCC1 and ERCC1-XPF proteins in tumor tissue.

2. Materials and Methods

2.1. Study Sample

We conducted a retrospective study in 145 patients with SCLC treated with PE-based chemotherapy between September 2007 and May 2021 at Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona, Spain). Blood samples were collected from all participants, and formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tumor tissue samples were available from 106 (73%) of the 145. Table 1 summarizes the characteristics of the patients. This study was approved by the ethics committee of the Institut de Recerca Sant Pau (IIBSP-CCP-2022-56) and was performed in accordance with the Declaration of Helsinki. All patients gave informed consent for inclusion in this study.

Table 1. Patients' baseline clinical characteristics and treatment details.

Characteristic		Total Cohort (n = 145) n (%)	Limited-Stage Disease (n = 45) n (%)	Extensive-Stage Disease (n = 100) n (%)
Baseline characteristics				
Sex				
	Male	104 (71.7)	31 (68.9)	73 (73)
	Female	41 (28.3)	14 (31.1)	27 (27)
Age, median (range) years		67.4 (38–89)	67 (54–89)	66 (38–86)
ECOG				
	0	9 (6.2)	4 (8.9)	5 (5)
	1	79 (54.5)	31 (68.9)	48 (48)
	2	37 (25.5)	6 (13.3)	31 (31)
	3–4	15 (10.4)	1 (2.2)	14 (14)
	Missing	5 (3.4)	3 (6.7)	2 (2)
Smoking				
	Current	89 (61.4)	22 (48.9)	67 (67)
	Former	55 (37.9)	23 (51.1)	32 (32)
	Missing	1 (0.7)	0	1 (1)
Metastases				
	Brain	20 (14.2)		20 (20)
	Liver	43 (29.7)		43 (43)
Treatment details				
Chemotherapy regimen				
	Cisplatin	51 (35.2)	22 (48.9)	29 (29)
	Carboplatin	94 (64.8)	23 (51.1)	71 (71)
Median cycles (range)		4 (1–6)	4 (1–5)	6 (1–6)
Immune checkpoint inhibitors		9 (6.2%)	0	9 (9.0%)
Radiotherapy				
	Thoracic radiotherapy	40 (27.6)	40 (88.9)	
	Concomitant	22 (15.2)	22 (48.9)	
	Sequential	18 (12.4)	18 (40)	

Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG).

2.2. Clinical Assessment

Progression-free survival (PFS) was defined as the time from initiation of PE chemotherapy treatment to disease progression according to Response Evaluation Criteria in Solid Tumors version 1.1 (RECIST 1.1) or death from any cause, whichever occurred first. OS was defined as the time from initiation of PE chemotherapy treatment to death from any cause. The objective response rate (ORR) was defined as the percentage of patients who achieved a partial or complete response to PE chemotherapy according to RECIST criteria 1.1 [32]. The PE-based chemotherapy-related toxicities analyzed were anemia, neutropenia and thrombocytopenia. Radiotherapy-related toxicities analyzed were esophagitis and pneumonitis. These toxicities were graded according to the Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 4.0. [33]. Hematological toxicities were dichotomized into grades 1–2 versus grades 3–4. Esophagitis and pneumonitis toxicities were dichotomized into their presence or absence.

2.3. SNPs Selection and Genotyping

We selected SNPs in genes involved in the DNA repair pathways (NER and BER) and etoposide pathway that have been previously associated with clinical outcomes in lung cancer patients treated with PE-based chemotherapy and/or radiotherapy [13,23,26–28,34–37] (see Table 2).

Table 2. Description of genetic markers previously associated with clinical outcomes in lung cancer patients treated with platinum compounds plus etoposide.

Gene Symbol	Reference SNP	Variant Description	HGVS (Nucleotide)	MAF Cohort	References for Rationale
<i>XRCC1</i>	rs25487	Missense	NM_006297.3:c.1196A>G	0.37	[34]
<i>ERCC1</i>	rs3212986	3'-UTR	NM_001369414.1:c.*197=	0.23	[23,26,37]
	rs11615	Synonymous	NM_001369414.1:c.354T>C	0.37	[23,26,37]
<i>ERCC2</i>	rs13181	Missense	NM_000400.4:c.2251A>C	0.34	[37]
	rs50872	Intron	NM_000400.4:c.1238–1492T>C	0.26	[36]
	rs1799793	Missense	NM_000400.4:c.934G>A	0.33	[36]
<i>ABCC3</i>	rs4793665	2KB upstream	NC_000017.11:g.50634726C>T	0.46	[36]
	rs1045642	Synonymous	NM_001348944.2:c.3435T>C	0.47	[35,36]
<i>ABCB1</i>	rs2032582	Missense	NM_001348944.2:c.2677T>G; c.2677T>A	0.41/0.05	[35,36]
	rs1128503	Synonymous	NM_001348944.2:c.1236T>C	0.43	[35,36]
<i>UGT1A1</i>	rs3064744	Upstream	NG_002601.2:g.175491_175505	0.36	[27,28]
<i>GSTP1</i>	rs1695	Missense	NM_000852.4:c.313A>G	0.34	[37]

SNP: single-nucleotide polymorphisms; HGVS: human genome variation society; MAF: minor allele frequency.

Genomic DNA from peripheral blood samples was obtained by automatic extraction (Autopure, Qiagen, Hilden, Germany). DNA concentration and quality were assessed using the NanoDrop 2000 spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA). Genotyping was carried out by real-time PCR using TaqMan® SNP genotyping assays on a 7900 HT Real Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA). All methods were performed following the manufacturers' recommendations. The *UGT1A1* rs3064744 (*UGT1A1**28) variant was assessed as previously reported by Marcuello et al. [38]. The genotyping success rate was higher than 99% for samples and SNPs. The allele frequencies of the SNPs were consistent with those reported in European populations [39]. All SNPs were in the Hardy–Weinberg equilibrium.

2.4. Immunohistochemical Studies

ERCC1 protein expression was determined using immunohistochemistry (IHC) in FFPE tissues. Immunohistochemical stain was performed fully automated with Dako OMNIS Technology (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). We cut 4 µm thick FFPE tissue sections. Deparaffinized and rehydrated sections were heated for 30 min at 97 °C to perform antigen retrieval. These tissue sections were then stained with the ready-to-use anti-human ERCC1 mouse monoclonal antibody (clone 4F9, Dako Ltd., Cheshire, UK) followed by incubation with a secondary antibody and horseradish peroxidase coupled to a dextran polymer backbone. The slides were then revealed with 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride chromogen, counterstained with hematoxylin and coverslipped. The positive external control was tonsil. Internal positive controls were respiratory epithelium and/or lymphocytes present in a variable proportion in the sample cases. Two investigators (LL and MF) independently examined the nuclear ERCC1 staining and reviewed the discordant cases for mutual consensus. The ERCC1 expression pattern was classified as positive when nuclear staining was present, independently of intensity or proportion, and negative when nuclear staining was absent.

2.5. Proximity Ligation Assay (PLA)

We included samples with ERCC1-positive expression determined using IHC in the evaluation of nuclear colocalization of ERCC1 and XPF (n = 72). Samples with ERCC1-negative expression were considered negative for the ERCC1-XPF complex. We incubated

4 µm thick sections of FFPE tissues at 37 °C for 30 min and at 60 °C for 60 min with the primary antibodies anti-human ERCC1 mouse monoclonal antibody ready-to-use (clone 4F9, Dako Ltd., Cheshire, UK) and anti-XPF diluted at 1:200 (Polyclonal, Novus Biologicals, Centennial, CO, USA). The slices were then incubated with the anti-rabbit MINUS and anti-mouse PLUS Duolink® PLA Probes (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA). The resulting oligonucleotides were hybridized, ligated, amplified and detected using the Duolink® Detection Reagents for Brightfield (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) according to the manufacturer's instructions. Next, chromogenic PLA signals were visualized using optical microscope at 400× magnification. The presence of dark red colocalization signals (dots) in cell nuclei was considered positive for the ERCC1-XPF complex. Prior to the analysis, two investigators (LL and MF) observed the different expression patterns in 20 random samples to reach a consensus on the sample analysis. Four expression pattern groups were defined based on the number of signals within the cell nucleus (0, 1, 2, ≥3). The two investigators independently examined each full tissue section and selected at least three different representative areas to count the PLA signals. At least 50 tumor cells per area were analyzed. PLA signals were counted by establishing the percentage of nuclei in each of the formerly defined groups. Discordant cases were reviewed for mutual consensus. A semi-quantitative histochemical score (H-score) was calculated by multiplying the number of nuclear signals and the percentage of cells with nuclear signals. The H-score was considered positive for values ≥ 1 due to the low expression of the ERCC1-XPF complex (85% of tumors with H-score ≤ 25). Representative images were taken using scanned images from an Olympus Slideview VS200 and processed using the Olympus VS200 ASW 3.3 software (Olympus, Tokyo, Japan).

2.6. Statistics

Survival biomarkers were investigated in patients who received at least two cycles of PE chemotherapy and did not receive treatment with ICI (n = 121). The progression date was not available for four patients, and they were excluded from the PFS analyses (n = 117). ORR to chemotherapy biomarkers were studied in patients who received PE chemotherapy, excluding those who underwent ICI and concomitant chemo-radiotherapy (n = 99). PE-based chemotherapy-related toxicity analyses were conducted in all patients (n = 145). Radiotherapy-related toxicity analyses were conducted in patients who underwent thoracic radiotherapy (n = 40). The sample size had an 80% statistical power with a two-sided 95% CI to detect genetic effect sizes of moderate magnitude ($OR \leq 3$), considering 90% mortality (Epi Info 7TM, <https://www.cdc.gov/epiinfo>; accessed on 15 May 2022). Kaplan-Meier estimates, log-rank tests and Cox regressions (with disease stage and eastern cooperative oncology group (ECOG) PS as covariates when appropriate) were used to study the influence of SNPs and proteins on survival analyses. Statistical differences between categorical variables were calculated using Chi-square or Fisher's exact test based on sample size. Logistic regression analyses were performed considering toxicity as the dependent variable and polymorphisms and the appropriate clinical variables (disease stage, ECOG PS and platinum dose reduction) as predictors. Co-dominant, dominant and recessive inheritance models of genetic variants were used whenever appropriate. Statistical significance was set at less than 0.05. Correction for multiple comparisons was performed using the Bonferroni method ($p < 0.0005$). All statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics (version 26.0).

3. Results

3.1. Clinical Results

The median follow-up was 10.9 (interquartile range 6.5–22.3) months. In total, 107 patients (88.4%) showed disease progression, and 113 (93.4%) died. The median OS was 12.4 [95% CI 9.1–15.7] months, and the median PFS was 7.0 [95% CI 6.2–7.7] months. OS differed significantly according to the SCLC stage and ECOG PS. Patients with LS-SCLC had a median OS of 25.8 [95% CI 12.43–39.11] months compared to 9.7 [95% CI

7.83–11.52] months in patients with ES-SCLC ($p < 0.001$). Patients with ECOG PS 0–1 had a median OS of 15.5 [95% CI 12.45–18.63] months compared to 8.2 [95% CI 7.39–8.94] months in patients with ECOG PS ≥ 2 ($p < 0.001$). ES-SCLC patients with an ECOG PS of 0–1 (11.5 [95% CI 6.93–16.15] months) survived longer than patients with ECOG PS ≥ 2 (8.2 [95% CI 7.64–8.69] months) ($p = 0.001$). There were also significant differences in PFS according to the SCLC stage: 12.5 [95% CI 8.29–16.62] months in LS-SCLC compared to 6.1 [95% CI 5.33–6.80] months in ES-SCLC ($p < 0.001$).

3.2. Survival and Objective Response Rate Analyses

3.2.1. Analyses of Genetic Variants

Univariate analyses showed a statistically significant association between the *ERCC1* rs11615 variant and PFS ($p = 0.02$ in a dominant model) (Figure 1A). In the LS-SCLC subgroup, three SNPs showed statistically significant associations with PFS: *ERCC1* rs11615 ($p = 0.003$ in a dominant model) (Figure 1B), *ERCC2* rs50872 ($p = 0.01$ in a recessive model) and *UGT1A1* rs3064744 ($p = 0.02$ in a dominant model). In ES-SCLC patients, the *ERCC1* rs3212986 variant showed a statistically significant association with PFS ($p = 0.049$). Table 3 summarizes the statistically significant results. The full results are shown in Supplementary Table S1. Multivariate analyses showed the association between PFS and the *ERCC1* rs11615 variant in LS-SCLC patients (hazard ratio [HR] 3.25, 95% CI 1.38–7.70; $p = 0.007$). However, this association was not statistically significant after the Bonferroni test was applied.

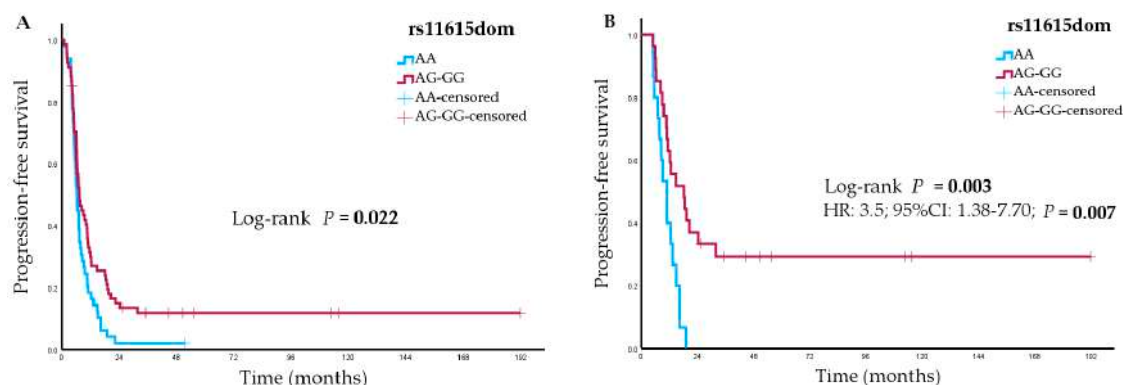


Figure 1. (A) Progression-free survival according to *ERCC1* rs11615 variant in the total cohort of small cell lung cancer (SCLC) patients. (B) Progression-free survival according to *ERCC1* rs11615 variant in the subgroup of patients with limited-stage disease.

Table 3. Significant univariate associations between genetic variants and survival in the total cohort, limited-stage SCLC and extensive-stage SCLC subgroups.

Progression-Free Survival					Overall Survival			
SNP	n	mPFS (95%CI), Months	HR (95% CI)	p-Value	n	mOS (95%CI), Months	HR (95% CI)	p-Value
Total Cohort								
ERCC1 rs11615								
AA	49	6.6 (5.8–7.4)	Reference (1)	0.06	50	11.3 (7.9–14.7)	Reference (1)	0.26
AG	52	7.0 (4.0–10.0)	0.66 (0.44–1.0)		53	11.8 (6.8–16.8)	0.72 (0.48–1.09)	
GG	16	7.7 (5.8–9.6)	0.57 (0.31–1.03)		18	12.7 (8.9–16.4)	0.75 (0.43–1.31)	
AG-GG ^a	68	7.4 (5.6–9.1)	0.64 (0.43–0.94)		71	12.7 (8.6–16.7)	0.73 (0.50–1.07)	
ABCC3 rs4793665								
TT	35	6.4 (5.4–7.4)	Reference (1)	0.18	35	10.1 (7.5–12.7)	Reference (1)	0.046
TC	59	7.7 (5.7–9.8)	0.67 (0.43–1.03)		62	14.6 (10.4–18.7)	0.59 (0.38–0.90)	
CC	23	7.3 (6.1–8.6)	0.80 (0.47–1.34)		24	12.7 (7.3–18.0)	0.77 (0.46–1.31)	

Table 3. Cont.

Progression-Free Survival					Overall Survival			
SNP	n	mPFS (95%CI), Months	HR (95% CI)	p-Value	n	mOS (95%CI), Months	HR (95% CI)	p-Value
Limited-stage disease								
ERCC1 rs11615								
AA	15	10.8 (8.0–13.6)	Reference (1)	0.009	15	20.7 (14.3–27.1)	Reference (1)	0.04
AG	17	18.2 (10.2–26.2)	0.3 (0.13–0.68)		18	33.8 (26.8–40.7)	0.38 (0.17–0.83)	
GG	10	9.6 (0.0–28.5)	0.43 (0.17–1.1)		10	14.8 (0.0–45.4)	0.73 (0.32–1.7)	
AG-GG ^b	27	18.2 (8.1–28.3)	0.34 (0.16–0.71)	0.003	28	33.8 (22.2–45.4)	0.48 (0.24–0.96)	0.03
ERCC2 rs50872								
GG	23	13.3 (9.3–17.4)	Reference (1)	0.03	24	31.8 (19.4–44.3)	Reference (1)	0.16
GA	14	14.9 (5.5–24.3)	0.66 (0.3–1.45)		14	16.1 (0.0–44.6)	1.00 (0.47–2.13)	
AA	5	7.8 (6.4–9.3)	2.9 (1.03–8.17)		5	15.3 (6.7–23.9)	2.55 (0.92–7.09)	
GG-GA	37	14.8 (10.6–18.9)	0.30 (0.11–0.82)	0.01	38	28.7 (16.7–40.7)	0.39 (0.15–1.06)	0.06
ABCC3 rs4793665								
TT	9	11.2 (9.6–12.8)	Reference (1)	0.24	9	23.0 (0.0–55.8)	Reference (1)	0.04
TC	25	14.8 (10.8–18.7)	0.57 (0.26–1.29)		25	35.2 (32.8–37.5)	0.40 (0.17–0.92)	
CC	8	9.6 (4.5–14.7)	1.05 (0.39–2.84)		9	19.0 (7.0–30.9)	0.96 (0.38–2.51)	
UGT1A1*28 rs3064744								
*1/*1	17	19.1 (15.1–23.1)	Reference (1)	0.05	17	34.8 (29.1–40.6)	Reference (1)	0.23
*1/*28	15	10.8 (6.6–15.1)	2.57 (1.17–5.64)		16	15.3 (7.2–23.3)	1.90 (0.89–4.07)	
*28/*28	10	9.1 (5.7–12.5)	1.84 (0.75–4.54)		10	16.1 (0.0–45.4)	1.17 (0.48–2.86)	
*1/*28–*28/*28 ^a	25	10.8 (8.0–13.6)	2.24 (1.1–4.57)	0.02	26	16.1 (8.8–23.4)	1.559 (0.78–3.10)	0.2
Extensive-stage disease								
ERCC1 rs3212986								
GG	46	6.0 (4.8–7.2)	Reference (1)	0.049	49	10.6 (8.6–12.5)	Reference (1)	0.1
GA	27	5.4 (3.8–6.9)	1.81 (1.08–3.00)		27	7.5 (5.8–9.2)	1.69 (1.04–2.73)	
AA	2	7.7 (NA-NA)	0.67 (0.16–2.75)		2	12.4 (NA-NA)	1.06 (0.26–4.42)	

^a Dominant model; ^b Recessive model. Statistically significant *p*-values are marked in bold.

Univariate analyses for OS showed a statistically significant association with the *ABCC3* rs4793665 variant ($p = 0.047$). Stratification by disease stage showed the *ABCC3* rs4793665 ($p = 0.04$) and the *ERCC1* rs11615 ($p = 0.03$ in a dominant model) variants were significantly associated with OS in LS-SCLC (Table 3). Multivariate analyses showed no statistically significant associations.

Analyses of ORR showed no significant correlations with the genetic variants investigated in any of the groups considered (total cohort, LS-SCLC and ES-SCLC subgroups) (Supplementary Table S2).

3.2.2. Analyses of ERCC1 and ERCC1-XPF Complex Expression

In total, 11 of 106 FFPE tissues samples were not evaluable for ERCC1 protein expression due to insufficient representative tumor tissue. These samples were excluded from the analyses. No differences were observed in the 95 remaining patients regarding clinicopathological parameters in comparison with the 145 patients included in this study. A total of 72 samples were positive for ERCC1 expression, and 23 were negative (Figure 2A–C). Colocalization of ERCC1 and XPF proteins in the cell nuclei was positive in 65 samples (68.4%) (Figure 2D–F). ERCC1 expression in tissue samples did not correlate with the *ERCC1* rs11615 and rs3212986 polymorphisms.

Differences were observed between PFS and the expression of the ERCC1-XPF complex in the total cohort ($n = 79$), although these were not statistically significant. Patients with positive expression of the ERCC1-XPF complex achieved a shorter median PFS than patients with negative expression (6.5 [95% CI 5.68–7.30] months versus 10.2 [95% CI 4.19–16.20] months, respectively; $p = 0.05$). In the analyses according to disease stage, marginal differences were also observed between PFS and expression of the ERCC1-XPF complex in LS-SCLC patients ($n = 26$) (10.8 [95% CI 4.09–17.55] months versus 13.3 [95% CI 7.32–19.31] months; $p = 0.06$). No significant associations were observed between OS and ERCC1 or ERCC1-XPF complex expression.

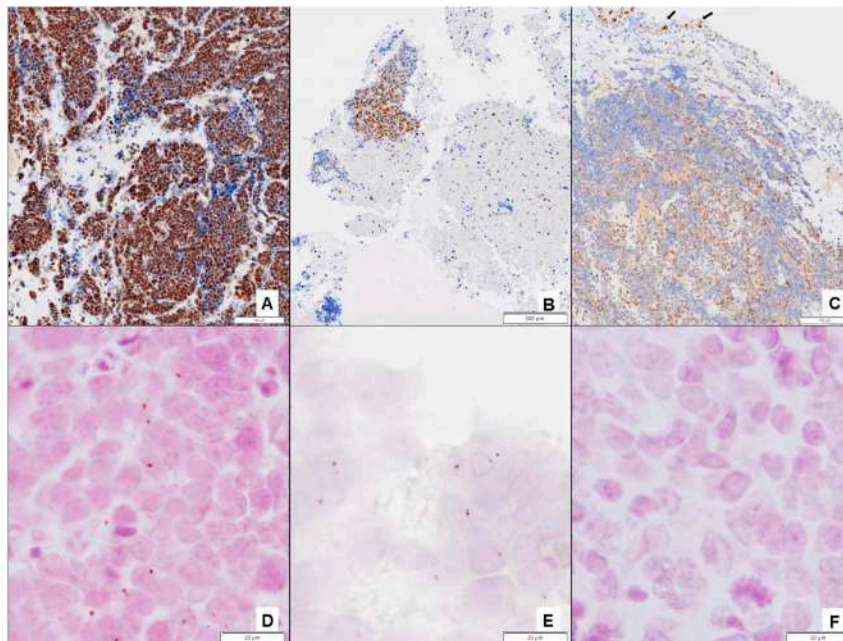


Figure 2. (A) High intensity and diffuse ERCC1 nuclear protein expression (clone 4F9, Dako Ltd., Cheshire, UK) by immunohistochemistry (IHC) in a small cell lung cancer (SCLC) biopsy (100 $\times$). (B) Moderate intensity and diffuse ERCC1 nuclear protein expression (clone 4F9, Dako Ltd., Cheshire, UK) by IHC in a SCLC cell block (40 $\times$). (C) Low intensity and patched ERCC1 nuclear protein expression (clone 4F9, Dako Ltd., Cheshire, UK) by IHC in a SCLC biopsy. ERCC1 nuclear positivity in bronchial epithelium as internal positive control is marked with a black arrow (100 $\times$). (D,E) Two positive cases with different levels of expression of the ERCC1-XPF complex. The presence of one or two dark red signals locates the ERCC1-XPF complex (ERCC1: clone 4F9, Dako Ltd., Cheshire, UK and XPF: Polyclonal, Novus Biologicals, Colorado, USA) in the SCLC nucleus via proximity ligation assay (PLA) (1000 $\times$). (F) A negative case for the ERCC1-XPF complex using PLA (1000 $\times$).

3.3. Safety Analyses

Analyses of Genetic Variants

Univariate analyses for toxicity showed statistically significant associations between *ERCC2* rs50872 ($p = 0.03$ in a recessive model) and *XRCC1* rs25487 ($p = 0.04$ in a recessive model) and anemia. Moreover, *ERCC2* rs1799793 ($p = 0.03$ in a dominant model) and *UGT1A1* rs3064744 ($p = 0.03$ in a recessive model) were significantly associated with thrombocytopenia. Table 4 summarizes the statistically significant results. The full results are shown in Supplementary Table S3. In the multivariate analyses, the association between *ERCC2* rs1799793 and thrombocytopenia maintained statistical significance (odds ratio [OR] 3.15, 95% CI 1.08–9.17; $p = 0.04$). However, this association was not statistically significant after the Bonferroni test was applied.

Regarding radiotherapy-related toxicities in LS-SCLC, only five patients had pneumonitis, and the toxicity was not analyzed. No statistically significant associations were found for esophagitis (Supplementary Table S4).

Table 4. Significant univariate associations between genetic variants and PE-based chemotherapy-related toxicity in the total cohort.

SNP	Affected, n/ Total, n	(%)	p-Value
Anemia			
<i>ERCC2</i> rs50872			
GG	11/74	14.9	0.04
GA	9/58	15.5	
AA	4/8	50	
GG-GA ^b	20/132	15.2	0.03 *
<i>XRCC1</i> rs25487			
CC	9/52	17.3	0.12
CT	15/71	21.1	
TT	0/17	0	
CC-CT ^b	24/123	19.5	0.04 *
Thrombocytopenia			
<i>ERCC2</i> rs1799793			
CC	6/61	9.8	0.04
CT	14/65	21.5	
TT	5/14	35.7	
CT-TT ^a	19/79	24.1	0.03
<i>UGT1A1</i> rs3064744			
*1/*1	12/64	18.8	0.05
*1/*28	5/50	10.0	
*28/*28	8/24	33.3	
*1/*1-*/1/*28 ^b	17/114	14.9	0.03

^a Dominant model; ^b Recessive model; * Fisher test. Statistically significant p-values are marked in bold.

4. Discussion

Chemoradiotherapy remains the treatment of choice for LS-SCLC, and the combination of immunotherapy and PE-based chemotherapy in ES-SCLC has promoted only a modest improvement in OS. Additionally, treatment-induced toxicity is high, often worsening outcomes and decreasing quality of life. In this pharmacogenomic study, we investigated predictive biomarkers of response and toxicity in SCLC treatment. We found that *ERCC1* was significantly associated with PFS and *ERCC2* with thrombocytopenia.

ERCC1 and *ERCC2* are rate-limiting enzymes in the NER pathway. Both these enzymes can modulate the therapeutic effects of platinum-based chemotherapy [40]. The predictive value of common genetic variants in their coding genes for efficacy and toxicity has been widely evaluated in lung cancer [23], but research conducted in SCLC is limited despite platinum-based regimens being the standard first-line treatment. Yu et al. [25] identified an intron variant, *ERCC1* rs2298881, associated with response and survival in Asian SCLC patients treated with carboplatin plus etoposide. Nicos et al. [26] found that patients harboring the AA genotype for *ERCC1* rs11615 had a higher OS than heterozygous Caucasian SCLC patients. Notably, based on ORR and survival, many studies in NSCLC patients have shown significant associations between the *ERCC1* rs11615 variant and the efficacy of chemotherapy [37,41], but others have failed to find a correlation [23].

In the present study we found that LS-SCLC patients carrying the rs11615 G-allele had a longer PFS than those with the wild-type genotype. This finding is consistent with the hypothesis that alterations in the enzymes involved in the DNA repair pathways may lead to better clinical outcomes in patients treated with platinum compounds. Nevertheless, the underlying effect of the variant is poorly understood. The *ERCC1* rs11615 (p.Asn118Asn) polymorphism is a synonymous variant that has been associated with a reduced codon usage and a consequent reduction in *ERCC1* mRNA expression [42]. We did not, however, find any correlation between the variant and the expression of the *ERCC1* protein or *ERCC1*-XPF complex, although similar results have already been reported in NSCLC [43].

These findings are in line with previous observations that ERCC1 mRNA and protein levels were not correlated [44,45], thus suggesting the involvement of other factors in the regulation of ERCC1 expression such as post-transcriptional or post-translational modifications. Regardless, *ERCC1* rs11615 may be a feasible biomarker of survival in LS-SCLC.

