

· 临床研究 ·

## 晚期胃癌患者外周血中 TS 和 DPD mRNA 的表达 对替吉奥化疗疗效的影响

陈英华,傅建伟<sup>△</sup>,邓媛,廖毅,黄薇,王丁琼

(重庆市第四人民医院肿瘤科 400014)

**摘要:**目的 探讨外周血中胸苷酸合成酶(TS)和二氢嘧啶脱氢酶(DPD)mRNA 对晚期胃癌患者接受替吉奥(S-1)治疗疗效的预测价值。方法 24 例晚期胃癌患者均接受口服 S-1 化疗,采用逆转录聚合酶链反应技术(RT-PCR)检测患者外周血中 DPD mRNA 和 TS mRNA 的表达,观察其表达与化疗疗效的关系。结果 TS mRNA 低表达组的 S-1 化疗有效率为 50% 明显高于 TS mRNA 高表达组的 25% ( $P < 0.05$ ),TS mRNA 低表达组化疗后的平均生存时间为 8.4 个月,明显长于 TS mRNA 高表达组的 3.5 个月 ( $P < 0.05$ )。DPD mRNA 低表达组的 S-1 化疗有效率为 42%,与 DPD mRNA 高表达组的 33% 相似 ( $P > 0.05$ )。DPD mRNA 低表达组的患者的总生存时间为 6.5 月,与 DPD mRNA 高表达组的 7.2 月相似 ( $P > 0.05$ )。结论 外周血中 TS mRNA 高表达的患者对 S-1 治疗的有效率较低,生存时间较短,而 DPD mRNA 表达与 S-1 的疗效无显著相关性。

**关键词:**胸苷酸合成酶;二氢嘧啶脱氢酶;替吉奥;胃肿瘤

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.12.015

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)12-1357-03

### The predictive values of thymidylate synthase(TS) and dihydropyrimidine dehydrogenase(DPD) mRNA in advanced gastric cancers treated with S-1

Chen Yinghua, Fu Jianwei<sup>△</sup>, Deng Yuan, Liao Yi, Huang Wei, Wang Dingqiong

(Department of Oncology, the Fourth People's Hospital of Chongqing, 400014, China)

**Abstract: Objective** The predictive values of TS and DPD mRNA in advanced gastric cancers treated with S-1. **Methods** The study population consisted of 24 patients with advanced gastric cancer. All of the patients treated by S-1, TS and DPD mRNA in peripheral blood were measured by the real-time reverse transcription PCR(RT-PCR) method. **Results** The response rate in the low TS mRNA group(25%), with significant difference(50%) was higher than that in the high TS mRNA group(25%) with significant difference ( $P < 0.05$ ). Patients with low TS mRNA survived longer(8.4 months) than those with high TS mRNA(3.5 months), with significant difference ( $P < 0.05$ ). But there was no statistical difference in the response rates between low DPD mRNA group(42%) and high TS mRNA group(33%), with significant difference ( $P < 0.05$ ). There was no statistical difference ( $P > 0.05$ ) in the statistical survivals between low DPD mRNA group(6.5 months) and high DPD mRNA group(7.2 months). **Conclusion** The treatment effect of S-1 for advanced gastric cancer was negatively correlated with the status of TS mRNA, and there was no significant correlation between the treatment effect of S-1 and the status of DPD mRNA.

**Key words:** thymidylate synthase; dihydropyrimidine dehydrogenase; S-1; gastric neoplasms

胃癌是消化系统常见恶性肿瘤,治疗的关键在于早期诊断和及时行根治性手术切除。但部分患者发现时已是晚期,姑息性化疗是晚期患者的主要治疗手段<sup>[1]</sup>。替吉奥(S-1)是一种新的口服的氟尿嘧啶类药物,研究表明其治疗晚期胃癌疗效可靠、毒副作用较轻,患者耐受性较好,但其治疗效果仍有较大个体差异,且有一定不良反应。因此,探寻 S-1 化疗敏感性的预测因子对指导临床合理用药、避免不必要的医源性痛苦和提高化疗疗效非常重要。本文应用逆转录聚合酶反应技术(RT-PCR),检测晚期胃癌患者化疗前外周血中胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)及二氢嘧啶脱氢酶(dihydropyrimidine dehydrogenase, DPD) mRNA 水平并分析其与 S-1 治疗晚期胃癌疗效的关系,以探讨其在预测胃癌化疗疗效方面的临床应用价值。

#### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 收集本院肿瘤科 2010 年 1 月至 2011 年 6 月住院采用 S-1 单药治疗的晚期转移性胃癌患者 24 例。纳入标准:(1)有胃癌原发灶的病理学依据且有 1 处以上经 CT 或 MRI 检测病灶大小的转移病灶;(2)年龄小于 80 岁;(3)以前未行过放疗;(4)血常规,肝、肾功能能承受化疗;(5)预计生

存时间大于 3 个月。

#### 1.2 方法

**1.2.1 治疗方法** S-1 胶囊(山东新时代药业,国药准字 H20080802),80 mg/(m<sup>2</sup>·d),分 2 次服用,口服;d1~14,每 3 周为 1 个周期。所有患者予以化疗期间脏器功能损伤的相应防治:止吐、保肝、水化、抑酸剂、止泻药、预防过敏、升白细胞及血小板、贫血治疗。

**1.2.2 疗效评定及随访** 所有患者在每化疗 2 周期后采取计算机断层扫描对可测量的病灶进行疗效评估,评估标准采用 UICC 标准。(1)完全缓解(CR):可见病变完全消失,超过 1 个月;(2)部分缓解(PR):病变缩小 50% 以上,时间不少于 4 周;(3)疾病稳定(SD):病变缩小不及 50% 或增大不超过 25%;(4)疾病进展(PD):病变增大 25% 以上或出现新的病变。其中,CR+PR 为有效,SD+PD 为无效。随访时间从患者入组开始到死亡、失访或随访结束。总生存期(overall survival, OS)为从患者入组开始到患者因任何原因死亡的时间。

#### 1.2.3 实验室方法

**1.2.3.1 主要试剂** RNA 提取试剂盒(Invitrogen 公司);逆转录(RT)试剂盒(Promega 公司);PCR 扩增试剂盒(Promega

公司)。引物:所有引物由 Invitrogen 公司合成。TS 引物序列上游:5'- ACC AAC CCT GAC GAC AGA AG-3', 下游 5'- ATG CGG ATT GTA CCC TTC AA-3'; DPD 引物序列上游:5'-TGT TCG GAC AGA GCA AGA TG-3'; 下游:5'-CTF CAA TCC GGC CAT ITC TA-3'。

**1.2.3.2 实验方法** Ficoll-Hypaque 法分离抗凝血有核细胞,用焦磷酸二乙酯(DEPC)处理过的磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤2次,按RNA提取试剂盒说明书提取总RNA。以总RNA为模板,进行RT-PCR循环,具体步骤按RT-PCR试剂盒说明书进行,反应条件为:94℃变性30s,55℃退火1min,68℃延伸2min,共进行35个循环。产物经琼脂糖凝胶电泳分析。

**1.3 统计学处理** 采用SPSS11.5统计软件进行分析;计数资料采用率表示,采用 $\chi^2$ 检验,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用U检验,总存活曲线采取Kaplan-Meier方法绘制,采用e-log-rank检验,检验水准 $\alpha=0.05$ ,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 TS mRNA 在晚期胃癌患者外周血中的表达水平及其与治疗疗效的关系** 所有患者的外周血中 TS mRNA 表达的平均值为 2.59(范围:0.85~13.37),以 2.59 为界限,将患者分为 TS mRNA 高表达组(TS mRNA 值大于 2.59)和 TS mRNA 低表达组(TS mRNA 值小于 2.59),其中 TS mRNA 低表达组的 S-1 化疗有效率为 50%(6/12),TS mRNA 高表达组的 S-1 化疗有效率为 25%(3/12),差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

