

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.34.006
文章编号: 1005-8982 (2018) 34-0027-05

术前 FOLFOX6 方案联合腹腔镜胃癌根治术对进展期胃癌患者 Lgr5、Oct4 表达的影响

岳大成¹, 胡仕祥², 王世东¹

(河南省中医院 1. 普外一科, 2. 急诊科, 河南 郑州 450002)

摘要: **目的** 探讨术前 FOLFOX6 方案辅助化疗联合腹腔镜胃癌根治术对进展期胃癌患者 Lgr5、Oct4 表达的影响。**方法** 选取 2012 年 3 月至 2015 年 3 月河南省中医院 II、III 期胃癌患者 124 例, 采用随机数字表法分为对照组和实验组, 各 62 例。对照组患者接受胃癌根治术治疗, 实验组患者接受术前 FOLFOX6 方案辅助化疗联合腹腔镜胃癌根治术治疗。评估治疗后两组患者的近期有效率和不良反应发生率; 比较手术前后两组患者胃黏膜组织中 Lgr5 和 Oct4 表达情况。**结果** 实验组的治疗有效率高于对照组 ($P < 0.05$); 两组患者在白细胞减少、肝肾功能损害、腹泻及肠梗阻这几种并发症的发生率上差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后两组患者 Lgr5 和 Oct4 表达均降低 ($P < 0.05$), 但治疗后实验组 Lgr5 和 Oct4 表达低于对照组 ($P < 0.05$)。**结论** 术前 FOLFOX6 方案辅助化疗联合腹腔镜胃癌根治术治疗进展期胃癌患者效果优异, 治疗安全性好, 可有效降低胃癌组织 Lgr5 和 Oct4 表达。

关键词: 胃肿瘤; 化学疗法, 辅助; 胃癌根治术 / 外科手术; 基因表达调控, 肿瘤

中图分类号: R 735.2

文献标识码: A

Effect of preoperative FOLFOX6 adjuvant chemotherapy and laparoscopic radical gastrectomy on expressions of Lgr5 and Oct4 in patients with advanced gastric cancer

Da-cheng Yue¹, Shi-xiang Hu², Shi-dong Wang¹

(1. Department of General Surgery, 2. Emergency Department, Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou, Henan 450002, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of preoperative FOLFOX6 adjuvant chemotherapy combined with laparoscopic radical gastrectomy on the expressions of Lgr5 and Oct4 in patients with advanced gastric cancer. **Methods** Totally 124 cases of stage II and III gastric carcinomas were examined and treated in Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine from March 2012 to March 2015. These cases were randomly divided into two groups. The patients in the control group received radical gastrectomy, and the patients in the experimental group received preoperative FOLFOX6 adjuvant chemotherapy and laparoscopic radical gastrectomy. The short-term efficacy and the incidence of adverse reactions of the two groups were evaluated after treatment, and the expressions of Lgr5 and Oct4 in the gastric mucosa before and after treatment were compared between the two groups. **Results** The treatment efficiency of the experimental group was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the incidence of white blood cell reduction, liver and renal function damage, diarrhea, or intestinal obstruction between the two groups ($P > 0.05$). After treatment, the expressions of Lgr5 and

收稿日期: 2018-01-20

[通信作者] 胡仕祥, E-mail: shixiang1968@163.com; Tel: 13939033066

Oct4 were significantly reduced in the two groups ($P < 0.05$), moreover, the expressions of Lgr5 and Oct4 in the experimental group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). **Conclusions** The effect of preoperative FOLFOX6 adjuvant chemotherapy combined with laparoscopic radical gastrectomy is significant for advanced gastric cancer. The treatment is safe and can effectively reduce the expressions of Lgr5 and Oct4 in the cancerous tissues.

Keywords: stomach neoplasms; chemotherapy, adjuvant; gastrectomy; gene expression regulation, neoplastic

