

DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20170809.013

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1049.R.20170809.1109.026.html>

## 西妥昔单抗联合紫杉醇+顺铂新辅助化疗对食管癌细胞增殖及侵袭活力的影响

赵玉林, 邹 剑

(四川省成都市第五人民医院药剂科, 四川 成都 611130)

**[摘要]** **目的:**探讨西妥昔单抗联合紫杉醇+顺铂新辅助化疗对食管癌细胞增殖及侵袭活力的影响。**方法:**收集2015年1月~2016年12月间在本院接受治疗的食管癌患者62例,按照随机数表法分为对照组、观察组,各31例。对照组患者接受紫杉醇+顺铂新辅助化疗+手术,观察组患者接受西妥昔单抗联合紫杉醇+顺铂新辅助化疗+手术,对比化疗前后,两组患者肿瘤组织中增殖、侵袭基因表达量的差异。**结果:**化疗前,两组患者肿瘤组织中增殖、侵袭基因表达量的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。化疗后,观察组患者肿瘤组织中促增殖基因FOXA1、ABCE1、USP39、Nestin mRNA的表达量低于对照组患者肿瘤组织( $P<0.05$ );抗增殖基因PETN、KLF4、TSLC1、AnnexinA2 mRNA的表达量高于对照组患者肿瘤组织( $P<0.05$ );促侵袭基因 $\gamma$ -synuclein、CXCR4、Snail mRNA的表达量低于对照组患者肿瘤组织( $P<0.05$ );抗侵袭基因CIAPIN1、Fez、Lrig1 mRNA的表达量高于对照组患者肿瘤组织( $P<0.05$ )。**结论:**西妥昔单抗联合紫杉醇+顺铂新辅助化疗可有效抑制食管癌细胞的恶性程度,抑制其增殖侵袭。

**[关键词]** 食管癌;西妥昔单抗;新辅助化疗;增殖基因;侵袭基因

**[中图分类号]** R735.1 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1007-1237(2017)14-1953-04

### Effect of cetuximab combined with paclitaxel + cisplatin neoadjuvant chemotherapy on esophageal cancer cell proliferation and invasion

ZHAO Yu-lin, ZOU Jian

(Pharmacy Department, Chengdu Fifth People's Hospital in Sichuan Province, Chengdu City, Sichuan Province, 611130)

**[Foundation Project]:** This study is supported by the Research Project of Health and Family Planning Commission in Sichuan Province (grant No. 17PJ574).

**[Author]:** ZHAO Yu-lin (1979-), Male, Sichuan Dujiangyan, Pharmacist in charge, Tel: 13980992220, E-mail: zhaoyl909@sina.com.

**Received:** 2017-06-26 **Revised:** 2017-07-02

*JHMC*, 2017;23(14):1953-1956

**View from specialist:** It is creative, and of certain scientific and educational value.

**[ABSTRACT]** **Objective:** To study the effect of cetuximab combined with paclitaxel + cisplatin neoadjuvant chemotherapy on esophageal cancer cell proliferation and invasion. **Methods:** A total of 62 patients with esophageal cancer who were treated in the hospital between January 2015 and December 2016 were collected and divided into control group and observation group according to random number table, 31 cases in each group. Control group patients received paclitaxel + cisplatin neoadjuvant chemotherapy + surgery, and observation group patients accepted cetuximab combined with paclitaxel + cisplatin neoadjuvant chemotherapy + surgery. The differences in proliferation and invasion gene expression in the tumor tissue were compared between two groups of patients before and after chemotherapy. **Results:** Before chemotherapy, differences in proliferation and in-

