

人格特质具有密切的关系。当然,大五人格特质能否预测个体的人格偏常倾向,未来需要更多实证研究的支持。另外,本研究中仅以大学生样本为研究对象,不能代表一般人群,这也是本研究的不足之处。研究结果是否具有普遍适用性,需要扩大被试的选择范围进行探讨。

参考文献

- 1 Feingold A. Gender differences in personality: a meta - analysis [J]. *Psychological Bulletin*, 1994, 116(3): 429 - 456
- 2 卢勤, 黄丽珊. 大学生人格维度上的性别差异研究 [J]. *西南民族大学学报: 人文社科版*. 2005, 2: 370 - 373
- 3 Canals J, Vigil - Colet A, Chico E, *et al.* Personality changes during adolescence: the role of gender and pubertal development [J]. *Personality and Individual Differences*, 2005, 39 (1): 179 - 188
- 4 许燕, 钱筠. 大学生人格因素的性别差异研究 [J]. *心理学探新*, 1999, 4: 21 - 25
- 5 Rantanen J, Metspelto R, Feldt T, *et al.* Long - term stability in the Big Five personality traits in adulthood [J]. *Scandinavian Journal of Psychology*, 2007, 48(6): 511 - 518
- 6 刘衍华, 刘克善, 谭剑虹. 大学新生人格特征 2988 份问卷调查 [J]. *中国临床康复*, 2005, 9(44): 46 - 48
- 7 唐慧敏, 伍翔. 特区高职院校 6697 名大学生心理健康状况与人格特征研究 [J]. *中国健康心理学杂志*, 2008, 16(5): 485 - 487
- 8 戴美林, 陈霞, 马姝娟. 初中生双性化人格与交往归因特点的相关研究 [J]. *中国健康心理学杂志*, 2007, 15(9): 802 - 803
- 9 李江雪, 项锦品, 林丹. 研究生人格倾向与人格障碍的关系 [J]. *中国健康心理学杂志*, 2007, 15(2): 119 - 121

(收稿日期: 2013 - 10 - 29)

(修回日期: 2013 - 11 - 06)

ERCC1 表达水平与以铂类药物为基础的胃癌新辅助化疗疗效相关性研究

李 涛 梁美霞 冯道夫 李 婷 陈 凇

摘 要 目的 通过检测进展期胃癌患者应用铂类药物新辅助化疗后标本组织中 ERCC1 表达水平变化, 结合临床疗效进行相关性分析, 探讨其作为新辅助化疗疗效生物学标志物可能性。**方法** 通过对治疗前分期评估为第 7 版 AJCC II ~ III 期胃癌患者行口服氟尿嘧啶 [替吉奥胶囊 80mg/(m² · d), 第 1 ~ 14 天] 联合奥沙利铂 (130mg/m² 第 1 天) 新辅助化疗结合外科手术, 术中取得新鲜肿瘤、正常组织标本, 通过 RT - PCR 方法从基因水平对 ERCC1 进行检测, 分析其与新辅助化疗疗效之间的关系。**结果** 从 2012 年 6 月 ~ 2013 年 3 月共入组 32 例 AJCC II ~ III 期胃癌患者, 所有入组患者均完成了至少 2 个周期新辅助化疗, 21 例患者出现临床缓解 (65.6%), 10 例患者肿瘤为组织学缓解 (31.3%)。胃癌新辅助化疗有效率为 65.6%。RT - PCR 检测结果显示, 胃癌新辅助化疗患者 ERCC1 表达水平病理学缓解者明显低于非敏感者 ($P < 0.01$)。**结论** ERCC1 表达水平变化可能成为反映以铂类药物为基础胃癌新辅助化疗疗效的重要分子生物学指标。

