

网络出版时间: 2021-7-28 11:48 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210728.1032.052.html>
临床医学研究◇

胃癌 TS 表达及雷替曲塞腹腔给药对其影响研究

黄志国, 胡孔旺, 李龙龙, 冯振游

摘要 目的 探讨胃癌中胸苷酸合成酶(TS)表达情况与临床病理因素、生存预后的关系及胃癌患者血液中 TS 浓度与雷替曲塞腹腔给药最适时间的关系。方法 免疫组化检测 80 例胃癌及癌旁组织中 TS 表达情况; ELISA 检测 20 例新鲜胃癌和癌旁组织中 TS 浓度及 40 例雷替曲塞腹腔给药患者给药前后血液中 TS 浓度; q-PCR 检测 20 例新鲜冰冻胃癌及对应癌旁组织中 TS mRNA 的表达; 腹腔化疗: 术前 2 d 组腹腔穿刺给药, 手术结束组关腹前给药。结果 80 例胃癌组织中 TS 的阳性率(48.75%, 39/80) 高于癌旁组织(23.75%, 19/80), 差异有统计学意义($P < 0.001$)。20 例新鲜胃癌组织 TS 平均浓度($1.105 \times 10^{-3} \pm 0.177 \times 10^{-3}$) $\mu\text{mol/L}$ 高于对应癌旁组织($0.811 \times 10^{-3} \pm 0.192 \times 10^{-3}$) $\mu\text{mol/L}$, 差异有统计学意义($P < 0.001$)。TS mRNA 在 20 例新鲜胃癌组织(3.08 ± 1.70) 中相对表达量高于癌旁组织(1.02 ± 0.23), 差异有统计学意义($P < 0.001$); 胃癌组织中 TS 表达与患者肿瘤分化程度相关($P < 0.05$), 血液中 TS 表达与 N 分期及肿瘤分化程度相关($P < 0.05$); TS 阴性胃癌患者生存率高于 TS 阳性患者($P < 0.001$), 且 TS 还是胃癌预后的独立危险因素。雷替曲塞腹腔给药后血液中 TS 浓度在第 2 天降至最低值, 术前 2 d 给药组无病生存率高于手术结束组($P < 0.05$)。结论 TS 在胃癌中阳性表达率增高, 其表达与患者的肿瘤分化程度和生存预后相关。胃癌患者雷替曲塞腹腔给药后血液中 TS 浓度的变化可用于推测其腹腔给药最佳时间, 术前 2 d 给药为雷替曲塞腹腔给药的最佳时间。

关键词 胃肿瘤; 胸苷酸合成酶; 腹腔化疗; 免疫组织化学
中图分类号 R 735.2

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2021)09-1458-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.09.021

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一^[1]。胃癌腹腔化疗以经验用药为主, 雷替曲塞、5-氟尿嘧啶等药物

在胃癌中均有应用^[2-3]。腹腔化疗术中给药最为常用, 但是手术使腹膜腔结构完整性遭到破坏, 此时用药会使药物存留时间缩短, 浓度降低, 术后腹腔粘连也会干扰腹腔内药物循环, 术前用药可能更为有效^[4]。胸苷酸合成酶(thymidine synthase, TS)是胸苷酸合成及 DNA 复制的关键酶, 也是雷替曲塞发挥作用的生物靶点。有研究^[5-8]显示, 在肺腺癌、结直肠癌、乳腺癌、肝癌、胰腺癌等组织中, TS 阴性患者预后更好, 然而胃癌中 TS 的表达与临床预后的关系尚存在争议。该研究就胃癌中 TS 表达与临床预后的关系, 雷替曲塞腹腔给药对 TS 表达的影响, 雷替曲塞术前腹腔给药最适时间等问题进行探讨。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集安徽医科大学第一附属医院普外科 2011 年 1 月—2012 年 1 月收治的具有完整随访资料和临床病理信息的 60 例胃癌患者手术标本行免疫组化检测。另收集 2019 年 2—8 月于安徽医科大学第一附属医院胃肠外科一病区行腹腔镜手术胃癌患者 40 例, 其中手术结束给药组的 20 例胃癌患者的新鲜癌及癌旁组织同时行 ELISA、免疫组化及 q-PCR 检测。患者入组标准: ① I 期以外具有病理诊断的胃癌患者; ② 心肺肝肾功能正常; ③ 此次入院治疗前未行任何放、化疗治疗; ④ 自愿参加本次研究并签署知情同意书, 积极配合后期随访。另收集 30 例同期未行腹腔给药的患者, 入组标准同上, 采集患者入院前血液测量 TS 浓度, 用于分析血液中 TS 浓度与临床病理因素的关系。本研究所有患者随访自术后开始, 术后第一年每 2 个月随访 1 次; 术后第二年每 3 个月随访 1 次; 第二年以后每半年随访 1 次。随访截止于 2020 年 7 月, 本研究符合安徽医科大学第一附属医院制定的伦理学标准并得到该委员会的批准。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化 免疫组化检测胃癌和癌旁组织 TS 表达: 石蜡切片置于烤箱中 98 °C 下烤片, 二甲苯和不同浓度乙醇脱蜡至水化, 放入微波炉中抗原修

