

基因多态性与西妥昔单抗联合卡培他滨和顺铂一线治疗晚期胃癌疗效关系

The Relationship Between Genetic Polymorphism and the Response of Cetuximab Combined with Capecitabine and 5-Fu as First Line Treatment for Advanced Gastric Cancer
LIU Hui-long, XU Jian-ming, SONG San-tai, et al.

刘慧龙¹, 徐建明², 宋三泰², 刘晓静², 王岩², 凌焱³, 李玉霞³
(1.北京军区总医院, 北京 100700; 2.军事医学科学院附属医院肿瘤中心, 北京 100071;
3.军事医学科学院生物工程研究所, 北京 100071)

摘要: [目的] 探讨西妥昔单抗联合卡培他滨和顺铂一线治疗晚期胃癌的疗效与相关基因多态性的关系。[方法] 分别应用 PCR-限制性片段长度多态性法、PCR-直接测序法和 SNPstream 基因分型系统分析 20 个位点基因多态性, 并分析其与 TTP 和临床疗效相关性。[结果] TS 基因 3RG 携带者较非 3RG 携带者 TTP 有明显优势 (6.1 个月 vs 3.0 个月, $P=0.024$)。VEGF C936T 多态性的 T/T 基因型患者 TTP 明显较 C/T 及 C/C 基因型患者短 (分别为 2.0、5.2 和 5.4 个月, $P=0.014$)。EGF A61G 多态性的 G/G 基因型中位 TTP 较 A/G 基因型有延长趋势 (5.3 个月 vs 2.7 个月, $P=0.159$)。[结论] TS 基因 5'-UTR 串联重复序列多态性、VEGF C936T 多态性和 EGF A61G 多态性可能与西妥昔单抗联合卡培他滨/顺铂方案一线治疗晚期胃癌临床疗效相关。

关键词: 基因多态性; 晚期胃癌; 西妥昔单抗; 疗效

中图分类号: R735.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2012)04-0309-07

随着新型化疗药物的不断出现, 晚期胃癌的化疗已经具有较多的选择。但是, 无论是在近期疗效还是远期生存期上, 并无令人鼓舞的改善。有研究表明, 西妥昔单抗联合化疗治疗晚期胃癌有良好的疗效^[1-3]。为了进一步明确西妥昔单抗治疗胃癌的效果, 我们进行了西妥昔单抗联合卡培他滨和顺铂一线治疗晚期胃癌的临床研究, 并对相关基因多态性与治疗疗效进行相关分析。

1 材料与方法

1.1 研究对象

2007 年 4 月至 2008 年 4 月共有 54 例初治的晚期胃癌纳入本研究。患者均经病理学确诊为胃腺癌, 未接受过针对复发或转移性病灶的全身抗肿瘤治疗。所有患者经 CT 或 MRI 扫描证实具有可测

量病灶, 化疗前功能状态 KPS 评分 ≥ 60 分。患者均签署知情同意书。

1.2 治疗方案

西妥昔单抗起始剂量为 $400\text{mg}/\text{m}^2$, 静滴, d_1 , 随后每周 $250\text{mg}/\text{m}^2$; 顺铂 $80\text{mg}/\text{m}^2$, 静滴, d_1 ; 卡培他滨 $2\,000\text{mg}/(\text{m}^2 \cdot \text{d})$, 分早、晚口服, d_{1-14} 。每 3 周重复, 直至疾病进展或出现患者不能耐受的毒性。

1.3 疗效评价

疗效按 RECIST 统一标准评价, 分为 CR、PR、SD 和 PD, 其中 CR、PR 为有效。肿瘤进展时间(TTP)指从第一次治疗开始到肿瘤进展的时间。

1.4 基因多态性分析

1.4.1 基因组提取

治疗前采集入组患者外周抗凝血 3ml , 置于乙二胺四乙酸钠抗凝管中, 应用 TIANGEN 血液基因组 DNA 提取试剂盒, 分批次统一提取外周血基因组 DNA。

