

食管癌疗效相关肿瘤生物标志物的研究进展

Research Progress in Response Related Biomarkers in Esophageal Cancer
WU Qing, ZHU Yan-jun

伍青, 朱彦君 (中国人民解放军空军总医院, 北京 100142)

摘要:食管癌的传统治疗已进入平台期,基于生物标志物检测的个体化治疗逐渐成为一种趋势。全文就食管癌各种标志物(包括化疗药物相关标志物以及靶向药物相关标志物)的研究进展作一综述,初步介绍这些标志物的表达或突变对药物治疗疗效的影响。

关键词:食管肿瘤;生物标志物;疗效;研究进展

中图分类号:R735.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1004-0242(2012)10-0775-04

据 2002 年全球癌症统计,食管癌在所有恶性肿瘤中发病率居第 8 位,死亡率居第 6 位,全球因食管癌死亡的人约 46.8 万。在我国,食管癌的年新病例约 23.7 万例,造成超过 19 万人死亡^[1]。因为大多数食管癌患者在确诊时已属于中晚期,所以如何提高这些中晚期患者的治疗效果是临床工作的当务之急。尽管随着新一代化疗药物的应用,患者的生存获得了一定益处,但大多数患者的预后仍较差。近年来,随着药物遗传学/药物基因组学在化疗药物作用机制等方面的研究进展,相关的临床研究不断深入,基于生物标志物检测的个体化治疗逐渐成为了食管癌临床治疗的发展方向。

即使年龄、肿瘤大小以及病理分级都相同的患者,对同一个治疗方案也会出现千差万别的反应,这是由个体差异性所导致的。约有一半多的患者不但不能从传统的治疗方案中受益,反而要遭受放疗所带来的巨大痛苦。因此,越来越多的学者致力于和疗效相关生物标志物的研究,期望能够发现可预测药物疗效的肿瘤标志物。

1 ERCC1 表达/突变与治疗疗效关系

核苷酸切除修复交叉互补组 1 (excision repair cross complement group 1, ERCC1) 是核酸外切修复

家族中的重要成员,是由 ERCC1 基因编码的 DNA 切除修复蛋白,参与 DNA 链的切割和损伤识别。ERCC1 的表达量直接影响 DNA 修复的生理过程。所有肿瘤细胞中都有 ERCC1 表达,而且表达水平差异很大。

大量临床研究证实:ERCC1 低表达的食管癌患者更容易从以铂类药物为基础的治疗中获益。Kim 等^[2]研究了食管癌患者 ERCC1 和胸苷酸合成酶(thymidylate synthetase, TYMS)的表达对放疗(氟尿嘧啶/顺铂+放疗或卡培他滨/顺铂+放疗)疗效的影响,结果显示,ERCC1 和 TYMS 表达阴性的患者更容易受益 ($P<0.001$, $P=0.04$); 在多因素分析中,ERCC1 可作为独立的预测因子 ($P<0.001$)。并且,ERCC1 表达阴性的患者具有更长的总生存期(overall survival, OS) ($P=0.10$) 以及无进展生存期(progression-free survival, PFS) ($P=0.08$), 更容易从术前放疗中获益^[3]。ERCC1 还可以预测食管鳞癌转移患者接受卡培他滨和顺铂联合化疗后的疗效及患者的预后,ERCC1 水平越高, PFS 和 OS 越短^[4]。Warnecke-Eberz 等^[5]研究了局部晚期食管癌患者 ERCC1 的表达与放疗(氟尿嘧啶/顺铂+放疗)疗效的关系,结果显示 ERCC1 mRNA 的表达水平和患者的病理反应之间存在紧密联系 ($P<0.001$), 它可作为放疗疗效的预测因子, ERCC1 mRNA 高表达的患者疗效较差,建议考虑更换治疗方案,以避免接受昂贵的无效治疗。Fareed 等^[6]的研究结果也显示, ERCC1