2021-02-10 接收

基金项目: 安徽省科技厅重点研究与开发项目(编号: 202004j07020036); 安徽省教育厅省级质量工程项目(编号: 2019jxtd038); 吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金(编号: 320.6750.19092-49)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院普外科, 合肥 230022

作者简介: 黄志国, 男, 硕士研究生;

胡孔旺, 男, 副教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: hukw@sina.com

复,内源性过氧化物酶阻断,血清封闭,一抗稀释液稀释(1:100,美国CST公司)4℃过夜;二抗(生物素标记山羊抗小鼠/兔IgG,1:1000)室温孵育;DAB显色;苏木精染色,中性树脂封固;两位副高以上病理科医师双盲阅片,独立评分。

1.2.2 q-PCR 用TRIzol试剂盒从新鲜癌及癌旁组织中提取RNA,反转录试剂盒将RNA反转录为cDNA。使用实时PCR系统进行反应,TS基因的引物序列中正向引物为:5'-GCCTCGGTGTGCCCTTTCA-3',反向引物为:5'-CCCGTGATGTGCGCAAT-3'。根据每个样本Ct值算出平均值,再计算TS的相对表达量 $2^{-\Delta\Delta Ct}$,同组内参基因作为对照,每个样本3次重复试验。

1.2.3 ELISA ELISA检测新鲜血液和组织中TS浓度。血液标本2000 r/min、4℃下离心20 min后收集上清液待测,组织标本1:9加入PBS冰浴匀浆后5000 r/min、4℃条件下离心取上清液待测;根据说明书逐步操作,计算出每个样本TS浓度。ELISA试剂盒购自江苏酶免实业有限公司。

1.2.4 腹腔化疗 40例行腹腔镜根治性手术并接受腹腔化疗的胃癌患者按随机数字表法平均分为2组:①术前2 d给药组;②手术结束给药组。术前2 d给药组由具有正高职称的外科医师采用腹腔灌注的方式给药,手术结束给药组在手术结束关腹前把药物溶于100 ml生理盐水后洒入腹腔肿瘤切除部位同时夹闭腹腔引流管6 h。腹腔化疗药物均选择雷替曲塞(南京正大天晴制药有限公司,批号:20180525)。收集患者给药前后连续7 d晨血用于TS检测;手术标本离体后留取癌及5 cm以外的癌旁组织测量TS浓度。

1.3 结果判断 免疫组化结果采用肿瘤阳性细胞比例和着色强度综合判断评分:①肿瘤阳性细胞比例评分:0分为无阳性细胞,1分为<25%,2分为25%~50%,3分为<50%~75%,4分为>75%;②肿瘤细胞着色强度:0分为不着色,1分为淡黄色,2分为棕黄色,3分为棕褐色。根据两项结果相乘:0~5分为阴性,6~8分为阳性。ELISA结果:根据酶标仪吸光度(optical density, OD)值,通过标准曲线计算各样本TS浓度。雷替曲塞术前2 d及手术结束给药组患者疗效观察指标:无病生存率。