1.4.2 TS 基因多态性检测

应用 PCR-限制性片段长度多态性法(restriction

收稿日期: 2011-12-16; 修回日期: 2012-01-15
通讯作者: 徐建明, E-mail: jmxu2003@yahoo.com

fragment length polymorphism, RFLP) 检测 TS 基因 5'-UTR 串联重复序列与 3'-UTR±6bp 多态性。每个 50μl 反应体系包括 2~6ng 肿瘤组织基因组 DNA, 5μl 10×KOD-plus buffer, 5μl 2mM dNTPs, 2μl 25mM MgSO₄, 1μl 1.0U KOD-plus 酶和 0.5μl 16μM 正向和反向引物, 引物及条件见表 1。5'-UTR PCR 产物应用 3% 琼脂糖凝胶电泳分析, 2R 等位基因产物长 215bp, 3R 等位基因产物长 243bp。经限制性内切酶 Hae III 酶切后, 3RG 酶切为 66bp, 47bp, 45bp, 44bp, 28bp 与 13bp 片段, 3RC 酶切为 94bp, 47bp, 45bp, 44bp 与 13bp 片段。3'-UTR PCR 产物经限制性内切酶 Dra I 酶切后 3% 琼脂糖凝胶电泳分析, -6bp 等位基因不能被酶切, 只有 152bp 片段; +6bp 等位基因产生 70bp 和 88bp 两个片段。

1.4.3 EGFR(CA)n 多态性检测

应用 PCR-直接测序法检测 EGFR 基因第 1 内含子区 CA-SSR 多态性, PCR 体系同前, 引物及条件见表 1。

1.4.4 单核苷酸多态性检测

单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 检测采用 GenomeLab™ SNPstream 基因分型系统完成, 引物序列见表 2。

1.5 统计学处理

统计分析软件应用 SPSS 13.0 for windows, 组间等级资料差异采用 χ^2 检验或 Fisher's 精确检验; 等级资料相关采用 Spearman 相关分析; 组间 TTP 分析应用 Kaplan-Meier 法评估, 并用 Log-rank 检验; Cox 风险模型评估预后因素风险。

2 结果

纳入 54 例患者中, 筛失 2 例, 出组 3 例, 另 49 例至少接受 1 个周期研究方案治疗, 47 例可评价疗效, 其中有效 (CR+PR) 25 例, 有效率 53%。对 47 例患者检测 17 个基因的 20 个多态性位点与疗效及 TTP 相关性进行分析见表 3。由于检测位点较多, 采用 Genome Lab™ SNPstream 基因分型系统存在一定的检测丢失, 所以表 3 中的有些基因型患者例数不

表 1 PCR 引物设计及退火温度

扩增片段	引物名称	引物序列	退火温度/循环数
TS 5'-UTR	TSERF	5'GTGGCTCCTGCGTTTCCCCC3'	62℃
	TSERR	5'GCTCCGAGCCGGCCACAGGCATGGCGCGG3'	35 个循环
TS 3'-UTR	T3F	5'CAAATCTGAGGGAGCTGAGT3'	57℃
	T3R	5'CAGATAAGTGGCAGTACAGA3'	35 个循环
EGFR(CA)n	CA1F	5'GGGCTCACAGCAAACCTTCTC3'	50℃
	CA1R	5'AAGCCAGACTCGCTCATGTT3'	30 个循环

为 47 例。

TS 基因 5'-UTR 3RG 携带者 (2R/3RG, 3RC/3RG, 3RG/3RG) 与非 3RG 携带者 (2R/2R, 2R/3RC, 3RC/3RC) 有效率分别为 65% 和 40% ($P=0.095$)。3RG 携带者较非 3RG 携带者 TTP 有明显优势 (6.1 个月 vs 3.0 个月, $P=0.024$), 见图 1。

VEGF C936T 多态性的 T/T 基因型患者 TTP 时间明显较 C/T 及 C/C 基因型患者短 (分别为 2.0、5.2、5.4 个月, $P=0.014$), 见图 2。2 例 T/T 基因型患者均在治疗期间疾病进展。