We also observed that LS-SCLC patients with negative tumoral expression of the ERCC1-XPF complex presented a longer PFS, although the association was not statistically significant probably due to the limited availability of FFPE tissues. Olausson et al. [18] reported that negative ERCC1 expression, determined by IHC using the 8F1 antibody, was associated with better survival in operated NSCLC patients treated with adjuvant platinum-based chemotherapy. However, subsequent studies failed to confirm this finding [46,47], possibly due to a lack of specificity of the antibody [48]. Moreover, four ERCC1 isoforms, namely 201, 202, 203, and 204, derived from alternative splicing have been described, but only the ERCC1-202 isoform is involved in the repair of platinum-DNA adducts [46]. To deal with this technical challenge, we determined the colocalization in the cell nuclei of ERCC1 and XPF proteins using the PLA technique and the 4F9 antibody. This may be a more reliable method to assess the expression of the endonuclease ERCC1-XPF and overcome the lack of a specific antibody against the ERCC1-202 isoform.

The associations we found between ERCC1, at germline DNA level and at protein expression level, and survival were in LS-SCLC, but not in ES-SCLC. This finding indicates that ERCC1 may be a predictive biomarker of PFS in patients treated with platinum-based chemotherapy plus radiotherapy, supporting findings by other authors [21,49]. ERCC1 may help to identify LS-SCLC patients who could achieve long-term clinical remissions and consequently be potentially curable with standard treatment. ERCC1 may also help to identify patients at high risk of failure of platinum-based treatment. These patients could be selected for inclusion in prospective clinical trials evaluating treatment improvements such as radiotherapy dose escalation [50], or a combination of immunotherapy and chemotherapy. Additionally, they would benefit from maintenance treatments with tarlatamab, lurbinectidin or sacituzumab govitecan that have already demonstrated efficacy in ES-SCLC [3,4,51–54]. These considerations may be relevant as LS-SCLC patients have limited treatment options, and adding drugs after the completion of platinum-based chemotherapy has not shown to improve outcomes [55].

Another result of interest was the association between the *ERCC2* rs1799793 T-allele and a higher risk of developing grade 3–4 platinum-induced thrombocytopenia in the total cohort. However, this variant was not associated with a dose reduction in chemotherapy or with PFS. As expected, we observed that thrombocytopenia was more frequent in ES-SCLC patients whose regimen of choice was carboplatin–etoposide. Most of these patients required a reduction in the chemotherapy dose and presented poor survival. ERCC2 protein has ATP-dependent 5′–3′ DNA helicase activity and is a subunit of the general transcription and DNA repair factor IIIH (TFIIH) core complex. The *ERCC2* rs1799793 variant could identify patients who are at risk of developing thrombocytopenia and would be candidates for preventive treatment with thrombopoietin receptor agonists. To date, this variant has not been previously analyzed as a biomarker of thrombocytopenia in SCLC, but results of the studies conducted in NSCLC were negative [56,57]. The *ERCC2* rs1799793 (p.Asp312Asn) variant results in a change in an amino acid located in the Arch domain (residues 248–438) of the protein. Mutations in this region have been shown to affect DNA repair processes and protein–protein interactions established during transcription [58,59]. Furthermore, Seker et al. [60] observed an increased apoptotic response of lymphoblastoid cell lines homozygous for the Asn312 codon (T-allele) exposed to UV or ionized radiation, supporting *ERCC2* rs1799793 as a putative functional variant.

Our candidate gene-based pharmacogenetic study has several limitations. First, the sample size was relatively small and additionally divided into limited- and extensive-stage SCLC. In addition, the percentage of optimal FFPE tissue available for this study was low because these tissues were prioritized for histological diagnosis and possible clinical trials. Second, most of the informative genetic variants involved in the DNA repair pathways

and etoposide metabolism were analyzed in this study, but variants in other relevant genes were not analyzed. The evaluation of additional DNA repair genes such as *ERCC4* or genes encoding for kinases and cyclins involved in the cell cycle, among others, would have allowed us to better describe the interindividual variability in the response to platinum-based chemotherapy and radiotherapy in these patients. Moreover, functional analyses of *ERCC1* rs11615 and *ERCC2* rs1799793 variants remain necessary to better characterize their effect on DNA repair pathways. Lastly, *ERCC1* rs11615 and *ERCC2* rs1799793 associations with survival and toxicity, respectively, did not reach statistical significance according to the Bonferroni correction criteria. Bonferroni correction, however, is a too conservative procedure when correlating genetic markers. To overcome this limitation, we performed complementary *ERCC1* protein expression analyses that showed results in line with those observed for the *ERCC1* rs11615 genetic variant. However, the cut-off score for *ERCC1*-XPF positivity in the PLA technique has yet to be validated.

5. Conclusions

Our study adds further evidence to the predictive value of germline variants in genes of the NER pathway in relation to survival and toxicity following platinum-based chemotherapy. *ERCC1* is a promising biomarker to personalize platinum-based chemotherapy in LS-SCLC. However, confirmatory findings from larger prospective samples and additional functional analyses of the genomic variants are needed.

Supplementary Materials: The following supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/pharmaceutics16091121/s1>, Table S1: Univariate associations between genetic variants and survival in the total cohort, limited-stage and extensive-stage subgroups; Table S2: Univariate associations between genetic variants and objective response rate (ORR) in the total cohort, limited-stage and extensive-stage subgroups; Table S3: Univariate associations between genetic variants and chemotherapy-related toxicities in the total cohort; Table S4: Univariate associations between genetic variants and radiotherapy-related esophagitis in limited-stage.

Author Contributions: Conceptualization, A.B., J.S. and I.S.; Methodology, A.B., L.L.-V., M.F., O.B., J.S. and I.S.; Formal analysis, A.B., M.J.A. and J.S.; Resources, A.B., L.L.-V., M.F., M.M., S.M.-R., J.S. and I.S.; Data curation, A.B., L.L.-V., M.F., M.M., S.M.-R. and J.S.; Writing—original draft, A.B. and J.S.; Writing—review & editing, A.B., L.L.-V., M.F., M.M., S.M.-R., O.B., M.J.A., J.S. and I.S.; Investigation, L.L.-V., M.F. and O.B.; Funding acquisition, A.B., L.L.-V., J.S. and I.S.; Supervision, J.S. and I.S.; Project administration, J.S. and I.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by the Societat Catalano-Balear d'Oncologia (Spain). Funding number: SCBO 2019.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted following the guidelines of the Declaration of Helsinki and approved by the Ethics Committee of the Institut de Recerca Sant Pau (IIBSP-CCP-2022-56; 20 July 2022).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in this study.

Data Availability Statement: The data presented in this study are not publicly available due to ethical committee regulations but are available on request from the corresponding authors.

Acknowledgments: We thank Carolyn Newey for language editing.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

- Govindan, R.; Page, N.; Morgensztern, D.; Read, W.; Tierney, R.; Vlahiotis, A.; Spitznagel, E.L.; Piccirillo, J. Changing Epidemiology of Small-Cell Lung Cancer in the United States over the Last 30 Years: Analysis of the Surveillance, Epidemiologic, and End Results Database. *J. Clin. Oncol.* **2006**, *24*, 4539–4544. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Faivre-Finn, C.; Snee, M.; Ashcroft, L.; Appel, W.; Barlesi, F.; Bhatnagar, A.; Bezjak, A.; Cardenal, F.; Fournel, P.; Harden, S.; et al. Concurrent Once-Daily versus Twice-Daily Chemoradiotherapy in Patients with Limited-Stage Small-Cell Lung Cancer (CONVERT): An Open-Label, Phase 3, Randomised, Superiority Trial. *Lancet Oncol.* **2017**, *18*, 1116–1125. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

3. Horn, L.; Mansfield, A.S.; Szczesna, A.; Havel, L.; Krzakowski, M.; Hochmair, M.J.; Huemer, F.; Losonczy, G.; Johnson, M.L.; Nishio, M.; et al. First-Line Atezolizumab plus Chemotherapy in Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *379*, 2220–2229. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
4. Paz-Ares, L.; Dvorkin, M.; Chen, Y.; Reinmuth, N.; Hotta, K.; Trukhin, D.; Statsenko, G.; Hochmair, M.J.; Özgüroğlu, M.; Ji, J.H.; et al. Durvalumab plus Platinum–Etoposide versus Platinum–Etoposide in First-Line Treatment of Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer (CASPIAN): A Randomised, Controlled, Open-Label, Phase 3 Trial. *Lancet* **2019**, *394*, 1929–1939. [\[CrossRef\]](#)
5. Paz-Ares, L.; Chen, Y.; Reinmuth, N.; Hotta, K.; Trukhin, D.; Statsenko, G.; Hochmair, M.J.; Özgüroğlu, M.; Ji, J.H.; Garassino, M.C.; et al. Durvalumab, with or without Tremelimumab, plus Platinum–Etoposide in First-Line Treatment of Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer: 3-Year Overall Survival Update from CASPIAN. *ESMO Open* **2022**, *7*, 100408. [\[CrossRef\]](#)
6. Franco, F.; Carcereny, E.; Guirado, M.; Ortega, A.L.; López-Castro, R.; Rodríguez-Abreu, D.; García-Campelo, R.; Del Barco, E.; Juan, O.; Aparisi, F.; et al. Epidemiology, Treatment, and Survival in Small Cell Lung Cancer in Spain: Data from the Thoracic Tumor Registry. *PLoS ONE* **2021**, *16*, 0251761. [\[CrossRef\]](#)
7. Janssen-Heijnen, M.L.G.; Maas, H.A.A.M.; van de Schans, S.A.M.; Coebergh, J.W.W.; Groen, H.J.M. Chemotherapy in Elderly Small-Cell Lung Cancer Patients: Yes We Can, but Should We Do It? *Ann. Oncol.* **2011**, *22*, 821–826. [\[CrossRef\]](#)
8. Seigneurin, A.; Delafosse, P.; Trétarre, B.; Woronoff, A.S.; Velten, M.; Grosclaude, P.; Guizard, A.V.; Lapôtre-Ledoux, B.; Bara, S.; Molinié, F.; et al. Are Comorbidities Associated with Long-Term Survival of Lung Cancer? A Population-Based Cohort Study from French Cancer Registries. *BMC Cancer* **2018**, *18*, 1091. [\[CrossRef\]](#)
9. Deng, T.; Zhang, J.; Meng, Y.; Zhou, Y.; Li, W. Higher Pretreatment Lactate Dehydrogenase Concentration Predicts Worse Overall Survival in Patients with Lung Cancer. *Medicine* **2018**, *97*, e12524. [\[CrossRef\]](#)
10. Aarts, M.J.; Aerts, J.G.; Van Den Borne, B.E.; Biesma, B.; Lemmens, V.E.P.P.; Kloover, J.S. Comorbidity in Patients with Small-Cell Lung Cancer: Trends and Prognostic Impact. *Clin. Lung Cancer* **2015**, *16*, 282–291. [\[CrossRef\]](#)
11. Sawant, A.; Floyd, A.M.; Dangeti, M.; Lei, W.; Sobol, R.W.; Patrick, S.M. Differential Role of Base Excision Repair Proteins in Mediating Cisplatin Cytotoxicity. *DNA Repair* **2017**, *51*, 46–59. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
12. Slysokova, J.; Sabatella, M.; Ribeiro-Silva, C.; Stok, C.; Theil, A.F.; Vermeulen, W.; Lans, H. Base and Nucleotide Excision Repair Facilitate Resolution of Platinum Drugs-Induced Transcription Blockage. *Nucleic Acids Res.* **2018**, *46*, 9537–9549. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
13. Guo, C.-X.; Wang, J.; Huang, L.-H.; Li, J.-G.; Chen, X. Impact of Single-Nucleotide Polymorphisms on Radiation Pneumonitis in Cancer Patients. *Mol. Clin. Oncol.* **2016**, *4*, 3–10. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
14. Bukowska, B.; Karwowski, B.T. The Clustered DNA Lesions—Types, Pathways of Repair and Relevance to Human Health. *Curr. Med. Chem.* **2018**, *25*, 2722–2735. [\[CrossRef\]](#)
15. Duan, M.; Ulibarri, J.; Liu, K.J.; Mao, P. Role of Nucleotide Excision Repair in Cisplatin Resistance. *Int. J. Mol. Sci.* **2020**, *21*, 9248. [\[CrossRef\]](#)
16. De Silva, I.U.; McHugh, P.J.; Clingen, P.H.; Hartley, J.A. Defects in Interstrand Cross-Link Uncoupling Do Not Account for the Extreme Sensitivity of ERCC1 and XPF Cells to Cisplatin. *Nucleic Acids Res.* **2002**, *30*, 3848–3856. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
17. Arora, S.; Kothandapani, A.; Tillison, K.; Kalman-Maltese, V.; Patrick, S.M. Downregulation of XPF-ERCC1 Enhances Cisplatin Efficacy in Cancer Cells. *DNA Repair* **2010**, *9*, 745–753. [\[CrossRef\]](#)
18. Olausson, K.A.; Dunant, A.; Fouret, P.; Brambilla, E.; André, F.; Haddad, V.; Taranchon, E.; Filipits, M.; Pirker, R.; Popper, H.H.; et al. DNA Repair by ERCC1 in Non-Small-Cell Lung Cancer and Cisplatin-Based Adjuvant Chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* **2006**, *355*, 983–991. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
19. Hubner, R.A.; Riley, R.D.; Billingham, L.J.; Popat, S. Excision Repair Cross-Complementation Group 1 (ERCC1) Status and Lung Cancer Outcomes: A Meta-Analysis of Published Studies and Recommendations. *PLoS ONE* **2011**, *6*, e25164. [\[CrossRef\]](#)
20. Huang, Z.L.; Cao, X.; Luo, R.Z.; Chen, Y.F.; Zhu, L.C.; Wen, Z. Analysis of ERCC1, BRCA1, RRM1 and TUBB3 as Predictors of Prognosis in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer Who Received Cisplatin-Based Adjuvant Chemotherapy: A Prospective Study. *Oncol. Lett.* **2016**, *11*, 299–305. [\[CrossRef\]](#)
21. Lee, H.W.; Choi, Y.W.; Han, J.H.; Kim, J.H.; Jung, J.H.; Jeong, S.H.; Kang, S.Y.; Choi, J.H.; Oh, Y.T.; Park, K.J.; et al. Expression of Excision Repair Cross-Complementation Group 1 Protein Predicts Poor Outcome in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with Platinum-Based Doublet Chemotherapy. *Lung Cancer* **2009**, *65*, 377–382. [\[CrossRef\]](#)
22. Yang, Y.; Luo, X.; Yang, N.; Feng, R.; Xian, L. The Prognostic Value of Excision Repair Cross-Complementation Group 1 (ERCC1) in Patients with Small Cell Lung Cancer (SCLC) Receiving Platinum-Based Chemotherapy: Evidence from Meta-Analysis. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e111651. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
23. Hamilton, G.; Rath, B. Pharmacogenetics of Platinum-Based Chemotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer: Predictive Validity of Polymorphisms of ERCC1. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2018**, *14*, 17–24. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
24. Xue, P.; Zhang, G.; Zhang, H.; Cui, S.; Zhang, L.; Yu, T.; Xiao, M.; Li, L.; Lu, X. A MiR-15a Related Polymorphism Affects NSCLC Prognosis via Altering ERCC1 Repair to Platinum-Based Chemotherapy. *J. Cell. Mol. Med.* **2022**, *26*, 5439–5451. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
25. Yu, D.; Zhang, X.; Liu, J.; Yuan, P.; Tan, W.; Guo, Y.; Sun, T.; Zhao, D.; Yang, M.; Liu, J.; et al. Characterization of Functional Excision Repair Cross-Complementation Group 1 Variants and Their Association with Lung Cancer Risk and Prognosis. *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 2878–2886. [\[CrossRef\]](#)

26. Nicoś, M.; Rolska-Kopińska, A.; Krawczyk, P.; Grenda, A.; Bozyk, A.; Szczyrek, M.; Milanowski, J. Effect of TOP2A and ERCC1 Gene Polymorphisms on the Efficacy and Toxicity of Cisplatin and Etoposidebased Chemotherapy in Small Cell Lung Cancer Patients. *Arch. Med. Sci.* **2021**, *17*, 474–480. [\[CrossRef\]](#)
27. Anai, S.; Iwama, E.; Yoneshima, Y.; Otsubo, K.; Tanaka, K.; Nakanishi, Y.; Okamoto, I. Association of Nephrotoxicity during Platinum-Etoposide Doublet Therapy with UGT1A1 Polymorphisms in Small Cell Lung Cancer Patients. *Lung Cancer* **2018**, *126*, 156–161. [\[CrossRef\]](#)
28. Negoro, Y.; Yano, R.; Yoshimura, M.; Suehiro, Y.; Yamashita, S.; Kodawara, T.; Watanabe, K.; Tsukamoto, H.; Nakamura, T.; Kadowaki, M.; et al. Influence of UGT1A1 Polymorphism on Etoposide plus Platinum-Induced Neutropenia in Japanese Patients with Small-Cell Lung Cancer. *Int. J. Clin. Oncol.* **2019**, *24*, 256–261. [\[CrossRef\]](#)
29. Kim, Y.H.; Ishii, G.; Goto, K.; Ota, S.; Kubota, K.; Murata, Y.; Mishima, M.; Saijo, N.; Nishiwaki, Y.; Ochiai, A. Expression of Breast Cancer Resistance Protein Is Associated with a Poor Clinical Outcome in Patients with Small-Cell Lung Cancer. *Lung Cancer* **2009**, *65*, 105–111. [\[CrossRef\]](#)
30. Skov, B.G.; Holm, B.; Erreboe, A.; Skov, T.; Møllemaard, A. ERCC1 and Ki67 in Small Cell Lung Carcinoma and Other Neuroendocrine Tumors of the Lung: Distribution and Impact on Survival. *J. Thorac. Oncol.* **2010**, *5*, 453–459. [\[CrossRef\]](#)
31. Lee, G.W.; Go, S.I.; Cho, Y.J.; Jeong, Y.Y.; Kim, H.C.; Duk Lee, J.; Hwang, Y.S.; Ko, G.H.; Lee, J.H.; Kim, D.C.; et al. Hypoxia-Inducible Factor-1 α and Excision Repair Cross-Complementing 1 in Patients with Small Cell Lung Cancer Who Received Front-Line Platinum-Based Chemotherapy: A Retrospective Study. *J. Thorac. Oncol.* **2012**, *7*, 528–534. [\[CrossRef\]](#)
32. Eisenhauer, E.A.; Therasse, P.; Bogaerts, J.; Schwartz, L.H.; Sargent, D.; Ford, R.; Dancey, J.; Arbuck, S.; Gwyther, S.; Mooney, M.; et al. New Response Evaluation Criteria in Solid Tumours: Revised RECIST Guideline (Version 1.1). *Eur. J. Cancer* **2009**, *45*, 228–247. [\[CrossRef\]](#)
33. National Cancer Institute. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE); Version 4.0. 2009. Available online: <https://www.meddra.org/mapping> (accessed on 15 June 2022).
34. He, K.; Zhang, S.; Pang, J.; Yin, J.C.; Mu, D.; Wang, J.; Ge, H.; Ma, J.; Yang, Z.; Zheng, X.; et al. Genomic Profiling Reveals Novel Predictive Biomarkers for Chemo-Radiotherapy Efficacy and Thoracic Toxicity in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Front. Oncol.* **2022**, *12*, 928605. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
35. Omori, M.; Noro, R.; Seike, M.; Matsuda, K.; Hirao, M.; Fukuizumi, A.; Takano, N.; Miyana, A.; Gemma, A. Inhibitors of ABCB1 and ABCG2 Overcame Resistance to Topoisomerase Inhibitors in Small Cell Lung Cancer. *Thorac. Cancer* **2022**, *13*, 2142–2151. [\[CrossRef\]](#)
36. Pérez-Ramírez, C.; Cañadas-Garre, M.; Alnatsha, A.; Villar, E.; Delgado, J.R.; Faus-Dáder, M.J.; Calleja-Hernández, M.Á. Pharmacogenetic Predictors of Toxicity to Platinum Based Chemotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Pharmacol. Res.* **2016**, *111*, 877–884. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
37. Tan, L.M.; Qiu, C.F.; Zhu, T.; Jin, Y.X.; Li, X.; Yin, J.Y.; Zhang, W.; Zhou, H.H.; Liu, Z.Q. Genetic Polymorphisms and Platinum-Based Chemotherapy Treatment Outcomes in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer: A Genetic Epidemiology Study Based Meta-Analysis. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 5593. [\[CrossRef\]](#)
38. Marcuello, E.; Páez, D.; Paré, L.; Salazar, J.; Sebio, A.; Del Rio, E.; Baiget, M. A Genotype-Directed Phase I-IV Dose-Finding Study of Irinotecan in Combination with Fluorouracil/Leucovorin as First-Line Treatment in Advanced Colorectal Cancer. *Br. J. Cancer* **2011**, *105*, 53–57. [\[CrossRef\]](#)
39. Auton, A.; Abecasis, G.R.; Altshuler, D.M.; Durbin, R.M.; Bentley, D.R.; Chakravarti, A.; Clark, A.G.; Donnelly, P.; Eichler, E.E.; Flück, P.; et al. A Global Reference for Human Genetic Variation. *Nature* **2015**, *526*, 68–74. [\[PubMed\]](#)
40. Furuta, T.; Ueda, T.; Aune, G.; Sarasin, A.; Kraemer, K.H.; Pommier, Y. Transcription-Coupled Nucleotide Excision Repair as a Determinant of Cisplatin Sensitivity of Human Cells. *Cancer Res.* **2002**, *62*, 4899–4902.
41. Yu, S.N.; Liu, G.F.; Li, X.F.; Fu, B.H.; Dong, L.X.; Zhang, S.H. Evaluation of Prediction of Polymorphisms of DNA Repair Genes on the Efficacy of Platinum-Based Chemotherapy in Patients With Non-Small Cell Lung Cancer: A Network Meta-Analysis. *J. Cell. Biochem.* **2017**, *118*, 4782–4791. [\[CrossRef\]](#)
42. Yu, J.J.; Lee, K.B.; Mu, C.; Li, Q.; Abernathy, T.V.; Bostick-Bruton, F.; Reed, E. Comparison of Two Human Ovarian Carcinoma Cell Lines (A2780/CP70 and MCAS) That Are Equally Resistant to Platinum, but Differ at Codon 118 of the ERCC1 Gene. *Int. J. Oncol.* **2000**, *16*, 555–560. [\[CrossRef\]](#)
43. Takenaka, T.; Yano, T.; Kiyohara, C.; Miura, N.; Kouso, H.; Ohba, T.; Kometani, T.; Shoji, F.; Yoshino, I.; Maehara, Y. Effects of Excision Repair Cross-Complementation Group 1 (ERCC1) Single Nucleotide Polymorphisms on the Prognosis of Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Lung Cancer* **2010**, *67*, 101–107. [\[CrossRef\]](#)
44. Britten, R.A.; Liu, D.; Tessier, A.; Hutchison, M.J.; Murray, D. ERCC1 Expression as a Molecular Marker of Cisplatin Resistance in Human Cervical Tumor Cells. *Int. J. Cancer* **2000**, *89*, 453–457. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)
45. Zheng, Z.; Chen, T.; Li, X.; Haura, E.; Sharma, A.; Bepler, G. DNA Synthesis and Repair Genes RRM1 and ERCC1 in Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2007**, *356*, 800–808. [\[CrossRef\]](#)
46. Friboulet, L.; Olausson, K.A.; Pignon, J.-P.; Shepherd, F.A.; Tsao, M.-S.; Graziano, S.; Kratzke, R.; Douillard, J.-Y.; Seymour, L.; Pirker, R.; et al. ERCC1 Isoform Expression and DNA Repair in Non-Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2013**, *368*, 1101–1110. [\[CrossRef\]](#) [\[PubMed\]](#)

47. Lee, S.M.; Falzon, M.; Blackhall, F.; Spicer, J.; Nicolson, M.; Chaudhuri, A.; Middleton, G.; Ahmed, S.; Hicks, J.; Crosse, B.; et al. Randomized Prospective Biomarker Trial of ERCC1 for Comparing Platinum and Nonplatinum Therapy in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer: ERCC1 Trial (ET). *J. Clin. Oncol.* **2017**, *35*, 402–411. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Bhagwat, N.R.; Roginskaya, V.Y.; Acquafondata, M.B.; Dhir, R.; Wood, R.D.; Niedernhofer, L.J. Immunodetection of DNA Repair Endonuclease ERCC1-XPF in Human Tissue. *Cancer Res.* **2009**, *69*, 6831–6838. [[CrossRef](#)]
49. Ceppi, P.; Longo, M.; Volante, M.; Novello, S.; Cappia, S.; Bacillo, E.; Selvaggi, G.; Saviozzi, S.; Calogero, R.; Papotti, M.; et al. Excision Repair Cross Complementing-1 and Topoisomerase II α Gene Expression in Small-Cell Lung Cancer Patients Treated with Platinum and Etoposide: A Retrospective Study. *J. Thorac. Oncol.* **2008**, *3*, 583–589. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Grønberg, B.H.; Killingberg, K.T.; Fløtten, Ø.; Brustugun, O.T.; Hornslien, K.; Madebo, T.; Langer, S.W.; Schytte, T.; Nyman, J.; Risum, S.; et al. High-Dose versus Standard-Dose Twice-Daily Thoracic Radiotherapy for Patients with Limited Stage Small-Cell Lung Cancer: An Open-Label, Randomised, Phase 2 Trial. *Lancet Oncol.* **2021**, *22*, 321–331. [[CrossRef](#)]
51. Trigo, J.; Subbiah, V.; Besse, B.; Moreno, V.; López, R.; Sala, M.A.; Peters, S.; Ponce, S.; Fernández, C.; Alfaro, V.; et al. Lurbinectedin as Second-Line Treatment for Patients with Small-Cell Lung Cancer: A Single-Arm, Open-Label, Phase 2 Basket Trial. *Lancet Oncol.* **2020**, *21*, 645–654. [[CrossRef](#)]
52. Blanco, A.C.; Mendivil, A.F.N.; Doger de Spéville, B.; Colomé, E.Á.; De Miguel Luken, M.J.; Alvarez, R.M.; Garcia, V.M.; ramon, J.; Valles, M.A.; Corral de la Fuente, E.; et al. 1989MO Lurbinectedin (LUR) in Combination with Pembrolizumab (PBL) in Relapsed Small Cell Lung Cancer (SCLC): The Phase I/II LUPER Study. *Ann. Oncol.* **2023**, *34*, S1060–S1061. [[CrossRef](#)]
53. Dowlati, A.; Cervantes, A.; Babu, S.; Hamilton, E.P.; Wong, S.F.; Tazbirkova, A.; Sullivan, I.G.; Van Marcke de Lummen, C.; Italiano, A.; Patel, J.; et al. 1990MO Sacituzumab Govitecan (SG) as Second-Line (2L) Treatment for Extensive Stage Small Cell Lung Cancer (ES-SCLC): Preliminary Results from the Phase II TROPICS-03 Basket Trial. *Ann. Oncol.* **2023**, *34*, S1061–S1062. [[CrossRef](#)]
54. Ahn, M.-J.; Cho, B.C.; Filip, E.; Korantzis, I.; Ohashi, K.; Majem, M.; Juan-Vidal, O.; Handzhiev, S.; Izumi, H.; Lee, J.-S.; et al. Tarlatamab for Patients with Previously Treated Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2023**, *389*, 2063–2075. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Peters, S.; Pujol, J.L.; Dafni, U.; Dómine, M.; Popat, S.; Reck, M.; Andrade, J.; Becker, A.; Moro-Sibilot, D.; Curioni-Fontecedro, A.; et al. Consolidation Nivolumab and Ipilimumab versus Observation in Limited-Disease Small-Cell Lung Cancer after Chemo-Radiotherapy—Results from the Randomised Phase II ETOP/IFCT 4-12 STIMULI Trial. *Ann. Oncol.* **2022**, *33*, 67–79. [[CrossRef](#)]
56. Tibaldi, C.; Giovannetti, E.; Vasile, E.; Mey, V.; Laan, A.C.; Nannizzi, S.; Di Marsico, R.; Antonuzzo, A.; Orlandini, C.; Ricciardi, S.; et al. Correlation of CDA, ERCC1, and XPD Polymorphisms with Response and Survival in Gemcitabine/Cisplatin-Treated Advanced Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 1797–1803. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Wu, W.; Zhang, W.; Qiao, R.; Chen, D.; Wang, H.; Wang, Y.; Zhang, S.; Gao, G.; Gu, A.; Shen, J.; et al. Association of XPD Polymorphisms with Severe Toxicity in Non-Small Cell Lung Cancer Patients in a Chinese Population. *Clin. Cancer Res.* **2009**, *15*, 3889–3895. [[CrossRef](#)]
58. Abdulrahman, W.; Iltis, I.; Radu, L.; Braun, C.; Maglott-Roth, A.; Giraudon, C.; Egly, J.M.; Poterszman, A. ARCH Domain of XPD, an Anchoring Platform for CAK That Conditions TFIIH DNA Repair and Transcription Activities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, E633–E642. [[CrossRef](#)]
59. Rump, A.; Benet-Pages, A.; Schubert, S.; Kuhlmann, J.D.; Janavičius, R.; Macháčková, E.; Foretová, L.; Kleibl, Z.; Lhota, F.; Zemankova, P.; et al. Identification and Functional Testing of ERCC2 Mutations in a Multi-National Cohort of Patients with Familial Breast- and Ovarian Cancer. *PLoS Genet.* **2016**, *12*, e1006248. [[CrossRef](#)]
60. Seker, H.; Bowman, E.D.; Rusin, M.; Harris, C.C.; Butkiewicz, D.; Hedayati, M.; Grossman, L. Functional Significance of XPD Polymorphic Variants: Attenuated Apoptosis in Human Lymphoblastoid Cells with the XPD 312 Asp/Asp Genotype. *Cancer Res.* **2001**, *61*, 7430–7434. [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Supplementary Table S1 Univariate associations between genetic variants and survival in the total cohort, limited-stage and extensive-stage subgroups