**[基金项目]** 四川省卫生和计划生育委员会科研课题(17PJ574)

**[作者简介]** 赵玉林(1979-),男,四川都江堰人,主管药师,电话:13980992220,Email: zhaoyl909@sina.com。

**[收稿日期]** 2017-06-26 **[修回日期]** 2017-07-02 **网络出版时间:** 2017-08-09 11:09:51

vasion gene expression in tumor tissue were not statistically significant between two groups of patients ( $P>0.05$ ). After chemotherapy, pro-proliferation genes FOXA1, ABCE1, USP39 and Nestin mRNA expression in tumor tissue of observation group were lower than those of control group; anti-proliferation genes PETN, KLF4, TSLC1 and AnnexinA2 mRNA expression were higher than those of control group; pro-invasion genes  $\gamma$ -synuclein, CXCR4 and Snail mRNA expression were lower than those of control group; anti-invasion genes CIAPIN1, Fez and Lrig1 mRNA expression were significantly higher than those of control group ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Cetuximab combined with paclitaxel + cisplatin neoadjuvant chemotherapy can effectively inhibit the malignant degree of esophageal cancer cells and inhibit its proliferation and invasion.

[KEY WORDS] Esophageal cancer; Cetuximab; Neoadjuvant chemotherapy; Proliferation gene; Invasion gene

食管癌是临床多见的消化系统恶性肿瘤,恶性程度较高,早期进行根治性手术治疗是最理想的治疗方式<sup>[1,2]</sup>。部分患者肿瘤体积较大或者确诊时已经存在微转移灶,给手术实施及最终疗效的实现增加难度,故新辅助化疗在临床中的应用越来越多<sup>[3,4]</sup>。紫杉醇+顺铂新辅助化疗在食管癌患者中的应用较多,已经被证实可有效缩小肿瘤体积、杀灭微小转移灶,但也有一分部患者经新辅助化疗后肿瘤增殖仍旺盛,较多学者推荐加入西妥昔单抗进行辅助治疗。西妥昔单抗属于人鼠嵌合型单克隆抗体,通过与肿瘤细胞表面的表皮生长因子受体(EGFR)结合而发挥一系列抗肿瘤作用<sup>[5,6]</sup>。本次研究将西妥昔单抗引入食管癌患者的新辅助化疗,从肿瘤增殖、侵袭基因表达量方面分析了西妥昔单抗辅助治疗的价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 病例资料

纳入 2015 年 1 月~2016 年 2 月间在本院接受治疗的食管癌患者 62 例作为研究对象,患者本人或者家属知情同意。按照随机数表法将入组患者分为对照组、观察组,各 31 例,对照组中男性 18 例、女性 13 例,年龄 43~78 岁;肿瘤分期: I b~II a 期 15 例、II b~III a 期 13 例、III b~IV 期 3 例;观察组中男性 17 例、女性 14 例,年龄 42~79 岁;肿瘤分期: I b~II a 期 15 例、II b~III a 期 14 例、III b~IV 期 2 例。两组患者在性别、年龄、食管癌分期方面的差异不显著( $P>0.05$ ),具有可比性,研究获医院伦理委员会批准。

### 1.2 入组及排除标准

入组标准:(1)病理确诊原发性食管癌;(2)首次确诊、入院前未接受系统治疗;(3)完成系统治疗及相关检查,临床数据完整。排除标准:(1)既往食管手术史;(2)西妥昔单抗、紫杉醇、顺铂过敏;(3)合并其他组织脏器原发恶性肿瘤;(4)合并严重心肝肾功能不全,无法耐受化疗及手术损伤。

### 1.3 治疗方法

对照组患者接受紫杉醇+顺铂新辅助化疗+手术治疗,具体如下:紫杉醇(扬子江药业集团有限公司,国药准字 H20058719)135 mg/m<sup>2</sup>,静脉滴注,d1;顺铂(江苏豪森药业集团有限公司,国药准字 H20040813)75 mg/m<sup>2</sup>,静脉滴注,

d1~d3,以 21 d 为 1 个疗程,连续化疗 2 个疗程,其后复查并进行手术治疗。

观察组患者接受西妥昔单抗联合紫杉醇+顺铂新辅助化疗+手术治疗,具体如下:西妥昔单抗(Boehringer Ingelheim Pharma GmbH Co KG,批准文号 S20050095)首剂负荷剂量 400 mg/m<sup>2</sup>,静脉滴注 120 min,其后每周给予 250 mg/m<sup>2</sup>(静脉滴注 60 min),其后应用紫杉醇+顺铂新辅助化疗,具体用法用量同对照组患者。