1.4 统计学处理 采用SPSS 21.0软件进行统计分析,TS表达与临床病理因素的关系用卡方或Fisher精确检验;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较使用 t 检验;生存曲线和生存分析采用Kaplan-Meier法绘制和Log-

rank分析;患者预后多因素相关分析采用Cox比例风险回归模型。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TS在胃癌和癌旁组织中表达 TS在胃癌组织中的表达情况见图1。80例胃癌组织中,TS阳性表达率为48.75%(39/80);80例癌旁组织中,TS阳性表达率为23.75%(19/80),胃癌组织TS阳性表达率高于癌旁组织,差异有统计学意义($\chi^2 = 10.818$, $P < 0.001$,表1)。

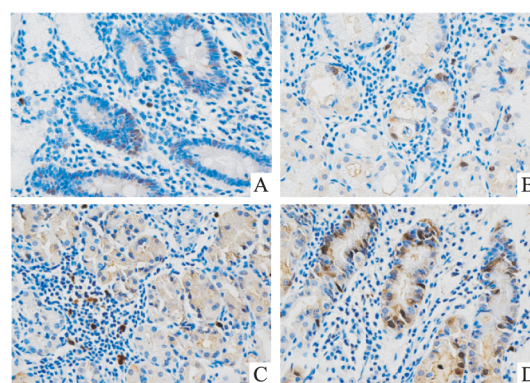


图1 TS在胃癌中的表达 SP×400
A: 无表达; B: 低表达; C: 中等表达; D: 高表达

表1 胃癌和癌旁组织中TS表达的卡方分析结果(n)

变量	TS		χ^2 值	P值
	高表达	低表达		
癌组织	39	41	10.818	<0.001
癌旁组织	19	61		

2.2 ELISA检测TS在新鲜胃癌和癌旁组织中的表达 20例新鲜胃癌组织TS平均浓度为($1.105 \times 10^{-3} \pm 0.177 \times 10^{-3}$) $\mu\text{mol/L}$,对应癌旁组织TS平均浓度为($0.811 \times 10^{-3} \pm 0.192 \times 10^{-3}$) $\mu\text{mol/L}$ 。新鲜胃癌组织中TS浓度高于癌旁组织,差异有统计学意义($t = 5.467$, $P < 0.001$,图2)。

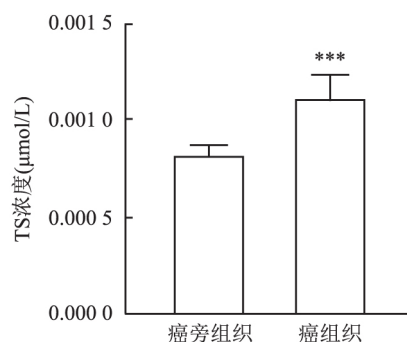


图2 新鲜胃癌与癌旁组织中TS的表达量与癌旁组织比较:*** $P < 0.001$

2.3 q-PCR 检测 TS mRNA 在新鲜胃癌及癌旁组织的表达 20 例新鲜胃癌及癌旁组织 TS mRNA 检测结果显示: TS mRNA 在新鲜胃癌组织 (3.08 ± 1.70) 相对表达量高于癌旁组织 (1.02 ± 0.23), 差异有统计学意义 ($t = 5.228$ $P < 0.001$, 图 3)。

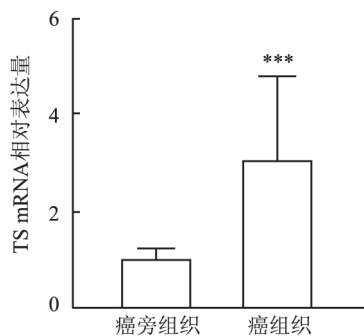


图 3 新鲜胃癌与癌旁组织中 TS mRNA 的表达量
与癌旁组织比较: *** $P < 0.001$

2.4 TS 在胃癌组织中的表达与临床病理因素的关系 TS 在胃癌组织中的表达与性别等因素无关; 与肿瘤分化程度相关, 肿瘤分化程度越高 TS 阳性率越低 ($P < 0.05$, 表 2)。

表 2 胃癌组织中 TS 表达与临床病理因素的关系 ($n = 80$)