关键词 胃癌 新辅助化疗 ERCC1 生物学标志物

[中图分类号] R735 [文献标识码] A

Correlation of ERCC1 Expression with Histological Tumor Response in Gastric Cancer Patients Receiving Neoadjuvant Platinum - based Chemotherapy. Li Tao, Liang Meixia, Feng Daofu, Li Ting, Chen Lin. Department of General Surgery, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Abstract Objective To analyze the impact of microRNA expression of key DNA repair signaling factor involved in processing platinum - induced DNA lesions (ERCC1, excision repair cross complementation 1), on treatment outcomes in locally advanced gastric cancer patients receiving preoperative oxaliplatin combined with S - 1 chemotherapy. **Methods** We preoperatively study AJCC stage II / III gastric cancer patients received oxaliplatin (130mg/m²; day 1) and S - 1 [80mg/(m² · d); days 1 - 14] every 3 weeks and subsequently performed gastrectomy with D₁/D₂ lymphadenectomy. Paired tumor and normal fresh frozen tissues were collected to evaluate mRNA level of ERCC1 using quantitative reverse - transcriptase polymerase chain reaction (RT - PCR) to analyze correlation of ERCC1 with tumor response. **Results** Between June 2012 and March 2013, thirty - two patients were enrolled in this study. 21 (65.6%) patients had clin-

基金项目: 全军医学科技青年培育项目计划 (13QNPI85); 解放军总医院临床科研扶持基金资助项目 (2012FC - TSYS - 2028)

作者单位: 100853 北京, 中国人民解放军总医院普通外科

通讯作者: 李涛, 电子信箱: lithj301@sina.com

ical tumor response and 10 (31.3%) patients achieved histological response. Quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction results showed that excision repair cross complementation 1 (ERCC1) mRNA expression was significantly higher in histological non-responders than responders ($P < 0.01$). **Conclusion** ERCC1 expression may be a potential predictive biomarker in advanced gastric cancer patients treated with platinum-based chemotherapy.

Key words Gastric cancer; Neoadjuvant chemotherapy; ERCC1; Biomarker

胃癌是严重威胁我国人民健康的恶性肿瘤性疾病,高发病率和病死率是本病主要特点。根治性、规范化外科手术已经达到前所未有的高度,仍无法显著提高胃癌患者5年生存率。术前采取新辅助化疗使进展期胃癌病变缩小、减少肿瘤及所属淋巴结对周围脏器的侵犯是提高胃癌治疗效果的一个方向。随着胃癌新辅助化疗受到越来越多的重视,如何预测胃癌化疗敏感度的问题日渐突出。在临床工作中发现部分患者经化疗后仍然出现肿瘤进展,原因在于肿瘤细胞对化疗药物不敏感^[1,2]。通过药物基因组学对患者的基因进行检测,进而发现对特定药物具敏感度或抵抗性的患者人群的一些疾病相关基因的单核苷酸多态性(SNP)差异,预测该化疗药物的疗效,选择合适的药物进行化疗,已成为提高疗效,减少无效治疗的合理选择。随着对肿瘤药物耐药性研究的深入,相继发现了许多和耐药有关的基因,如与铂类相关的切除修复交叉互补基因1(excision repair cross complementation 1, ERCC1)。ERCC1是核苷酸外切修复家族中的重要成员,参与DNA链的切割和损伤修复过程。临床研究已证实ERCC1表达水平与多种肿瘤铂类药物化疗的疗效和生存期呈负相关,即表达水平低的患者对铂类药物敏感,反之表达水平高的患者则耐药^[3-5]。以此为理论依据,本研究拟分析进展期胃癌患者术前应用氟尿嘧啶类和铂类药物后标本组织中ERCC1水平变化,探讨其与化疗疗效之间的关系,分析ERCC1作为化疗疗效生物学标志物可能性,以此来实现胃癌患者个体化治疗,必将对提高胃癌患者总体生存率具有重要意义^[6]。