胃癌是一种消化道常见恶性肿瘤。随着现代生活水平的提高,饮食习惯和饮食结构的改变,生活压力的不断加大,环境污染的持续加重,胃癌在我国的发病率呈现逐年上升的趋势^[1]。胃癌发病的分子生物学机制目前尚不清楚,且其发病早期症状较隐匿,很容易被忽略,当出现诸如排便异常等全身反应时,通常已经处于发病的中晚期。胃癌根治术多用于对这类胃癌患者的治疗^[2]。虽然其对于缓解症状效果较好,但是术后高复发率依然不容忽视。研究表明^[3], FOLFOX6 辅助化疗方案可有效提高胃癌根治术的治疗效果。八聚体结合蛋白 4 (octamer-binding transcription factor 4, Oct4) 是一种特异性较高的胚胎干细胞基因,只在胚胎和低分化的肿瘤细胞中表达,研究证实^[4],在胃癌细胞中存在 Oct4 的表达,且其表达程度与患者预后相关。富含亮氨酸重复序列的 G 蛋白偶联受体 5 (leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5, Lgr5) 是一种肿瘤干细胞标志物。Lgr5 和 Oct4 都与 Wnt 信号通路息息相关,研究表明, Wnt 信号通路参与胃癌的发生发展当中^[5]。本研究旨在探讨术前 FOLFOX6 方案辅助化疗联合腹腔镜胃癌根治术对 II、III 期胃癌患者 Lgr5、Oct4 表达的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2012 年 3 月至 2015 年 3 月河南省中医院进行检查和治疗的 124 例胃癌患者。采用随机数字表法将该 124 例患者分为对照组和实验组,各 62 例。其中对照组男性 36 例,女性 26 例;年龄 34 ~ 67 岁,平均 (49.8 ± 4.6) 岁;根据肿瘤分期系统 (TNM),其中有 17 例为 II 期,18 例为 III a 期,27 例为 III b 期。实验组男性 34 例,女性 28 例;年龄 36 ~ 68 岁,平均 (50.7 ± 3.9) 岁;根据肿瘤分期系统 (TNM),其中有 14 例为 II 期,19 例为 III a 期,29 例为 III b 期。纳入标准:①所有入选患者均经相关组织病理学和影像学检查,确诊为 II、III 期胃癌;②心智健全,有自主判断能力;③入院前未接受任何形式的放疗或化疗;④治疗前对患者的心肺功能和化疗耐受性进行评估显

示患者可耐受研究相关治疗。排除标准:①存在心脏病、高血压和糖尿病等耗损性慢性病患者;②肿瘤组织存在远处转移的患者;③对研究用药物过敏患者。本研究所有参与者均签署知情同意书,整个研究过程在相关伦理委员会监督下完成。两组患者的一般资料差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 治疗方法

FLEEOX 方案 1 ~ 5 d 患者接受亚叶酸钙和氟尿嘧啶静脉滴注,两者用量分别为 200 和 370 mg/m^2 。第 6 天和第 20 天患者接受动脉介入注射治疗,注射药物为表阿霉素、奥沙利铂、足叶乙苷,用量分别为 30、120 和 70 mg/m^2 。此为 1 个疗程治疗方案,每疗程之间间隔 5 周,共进行 2 个疗程治疗。

腹腔镜胃癌根治术根据患者是否出现 N3 转移,决定患者行腹腔镜下胃癌 D2 手术还是 D2+ α 手术。对患者进行全身麻醉和气管插管,按照日本 2014 年版胃癌治疗规范^[6]中的标准操作严格执行 D2 或 D2+ α 手术。术毕,在腹腔镜下完成淋巴结清扫、血管结扎、解剖结构分离、胃切除和消化道重建。

XELOX 化疗方案第 1 天患者接受奥沙利铂静脉滴注,用量为 120 mg/m^2 。1 ~ 14 d,患者接受卡培他滨静脉滴注,用量为 900 mg/m^2 。此为 1 个疗程治疗方案,每疗程之间间隔 3 周,共进行 6 个疗程治疗。

对照组患者接受腹腔镜胃癌根治术治疗,术后接受 XELOX 化疗方案治疗;实验组患者首先接受 FLEEOX 方案治疗,而后接受腹腔镜胃癌根治术治疗,术后接受 XELOX 化疗方案治疗。

1.3 观察指标和检测方法

本研究主要观察以下几个指标:①按照 RECIST 1.1 标准^[7]对 XELOX 化疗方案结束后患者近期疗效进行判定。患者在治疗后 4 周内未出现新病灶且靶病灶完全消失为完全缓解 (complete remission, CR),患者在治疗后 4 周内靶病灶体积减小 50% 以上为部分缓解 (partial remission, PR)、患者治疗后靶病灶体积增大 25% 及其以下为稳定 (Steady, SD),患者治疗后靶病灶体积增大 25% 以上为进展 (Proceed, PD)。治疗有效率 = $(\text{CR} + \text{PR}) / \text{总例数} \times 100\%$ 。②