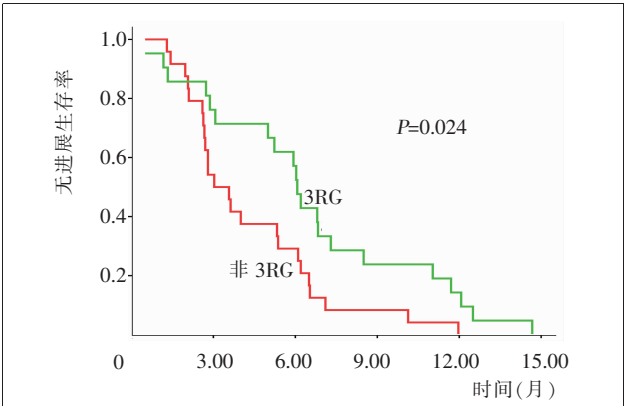


图 1 不同 TS 5'-UTR 基因型患者无进展生存曲线

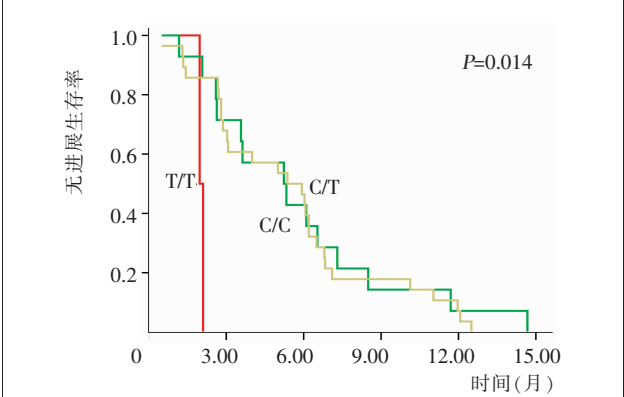


图 2 不同 VEGF C936T 基因型患者无进展生存曲线

表 2 SNPstream 分析的 PCR 引物和延伸引物序列

SNP 位点	寡聚类型	引物序列
rs1695	PCR	GTGGACATGGTGAATGACG
	PCR	AACCTGGTGCAGATGCT
	SNP	GACCTGGGTGTCGATACCTACGTGGAGGACCTCCGCTGCAAATAC
rs11549465	PCR	TTCTTGTATTTGAGTCTGCTGG
	PCR	TATATCCCAATGGATGATGACTT
	SNP	AGGGTCTCTACGCTGACGATGGGCTTGGGAACTGCTTTCTAATG
rs1801274	PCR	AAGCTCTGGTCAAGGTCA
	PCR	TTGGATGAGAACAGCGTGA
	SNP	CGACTGTAGGTGCGTAACTCAATGGAAAATCCCAGAAATTCTCCC
rs25487	PCR	AGTGGGTGCTGGACTGTC
	PCR	AGCACAGGATAAGGAGCAGG
	SNP	GTGATTCTGTACGTGTCGCGCCGATGCGTGGCGGCTGCCCTCCC
rs11615	PCR	TCTGGCCCAGCACATAGT
	PCR	TTATCAAGGGTCATCCCTATTG
	SNP	GCGGTAGGTTCCCGACATATTTACGTGCGCAAATCCCAGGGCAC
rs3025039	PCR	TGATTTAGCAGCAAGAAAAATAAA
	PCR	ACTTTGGGTCCGGAGGGC
	SNP	AGCGATCTGCGAGACCGTATGGCGAATCCAATTCCAAGAGGGACC
rs4444903	PCR	TTCCACTTTTCAAAAAAGAGAACT
	PCR	AAAGGCTTAGAGAGGAAAAAGAAA
	SNP	GGATGGCGTTCCGTCCTATTCTTTAGCCCCAATCCAAGGGTTGT
rs3918290	PCR	ATATTGGTGTCAAAGTGTCACTG
	PCR	AACTTATGCCAATTCTCTTGTTTTA
	SNP	CGTGCCGCTCGTGATAGAATACTAAAGGCTGACTTTCCAGACAAC
rs861539	PCR	TTGATGCACAGCACAGGG
	PCR	AATTTGACAGCCAGGCCT
	SNP	ACGCACGTCCACGGTGATTTAGGCATCTGCAGTCCCTGGGGGCCA
rs396991	PCR	TTCTACATTCCAAAAAGCCACA
	PCR	ATGGTGATGTTACAGTCTCTG
	SNP	AGATAGAGTGCATGCCAGCTCGGCTCCTACTTCTGCAGGGGGCTT
rs3212986	PCR	TTTCTTTAGTTCCTCAGTTTCCC
	PCR	AATTCAGAGTCTGGGGAGGA
	SNP	CGACTGTAGGTGCGTAACTCGACTACACAGGCTGCTGCTGCTGCT
rs1799782	PCR	AGGACCCACGTTGTCCGA
	PCR	ATGAGAGCGCCAACTCTCT
	SNP	GTGATTCTGTACGTGTCGCGGAGGCCGGGGGCTCTCTTCTTCAGC
rs2227307	PCR	ATATAACACTTAGGAAAGTATAAAGTTTGATC
	PCR	TGGTTCTCAATAGGACATACTATAAATTAC
	SNP	AGCGATCTGCGAGACCGTATTATTCTGCTTTTATAATTTATACCA
rs1801133	PCR	TGCATGCCTTCACAAAGC
	PCR	TTTGAGGCTGACCTGAAGC
	SNP	GGCTATGATTTCGCAATGCTTGAAAAGCTGCGTGATGATGAAATCG
rs1136201	PCR	ATGACAAGGGCTGCCCGG
	PCR	ACCCCAAGACCACGACC
	SNP	AGAGCGAGTGACGCATACTAGAGAGCCAGCCCTCTGACGTCCATC
rs2227983	PCR	TCTGCCATGCCTTGTGCT
	PCR	AGAAGCTTGCACTTGTCCAC
	SNP	CGTGCCGCTCGTGATAGAATGACATTCCGGCAAGAGACGCAGTCC
rs9344	PCR	TACTACCGCTCACACGC
	PCR	TGTAAGCCCCGGCAAGGC
	SNP	AGATAGAGTGCATGCCAGCTTCTCCAGAGTGATCAAGTGTGACCC