Total COHORT								
Progression-free survival					Overall survival			
SNP	n	mPFS (95%CI), months	HR (95% CI)	P-value	n	mOS (95%CI), months	HR (95% CI)	P-value
<i>ERCC1</i> rs11615								
AA	49	6.6 (5.8-7.4)	Reference (1)	0.06	50	11.3 (7.9-14.7)	Reference (1)	0.26
AG	52	7.0 (4.0-10.0)	0.66 (0.44-1.0)		53	11.8 (6.8-16.8)	0.72 (0.48-1.09)	
GG	16	7.7 (5.8-9.6)	0.57 (0.31-1.03)		18	12.7 (8.9-16.4)	0.75 (0.43-1.31)	
AG-GG ^a	68	7.4 (5.6-9.1)	0.64 (0.43-0.94)	0.02	71	12.7 (8.6-16.7)	0.73 (0.50-1.07)	0.1
<i>ERCC1</i> rs3212986								
GG	70	7.1 (6.2-8.0)		0.71	73	14.6 (10.8-18.3)		0.88
GA	42	6.4 (5.5-7.2)			43	9.2 (7.0-11.4)		
AA	5	10.2 (4.8-15.5)			5	14.2 (10.3-18.0)		
<i>ERCC2</i> rs13181								
TT	52	7.3 (6.5-8.2)		0.91	54	13.2 (8.1-18.3)		0.69
TG	53	6.4 (4.7-8.0)			54	11.2 (5.9-16.6)		
GG	12	6.3 (5.1-7.4)			13	11.5 (7.1-16.0)		
<i>ERCC2</i> rs50872								
GG	60	7.3 (6.4-8.3)		0.90	63	14.6 (9.7-19.4)		0.74
GA	50	6.1 (5.5-6.6)			51	10.4 (8.3-12.5)		
AA	7	7.8 (6.1-9.6)			7	17.0 (12.5-21.6)		
<i>ERCC2</i> rs1799793								
CC	52	7.3 (5.9-8.8)		0.70	53	14.9 (11.8-17.9)		0.38
CT	53	6.4 (4.9-7.8)			55	11.2 (6.6-15.9)		
TT	12	6.0 (4.2-7.8)			13	10.4 (7.4-13.4)		
<i>XRCC1</i> rs25487								
CC	40	7.0 (6.1-7.8)		0.56	41	14.9 (9.2-20.5)		0.66
CT	62	7.1 (5.9-8.3)			64	11.8 (8.8-14.9)		
TT	15	6.5 (5.7-7.3)			16	10.4 (8.5-12.3)		
<i>ABCC3</i> rs4793665								
TT	35	6.4 (5.4-7.4)	Reference (1)	0.18	35	10.1 (7.5-12.7)	Reference (1)	0.046
TC	59	7.7 (5.7-9.8)	0.67 (0.43-1.03)		62	14.6 (10.4-18.7)	0.59 (0.38-0.90)	
CC	23	7.3 (6.1-8.6)	0.80 (0.47-1.34)		24	12.7 (7.3-18.0)	0.77 (0.46-1.31)	
<i>ABCB1</i> rs1045642								
GG	35	6.4 (5.9-7.0)		0.51	36	12.7 (8.8-16.5)		0.99
GA	54	7.3 (5.6-9.1)			57	10.4 (7.0-13.8)		
AA	28	6.9 (5.8-8.2)			28	15.5 (8.1-23.0)		
<i>ABCB1</i> rs2032582								
GG	39	6.4 (5.8-7.0)		0.45	40	12.7 (6.8-18.5)		0.96
GT-GA	55	7.3 (5.7-8.9)			58	10.6 (7.2-13.9)		
TT-AT	23	7.1 (5.9-8.3)			23	15.7 (6.6-24.7)		
<i>ABCB1</i> rs1128503								
GG	36	6.1 (5.1-7.2)		0.63	37	11.5 (7.1-16.0)		0.35
GA	55	7.3 (5.5-9.2)			58	11.2 (7.7-14.8)		
AA	26	7.4 (6.3-8.4)			26	15.7 (8.0-23.3)		
<i>UGT1A1</i> rs3064744								
*1/*1	57	7.3 (6.0-8.7)		0.15	58	13.2 (8.9-17.4)		0.31
*1/*28	41	6.6 (6.0-7.2)			43	11.3 (9.0-13.5)		
*28/*28	19	8.4 (4.7-12.0)			19	13.8 (8.5-19.1)		
<i>GSTP1</i> rs1695								
AA	55	4.1 (6.3-7.9)		0.63	56	11.2 (7.8-14.7)		0.28
AG	46	6.6 (5.3-7.9)			48	13.8 (8.3-19.3)		
GG	16	6.5 (5.1-7.8)			17	11.5 (5.0-18.0)		

LIMITED-STAGE								
SNP	Progression-free survival				Overall survival			
	n	mPFS (95%CI), months	HR (95% CI)	P-value	n	mOS (95%CI), months	HR (95% CI)	P-value
<i>ERCC1</i> rs11615								
AA	15	10.8 (8.0-13.6)	Reference (1)	0.009	15	20.7 (14.3-27.1)	Reference (1)	0.04
AG	17	18.2 (10.2-26.2)	0.3 (0.13-0.68)		18	33.8 (26.8-40.7)	0.38 (0.17-0.83)	
GG	10	9.6 (0.0-28.5)	0.43 (0.17-1.1)		10	14.8 (0.0-45.4)	0.73 (0.32-1.7)	
AG-GG ^a	27	18.2 (8.1-28.3)	0.34 (0.16-0.71)	0.003	28	33.8 (22.2-45.4)	0.48 (0.24-0.96)	0.03
<i>ERCC1</i> rs3212986								
GG	24	10.8 (8.5-13.1)		0.22	24	23.0 (13.6-32.5)		0.72
GA	15	18.2 (8.0-28.4)			16	25.8 (0.0-62.9)		
AA	3	20.6 (0.0-43.2)			3	34.8 (0.0-79.3)		
<i>ERCC2</i> rs13181								
TT	18	12.2 (7.0-17.3)		0.49	19	25.8 (15.7-35.9)		0.32
TG	18	12.5 (5.1-19.8)			18	33.7 (9.2-58.3)		
GG	6	8.4 (.8-15.9)			6	14.8 (7.8-21.9)		
<i>ERCC2</i> rs50872								
GG	23	13.3 (9.3-17.4)	Reference (1)	0.03	24	31.8 (19.4-44.3)	Reference (1)	0.16
GA	14	14.9 (5.5-24.3)	0.66 (0.3-1.45)		14	16.1 (0.0-44.6)	1.00 (0.47-2.13)	
AA	5	7.8 (6.4-9.3)	2.9 (1.03-8.17)		5	15.3 (6.7-23.9)	2.55 (0.92-7.09)	
GG-GA ^b	37	14.8 (10.6-18.9)	0.30 (0.11-0.82)	0.01	38	28.7 (16.7-40.7)	0.39 (0.15-1.06)	0.06
<i>ERCC2</i> rs1799793								
CC	19	12.2 (6.5-17.8)		0.78	19	28.7 (16.2-41.2)		0.57
CT	19	12.6 (9.6-15.5)			20	20.7 (0.2-41.2)		
TT	4	8.4 (0.0-23.0)			4	9.4 (0.0-34.8)		
<i>XRCC1</i> rs25487								
CC	14	13.3 (5.9-20.8)		0.75	14	25.5 (11.7-39.3)		0.78
CT	21	12.2 (9.6-14.8)			21	31.8 (17.0-46.7)		
TT	7	12.5 (1.9-23.0)			18	9.4 (0.0-25.7)		
<i>ABCC3</i> rs4793665								
TT	9	11.2 (9.6-12.8)	Reference (1)	0.24	9	23.0 (0.0-55.8)	Reference (1)	0.04
TC	25	14.8 (10.8-18.7)	0.57 (0.26-1.29)		25	35.2 (32.8-37.5)	0.40 (0.17-0.92)	
CC	8	9.6 (4.5-14.7)	1.05 (0.39-2.84)		9	19.0 (7.0-30.9)	0.96 (0.38-2.51)	
<i>ABCB1</i> rs1045642								
GG	15	11.2 (8.0-14.4)		0.25	15	21.1 (7.4-34.9)		0.90
GA	18	14.9 (10.7-19.1)			19	33.7 (22.8-44.6)		
AA	9	10.7 (6.1-15.3)			9	23.0 (16.2-29.9)		
<i>ABCB1</i> rs2032582								
GG	16	11.2 (8.6-13.8)		0.36	16	25.8 (0.5-51.0)		0.70
GT_GA	19	14.9 (10.9-18.9)			20	25.5 (9.8-41.1)		
TT_AT	7	10.7 (6.6-14.7)			7	23.0 (17.0-29.1)		
<i>ABCB1</i> rs1128503								
GG	12	10.8 (6.2-15.4)		0.88	12	21.2 (0.0-46.3)		0.16
GA	20	14.9 (10.5-19.3)			21	25.8 (8.0-43.6)		
AA	10	10.7 (5.4-15.9)			10	23.0 (0.6-45.5)		
<i>UGT1A1</i> *28 rs3064744								
*1/*1	17	19.1 (15.1-23.1)	Reference (1)	0.05	17	34.8 (29.1-40.6)	Reference (1)	0.23
*1/*28	15	10.8 (6.6-15.1)	2.57 (1.17-5.64)		16	15.3 (7.2-23.3)	1.90 (0.89-4.07)	
*28/*28	10	9.1 (5.7-12.5)	1.84 (0.75-4.54)		10	16.1 (0.0-45.4)	1.17 (0.48-2.86)	
*1/*28-*28/*28 ^a	25	10.8 (8.0-13.6)	2.24 (1.1-4.57)	0.02	26	16.1 (8.8-23.4)	1.559 (0.78-3.10)	0.2
<i>GSTP1</i> rs1695								
AA	19	10.8 (8.1-13.6)		0.36	19	19.0 (3.4-34.5)		0.30
AG	17	14.8 (11.5-18.0)			18	31.8 (13.3-50.3)		
GG	6	10.7 (5.9-15.4)			6	23.1 (0.0-46.5)		

EXTENSIVE-STAGE								
SNP	Progression-free survival				Overall survival			
	n	mPFS (95%CI), months	HR (95% CI)	P-value	n	mOS (95%CI), months	HR (95% CI)	P-value
<i>ERCC1</i> rs11615								
AA	34	5.9 (4.9-6.9)		0.97	35	10.3 (9.3-11.3)		0.97
AG	35	6.1 (5.0-7.2)			35	8.4 (7.1-9.8)		
GG	6	4.6 (0.5-8.7)			8	5.6 (0.0-15.5)		
<i>ERCC1</i> rs3212986								
GG	46	6.0 (4.8-7.2)	Reference (1)	0.049	49	10.6 (8.6-12.5)	Reference (1)	0.1
GA	27	5.4 (3.8-6.9)	1.81 (1.08-3.00)		27	7.5 (5.8-9.2)	1.69 (1.04-2.73)	
AA	2	7.7 (NA-NA)	0.67 (0.16-2.75)		2	12.4 (NA-NA)	1.06 (0.26-4.42)	
<i>ERCC2</i> rs13181								
TT	34	6.5 (5.9-7.0)		0.5	35	9.8 (8.2-11.4)		0.78
TG	35	4.9 (3.9-5.8)			36	8.1 (6.6-9.7)		
GG	6	4.9 (3.2-6.6)			7	11.5 (8.6-14.4)		
<i>ERCC2</i> rs50872								
GG	37	6.3 (5.9-6.8)		0.81	39	9.8 (7.1-12.5)		0.78
GA	36	5.3 (3.9-6.7)			37	9.1 (6.8-11.4)		
AA	2	2.2 (NA-NA)			2	17.0 (NA-NA)		
<i>ERCC2</i> rs1799793								
CC	33	6.5 (5.9-7.0)		0.44	34	9.8 (8.3-11.3)		0.49
CT	34	4.9 (3.6-6.1)			35	8.4 (5.7-11.1)		0.51
TT	8	4.9 (3.2-6.6)			9	10.4 (1.9-18.8)		
<i>XRCC1</i> rs25487								
CC	26	6.1 (5.2-7.1)		0.19	27	9.7 (6.4-12.9)		0.31
CT	41	6.1 (5.2-6.9)			43	9.2 (6.7-11.7)		
TT	8	4.4 (3.2-5.6)			8	10.4 (5.4-15.4)		
<i>ABCC3</i> rs4793665								
TT	26	4.9 (3.3-6.4)		0.50	26	7.4 (5.4-9.5)		0.67
TC	34	5.5 (4.7-6.3)			37	10.3 (8.3-12.3)		
CC	15	6.6 (5.3-7.8)			15	10.4 (8.1-12.7)		
<i>ABCB1</i> rs1045642								
GG	20	4.9 (3.8-5.9)		0.18	21	8.1 (3.8-12.4)		0.35
GA	36	6.0 (4.7-7.4)			38	8.4 (6.4-10.4)		
AA	19	6.5 (5.7-7.2)			19	13.8 (6.5-21.2)		
<i>ABCB1</i> rs2032582								
GG	23	5.4 (4.9-5.8)		0.13	24	8.0 (5.9-10.1)		0.19
GT_GA	36	6.1 (4.7-7.4)			38	9.1 (6.8-11.4)		
TT_AT	16	6.5 (6.0-6.9)			16	11.2 (1.5-21.0)		
<i>ABCB1</i> rs1128503								
GG	24	5.4 (4.9-5.8)		0.13	25	8.2 (6.8-9.6)		0.14
GA	35	6.0 (5.0-7.1)			37	9.2 (6.9-11.5)		
AA	16	6.6 (5.6-7.6)			16	11.5 (1.8-21.2)		
<i>UGT1A1</i> rs3064744								
*1/*1	40	6.1 (5.1-7.1)		0.59	41	10.4 (8.3-12.5)		0.83
*1/*28	26	6.0 (4.1-7.9)			27	8.2 (6.3-10.0)		
*28/*28	9	5.4 (5.1-5.7)			9	10.1 (9.2-11.0)		
<i>GSTP1</i> rs1695								
AA	36	6.5 (5.7-7.3)		0.74	37	10.3 (8.8-11.8)		0.58
AG	29	5.2 (4.3-6.2)			30	8.2 (4.6-11.7)		
GG	10	6.1 (4.9-7.3)			11	9.8 (6.8-12.9)		

^a Dominant model; ^b Recessive model; * Fisher test
Statistically significant *P*-values are marked in bold.

Supplementary Table S2 Univariate associations between genetic variants and objective response rate (ORR) in the total cohort, limited-stage and extensive-stage subgroups

OBJECTIVE RESPONSE RATE			
Chemotherapy* (n=94)			
SNP	Affected, n/ Total, n	%	P-value
<i>ERCC1</i> rs11615			
AA	34/41	82.9	0.92
AG	36/42	85.7	
GG	9/11	81.8	
<i>ERCC1</i> rs3212986			
GG	47/56	83.9	0.74
GA	29/35	82.9	
AA	2/3	66.7	
<i>ERCC2</i> rs13181			
TT	35/40	87.5	0.22
TG	36/46	78.3	
GG	8/8	100	
<i>ERCC2</i> rs50872			
GG	36/45	80	0.45
GA	40/45	88.9	
AA	3/4	75	
<i>ERCC2</i> rs1799793			
CC	35/41	85.4	0.76
CT	35/43	81.4	
TT	9/10	90	
<i>XRCC1</i> rs25487			
CC	25/29	86.2	0.97
CT	43/51	84.3	
TT	12/14	85.7	
<i>ABCC3</i> rs4793665			
TT	25/31	80.6	0.12
TC	36/45	80	
CC	18/18	100	
<i>ABCB1</i> rs1045642			
GG	22/26	84.6	0.54
GA	37/46	80.4	
AA	20/22	90.9	
<i>ABCB1</i> rs2032582			
GG	23/30	76.7	0.36
GT-GA	40/45	88.9	
TT-AT	16/19	84.2	
<i>ABCB1</i> rs1128503			
GG	22/29	75.9	0.32
GA	38/44	86.4	
AA	19/21	76.2	
<i>UGT1A1</i> rs3064744			
*1/*1	36/46	78.3	0.29
*1/*28	29/33	87.9	
*28/*28	14/15	93.3	
<i>GSTP1</i> rs1695			
AA	40/46	87	0.73
AG	29/36	80.6	
GG	10/12	83.3	

*Evaluated in patients undergoing chemotherapy or sequential chemo-radiotherapy

Supplementary Table S3 Univariate associations between genetic variants and chemotherapy-related toxicities in the total cohort

SNP	ANAEMIA			THROMBOCYTOPENIA			NEUTROPENIA		
	Affected, n/ Total, n	(%)	P-value	Affected, n/ Total, n	(%)	P-value	Affected, n/ Total, n	(%)	P-value
<i>XRCC1</i> rs25487									
CC	9/52	17.3	0.12	11/52	21.2	0.65	34/52	65.4	0.85
CT	15/71	21.1		12/71	16.9		43/70	61.4	
TT	0/17	0.0		2/17	11.8		10/17	58.8	
CC-CT ^b	24/123	19.5	0.04*						
<i>ERCC1</i> rs11615									
AA	11/57	19.3	0.80	10/57	17.5	1.00	34/57	59.6	0.69
AG	9/61	14.8		11/61	18.0		40/60	66.7	
GG	4/22	18.2		4/22	18.0		13/22	59.1	
<i>ERCC1</i> rs3212986									
GG	15/81	18.5	0.88	13/81	16.0	0.78	52/81	64.2	0.32
GA	8/53	15.1		11/53	20.8		33/52	63.5	
AA	1/6	16.7		1/6	16.7		2/6	33.0	
<i>ERCC2</i> rs50872									
GG	11/74	14.9	0.04	14/74	18.9	0.76	50/73	68.5	0.16
GA	9/58	15.5		9/58	15.5		31/58	53.4	
AA	4/8	50.0		2/8	25.0		6/8	75.0	
GG-GA ^b	20/132	15.2	0.03*						
<i>ERCC2</i> rs1799793									
CC	10/61	16.4	0.91	6/61	9.8	0.04	40/61	65.6	0.27
CT	12/65	18.5		14/65	21.5		41/64	64.1	
TT	2/14	14.3		5/14	35.7		6/14	42.9	
CT-TT ^a				19/79	24.1	0.03			
<i>ERCC2</i> rs13181									
TT	13/59	22.0	0.42	7/59	11.9	0.29	37/59	62.7	0.57
TG	9/67	13.4		15/67	22.4		43/66	65.2	
GG	2/14	14.3		3/14	21.4		7/14	50.0	
<i>ABCC3</i> rs4793665									
TT	6/41	14.6	0.85	9/41	22.0	0.71	24/40	60.0	0.88
TC	13/71	18.3		12/71	16.9		46/71	64.8	
CC	4/27	14.8		4/27	14.8		17/27	63.0	
<i>ABCB1</i> rs1045642									
GG	7/44	15.9	0.14	7/44	15.9	0.56	28/43	65.1	0.28
GA	7/62	11.3		10/62	16.1		35/62	56.5	
AA	9/33	27.3		8/33	24.2		24/33	72.7	
<i>ABCB1</i> rs2032582									
GG	10/52	19.2	0.63	9/52	17.3	0.88	34/51	66.7	0.25
GT-GA	8/61	13.1		12/61	19.7		34/61	55.7	
TT-AT	5/26	19.2		4/26	15.4		19/26	73.1	
<i>ABCB1</i> rs1128503									
GG	9/50	18.0	0.91	8/50	16.0	0.87	31/49	63.3	0.44
GA	9/60	15.0		11/60	18.3		35/60	58.3	
AA	5/29	17.2		6/29	20.7		21/29	72.4	
<i>UGT1A1</i> rs3064744									
*1/*1	10/64	15.6	0.36	12/64	18.8	0.05	40/64	62.5	0.97
*1/*28	6/50	12.0		5/50	10.0		32/50	64.0	
*28/*28	6/24	25.0		8/21	33.3		15/23	65.2	
*1/*1-*/1/*28 ^b				17/114	14.9	0.03			
<i>GSTP1</i> rs1695									
AA	10/61	16.4	1.00	9/61	14.8	0.67	40/60	66.7	0.60
AG	10/60	16.7		12/60	20.0		35/60	58.3	
GG	3/18	16.7		4/18	22.2		12/18	66.7	

^a Dominant model; ^b Recessive model; * Fisher test
Statistically significant P-values are marked in bold.

Supplementary Table S4 Univariate associations between genetic variants and radiotherapy-related esophagitis in limited-stage

ESOPHAGITIS			
SNP	Affected, n/Total, n	(%)	P-value
XRCC1 rs25487			
CC	4/10	40.0	0.80
CT	6/18	33.3	
TT	2/8	25.0	
ERCC1 rs11615			
AA	3/11	27.3	0.52
AG	5/17	29.4	
GG	4/8	50.0	
ERCC1 rs3212986			
GG	5/19	26.3	0.38
GA	5/14	35.7	
AA	2/3	66.7	
ERCC2 rs50872			
GG	8/19	42.1	0.06
GA	1/12	8.3	
AA	3/5	60.0	
ERCC2 rs1799793			
CC	6/14	42.9	0.05
CT	3/18	16.7	
TT	3/4	75.0	
ERCC2 rs13181			
TT	5/14	35.7	0.10
TG	3/16	18.8	
GG	4/6	66.7	

ARTICULO 2: CD274 (PD-L1) polymorphisms as predictors of efficacy in first-line platinum-based chemotherapy for extensive-stage small cell lung cancer



International Journal of
Molecular Sciences

Barba A, López-Vilaró L, Ferre M, Martinez-Recio S, Majem M, Sullivan I, Salazar J. ***CD274 (PD-L1) polymorphisms as predictors of efficacy in first-line platinum-based chemotherapy for extensive-stage small cell lung cancer***. International Journal of Molecular Sciences. 2025 Apr 29;26(9):4245. doi:10.3390/ijms26094245.



Article

CD274 (PD-L1) Polymorphisms as Predictors of Efficacy in First-Line Platinum-Based Chemotherapy for Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer

Andrés Barba ^{1,2,3}, Laura López-Vilaró ⁴, Malena Ferre ⁴, Sergio Martínez-Recio ^{1,3}, Margarita Majem ^{1,3}, Ivana Sullivan ^{1,3} and Juliana Salazar ^{3,*}

¹ Department of Medical Oncology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, 08041 Barcelona, Spain; abarba@santpau.cat (A.B.); smartinezre@santpau.cat (S.M.-R.); mmajem@santpau.cat (M.M.); isullivan@santpau.cat (I.S.)

² Department of Medicine, Faculty of Medicine, Universitat Autònoma de Barcelona, 08035 Barcelona, Spain

³ Translational Medical Oncology Laboratory, Institut de Recerca Sant Pau (IR Sant Pau), 08041 Barcelona, Spain

⁴ Department of Pathology, Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, 08041 Barcelona, Spain; llopezv@santpau.cat (L.L.-V.); mferref@santpau.cat (M.F.)

* Correspondence: jsalazar@santpau.cat

Abstract: The cornerstone of first-line treatment in extensive-stage small cell lung cancer (ES-SCLC) is platinum- and etoposide-based chemotherapy. Platinum compounds could immunomodulate the tumor microenvironment in addition to their cytotoxic effect. Genetic variation in immune checkpoint (IC) pathways may predict chemotherapy efficacy. Polymorphisms in the IC genes were determined, and their association with survival was analyzed in 78 patients with ES-SCLC treated with chemotherapy. PD-L1 protein expression in tumor tissue was determined. Three variants in *CD274* were associated with better median progression-free survival (mPFS): rs2297136 (hazard ratio [HR] 0.52, 95% CI 0.29–0.93; $p = 0.03$), rs2282055 (HR 0.23, 95% CI 0.09–0.64; $p = 0.005$), and rs822336 (HR 0.41, 95% CI 0.23–0.73; $p = 0.002$). *CTLA4* rs231775 was also associated with mPFS (HR 0.30, 95% CI 0.14–0.63; $p = 0.002$). The variants *CD274* rs2297136 and *CD274* rs822336 were associated with platinum sensitivity (odds ratio [OR] 0.13, 95% CI 0.02–0.70; $p = 0.02$, and OR 0.08, 95% CI 0.01–0.46; $p = 0.005$, respectively). *CD274* rs2297136 was also associated with better overall survival ($p = 0.02$), but not after adjustment for covariates. No association was found between *CD274* germline variants and PD-L1 tumor expression. Our results suggest that *CD274* and *CTLA4* variants may be predictive biomarkers for platinum plus etoposide treatment in ES-SCLC.

Keywords: extensive-stage small cell lung cancer; platinum-based chemotherapy; pharmacogenetics; biomarker; *CD274* gene; PD-L1



Academic Editor: Robert Arthur Kratzke

Received: 19 March 2025

Revised: 22 April 2025

Accepted: 28 April 2025

Published: 29 April 2025

Citation: Barba, A.; López-Vilaró, L.; Ferre, M.; Martínez-Recio, S.; Majem, M.; Sullivan, I.; Salazar, J. *CD274* (PD-L1) Polymorphisms as Predictors of Efficacy in First-Line Platinum-Based Chemotherapy for Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **2025**, *26*, 4245. <https://doi.org/10.3390/ijms26094245>

Copyright: © 2025 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Small cell lung cancer (SCLC) accounts for 15% of all lung cancer cases [1] and is strongly related to tobacco exposure [2]. Platinum-based chemotherapy plus etoposide is the cornerstone of treatment for patients with untreated SCLC [3,4]. The addition of immune checkpoint (IC) inhibitors to chemotherapy has shown moderate improvement in progression-free survival (PFS) and overall survival (OS) in patients with extensive-stage (ES) disease [3–5]. These outcomes could be improved by introducing new drugs [6,7] or molecular biomarkers for accurate patient selection into current chemoimmunotherapy.

Validation of new molecular classifications of SCLC tumors, such as those based on differential expression of transcriptional regulators [8,9], could also contribute to improved outcomes. Unfortunately, there are at present no predictors of efficacy for platinum-based treatments with or without immunotherapy in ES-SCLC. Programmed cell death ligand 1 (PD-L1) expression and tumor mutation burden status have been extensively investigated as immunotherapy biomarkers in some tumors [10,11]. Although PD-L1 expression has been validated in non-small cell lung cancer (NSCLC), neither of these two biomarkers has been confirmed in ES-SCLC and are therefore not recommended in therapeutic decision-making [12]. Other molecular markers have been postulated for platinum-based chemotherapy in NSCLC, such as excision repair cross-complementation group 1 (ERCC1) protein expression in tumor tissue [13] and *ERCC1* germline polymorphisms [14]. However, these markers have also not been validated in ES-SCLC [15].