临床病理参数	n	TS		χ^2 值	P 值
		高表达	低表达		
性别				0.002	0.968
男性	47	23	24		
女性	33	16	17		
年龄(岁)				0.408	0.523
≥ 60	58	27	31		
< 60	22	12	10		
肿瘤直径(cm)				2.805	0.094
≤ 5	30	11	19		
> 5	50	28	22		
浸润深度				3.202	0.074
$T_1 + T_2$	16	11	5		
$T_3 + T_4$	64	28	36		
淋巴转移				0.019	0.890
N_0	22	11	11		
$N_1 \sim N_3$	58	28	30		
TNM 分期				0.030	0.862
I ~ II	30	15	15		
III ~ IV	50	24	26		
分化程度				11.257	0.001
高 + 中	40	12	28		
低	40	27	13		

2.5 TS 表达与胃癌生存率的关系 胃癌患者生存分析结果(图 4)显示: TS 阴性胃癌患者生存期较阳

性患者长 ($P < 0.001$)。5 年以上随访周期的 60 例胃癌患者中: TS 阴性患者 3 年和 5 年生存率分别为 74.19% 和 54.84%; TS 阳性患者 3 年和 5 年生存率分别为 48.28% 和 27.59%。COX 单因素回归分析结果显示肿瘤大小、TNM 分期、分化程度和 TS 表达与临床预后相关 ($P < 0.05$, 表 3), COX 多因素回归分析显示只有肿瘤大小、分化程度和 TS 表达为影响胃癌患者预后的独立危险因素 ($P < 0.05$, 表 3)。

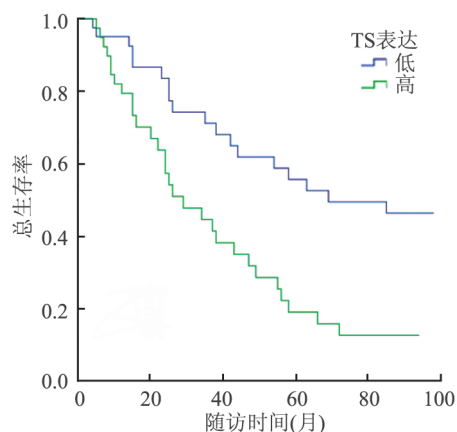


图 4 Kaplan-Meier 法分析 80 例胃癌患者癌组织中 TS 表达情况与总生存期的关系

2.6 TS 在胃癌患者血液中的表达与临床病理因素的关系 TS 在胃癌患者血液中的表达与性别等因素无关; 与淋巴结转移及肿瘤分化程度相关, 淋巴结转移数越低、肿瘤分化程度越高 TS 阳性率越低 ($P < 0.05$, 表 4)。

2.7 雷替曲塞腹腔给药后血液中 TS 浓度的变化趋势 雷替曲塞腹腔给药后 TS 浓度降低, 且血液中 TS 浓度在给药后的第 2 天降至最低值, 然后逐渐上升(图 5)。

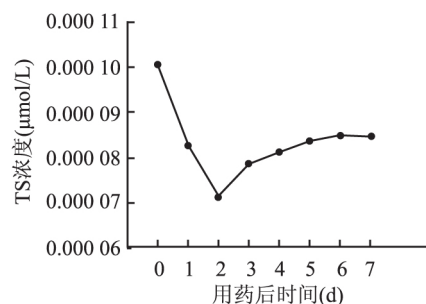


图 5 胃癌患者雷替曲塞腹腔化疗给药前后血液中 TS 浓度的变化

2.8 术前 2 d 给药组和手术结束给药组总生存率和无病生存率 术前 2 d 给药组患者 1 年生存率为 75% (15/20), 手术结束给药组 1 年生存率为 80% (16/20), 两组患者术后总生存率差异无统计学意