表 3 基因多态性与疗效及 TTP 关系

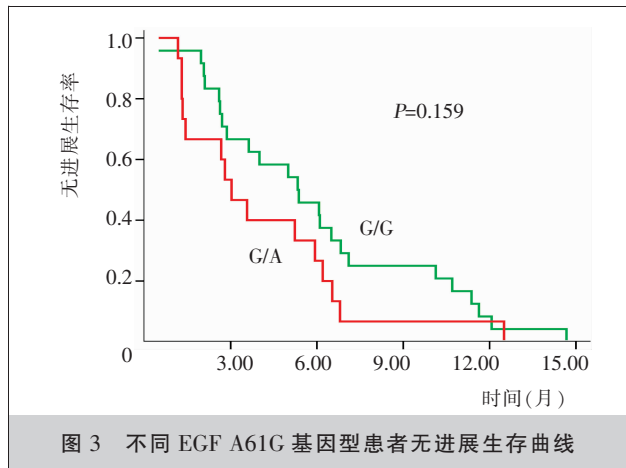
基因多态性	例数	等位基因频率		疗效 *		中位 TTP (月) (95% CI)**
				CR+PR (%)	SD+PD (%)	
总计	47			25 (53)	22(47)	5.2 (4.2~6.3)
EGF A61G (rs4444903)						
A/A	3	A	G	2 (67)	1 (33)	6.0 (2.7~9.4)
A/G	14	0.244	0.756	5 (36)	9 (64)	2.7 (0.0~5.4)
G/G	26			15 (58)	11 (42)	5.3 (2.7~7.9)
P 值				0.428		0.159
EGFR(CA)n (rs11568315)						
Both ≥ 16	23	≥ 16	<16	10 (43)	13 (57)	5.4 (4.0~6.8)
Any<16	25	0.479	0.521	15 (60)	10 (40)	3.1 (1.7~4.4)
P 值				0.383		0.764
EGFR R497K (rs2227983)						
R/R	15	R	K	10 (67)	5 (33)	3.0 (2.4~3.6)
R/K	16	0.605	0.395	8 (50)	8 (50)	5.0 (0.5~9.5)
K/K	7			3 (43)	4 (57)	5.3 (1.3~9.4)
P 值				0.523		0.654
VEGF C936T (rs3025039)						
T/T	2	T	C	0 (0)	2 (100)	2.0
C/T	15	0.202	0.798	8 (53)	7(47)	5.2 (0.6~6.7)
C/C	30			17 (57)	13 (43)	5.4 (2.7~8.0)
P 值				0.104		0.014
FCGR2A H131R (rs1801274)						
H/H	25	H	R	14 (56)	11 (44)	3.1 (1.7~4.4)
H/R	18	0.723	0.277	7 (39)	11 (61)	5.4 (0.7~10.1)
R/R	4			4 (100)	0 (0)	5.9 (5.1~6.8)
P 值				0.326		0.694
FCGR3A V158F (rs396991)						
V/V	2	V	F	1 (50)	1 (50)	1.3
V/F	39	0.500	0.500	20 (51)	19 (49)	5.33 (2.4~8.2)
F/F	2			2 (100)	0 (0)	5.23
P 值				0.740		0.208
IL8 G230T (rs2227307)						
G/G	3	G	T	1(33)	2(67)	6.0 (0.7~11.3)
G/T	15	0.263	0.737	7(47)	8(53)	3.6 (2.5~4.6)
T/T	22			14(64)	8(36)	7.4 (4.9~7.0)
P 值				0.485		0.413
HIF1A C2028T (rs11549465)						
T/T	1	T	C	1 (100)	0 (0)	5.0
T/C	4	0.067	0.933	3 (75)	1 (25)	4.6 (1.0~8.2)
C/C	40			20 (50)	20 (50)	5.4 (4.2~6.5)
P 值				0.352		0.397
Cyclin D1 G870A (rs9344)						
A/A	32	A	G	17 (53)	15 (47)	5.23 (1.8~8.6)
A/G	9	0.890	0.110	5 (56)	4 (44)	5.33 (0~12.5)
G/G	0					
P 值				1.000		0.971
HER2 I655V (rs1136201)						
I/I	46	I	V	25(54)	21(46)	5.3(2.3~7.9)
I/V	0	1.000	0.000			