In ES-SCLC, identifying and validating predictors for platinum-based chemotherapy is of great interest, as their implementation would enhance the synergistic clinical effect of chemotherapy and immunotherapy. This proposal is based on the knowledge that the mechanism of action of platinum compounds entails not only the formation of DNA adducts that induce cell cycle arrest and cell apoptosis in proliferating tumor cells [16], but also the modulation of the antitumor immune response [17–19]. The host immune response is tightly controlled by IC molecules both to prevent autoimmunity and to protect against infections and cancer. The programmed cell death protein-1 (PD-1) receptor, expressed on T cells, natural killer cells, monocytes, B cells, and dendritic cells, and its ligand PD-L1, expressed by antigen-presenting cells, are crucial in the negative regulation of the immune response [20]. However, in the tumor microenvironment, tumor cells also express these IC molecules as a mechanism to evade immune surveillance by inactivating cytotoxic T cells [21]. In this context, the efficacy of a platinum-based regimen may be conditioned by functional alterations of IC molecules [22].

Single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in genes encoding ICs have been proposed to influence the efficacy of chemotherapy [23] and survival [24,25] in Asian patients with NSCLC and SCLC [26]. To the best of our knowledge, however, only the *CD155* rs1058402 variant has been associated with survival in ES-SCLC [26], although this variant has a minor allele frequency of less than 0.05 in European populations. Therefore, the rationale for this study is to explore new treatment-selection biomarkers in the IC pathways that may contribute to identifying a subset of ES-SCLC patients who would benefit most from platinum-containing regimens. Here, we examined a comprehensive set of SNPs in genes coding for receptors and ligands that mediate IC signaling in a retrospective cohort of ES-SCLC patients treated with first-line platinum-etoposide chemotherapy. In addition, we investigated whether there was a correlation between *CD274* (*PD-L1*) genetic variants and PD-L1 protein expression.

2. Results

2.1. Patients' Characteristics and Clinical Variants Analyses

Table 1 shows the main characteristics of the ES-SCLC patients.

The median follow-up was 10.0 (interquartile range 6.9–15.8) months. The median OS was 9.7 months (95% confidence interval [CI] 7.8–11.5), and the median PFS was 6.1 months (95% CI 5.3–6.8). Patients with ECOG PS 0–1 had a better median OS than those with ECOG ≥ 2 (11.5 months [95% CI 6.9–16.2] versus 8.2 months [95% CI 7.6–8.7]; $p = 0.001$). No differences were observed in median PFS according to ECOG ($p = 0.3$). Patients treated with consolidative thoracic radiation therapy (TRT) had a better median OS (17.1 months [95% CI 7.0–27.1] versus 8.4 months [95% CI 6.6–10.3]; $p = 0.002$) and median PFS (7.3 months [95% CI 6.2–8.4] versus 5.2 months [95% CI 4.6–5.9]; $p = 0.002$) than patients

who did not. No differences were found in median PFS or median OS according to sex ($p = 0.7$ and $p = 0.4$, respectively) or type of platinum ($p = 0.08$ and $p = 0.07$, respectively).

Table 1. Baseline patient characteristics and treatment details.

Characteristic	n = 78
Male (%)	56 (71.8)
Age, median (range), years	65 (38–86)
ECOG performance status (%)	
0	5 (6.4)
1	41 (56.2)
2	22 (28.2)
3–4	8 (10.3)
Unknown	2 (2.6)
Smoking (%)	
Current	52 (66.7)
Former	25 (32.1)
Unknown	1 (1.3)
Brain metastases (%)	16 (21.3)
Liver metastases (%)	35 (44.9)
Chemotherapy regimen selected (%)	
Cisplatin	26 (33.3)
Carboplatin	52 (66.7)
Median number of cycles (range)	6 (2–6)
Consolidative thoracic radiation therapy (%)	19 (24.4)

ECOG, Eastern Cooperative Oncology Group.

The analyses showed that 36.5% of patients were platinum-based chemotherapy sensitive. There was a significant positive association between platinum sensitivity and consolidative TRT (odds ratio [OR] 0.16, 95% CI 0.05–0.49; $p < 0.001$). Numerical differences were found between platinum sensitivity and cisplatin treatment (OR 0.37, 95% CI 0.14–1.00; $p = 0.05$).

2.2. Polymorphisms of Immune Checkpoint Genes and Progression-Free Survival Analyses

The full results of the univariate analyses between the genetic variants of IC signaling molecules and PFS are shown in Table S1. *CD274* rs2282055 was the only variant that reached the Bonferroni-adjusted significance level for multiple comparisons ($p < 0.001$). Multivariate analyses for PFS showed significant associations for the rs2297136, rs2282055, and rs822336 variants in the *CD274* gene and the *CTLA4* rs231775 variant (Table 2).

For *CD274* rs2297136, patients with the AG and GG genotypes had a longer median PFS (6.3 months) than patients with the AA genotype (4.6 months) (hazard ratio [HR] 0.52, 95% CI 0.29–0.93; $p = 0.03$ in a dominant model) (Figure 1A). For *CD274* rs2282055, patients with TT and TG genotypes had a longer median PFS (6.1 months) than patients with the GG genotype (4.6 months) (HR 0.23, 95% CI 0.09–0.64; $p = 0.005$ in a recessive model) (Figure 1B). For *CD274* rs822336, patients with the GC and CC genotypes had a longer median PFS (6.5 months) than patients with the GG genotype (4.8 months) (HR 0.41, 95% CI 0.23–0.73; $p = 0.002$ in a dominant model) (Figure 1C). For *CTLA4* rs231775, patients with the AA and AG genotypes had a longer median PFS (6.1 months) than patients with the GG genotype (4.6 months) (HR 0.30, 95% CI 0.14–0.63; $p = 0.002$ in a recessive model) (Figure 1D).

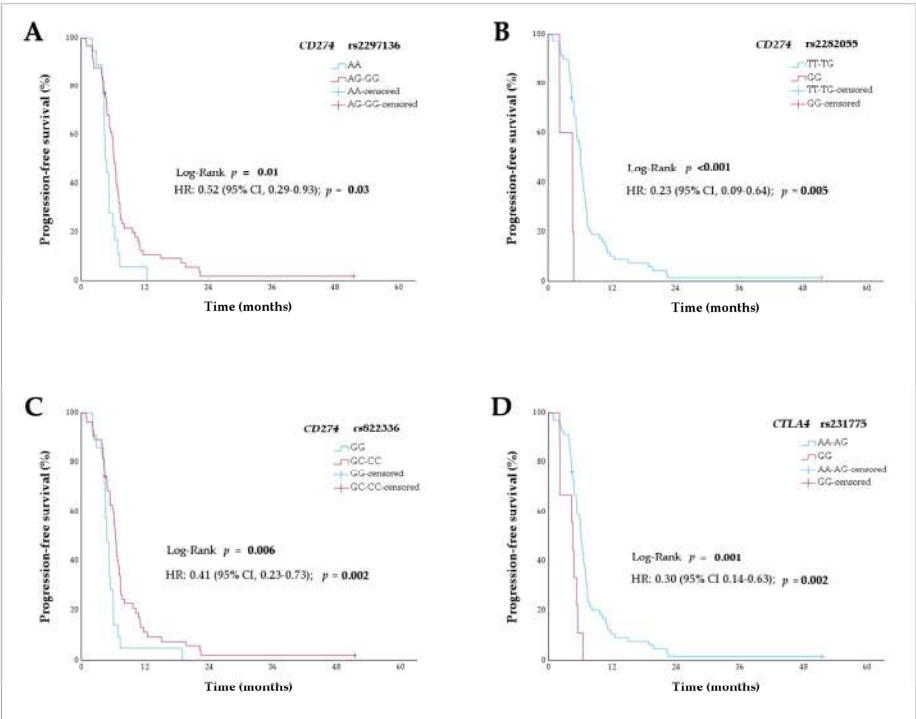


Figure 1. Progression-free survival curves of extensive stage-small cell lung cancer patients (n = 75) according to the (A) *CD274* rs2297136 variant in a dominant model of inheritance, (B) *CD274* rs2282055 variant in a recessive model of inheritance, (C) *CD274* rs822336 variant in a dominant model of inheritance, and (D) *CTLA4* rs231775 variant in a recessive model of inheritance.

Table 2. Analyses between the significant immune checkpoint genetic variants and progression-free survival of extensive-stage small cell lung cancer patients.

Progression-Free Survival						
SNP	n = 75	mPFS (95% CI), Months	Univariate Analysis		Multivariate Analysis	
			HR (95% CI)	<i>p</i> ^a Value	HR (95% CI)	<i>p</i> ^b Value
<i>CD274</i> rs2297136						
AA	18	4.6 (3.8–5.3)	Reference (1)	0.007	0.52 (0.29–0.93)	0.03
AG	43	6.1 (5.2–6.9)	0.58 (0.33–1.02)			
GG	14	6.8 (6.2–7.4)	0.30 (0.14–0.66)			
AA	18	4.6 (3.8–5.3)	Reference (1)	0.01 *	0.52 (0.29–0.93)	0.03
AG-GG	57	6.3 (5.7–6.8)	0.50 (0.29–0.87)			
<i>CD274</i> rs2282055						
TT	42	6.1 (5.1–7.0)	Reference (1)	0.001	0.23 (0.09–0.64)	0.005
TG	28	6.1 (4.4–7.8)	0.79 (0.48–1.28)			
GG	5	4.6 (0.0–9.7)	4.48 (1.64–12.23)			
GG	5	4.6 (0.0–9.7)	Reference (1)	<0.001 **	0.23 (0.09–0.64)	0.005
TT-TG	70	6.1 (5.6–6.6)	0.20 (0.08–0.55)			

Table 2. Cont.

Progression-Free Survival						
SNP	n = 75	mPFS (95% CI), Months	Univariate Analysis		Multivariate Analysis	
			HR (95% CI)	<i>p</i> ^a Value	HR (95% CI)	<i>p</i> ^b Value
<i>CD274</i> rs822336						
GG	21	4.8 (3.9–5.8)	Reference (1)	0.02		
GC	35	6.5 (5.9–7.0)	0.48 (0.27–0.84)			
CC	19	6.6 (5.9–7.3)	0.50 (0.26–0.96)			
GG	21	4.8 (3.9–5.8)	Reference (1)			
GC-CC	54	6.5 (6.0–7.0)	0.48 (0.29–0.82)	0.006 *	0.41 (0.23–0.73)	0.002
<i>CTLA4</i> rs231775						
AA	34	6.1 (5.9–6.3)	Reference (1)	0.005		
AG	32	6.3 (4.6–7.9)	0.94 (0.58–1.55)			
GG	9	4.6 (3.9–5.3)	3.10 (1.43–6.72)			
GG	9	4.6 (3.9–5.3)	Reference (1)			
AA-AG	66	6.1 (5.7–6.5)	0.31 (0.15–0.07)	0.001 **	0.30 (0.14–0.63)	0.002

SNP, single-nucleotide polymorphism; mPFS, median progression-free survival; HR, hazard ratio; p^a value from a log-rank test; p^b value from a Cox proportional hazards model; * dominant genetic model; ** recessive genetic model. Statistically significant p -values are marked in bold.

2.3. Polymorphisms of Immune Checkpoint Genes and Overall Survival Analyses

Regarding OS, the full results of the univariate analyses are shown in Table S2. Multivariate analyses showed marginal differences for *CD274* rs2297136: patients with the AG and GG genotypes had longer median OS (10.4 months) than patients with the AA genotype (7.5 months) (HR 0.62, 95% CI 0.36–1.09; $p = 0.1$ in a dominant model) (Figure S1).

2.4. Haplotype Analyses for *CD274* Variants and Survival

Haplotype analyses were performed to determine the effect of *CD274* variants (rs2297136 | rs2282055 | rs822336) on PFS and OS. The GGG haplotype (frequency = 6%) was associated with median PFS ($p = 0.009$ univariate; $p = 0.01$ multivariate) and OS ($p < 0.001$ univariate; $p < 0.001$ multivariate) (Table S3).

2.5. Polymorphisms of Immune Checkpoint Genes and Platinum Sensitivity Analyses

Analyses between platinum sensitivity and the four genetic variants associated with PFS showed significant associations for rs2297136 and rs822336 variants in the *CD274* gene when the covariates were included (Table S4). Patients carrying the *CD274* rs2297136-G allele (OR 0.13, 95% CI 0.02–0.70; $p = 0.02$ in a dominant model) and those carrying the *CD274* rs822336-C allele (OR 0.08, 95% CI 0.01–0.46; $p = 0.005$ in a dominant model) were more likely to be platinum-sensitive.

2.6. Analyses of PD-L1 Protein Expression and *CD274* Polymorphisms

Fifty-two tumor tissue samples (66.7%) were evaluable for PD-L1 expression analysis. The positivity of PD-L1 expression by the Tumor Proportion Score (TPS) was 3.8%, and no patients presented PD-L1 $\geq 50\%$. The positivity of PD-L1 expression by the Combined Positive Score (CPS) was 23.1%.

There was no correlation between *CD274* germline variants and PD-L1 tumor expression.

3. Discussion

In this retrospective cohort of ES-SCLC patients treated with first-line platinum-etoposide chemotherapy, some variants in the *CD274* (also known as *PD-L1*) and *CTLA4* genes were significantly associated with PFS.

ES-SCLC is an aggressive disease with a poor prognosis [27]. As the addition of IC inhibitors to platinum-based chemotherapy has provided a modest benefit, several treatment options are currently being investigated to improve survival in these patients [6,7]. In this scenario, platinum doublet remains the cornerstone of first-line treatment and a second-line choice for those patients with relapsed disease who are sensitive to platinum [28]. However, to date, no biomarkers have been identified to explain the interindividual variability in response to platinum compounds in ES-SCLC.

In lung cancer, few studies [23–26] have analyzed genetic variants in genes of the immune checkpoint signaling pathway based on the immunomodulatory effects of chemotherapy on the tumor microenvironment [17–19]. These studies have identified associations between chemotherapy response or survival and the *CD155* rs1058402 and *CD226* rs763361 variants in SCLC, although only the *CD155* rs1058402 variant was associated with OS in extensive-stage disease [26], and variants in the *CD274* gene in NSCLC [23–25]. In patients with advanced-stage NSCLC, the *CD274* rs2297136-G allele was found to be associated with chemotherapy response and OS [23]. In addition, in postoperative NSCLC patients treated with adjuvant platinum-based chemotherapy, patients carrying GC and CC genotypes for *CD274* rs822336 showed better survival [25].

Our results are consistent with those reported in NSCLC [23,25] and show that variants in the *CD274* gene may be feasible biomarkers of platinum-based chemotherapy efficacy in ES-SCLC. Patients carrying the rs2297136-G allele and patients carrying the rs822336-C allele had a longer median PFS, and they were more likely to respond to platinum-based chemotherapy. In addition, carriers of the rs2297136-G allele had a longer median OS, although this was not statistically significant, a result in line with the significant association observed with OS of the low-frequency haplotype GGG that includes the protective G allele for this variant. These findings suggest that the *CD274* variants might help identify patients with a higher probability of longer PFS and platinum-sensitive disease, thus lending sensitivity to second-line treatments, especially in those patients who received platinum rechallenge [29].

The *CD274* gene encodes the immune inhibitory ligand PD-L1, which binds to the PD-1 receptor, blocking T-cell activation to prevent autoimmunity, a mechanism also used by the tumor to escape immune surveillance [30]. *CD274* rs2282055 is an intron variant [31]. The prediction scores (rank 1f and score 0.55) of the variant from the Regulome database [32] show that there is evidence of its putative functionality. The *CD274* rs2297136 variant located in the 3'-UTR region may alter the microRNA binding sites for miR-324-5p and miR-296-5p and thus affect mRNA translational repression or destabilization [33]. In silico studies predicted a higher minimum free energy of hybridization of miR-324-5p and mRNA for the G allele [23], and in vitro studies showed that miR-296-5p suppressed the expression of the construct containing the G allele [34]. *CD274* rs822336 is an upstream variant, and the C allele may confer reduced PD-L1 mRNA expression [25] and promoter activity [24]. Thus, these germline *CD274* variants may be functional and could lead to decreased PD-L1 protein levels.

Based on these findings, PD-L1 in immune cells may therefore have an effect on the response to platinum compounds. Notably, in SCLC, PD-L1 expression occurs predominantly in immune cells rather than in tumor cells [35], so down-regulation of the PD-1/PD-L1 pathway may induce host immune responses and contribute to the effect of the antitumor activity of chemotherapy observed in our study. However, in the present study, no correla-

tion was found between *CD274* germline variants and PD-L1 expression in a subgroup of patients. It should be noted that PD-L1 expression may be modified by therapeutic exposure to chemotherapy with or without immunotherapy or by disease progression. In the tumor microenvironment, transcription, post-transcription, and post-translation processes determine PD-L1 expression [36]. Thus, the low levels of PD-L1 protein expression and its possible temporal variation throughout disease progression may explain the lack of correlation observed in our study between germline *CD274* SNPs and protein expression at diagnosis.

Another result in this study was that patients with the AA and AG genotypes for the *CTLA4* rs231775 variant had longer median PFS than homozygous patients for the G allele. The *CTLA4* gene encodes for a protein that is expressed in activated T cells and is involved in attenuating the immune response. The *CTLA4* rs231775 A > G is a missense polymorphism (p.Thr17Ala) located in exon 1 [37]. However, in vitro experiments have shown that the protein expression is reduced in GG homozygotes compared to AA homozygotes [38], and further investigation is required before considering the variant a biomarker of platinum efficacy.

Platinum compounds have a cytotoxic effect on cancer cells but also act as host immune modulators. Cisplatin has been shown to increase major histocompatibility complex class I, enhance T-cell infiltration, proliferation, and cytotoxic activity, and decrease the expression of immunosuppressive cells, including myeloid-derived suppressor cells and Treg cells [17].

The findings of the present study are consistent with this knowledge and support the suggestion that the common genetic variation in the IC pathway would help identify those ES-SCLC patients treated with platinum compounds who have a favorable response. The study cohort was collected prior to the approval of combination chemotherapy with immunotherapy in ES-SCLC. This design allowed us to investigate predictive biomarkers for platinum-based chemotherapy without the bias that adding immunotherapy might have introduced, especially in a study focusing on the evaluation of genes in IC signaling pathways.

This pharmacogenetic study has some limitations. First, the sample size was modest, although the statistical power was sufficient for the objectives of the study. In addition, it was a cohort of patients from a single center and homogeneously treated. Second, the analyses did not show a correlation between germline *CD274* variants and PD-L1 expression in the tumor at diagnosis, probably due to low PD-L1 protein expression in the tumor, and further experiments would be necessary to elucidate the underlying mechanisms.

4. Materials and Methods

4.1. Study Population

This was a retrospective association study involving 78 patients with ES-SCLC treated between September 2010 and May 2021 at Hospital de la Santa Creu i Sant Pau (Barcelona, Spain). The study included patients treated with standard carboplatin/cisplatin-based chemotherapy plus etoposide for first-line treatment who had received at least two cycles of platinum-based chemotherapy and excluded those who received IC treatment. The inclusion of patients treated with consolidative TRT after first-line platinum-based chemotherapy was permitted. Patients previously treated with chemotherapy for limited-stage SCLC were excluded from the study.

4.2. Definitions of Clinical Endpoints

PFS was defined as the time from the date of initiation of chemotherapy to the date of disease progression, as defined by RECIST 1.1 [39], or death from any cause, whichever occurred first. OS was defined as the time from the date of initiation of chemotherapy

to the date of death from any cause. Platinum sensitivity status was dichotomized into platinum-sensitive and platinum-resistant. Platinum-sensitive was defined as progression ≥ 90 days from the last dose of platinum-based chemotherapy, and platinum-resistant was defined as progression < 90 days from the last dose of platinum-based chemotherapy [40]. Patients who progressed during platinum-based chemotherapy (platinum-refractory) were classified as platinum-resistant patients.

4.3. Selection of Polymorphisms

Fifteen SNPs were selected in the *CD274* (*PD-L1*), *PDCD1*, *CTLA4*, *CD226*, and *LAG3* genes encoding IC signaling molecules. These are SNPs with functional evidence [41] or previously associated with susceptibility, prognosis, or treatment response in autoimmune diseases and some cancers (see Table 3).

Table 3. Main characteristics of the immune checkpoint genetic variants analyzed.

Gene Symbol	Reference SNP	Variant Description	References for Rationale
<i>CD274</i> (<i>PD-L1</i>)	rs4143815	3'-UTR	[23,24,34,42]
	rs2297136	3'-UTR	[23,34,43]
	rs2282055	Intron	[42,44]
	rs822336	2 KB Upstream	[24,25,43]
<i>PDCD1</i>	rs2227981	Synonymous	[45,46]
	rs10204525	3'-UTR	[47,48]
	rs11568821	Intron	[45,49]
	rs7421861	Intron	[45,48]
<i>CTLA4</i>	rs4553808	2 KB Upstream	[50]
	rs231775	Missense	[50,51]
	rs3087243	500B Downstream	[52]
<i>CD226</i>	rs763361	Missense	[26,53]
<i>LAG3</i>	rs2365095	Intron	[54]
	rs870849	Missense	[55]
	rs3782735	Intron	[56]

SNP, single-nucleotide polymorphism; *CD274*, *CD274* molecule; *PD-L1*, programmed cell death ligand 1; *PDCD1*, programmed cell death 1; *CTLA4*, cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4; *CD226*, *CD226* molecule; *LAG3*, lymphocyte activating 3.

4.4. Genotyping

DNA from whole blood samples was extracted automatically (Autopure LS system, Qiagen, Hilden, Germany). The genotyping of the samples was carried out by real-time PCR using TaqMan[®] SNP genotyping assays on a 7900 HT Real Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) according to the manufacturers' instructions. All the samples were successfully genotyped.

The allele frequencies of the SNPs were similar to those observed in European populations [57]. The genotype frequencies were in Hardy–Weinberg equilibrium, except for *CD226* rs763361 ($p < 0.05$), which was removed from the analyses. The 1000 Genomes Project Phase 3 linkage disequilibrium data for *CD274* gene variants in European populations are shown in Table S5.

4.5. Immunohistochemistry Analysis

PD-L1 protein expression was assessed through immunohistochemistry on formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tumor tissue sections using the PD-L1 IHC 22C3 pharmDx kit (Dako Ltd., Cheshire, UK). FFPE tissue sections, 4 μ m thick, were deparaffinized and rehydrated. Antigen retrieval was performed by heating the slides for 20 min at 97 °C in a low-pH solution using a PT Link system (Dako Ltd., Cheshire, UK). The sections were then stained automatically with the Dako Autostainer Link 48 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA) using the ready-to-use anti-human PD-L1 mouse monoclonal antibody, clone 22C3 (Dako Ltd., Cheshire, UK). This was followed by sequential incubation with a mouse anti-rabbit IgG linker and a secondary antibody and horseradish peroxidase conjugated to a dextran polymer backbone. The slides were then revealed using 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride chromogen, counterstained with hematoxylin, and coverslipped. Tonsil tissue served as the positive external control.

Two independent investigators (LL and MF) evaluated the PD-L1 staining, and discordant cases were reviewed for consensus. PD-L1 expression was interpreted using two scoring systems: the TPS and the CPS. The TPS was defined as the percentage of viable tumor cells showing partial or complete membrane staining of any intensity. A specimen was considered PD-L1 positive if the TPS was $\geq 1\%$, and high PD-L1 expression was defined as TPS $\geq 50\%$. The CPS was calculated by dividing the total number of PD-L1-positive cells (membrane-staining tumor cells, cytoplasm-staining lymphocytes, and macrophages) by the total number of viable tumor cells, multiplied by 100. A specimen was considered PD-L1 positive if the CPS was ≥ 1 . Considering the expected low proportion of TPS positivity [35,58], CPS was performed to evaluate PD-L1 expression in tumor-inflammatory immune cells.

4.6. Statistical Analysis

Deviations from Hardy–Weinberg equilibrium were assessed for each SNP using the χ^2 test. Codominant, dominant, or recessive genetic models of inheritance were used for each SNP as appropriate. Survival curves and median survival were calculated using the Kaplan–Meier method. Differences in survival were tested using the log-rank test. Cox proportional hazards regression models were adjusted for multivariate analysis with Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status (PS) (2–4 versus 0–1) and consolidative TRT as covariates. The results are expressed as HRs and 95% CIs. The rate of sensitivity to platinum was analyzed for those SNPs for which we observed significant differences in median PFS in our analyses. Differences in platinum sensitivity were calculated using the χ^2 test and logistic regression analyses, considering platinum compound (cisplatin or carboplatin) and consolidative TRT as covariates. The results are expressed as ORs with 95% CIs. Progression data for three patients and platinum sensitivity status for four patients were not available and were therefore excluded from the analysis. The size of our sample had a statistical power of 75–87% to detect the effect of polymorphisms with a $w = 0.3$ – 0.35 . ($\alpha = 0.05$) (G*power version 3.1.9.7, Düsseldorf, Germany) [59]. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$. Correction for multiple comparisons was set at $p < 0.001$ using the Bonferroni method. Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics (version 29.0) and the statistical package PLINK (v1.07.2) [60].

5. Conclusions

Our results suggest that genetic variants in *CD274* may be predictor biomarkers of survival in ES-SCLC patients treated with platinum- and etoposide-chemotherapy. These results support existing evidence that platinum compounds may be involved in the immunomodulation of the tumor microenvironment. Validation in a larger cohort of

patients treated with the current standard treatment of chemotherapy plus IC inhibitors is required.

Supplementary Materials: The supporting information can be downloaded at: <https://www.mdpi.com/article/10.3390/ijms26094245/s1>.

Author Contributions: Conceptualization, A.B. and J.S.; methodology, A.B., L.L.-V., M.F., I.S. and J.S.; formal analysis, A.B. and J.S.; investigation, A.B., L.L.-V., M.F. and J.S.; resources, A.B., L.L.-V., M.F., S.M.-R., M.M., I.S. and J.S.; data curation, A.B., L.L.-V., M.F., S.M.-R., M.M., I.S. and J.S.; writing—original draft preparation, A.B. and J.S.; writing—review and editing, A.B., L.L.-V., M.F., S.M.-R., M.M., I.S. and J.S.; supervision, I.S. and J.S.; project administration, J.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics committee of the Institut de Recerca Sant Pau (IIBSP-CCP-2022-56).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: The data presented in this study include sensitive or confidential information and are not publicly available due to ethical committee regulations but are available upon request from the corresponding authors.