表3 COX 回归模型对 80 例胃癌患者的单因素和多因素生存分析结果

临床病理参数	<i>n</i>	<i>HR</i>	单因素分析 95.0% <i>CI</i>	<i>P</i> 值	<i>HR</i>	多因素分析 95.0% <i>CI</i>	<i>P</i> 值
性别							
男性	47	0.933	0.525 ~ 1.659	0.813			
女性	33	1					
年龄(岁)							
≥60	58	1.754	0.932 ~ 3.300	0.081			
<60	22	1					
肿瘤直径(cm)							
≤5	30	0.352	0.178 ~ 0.696	0.003	0.276	0.127 ~ 0.601	0.001
>5	50	1			1		
浸润深度							
T ₁ + T ₂	16	0.806	0.341 ~ 1.903	0.622			
T ₃ + T ₄	64	1					
淋巴结转移							
N ₀	22	0.515	0.241 ~ 1.104	0.088			
N ₁ ~ N ₃	58	1					
TNM 分期							
I ~ II	30	0.435	0.229 ~ 0.826	0.011	0.449	0.186 ~ 1.087	0.076
III ~ IV	50	1			1		
分化程度							
高 + 中	40	0.374	0.204 ~ 0.687	0.002	0.275	0.139 ~ 0.541	0.000
低	40	1			1		
TS 表达							
低表达	41	0.381	0.210 ~ 0.693	0.002	0.503	0.259 ~ 0.978	0.043
高表达	39	1			1		

表4 胃癌患者血液中 TS 表达与临床病理因素的关系(*n* = 30)

临床病理参数	<i>n</i>	TS		χ^2 值	<i>P</i> 值
		高表达	低表达		
性别				0.153	0.696
男性	16	8	8		
女性	14	8	6		
年龄(岁)				3.281	0.070
≥60	20	13	7		
<60	10	3	7		
肿瘤直径(cm)				0.536	0.464
≤5	15	9	6		
>5	15	7	8		
浸润深度				0.918	0.440
T ₁ ~ T ₂	9	6	3		
T ₃ ~ T ₄	21	10	11		
淋巴结转移				4.821	0.028
N ₀	15	5	10		
N ₁ ~ N ₃	15	11	4		
TNM 分期				2.066	0.236
I ~ II	9	3	6		
III ~ IV	21	13	8		
分化程度				6.467	0.011
高 + 中	14	4	10		
低	16	12	4		

义; 截止随访日, 两组患者无病生存率有统计学差异(*P* < 0.05, 图6), 且术前 2 d 给药组患者具有更高的无病生存率。

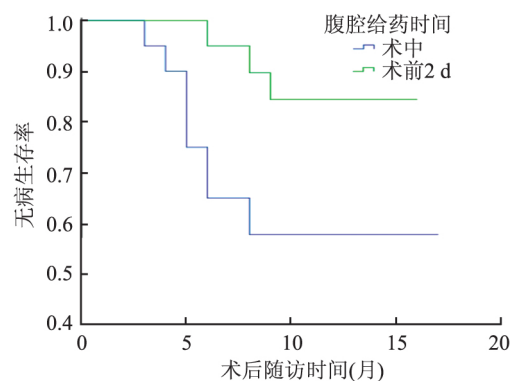


图6 雷替曲塞术前 2 d 和术中分别腹腔化疗给药治疗胃癌患者后两组无病生存率的 Kaplan-Meier 生存曲线

3 讨论

TS 是 DNA 从头合成途径中的关键酶, 作为化疗药物作用靶点被广泛研究。本实验免疫组化和 ELSA 结果均表明 TS 蛋白在胃癌和癌旁组织存在差异表达, 且在癌组织中表达更高; TS mRNA 分析结果也显示出相同趋势。但是 TS 在胃癌中表达与临床预后的关系一直存在争议。Rogoza-Mateja et al^[9] 免疫组化研究结果显示, TS 的表达与手术患者

生存预后无关; Wang et al^[10] 的一项 meta 分析显示, 虽然 TS 阴性患者表现出具有更长生存时间的趋势, 但差异无统计学意义。Kim et al^[11] 结果均显示 TS 阳性的胃癌患者具有更差的预后。本研究对 80 例术前未行放、化疗的胃癌患者的总体生存分析结果显示: TS 阴性患者的生存时间显著高于 TS 阳性患者的生存时间。其中 60 例具有 5 年以上随访周期者生存率分析结果显示: TS 阴性胃癌患者 3 年和 5 年生存率均高于 TS 阳性患者。本研究首次报道了 TS 阴性和阳性的胃癌患者 5 年生存率的对比。