记录放化疗过程中毒副作用和不良反应, 包括: 腹泻、肝肾功能损害、白细胞减少及肠梗阻。③比较治疗前和 XELOX 化疗方案结束后患者胃癌组织中 Lgr5 和 Oct4 的表达情况: 标本采集采用胃镜摘除胃癌组织, 采集后 10% 甲醛固定, 经石蜡封存; 基因表达检测采用免疫组织化学染色法, Lgr5 和 Oct 兔源多克隆抗体均购自北京博奥森生物技术有限公司, 所有操作均按照试剂盒说明书标准步骤严格执行。显微镜下细胞中深黄色颗粒表示阳性染色。根据每一张 400 倍镜下的任意 10 个视野中的 100 个细胞的染色状况进行阳性染色评分, 通过计算出现阳性染色的细胞数目和阳性染色强度来比较: 出现阳性染色细胞数目占所有视野中细胞比例: $\leq 10\%$ 为 1 分; $10\% \sim 50\%$ 为 2 分; $50\% \sim 75\%$ 为 3 分; $>75\%$ 为 4 分; 阳性染色颗粒为淡黄色为 1 分; 棕黄色为 2 分; 棕褐色为 3 分。将 2 项得分结果相乘为最终得分。结果判定: 最终得分 ≥ 3 分, 表示阳性; <3 分, 表示阴性。④生存分析, 对两组患者进行 24 个月的随访, 记录两组患者生存情况。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 17.0 统计软件, 计数资料以率 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验, 采用 Cox 回归模型对两组的生存情况进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者近期疗效比较

实验组的治疗有效率高达 82.25%, 远高于对照组的 58.06%, 差异有统计学意义 ($\chi^2=5.642$, $P=$

0.004)。见表 1。

2.2 两组患者不良反应比较

两组患者几种不良反应的发生率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 两组患者 Lgr5 和 Oct4 表达的比较

治疗前两组患者 Lgr5 和 Oct4 表达差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 治疗后两组患者 Lgr5 和 Oct4 表达均降低 ($P < 0.05$), 但治疗后实验组患者 Lgr5 和 Oct4 表达低于对照组 ($P < 0.05$)。见图 1 和表 3。

2.4 两组患者生存分析

如图 2 所示, 治疗组在 24 个月时的生存率为 43.5% (27/62), 对照组 24 个月时的生存率为 19.3% (12/62)。 χ^2 检验结果表明治疗组 24 个月生存率高于对照组 ($P < 0.05$)。见图 2。

表 1 两组患者近期疗效比较 ($n=62$)

组别	CR 例 (%)	PR 例 (%)	SD 例 (%)	PD 例 (%)	治疗有效率 %
实验组	19 (30.65)	32 (51.61)	7 (11.29)	3 (4.84)	82.25
对照组	15 (24.19)	21 (33.87)	16 (25.81)	10 (16.13)	58.06

表 2 两组患者不良反应比较 [$n=62$, 例 (%)]

组别	白细胞减少	肝肾功能损害	腹泻	肠梗阻
实验组	17 (27.42)	2 (3.23)	7 (11.29)	3 (4.84)
对照组	18 (29.03)	1 (1.61)	9 (14.52)	3 (4.84)
χ^2 值	0.578	0.493	0.432	0.000
P 值	0.594	0.694	0.660	1.000