Acknowledgments: We thank Carolyn Newey for language editing and Olga Bell for technical support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Lung Cancer Statistics | How Common Is Lung Cancer? Available online: <https://www.cancer.org/cancer/types/lung-cancer/about/key-statistics.html> (accessed on 12 February 2025).
2. Ou, S.H.I.; Ziogas, A.; Zell, J.A. Prognostic Factors for Survival in Extensive Stage Small Cell Lung Cancer (ED-SCLC): The Importance of Smoking History, Socioeconomic and Marital Statuses, and Ethnicity. *J. Thorac. Oncol.* **2009**, *4*, 37–43. [CrossRef] [PubMed]
3. Horn, L.; Mansfield, A.S.; Szczesna, A.; Havel, L.; Krzakowski, M.; Hochmair, M.J.; Huemer, F.; Losonczy, G.; Johnson, M.L.; Nishio, M.; et al. First-Line Atezolizumab plus Chemotherapy in Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *379*, 2220–2229. [CrossRef] [PubMed]
4. Paz-Ares, L.; Dvorkin, M.; Chen, Y.; Reinmuth, N.; Hotta, K.; Trukhin, D.; Statsenko, G.; Hochmair, M.J.; Özgüroğlu, M.; Ji, J.H.; et al. Durvalumab plus Platinum-Etoposide versus Platinum-Etoposide in First-Line Treatment of Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer (CASPIAN): A Randomised, Controlled, Open-Label, Phase 3 Trial. *Lancet* **2019**, *394*, 1929–1939. [CrossRef] [PubMed]
5. Cheng, Y.; Han, L.; Wu, L.; Chen, J.; Sun, H.; Wen, G.; Ji, Y.; Dvorkin, M.; Shi, J.; Pan, Z.; et al. Effect of First-Line Serplulimab vs Placebo Added to Chemotherapy on Survival in Patients with Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer: The ASTRUM-005 Randomized Clinical Trial. *JAMA* **2022**, *328*, 1223–1232. [CrossRef] [PubMed]
6. Paz-Ares, L.; Reck, M.; Peters, S.; Borghaei, H.; Herbst, R.; Siddiqui, M.; Cuchelkar, V.; Bhatt, K.; Chakrabarti, D.; Wang, L.; et al. IMporTE: A Phase III Study of Lurbinectedin and Atezolizumab Versus Atezolizumab as Maintenance Therapy in ES-SCLC. In Proceedings of the Presented at World Conference on Lung Cancer (WCLC) 2022 (Abstract 2350), Vienna, Austria, 6–9 August 2022.
7. Perol, M.; Ahn, M.-J.; Cheng, Y.; Clarke, J.; Dingemans, A.-M.; Gay, C.; Navarro, A.; Schuler, M.; Yoshida, T.; Martinez, P.; et al. Tarlatamab Plus Durvalumab as First-Line Maintenance in Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer: DeLLphi-305 Phase 3 Trial. In Proceedings of the Presented at World Conference on Lung Cancer (WCLC) 2024 (P1.13A.02), San Diego, CA, USA, 7–10 September 2024.
8. Rudin, C.M.; Brambilla, E.; Faivre-Finn, C.; Sage, J. Small-Cell Lung Cancer. *Nat. Rev. Dis. Prim.* **2021**, *7*, 3. [CrossRef]
9. Rudin, C.M.; Poirier, J.T.; Byers, L.A.; Dive, C.; Dowlati, A.; George, J.; Heymach, J.V.; Johnson, J.E.; Lehman, J.M.; MacPherson, D.; et al. Molecular Subtypes of Small Cell Lung Cancer: A Synthesis of Human and Mouse Model Data. *Nat. Rev. Cancer* **2019**, *19*, 289–297. [CrossRef] [PubMed]

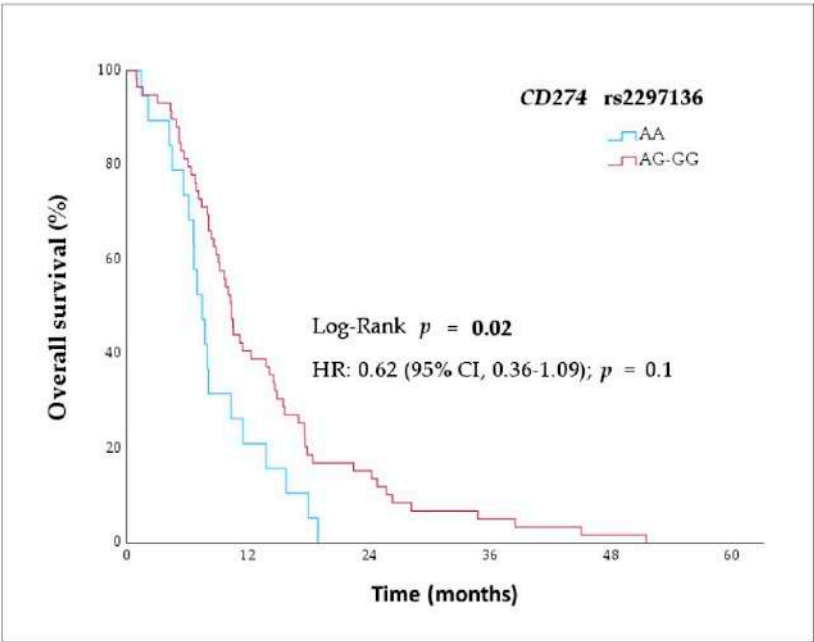
10. Keppens, C.; Dequeker, E.M.; Pauwels, P.; Ryska, A.; 't Hart, N.; von der Thüsen, J.H. PD-L1 Immunohistochemistry in Non-Small-Cell Lung Cancer: Unraveling Differences in Staining Concordance and Interpretation. *Virchows Arch.* **2021**, *478*, 827–839. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Hellmann, M.D.; Ciuleanu, T.-E.; Pluzanski, A.; Lee, J.S.; Otterson, G.A.; Audigier-Valette, C.; Minenza, E.; Linardou, H.; Burgers, S.; Salaman, P.; et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Lung Cancer with a High Tumor Mutational Burden. *N. Engl. J. Med.* **2018**, *378*, 2093–2104. [[CrossRef](#)]
12. Liu, S.V.; Reck, M.; Mansfield, A.S.; Mok, T.; Scherpereel, A.; Reinmuth, N.; Garassino, M.C.; De Castro Carpeno, J.; Califano, R.; Nishio, M.; et al. Updated Overall Survival and PD-L1 Subgroup Analysis of Patients with Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer Treated with Atezolizumab, Carboplatin, and Etoposide (IMpower133). *J. Clin. Oncol.* **2021**, *39*, 619–630. [[CrossRef](#)]
13. Olaussen, K.A.; Dunant, A.; Fouret, P.; Brambilla, E.; André, F.; Haddad, V.; Taranchon, E.; Filipits, M.; Pirker, R.; Popper, H.H.; et al. DNA Repair by ERCC1 in Non-Small-Cell Lung Cancer and Cisplatin-Based Adjuvant Chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* **2006**, *355*, 983–991. [[CrossRef](#)]
14. Hamilton, G.; Rath, B. Pharmacogenetics of Platinum-Based Chemotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer: Predictive Validity of Polymorphisms of ERCC1. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2018**, *14*, 17–24. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Barba, A.; López-Vilaró, L.; Ferre, M.; Majem, M.; Martínez-Recio, S.; Bell, O.; Arranz, M.J.; Salazar, J.; Sullivan, I. ERCC1 and ERCC2 Polymorphisms Predict the Efficacy and Toxicity of Platinum-Based Chemotherapy in Small Cell Lung Cancer. *Pharmaceutics* **2024**, *16*, 1121. [[CrossRef](#)]
16. Todd, R.C.; Lippard, S.J. Inhibition of Transcription by Platinum Antitumor Compounds. *Metallomics* **2009**, *1*, 280–291. [[CrossRef](#)]
17. De Biasi, A.R.; Villena-Vargas, J.; Adusumilli, P.S. Cisplatin-Induced Antitumor Immunomodulation: A Review of Preclinical and Clinical Evidence. *Clin. Cancer Res.* **2014**, *20*, 5384–5391. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Nejad, E.B.; Van Der Sluis, T.C.; Van Duikeren, S.; Yagita, H.; Janssen, G.M.; Van Veelen, P.A.; Melief, C.J.M.; Van Der Burg, S.H.; Arens, R. Tumor Eradication by Cisplatin Is Sustained by CD80/86-Mediated Costimulation of CD8⁺ T Cells. *Cancer Res.* **2016**, *76*, 6017–6029. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Van Wigcheren, G.F.; De Haas, N.; Mulder, T.A.; Horrevorts, S.K.; Bloemendal, M.; Hins-Debree, S.; Mao, Y.; Kiessling, R.; van Herpen, C.M.L.; Flórez-Grau, G.; et al. Cisplatin Inhibits Frequency and Suppressive Activity of Monocytic Myeloid-Derived Suppressor Cells in Cancer Patients. *Oncoimmunology* **2021**, *10*, 1935557. [[CrossRef](#)]
20. Sun, C.; Mezzadra, R.; Schumacher, T.N. Regulation and Function of the PD-L1 Checkpoint. *Immunity* **2018**, *48*, 434–452. [[CrossRef](#)]
21. Jiang, X.; Wang, J.; Deng, X.; Xiong, F.; Ge, J.; Xiang, B.; Wu, X.; Ma, J.; Zhou, M.; Li, X.; et al. Role of the Tumor Microenvironment in PD-L1/PD-1-Mediated Tumor Immune Escape. *Mol. Cancer* **2019**, *18*, 10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Kula, A.; Dawidowicz, M.; Kiczmer, P.; Prawdziej, S.; Świętochowska, A.; Świętochowska, E. The Role of Genetic Polymorphism within PD-L1 Gene in Cancer. Review. *Exp. Mol. Pathol.* **2020**, *116*, 104494. [[CrossRef](#)]
23. Lee, S.Y.; Jung, D.K.; Choi, J.E.; Jin, C.C.; Hong, M.J.; Do, S.K.; Kang, H.G.; Lee, W.K.; Seok, Y.; Lee, E.B.; et al. PD-L1 Polymorphism Can Predict Clinical Outcomes of Non-Small Cell Lung Cancer Patients Treated with First-Line Paclitaxel-Cisplatin Chemotherapy. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 25952. [[CrossRef](#)]
24. Lee, S.Y.; Jung, D.K.; Choi, J.E.; Jin, C.C.; Hong, M.J.; Do, S.K.; Kang, H.G.; Lee, W.K.; Seok, Y.; Lee, E.B.; et al. Functional Polymorphisms in PD-L1 Gene Are Associated with the Prognosis of Patients with Early Stage Non-Small Cell Lung Cancer. *Gene* **2017**, *599*, 28–35. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Zhao, M.; Zhang, J.; Chen, S.; Wang, Y.; Tian, Q. Influence of Programmed Death Ligand-1-Gene Polymorphism Rs822336 on the Prognosis and Safety of Postoperative Patients with NSCLC Who Received Platinum-Based Adjuvant Chemotherapy. *Cancer Manag. Res.* **2020**, *12*, 6755–6766. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Lee, J.H.; Yoo, S.S.; Hong, M.J.; Choi, J.E.; Kim, S.; Kang, H.G.; Do, S.K.; Kim, J.H.; Baek, S.A.; Lee, W.K.; et al. Impact of Immune Checkpoint Gene CD155 Ala67Thr and CD226 Gly307Ser Polymorphisms on Small Cell Lung Cancer Clinical Outcome. *Sci. Rep.* **2021**, *11*, 1794. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Tsao, M.S.; Rosenthal, A.; Nicholson, A.G.; Detterbeck, F.; Eberhardt, W.E.E.; Lievens, Y.; Lim, E.; Matilla, J.-M.; Yatabe, Y.; Filosso, P.L.; et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Staging Project: The Database and Proposal for the Revision of the Staging of Pulmonary Neuroendocrine Carcinoma in the Forthcoming Ninth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J. Thorac. Oncol.* **2025**. [[CrossRef](#)]
28. Baize, N.; Monnet, I.; Greillier, L.; Geier, M.; Lena, H.; Janicot, H.; Vergnenegre, A.; Crequit, J.; Lamy, R.; Auliac, J.B.; et al. Carboplatin plus Etoposide versus Topotecan as Second-Line Treatment for Patients with Sensitive Relapsed Small-Cell Lung Cancer: An Open-Label, Multicentre, Randomised, Phase 3 Trial. *Lancet Oncol.* **2020**, *21*, 1224–1233. [[CrossRef](#)]
29. Owonikoko, T.K.; Behera, M.; Chen, Z.; Bhimani, C.; Curran, W.J.; Khuri, F.R.; Ramalingam, S.S. A Systematic Analysis of Efficacy of Second-Line Chemotherapy in Sensitive and Refractory Small-Cell Lung Cancer. *J. Thorac. Oncol.* **2012**, *7*, 866–872. [[CrossRef](#)]
30. Fabrizio, F.P.; Trombetta, D.; Rossi, A.; Sparaneo, A.; Castellana, S.; Muscarella, L.A. Gene Code CD274/PD-L1: From Molecular Basis toward Cancer Immunotherapy. *Ther. Adv. Med. Oncol.* **2018**, *10*, 1–18. [[CrossRef](#)]

31. National Center for Biotechnology Information. Rs2282055. 2025. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2282055> (accessed on 10 May 2024).
32. Boyle, A.P.; Hong, E.L.; Hariharan, M.; Cheng, Y.; Schaub, M.A.; Kasowski, M.; Karczewski, K.J.; Park, J.; Hitz, B.C.; Weng, S.; et al. Annotation of Functional Variation in Personal Genomes Using RegulomeDB. *Genome Res.* **2012**, *22*, 1790–1797. [[CrossRef](#)]
33. Hausser, J.; Zavolan, M. Identification and Consequences of MiRNA-Target Interactions—Beyond Repression of Gene Expression. *Nat. Rev. Genet.* **2014**, *15*, 599–612. [[CrossRef](#)]
34. Du, W.; Zhu, J.; Chen, Y.; Zeng, Y.; Shen, D.; Zhang, N.; Ning, W.; Liu, Z.; Huang, J.A. Variant SNPs at the MicroRNA Complementary Site in the B7-H1 3'-untranslated Region Increase the Risk of Non-small Cell Lung Cancer. *Mol. Med. Rep.* **2017**, *16*, 2682–2690. [[CrossRef](#)]
35. Schultheis, A.M.; Scheel, A.H.; Ozretić, L.; George, J.; Thomas, R.K.; Hagemann, T.; Zander, T.; Wolf, J.; Buettner, R. PD-L1 Expression in Small Cell Neuroendocrine Carcinomas. *Eur. J. Cancer* **2015**, *51*, 421–426. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Yi, M.; Niu, M.; Xu, L.; Luo, S.; Wu, K. Regulation of PD-L1 Expression in the Tumor Microenvironment. *J. Hematol. Oncol.* **2021**, *14*, 10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. National Center for Biotechnology Information. Rs231775. 2025. Available online: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs231775> (accessed on 10 May 2024).
38. Anjos, S.; Nguyen, A.; Ounissi-Benkhalha, H.; Tessier, M.C.; Polychronakos, C. A Common Autoimmunity Predisposing Signal Peptide Variant of the Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 Results in Inefficient Glycosylation of the Susceptibility Allele. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 46478–46486. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Eisenhauer, E.A.; Therasse, P.; Bogaerts, J.; Schwartz, L.H.; Sargent, D.; Ford, R.; Dancey, J.; Arbuck, S.; Gwyther, S.; Mooney, M.; et al. New Response Evaluation Criteria in Solid Tumours: Revised RECIST Guideline (Version 1.1). *Eur. J. Cancer* **2009**, *45*, 228–247. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Dingemans, A.M.C.; Früh, M.; Ardizzoni, A.; Besse, B.; Faivre-Finn, C.; Hendriks, L.E.; Lantuejoul, S.; Peters, S.; Reguart, N.; Rudin, C.M.; et al. Small-Cell Lung Cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for Diagnosis, Treatment and Follow-Up. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **2021**, *32*, 839–853. [[CrossRef](#)]
41. Wagner, M.; Jasek, M.; Karabon, L. Immune Checkpoint Molecules-Inherited Variations as Markers for Cancer Risk. *Front. Immunol.* **2021**, *11*, 606721. [[CrossRef](#)]
42. Nomizo, T.; Ozasa, H.; Tsuji, T.; Funazo, T.; Yasuda, Y.; Yoshida, H.; Yagi, Y.; Sakamori, Y.; Nagai, H.; Hirai, T.; et al. Clinical Impact of Single Nucleotide Polymorphism in PD-L1 on Response to Nivolumab for Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer Patients. *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 45124. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Wu, Y.; Zhao, T.; Jia, Z.; Cao, D.; Cao, X.; Pan, Y.; Zhao, D.; Zhang, B.; Jiang, J. Polymorphism of the Programmed Death-Ligand 1 Gene Is Associated with Its Protein Expression and Prognosis in Gastric Cancer. *J. Gastroenterol. Hepatol.* **2019**, *34*, 1201–1207. [[CrossRef](#)]
44. Funazo, T.Y.; Nomizo, T.; Ozasa, H.; Tsuji, T.; Yasuda, Y.; Yoshida, H.; Sakamori, Y.; Nagai, H.; Hirai, T.; Kim, Y.H. Clinical Impact of Low Serum Free T4 in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer Treated with Nivolumab. *Sci. Rep.* **2019**, *9*, 17085. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Hashemi, M.; Karami, S.; Sarabandi, S.; Moazeni-Roodi, A.; Malecki, A.; Ghavami, S.; Wiechec, E. Association between PD-1 and PD-L1 Polymorphisms and the Risk of Cancer: A Meta-Analysis of Case-Control Studies. *Cancers* **2019**, *11*, 1150. [[CrossRef](#)]
46. de With, M.; Hurkmans, D.P.; De Hoop, E.O.; Lalouti, A.; Bins, S.; El Bouazzaoui, S.; van Brakel, M.; Debets, R.; Aerts, J.G.J.V.; van Schaik, R.H.N.; et al. Germline Variation in PDCD1 Is Associated with Overall Survival in Patients with Metastatic Melanoma Treated with Anti-PD-1 Monotherapy. *Cancers* **2021**, *13*, 1370. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Sunakawa, Y.; Cao, S.; Volz, N.B.; Berger, M.D.; Yang, D.; Parekh, A.; Zhang, W.; Matsusaka, S.; Ning, Y.; Stremtizer, S.; et al. Genetic Variations in Immunomodulatory Pathways to Predict Survival in Patients with Locoregional Gastric Cancer. *Pharmacogenom. J.* **2017**, *17*, 528–534. [[CrossRef](#)]
48. Wagner, M.; Tupikowski, K.; Jasek, M.; Tomkiewicz, A.; Witkowicz, A.; Ptaszkowski, K.; Karpinski, P.; Zdrojowy, R.; Halon, A.; Karabon, L. SNP-SNP Interaction in Genes Encoding PD-1/PD-L1 Axis as a Potential Risk Factor for Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Cancers* **2020**, *12*, 3521. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Parakh, S.; Musafar, A.; Paessler, S.; Witkowski, T.; Suen, C.S.N.L.W.; Tutuka, C.S.A.; Carlino, M.S.; Menzies, A.M.; Scolyer, R.A.; Cebon, J.; et al. PDCD1 Polymorphisms May Predict Response to Anti-PD-1 Blockade in Patients With Metastatic Melanoma. *Front. Immunol.* **2021**, *12*, 672521. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Breunis, W.B.; Tarazona-Santos, E.; Chen, R.; Kiley, M.; Rosenberg, S.A.; Chanock, S.J. Influence of Cytotoxic T Lymphocyte-Associated Antigen 4 (CTLA4) Common Polymorphisms on Outcome in Treatment of Melanoma Patients with CTLA-4 Blockade. *J. Immunother.* **2008**, *31*, 586–590. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Parra, E.R.; Jiang, M.; Machado-Rugolo, J.; Yaegashi, L.B.; Prieto, T.; Farhat, C.; de Sá, V.K.; Nagai, M.A.; de Lima, V.C.C.; Takagaki, T.; et al. Variants in Epithelial-Mesenchymal Transition and Immune Checkpoint Genes Are Associated With Immune Cell Profiles and Predict Survival in Non-Small Cell Lung Cancer. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **2020**, *144*, 1234–1244. [[CrossRef](#)]

52. Houcken, J.; Degenhart, C.; Bender, K.; König, J.; Frommer, L.; Kahaly, G.J. PTPN22 and CTLA-4 Polymorphisms Are Associated With Polyglandular Autoimmunity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2018**, *103*, 1977–1984. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Bai, L.; Jiang, J.; Li, H.; Zhang, R. Role of CD226 Rs763361 Polymorphism in Susceptibility to Multiple Autoimmune Diseases. *Immunol. Investig.* **2020**, *49*, 926–942. [[CrossRef](#)]
54. AL-Eitan, L.; Al Qudah, M.; Al Qawasmeh, M. Candidate Gene Association Analysis of Multiple Sclerosis in the Jordanian Arab Population: A Case-Control Study. *Gene* **2020**, *758*, 144959. [[CrossRef](#)]
55. Wang, S.; Zhang, X.; Leng, S.; Xu, Q.; Sheng, Z.; Zhang, Y.; Yu, J.; Feng, Q.; Hou, M.; Peng, J.; et al. Immune Checkpoint-Related Gene Polymorphisms Are Associated With Primary Immune Thrombocytopenia. *Front. Immunol.* **2021**, *11*, 615941. [[CrossRef](#)]
56. Lee, K.M.; Baris, D.; Zhang, Y.; Hosgood, H.D.; Menashe, I.; Yeager, M.; Zahm, S.H.; Wang, S.S.; Purdue, M.P.; Chanock, S.; et al. Common Single Nucleotide Polymorphisms in Immunoregulatory Genes and Multiple Myeloma Risk among Women in Connecticut. *Am. J. Hematol.* **2010**, *85*, 560–563. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Auton, A.; Abecasis, G.R.; Altshuler, D.M.; Durbin, R.M.; Bentley, D.R.; Chakravarti, A.; Clark, A.G.; Donnelly, P.; Eichler, E.E.; Flicek, P.; et al. A Global Reference for Human Genetic Variation. *Nature* **2015**, *526*, 68–74. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Paz-Ares, L.; Garassino, M.C.; Chen, Y.; Reinmuth, N.; Hotta, K.; Poltoratskiy, A.; Trukhin, D.; Hochmair, M.J.; Özgüroğlu, M.; Ji, J.H.; et al. Durvalumab ± Tremelimumab + Platinum-Etoposide in Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer (CASPIAN): Outcomes by PD-L1 Expression and Tissue Tumor Mutational Burden. *Clin. Cancer Res.* **2024**, *30*, 824–835. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Erdfelder, E.; FAul, F.; Buchner, A.; Lang, A.G. Statistical Power Analyses Using G*Power 3.1: Tests for Correlation and Regression Analyses. *Behav. Res. Methods* **2009**, *41*, 1149–1160. [[CrossRef](#)]
60. Purcell, S.; Neale, B.; Todd-Brown, K.; Thomas, L.; Ferreira, M.A.R.; Bender, D.; Maller, J.; Sklar, P.; De Bakker, P.I.W.; Daly, M.J.; et al. PLINK: A Tool Set for Whole-Genome Association and Population-Based Linkage Analyses. *Am. J. Hum. Genet.* **2007**, *81*, 559–575. [[CrossRef](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.

Supplementary Figure S1. Overall survival curves of extensive stage-small cell lung cancer patients according to the *CD274* rs2297136 variant in a dominant model of inheritance.



Supplementary Table S1. Analyses between the immune checkpoint genetic variants and progression-free survival of extensive stage-small cell lung cancer patients

SNP	n = 75	Progression-free survival				
		Univariate analysis			Multivariate analysis	
		mPFS (95%CI), months	HR (95% CI)	^a p-value	HR (95% CI)	^b p-value
<i>CD274</i> rs4143815						
GG	37	6.4 (5.9-6.8)	Reference (1)	0.06		
GC	31	5.3 (4.2-6.5)	1.83 (1.09-3.06)			
CC	7	5.5 (4.9-6.1)	1.08 (0.48-2.45)			
GC-CC	38	5.3 (4.9-5.7)	1.60 (0.99-2.57)	0.05	1.33 (0.80-2.20)	0.27
<i>CD274</i> rs2297136						
AA	18	4.6 (3.8-5.3)	Reference (1)	0.007		
AG	43	6.1 (5.2-6.9)	0.58 (0.33-1.02)			
GG	14	6.8 (6.2-7.4)	0.30 (0.14-0.66)			
AG-GG	57	6.3 (5.7-6.8)	0.50 (0.29-0.87)	0.01	0.52 (0.29-0.93)	0.03
<i>CD274</i> rs2282055						
TT	42	6.1 (5.1-7.0)	Reference (1)	0.001		
TG	28	6.1 (4.4-7.8)	0.79 (0.48-1.28)			
GG	5	4.6 (0.0-9.7)	4.48 (1.64-12.23)			
TT-TG*	70	6.1 (5.6-6.6)	0.20 (0.08-0.55)	<0.001	0.23 (0.09-0.64)	0.005
<i>CD274</i> rs822336						
GG	21	4.8 (3.9-5.8)	Reference (1)	0.02		
GC	35	6.5 (5.9-7.0)	0.48 (0.27-0.84)			
CC	19	6.6 (5.9-7.3)	0.50 (0.26-0.96)			
GC-CC	54	6.5 (6.0-7.0)	0.48 (0.29-0.82)	0.006	0.41 (0.23-0.73)	0.002
<i>PDCD1</i> rs2227981						
GG	27	6.5 (3.7-9.2)	Reference (1)	0.66		
GA	35	5.9 (4.8-6.9)	1.26 (0.75-2.11)			
AA	13	6.1 (5.2-7.1)	1.22 (0.63-2.40)			
<i>PDCD1</i> rs10204525						
CC	65	6.1 (5.2-7.0)	Reference (1)	0.69		
CT	10	5.5 (4.3-6.7)	0.87 (0.45-1.71)			
<i>PDCD1</i> rs11568821						
CC	60	6.1 (5.1-7.0)	Reference (1)	0.26		
CT	13	6.1 (4.1-8.1)	1.19 (0.65-2.18)			
TT	2	4.4 (NA-NA)	3.08 (0.72-13.10)			
<i>PDCD1</i> rs7421861						
AA	31	5.4 (4.4-6.4)	Reference (1)	0.30		
AG	37	6.5 (5.9-7.1)	1.01 (0.61-1.67)			
GG	7	4.4 (4.2-4.6)	1.87 (0.81-4.33)			

Supplementary Table S1. Analyses between the immune checkpoint genetic variants and progression-free survival of extensive stage-small cell lung cancer patients (**Continuation**)

SNP	n = 75	Progression-free survival				
		Univariate analysis			Multivariate analysis	
		mPFS (95%CI), months	HR (95% CI)	^a p-value	HR (95% CI)	^b p-value
<i>CTLA4</i> rs4553808						
AA	47	6.1 (5.1-7.1)	Reference (1)	0.82		
AG	26	5.9 (4.4-7.4)	1.17 (0.71-1.90)			
GG	2	6.1 (NA-NA)	0.93 (0.22-3.86)			
<i>CTLA4</i> rs231775						
AA	34	6.1 (5.9-6.3)	Reference (1)	0.005		
AG	32	6.3 (4.6-7.9)	0.94 (0.58-1.55)			
GG	9	4.6 (3.9-5.3)	3.10 (1.43-6.72)			
AA-AG*	66	6.1 (5.7-6.5)	0.31 (0.15-0.066)	0.001	0.30 (0.14-0.63)	0.002
<i>CTLA4</i> rs3087243						
GG	22	4.8 (3.8-5.7)	Reference (1)	0.046		
GA	36	6.1 (5.6-6.5)	0.50 (0.29-0.89)			
AA	17	6.8 (4.7-8.9)	0.56 (0.29-1.06)			
GA-AA	53	6.2 (5.7-6.6)	0.52 (0.31-0.89)	0.01	0.602 (0.35-1.03)	0.07
<i>LAG3</i> rs2365095						
CC	36	6.5 (5.9-7.0)	Reference (1)	0.37		
CT	34	5.4 (4.4-6.3)	1.07 (0.66-1.75)			
TT	5	4.6 (4.1-5.0)	1.96 (0.76-5.06)			
<i>LAG3</i> rs870849						
CC	31	5.5 (4.4-6.6)	Reference (1)	0.82		
CT	31	6.1 (5.2-7.0)	0.94 (0.56-1.57)			
TT	13	6.1 (3.1-9.1)	1.17 (0.60-2.25)			
<i>LAG3</i> rs3782735						
AA	22	6.3 (5.0-7.5)	Reference (1)	0.04		
AG	43	6.1 (5.1-7.0)	1.54 (0.89-2.66)			
GG	10	4.4 (3.2-5.5)	2.84 (1.25-6.47)			
AA-AG*	65	6.1 (5.7-6.5)	0.47 (0.23-0.97)	0.04	0.52 (0.24-1.09)	0.08

*Reference (1) is the homozygous recessive genotype. SNP, Single-nucleotide polymorphism; mPFS, median progression-free survival; HR, hazard ratio; ^ap value from a long-rank test; ^bp value from a Cox proportional hazards model. Statistically significant p-values are marked in bold.

