

同步放化疗对鼻咽癌患者血清 AGR2 水平的影响及其临床意义

Effect of Oncurrent Chemoradiotherapy on the Changes of Serum AGR2 in Patients with Advanced Nasopharyngeal Carcinoma and its Clinical Significance // TONG Zi-de, ZHAO De-an, LAI Shi-jia

童梓德, 赵德安, 赖世佳

(厦门大学附属成功医院, 福建 厦门 361003)

摘要: [目的] 观察同步放化疗对晚期鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma, NPC)患者血清前梯度蛋白 2(anterior gradient-2, AGR2)水平的影响, 探讨其在疗效及预后判断中的临床应用价值。[方法] 选取 38 例晚期 NPC 患者作为治疗组, 给予放疗联合铂类为主的化疗, 以 20 例健康人作为正常对照组; 采用 ELISA 法检测治疗前后血清 AGR2 水平, 并采用 Kaplan-Meier 法分析血清 AGR2 对预后的影响。[结果] 治疗后鼻咽癌患者 15 例缓解, 11 例稳定, 12 例进展, 疾病控制率为 68.4%。治疗组治疗前后血清 AGR2 水平均明显高于正常对照组 (P 均 <0.001); 治疗后血清 AGR2 水平比治疗前明显降低 [(17.28 $\pm$ 8.21)ng/ml vs (26.30 $\pm$ 6.33)ng/ml; $t=11.830$, $P<0.001$]; 治疗有效组患者血清 AGR2 水平较治疗前明显下降 [(13.67 $\pm$ 3.57)ng/ml vs (24.40 $\pm$ 5.42)ng/ml; $t=18.060$, $P<0.001$]。治疗后血清 AGR2 高水平者预后较低水平者差 ($\chi^2=4.751$, $P=0.029$)。[结论] 同步放化疗可有效降低血清 AGR2 水平, 治疗后血清 AGR2 水平对鼻咽癌患者预后有明显影响。

关键词: 鼻咽癌; 前梯度蛋白 2; 预后

中图分类号: R739.63 **文献标识码:** B **文章编号:** 1671-170X(2017)08-0719-03

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2017.08.B015

鼻咽癌(Nasopharyngeal carcinoma, NPC)是中国南方地区常见的恶性肿瘤之一。流行病学调查显示, 鼻咽癌呈明显的地域分布, 东南亚地区发病率较高, 在中国南部地区, NPC 发病率较高 (30/10 万~80/10 万)^[1]。尽管鼻咽癌在早期诊断、手术干预及辅助性治疗取得了实质性的进展, 但局部复发和远处转移仍是患者死亡的主要原因^[2]。鼻咽癌具有起病隐匿、恶性度高、复发转移率高、预后差等特点, 因此, 寻找新的血清标志物来辅助鼻咽癌的早期诊断、疗效及预后判断已成为研究的热点。血清前梯度蛋白 2 (anterior gradient-2, AGR2)是从乳腺癌细胞系 MCF7 的 cDNA 文库中筛选出非洲爪蟾 AGR2 的同源基因^[3]。AGR2 在多种恶性肿瘤中过量表达, 与肿瘤的发生、发展密切相关, 是一个潜在的早期诊断、疗效及预后判断的标志性基因^[4]。本研究通过检测鼻咽癌患者放疗前后血清 AGR2 水平的变化, 探讨其在鼻咽癌中的作用及其预后评估的价值。

通讯作者: 赖世佳, 主治医师, 本科; 厦门大学附属成功医院耳鼻喉科, 福建省厦门市思明区文园路 94-96 号 (361003); E-mail: 676226279@qq.com

收稿日期: 2017-02-23; **修回日期:** 2017-03-24

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取我院 2013 年 1 月至 2015 年 12 月收治的鼻咽癌患者 38 例, 初诊时经病理确诊为晚期鼻咽癌, 病理类型为鳞癌。其中, 男性 29 例, 女性 9 例, 年龄 45~69 岁, 平均年龄 57.3 $\pm$ 9.2 岁。按 2008 年鼻咽癌分期标准: III 期 29 例, IV 期 9 例。入选标准: ①首次确诊鼻咽癌患者, 既往未接受放化疗或其他抗肿瘤治疗; ②经全面检查评估, 预计生存期大于 3 个月, 有可测量的病灶, KPS 评分 ≥ 80 分, 血常规、肝肾功能正常, 心电图无异常, 无远处转移; ③患者知情同意, 自愿参加。排除标准: ①有严重心、肝肺等重要脏器功能不全者; ②合并有其他肿瘤病史; ③有血液系统疾病、急性感染等疾病者。38 例鼻咽癌患者为治疗组, 另以 20 例健康人作为对照组。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法