在 S-1 化疗有效的患者中 TSmRNA 的表达为 1.58±0.35,S-1 化疗无效的患者外周血中 TS mRNA 的表达为 2.86±0.45,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 1。TS mRNA 低表达组的患者化疗后的平均 OS 为 8.4 个月,明显长于 TS mRNA 高表达组的 3.5 月,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 2。

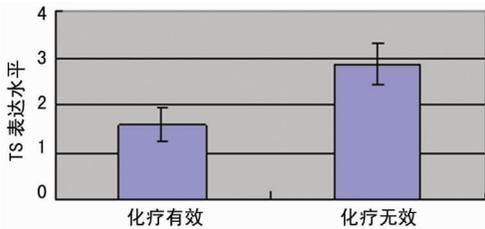


图 1 不同治疗效果患者的 TS 表达水平

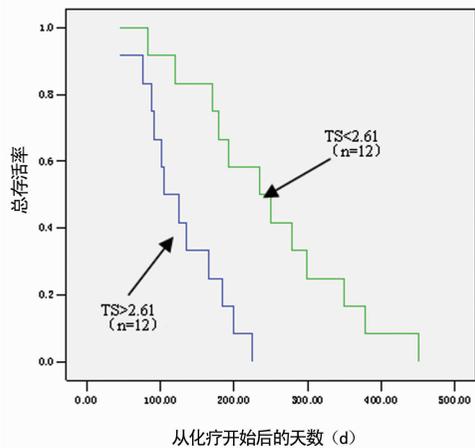


图 2 不同 TS 浓度胃癌患者化疗后的生存曲线

**2.2 DPD mRNA 在晚期胃癌患者外周血中的表达水平及其与治疗疗效的关系** 所有患者的外周血中 DPD mRNA 表达

的平均值为 1.52(范围:0.85~13.37),以 1.52 为界限,将患者分为 DPD mRNA 高表达组(DPD mRNA 值大于 1.52)和 DPD mRNA 低表达组(DPD mRNA 值小于 1.52),其中 DPD mRNA 低表达组的 S-1 化疗有效率为 42%(5/12),DPD mRNA 高表达组的 S-1 化疗有效率为 33%(4/12),差异无统计学意义( $P>0.05$ )。在 S-1 化疗有效的患者中 DPD mRNA 的表达为 1.22±0.55,S-1 化疗无效的患者外周血中 DPD mRNA 的表达为 0.99±0.45,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见图 3。DPD mRNA 低表达组的患者化疗后的平均 OS 为 6.5 个月,与 DPDmRNA 高表达组的 7.2 个月相似,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见图 4。