本次研究还分析了胃癌患者血液中 TS 基础浓度与临床病理因素的关系, 结果显示胃癌患者血液中 TS 浓度与淋巴结转移和肿瘤分化程度存在相关性, 因此研究血液中 TS 与胃癌的关系具有重要意义。胃癌腹腔化疗用药方案和用药时间尚无定论, 雷替曲塞用于胃癌腹腔化疗的安全性和有效性均有研究报道, 且雷替曲塞具有活性高、半衰期长、有效作用时间长等优点^[3]。在用药时间的研究中, 术前腹腔给药可能比术中和术后腹腔给药更具药代动力学优势, 但是术前腹腔给药具体时间未见报道。

TS 是雷替曲塞发挥作用的生物靶点, 但是雷替曲塞腹腔给药后血液中 TS 浓度的动态变化尚无报道。本研究对雷替曲塞腹腔给药的胃癌患者用药前后血液中 TS 浓度分析显示: 给药前血液中 TS 浓度最高, 给药后 TS 浓度降低, 给药后第 2 天达最低值, 后从给药后第 3 天开始 TS 浓度又逐渐上升。胃癌复发和转移是多种因素共同影响的结果, 但术中脱落的癌栓及腹腔内的游离癌细胞随血液循环到达全身各处是重要原因之一^[12]。雷替曲塞术前 2 d 腹腔给药可使手术当天血液中 TS 浓度降到最低值, 此时血液循环中癌细胞最大程度被抑制而难以复制生长, 可以有效预防胃癌患者的复发和转移。因此, 选择术前 2 d 腹腔给药作为雷替曲塞术前腹腔给药的时间点进行进一步研究, 比较其与临床常用的术中给药的效果差异。实验结果显示, 雷替曲塞术前 2 d 给药组具有更高的无病生存率。两组患者术后无病生存率的差异表明: 雷替曲塞术前 2 d 腹腔给药能够更好地预防胃癌患者术后复发和转移。两组患者总生存率尚无统计学差异, 可能因随访周期太短导致 3 年生存率和 5 年生存率更能反映患者预后生存情况。本研究小组将会继续增加各组样本量以开展进一步研究, 同时会跟踪随访两组患者 3 年和 5 年生存率差异。

综上所述, TS 在胃癌的发生发展过程中起重要

作用, TS 具有作为胃癌患者生存预测标志物的潜力, 进一步研究其涉及的分子机制可以为化疗药物的研发提供新思路。雷替曲塞腹腔给药后血液中 TS 浓度变化趋势可作为预测雷替曲塞最佳腹腔给药时间的重要指标。雷替曲塞术前 2 d 腹腔给药可以更好的预防胃癌的复发和转移, 但仍需更多的临床样本和长期生存率进行进一步研究。

参考文献

- [1] Siegel R L, Miller K D, Jemal A. Cancer statistics, 2017 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1): 7-30.
- [2] Zhang S, Feng R, Pan Z, et al. Clinical efficacy of combination intravenous and intraperitoneal chemotherapy in the treatment of gastric cancer with peritoneal carcinomatosis [J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2018, 19(12): 956-62.
- [3] Zhao P, Ding Z, Tang L, et al. Preliminary investigation of intraperitoneal raltitrexed in patients with gastric cancer [J]. *World J Surg Oncol*, 2014, 12: 403.
- [4] Yano M, Yasuda T, Fujiwara Y, et al. Preoperative intraperitoneal chemotherapy for patients with serosa-infiltrating gastric cancer [J]. *J Surg Oncol*, 2004, 88(1): 39-43.
- [5] 邓杰, 解明然, 郭明发, 等. 胸苷酸合成酶检测指导肺腺癌患者术后辅助化疗的临床研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2016, 51(10): 1509-13.
- [6] Zhou Y H, Liu Y, Zhang W, et al. Associations between clinical-pathological parameters and biomarkers, HER-2, TYMS, RRMI, and 21-gene recurrence score in breast cancer [J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(11): 152644.
- [7] Donner D B, Nakakura E K, Venook A P, et al. High thymidylate synthase gene expression predicts poor outcome after resection of hepatocellular carcinoma [J]. *PLoS One*, 2019, 14(7): e0219469.
- [8] Fu Z, Jiao Y, Li Y, et al. TYMS presents a novel biomarker for diagnosis and prognosis in patients with pancreatic cancer [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(51): e18487.
- [9] Rogoza-Mateja W, Domagala P, Kaczmarczyk M, et al. Immunohistochemical analysis of thymidylate synthase expression in gastric carcinoma: correlation with clinicopathological parameters and survival [J]. *Histol Histopathol*, 2017, 32(2): 193-201.
- [10] Wang D, Yu X, Wang X. High/positive expression of 5-fluorouracil metabolic enzymes predicts better response to S-1 in patients with gastric cancer: a meta-analysis [J]. *Int J Biol Markers*, 2016, 31(2): e101-9.
- [11] Kim M H, Zhang X, Jung M, et al. Immunohistochemistry biomarkers predict survival in stage II/III gastric cancer patients: from a prospective clinical trial [J]. *Cancer Res Treat*, 2019, 51(2): 819-31.
- [12] Spolverato G, Ejaz A, Kim Y, et al. Rates and patterns of recurrence after curative intent resection for gastric cancer: a United States multi-institutional analysis [J]. *J Am Coll Surg*, 2014, 219(4): 664-75.