鼻咽癌患者均接受根治性放射治疗。根据 CT/MRI 片显示肿瘤及侵犯范围和周围敏感器官的位置

进行肿瘤范围设野。鼻咽剂量 68~70Gy, 颈淋巴结剂量 60~64Gy。同步化疗在放疗的第 1、22、43d 进行, 给予含铂类为主的化疗 (顺铂+5-氟尿嘧啶或顺铂+紫杉醇+5-氟尿嘧啶), 常规给予抗过敏、保肝、护胃等对照支持治疗, 共化疗 3 个疗程。

1.2.2 AGR2 含量测定

鼻咽癌患者分别在治疗前和治疗结束后 1 个月内清晨空腹抽取静脉血 5ml, 3000r/min, 离心 10min, 分离血清, -80℃冰箱保存, 集中待测。采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 法检测 AGR2。AGR2 ELISA 试剂盒购自上海盖宁生物科技有限公司, 严格按检测说明书操作。

1.2.3 疗效评价及随访

根据患者相关检查结果, 测量基线病灶的大小。治疗结束后 3 个月进行疗效评价, 按照实体瘤疗效评定标准 1.1 版 (RECIST): 完全缓解 (CR): 所有目标病灶消失, 维持 4 周; 部分缓解 (PR): 基线病灶长径总和缩小 30%, 维持 4 周。病灶稳定 (SD): 基线病灶长径总和缩小但未达 PR 或有增加但未达 PD。疾病进展 (PD): 基线病灶长径总和增加 20% 或出现新病灶。CR 为完全有效, PR+SD 为部分有效, PD 为无效。以 CR+PR+SD 为疾病控制率 (disease control rate, DCR), 即治疗有效。随访方式包括门诊复诊、住院复查、电话或邮件随访, 治疗结束后每 3 个月随访 1 次, 两年后每半年随访 1 次。随访内容包括血常规、肝肾功能、鼻咽部 CT/MRI, 必要时行骨 ECT 检查。总生存期 (overall survival, OS) 是指从治疗开始至随访截止日期或死亡。末次随访时间 (2016 年 5 月 30 日) 为随访截止日期, 8 例死亡, 26 例存活, 6 例失访, 随访时间 6~42 个月。

1.3 统计学处理

应用 SPSS18.0 统计学软件进行数据处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用两样本 t 检验, 治疗前后比较采用配对 t 检验, 采用 Kaplan-Meier 法绘制生存曲线, 采用 Log-rank 法进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效

29 例 III 期患者中 CR 0 例, PR 13 例, SD 10 例,

PD 6 例; 9 例 IV 期患者中 CR 0 例, PR 2 例, SD 1 例, PD 6 例。疾病控制率 (DCR) 为 68.4% (26/38)。

2.2 血清 AGR2 水平分析

治疗组治疗前血清 AGR2 水平 (26.30 ± 6.33) ng/ml 高于对照组 (8.75 ± 2.18) ng/ml ($t = 4.793$, $P < 0.001$);

治疗组治疗后血清 AGR2 水平 (17.28 ± 8.21) ng/ml 较治疗前 (26.30 ± 6.33) ng/ml 明显降低 ($t = 11.830$, $P < 0.001$), 但仍高于正常对照组 ($t = 6.172$, $P < 0.001$)。

治疗有效组患者治疗后血清 AGR2 水平为 (13.67 ± 3.57) ng/ml, 较治疗前 (24.40 ± 5.42) ng/ml 明显下降 ($t = 18.060$, $P < 0.001$)。而治疗无效组患者治疗后血清 AGR2 水平为 (27.51 ± 6.36) ng/ml, 略低于治疗前 (30.42 ± 7.23) ng/ml, 但差异无统计学意义 ($t = 1.554$, $P = 0.149$)。