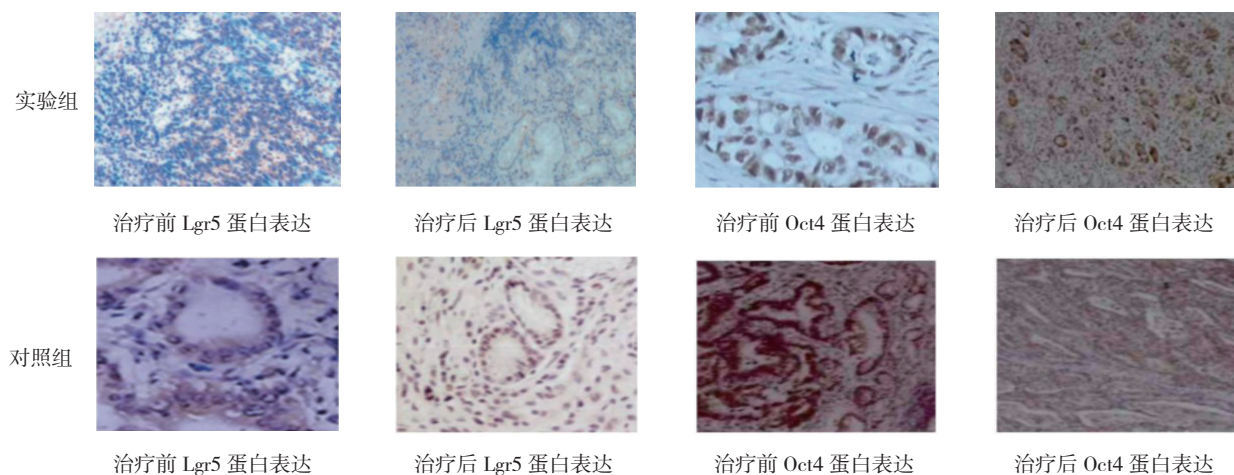


图 1 治疗前后胃癌组织中 Lgr5 和 Oct4 的表达

表 3 两组患者 Lgr5 和 Oct4 表达的比较 (n=62)

组别	Lgr5				Oct4			
	治疗前	治疗后	χ^2 值	P 值	治疗前	治疗后	χ^2 值	P 值
实验组	72.56	24.29	19.341	0.000	83.87	53.22	7.721	0.000
对照组	70.97	41.94	13.770	0.000	87.20	67.74	12.999	0.000
χ^2 值	0.884	9.960			0.406	8.335		
P 值	0.379	0.000			0.685	0.000		

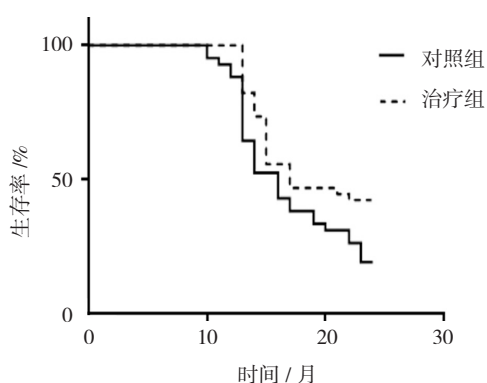


图 2 两组患者治疗后 24 个月内生存率曲线

3 讨论

胃癌是一种消化道常见恶性肿瘤。由于胃癌发病早期的临床症状往往较隐匿,当出现全身反应时,通常已经处于发病的中晚期。目前临床上认可的治疗方案为行胃癌根治术。随着科技的发展,目前的胃癌根治术对病灶周围淋巴结的清扫已经愈发彻底,但是仍然不能完全避免术后肿瘤细胞的随淋巴转移。WILKE 等^[8]在 1989 年提出,在进行胃癌根治术之前可先对患者进行化疗,将有助于提高患者生存率,提高预后,从此,新辅助化疗方案成为研究热点。

本研究在胃癌根治术前对患者进行了 FOLFOX6 辅助化疗方案。治疗结束后的治疗结果显示,实验组的治疗有效率高达 82.25%,远高于对照组患者。且两组患者的放化疗不良反应无差异。考虑原因可能在于术前 FOLFOX6 辅助化疗的治疗优势^[9-10]: ①它可以有效减轻肿瘤周围组织,从而提高手术时病灶切除率。②通过术前化疗有效降低肿瘤细胞活性,降低其浸润度,有效避免术后复发。③提前了解肿瘤细胞对于化疗药物的敏感性和反应性,对于疗效不佳的患者可以实时调整治疗方案。

近年来研究显示^[11], Wnt 信号通路在胃癌的发生发展和预后中都起着重要作用。Lgr5 是 Wnt 信号通

路的靶基因,是体内重要的肿瘤干细胞标志物之一。研究表明^[12],在发生癌变的胃肠道组织中,Lgr5 的表达高于正常胃肠道组织。由此说明,Lgr5 参与到肿瘤组织的生成和生长当中。Lgr5 表达的升高是由 Wnt 信号通路异常激活所导致,Wnt 信号通过的过度活化将导致细胞的恶性转化。Lgr5 表达的高低不仅可以提示肿瘤的发生与否,也与肿瘤治疗的预后息息相关^[13]。Lgr5 表达降低表明肿瘤细胞分化程度更高,不容易发生淋巴转移,浸润能力降低,患者预后好。本研究实验组患者治疗后 Lgr5 阳性表达率低于对照组患者,说明实验组患者预后更好,肿瘤细胞转移活性更低。Oct4 是胚胎干细胞特异性基因,特异性的表达与胚胎干细胞和肿瘤细胞之中。有研究显示^[14],Oct4 可以与 Wnt 信号通路中的 β -Catenin 发生反应参与到该信号通路之中,导致细胞过度增殖、抑制细胞凋亡,最终形成肿瘤。黄正楼等^[15]的研究结果表明,Oct4 在人胃癌细胞中大量表达,但在正常组织细胞中几乎不表达。因此,有理由推测,与 Lgr5 基因表达规律类似,Oct4 也可以运用到肿瘤治疗的预后预测当中。本研究实验组患者治疗后 Oct4 阳性表达率更低,也进一步证明了实验组患者治疗效果更好,肿瘤细胞侵袭和转移能力更低。