Study on TS expression in gastric cancer and the effect of raltitrexed administration on it

Huang Zhiguo , Hu Kongwang , Li Longlong , et al

(Dept of General Surgery ,The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University ,Hefei 230022)

Abstract Objective To investigate the relationship between the expression of thymidine synthase (TS) in gastric cancer and clinicopathological factors , survival and prognosis , as well as the relationship between the blood TS concentration and the timing of intraperitoneal administration of raltitrexed in patients with gastric cancer. **Methods** Immunohistochemistry was used to detect TS expression in 80 cases of gastric cancer and adjacent tissues. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to determine the concentration of TS in 20 cases of fresh gastric cancer and paracancer tissues , and the concentration of TS in blood before and after intraperitoneal administration of raltitrexed in 40 cases. q-PCR was used to detect TS mRNA expression in 20 cases of fresh frozen gastric cancer and its adjacent tissues. Intraperitoneal chemotherapy: Abdominal puncture was given to the group 2 d before surgery , and before abdominal closure was given to the group after surgery. **Results** The positive rate of TS in 80 gastric cancer tissues (48. 75% , 39/80) was higher than that in the adjacent tissues (23. 75% , 19/80) , and the difference was statistically significant ($P < 0.001$) . The average TS concentration in the fresh gastric cancer tissues ($1.105 \times 10^{-3} \pm 0.177 \times 10^{-3}$) $\mu\text{mol/L}$ was significantly higher than that in the adjacent gastric tissues ($0.811 \times 10^{-3} \pm 0.192 \times 10^{-3}$) $\mu\text{mol/L}$, and the difference was statistically significant ($P < 0.001$) . TS mRNA expression in 20 fresh gastric cancer tissues (3.08 ± 1.70) was higher than that in adjacent gastric tissues (1.02 ± 0.23) , and the difference was statistically significant ($P < 0.001$) . The expression of TS in gastric cancer tissue was correlated with the degree of tumor differentiation ($P < 0.05$) , and the expression of TS in blood was correlated with N stage and the degree of tumor differentiation ($P < 0.05$) . The survival rate of patients with TS negative gastric cancer was higher than that of patients with TS positive gastric cancer ($P < 0.001$) , and TS was also an independent risk factor for the prognosis of gastric cancer. After intraperitoneal administration of raltitrexed , the blood TS concentration dropped to the lowest value on the second day , and the disease-free survival rate of the group two days before surgery was higher than that of the group after surgery ($P < 0.05$) . **Conclusion** The positive expression rate of TS increases in gastric cancer , and its expression is related to the degree of tumor differentiation and survival prognosis of patients. Changes in blood TS concentration after intraperitoneal administration of Raltitrexate in patients with gastric cancer can be used to predict the optimal time for intraperitoneal administration , and the optimal time for intraperitoneal administration of raltitrexate is two days before surgery.

Key words stomach neoplasms; thymidylate synthase; intraperitoneal chemotherapy; immunohistochemistry