收稿日期:2012-06-11;修回日期:2012-07-22

通讯作者:朱彦君, E-mail: kongzongzhuyanjun@163.com

表达的患者对铂类药物的反应显著较差($P=0.006$),且有较差的无病生存期(disease-free survival,DFS)以及OS($P=0.020,P=0.040$)。Langer等^[7]认为ERCC1可以预测食管Barrett腺癌患者对顺铂是否敏感。Brabender等^[8]的研究也得到了相似的结果:对治疗只出现轻微反应的患者,其血液中ERCC1的表达水平显著较高。

Warnecke-Eberz等^[9]还在局部晚期食管癌患者中进行了ERCC1多态性与顺铂+氟尿嘧啶(5-FU)治疗疗效的研究,结果发现ERCC1 C118T可作为患者预后的预测因子($P<0.003$)。

这些研究表明ERCC1 mRNA的表达水平及基因多态性与食管癌个体化治疗有非常密切的联系。

2 BRCA1 表达与治疗疗效关系

BRCA1(breast cancer 1)是一种肿瘤抑制基因,能转录翻译成乳腺癌1型易感蛋白。它存在于乳腺细胞和其他组织中,在DNA损伤和修复中扮演重要的角色,并在基因的转录调节、细胞周期调控、细胞凋亡和中心体复制等过程中起重要作用。BRCA1通过作用于 γ -微球蛋白,在中心粒的复制中起负性调节的作用。中心体的正确复制是保证有丝分裂正常进行的重要因素,这一过程的失调可使细胞异常分裂,最终导致肿瘤的形成。

BRCA1 mRNA的表达对药物疗效有预测作用。Font等^[10]在43例局部晚期食管癌患者中研究了BRCA1 mRNA的表达对顺铂/5-FU化疗疗效的影响,在23例接受术前放化疗之后进行了食管癌切除术的患者中,有10例(43.5%)的病理反应良好。在6例BRCA1 mRNA低表达的患者中,4例(66%)有显著较好的病理反应,而在17例BRCA1 mRNA中高表达的患者中,只有6例(36%)出现良好的病理反应($P=0.3$)。43例患者中有5年生存期患者的比例为18%,其中BRCA1 mRNA低表达的患者5年生存率为21%,而BRCA1 mRNA高表达的患者只有17%($P=0.8$)。

3 TYMS 表达/多态性与药物疗效关系

胸苷酸合成酶(thymidylate synthetase, TYMS)是

由TYMS基因编码的一种酶蛋白,是嘧啶核苷酸合成的限速酶,能催化合成一磷酸胸苷(dTMP)。dTMP磷酸化能合成三磷酸胸苷用于DNA合成和修复。作为抗肿瘤化疗靶向标志物, TYMS能被TYMS抑制剂(如含氟嘧啶、氟尿嘧啶)或一些叶酸类似物(如雷替曲塞)所抑制。

TYMS基因的表达和多态性均可作为治疗疗效的预测因子。Joshi等^[11]在99例食管癌患者中研究了GSTP1、ERCC1以及TYMS的表达对顺铂/5-FU+放疗疗效的影响。结果Cox比例风险模型显示, TYMS的表达与患者的生存期呈负相关($P=0.007$),与患者对药物的敏感性也呈负相关($P\leq 0.001$)。在多因素分析中, TYMS>6.0, ERCC1>3.0以及GSTP1>3.0都与患者的生存期下降有关($P=0.007$)。另外, ERCC1>3.0或TYMS>6.0,都意味着患者的癌症复发率大约是其其他群体的2倍($P=0.086,P=0.003$)。同样, Harpole等^[12]在118例接受顺铂/5-FU化疗+放疗的食管癌患者中的研究也显示, TYMS的表达与生存率呈负相关。

Liao等^[13]在146例白种人食管腺癌患者中研究了TYMS基因多态性对以5-FU为主的放化疗疗效的影响,结果发现,与其他人群相比,6bp/6bp基因型的患者原位复发的比例更低(HR=0.211, $P=0.06$),3年局部控制率(LRC)更高($P=0.07$),但其差异并不具有统计学意义。