续表 3 基因多态性与疗效及 TTP 关系

基因多态性	例数	等位基因频率		疗效 *		中位 TTP (月) (95% CI)**
				CR+PR (%)	SD+PD (%)	
V/V	0					
TS 5'-UTR (rs34743033)						
3RG	20	3RG	非 3RG	13 (65)	7 (35)	6.1 (5.7~6.5)
非 3RG	25	0.444	0.556	10(40)	15 (60)	3.0 (2.1~3.9)
P 值				0.095		0.024
TS 3'-UTR (rs34489327)						
-6bp/-6bp	18	-6bp	+6bp	10 (56)	8 (44)	6.0 (4.5~7.6)
-6bp/+6bp	23	0.646	0.354	11 (48)	12 (52)	4.0 (1.1~6.9)
+6bp/+6bp	5			3 (60)	2 (40)	3.1 (2.5~3.6)
P 值				0.917		0.702
MTHFR C677T (rs1801133)						
C/C	11	C	T	6 (55)	5 (45)	6.1 (2.3~9.9)
C/T	18	0.465	0.535	11 (61)	7 (39)	5.4 (1.3~9.4)
T/T	14			6 (43)	8 (57)	5.0 (2.3~7.7)
P 值				0.588		0.723
GSTP1 G342A (rs1695)						
A/A	34	A	G	19 (56)	15 (44)	5.0 (2.5~7.5)
A/G	8	0.864	0.136	4 (50)	4 (50)	6.2 (0~12.4)
G/G	2			1 (50)	1 (50)	3.0
P 值				1.000		0.580
ERCC1 C118T (rs11615)						
T/T	5	T	C	2 (40)	3 (60)	5.0 (0~12.9)
T/C	19	0.352	0.648	12 (63)	7 (37)	6.1 (5.8~6.3)
C/C	18			7 (39)	11 (61)	3.6 (1.7~5.4)
P 值				0.327		0.726
ERCC1 C8092A (rs3212986)						
C/C	2	C	T	1 (50)	1 (50)	2.8
C/A	29	0.388	0.612	15 (52)	14 (48)	5.4 (4.0~6.8)
A/A	9			5 (56)	4 (44)	5.2 (1.8~8.7)
P 值				0.977		0.265
XRCC1 R194W (rs1799782)						
R/R	22	R	W	13 (59)	9 (41)	5.9 (4.7~7.2)
R/W	15	0.686	0.314	8 (53)	7 (47)	2.9 (0~6.1)
W/W	6			2 (33)	4 (67)	2.7 (1.1~4.4)
P 值				0.536		0.446
XRCC1 R399Q (rs25487)						
Q/Q	4	Q	R	2 (50)	2 (50)	6.2 (5.6~6.8)
Q/R	17	0.278	0.722	10 (59)	7 (41)	5.2 (2.1~8.4)
R/R	24			12 (50)	12 (50)	4.0 (1.4~6.6)
P 值				0.936		0.346
XRCC3 T241M (rs861539)						
T/T	0	T	M			
T/M	1	0.015	0.985	0(0)	1(100)	12.1
M/M	33			19(58)	13(42)	5.3(2.5~8.1)
P 值						0.281
DPD IVS14+1G>A (rs3918290)						
A/A	0	A	G			
G/A	0	0.000	1.000			
G/G	46			25(54)	21(46)	5.3(2.3~7.9)