进一步统计两组患者 24 个月的生存率可以发现,Lgr5 和 Oct4 阳性表达率更低的患者在接下来 24 个月里生存率更高,进一步说明 Lgr5 和 Oct4 与患者的预后密切相关。这主要是因为 Lgr5 和 Oct4 的表达与 Wnt 信号通路的活化一致。而 Wnt 信号通路的活化会导致细胞的恶性增殖和转化。因此 Lgr5 和 Oct4 阳性表达率更高的患者预后更差。

综上所述,术前 FOLFOX6 方案辅助化疗联合腹腔镜胃癌根治术治疗进展期胃癌患者效果优异,治疗安全性好,可有效降低胃癌组织 Lgr5 和 Oct4 表达。

参 考 文 献:

- [1] 季加孚, 梁寒, 詹友庆, 等. CLASSIC 研究 (胃癌 D2 切除术后 XELOX 辅助化疗) 中国亚组报告 [J]. 中华胃肠外科杂志, 2014, 17(2): 133-138.
- [2] 李益萍, 谢浩芬, 费惠, 等. 应用加速康复外科护理对腹腔镜胃癌根治术病人术后康复的影响 [J]. 肠外与肠内营养, 2015, 22(3): 190-192.
- [3] 帅晓明, 高金波, 刘兴华, 等. 新辅助化疗联合腹腔镜辅助胃癌根治术治疗进展期胃癌的疗效分析 [J]. 中华消化外科杂志, 2016, 15(3): 241-246.
- [4] LI S J, HUANG J, ZHOU X D, et al. Clinicopathological and prognostic significance of Oct-4 expression in patients with non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. J Thorac Dis, 2016, 8(7): 1587-1600.
- [5] DEMITRACK E S, GIFFORD G B, KEELEY T M, et al. Notch signaling regulates gastric antral LGR5 stem cell function[J]. EMBO J, 2015, 34(20): 2522-2536.
- [6] Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4)[J]. Gastric Cancer, 2017, 20(1): 1-19.
- [7] NISHINO M, JACKMAN D M, HATABU H, et al. New response evaluation criteria in solid tumors (RECIST) guidelines for advanced non-small cell lung cancer: comparison with original RECIST and impact on assessment of tumor response to targeted therapy[J]. AJR, 2010, 195(3): W221-228.
- [8] WILKE H, PREUSSER P, FINK U, et al. Preoperative chemotherapy in locally advanced and nonresectable gastric cancer: a phase II study with etoposide, doxorubicin, and cisplatin[J]. J Clin Oncol, 1989, 7(9): 1318-1326.
- [9] 孟庆博. 改良 FOLFOX6 新辅助化疗与术后化疗治疗进展期胃癌的应用效果比较 [J]. 中国当代医药, 2016, 23(17): 47-49.
- [10] 丁祥林. 40 例结直肠癌肝转移术前应用新辅助化疗效果观察 [J]. 中国医学创新, 2015, 12(30): 137-140.
- [11] 冯琛, 周雨峡, 许科斌, 等. Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白在胃癌组织中的表达和肿瘤转移的关系 [J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(21): 4109-4112.
- [12] MIHAYLOVA M M, SABATINI D M, YILMAZ Ö H. Dietary and metabolic control of stem cell function in physiology and cancer[J]. Cell Stem Cell, 2014, 14(3): 292-305.
- [13] 江晓红, 张燕萍. Lgr5 在子宫颈鳞状细胞癌中的表达及其与预后的相关性 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2016, 32(3): 323-325.
- [14] 林芳, 金静君, 张韬, 等. 持续 Wnt 信号通路激活促进胚胎干细胞源造血干细胞的增殖 [J]. 中国组织工程研究, 2014, 18(6): 880-887.
- [15] 黄正楼, 王锐, 罗维远, 等. Oct4 基因在胃癌细胞系中的表达及意义 [J]. 四川大学学报 (医学版), 2012, 43(6): 812-815.

(张西倩 编辑)