4 MTHFR 多态性与药物疗效关系

亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)在人体内由MTHFR基因编码。5-FU进入体内后,在胸苷激酶的催化下转变成5-FdUMP(5-fluorodeoxyuridine monophosphate)。5-FdUMP与5,10-亚甲基四氢叶酸(5,10-MTHF)和TYMS形成一种稳定的共价络合物,从而干扰DNA的合成和修复。MTHFR是叶酸代谢过程中的关键酶,能将5,10-MTHF转变成5-甲基四氢叶酸(5-MTHF),从而参与蛋氨酸代谢循环和DNA的甲基化。MTHFR的活性将直接影响体内5,10-MTHF的浓度和5-FU的抗癌作用。MTHFR基因的多态性使体内5,10-MTHF水平升高,增强5-FU的抗肿瘤作用。

Wu等^[14]在201例食管癌患者中研究了MTHFR

基因的多态性对 5-FU 治疗疗效的影响,结果在 Cox 风险模型中,*MTHFR* 基因突变的基因型 Glu429Ala 可显著提高生存率(HR=0.56)。带有基因突变型的患者与野生型的患者相比,3 年生存率分别为 65.26%和 46.43%。对 5-FU 代谢通路中 3 个基因的 5 个多态性(*MTHFR* C677T/A1298C;*MTR* A2756G/*TS* C157T/A227G)进行分析发现,随着不利等位基因数的下降,患者的复发风险会降低,并且无复发生存期会更长($P=0.004$)。

5 EGFR 突变/表达与药物疗效关系

表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor,EGFR)是一种细胞表面受体,属于酪氨酸激酶受体家族 ErbB 受体亚家族。该家族成员主要有 EGFR(ErbB-1)、HER-2/c-neu(ErbB-2)、Her-3(ErbB-3)和 Her-4(ErbB-4)。EGFR 是一种糖蛋白,分子量为 170kD,无亚基结构,是一条被质膜分为内外两个区段的单一多肽链。EGFR 位于细胞表面,通过其配体与表皮生长因子(epidermal growth factor,EGF)和转化生长因子 α (transforming growth factor alpha, TGF- α) 在内的生长因子的结合而活化。活化后,EGFR 从非活化单体形态转变为活化的二聚体。配体被结合后,EGFR 可能与 ErbB 受体家族其他成员,如 Her-2/neu 配对,成为被活化的异二聚体。EGFR 二聚体化后刺激其内在的胞内蛋白—酪氨酸激酶活性,使 EGFR 碳端区域的酪氨酸基团自磷酸化,从而启动了信号传导级联而导致多种生物化学变化,如细胞内钙水平上升、糖酵解与蛋白质合成增加、某些基因(包括 *EGFR*)的表达增加,最终导致 DNA 合成和细胞增殖。影响 EGFR 表达或活性的突变可能会导致癌症。

Janmaat 等^[15]研究了 EGFR 酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor,TKI)吉非替尼治疗 36 例晚期食管癌患者的疗效,结果 1 例(2.8%)部分缓解,10 例(27.8%)病情稳定,17 例(47.2%)疾病进展,8 例(22.2%)反应无法评估。患者的 PFS 为 59d,中位 OS 为 164d。患者中无 EGFR 突变型,但其中 2 例患者存在 EGFR 的高拷贝,1 例部分缓解,而另 1 例疾病进展。研究表明,EGFR 高表达有着更好的疾病控制率($P=0.002$)。Gibson 等^[16]研究了 EGFR、Bax

和 Bcl-2 的表达以及 p53 蛋白 5~8 外显子区域的突变对放化疗(5-FU/顺铂+放疗)疗效的影响,结果显示 EGFR 的表达与 OS 呈负相关($P=0.009$)。