Supplementary Table S2. Univariate analyses between the immune checkpoint genetic variants and overall survival of extensive stage-small cell lung cancer patients

SNP	n = 78	Overall survival		
		Univariate analysis		
		mOS (95%CI), months	HR (95% CI)	^a p-value
<i>CD274</i> rs4143815				
GG	39	10.6 (8.0-13.2)	Reference (1)	0.42
GC	32	8.7 (6.4-10.9)	1.34 (0.83-2.16)	
CC	7	8.9 (5.4-12.4)	1.41 (0.62-3.18)	
GC-CC	39	8.9 (6.9-10.9)	1.35 (0.86-2.13)	0.19
<i>CD274</i> rs2297136				
AA	19	7.5 (6.0-9.0)	Reference (1)	0.008
AG	45	9.8 (8.0-11.7)	0.64 (0.37-1.10)	
GG	14	11.2 (0.0-23.1)	0.31 (0.15-0.66)	
AG-GG	59	10.4 (9.4-11.4)	0.54 (0.32-0.92)	0.02
<i>CD274</i> rs2282055				
TT	45	10.4 (9.2-11.6)	Reference (1)	0.80
TG	28	8.7 (6.5-10.8)	0.86 (0.52-1.40)	
GG	5	7.1 (3.0-11.3)	1.05 (0.40-2.74)	
TT-TG*	73	10.1 (8.7-11.5)	0.89 (0.35-2.25)	0.80
<i>CD274</i> rs822336				
GG	21	7.8 (6.5-9.1)	Reference (1)	0.56
GC	38	10.3 (7.7-12.9)	0.75 (0.44-1.30)	
CC	19	10.6 (8.5-12.7)	0.76 (0.40-1.43)	
GC-CC	57	10.4 (8.9-11.9)	0.76 (0.45-1.26)	0.28
<i>PDCD1</i> rs2227981				
GG	28	10.4 (7.3-13.5)	Reference (1)	0.10
GA	37	7.5 (6.0-9.0)	1.63 (0.98-2.69)	
AA	13	10.6 (9.5-11.6)	0.98 (0.50-1.90)	
<i>PDCD1</i> rs10204525				
CC	67	9.7 (7.5-11.9)	Reference (1)	0.64
CT	11	9.8 (3.0-16.6)	0.86 (0.45-1.63)	
<i>PDCD1</i> rs11568821				
CC	62	10.4 (8.7-12.0)	Reference (1)	0.32
CT	14	8.4 (6.4-10.4)	1.31 (0.73-2.37)	
TT	2	7.4 (NA-NA)	2.49 (0.59-10.55)	
<i>PDCD1</i> rs7421861				
AA	33	10.4 (7.7-13.0)	Reference (1)	0.31
AG	38	9.7 (8.2-11.2)	1.29 (0.79-2.12)	
GG	7	8.0 (6.5-9.5)	1.81 (0.79-4.18)	

Supplementary Table S2. Univariate analyses between the immune checkpoint genetic variants and overall survival (Continuation)

SNP	n = 78	Overall survival		
		Univariate analysis		
		mOS (95%CI), months	HR (95% CI)	^a p-value
<i>CTLA4</i> rs4553808				
AA	50	10.4 (8.7-12.1)	Reference (1)	0.79
AG	26	8.4 (6.2-10.6)	1.18 (0.73-1.92)	
GG	2	8.0 (NA-NA)	1.04 (0.25-4.28)	
<i>CTLA4</i> rs231775				
AA	37	8.1 (6.8-9.5)	Reference (1)	0.45
AG	32	10.4 (8.0-12.8)	0.75 (0.46-1.22)	
GG	9	10.4 (10.3-10.5)	0.74 (0.35-1.54)	
AA-AG*	69	9.2 (7.0-11.5)	1.17 (0.58-2.36)	0.66
<i>CTLA4</i> rs3087243				
GG	22	9.8 (7.6-12.0)	Reference (1)	0.27
GA	36	10.4 (7.0-13.8)	0.81 (0.47-1.39)	
AA	20	8.0 (6.7-9.4)	1.29 (0.70-2.36)	
GA-AA	56	9.2 (6.5-11.9)	0.94 (0.57-1.55)	0.81
<i>LAG3</i> rs2365095				
CC	37	10.4 (7.7-13.1)	Reference (1)	0.84
CT	36	8.2 (6.0-10.4)	1.15 (0.72-1.83)	
TT	5	11.5 (6.4-16.6)	1.04 (0.41-2.66)	
<i>LAG3</i> rs870849				
CC	32	8.9 (5.7-12.1)	Reference (1)	0.19
CT	32	10.6 (8.6-12.6)	0.86 (0.52-1.42)	
TT	14	8.0 (6.0-10.1)	1.55 (0.82-2.95)	
<i>LAG3</i> rs3782735				
AA	23	8.2 (5.2-11.1)	Reference (1)	0.02
AG	44	10.4 (8.8-12.0)	0.89 (0.53-1.48)	
GG	11	5.7 (2.8-8.6)	2.33 (1.10-4.95)	
AA-AG*	67	10.3 (8.9-11.6)	0.40 (0.20-0.77)	0.005

*Reference (1) is the homozygous recessive genotype. SNP, Single-nucleotide polymorphism; mPFS, median progression-free survival; HR, hazard ratio; ^ap value from a long-rank test. Statistically significant *p*-values are marked in bold.

Supplementary Table S3. *CD274* haplotype analyses (rs2297136|rs2282055|rs822336) for progression-free survival and overall survival

Haplotype	Frequency	Progression-free survival				Overall survival			
		Univariate analysis		Multivariate analysis		Univariate analysis		Multivariate analysis	
		BETA	p-value	BETA	p-value	BETA	p-value	BETA	p-value
GTC	0.39	1.37	0.25			1.75	0.3		
ATC	0.1	-0.86	0.62			-1.66	0.5		
GGG	0.06	6.35	0.009	5.74	0.01	11.8	<0.001	10.7	<0.001
AGG	0.18	-1.26	0.39			-2.48	0.23		
GTG	0.02	5.12	0.29			14.6	0.03	10.3	0.09
ATG	0.25	-2.68	0.06	-2.17	0.11	-4.12	0.04	-3.42	0.06

Supplementary Table S4. Analyses between platinum sensitivity and the rs2297136, rs2282055 and rs822336 variants in the *CD274* gene, and the *CTLA4* rs231775 variant

SNP	n = 74	Univariate analysis		Multivariate analysis	
		Platinum-sensitive n (%)	p-value	OR (95% CI)	p-value
<i>CD274</i> rs2297136					
AA	18	2 (11.1)	0.002		
AG	42	15 (35.7)			
GG	14	10 (71.4)			
AG-GG**	56	25 (44.6)	0.01	0.13 (0.02-0.70)	0.02
<i>CD274</i> rs2282055					
TT	41	15 (36.6)	0.19		
TG	28	12 (42.9)			
GG	5	0 (0.0)			
TT-TG*	69	27 (39.1)	0.15	NA (NA-NA)	0.99
<i>CD274</i> rs822336					
GG	21	2 (9.5)	0.008		
GC	34	15 (44.1)			
CC	19	10 (52.6)			
GC-CC**	53	25 (47.2)	0.003	0.08 (0.01-0.46)	0.005
<i>CTLA4</i> rs231775					
AA	34	14 (41.2)	0.05		
AG	31	13 (41.9)			
GG	9	0 (0)			
AA-AG*	65	27 (41.5)	0.02	NA (NA-NA)	0.99

*Reference (1) is the homozygous recessive genotype. **Reference (1) is the homozygous dominant genotype. SNP, Single-nucleotide polymorphism; OR, odds ratio; NA: not available. Statistically significant p-values are marked in bold.

Supplementary Table S5. Linkage disequilibrium data for *CD274* gene variants in European populations (1000 Genomes Project Phase 3)

Variant 1	Location	Variant 2	Location	r ²	D'
rs822336	5448690	rs4143815	5468257	0.12	0.57
rs2282055	5455732	rs4143815	5468257	0.14	0.38
rs2297136	5467955	rs4143815	5468257	0.14	0.59
rs822336	5448690	rs2297136	5467955	0.21	0.47
rs822336	5448690	rs2282055	5455732	0.31	0.90

5. RESUMEN GLOBAL DE LOS RESULTADOS

En el presente trabajo de tesis doctoral se incluyeron 145 pacientes con cáncer de pulmón de célula pequeña tratados con quimioterapia basada en platino-etopósido de una serie retrospectiva de un único centro, el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. De estos pacientes, 45 presentaban enfermedad limitada y 100 enfermedad extensa.

Los análisis de la asociación entre polimorfismos en genes implicados en la reparación del ADN y en la metabolización del etopósido, y la eficacia y la toxicidad del tratamiento, se realizaron en la cohorte total, así como en subanálisis por separado en las cohortes de enfermedad limitada y enfermedad extensa. En la evaluación de la eficacia se excluyó a los pacientes que recibieron tratamiento con ICI y a los que recibieron menos de dos ciclos de quimioterapia basada en platino-etopósido. Los resultados obtenidos más relevantes mostraron un posible papel como biomarcador de supervivencia de la variante *ERCC1* rs11615. En la cohorte total los pacientes portadores del alelo *ERCC1* rs11615-G presentaron una mejor SLP que los pacientes con genotipo AA ($p = 0.02$ en modelo dominante). En los subanálisis, esta variante se asoció con diferencias en SLP en la cohorte de enfermedad limitada ($p = 0.03$), asociación que se mantuvo estadísticamente significativa en el análisis multivariado (HR = 0.31, IC95% 0.13 – 0.72; $p = 0.007$). Este polimorfismo también se asoció con SG en la cohorte de enfermedad limitada en el análisis univariado ($p = 0.03$).

Se dispuso de 106 muestras de tejido tumoral parafinadas, de las cuales 95 fueron óptimas para el análisis de la expresión proteica de *ERCC1* y 65 para la determinación del complejo funcional *ERCC1*-XPF. Se detectó expresión de *ERCC1* en el 75.8% de las muestras analizadas, mientras que la colocalización de *ERCC1*-XPF se observó en el 68.4% de las muestras. La expresión proteica de *ERCC1* no se asoció con las variantes genéticas *ERCC1* rs11615 ni rs3212986.

En los análisis de supervivencia, se identificó una menor SLP en los pacientes con *ERCC1*-XPF positivos en comparación con los negativos (6.5 vs. 10.2 meses; $p = 0.05$), aunque esta diferencia no alcanzó significación estadística. Esta diferencia también se observó en la cohorte de enfermedad limitada (10.8 vs. 13.3 meses; $p = 0.06$). No se encontraron asociaciones entre la expresión del complejo *ERCC1*-XPF y la SG.

Por otro lado, en los análisis entre los polimorfismos genéticos y la toxicidad realizados en la cohorte total, los pacientes portadores del alelo *ERCC2* rs1799793-T presentaron una mayor incidencia de trombocitopenia grado 3-4 ($p = 0.03$, modelo dominante). Esta asociación se mantuvo estadísticamente significativa en el análisis multivariado (OR = 3.15, 95% CI 1.08 – 9.17; $p = 0.04$).

En la evaluación de la asociación entre las variantes en genes de puntos de control inmunitario y la eficacia del tratamiento se seleccionaron 78 pacientes con enfermedad extensa que habían recibido al menos dos ciclos de quimioterapia basada en platino-etopósido (sin ICI). Los análisis multivariados mostraron diferencias en SLP para las variantes en *CD274* rs2297136, rs2282055 y rs822336, así como para la variante *CTLA4* rs231775. Se reportó una mejor SLP en los pacientes portadores del alelo *CD274* rs2297136-G (HR = 0.52, CI95% 0.29 – 0.93; $p = 0.03$, modelo dominante), los portadores de alelo *CD274* rs2282055-T (HR = 0.23, CI95% 0.09 – 0.64; $p = 0.005$, modelo recesivo), los portadores del alelo *CD274* rs822336-C (HR = 0.41, CI95% 0.23 – 0.73; $p = 0.002$, modelo dominante) y los portadores del alelo *CTLA4* rs231775-A (HR = 0.30, CI95% 0.14 – 0.63; $p = 0.002$, modelo recesivo). Además, se observó una mejor SG en los pacientes portadores del alelo *CD274* rs2297136-G en comparación a los pacientes con genotipo AA (10.4 vs. 7.5 meses; HR = 0.62, CI95% 0.36 – 1.09; $p = 0.1$, modelo dominante). Finalmente, un análisis por haplotipos para *CD274* (rs2297136|rs2282055|rs822336) reveló una asociación del haplotipo GGG, con una frecuencia del 6%, con la SLP ($p = 0.01$) y la SG ($p < 0.001$).

Asimismo, los análisis entre los polimorfismos en genes que codifican para los ICI y la sensibilidad al tratamiento con platino revelaron una asociación para las variantes *CD274* rs2297136 y rs822336. Los portadores del alelo *CD274* rs2297136-G presentaron mayor sensibilidad al platino (OR = 0.13, CI95% 0.02 – 0.70; $p = 0.02$, modelo dominante), al igual que los pacientes portadores del alelo *CD274* rs822336-C (OR = 0.08, CI95% 0.01 – 0.46; $p = 0.005$, modelo dominante).

Finalmente, se determinó la expresión proteica de PD-L1, tanto en células tumorales como en células inflamatorias infiltrantes de tumor, en 52 tumores. Los resultados mostraron una baja expresión de PD-L1 en tejido tumoral, con un 3.8% según el *Tumor Proportion Score* (TPS) y un 23.1% según el *Combined Positive Score* (CPS). La expresión de PD-L1 en tejido tumoral no mostró asociación con las variantes germinales en *CD274*.

6. RESUMEN GLOBAL DE LA DISCUSIÓN

El CPCP es un carcinoma con un patrón de crecimiento rápido y de mal pronóstico. En los últimos años, en el CPCNP, el mayor conocimiento de la genética molecular y de la inmunidad tumoral ha permitido identificar alteraciones moleculares susceptibles de ser bloqueadas con terapias dirigidas (158), así como biomarcadores predictivos, como PD-L1, que permiten seleccionar a una población con mayor probabilidad de respuesta al tratamiento con anti-PD(L)1 (159). Este enfoque de tratamiento personalizado, ha permitido mejorar la supervivencia de los pacientes con diagnóstico de CPCNP, e incorporar fármacos que, en su mayoría, presentan un perfil de toxicidades más favorable que la quimioterapia. Pese a los avances en este ámbito en CPCNP, estos han sido limitados en CPCP, para el que, a día de hoy, aun no se dispone de marcadores moleculares predictivos de eficacia o toxicidad. Además, a pesar de que la adición de *immunecheckpoints* a la quimioterapia ha cambiado el estándar de tratamiento en enfermedad extensa, el beneficio de estos tratamientos es modesto (55,56), y la quimioterapia basada en platino-etopósido continúa siendo el pilar del tratamiento. Cabe añadir, que una proporción no despreciable de pacientes presenta toxicidad severa (grado 3-4) con esta combinación de quimioterapia (53,55,56), y actualmente tampoco se dispone de marcadores predictivos de toxicidad, con la excepción del ECOG basal del paciente (126,127).

La presente tesis doctoral aborda la farmacogenética en CPCP desde dos mecanismos biológicos complementarios, la reparación del ADN y el control inmunitario, con el objetivo de identificar biomarcadores capaces de modular la eficacia y la toxicidad de la quimioterapia basada en platino y etopósido. Nuestros hallazgos apoyan la hipótesis de que variantes germinales en estos procesos podrían influir en la sensibilidad tumoral y la tolerancia al tratamiento, aportando potenciales herramientas para avanzar hacia una medicina más personalizada en este subtipo tumoral de pronóstico adverso.

Se identificó una asociación entre los polimorfismos *ERCC1* rs11615 y la supervivencia, y *ERCC2* rs1799793 y la toxicidad. *ERCC1* participa en la reparación del ADN formando un complejo con XPF que realiza el corte de la cadena dañada (137)(138), mientras que *ERCC2* actúa como helicasa dentro del complejo TFIIH, facilitando el desenrollamiento del ADN para permitir su reparación (147)(148). Ambas proteínas son componentes esenciales de la vía NER, fundamental para corregir las lesiones inducidas por los

agentes quimioterápicos basados en platino (160). Polimorfismos en los genes que codifican para estas proteínas han sido evaluados en estudios de asociación en cáncer de pulmón, especialmente de célula no pequeña, con resultados no concluyentes (144).

En nuestro estudio en CPCP, la variante *ERCC1* rs11615 se asoció con la supervivencia en pacientes con enfermedad limitada. *ERCC1* rs11615 es un polimorfismo sinónimo (Asn118Asn, C>T), que puede alterar el uso de codones, afectando potencialmente la traducción o estabilidad del ARNm y por ende los niveles de *ERCC1* (145). Nuestros hallazgos se alinean con la hipótesis de que cambios en las enzimas involucradas en la reparación del ADN pueden tener un efecto en la eficacia a la quimioterapia basada en platino en CPCP. Estos resultados, además, están en concordancia con resultados previamente comunicados en CPCNP, en los que *ERCC1* rs11615 se asoció con la tasa de respuesta y la supervivencia en CPCNP, aunque de manera poco consistente debido a la heterogeneidad étnica, metodológica y de tratamiento (161–163). Nuestros datos muestran una asociación de esta variante en enfermedad limitada, lo que sugiere que en estos pacientes el impacto observado de *ERCC1* rs11615 podría estar potenciado por la adición de la radioterapia torácica al tratamiento con platino, que modularía la capacidad de reparación del ADN frente al daño inducido por este fármaco.

La falta de asociación entre las variantes germinales de *ERCC1* y la expresión de *ERCC1* tumoral, determinada mediante inmunohistoquímica, es consistente con observaciones previas que reportan la ausencia de correlación entre la expresión de ARNm y la expresión proteica de *ERCC1* (164,165), lo que sugiere posibles mecanismos postranscripcionales o postraduccionales.

Es importante considerar, además, que *ERCC1* puede generar 4 isoformas por *splicing* alternativo, aunque solo la isoforma 202 codifica una proteína completa y funcional capaz de unirse a XPF y formar el complejo endonucleasa *ERCC1*-XPF. Actualmente no se dispone de anticuerpos específicos que permitan identificar de manera específica la isoforma 202, lo que puede conducir a una sobreestimación de la expresión de *ERCC1* (140,141,166). Para superar esta limitación, evaluamos la expresión del complejo funcional *ERCC1*-XPF mediante la detección de la colocalización de ambas proteínas utilizando el ensayo de ligadura por proximidad (PLA). Este abordaje permitió identificar los complejos nucleares de *ERCC1*-XPF.

En los análisis estadísticos, la expresión positiva del complejo funcional ERCC1-XPF se relacionó con una peor supervivencia, particularmente en pacientes con enfermedad limitada, hallazgo consistente con estudios previos en CPCNP que vinculan la sobreexpresión de ERCC1 con resistencia a platino (140). No obstante, aunque los resultados son alentadores, deben considerarse exploratorios y preliminares debido al tamaño muestral limitado y a que el punto de corte utilizado para definir la positividad de la expresión del complejo proteico carece de validación independiente.

En conjunto, la evidencia generada por los resultados del primer artículo de esta tesis, que relacionan tanto las variantes germinales en *ERCC1* como la expresión tumoral del complejo proteico ERCC1-XPF con la supervivencia en CPCP-EL, sugiere que, previa validación en series prospectivas, la incorporación de estos biomarcadores en la práctica clínica podría facilitar la identificación de pacientes con un pronóstico más adverso, quienes podrían beneficiarse de estrategias terapéuticas de intensificación, además del tratamiento de consolidación con durvalumab (65). Entre dichas estrategias podrían considerarse la radioterapia torácica hiperfraccionada a dosis altas (77,167) o, en un futuro, los anticuerpos conjugados a fármacos (ADCs) dirigidos frente a TROP-2, B7-H3 o DLL3, aunque estas aproximaciones requieren todavía de validación en ensayos clínicos específicos para CPCP-EL.

En relación con la toxicidad, el alelo T de la variante *ERCC2* rs1799793 se asoció con mayor riesgo de trombocitopenia grado 3-4 en la cohorte total, sin embargo, no se observaron diferencias en la reducción de dosis ni en la SLP. Esta toxicidad fue más notable en el subgrupo con enfermedad extensa, en el cual el uso del carboplatino fue más frecuente, fármaco que se ha vinculado a una mayor incidencia de toxicidad hematológica severa en comparación con el cisplatino (48). Además, un estudio previo en pacientes con CPCNP tratados con cisplatino no logró asociar esta variante con toxicidad hematológica (168). Nuestros hallazgos sugieren que los pacientes portadores del alelo *ERCC2* rs1799793-T podrían beneficiarse del uso preferente de cisplatino, con el objetivo de reducir el riesgo de trombocitopenia severa y optimizar los resultados oncológicos. También podría considerarse el uso selectivo de agonistas de trombopoyetina en pacientes con contraindicación al cisplatino y alto riesgo de toxicidad medular, aunque no es práctica estándar. Estas estrategias, no obstante, requieren de validación prospectiva.

El mecanismo a través del cual la proteína ERCC2 estaría implicada en la toxicidad hematológica inducida por derivados del platino no ha sido esclarecida hasta el momento. No obstante, estudios *in vitro* han mostrado una mayor respuesta apoptótica en líneas celulares linfoblásticas homocigotas para el codón Asn312 (alelo T) expuestas a radiación ultravioleta o ionizante (168). Además, esta variante, que produce un cambio de aminoácido en la proteína (Asp312Asn G>A), se localiza en una región del gen en la que se han descrito mutaciones que afectan procesos de reparación del ADN y las interacciones proteína-proteína (169)(170).

Por otro lado, se evaluó el papel de variantes germinales en genes implicaciones en la regulación del sistema inmunitario en pacientes con CPCP-EE. Aunque en los últimos años el conocimiento sobre los puntos de control inmunitario ha transformado el paradigma del tratamiento oncológico con la llegada de los ICI, existen evidencias de que el platino también ejerce un efecto inmunomodulador sobre el microambiente tumoral (171–173). No obstante, los estudios en cáncer de pulmón que evalúan la asociación entre variantes en genes implicados en puntos de control inmunitario y la eficacia a la quimioterapia basada en platino son escasos (156,157,174,175).

Nuestros resultados identifican variantes en *CD274* (*PD-L1*) y en *CTLA-4* que están asociadas a SLP en pacientes tratados con quimioterapia basada en platino–etopósido, sin inmunoterapia. Las variantes *CD274* rs2297136 y rs822336 se asociaron, también, con una mayor sensibilidad al platino. Además, se observó una mejoría en SG en los portadores del alelo *CD274* rs2297136-G, pese a que dicha mejoría no alcanzó significación estadística, lo que podría deberse a un tamaño muestral limitado u otros factores no controlados. Esta relación podría explicarse, en parte, por la mayor proporción de pacientes sensibles al platino, dado que la sensibilidad a este tratamiento se ha asociado con una mayor eficacia a líneas posteriores de tratamiento y a una mejor SG (176).

Diversos estudios respaldan la posible funcionalidad de estas variantes en *CD274*. La variante rs2282055 es intrónica (177), aunque estudios *in silico* sugieren que podría ser funcional (Regulome database: rango 1f; puntuación 0,55) (178). La variante rs2297136, situada en la región 3'-UTR, puede alterar los sitios de unión de los microRNAs miR-324-5p y miR-296-5p, y afectar la represión o desestabilización del ARNm (179)(157)(180). La variante rs822336, situada a 2kb de la región reguladora del gen, podría reducir la expresión del ARNm de PD-L1 (175) y su actividad promotora (174). Estas variantes de

la línea germinal podrían contribuir a niveles disminuidos de proteína PD-L1, con posibles implicaciones en la respuesta al tratamiento.

La proteína PD-L1 se expresa tanto en células tumorales como en células del microambiente tumoral, e inhibe la respuesta inmune antitumoral mediante el bloqueo de la activación de los linfocitos T, favoreciendo así la evasión del tumor frente al sistema inmunitario (181). En nuestra serie de pacientes, la expresión de PD-L1, tanto en células tumorales como en células inflamatorias infiltrantes de tumor fue baja, en concordancia con lo previamente reportado (33). Aunque no se observó asociación entre las diferentes variantes de *CD274* y la expresión de PD-L1 tumoral, estos resultados deben interpretarse con cautela debido a la baja expresión detectada y al tamaño muestral limitado. La determinación de la expresión de ARNm de PD-L1 podría haber complementado estos resultados (182), sin embargo, existen discrepancias sobre los umbrales estándar (183) y, además, la fiabilidad de los resultados habría estado condicionada por la calidad del ARNm obtenido de las muestras tumorales fijadas en parafina.

Nuestros resultados sugieren que CTLA-4 también podría desempeñar un papel en la modulación de la respuesta al platino. La proteína CTLA-4, expresada principalmente en linfocitos T reguladores y activados, limita la actividad de los linfocitos T efectoras, contribuyendo a la evasión tumoral frente al sistema inmunitario (184). En nuestro estudio, los portadores del alelo *CTLA-4* rs231775-A, un polimorfismo no sinónimo (Thr17Ala A>G) (185), se asociaron con una mejor SLP, lo que sugiere que la modulación de la activación de los linfocitos T podría potenciar la eficacia del platino. No obstante, estudios *in vitro* han mostrado una reducción de la expresión de la proteína en portadores del genotipo GG frente AA (186), en aparente contraste con nuestros hallazgos. Estudios adicionales *in vitro*, así como la evaluación de la relación entre la variante germinal *CTLA-4* rs231775 y la expresión de CTLA-4 en el microambiente tumoral, podrían permitir validar nuestros resultados.

Los hallazgos de la presente tesis doctoral indican que alteraciones moleculares en ERCC1 podrían orientar a un enfoque terapéutico individualizado y variantes genéticas en *CD274* podrían predecir la eficacia de tratamientos posteriores en cáncer de pulmón de célula pequeña, aunque se requieren estudios prospectivos de validación. Estos resultados adquieren especial relevancia en el contexto actual, donde la combinación de la quimioterapia e inmunoterapia constituye el estándar de tratamiento en CPCP-EE. La

identificación de variantes germinales que afecten tanto la sensibilidad al platino como la interacción con el sistema inmune podría ser clave para optimizar estrategias combinadas y estratificar a los pacientes que más se benefician de la combinación de quimio-inmunoterapia.

6.1. Limitaciones

La presente tesis doctoral presenta varias limitaciones que deben considerarse al interpretar los resultados. Si bien, estas no disminuyen la relevancia de los hallazgos ni su aportación al conocimiento sobre biomarcadores en cáncer de pulmón de célula pequeña.

En primer lugar, se trata de un estudio retrospectivo de un único centro, lo que podría conducir a sesgos de selección, y limitar la extrapolación de los resultados a otras poblaciones. Sin embargo, este diseño permitió disponer de un seguimiento clínico homogéneo que asegurase la calidad y consistencia de los datos, así como del tratamiento realizado. El tamaño muestral fue destacable considerando otros estudios similares con esta histología. Si bien fue moderado para análisis por subgrupos, permitió generar hallazgos relevantes de manera independiente, tanto en la cohorte de pacientes con enfermedad limitada como en la de extensa.

La heterogeneidad en los tratamientos, incluyendo el tipo de platino utilizado, la adición de radioterapia, o la concurrencia o secuencialidad de esta, podría haber influido en los resultados de supervivencia, si bien se realizaron ajustes multivariados de cara a minimizar sesgos. No obstante, dicha heterogeneidad es un reflejo de la práctica clínica en vida real.

La selección de polimorfismos se basó en la evidencia reportada en la literatura previa, lo que no permite descartar la existencia de otras variantes genéticas de relevancia. Este diseño permitió utilizar variantes con evidencia biológica y clínica previa, aumentando la posibilidad de detectar asociaciones significativas y de generar hipótesis para futuras investigaciones en CSCP.

Pese a que el material histológico no estuvo disponible de todos los pacientes para los estudios de IHQ o PLA, lo que pudo afectar la potencia estadística y la detección de

asociaciones de pequeño tamaño, los hallazgos obtenidos de los análisis con expresión proteica refuerzan la relevancia clínica de las asociaciones farmacogenéticas obtenidas.

La determinación de la expresión de ERCC1 y PD-L1 por IHQ puede estar sujeta a variabilidad técnica y de interobservador, aunque la IHQ es una técnica ampliamente aceptada y utilizada como técnica estándar, tanto en investigación como en diagnóstico clínico. Además, la evaluación del complejo ERCC1-XPF mediante PLA no ha sido explorada previamente para la determinación de la isoforma ERCC1 202 funcional en cáncer de pulmón, por lo que el punto de corte óptimo para la positividad en la técnica no está establecido, y los resultados se han de interpretar con cautela si se comparan con resultados de otros estudios. Si bien, se considera una técnica que podría abrir la puerta a estudios prospectivos de validación.