资料与方法

1. 研究对象:入组标准:①经胃镜活检病理活检确诊为胃癌患者;②所有患者治疗前均需经过超声胃镜(EUS)、CT(或PET-CT)和腹腔镜探查进行治疗前分期评估(TNM),按照第7版AJCC分期为Ⅱ~Ⅲ期患者;③患者无手术相关禁忌证,预计能够进行根治性外科切除;④KPS>60; ECOG评分:0~2;⑤年龄20~75岁;⑥过去未曾进行过化疗;⑦根据RECIST 1.1标准^[7]要求具有可测量病灶;⑧血液检查和身体状况能够耐受化疗药物。筛选前7天内(包括7天)时,基线实验室数据要求:白细胞计数($4 \sim 10$) $\times 10^9/L$ 、血小板计数 $\geq 100 \times$

$10^9/L$ 、血红蛋白 $\geq 100g/L$ 、肝功能<3倍正常上限值、总胆红素 $\leq 1.5mg/dl$ 、血清肌酐 $\leq 1.2mg/dl$;⑨签署知情同意书。

2. 术前化疗:入组患者均严格按照SOX方案进行。具体方案:替吉奥胶囊(S-1)80mg/m²,第1~14天,口服;注射用奥沙利铂130mg/m²第1天,静脉滴注,每3周重复。如果患者血液学毒性达到3或4级或非血液毒性达2、3或4级,调整每日S-1剂量由120mg减为100mg,100mg减为80mg,80mg减为60mg,或由于毒性而停止给药。随后的剂量根据结果进行调整。注射用奥沙利铂剂量调整如下:由130mg/m²调整为100mg/m²或85mg/m²。安全性分析依据NCI-CTC 4.0版本进行评估。

3. 手术和病理:在患者完成最后1次化疗后至少4周才可行手术治疗。手术按照JGCA(Japanese Gastric Cancer Association)标准^[8]行D₁/D₂淋巴结清扫。术中标本送检后均由专业的病理学专家进行检查,本研究病理报告相关要求:①WHO和Lauren分类;②肿瘤浸润层次;③切缘是否癌残留(R0:无残存肿瘤/R1:镜下可见残存肿瘤/R2:肉眼可见残存肿瘤);④分组淋巴结中肿瘤细胞残留;⑤脉管癌栓;⑥免疫组化;⑦病理学评价(按照日本标准记录):0级(无疗效):无证据显示有效。1级(轻微疗效):1a级(疗效极轻微):存活肿瘤细胞占肿瘤区2/3以上。1b级(疗效轻微):存活肿瘤细胞占据肿瘤区1/3以上,但<2/3。2级(疗效明显):存活肿瘤细胞占据肿瘤区<1/3。3级(完全缓解):无存活肿瘤细胞,建议追加切片检查证实结果。术中留取胃癌新辅助化疗患者新鲜组织标本(正常组织与肿瘤组织),新鲜组织标本收集要求精确取材部位、足量,并能够在离断血管后30min内进行,-80℃保存。

4. 代谢酶活性测定:术中留取胃癌新辅助化疗患者新鲜组织标本(正常组织与肿瘤组织),采用RT-PCR方法对其进行ERCC1水平测定。(1)组织总RNA提取:取组织样本100mg左右,在液氮保护下进行研磨,待研磨完全后,加入1ml Trizol,并提取RNA(详见Invitrogen公司Trizol说明书,简单描述如下):①加入1ml Trizol试剂后,室温孵育5~10min;②将其转移至1.5ml Ep管中,加入200μl氯仿,混匀,室温放置5min,4℃ $\times 12000r/min \times 15min$ 离心;③可见分为两层,上层为水相、下层为有机相,将上层液体转移至一新的Ep管中,加入500μl异丙醇,室温放置10min,4℃ $\times 12000r/min \times 10min$ 离心;④弃上清,加入新鲜配制的75%乙醇重悬沉淀,4℃ $\times 7500r/min \times 5min$ 离心;⑤弃上清,沉淀晾干后,用DEPC处理的无菌水溶解,至于-70℃保存;⑥紫外吸光光度法检测RNA浓度和纯度(纯度1.9~2.1,浓度>200μg/ml为合格产品,可