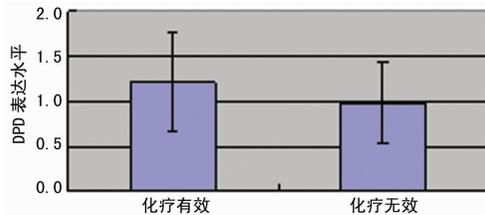


图 3 不同治疗效果患者的 DPD 表达水平

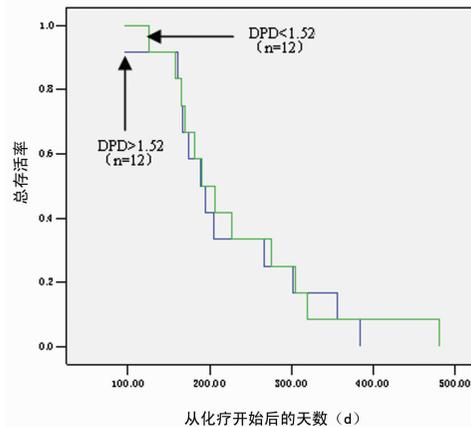


图 4 不同 DPD 浓度胃癌患者化疗后的生存曲线

**3 讨 论**

S-1 是由替加氟和吉美嘧啶及奥替拉西按 1.0 : 0.4 : 1.0 的摩尔比组成的复方制剂[2]。替加氟是 5-Fu 的前体药物,在体内转化为 5-Fu 起到抗肿瘤作用。吉美嘧啶能够抑制在 DPD 作用下的 5-Fu 的分解代谢,有助于长时间保持 5-Fu 的有效浓度,从而增加其抗肿瘤活性[3-4]。奥替拉西能够阻断 5-Fu 的磷酸化,口服给药之后,奥替拉西在胃肠组织中具有很高的分布浓度,从而影响 5-Fu 在胃肠道的分布,进而降低 5-Fu 毒性的作用。大量研究表明其治疗晚期胃癌疗效可靠、毒副作用较轻,患者耐受性较好,近年来国内研究也有相似的结果,代培永等的研究表明 3 d-CRT 联合 S-1 治疗局部晚期贲门癌是一种安全有效的治疗方法[5]。张金淑[6]观察到 S-1 治疗晚期胃癌疗效可靠、毒副作用较轻,患者耐受性较好。董静波等[7]的研究也认为 S-1 联合奥沙利铂方案治疗进展期胃癌疗效与 FOLFOX4 方案相当且耐受性较好。

5-FU 作为 S-1 的抗肿瘤作用成分,其主要作用方式是他的活性代谢产物:5-fluoro-deoxyuridine-monophosphate (FdUMP),TS 是一个催化 dUMP 的甲基化为 dTMP 的必要的 DNA 聚合酶,它是 DNA 合成所必需的成分,其结果是破坏了细胞内 DNA 合成的核苷酸池,影响了 DNA 的合成,导致肿瘤细胞死亡[8-9]。许多研究表明,5-Fu 抗肿瘤治疗疗效与 TS mRNA 和

TS 蛋白水平均呈负相关,即 TS 高表达的患者预后差<sup>[10]</sup>。国外也有一些关于 S-1 的抗肿瘤治疗疗效与 TS mRNA 和 TS 蛋白水平关系的研究,结果不一:Miyazaki 等<sup>[11]</sup>的研究表明 TS 蛋白的表达水平可以作为 S-1 化疗疗效的预测因子,但是 Fujiwara 等<sup>[12]</sup>的人胃癌裸鼠模型的研究表明 S-1 的抗肿瘤活性与 TS 酶活性没有联系,Miyamoto 等<sup>[13]</sup>用免疫组化的方法检测 TS 的表达时,S-1 的抗肿瘤活性与 TS 的表达无关。本研究表明,外周血中 TS 基因高表达的患者对 S-1 治疗的有效率较低,生存时间较短,提示 S-1 的抗肿瘤治疗疗效与 TS mRNA 水平呈负相关。

DPD 是 5-Fu 在体内分解代谢的限速酶。超过 85% 的 5-FU 被 DPD 灭活,而仅有 1%~3% 的 5-FU 进行合成代谢参与抗肿瘤效应,故分解代谢对于 5-Fu 的细胞毒性是一个决定因素,大量研究证实,DPD 的活性与 5-Fu 的疗效呈负相关<sup>[14]</sup>,但 S-1 中所含的吉美嘧啶能够抑制在 DPD 作用下的 5-Fu 的分解代谢,DPD 是否能作为 S-1 的化疗疗效的预测因素目前报道较少。本研究结果提示,S-1 的抗肿瘤作用与 DPDmRNA 的表达无明显关系,提示 S-1 的抗肿瘤作用不受 DPD 基因表达的影响,这与 S-1 中含有 DPD 酶的抑制剂吉美嘧啶是否有关尚需进一步研究。

#### 参考文献:

[1] 汤钊猷. 现代肿瘤学[M]. 上海:上海医科大学出版社,2000.

[2] Shirasaka T, Shimamoto Y, Ohshimo H, et al. Development of a novel form of an oral 5-fluorouracil derivative (S-1) directed to the potentiation of the tumorselective cytotoxicity of 5-fluorouracil by two biochemical modulators[J]. *Anticancer Drugs*,1996,7(5):548-557.

[3] Yamada Y, Hamaguchi T, Goto M, et al. Plasma concentrations of 5-fluorouracil and F-beta-alanine following oral administration of S-1, a dihydropyrimidine dehydrogenase inhibitory fluoropyrimidine, as compared with protracted venous infusion of 5-fluorouracil[J]. *Br J Cancer*,2003,89(5):816-820.