Finalmente, aunque los resultados carecen de una cohorte de validación externa, este trabajo sienta las bases para futuras investigaciones, ofreciendo hallazgos novedosos y clínicamente relevantes que puedan orientar investigaciones futuras y estrategias personalizadas en el tratamiento de pacientes con cáncer de pulmón de célula pequeña.

7. CONCLUSIONES

1.- Las alteraciones moleculares en la vía de reparación del ADN son potenciales biomarcadores de la eficacia y la toxicidad del tratamiento con platino-etopósido en el cáncer de pulmón de célula pequeña:

- La variante rs11615 en el gen *ERCC1* predice supervivencia en enfermedad limitada.
- La ausencia de expresión del complejo proteico ERCC1-XPF se relaciona con mejores resultados clínicos en enfermedad limitada.
- La variante rs179979 en el gen *ERCC2* predice trombocitopenia severa.

2.- Las variantes farmacogenéticas en genes codificantes de puntos de control inmunitario son potenciales biomarcadores de la eficacia del tratamiento con platino-etopósido en el cáncer de pulmón de célula pequeña, lo que respalda un posible efecto inmunomodulador del platino:

- Las variantes rs2297136 y rs822336 en el gen *CD274* predicen la supervivencia libre de progresión y la sensibilidad al platino en enfermedad extensa.

3.- La determinación de alteraciones moleculares en ERCC1 podría orientar un enfoque terapéutico individualizado, mientras que la evaluación de las variantes genéticas en el gen *CD274* podrían predecir la eficacia de tratamientos posteriores en cáncer de pulmón de célula pequeña tratado con platino-etopósido.

8. LÍNEAS DE FUTURO

Como consecuencia de los resultados de la presente tesis doctoral, que asociaron variantes genéticas en *CD274* y *CTLA-4* con la sensibilidad al platino y la supervivencia en pacientes con cáncer de pulmón de célula pequeña con enfermedad extensa, se ha diseñado un estudio que evalúa la asociación entre dichos polimorfismos y la respuesta, la sensibilidad a platino y la supervivencia en una cohorte de pacientes tratados con quimioterapia basada en platino y etopósido en combinación con ICI.

Otro estudio, que actualmente se está desarrollando, también complementa los mencionados resultados de la presente tesis doctoral y explora el papel de los linfocitos infiltrantes de tumor (TILs) como posibles factores predictivos de eficacia de la quimioterapia basada en platino y etopósido. Este análisis permitirá integrar la información de TILs, de la expresión de PD-L1 y de las variantes germinales en genes relacionados con puntos de control inmunitario para comprender mejor los determinantes de la respuesta a la quimioterapia basada en platino.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Zhou J, Xu Y, Liu J, Feng L, Yu J, Chen D. Global burden of lung cancer in 2022 and projections to 2050: Incidence and mortality estimates from GLOBOCAN. *Cancer Epidemiol.* 2024 Dec;93:102693.
2. Jeon J, Holford TR, Levy DT, Feuer EJ, Cao P, Tam J, et al. Smoking and Lung Cancer Mortality in the United States From 2015 to 2065: A Comparative Modeling Approach. *Ann Intern Med.* 2018 Nov 20;169(10):684–93.
3. Jani CT, Singh H, Abdallah N, Mouchati C, Arora S, Kareff S, et al. Trends in Lung Cancer Incidence and Mortality (1990-2019) in the United States: A Comprehensive Analysis of Gender and State-Level Disparities. *JCO Glob Oncol.* 2023 Sept;(9):e2300255.
4. Jemal A, Miller KD, Ma J, Siegel RL, Fedewa SA, Islami F, et al. Higher Lung Cancer Incidence in Young Women Than Young Men in the United States. *N Engl J Med.* 2018 May 24;378(21):1999–2009.
5. Lewis DR, Check DP, Caporaso NE, Travis WD, Devesa SS. US lung cancer trends by histologic type. *Cancer.* 2014 Sept 15;120(18):2883–92.
6. Samet JM, Avila-Tang E, Boffetta P, Hannan LM, Olivo-Marston S, Thun MJ, et al. Lung Cancer in Never Smokers: Clinical Epidemiology and Environmental Risk Factors. *Clin Cancer Res.* 2009 Sept 14;15(18):5626–45.
7. Pelosof L, Ahn C, Gao A, Horn L, Madrigales A, Cox J, et al. Proportion of Never-Smoker Non-Small Cell Lung Cancer Patients at Three Diverse Institutions. *J Natl Cancer Inst.* 2017 Jan;109(7):djw295.
8. LoPiccolo J, Gusev A, Christiani DC, Jänne PA. Lung cancer in patients who have never smoked — an emerging disease. *Nat Rev Clin Oncol.* 2024 Feb;21(2):121–46.
9. Thomas A, Mian I, Tlemsani C, Pongor L, Takahashi N, Maignan K, et al. Clinical and Genomic Characteristics of Small Cell Lung Cancer in Never Smokers: Results From a Retrospective Multicenter Cohort Study. *Chest.* 2020 Oct 1;158(4):1723–33.

10. Rodríguez-Martínez Á, Torres-Durán M, Barros-Dios JM, Ruano-Ravina A. Residential radon and small cell lung cancer. A systematic review. *Cancer Lett.* 2018 July 10;426:57–62.
11. Aldington S, Harwood M, Cox B, Weatherall M, Beckert L, Hansell A, et al. CANNABIS USE AND RISK OF LUNG CANCER: A CASE-CONTROL STUDY. *Eur Respir J.* 2008 Feb;31(2):280–6.
12. Nicholson AG, Tsao MS, Beasley MB, Borczuk AC, Brambilla E, Cooper WA, et al. The 2021 WHO Classification of Lung Tumors: Impact of Advances Since 2015. *J Thorac Oncol.* 2022 Mar 1;17(3):362–87.
13. Lung Cancer Statistics | How Common is Lung Cancer? [Internet]. [cited 2025 Feb 12]. Available from: <https://www.cancer.org/cancer/types/lung-cancer/about/key-statistics.html>
14. Ou SHI, Ziogas A, Zell JA. Prognostic Factors for Survival in Extensive Stage Small Cell Lung Cancer (ED-SCLC): The Importance of Smoking History, Socioeconomic and Marital Statuses, and Ethnicity. *J Thorac Oncol.* 2009 Jan 1;4(1):37–43.
15. Govindan R, Page N, Morgensztern D, Read W, Tierney R, Vlahiotis A, et al. Changing Epidemiology of Small-Cell Lung Cancer in the United States Over the Last 30 Years: Analysis of the Surveillance, Epidemiologic, and End Results Database. *J Clin Oncol.* 2006 Oct 1;24(28):4539–44.
16. Koning HJ de, Aalst CM van der, Jong PA de, Scholten ET, Nackaerts K, Heuvelmans MA, et al. Reduced Lung-Cancer Mortality with Volume CT Screening in a Randomized Trial. *N Engl J Med.* 2020 Feb 6;382(6):503–13.
17. National Lung Screening Trial Research Team. Reduced Lung-Cancer Mortality with Low-Dose Computed Tomographic Screening. *N Engl J Med.* 2011 Aug 4;365(5):395–409.
18. Silva M, Galeone C, Sverzellati N, Marchianò A, Calareso G, Sestini S, et al. Screening with Low-Dose Computed Tomography Does Not Improve Survival of Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2016 Feb 1;11(2):187–93.
19. Tsao MS, Rosenthal A, Nicholson AG, Detterbeck F, Eberhardt WEE, Lievens Y, et al. The International Association for the Study of Lung Cancer Staging Project: The

- Database and Proposal for the Revision of the Staging of Pulmonary Neuroendocrine Carcinoma in the Forthcoming Ninth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol* [Internet]. 2025 Jan 24 [cited 2025 Feb 17]; Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1556086425000462>
20. George J, Lim JS, Jang SJ, Cun Y, Ozretić L, Kong G, et al. Comprehensive genomic profiles of small cell lung cancer. *Nature*. 2015 Aug 6;524(7563):47–53.
 21. Rudin CM, Brambilla E, Faivre-Finn C, Sage J. Small-cell lung cancer. *Nat Rev Dis Primer*. 2021 Jan 14;7(1):3.
 22. Oser MG, Sabet AH, Gao W, Chakraborty AA, Schinzel AC, Jennings RB, et al. The KDM5A/RBP2 histone demethylase represses NOTCH signaling to sustain neuroendocrine differentiation and promote small cell lung cancer tumorigenesis. *Genes Dev*. 2019 Dec 1;33(23–24):1718–38.
 23. Owen DH, Giffin MJ, Bailis JM, Smit MAD, Carbone DP, He K. DLL3: an emerging target in small cell lung cancer. *J Hematol Oncol* *J Hematol Oncol*. 2019 June 18;12(1):61.
 24. Meder L, König K, Ozretić L, Schultheis AM, Ueckerth F, Ade CP, et al. NOTCH, ASCL1, p53 and RB alterations define an alternative pathway driving neuroendocrine and small cell lung carcinomas. *Int J Cancer*. 2016 Feb 15;138(4):927–38.
 25. Peifer M, Fernández-Cuesta L, Sos ML, George J, Seidel D, Kasper LH, et al. Integrative genome analyses identify key somatic driver mutations of small cell lung cancer. *Nat Genet*. 2012 Sept 2;44(10):1104.
 26. Borromeo MD, Savage TK, Kollipara RK, He M, Augustyn A, Osborne JK, et al. ASCL1 and NEUROD1 Reveal Heterogeneity in Pulmonary Neuroendocrine Tumors and Regulate Distinct Genetic Programs. *Cell Rep*. 2016 Aug 2;16(5):1259–72.
 27. Rudin CM, Poirier JT, Byers LA, Dive C, Dowlati A, George J, et al. Molecular subtypes of small cell lung cancer: a synthesis of human and mouse model data. *Nat Rev Cancer*. 2019 May;19(5):289–97.
 28. Gay CM, Stewart CA, Park EM, Diao L, Groves SM, Heeke S, et al. Patterns of transcription factor programs and immune pathway activation define four major

- subtypes of SCLC with distinct therapeutic vulnerabilities. *Cancer Cell*. 2021 Mar 8;39(3):346-360.e7.
29. Aijaz A, Pannu S, Abushukair H, Mitchell CL, Hsu ML, Johnson ML, et al. Taking a Bite Out of Small Cell Lung Cancer By Leveraging Precision-Directed Delta-Like Ligand-3 Therapies. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2025 May 29;45(3):e472794.
 30. Wang WZ, Shulman A, Amann JM, Carbone DP, Tsihchlis PN. Small cell lung cancer: Subtypes and therapeutic implications. *Semin Cancer Biol*. 2022 Nov 1;86:543–54.
 31. Chen Y, Li H, Fan Y. Shaping the tumor immune microenvironment of SCLC: Mechanisms, and opportunities for immunotherapy. *Cancer Treat Rev*. 2023 Nov;120:102606.
 32. Ogino A, Choi J, Lin M, Wilkens MK, Calles A, Xu M, et al. Genomic and pathological heterogeneity in clinically diagnosed small cell lung cancer in never/light smokers identifies therapeutically targetable alterations. *Mol Oncol*. 2021 Jan;15(1):27–42.
 33. Paz-Ares L, Garassino MC, Chen Y, Reinmuth N, Hotta K, Poltoratskiy A, et al. Durvalumab ± Tremelimumab + Platinum-Etoposide in Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer (CASPIAN): Outcomes by PD-L1 Expression and Tissue Tumor Mutational Burden. *Clin Cancer Res*. 2024 Feb 16;30(4):824–35.
 34. Carvajal-Hausdorf D, Altan M, Velcheti V, Gettinger SN, Herbst RS, Rimm DL, et al. Expression and clinical significance of PD-L1, B7-H3, B7-H4 and TILs in human small cell lung Cancer (SCLC). *J Immunother Cancer* [Internet]. 2019 Mar 8 [cited 2025 Sept 11]; Available from: <https://jitc.bmj.com/content/7/1/65>
 35. Huinen ZR, Huijbers EJM, van Beijnum JR, Nowak-Sliwinska P, Griffioen AW. Anti-angiogenic agents — overcoming tumour endothelial cell anergy and improving immunotherapy outcomes. *Nat Rev Clin Oncol*. 2021 Aug;18(8):527–40.
 36. Dangaj D, Bruand M, Grimm AJ, Ronet C, Barras D, Duttagupta PA, et al. Cooperation between Constitutive and Inducible Chemokines Enables T Cell Engraftment and Immune Attack in Solid Tumors. [cited 2025 Sept 11]; Available from: [https://www.cell.com/cancer-cell/abstract/S1535-6108\(19\)30242-9](https://www.cell.com/cancer-cell/abstract/S1535-6108(19)30242-9)

37. Zhu M, Huang Y, Bender ME, Girard L, Kollipara R, Eglenen-Polat B, et al. Evasion of Innate Immunity Contributes to Small Cell Lung Cancer Progression and Metastasis. *Cancer Res.* 2021 Apr 1;81(7):1813–26.
38. Najafi M, Farhood B, Mortezaee K. Contribution of regulatory T cells to cancer: A review. *J Cell Physiol.* 2019;234(6):7983–93.
39. Bonanno L, Pavan A, Dieci MV, Liso ED, Schiavon M, Comacchio G, et al. The role of immune microenvironment in small-cell lung cancer: Distribution of PD-L1 expression and prognostic role of FOXP3-positive tumour infiltrating lymphocytes. [cited 2025 Sept 11]; Available from: [https://www.ejcancer.com/article/S0959-8049\(18\)30937-7/abstract](https://www.ejcancer.com/article/S0959-8049(18)30937-7/abstract)
40. Dora D, Rivard C, Yu H, Pickard SL, Laszlo V, Harko T, et al. Characterization of Tumor-Associated Macrophages and the Immune Microenvironment in Limited-Stage Neuroendocrine-High and -Low Small Cell Lung Cancer. *Biology.* 2021 June 4;10(6):502.
41. Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol.* 2009 Mar;9(3):162–74.
42. Lu Y, Li H, Zhao P, Tian L, Liu Y, Sun X, et al. Dynamic phenotypic reprogramming and chemoresistance induced by lung fibroblasts in small cell lung cancer. *Sci Rep.* 2024 Feb 5;14(1):2884.
43. Chute JP, Chen T, Feigal E, Simon R, Johnson BE. Twenty years of phase III trials for patients with extensive-stage small-cell lung cancer: perceptible progress. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1999 June;17(6):1794–801.
44. Pujol JL, Carestia L, Daurès JP. Is there a case for cisplatin in the treatment of small-cell lung cancer? A meta-analysis of randomized trials of a cisplatin-containing regimen versus a regimen without this alkylating agent. *Br J Cancer.* 2000 July;83(1):8–15.
45. Mascaux C, Paesmans M, Berghmans T, Branle F, Lafitte JJ, Lemaître F, et al. A systematic review of the role of etoposide and cisplatin in the chemotherapy of small cell lung cancer with methodology assessment and meta-analysis. *Lung Cancer.* 2000 Oct 1;30(1):23–36.

46. Sundstrøm S, Bremnes RM, Kaasa S, Aasebø U, Hatlevoll R, Dahle R, et al. Cisplatin and Etoposide Regimen Is Superior to Cyclophosphamide, Epirubicin, and Vincristine Regimen in Small-Cell Lung Cancer: Results From a Randomized Phase III Trial With 5 Years' Follow-Up. *J Clin Oncol*. 2002 Dec 15;20(24):4665–72.
47. Azar I, Yazdanpanah O, Jang H, Austin A, Kim S, Chi J, et al. Comparison of Carboplatin With Cisplatin in Small Cell Lung Cancer in US Veterans. *JAMA Netw Open*. 2022 Oct 20;5(10):e2237699.
48. Rossi A, Di Maio M, Chiodini P, Rudd RM, Okamoto H, Skarlos DV, et al. Carboplatin- or cisplatin-based chemotherapy in first-line treatment of small-cell lung cancer: the COCIS meta-analysis of individual patient data. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2012 May 10;30(14):1692–8.
49. Noda K, Nishiwaki Y, Kawahara M, Negoro S, Sugiura T, Yokoyama A, et al. Irinotecan plus Cisplatin Compared with Etoposide plus Cisplatin for Extensive Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2002 Jan 10;346(2):85–91.
50. Lara PN, Natale R, Crowley J, Lenz HJ, Redman MW, Carleton JE, et al. Phase III Trial of Irinotecan/Cisplatin Compared With Etoposide/Cisplatin in Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer: Clinical and Pharmacogenomic Results From SWOG S0124. *J Clin Oncol*. 2009 May 20;27(15):2530–5.
51. Hanna N, Bunn PA, Langer C, Einhorn L, Guthrie T, Beck T, et al. Randomized Phase III Trial Comparing Irinotecan/Cisplatin With Etoposide/Cisplatin in Patients With Previously Untreated Extensive-Stage Disease Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2006 May;24(13):2038–43.
52. Jiang J, Liang X, Zhou X, Huang L, Huang R, Chu Z, et al. A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials Comparing Irinotecan/Platinum with Etoposide/Platinum in Patients with Previously Untreated Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer. [cited 2025 Aug 4]; Available from: [https://www.jto.org/article/S1556-0864\(15\)30517-7/fulltext](https://www.jto.org/article/S1556-0864(15)30517-7/fulltext)
53. Jiang S, Huang L, Zhen H, Jin P, Wang J, Hu Z. Carboplatin versus cisplatin in combination with etoposide in the first-line treatment of small cell lung cancer: a pooled analysis. *BMC Cancer*. 2021 Dec 7;21(1):1308.

54. Faivre-Finn C, Snee M, Ashcroft L, Appel W, Barlesi F, Bhatnagar A, et al. Concurrent once-daily versus twice-daily chemoradiotherapy in patients with limited-stage small-cell lung cancer (CONVERT): an open-label, phase 3, randomised, superiority trial. *Lancet Oncol.* 2017 Aug;18(8):1116–25.
55. Horn L, Mansfield AS, Szczesna A, Havel L, Krzakowski M, Hochmair MJ, et al. First-Line Atezolizumab plus Chemotherapy in Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2018 Dec 6;379(23):2220–9.
56. Paz-Ares L, Dvorkin M, Chen Y, Reinmuth N, Hotta K, Trukhin D, et al. Durvalumab plus platinum-etoposide versus platinum-etoposide in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer (CASPIAN): a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Lond Engl.* 2019 Nov 23;394(10212):1929–39.
57. Crawford J, Ozer H, Stoller R, Johnson D, Lyman G, Tabbara I, et al. Reduction by Granulocyte Colony-Stimulating Factor of Fever and Neutropenia Induced by Chemotherapy in Patients with Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 1991 July 18;325(3):164–70.
58. Messori A, Trippoli S, Tendi E. G-CSF for the prophylaxis of neutropenic fever in patients with small cell lung cancer receiving myelosuppressive antineoplastic chemotherapy: meta-analysis and pharmacoeconomic evaluation. *J Clin Pharm Ther.* 1996;21(2):57–63.
59. Berghmans T, Paesmans M, Lafitte J, Mascaux C, Meert A, Jacquy C, et al. Therapeutic use of granulocyte and granulocyte-macrophage colony-stimulating factors in febrile neutropenic cancer patients. *Support Care Cancer.* 2014 Mar 2;10(3):181–8.
60. Weiss JM, Csoszi T, Maglakelidze M, Hoyer RJ, Beck JT, Gomez MD, et al. Myelopreservation with the CDK4/6 inhibitor trilaciclib in patients with small-cell lung cancer receiving first-line chemotherapy: a phase Ib/randomized phase II trial. [cited 2025 Aug 5]; Available from: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(19\)60981-6/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(19)60981-6/fulltext)
61. Daniel D, Kuchava V, Bondarenko I, Ivashchuk O, Reddy S, Jaal J, et al. Trilaciclib prior to chemotherapy and atezolizumab in patients with newly diagnosed extensive-stage small cell lung cancer: A multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled Phase II trial. *Int J Cancer.* 2021;148(10):2557–70.

62. Khurshid H, Ismaila N, Bian J, Dabney R, Das M, Ellis P, et al. Systemic Therapy for Small-Cell Lung Cancer: ASCO-Ontario Health (Cancer Care Ontario) Guideline. *J Clin Oncol*. 2023 Dec 10;41(35):5448–72.
63. Bogart J, Wang X, Masters G, Gao J, Komaki R, Gaspar LE, et al. High-Dose Once-Daily Thoracic Radiotherapy in Limited-Stage Small-Cell Lung Cancer: CALGB 30610 (Alliance)/RTOG 0538. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2023 May 1;41(13):2394–402.
64. National Comprehensive Cancer Network. Small Cell Lung Cancer. Version 3.2025 [Internet]. Plymouth Meeting (PA); 2025 June. Available from: <https://www.nccn.org>
65. Cheng Y, Spigel DR, Cho BC, Laktionov KK, Fang J, Chen Y, et al. Durvalumab after Chemoradiotherapy in Limited-Stage Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2024 Oct 10;391(14):1313–27.
66. Peters S, Pujol JL, Dafni U, Dómine M, Popat S, Reck M, et al. Consolidation nivolumab and ipilimumab versus observation in limited-disease small-cell lung cancer after chemo-radiotherapy - results from the randomised phase II ETOP/IFCT 4-12 STIMULI trial. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2022 Jan;33(1):67–79.
67. Higgins, K., Hu, C., Ross, H.J., Jabbour, S.K., Kozono, D.E., Owonikoko, T.K., et al. LBA02 - Concurrent Chemoradiation +/- Atezolizumab (atezo) in Limited-Stage Small Cell Lung Cancer (LS-SCLC): Results of NRG Oncology/Alliance LU005. In Washington, USA; 2024.
68. Gronberg BH, Aanerud M, Dumoulin DW, Nyman J, Schytte T, Bjaanæs MM, et al. Randomized phase II trial investigating whether atezolizumab after chemoradiotherapy (CRT) prolongs survival in limited stage (LS) small cell lung cancer (SCLC). *J Clin Oncol*. 2025 June 10;43(17_suppl):LBA8005–LBA8005.
69. Pignon JP, Arriagada R, Ihde DC, Johnson DH, Perry MC, Souhami RL, et al. A meta-analysis of thoracic radiotherapy for small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 1992 Dec 3;327(23):1618–24.
70. Warde P, Payne D. Does thoracic irradiation improve survival and local control in limited-stage small-cell carcinoma of the lung? A meta-analysis. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1992 June;10(6):890–5.

71. Takada M, Fukuoka M, Kawahara M, Sugiura T, Yokoyama A, Yokota S, et al. Phase III study of concurrent versus sequential thoracic radiotherapy in combination with cisplatin and etoposide for limited-stage small-cell lung cancer: results of the Japan Clinical Oncology Group Study 9104. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2002 July 15;20(14):3054–60.
72. Fried DB, Morris DE, Poole C, Rosenman JG, Halle JS, Detterbeck FC, et al. Systematic review evaluating the timing of thoracic radiation therapy in combined modality therapy for limited-stage small-cell lung cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2004 Dec 1;22(23):4837–45.
73. De Ruyscher D, Lueza B, Le Péchoux C, Johnson DH, O'Brien M, Murray N, et al. Impact of thoracic radiotherapy timing in limited-stage small-cell lung cancer: usefulness of the individual patient data meta-analysis. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2016 Oct;27(10):1818–28.
74. Turrisi AT, Kim K, Blum R, Sause WT, Livingston RB, Komaki R, et al. Twice-Daily Compared with Once-Daily Thoracic Radiotherapy in Limited Small-Cell Lung Cancer Treated Concurrently with Cisplatin and Etoposide. *N Engl J Med*. 1999 Jan 28;340(4):265–71.
75. Walls GM, Mistry H, Barlesi F, Bezjak A, Pechoux CL, O'Brien M, et al. Long-Term Outcomes After Concurrent Once- or Twice-Daily Chemoradiation in Limited-Stage Small Cell Lung Cancer: A Brief Report From the CONVERT Trial. [cited 2025 July 6]; Available from: [https://www.redjournal.org/article/S0360-3016\(24\)00382-1/fulltext](https://www.redjournal.org/article/S0360-3016(24)00382-1/fulltext)
76. Simone CB, Bogart JA, Cabrera AR, Daly ME, DeNunzio NJ, Detterbeck F, et al. Radiation Therapy for Small Cell Lung Cancer: An ASTRO Clinical Practice Guideline. *Pract Radiat Oncol*. 2020;10(3):158–73.
77. Yu J, Jiang L, Zhao L, Yang X, Wang X, Yang D, et al. High-dose hyperfractionated simultaneous integrated boost radiotherapy versus standard-dose radiotherapy for limited-stage small-cell lung cancer in China: a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Respir Med*. 2024 Oct;12(10):799–809.
78. Liu J, Shen B, Yang Y, Guo J, Ren W, Zhou Q, et al. Survival benefit of prophylactic cranial irradiation in limited-stage small-cell lung cancer in modern magnetic resonance imaging staging: a systematic review and meta-analysis. *Acta Oncol*. 2023 Mar 4;62(3):305–14.