6 p53 表达/突变对药物疗效的影响

p53 基因定位于第 17 号染色体 p13.1 区,其表达和突变都可以作为药物疗效的预测因子。Okumura 等^[17,18]在 62 例食管鳞状细胞癌患者中研究了 p53 蛋白家族对放化疗(5-FU/顺铂+放疗)疗效的影响。患者的临床及组织学反应率分别为 71.0%和 52.8%;p53、p53R2(RRM2B,ribonucleotide reductase M2B)和 p21 的阳性表达率分别为 43.5%、37.1%和 54.8%;p53 或 p53R2 的表达与良好的反应有密切关系(临床反应: $P=0.001$ 或 0.016;组织学反应: $P=0.041$ 或 0.018)。另外,对于 p53 阴性患者来说,与 p53R2 阳性患者相比较,对放化疗有着更好的反应($P=0.0014$)。Heeren 等^[19]研究了患者 p53/p21 和 Ki-67 的表达对术前化疗以及预后的影响,结果显示 p53/p21 和 Ki-67 的表达本身与术前化疗疗效没有关系,但是 p53/p21 在放化疗前后表达的改变与预后关系密切($P=0.011$)。Gibson 等^[16]研究了 EGFR、Bax 和 Bcl-2 的表达以及 p53 蛋白 5~8 外显子的突变对放化疗(5-FU/顺铂+放疗)疗效的影响,结果发现 p53 的突变预示着更好的 OS($P=0.051$)。

7 结 语

虽然食管癌治疗疗效相关标志物的研究逐年增多,包括 ERCC1、BRCA1、TYMS、MTHFR、EGFR 和 p53 等。在这些标志物中,ERCC1、BRCA1 和 TYMS 与 DNA 的修复相关,是铂类和抗代谢的疗效预测因子;MTHFR 则与药物代谢相关,可预测患者对 5-FU 等药物的毒副作用;EGFR 是 EGFR 通路中的信号分子,能够预测多种靶向药物及化疗药物的疗效。

目前真正应用到临床治疗的却非常少。虽然有越来越多的临床研究关于 ERCC1、BRCA1 等基因与药物疗效的关系,但还集中于小样本量的研究,并且缺少前瞻性的研究。特别是关于分子标志物的检测方法尚不统一,检测手段各不相同,也造成了一些相反的研究结论。因此确定分子标志物的临床应用

价值,也需要统一规范的方法。此外,其他标志物,如RRM1(ribonucleotide reductase M1),TUBB3(tubulin beta3 class III),COX-2(cytochrome c oxidase subunit II)等,尚需更多病例研究证实以及进一步寻找。

食管癌个体化治疗相关分子标志物的应用前景是美好的。目前,非小细胞肺癌、乳腺癌以及结直肠癌等都有多个标志物的检测被写入了NCCN临床治疗指南,相信在不久的将来,在完善检测技术及临床研究方法的基础上,会有更多的食管癌相关的生物标志物用于指导临床实践,当然这需要大样本量的前瞻性临床研究去验证,特别是关于中国人群的研究。

参考文献:

- [1] 陈万青.2004-2005年中国恶性肿瘤发病与死亡的估计[J].中华肿瘤杂志,2009,31(9):664-668.
- [2] Kim MK,Cho KJ,Kwon GY,et al. ERCC1 predicting chemoradiation resistance and poor outcome in oesophageal cancer[J]. Eur J Cancer,2008,44(1):54-60.
- [3] Kim MK,Cho KJ,Kwon GY,et al. Patients with ERCC1-negative locally advanced esophageal cancers may benefit from preoperative chemoradiotherapy[J]. Clin Cancer Res,2008,14(13):4225-4231.
- [4] Lee S,Park YH,Kim KH,et al. Thymidine synthase, thymidine phosphorylase,and excision repair cross-complementation group 1 expression as predictive markers of capecitabine plus cisplatin chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced oesophageal squamous cell carcinoma[J]. Br J Cancer,2010,103(6):845-851.
- [5] Warnecke-Eberz U,Metzger R,Miyazono F,et al. High specificity of quantitative excision repair cross-complementing 1 messenger RNA expression for prediction of minor histopathological response to neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal cancer [J]. Clin Cancer Res,2004,10(11):3794-3799.
- [6] Fareed KR,Al-Attar A,Soomro IN,et al. Tumour regression and ERCC1 nuclear protein expression predict clinical outcome in patients with gastro-oesophageal cancer treated with neoadjuvant chemotherapy [J]. Br J Cancer,2010,102(11):1600-1607.
- [7] Langer R,Specht K,Becker K,et al. Prediction of response to neoadjuvant chemotherapy in Barrett's carcinoma by quantitative gene expression analysis[J]. Verh Dtsch Ges Pathol,2004,88:207-213.
- [8] Brabender J,Vallböhmer D,Grimminger P,et al. ERCC1 RNA expression in peripheral blood predicts minor histopathological response to neoadjuvant radio-chemotherapy in patients with locally advanced cancer of the esophagus[J]. J Gastrointest Surg,2008,12(11):1815-1821.
- [9] Warnecke-Eberz U,Vallböhmer D,Alakus H,et al. ERCC1 and XRCC1 gene polymorphisms predict response to neoadjuvant radiochemotherapy in esophageal cancer[J]. J Gastrointest Surg,2009,13(8):1411-1421.
- [10] Font A. BRCA1 mRNA expression and response in locally advanced esophageal cancer patients (p) treated with chemoradiotherapy [J]. J Clin Oncol 28,2010(suppl;abstr e14573).
- [11] Joshi MB,Shirota Y,Danenberg KD,et al. High gene expression of TS1,GSTP1,and ERCC1 are risk factors for survival in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer[J]. Clin Cancer Res,2005,11(6):2215-2221.
- [12] Harpole DH Jr,Moore MB,Herndon JE 2nd,et al. The prognostic value of molecular marker analysis in patients treated with trimodality therapy for esophageal cancer[J]. Clin Cancer Res,2001,7(3):562-569.
- [13] Liao Z,Liu H,Swisher SG,et al. Polymorphism at the 3'-UTR of the thymidylate synthase gene: a potential predictor for outcomes in Caucasian patients with esophageal adenocarcinoma treated with preoperative chemoradiation [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys,2006,64(3):700-708.
- [14] Wu X,Gu J,Wu TT,et al. Genetic variations in radiation and chemotherapy drug action pathways predict clinical outcomes in esophageal cancer [J]. J Clin Oncol,2006,24(23):3789-3798.
- [15] Janmaat ML,Gallegos-Ruiz MI,Rodriguez JA,et al. Predictive factors for outcome in a phase II study of gefitinib in second-line treatment of advanced esophageal cancer patients[J]. J Clin Oncol,2006,24(10):1612-1619.
- [16] Gibson MK,Abraham SC,Wu TT,et al. Epidermal growth factor receptor,p53 mutation,and pathological response predict survival in patients with locally advanced esophageal cancer treated with preoperative chemoradiotherapy[J]. Clin Cancer Res,2003,9(17):6461-6468.
- [17] Okumura H,Natsugoe S,Matsumoto M,et al. The predictive value of p53,p53R2,and p21 for the effect of chemoradiation therapy on oesophageal squamous cell carcinoma[J]. Br J Cancer,2005,92(2):284-289.
- [18] Okumura H,Natsugoe S,Matsumoto M,et al. Predictive value of p53 and 14-3-3sigma for the effect of chemoradiation therapy on esophageal squamous cell carcinoma[J]. J Surg Oncol,2005,91(1):84-89.
- [19] Heeren PA,Kloppenber FW,Hollema H,et al. Predictive effect of p53 and p21 alteration on chemotherapy response and survival in locally advanced adenocarcinoma of the esophagus[J]. Anticancer Res,2004,24(4):2579-2583.