*Fisher 精确检验;**Log-rank 检验

虽然 EGF A61G 多态性与疗效及 TTP 间未见明显相关,但分层分析发现 G/G 基因型中位 TTP 较 A/G 基因型有延长趋势 (5.3 个月 vs 2.7 个月, $P=0.159$), 见图 3。



其余 17 个基因多态性位点不同基因型与疗效及 TTP 间关系分析未见相关性。

3 讨论

目前,抗肿瘤治疗还处于一个低效、高毒的时代,寻找能够预测疗效的生物标志,对于提高治疗有效率,避免贻误病情,减少患者在经济及时间上的浪费及不必要的毒副作用,具有重要的现实意义^[4]。

研究显示,卡培他滨联合顺铂一线治疗晚期胃癌具有较好的安全性和有效性,有效率 35%~40%,中位生存期 10 个月左右^[5]。由于胃癌存在 EGFR 高表达,西妥昔单抗作为针对 EGFR 的单抗,预期对胃癌有效。

本研究 and 国外同期进行的一些研究均提示西妥昔单抗对晚期胃癌有较好的抗肿瘤活性^[2,3,6]。与结直肠癌和肺癌中的情形类似,这些研究也发现皮疹作为应用 EGFR 抑制剂所特有的不良反应,与患者临床获益密切相关,但这种事后性标志对选择适当的治疗患者没有帮助^[7],临床上迫切需要寻找疗效相关生物标志物进行治疗前筛选。

体外研究显示^[8],携带 A 等位基因细胞 EGF 分泌量明显低于携带 G 等位基因细胞。Lurje 等^[9]对 130 例应用西妥昔单抗单药治疗的转移性结直肠癌患者分析后也发现,EGF 61 G/G 基因型患者 PFS 更

优(1.4 个月 vs 1.2 个月, $P=0.04$)。Graziano 等^[10]对应用西妥昔单抗联合伊立替康治疗 110 例转移性结直肠癌患者基因多态性分析后发现,EGFR 短 CA 重复序列及 EGF 61 G/G 基因型患者总生存时间有明显优势。本研究中 EGF G/G 表现为有利基因型,这与上述研究结果类似。我们对血清 EGF 水平分析时也发现血清 EGF 高水平与临床获益有关^[5]。说明 EGF 作为配体,其状态对 EGFR 信号通路会产生影响,也会对西妥昔单抗治疗胃癌的临床疗效产生影响^[8]。

本研究中 2 例基因型为 VEGF 936 T/T 患者均未从治疗中获益。文献报道 936T 携带者 VEGF 血清水平较高^[11],也有研究显示血清 VEGF 水平对西妥昔单抗疗效会产生影响^[12]。EGFR 与 VEGFR 同属于酪氨酸激酶受体,在细胞信号转导网络中彼此影响、相互协调、关系密切。同样在肿瘤发生、发展过程中也紧密关联,但由于本研究中 T/T 基因型患者仅有 2 例,限制了我们进一步分析。