用于下一步实验)。(2) cDNA 合成:采用 cDNA 第 1 链合成试剂盒合成 cDNA:①按照以下体系加样:上述提取的总 RNA;2.0μg;Oligod T;4.0μl;DEPC 处理水:补至 14.0μl,共计 14.0μl 反应体系,将其混匀后置于 70℃ 水浴放置 5min;②取出后立即放入冰中冷却 2~3min,简单离心,加入下列成分:5×MLV buffer;5.0μl;M-MLV RT;1.0μl;dNTPs;5.0μl;iR-Nasin;0.5μl,将总计 25.0μl 反应体系混匀后,置于 37℃ 水浴放置 5min;③反应结束后,将产物置于-20℃ 保存。

5. Real-time PCR 检测:反应条件:50℃ 2min;95℃ 5min;95℃ 5s,60℃ 1min,读板;41 循环。(1)每一样本需要检测的指标有两个,分别为 β-actin, ERCC1,每一指标做 3 复孔。(2)记录每一指标的 C_T 值,分别记为 C_T actin, C_T ER-CC1。ΔC_T ERCC1 = C_T ERCC1 - C_T actin。(3)每一患者有正常组织和癌组织,其 ΔC_T 记为:ΔC_T ERCC1 正常和 ΔC_T ER-CC1 癌组织,ΔΔC_T ERCC1 = ΔC_T ERCC1 癌组织 - ΔC_T ERCC1 正常,该指标的相对定量值计算公式为 2^{-ΔΔC_T},计算的结果表示为相对表达量;即癌组织相对于正常组织的相对表达量,<1 为表达降低,>1 为表达升高。

4. 统计学方法:利用计算机 SPSS 15.0 软件包进行,统计描述时计数资料采用率,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示;两组比较时计量数据采用 *t* 检验,计数资料分析采用 *Chi-square* 检验,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 患者基线特点:2012 年 6 月~2013 年 3 月共入组 32 例Ⅱ/Ⅲ期胃癌患者,其中男性 23 例,女性 9 例,患者平均年龄为 60 岁(表 1)。

2. 有效性和安全性:所有入组患者均完成了至少 2 个周期 SOX 方案化疗,4 例(12.5%)Ⅲ期患者疗效达到完全缓解(CR),17 例(53.2%)患者疗效达到部分缓解(PR),化疗有效率为 65.7%。9 例(28%)患者病情稳定(SD),2 例(6.3%)患者病情进展(PD)。3/4 级毒性不良反应主要为呕吐(10.8%),肝功能异常(8.1%),贫血(5.4%),中性粒细胞减少(5.4%),食欲减退(5.4%)。

3. 手术和病理结果:32 例手术患者中,29 例(90.6%)患者完成 D₂ 淋巴结清扫,3 例(9.4%)患者因肿瘤较晚而只行 D₁ 淋巴结清扫。所有手术标本均由经验丰富的病理学专家认真进行病理检查,30 例(93.8%)患者术后标本切缘阴性(R₀),2 例(6.2%)患者切缘阳性(R₁),10 例(31.3%)患者达到病理学缓解。