79. Aupérin A, Arriagada R, Pignon JP, Le Péchoux C, Gregor A, Stephens RJ, et al. Prophylactic cranial irradiation for patients with small-cell lung cancer in complete remission. Prophylactic Cranial Irradiation Overview Collaborative Group. *N Engl J Med*. 1999 Aug 12;341(7):476–84.
80. Tomassen ML, Pomp J, van der Stap J, van Lindert ASR, Peters M, Belderbos JSA, et al. The overall survival impact of prophylactic cranial irradiation in limited-stage small-cell lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *Clin Transl Radiat Oncol*. 2022 Mar;33:145–52.
81. Takahashi T, Yamanaka T, Seto T, Harada H, Nokihara H, Saka H, et al. Prophylactic cranial irradiation versus observation in patients with extensive-disease small-cell lung cancer: a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2017 May;18(5):663–71.
82. Zhao X, Kallakury B, Chahine JJ, Hartmann D, Zhang Y, Chen Y, et al. Surgical Resection of SCLC: Prognostic Factors and the Tumor Microenvironment. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2019 May;14(5):914–23.
83. Yang CFJ, Chan DY, Speicher PJ, Gulack BC, Wang X, Hartwig MG, et al. Role of Adjuvant Therapy in a Population-Based Cohort of Patients With Early-Stage Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2016 Apr 1;34(10):1057–64.
84. Dingemans AMC, Früh M, Ardizzoni A, Besse B, Faivre-Finn C, Hendriks LE, et al. Small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up☆. *Ann Oncol*. 2021 July 1;32(7):839–53.
85. Cheng Y, Han L, Wu L, Chen J, Sun H, Wen G, et al. Effect of First-Line Serplulimab vs Placebo Added to Chemotherapy on Survival in Patients With Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer: The ASTRUM-005 Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2022 Sept 27;328(12):1223–32.
86. Rudin CM, Awad MM, Navarro A, Gottfried M, Peters S, Csősz T, et al. Pembrolizumab or Placebo Plus Etoposide and Platinum as First-Line Therapy for Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer: Randomized, Double-Blind, Phase III KEYNOTE-604 Study. *J Clin Oncol*. 2020 July 20;38(21):2369–79.
87. Wang J, Zhou C, Yao W, Wang Q, Min X, Chen G, et al. Adebrelimab or placebo plus carboplatin and etoposide as first-line treatment for extensive-stage small-cell lung

- cancer (CAPSTONE-1): a multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol.* 2022 June;23(6):739–47.
88. Cheng Y, Chen J, Zhang W, Xie C, Hu Q, Zhou N, et al. Benmelstobart, anlotinib and chemotherapy in extensive-stage small-cell lung cancer: a randomized phase 3 trial. *Nat Med.* 2024 Oct;30(10):2967–76.
 89. Paz-Ares L, Chen Y, Reinmuth N, Hotta K, Trukhin D, Statsenko G, et al. Durvalumab, with or without tremelimumab, plus platinum-etoposide in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer: 3-year overall survival update from CASPIAN☆. [cited 2025 July 24]; Available from: [https://www.esmoopen.com/article/S2059-7029\(22\)00029-1/fulltext](https://www.esmoopen.com/article/S2059-7029(22)00029-1/fulltext)
 90. Goldman JW, Dvorkin M, Chen Y, Reinmuth N, Hotta K, Trukhin D, et al. Durvalumab, with or without tremelimumab, plus platinum–etoposide versus platinum–etoposide alone in first-line treatment of extensive-stage small-cell lung cancer (CASPIAN): updated results from a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. [cited 2025 July 24]; Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(20\)30539-8/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(20)30539-8/abstract)
 91. Rudin CM, Liu SV, Soo RA, Lu S, Hong MH, Lee JS, et al. SKYSCRAPER-02: Tiragolumab in Combination With Atezolizumab Plus Chemotherapy in Untreated Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2024 Jan 20;42(3):324–35.
 92. Paz-Ares L, Borghaei H, Liu SV, Peters S, Herbst RS, Stencel K, et al. Efficacy and safety of first-line maintenance therapy with lurbinectedin plus atezolizumab in extensive-stage small-cell lung cancer (IMforte): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 trial. *Lancet Lond Engl.* 2025 June 14;405(10495):2129–43.
 93. Reck M, Dziadziuszko R, Sugawara S, Kao S, Hochmair M, Huemer F, et al. Five-year survival in patients with extensive-stage small cell lung cancer treated with atezolizumab in the Phase III IMpower133 study and the Phase III IMbrella A extension study. [cited 2025 July 6]; Available from: [https://www.lungcancerjournal.info/article/S0169-5002\(24\)00458-6/abstract](https://www.lungcancerjournal.info/article/S0169-5002(24)00458-6/abstract)
 94. Rudin CM, Kim HR, Navarro A, Gottfried M, Peters S, Csősz T, et al. OA12.06 First-Line Pembrolizumab or Placebo Combined with Etoposide and Platinum for ES-SCLC:

- KEYNOTE-604 Long-Term Follow-Up Results. [cited 2025 July 6]; Available from: [https://www.jto.org/article/S1556-0864\(22\)00404-X/fulltext](https://www.jto.org/article/S1556-0864(22)00404-X/fulltext)
95. Cheng Y, Wang J, Zhou C, Yao W, Wang QM, Min X, et al. 84P Adebrelimab plus chemotherapy (chemo) as first-line treatment for extensive-stage small-cell lung cancer (ES-SCLC): 3-year update of the phase III CAPSTONE-1 study. [cited 2025 July 6]; Available from: [https://www.esmoitech.org/article/S2590-0188\(23\)00219-8/fulltext](https://www.esmoitech.org/article/S2590-0188(23)00219-8/fulltext)
 96. Cheng Y, Han L, Wu L, Chen J, Sun H, Wen G, et al. Serplulimab versus placebo plus chemotherapy as first-line treatment for extensive-stage small-cell lung cancer: Efficacy and safety from the end-of-study analysis of the international phase 3 ASTRUM-005 study. *J Clin Oncol*. 2025 June;43(16_suppl):8093–8093.
 97. Ireland AS, Micinski AM, Kastner DW, Guo B, Wait SJ, Spainhower KB, et al. MYC Drives Temporal Evolution of Small Cell Lung Cancer Subtypes by Reprogramming Neuroendocrine Fate. *Cancer Cell*. 2020 July 13;38(1):60-78.e12.
 98. George J, Maas L, Abedpour N, Cartolano M, Kaiser L, Fischer RN, et al. Evolutionary trajectories of small cell lung cancer under therapy. *Nature*. 2024 Mar;627(8005):880–9.
 99. O'Brien MER, Ciuleanu TE, Tsekov H, Shparyk Y, Čučević B, Juhasz G, et al. Phase III Trial Comparing Supportive Care Alone With Supportive Care With Oral Topotecan in Patients With Relapsed Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2006 Dec;24(34):5441–7.
 100. von Pawel J, Schiller JH, Shepherd FA, Fields SZ, Kleisbauer JP, Chrysson NG, et al. Topotecan Versus Cyclophosphamide, Doxorubicin, and Vincristine for the Treatment of Recurrent Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 1999 Feb;17(2):658–658.
 101. Horita N, Yamamoto M, Sato T, Tsukahara T, Nagakura H, Tashiro K, et al. Topotecan for Relapsed Small-cell Lung Cancer: Systematic Review and Meta-Analysis of 1347 Patients. *Sci Rep*. 2015 Oct 21;5(1):15437.
 102. Trigo J, Subbiah V, Besse B, Moreno V, López R, Sala MA, et al. Lurbinectedin as second-line treatment for patients with small-cell lung cancer: a single-arm, open-label, phase 2 basket trial. [cited 2025 July 26]; Available from:

[https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045\(20\)30068-1/abstract](https://www.thelancet.com/journals/lanonc/article/PIIS1470-2045(20)30068-1/abstract)

103. Ponce Aix S, Navarro A, Olmedo Garcia ME, Mezquita L, Majem M, Vicente D, et al. Safety and efficacy of lurbinectedin plus atezolizumab as second-line treatment for advanced small-cell lung cancer: Results of the 2SMALL phase 1/2 study (NCT04253145). *J Clin Oncol*. 2025 June;43(16_suppl):8013–8013.
104. Calles A, Navarro A, Uribe BGD de S, Colomé EÁ, Miguel M de, Álvarez R, et al. Lurbinectedin Plus Pembrolizumab in Relapsed SCLC: The Phase I/II LUPER Study. [cited 2025 July 26]; Available from: <https://www.jto.org/article/S1556-0864%2825%2900064-4/fulltext>
105. Ahn MJ, Cho BC, Felip E, Korantzis I, Ohashi K, Majem M, et al. Tarlatamab for Patients with Previously Treated Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2023 Nov 29;389(22):2063–75.
106. Paz-Ares L, Champiat S, Lai WV, Izumi H, Govindan R, Boyer M, et al. Tarlatamab, a First-in-Class DLL3-Targeted Bispecific T-Cell Engager, in Recurrent Small-Cell Lung Cancer: An Open-Label, Phase I Study. *J Clin Oncol*. 2023 June;41(16):2893–903.
107. Mountzios G, Sun L, Cho BC, Demirci U, Baka S, Gümüş M, et al. Tarlatamab in Small-Cell Lung Cancer after Platinum-Based Chemotherapy. *N Engl J Med*. 2025 July 23;393(4):349–61.
108. Ai X, Zhang YY, Zhang T, Yi T, Li M, Yao W, et al. A phase 2 dose expansion study of ZG006, a trispecific T cell engager targeting CD3/DLL3/DLL3, as monotherapy in patients with advanced small cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2025 June;43(16_suppl):8007–8007.
109. Wermke M, Gambardella V, Kuboki Y, Felip E, Sanmamed MF, Alese OB, et al. Phase I Dose-Escalation Results for the Delta-Like Ligand 3/CD3 IgG-Like T-Cell Engager Obrixtamig (BI 764532) in Patients With Delta-Like Ligand 3+ Small Cell Lung Cancer or Neuroendocrine Carcinomas. *J Clin Oncol*. 2025 July 24;0(0):JCO-25-00363.
110. Beltran H, Johnson ML, Jain P, Schenk EL, Sanborn RE, Thompson JR, et al. Updated results from a phase 1/2 study of HPN328, a tri-specific, half-life (T1/2)

- extended DLL3-targeting T-cell engager in patients (pts) with small cell lung cancer (SCLC) and other neuroendocrine cancers (NEC). *J Clin Oncol*. 2024 June;42(16_suppl):8090–8090.
111. Wang J, Duan J, Wu L, Wang Q, Xing L, Sun Y, et al. OA04.06 Efficacy and Safety of HS-20093 in Extensive Stage Small Cell Lung Cancer in A Multicenter, Phase 1 Study (ARTEMIS-001). *J Thorac Oncol*. 2024 Oct 1;19(10, Supplement):S17.
 112. Rudin CM, Ahn MJ, Johnson M, Hann CL, Girard N, Nishio M, et al. OA04.03 Ifinatamab Deruxtecan (I-DXd) in Extensive-Stage Small Cell Lung Cancer (ES-SCLC): Interim Analysis of Ideate-lung01. [cited 2025 July 31]; Available from: [https://www.jto.org/article/S1556-0864\(24\)00907-9/abstract](https://www.jto.org/article/S1556-0864(24)00907-9/abstract)
 113. Wang J, Wu L, Li X, Xing N, Zhang S, Song Z, et al. OA04.05 SHR-A1921, A TROP-2 Targeted Antibody-Drug Conjugate (ADC), In Patients (pts) with Advanced Small-Cell Lung Cancer (SCLC). [cited 2025 July 31]; Available from: [https://www.jto.org/article/S1556-0864\(24\)00909-2/abstract](https://www.jto.org/article/S1556-0864(24)00909-2/abstract)
 114. Dowlati A, Chiang AC, Cervantes A, Babu S, Hamilton E, Wong SF, et al. OA04.04 Sacituzumab Govitecan as Second-Line Treatment in Patients with Extensive Stage Small Cell Lung Cancer. [cited 2025 July 31]; Available from: [https://www.jto.org/article/S1556-0864\(24\)00908-0/abstract](https://www.jto.org/article/S1556-0864(24)00908-0/abstract)
 115. Morgensztern D, Ready N, Johnson ML, Dowlati A, Choudhury N, Carbone DP, et al. A Phase I First-in-Human Study of ABBV-011, a Seizure-Related Homolog Protein 6–Targeting Antibody–Drug Conjugate, in Patients with Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2024 Nov 15;30(22):5042–52.
 116. Patel MR, Wu YLLC, Wang Z, Rocha P, Wang Q, Du Y, et al. ZL-1310, a DLL3 ADC, in patients with extensive stage small cell lung cancer: Ph1 trial update. *J Clin Oncol*. 2025 June;43(16_suppl):3041–3041.
 117. Dasari S, Tchounwou PB. Cisplatin in cancer therapy: molecular mechanisms of action. *Eur J Pharmacol*. 2014 Oct 5;740:364–78.
 118. Galluzzi L, Senovilla L, Vitale I, Michels J, Martins I, Kepp O, et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene*. 2012 Apr;31(15):1869–83.

119. Rocha CRR, Silva MM, Quinet A, Cabral-Neto JB, Menck CFM. DNA repair pathways and cisplatin resistance: an intimate relationship. *Clinics*. 2018 Jan 1;73:e478s.
120. Santivasi WL, Xia F. Ionizing Radiation-Induced DNA Damage, Response, and Repair. *Antioxid Redox Signal*. 2014 July 10;21(2):251–9.
121. Schärer OD. Nucleotide Excision Repair in Eukaryotes. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013 Oct;5(10):a012609.
122. Nitiss JL. Targeting DNA topoisomerase II in cancer chemotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2009 May;9(5):338–50.
123. Le TT, Wang MD. Topoisomerase II and etoposide — a tangled tale. *Nat Chem Biol*. 2023 May;19(5):546–7.
124. Pommier Y, Sun Y, Huang S yin N, Nitiss JL. Roles of eukaryotic topoisomerases in transcription, replication and genomic stability. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2016 Nov;17(11):703–21.
125. Wu CC, Li TK, Farh L, Lin LY, Lin TS, Yu YJ, et al. Structural Basis of Type II Topoisomerase Inhibition by the Anticancer Drug Etoposide. *Science*. 2011 July 22;333(6041):459–62.
126. Franco F, Carcereny E, Guirado M, Ortega AL, López-Castro R, Rodríguez-Abreu D, et al. Epidemiology, treatment, and survival in small cell lung cancer in Spain: Data from the Thoracic Tumor Registry. [cited 2025 Aug 6]; Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0251761>
127. Ma X, Zhang Z, Chen X, Zhang J, Nie J, Da L, et al. Prognostic factor analysis of patients with small cell lung cancer: Real-world data from 988 patients. *Thorac Cancer*. 2021;12(12):1841–50.
128. Wolf M, Holle R, Hans K, Drings P, Havemann K. Analysis of prognostic factors in 766 patients with small cell lung cancer (SCLC): The role of sex as a predictor for survival. *Br J Cancer*. 1991 Dec;63(6):986–92.
129. Kuo YW, Jerng JS, Shih JY, Chen KY, Yu CJ, Yang PC. The Prognostic Value of the Simplified Comorbidity Score in the Treatment of Small Cell Lung Carcinoma.

- [cited 2025 Aug 6]; Available from: [https://www.jto.org/article/S1556-0864\(15\)31944-4/references](https://www.jto.org/article/S1556-0864(15)31944-4/references)
130. Jiang AM, Zhao R, Liu N, Ma YY, Ren MD, Tian T, et al. The prognostic value of pretreatment prognostic nutritional index in patients with small cell lung cancer and its influencing factors: a meta-analysis of observational studies. [cited 2025 Aug 6]; Available from: <https://jtd.amegroups.org/article/view/44092/html>
 131. Liu S, Guo H, Kong L, Li H, Zhang Y, Zhu H, et al. The prognostic factors in the elderly patients with small cell lung cancer: a retrospective analysis from a single cancer institute. *Int J Clin Exp Pathol*. 2015 Sept 1;8(9):11033–41.
 132. Zhou Y, Wu Z, Wang H, Zhang K, Chen H, Zhu S, et al. Evaluation of the prognosis in patients with small-cell lung cancer treated by chemotherapy using tumor shrinkage rate-based radiomics. *Eur J Med Res*. 2024 Aug 2;29(1):401.
 133. Marcuello E, Altés A, Menoyo A, del Rio E, Gómez-Pardo M, Baiget M. UGT1A1 gene variations and irinotecan treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2004 Aug;91(4):678–82.
 134. Lee AM, Shi Q, Pavey E, Alberts SR, Sargent DJ, Sinicrope FA, et al. DPYD Variants as Predictors of 5-fluorouracil Toxicity in Adjuvant Colon Cancer Treatment (NCCTG N0147). *JNCI J Natl Cancer Inst*. 2014 Dec 1;106(12):dju298.
 135. García-Alfonso P, Saiz-Rodríguez M, Mondéjar R, Salazar J, Páez D, Borobia AM, et al. Consensus of experts from the Spanish Pharmacogenetics and Pharmacogenomics Society and the Spanish Society of Medical Oncology for the genotyping of DPYD in cancer patients who are candidates for treatment with fluoropyrimidines. *Clin Transl Oncol*. 2021 Nov 13;24(3):483–94.
 136. National Comprehensive Cancer Network (NCCN). NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Colon Cancer [Internet]. Report No.: Versión 4.2025. Available from: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/colon.pdf
 137. Sijbers AM, van der Spek PJ, Odijk H, van den Berg J, van Duin M, Westerveld A, et al. Mutational Analysis of the Human Nucleotide Excision Repair Gene ERCC1. *Nucleic Acids Res*. 1996 Sept 1;24(17):3370–80.

138. McNeil EM, Melton DW. DNA repair endonuclease ERCC1–XPF as a novel therapeutic target to overcome chemoresistance in cancer therapy. *Nucleic Acids Res.* 2012 Nov 1;40(20):9990–10004.
139. Zhang N, Liu X, Li L, Legerski R. Double-strand breaks induce homologous recombinational repair of interstrand cross-links via cooperation of MSH2, ERCC1-XPF, REV3, and the Fanconi anemia pathway. *DNA Repair.* 2007 Nov 1;6(11):1670–8.
140. Olaussen KA, Dunant A, Fouret P, Brambilla E, André F, Haddad V, et al. DNA Repair by ERCC1 in Non–Small-Cell Lung Cancer and Cisplatin-Based Adjuvant Chemotherapy. *N Engl J Med.* 2006 Sept 7;355(10):983–91.
141. Friboulet L, Olaussen KA, Pignon JP, Shepherd FA, Tsao MS, Graziano S, et al. ERCC1 Isoform Expression and DNA Repair in Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2013 Mar 21;368(12):1101–10.
142. Kuo MS, Adam J, Dorvault N, Robin A, Friboulet L, Soria JC, et al. A novel antibody-based approach to detect the functional ERCC1-202 isoform. *DNA Repair.* 2018 Apr 1;64:34–44.
143. Pérez-Ramírez C, Cañadas-Garre M, Alnatsha A, Villar E, Delgado JR, Faus-Dáder MJ, et al. Pharmacogenetic predictors of toxicity to platinum based chemotherapy in non-small cell lung cancer patients. *Pharmacol Res.* 2016 Sept 1;111:877–84.
144. Hamilton G, Rath B. Pharmacogenetics of platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer: predictive validity of polymorphisms of ERCC1. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2018 Jan 2;14(1):17–24.
145. Yu JJ, Lee KB, Mu C, Li Q, Abernathy TV, Bostick-Bruton F, et al. Comparison of two human ovarian carcinoma cell lines (A2780/CP70 and MCAS) that are equally resistant to platinum, but differ at codon 118 of the ERCC1 gene. [cited 2025 Aug 21]; Available from: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/ijo.16.3.555>
146. Xue P, Zhang G, Zhang H, Cui S, Zhang L, Yu T, et al. A miR-15a related polymorphism affects NSCLC prognosis via altering ERCC1 repair to platinum-based chemotherapy. *J Cell Mol Med.* 2022 Nov;26(21):5439–51.

147. Kokic G, Chernev A, Tegunov D, Dienemann C, Urlaub H, Cramer P. Structural basis of TFIIH activation for nucleotide excision repair. *Nat Commun.* 2019 June 28;10(1):2885.
148. Sung P, Bailly V, Weber C, Thompson LH, Prakash L, Prakash S. Human xeroderma pigmentosum group D gene encodes a DNA helicase. *Nature.* 1993 Oct;365(6449):852–5.
149. Coin F, Marinoni JC, Rodolfo C, Fribourg S, Pedrini AM, Egly JM. Mutations in the XPD helicase gene result in XP and TTD phenotypes, preventing interaction between XPD and the p44 subunit of TFIIH. *Nat Genet.* 1998 Oct;20(2):184–8.
150. Damia G, Broggini M. Platinum Resistance in Ovarian Cancer: Role of DNA Repair. *Cancers.* 2019 Jan 20;11(1):119.
151. Skinner KT, Palkar AM, Hong AL. Genetics of ABCB1 in Cancer. *Cancers.* 2023 Aug 24;15(17):4236.
152. Yano K, Kimura M, Watanabe Y, Ogiwara T. Rapid Increase of Gastrointestinal P-Glycoprotein Functional Activity in Response to Etoposide Stimulation. *Biol Pharm Bull.* 2021;44(5):701–6.
153. Lagas JS, Fan L, Wagenaar E, Vlaming MLH, van Tellingen O, Beijnen JH, et al. P-glycoprotein (P-gp/Abcb1), Abcc2, and Abcc3 Determine the Pharmacokinetics of Etoposide. *Clin Cancer Res.* 2010 Jan 4;16(1):130–40.
154. Omori M, Noro R, Seike M, Matsuda K, Hirao M, Fukuizumi A, et al. Inhibitors of ABCB1 and ABCG2 overcame resistance to topoisomerase inhibitors in small cell lung cancer. *Thorac Cancer.* 2022;13(15):2142–51.
155. Xu Z, Liang J, Fu R, Yang L, Xin Chen Y, Ren W, et al. Effect of PD-L1 Expression for the PD-1/L1 Inhibitors on Non-small Cell Lung Cancer: A Meta-analysis Based on Randomised Controlled Trials. *Clin Oncol.* 2023 Oct 1;35(10):640–51.
156. Lee JH, Yoo SS, Hong MJ, Choi JE, Kim S, Kang HG, et al. Impact of immune checkpoint gene CD155 Ala67Thr and CD226 Gly307Ser polymorphisms on small cell lung cancer clinical outcome. *Sci Rep.* 2021 Jan 19;11(1):1794.

157. Lee SY, Jung DK, Choi JE, Jin CC, Hong MJ, Do SK, et al. PD-L1 polymorphism can predict clinical outcomes of non-small cell lung cancer patients treated with first-line paclitaxel-cisplatin chemotherapy. *Sci Rep*. 2016 May 16;6(1):25952.
158. Hendriks LE, Kerr KM, Menis J, Mok TS, Nestle U, Passaro A, et al. Oncogene-addicted metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up☆. [cited 2025 Sept 28]; Available from: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(22\)04781-0/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(22)04781-0/fulltext)
159. Hendriks LE, Kerr KM, Menis J, Mok TS, Nestle U, Passaro A, et al. Non-oncogene-addicted metastatic non-small-cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up☆. [cited 2025 Sept 28]; Available from: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(22\)04785-8/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(22)04785-8/fulltext)
160. Furuta T, Ueda T, Aune G, Sarasin A, Kraemer KH, Pommier Y. Transcription-coupled Nucleotide Excision Repair as a Determinant of Cisplatin Sensitivity of Human Cells¹. *Cancer Res*. 2002 Sept 1;62(17):4899–902.
161. Sito H, Sharzehan MAK, Islam MA, Tan SC. Genetic Variants Associated With Response to Platinum-Based Chemotherapy in Non-Small Cell Lung Cancer Patients: A Field Synopsis and Meta-Analysis. *Br J Biomed Sci*. 2024 Feb 21;81:11835.
162. Wei H bo, Lu X shi, Shang L hua, Xu G, Hu J, Che D hai, et al. Polymorphisms of ERCC1 C118T/C8092A and MDR1 C3435T Predict Outcome of Platinum-based Chemotherapies in Advanced Non-small Cell Lung Cancer: A Meta-analysis. *Arch Med Res*. 2011 July 1;42(5):412–20.
163. Tan LM, Qiu CF, Zhu T, Jin YX, Li X, Yin JY, et al. Genetic Polymorphisms and Platinum-based Chemotherapy Treatment Outcomes in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer: A Genetic Epidemiology Study Based Meta-analysis. *Sci Rep*. 2017 July 17;7(1):5593.
164. Zheng Z, Chen T, Li X, Haura E, Sharma A, Bepler G. DNA Synthesis and Repair Genes RRM1 and ERCC1 in Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2007 Feb 22;356(8):800–8.
165. Britten RA, Liu D, Tessier A, Hutchison MJ, Murray D. ERCC1 expression as a molecular marker of cisplatin resistance in human cervical tumor cells. *Int J Cancer*. 2000;89(5):453–7.

166. Seymour L, Teuff GL, Brambilla E, Shepherd FA, Soria JC, Kratzke R, et al. LACE-Bio: Validation of Predictive and/or Prognostic Immunohistochemistry/Histochemistry-based Biomarkers in Resected Non-small-cell Lung Cancer. [cited 2025 Aug 13]; Available from: [https://www.clinical-lung-cancer.com/article/S1525-7304\(18\)30262-6/abstract](https://www.clinical-lung-cancer.com/article/S1525-7304(18)30262-6/abstract)
167. Grønberg BH, Killingberg KT, Fløtten Ø, Bjaanæs MM, Brustugun OT, Madebo T, et al. High-Dose Versus Standard-Dose Twice-Daily Thoracic Radiotherapy in Limited-Stage SCLC: Final Survival Data, Long-Term Toxicity, and Relapse Patterns in a Randomized, Open-Label, Phase II Trial. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2025 Apr 19;S1556-0864(25)00696-3.
168. Seker H, Butkiewicz D, Bowman ED, Rusin M, Hedayati M, Grossman L, et al. Functional Significance of XPD Polymorphic Variants Attenuated Apoptosis in Human Lymphoblastoid Cells with the XPD 312 Asp/Asp Genotype. [cited 2025 Oct 2]; Available from: <https://aacrjournals.org/cancerres/article/61/20/7430/508076/Functional-Significance-of-XPD-Polymorphic>
169. Abdulrahman W, Iltis I, Radu L, Braun C, Maglott-Roth A, Giraudon C, et al. ARCH domain of XPD, an anchoring platform for CAK that conditions TFIIH DNA repair and transcription activities. 2013 Feb 19 [cited 2025 Oct 2]; Available from: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.1213981110>
170. Rump A, Benet-Pages A, Schubert S, Kuhlmann JD, Janavičius R, Macháčkova E, et al. Identification and Functional Testing of ERCC2 Mutations in a Multi-national Cohort of Patients with Familial Breast- and Ovarian Cancer. [cited 2025 Oct 2]; Available from: <https://journals.plos.org/plosgenetics/article?id=10.1371/journal.pgen.1006248>
171. Van Wigcheren GF, De Haas N, Mulder TA, Horrevorts SK, Bloemendal M, Hins-Debreë S, et al. Cisplatin inhibits frequency and suppressive activity of monocytic myeloid-derived suppressor cells in cancer patients. *Oncol Immunology*. 2021 Jan 1;10(1):1935557.
172. de Biasi AR, Villena-Vargas J, Adusumilli PS. Cisplatin-Induced Antitumor Immunomodulation: A Review of Preclinical and Clinical Evidence. *Clin Cancer Res*. 2014 Oct 30;20(21):5384–91.

173. Beyranvand Nejad E, van der Sluis TC, van Duikeren S, Yagita H, Janssen GM, van Veelen PA, et al. Tumor Eradication by Cisplatin Is Sustained by CD80/86-Mediated Costimulation of CD8+ T Cells. *Cancer Res.* 2016 Oct 13;76(20):6017–29.
174. Lee SY, Jung DK, Choi JE, Jin CC, Hong MJ, Do SK, et al. Functional polymorphisms in *PD-L1* gene are associated with the prognosis of patients with early stage non-small cell lung cancer. *Gene.* 2017 Jan 30;599:28–35.
175. Zhao M, Zhang J, Chen S, Wang Y, Tian Q. Influence of Programmed Death Ligand-1-Gene Polymorphism rs822336 on t | CMAR. [cited 2025 Sept 14]; Available from: <https://www.dovepress.com/influence-of-programmed-death-ligand-1-gene-polymorphism-rs822336-on-t-peer-reviewed-fulltext-article-CMAR>
176. Owonikoko TK, Behera M, Chen Z, Bhimani C, Curran WJ, Khuri FR, et al. A Systematic Analysis of Efficacy of Second-Line Chemotherapy in Sensitive and Refractory Small-Cell Lung Cancer. [cited 2025 Sept 14]; Available from: [https://www.jto.org/article/S1556-0864\(15\)32665-4/fulltext](https://www.jto.org/article/S1556-0864(15)32665-4/fulltext)
177. rs2282055 RefSNP Report - dbSNP - NCBI [Internet]. [cited 2025 Sept 14]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs2282055>
178. Boyle AP, Hong EL, Hariharan M, Cheng Y, Schaub MA, Kasowski M, et al. Annotation of functional variation in personal genomes using RegulomeDB. 2012 Sept 1 [cited 2025 Sept 14]; Available from: <https://genome.cshlp.org/content/22/9/1790.long>
179. Hausser J, Zavolan M. Identification and consequences of miRNA–target interactions — beyond repression of gene expression. *Nat Rev Genet.* 2014 Sept;15(9):599–612.
180. Du W, Zhu J, Chen Y, Zeng Y, Shen D, Zhang N, et al. Variant SNPs at the microRNA complementary site in the B7-H1 3'-untranslated region increase the risk of non-small cell lung cancer. [cited 2025 Sept 14]; Available from: <https://www.spandidos-publications.com/10.3892/mmr.2017.6902>
181. Tang F, Zheng P. Tumor cells versus host immune cells: whose PD-L1 contributes to PD-1/PD-L1 blockade mediated cancer immunotherapy? *Cell Biosci.* 2018 May 2;8(1):34.

182. Imyanitov EN, Venina A, Ivantsov AO, Kuligina ES, Iyevleva A, Savelov N, et al. 994P PCR-based analysis of PD-L1 RNA expression in lung cancer: Comparison with commonly utilized immunohistochemical assays. [cited 2025 Sept 28]; Available from: [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(21\)03607-3/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(21)03607-3/fulltext)
183. Venina AR, Ivantsov AO, Iyevleva AG, Kuligina ESh, Preobrazhenskaya EV, Yurlov DO, et al. PCR-based analysis of PD-L1 RNA expression in lung cancer: comparison with commonly used immunohistochemical assays. *Ann Diagn Pathol*. 2022 Aug 1;59:151968.
184. Kim JH, Kim BS, Lee SK. Regulatory T Cells in Tumor Microenvironment and Approach for Anticancer Immunotherapy. [cited 2025 Oct 2]; Available from: <https://doi.org/10.4110/in.2020.20.e4>
185. rs231775 RefSNP Report - dbSNP - NCBI [Internet]. [cited 2025 Sept 14]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs231775>
186. Sun T, Zhou Y, Yang M, Hu Z, Tan W, Han X, et al. Functional Genetic Variations in Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 and Susceptibility to Multiple Types of Cancer. *Cancer Res*. 2008 Aug 28;68(17):7025–34.