卡培他滨作为 5-Fu 的替代药物广泛应用于临床,已有研究提出^[13,14]TS 5'-UTR 串联重复序列多态性对 5-Fu 类药物临床应用有明显影响,对临床用药个体化具有重要意义。TS 5'-UTR 串联重复序列多态性与 TS 酶表达有关,3R 携带者较 2R 携带者 TS 酶高表达,其中 3RC 携带者与 2R 携带者 TS 酶表达水平相仿,3RG 携带者 TS 酶表达水平最高。研究表明,TS 酶高表达与患者 5-Fu 耐药及预后差相关。本研究发现 3RG 患者更具生存优势,虽然也有研究报告过类似的结果,但与多数研究相悖^[15]。受条件所限,我们没有进行更多的临床标本检测 TS 酶的表达水平,所以仍不能明确 TS 酶表达与基因型及疗效的关系,西妥昔单抗与顺铂的应用是否是导致这种变化的原因,尚待研究。

本研究未发现其它位点基因多态性与临床疗效相关,由于本研究入组的样本量较小,未设立对照组,可能存在对研究结果的过度解读以及对一些生物标志的意义估计不足,仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] Okines A, Cunningham D, Chau I. Targeting the human EGFR family in esophagogastric cancer [J]. Nat Rev Clin Oncol, 2011, 8(8):492-503.
- [2] Moehler M, Mueller A, Trarbach T, et al. Cetuximab with irinotecan, folinic acid and 5-fluorouracil as first-line treat-

- ment in advanced gastroesophageal cancer: a prospective multi-center biomarker-oriented phase II study [J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(6):1358–1366.
- [3] Luber B, Deplazes J, Keller G, et al. Biomarker analysis of cetuximab plus oxaliplatin/leucovorin/5-fluorouracil in first-line metastatic gastric and oesophago-gastric junction cancer: results from a phase II trial of the Arbeitsgemeinschaft Internistische Onkologie (AIO) [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11:509.
 - [4] Jensen NF, Smith DH, Nygrd SB, et al. Predictive biomarkers with potential of converting conventional chemotherapy to targeted therapy in patients with metastatic colorectal cancer [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2011 Dec 19. [Epub ahead of print]
 - [5] Lee SS, Lee JL, Ryu MH, et al. Combination chemotherapy with capecitabine(x) and Cisplatin(p) as first line treatment in advanced gastric cancer: experience of 223 patients with prognostic factor analysis [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2007, 37(1): 30–37.
 - [6] 刘慧龙, 张小田, 徐建明, 等. 西妥昔单抗联合卡培他滨和顺铂一线治疗晚期胃癌及相关预测因子的研究[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2009, 14(5):385–389.
 - [7] Van Cutsem E, Kohne CH, Hitre E, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(14):1408–1417.
 - [8] Henson ES, Gibson SB. Surviving cell death through epidermal growth factor (EGF) signal transduction pathways: implications for cancer therapy [J]. *Cell Signal*, 2006, 18(12):2089–2097.
 - [9] Lurje G, Nagashima F, Zhang W, et al. Polymorphisms in cyclooxygenase-2 and epidermal growth factor receptor are associated with progression-free survival independent of K-ras in metastatic colorectal cancer patients treated with single-agent cetuximab [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(23): 7884–7895.
 - [10] Graziano F, Ruzzo A, Loupakis F, et al. Pharmacogenetic profiling for cetuximab plus irinotecan therapy in patients with refractory advanced colorectal cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2008, 26(9):1427–1434.
 - [11] Al-Habboubi HH, Sater MS, Almawi AW, et al. Contribution of VEGF polymorphisms to variation in VEGF serum levels in a healthy population [J]. *Eur Cytokine Netw*, 2011, 22(3):154–158.
 - [12] Argiris A, Lee SC, Feinstein T, et al. Serum biomarkers as potential predictors of antitumor activity of cetuximab-containing therapy for locally advanced head and neck cancer [J]. *Oral Oncol*, 2011, 47(10):961–966.
 - [13] Pullarkat ST, Stoehlmacher J, Ghaderi V, et al. Thymidylate synthase gene polymorphism determines response and toxicity of 5-Fu chemotherapy [J]. *Pharmacogenomics*, 2001, 1(1):65–70.
 - [14] Pander J, Wessels JA, Gelderblom H, et al. Pharmacogenetic interaction analysis for the efficacy of systemic treatment in metastatic colorectal cancer [J]. *Ann Oncol*, 2011, 22(5):1147–1153.
 - [15] Gusella M, Padrini R. G>C SNP of thymidylate synthase with respect to colorectal cancer [J]. *Pharmacogenomics*, 2007, 8(8):985–996.