2.3 血清 AGR2 水平对生存时间的影响

以治疗后血清 AGR2 水平中位值 (AGR2 = 14.65 ng/ml) 为界, 划分为高水平和低水平, Log-rank 法分析发现, 血清 AGR2 高水平者, 其生存率较低, 表明治疗后血清 AGR2 水平的高低对预后具有显著性影响 ($\chi^2 = 4.751$, $P = 0.029$)。见 Figure 1。

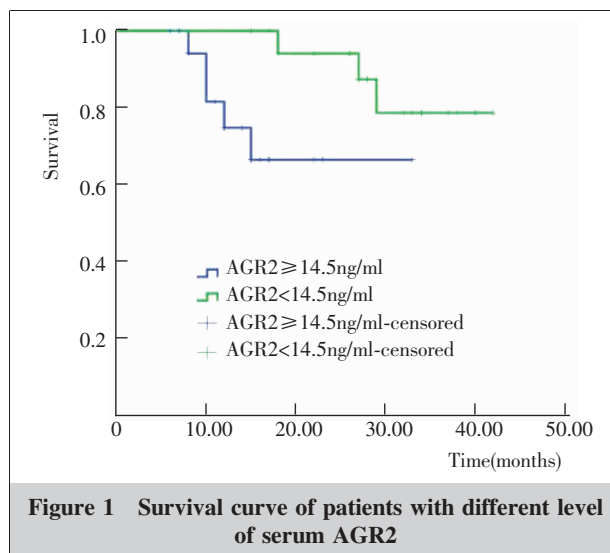


Figure 1 Survival curve of patients with different level of serum AGR2

3 讨论

人类 AGR2 基因是蛋白二硫键异构酶家族成员, 定位于染色体 7p21, 人 AGR2 蛋白由 175 个氨基酸组成, 大小为 17.9ku^[5]。在细胞核、内质网和细胞外上清中都可检测到 AGR2 的存在^[6]。随着 AGR2 研究的深入, 有证据表明 AGR2 与肿瘤生成和转移

密切相关^[4]。Pohler 等^[8]研究证实,DNA 损伤后,AGR2 通过抑制 p53 磷酸化及其活性,破坏了细胞的正常调控,导致癌变。研究证实,AGR2 在鼻咽癌组织中呈高表达,显著高于正常鼻咽组织^[7]。由于 AGR2 具有促进细胞转化以及在细胞外诱导细胞迁移的作用,因此,肿瘤细胞中的 AGR2 可以分泌到细胞外,且有促进肿瘤转移到活性,而在正常细胞中,AGR2 被滞留于内质网中^[8]。本研究结果显示,鼻咽组患者血清 AGR2 水平明显高于健康对照组,其原因可能与肿瘤细胞过度分泌 AGR2 释放入血所致。有研究报道,乳腺癌或肺癌化疗后血清 AGR2 水平降低^[9,10]。目前鼻咽癌放化疗后 AGR2 水平的变化尚少见报道。本研究鼻咽癌患者予以同步放化疗治疗后,血清 AGR2 水平明显低于治疗前,可能与放化疗杀死肿瘤细胞,病灶减小,AGR2 分泌减少有关。进一步分析发现,治疗有效组血清 AGR2 水平明显低于治疗前,而治疗无效组血清 AGR2 水平与治疗前无明显差异,说明血清 AGR2 水平在一定程度上反映了治疗效果,对于患者疗效预测有一定的参考价值。

研究发现,AGR2 水平与鼻咽癌的侵袭转移有关,可能与患者的预后密切相关。李跃进等^[11]研究发现,AGR2 在鼻咽癌细胞系 5-8F 中明显高表达,AGR2 可抑制 5-8F 细胞的迁移、侵袭及体内成瘤能力。王巍巍等^[12]研究发现,二亚硝基哌嗪(DNP)通过在转录水平上调 AGR2 的表达,参与鼻咽癌细胞的侵袭和转移。二亚硝基哌嗪(DNP)可诱导 AGR2 表达增加,调节组织蛋白酶 B 和 D,增强细胞活性和侵袭能力,促进鼻咽癌肿瘤转移^[8]。本研究通过随访,生存分析发现,予以放化疗后血清 AGR2 水平越高,生存时间越短。推测,AGR2 水平越高,肿瘤转移更快,预后越差,生存期缩短。