### 1.4 基因表达

化疗前胃镜取食管肿瘤组织标本、化疗后留取术中肿瘤组织标本,经裂解细胞→沉淀总 RNA→RNA 洗涤干燥→RNA 纯度及浓度测定→反转录合成样品 cDNA→荧光定量 PCR 目标基因扩增等步骤,计算促增殖基因:FOXA1、ABCE1、USP39、Nestin;抗增殖基因:PETN、KLF4、TSLC1、AnnexinA2;促侵袭基因: $\gamma$ -synuclein、CXCR4、Snail;抗侵袭基因:CIAPIN1、Fez、Lrig1 mRNA 的表达量。

### 1.5 统计学处理

统计软件选择 SPSS20.0,促增殖基因、抗增殖基因、促侵袭基因、抗侵袭基因等属于计量资料,以均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 促增殖基因表达

两组患者化疗前后肿瘤组织中促增殖基因 FOXA1、ABCE1、USP39、Nestin mRNA 表达量的比较如下:化疗前,两组患者肿瘤组织中 FOXA1、ABCE1、USP39、Nestin mRNA 表达量的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。化疗后,两组患者肿瘤组织中 FOXA1、ABCE1、USP39、Nestin mRNA 的表达量均低于化疗前,且观察组患者肿瘤组织中 FOXA1、ABCE1、USP39、Nestin mRNA 的表达量低于对照组患者肿瘤组织,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 两组患者治疗前后食管癌组织中促增殖基因表达量的比较( $n=31, \bar{x} \pm s$ )

组别	时间	FOXA1	ABCE1	USP39	Nestin
对照组	化疗前	98.27±10.53	99.64±11.82	101.37±13.42	96.43±10.88
	化疗后	61.28±7.34*	75.28±8.47*	70.48±8.61*	65.29±7.18*
观察组	化疗前	99.63±10.27	100.36±12.15	98.25±10.38	98.71±10.64
	化疗后	29.64±4.51*#	46.17±5.88*#	43.27±5.62*#	40.76±5.37*#

注:与组内化疗前比较,\* $P<0.05$ ;与对照组化疗后比较,# $P<0.05$ 。

## 2.2 抗增殖基因表达

两组患者化疗前后肿瘤组织中抗增殖基因 PETN、KLF4、TSLC1、AnnexinA2 mRNA 表达量的比较如下:化疗前,两组患者肿瘤组织中 PETN、KLF4、TSLC1、AnnexinA2 mRNA 表达量的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。化疗后,两组患者肿瘤组织中 PETN、KLF4、TSLC1、AnnexinA2 mRNA 的表达量均高于化疗前,且观察组患者肿瘤组织中 PETN、KLF4、TSLC1、AnnexinA2 mRNA 的表达量高于对照组患者肿瘤组织,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 两组患者治疗前后食管癌组织中抗增殖基因表达量的比较( $n=31, \bar{x} \pm s$ )

组别	时间	PETN	KLF4	TSLC1	AnnexinA2
对照组	化疗前	95.32±10.81	98.64±11.32	95.47±10.98	100.15±12.67
	化疗后	130.28±15.71*	121.57±14.38*	120.85±14.32*	118.64±13.59*
观察组	化疗前	96.71±10.62	99.85±10.61	97.38±10.54	99.76±10.38
	化疗后	156.39±18.23*#	140.66±15.83*#	137.48±15.92*#	135.27±19.51*#