[4] Tatsumi K, Fukushima M, Shirasaka T, et al. Inhibitory effects of pyrimidine, barbituric acid and pyridine derivatives on 5-fluorouracil degradation in rat liver extracts[J]. *Jpn J Cancer Res*,1987,78(7):748-755.

[5] 代培永,王世伟,张春荣,等. 三维适形放疗联合替吉奥治疗局部晚期贲门腺癌疗效观察[J]. *山东医药*,2011,51(1):58-59.

[6] 张金淑. 替吉奥治疗晚期胃癌 30 例[J]. *中国药业*,2011,20(7):73-73.

[7] 董静波,李雁,翁国爱,等. 替吉奥联合奥沙利铂治疗进展期胃癌安全性评价[J]. *肿瘤学杂志*,2011,17(4):253-256.

[8] Langenbach RJ, Danenberg PV, Heidelberger C. Thymidylate synthetase; mechanism of inhibition by 5-fluoro-20-deoxyuridylate[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,1972,48(6):1565-1571.

[9] Peters GJ, van der Wilt CL, van Triest B, et al. Thymidylate synthase and drug resistance[J]. *Eur J Cancer*,1995,3(1A):1299-1305.

[10] Lenz HJ, Leichman CG, Danenberg KD, et al. Thymidylate synthase mRNA level in adenocarcinoma of the stomach; a predictor for primary tumor response and overall survival[J]. *J Clin Oncol*,1996,14(1):176-182.

[11] Miyazaki I, Kawai T, Harada Y, et al. A predictive factor for the response to S-1 plus cisplatin in gastric cancer[J]. *World J Gastroenterol*,2010,16(36):4575-4582.

[12] Fujiwara H, Terashima M, Irinoda T, et al. Superior anti-tumour activity of S-1 in tumours with a high dihydropyrimidine dehydrogenase activity[J]. *Eur J Cancer*,2003,39(16):2387-2394.

[13] Miyamoto S, Boku N, Ohtsu A, et al. Clinical implications of immunoreactivity of thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase in gastric cancer treated with oral fluoropyrimidine(S-1) Study Group of S-1 for Gastric Cancer[J]. *Int J Oncol*,2000,17(4):653-658.

[14] Terashima M, Irinoda T, Fujiwara H, et al. Roles of thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase in tumor progression and sensitivity to 5-fluorouracil in human gastric cancer[J]. *Anticancer Res*,2002,22(2A):761-768.

(收稿日期:2012-12-09 修回日期:2013-03-03)

(上接第 1356 页)

京:人民卫生出版社,2004:5.

[7] Thong BY. Update on the management of antibiotic allergy[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*,2010,2(2):77-86.

[8] Du ZB, Zhu Y, Tan H, et al. Twenty autopsy cases of anaphylactic shock induced by cephalosporins[J]. *Fa Yi Xue Za Zhi*,2011,27(2):125-128.

[9] 李廷谦. 中药注射剂不良反应及临床合理用药[J]. *中国循证医学杂志*,2010,10(2):111-115.

[10] Simons FE, Gu X, Simons KJ, et al. Epinephrine absorption in adults: Intramuscular versus subcutaneous injection[J]. *J Allergy Clin Immunol*,2001,108(5):871-873.

[11] Lieberman P, Nicklas RA, Oppenheimer J, et al. The diagnosis and management of anaphylaxis practice parameter:

2010 update[J]. *J Allergy Clin Immunol*,2010,126(3):477-480.

[12] Bautista E, Simons FE, Simons KJ, et al. Epinephrine fails to hasten hemodynamic recovery in fully developed canine anaphylactic shock[J]. *Int Arch Allergy Immunol*,2002,128(2):151-164.

[13] Simons KJ, Simons FE. Epinephrine and its use in anaphylaxis: current issues[J]. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*,2010,10(4):354-361.

[14] Kirkbright SJ, Brown SG. Anaphylaxis-recognition and management[J]. *Aust Fam Physician*,2012,41(6):366-370.

(收稿日期:2012-12-15 修回日期:2013-03-17)