4. RT-PCR 结果:32 对新鲜的肿瘤和正常组织标本通过 RT-PCR 检测 ERCC1 mRNA 表达水平(表 2)。结果显示,ERCC1 mRNA 在组织学敏感胃癌组织中的表达低于非敏感患者(*P*<0.01,图 1)。

表 1 入组患者基线特点

临床特征	术前 SOX 方案化疗	
	<i>n</i>	%
性别		
男性	23	71.9
女性	9	28.1
年龄(岁)		
40~49	3	10
50~59	10	31
60~69	15	47
70~75	4	12
肿瘤位置		
上 1/3 部	10	31.2
中部	7	21.9
下 1/3 部	15	46.9
术前 TNM 分期		
Ⅱ	3	9.4
Ⅲ	29	90.6
手术方式		
近端胃	8	25
远端胃	16	50
全胃	8	25
淋巴结清扫		
D ₂ 淋巴结清扫	29	90.6
D ₀ /D ₁ 淋巴结清扫	3	9.4
切缘情况		
R ₀	30	93.8
R ₁	2	6.2
R ₂	0	0
病理学分期		
0	4	12.5
Ⅰ	11	34.4
Ⅱ	6	18.8
Ⅲ	9	28
Ⅳ	2	6.3

表 2 PCR 引物和探针

引物/探针	序列(5'→3')
β-actin sense	CACCAACTGGGACGACAT
β-actin anti	ACAGCCTGGATAGCAACG
ERCC1 sense	TCAGACCTACGCCGAATA
ERCC1 anti	AGGGCTCACAATGATGCT

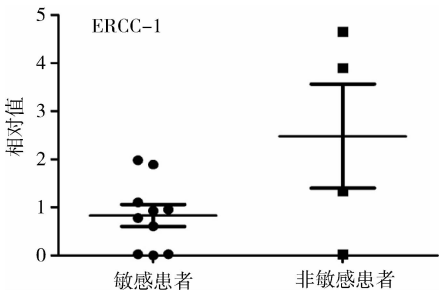


图 1 ERCC-1 mRNA 在组织学敏感胃癌组织中的表达低于非敏感者

讨 论

胃癌是严重威胁我国人民健康的恶性肿瘤性疾病。外科手术结合化疗是目前进展期胃癌治疗的主要方法,但总体生存率仍需提高。新型化疗药物的出现能够提高化疗有效率,S-1 是一种口服氟尿嘧啶类药物,其组成主要由替加氟、吉美嘧啶和奥替拉西钾,按照 1:0.4:1 比例结合而成,是目前单药治疗晚期胃癌有效率最高的化疗药物,文献报道其有效率可达 44%。注射用奥沙利铂属第 3 代铂类,相比较顺铂具有有效性更好,安全性更好的优势^[9]。近期研究结果显示 S-1 联合奥沙利铂(SOX 方案)能够显著延长中位总生存期和无进展生存期,总体有效率为 59%,疾病控制率为 84%,显示出此方案的良好疗效^[10]。但是,临床工作发现部分患者经化疗后仍然出现肿瘤进展,原因在于肿瘤细胞对化疗药物敏感度差、特异性不高。因此,如何筛查对药物敏感的患者,选择特异性高的化疗方案将是提高胃癌总体治疗效果的关键。

本研究中 32 例进展期胃癌患者经 2~4 个 SOX 方案新辅助化疗后,21 例患者肿瘤降期,化疗有效率为 65.6%,疾病控制率为 93.7%。10 例患者达病理学缓解(2+3 级),其中 4 例患者更达完全缓解(pCR);30 例患者术后标本切缘阴性(R₀),2 例(6.2%)患者切缘阳性(R₁),R₀根治率为 93.8%。此外,所有患者基本可耐受化疗,并没有出现 4 级毒性不良反应。可见进展期胃癌新辅助化疗不仅是可耐受的、有效的治疗方法,同时未增加手术风险及术后并发症,还可以降低肿瘤分期,从而提高无残存肿瘤(D₂/R₀)手术切除率,显著提高病理缓解率,并降低局部区域复发率,显著延长生存期。