注:与组内化疗前比较,\* $P<0.05$ ;与对照组化疗后比较,# $P<0.05$ 。

## 2.3 促侵袭基因表达

两组患者化疗前后肿瘤组织中促侵袭基因  $\gamma$ -synuclein、CXCR4、Snail mRNA 表达量的比较如下:化疗前,两组患者肿瘤组织中  $\gamma$ -synuclein、CXCR4、Snail mRNA 表达量的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。化疗后,两组患者肿瘤组织中  $\gamma$ -synuclein、CXCR4、Snail mRNA 的表达量均低于化疗前,且观察组患者肿瘤组织中  $\gamma$ -synuclein、CXCR4、Snail mRNA 的表达量低于对照组患者肿瘤组织,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 3。

表 3 两组患者治疗前后食管癌组织中促侵袭基因表达量的比较( $n=31, \bar{x} \pm s$ )

组别	时间	$\gamma$ -synuclein	CXCR4	Snail
对照组	化疗前	98.61±10.48	95.73±11.48	100.18±12.35
	化疗后	70.17±8.54*	64.27±8.34*	72.55±8.17*
观察组	化疗前	98.53±11.42	97.64±10.37	99.76±11.24
	化疗后	40.82±5.61*#	43.85±5.62*#	38.49±5.41*#

注:与组内化疗前比较,\* $P<0.05$ ;与对照组化疗后比较,# $P<0.05$ 。

## 2.4 抗侵袭基因表达

两组患者化疗前后肿瘤组织中抗侵袭基因 CIAPIN1、Fez、Lrig1 mRNA 表达量的比较如下:化疗前,两组患者肿瘤组织中 CIAPIN1、Fez、Lrig1 mRNA 表达量的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。化疗后,两组患者肿瘤组织中 CIAPIN1、Fez、Lrig1 mRNA 的表达量均高于化疗前,且观察组患者肿瘤组织中 CIAPIN1、Fez、Lrig1 mRNA 的表达量高于对照组患者肿瘤组织,差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 4。

表 4 两组患者治疗前后食管癌组织中抗侵袭基因表达量的比较( $n=31, \bar{x} \pm s$ )

组别	时间	CIAPIN1	Fez	Lrig1
对照组	化疗前	96.47±10.39	100.14±12.75	98.42±10.17
	化疗后	120.85±14.29*	119.73±125.66*	132.58±15.29*
观察组	化疗前	95.88±9.84	99.63±11.36	99.85±10.53
	化疗后	143.27±15.63*#	135.19±15.67*#	154.29±17.52*#

注:与组内化疗前比较,\* $P<0.05$ ;与对照组化疗后比较,# $P<0.05$ 。

## 3 讨论

新辅助化疗是食管癌治疗的可靠方式,可有效降低肿瘤恶性程度并为后续手术根治提供便利条件,最新研究认为部分患者对常规紫杉醇+顺铂新辅助化疗的敏感性不高,较多学者推荐加入西妥昔单抗进行联合治疗。西妥昔单抗的抗肿瘤机制包括以下几方面:(1)EGFR 具有高度亲和力,直接抑制 EGFR 活性并下调其内源性表达;(2)抑制酪氨酸激酶活性,将细胞分裂阻断在 G1 期,抑制肿瘤细胞增殖并诱导其凋亡;(3)减少基质金属蛋白酶、血管内皮生长因子、转化生长因子表达,抑制肿瘤血管新生及肿瘤细胞浸润转移<sup>[7-9]</sup>。关于西妥昔单抗辅助治疗食管癌的价值研究目前开展不多,本次研究在紫杉醇+顺铂新辅助化疗的同时加入西妥昔单抗辅助治疗,从肿瘤细胞增殖、侵袭两方面展开探讨。