综上所述,晚期鼻咽癌患者给予同步放化疗后,可有效降低血清 AGR2 水平,治疗后血清 AGR2 水平对患者预后有明显影响,在评估其疗效及预后判断上有着潜在的临床参考价值。本研究不足之处在于样本量偏少,随访时间短,不可避免的会产生选择性偏差,还需要多中心、大样本量的研究来证实 AGR2 在鼻咽癌放化疗治疗效果及预后判断方面的价值。

参考文献:

- [1] Cao SM, Simons MJ, Qian CN. The prevalence and prevention of nasopharyngeal carcinoma in China [J]. Chin J Cancer, 2011, 30(2): 114-119.
- [2] Chan AT. Nasopharyngeal carcinoma [J]. Ann Oncol, 2010, 21(Suppl7): vii308-vii312.
- [3] Ren BH, Liu W, Tan WH. Anterior gradient 2 in cancer development [J]. Chinese Journal of Birth Health & Heredity, 2014, 22(3): 134-136. [任宝花, 刘巍, 谭文华. AGR2 与肿瘤关系研究进展 [J]. 中国优生与遗传杂志, 2014, 22(3): 134-136.]
- [4] Wei LG, Deng MT, Zhao YN, et al. AGR2: a new biomarker of cancer diagnosis [J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2013, 35(12): 1-9. [魏龙刚, 邓鸣涛, 赵一楠, 等. AGR2: 一个新的癌症诊断标记 [J]. 中国细胞生物学学报, 2013, 35(12): 1-9.]
- [5] Li K, Wu ZH, Zhu Q, et al. Research advance of pro-metastatic protein anterior gradient-2 [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2011, 11 (24): 4984-4987. [李坤, 武正华, 朱奇, 等. 促肿瘤转移蛋白 AGR2 研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(24): 4984-4987.]
- [6] Liu WJ, Wei LG, Tao J, et al. Prokaryotic expression and purification of cancer marker protein AGR2 [J]. Progress in Veterinary Medicine, 2015, 36(10): 81-84. [刘文杰, 魏龙刚, 陶进, 等. 癌症标记蛋白 AGR2 的原核表达及纯化 [J]. 动物医学进展, 2015, 36(10): 81-84.]
- [7] Wang Z, Hao Y, Lowe AW. The adenocarcinoma-associated antigen, AGR2, promotes tumor growth, cell migration, and cellular transformation [J]. Cancer Res, 2008, 68(2): 492-497.
- [8] Li Y, Lu J, Peng Z, et al. N,N'-dinitrosopiperazine-mediated AGR2 is involved in metastasis of nasopharyngeal carcinoma [J]. PLoS One, 2014, 9(4): e92081.
- [9] Chevet E, Fessart D, Delom F, et al. Emerging roles for the pro-oncogenic anterior gradient-2 in cancer development [J]. Oncogene, 2013, 32(20): 2499-2509.
- [10] Chen YY. The clinical significance and change of serum AGR2 in NSCLC patients with Gemcitabine and Cisplatin regimen [J]. Chin J of Clinical Rational Drug Use, 2016, 9(8): 3-5. [陈圆圆. 吉西他滨联合顺铂化疗对非小细胞肺癌患者血清 AGR2 表达的影响及其临床意义 [J]. 临床合理用药杂志, 2016, 9(8): 3-5.]
- [11] Li YJ, Wang WW, Lu JP, et al. Construction of shRNA targeting AGR2 gene and effect of AGR2 on biological function of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2016, 32(9): 1545-1550. [李跃进, 王巍巍, 卢金平, 等. 前梯度蛋白 2 干扰质粒的构建及其对鼻咽癌细胞生物学功能的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2016, 32(9): 1545-1550.]
- [12] Wang WW, Tang FQ, Li YJ. Dinitrosopiperazine-mediated up-regulation of AGR2 expression promotes metastasis of nasopharyngeal cancer cells [J]. Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis, 2016, 28(2): 115-120. [王巍巍, 唐发清, 李跃进. 二亚硝基哌嗪上调 AGR2 促进鼻咽癌细胞转移 [J]. 癌变·畸变·突变, 2016, 28(2): 115-120.]