本研究结果显示 ERCC1 mRNA 在病理学缓解胃癌组织中的表达低于非缓解者。铂类药物的药理学机制主要是形成铂-DNA 复合物,通过引起肿瘤细胞内 DNA 的交联,阻碍 DNA 合成与复制,从而抑制肿瘤细胞的生长。DNA 修复是铂类药物耐药性产生的主要原因。DNA 损伤修复能力存在以下 5 种途径:核苷酸切除修复(NER)、同源重组修复(HRR)、非同源末端连接(NHEJ)、碱基切除修复(BER)和错配修复(MRR)。DNA 损伤主要通过 NER 的途径修复,切除修复交叉互补基因 1(excision repair cross complementation 1,ERCC1)是核苷酸外切修复家族中的重要成员,参与 DNA 链的切割和损伤修复过程。ERCC1 表达量直接影响 DNA 的修复,其 mRNA 表达

水平与铂类药物的敏感度密切相关。本研究中 ER-CC1 低表达患者使用铂类药物效果明显优于 ERCC1 高表达患者。可见,ERCC1 表达水平与化疗效果呈现相关性,显示出 ERCC1 在铂类药物代谢相关因子中可能占重要地位,具有成为预测化疗疗效生物标志物的潜能。但仍需大样本试验研究对于 ERCC1 在胃癌化疗中的作用进行充分论证,从而实现进展期胃癌个体化治疗。

参考文献

- 1 Ichikawa W, Sasaki Y. Challenges in predicting the clinical outcome in S-1-based chemotherapy for gastric cancer patients[J]. *Int J Clin Oncol*, 2008, 13(3): 206-211
- 2 Al-Batran SE, Atmaca A, Hegewisch-Becker S, et al. Phase II trial of biweekly infusional fluorouracil, folinic acid, and oxaliplatin in patients with advanced gastric cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2004, 22(4): 658-663
- 3 Bepler G, Kusmartseva I, Sharma S. RRM1 modulated in vitro and in vivo efficacy of gemcitabine and platinum in non-small-cell lung cancer[J]. *Clin Oncol*, 2006, 24(29): 4731-4737
- 4 Olausson KA, Dunant A, Fouret P. DNA repair by ERCC1 in non-small-cell lung cancer and cisplatin-based adjuvant chemotherapy[J]. *N Engl J Med*, 2006, 355(10): 983-991
- 5 Lord RV, Brabender J, Gandara D. Low ERCC1 expression correlates with prolonged survival after cisplatin plus gemcitabine chemotherapy in non-small cell lung cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2002, 8(7): 2286-2291
- 6 Dikken JL, van Sandick JW, Maurits Swellengrebel H, et al. Neo-adjuvant chemotherapy followed by surgery and chemotherapy or by surgery and chemoradiotherapy for patients with resectable gastric cancer (CRITICS)[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 329
- 7 Sakata Y, Ohtsu A, Horikoshi N, et al. Late phase II study of novel oral fluoropyrimidine anticancer drug S-1 (1 M tegafur-0.4 M gimestat-1 M otastat potassium) in advanced gastric cancer patients[J]. *Eur J Cancer*, 1998, 34(11): 1715-1720
- 8 Yoshikawa T, Omura K, Kobayashi O, et al. A phase II study of pre-operative chemotherapy with S-1 plus cisplatin followed by D₂/D₃ gastrectomy for clinically serosa-positive gastric cancer (JACCRO GC-01 study)[J]. *Eur J Surg Oncol*, 2010, 36(6): 546-551
- 9 Sumpter K, Harper-Wynne C, Cunningham D, et al. Report of two protocol planned interim analyses in a randomized multicentre phase III study comparing capecitabine with fluorouracil and oxaliplatin with cisplatin in patients with advanced oesophagogastric cancer receiving ECF[J]. *Br J Cancer*, 2005, 92(11): 1976-1978
- 10 Koizumi W, Narahara H, Hara T, et al. S-1 plus cisplatin versus S-1 alone for first-line treatment of advanced gastric cancer (SPIRITS trial): A phase III trial[J]. *Lancet Oncol*, 2008, 9(3): 215-221

(收稿日期:2013-11-19)

(修回日期:2013-12-02)