肿瘤的恶性程度主要取决于肿瘤细胞的增殖活性,促增殖/抗增殖基因表达失衡是导致肿瘤细胞异常增殖的直接原因,检测上述基因表达量可客观反映肿瘤细胞的增殖活性及药物治疗效果<sup>[10,11]</sup>。FOXA1、ABCE1、USP39、Nestin 是在不同研究中被报道具有促肿瘤细胞增殖作用的基因,经 miRNA 靶向下调其表达后可发现肿瘤细胞的增殖活性下降,且其表达量与肿瘤恶性程度高度一致<sup>[12,13]</sup>。PETN、KLF4、TSLC1、AnnexinA2 则是公认的抑癌基因,其表达减少甚至缺失是临床多种恶性肿瘤发生的重要原因之一,通过基因途径促使其过表达是目前被积极探索的恶性肿瘤治疗新方法<sup>[14,15]</sup>。本次研究对比两组患者肿瘤组织中上述促增殖/抗增殖基因表达量的差异,发现:与化疗前比较,两组患者化疗后肿瘤组织中促增殖基因 FOXA1、ABCE1、USP39、Nestin mRNA 的表达量下调,抗增殖基因 PETN、KLF4、TSLC1、AnnexinA2 mRNA 的表达量上调,说明两种治疗方案均可不同程度优化食管癌肿瘤组织中促增殖/抗增殖基因的表达;进一步与对照组比较,观察组化疗后肿瘤组织中促增殖基因 FOXA1、ABCE1、USP39、Nestin mRNA 的表达量较低,抗增殖基因 PETN、KLF4、TSLC1、AnnexinA2 mRNA 的表达量较高,证实西妥昔单抗联合紫杉醇+顺铂新辅助化疗可更为有效的抑制肿瘤细胞

的增殖活性。

除了增殖以外,肿瘤细胞的侵袭转移是导致肿瘤恶性程度增加、患者预后变差的重要原因之一,促侵袭基因/抗侵袭基因的表达失衡是导致肿瘤细胞侵袭活性改变的直接原因,也可直接反映临床治疗的疗效<sup>[16,17]</sup>。 $\gamma$ -synuclein、CXCR4、Snail 已经被发现在不同恶性肿瘤组织中高表达,且其表达量与肿瘤恶性程度呈正相关,推测也与食管癌的发生及浸润转移直接相关<sup>[18,19]</sup>。CIAPIN1、Fez、Lrig1 已经在不同研究中被证实可抑制食管癌细胞侵袭转移,抑制其表达可有效降低肿瘤细胞的侵袭活性<sup>[20]</sup>。本次研究对比两组患者肿瘤组织中上述促侵袭基因/抗侵袭基因表达量的差异,发现:与化疗前比较,两组患者化疗后肿瘤组织中促侵袭基因  $\gamma$ -synuclein、CXCR4、Snail mRNA 的表达量下调,抗侵袭基因 CIAPIN1、Fez、Lrig1 的表达量上调,证实两种治疗方案的有效性;进一步与对照组比较,观察组患者化疗后肿瘤组织中促侵袭基因  $\gamma$ -synuclein、CXCR4、Snail mRNA 的表达量较低,抗侵袭基因 CIAPIN1、Fez、Lrig1 的表达量较高,证实西妥昔单抗联合紫杉醇+顺铂新辅助化疗可更为有效的抑制肿瘤细胞的侵袭活性。食管癌患者接受西妥昔单抗联合紫杉醇+顺铂新辅助化疗,可有效抑制肿瘤细胞的增殖及侵袭活性,有望改善患者的治疗结局,值得在日后临床实践中推广应用。

## 参考文献

- Huang G. Erratum: Differential expression of miR-21 and miR-75 in esophageal carcinoma patients and its clinical implication [J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(4): 1961.
- Chen P, Zhang JY, Sha BB, et al. Luteolin inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis via down-regulation of mitochondrial membrane potential in esophageal carcinoma cells EC1 and KYSE450[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(16): 27471-27480.
- Fan M, Lin Y, Pan J, et al. Survival after neoadjuvant chemotherapy versus neoadjuvant chemoradiotherapy for resectable esophageal carcinoma: A meta-analysis [J]. *Thorac Cancer*, 2016, 7(2): 173-181.
- Oyanagi H, Ichikawa H, Kosugi S, et al. Three cases of esophageal carcinoma achieved a pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy with cisplatin and 5-fluorouracil [J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2015, 42(4): 497-501.
- Becher F, Ciccolini J, Imbs DC, et al. A simple and rapid LC-MS/MS method for therapeutic drug monitoring of cetuximab: a GPCO-UNICANCER proof of concept study in head-and-neck cancer patients [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2714.
- Tiwari S, Goel V, John MC, et al. Efficacy and toxicity of cetuximab with chemotherapy in recurrent and metastatic head and neck cancer: A prospective observational study [J]. *Indian J Cancer*, 2016, 53(4): 487-492.
- Rades D, Maderer A, Panzner A, et al. Phase I study of definitive radio-chemotherapy with cisplatin, 5-fluorouracil and cetuximab for unresectable locally advanced esophageal cancer [J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(5): 2703-2708.
- Carvalho AC, Leal F, Sasse AD. Cost-effectiveness of cetuximab and panitumumab for chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer [J]. *PLoS One*, 2017, 12(4): e0175409.
- Guren TK, Thomsen M, Kure EH, et al. Cetuximab in treatment of metastatic colorectal cancer: final survival analyses and extended RAS data from the NORDIC-VII study [J]. *Br J Cancer*, 2017, 116(10): 1271-1278.
- Chen P, Zhang JY, Sha BB, et al. Luteolin inhibits cell proliferation and induces cell apoptosis via down-regulation of mitochondrial membrane potential in esophageal carcinoma cells EC1 and KYSE450[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(16): 27471-27480.
- Jin Z, Yan W, Jin H, et al. Psoralidin inhibits proliferation and enhances apoptosis of human esophageal carcinoma cells via NF- $\kappa$ B and PI3K/Akt signaling pathways [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(2): 971-976.
- Wu K, Yang Y, Zhao J, et al. BAG3-mediated miRNA let-7g and let-7i inhibit proliferation and enhance apoptosis of human esophageal carcinoma cells by targeting the drug transporter ABC10[J]. *Cancer Lett*, 2016, 371(1): 125-133.
- Ueno N, Shimizu A, Kanai M, et al. Enhanced expression of fibroblast growth factor receptor 3 IIIc promotes human esophageal carcinoma cell proliferation [J]. *J Histochem Cytochem*, 2016, 64(1): 7-17.
- Yang X, Zhai N, Sun M, et al. Influence of lymphatic endothelial cells on proliferation and invasiveness of esophageal carcinoma cells *in vitro* and lymphangiogenesis *in vivo* [J]. *Med Oncol*, 2015, 32(8): 222.
- Zang WQ, Yang X, Wang T, et al. MiR-451 inhibits proliferation of esophageal carcinoma cell line EC9706 by targeting CDKN2D and MAP3K1 [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(19): 5867-5876.
- Liu X, Wang Z, Zhang G, et al. High TRAF6 expression is associated with esophageal carcinoma recurrence and prompts cancer cell invasion [J]. *Oncol Res*, 2017, 25(4): 485-493.
- Tantai JC, Zhang Y, Zhao H. Heterophyllin B inhibits the adhesion and invasion of ECA-109 human esophageal carcinoma cells by targeting PI3K/AKT/ $\beta$ -catenin signaling [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(2): 1097-1104.
- Zhou D, Dong P, Li YM, et al. Overexpression of Csk-binding protein decreases growth, invasion, and migration of esophageal carcinoma cells by controlling Src activation [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(6): 1814-1820.
- Huang B, Zhou H, Lang X, et al. Expression of BAG-1 is closely related to cell differentiation and TNM stage in esophageal cancer and its downregulation inhibits the proliferation and invasion of human esophageal carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(4): 1441-1446.
- Cao K, Jiang W, Cao P, et al. Talen-mediated girdin knockout downregulates cell proliferation, migration and invasion in human esophageal carcinoma ECA109 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2014, 10(2): 848-854.