



大肠癌脾虚证bcl-2基因表达与健脾康复汤的调节作用

大肠癌的发生发展是涉及多个基因异常表达的复杂过程,调节相关基因表达对大肠癌的防治有重要意义。我们曾观察中药健脾康复汤对大肠癌脾虚证的治疗效果,发现在改善临床症状和提高免疫功能方面有确切疗效[1]。本研究进一步观察健脾康复汤对大肠癌脾虚证相关基因bcl-2表达的调节作用及对唾液淀粉酶活性的影响,现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 研究对象

本组研究病例为住院病人,诊断标准参照文献[2],均经病理学确诊。脾虚证辨证参照文献[3]。选择不能手术根治的中晚期大肠癌病人,如接受放疗或化疗,须结束2个月以上,且体力状况评分在60分以上,估计生存期超过3个月。凡合并心、肝、肾或造血系统等严重原发疾病者不列为本研究病例。所有入选病例以随机原则分为两组。治疗组30例,其中男16例、女14例;年龄30~65岁,平均56.3岁;临床病理分期II期5例、III期13例、IV期12例。对照组15例,其中男9例、女6例;年龄33~65岁,平均53.1岁;临床病理分期II期4例、III期6例、IV期5例。以上两组临床资料比较差异无显著性($P>0.05$),具有可比性。

1.2 治疗方法

治疗组口服健脾康复汤(由党参、白术、茯苓、仙鹤草、卷柏等组成),每日1剂,疗程为2个月,同时给予西医对症支持治疗。对照组仅给予西医对症支持治疗,疗程同为2个月,期间不接受放化疗等抗肿瘤治疗措施。治疗前后分别收集唾液标本检测唾液淀粉酶活性。在肠镜检查和治疗后复查时分别获取组织标本检测bcl-2基因。

1.3 唾液淀粉酶活性测定

按文献[4]的方法。分别收集基础状态下及酸刺激后的唾液标本,用碘分光光度法测定。酶活性单位定义是:每ml唾液在37℃中保温15 min,在实验条件下水解1 mg淀粉至遇碘不呈蓝色为1单位。

1.4 bcl-2基因表达检测

组织标本均经体积分数为10%的中性甲醛固定24 h,常规脱水、透明和包埋,制成4 μm厚连续石蜡切片,贴在涂有多聚赖氨酸的载玻片上,58℃烤24 h,4℃保存备用。鼠抗人Bcl-2单克隆一抗系美国Santa Cruz Biotechnolog公司产品。免疫组织化学染色采用CSA法,按文献[5]操作。实验用已知阳性片作阳性对照,PBS代替一抗做阴性对照。

2 结果

2.1 两组治疗前后唾液淀粉酶活性比较

见表1。治疗前，两组患者酸刺激前后唾液淀粉酶活性均显著下降($P<0.01$)，但两组间比较无显著差异($P>0.05$)。治疗后，治疗组患者酸刺激后唾液淀粉酶活性不再下降，而且有所升高；对照组患者治疗后酸刺激后唾液淀粉酶活性与酸刺激前比较仍有所下降。治疗组酸刺激前后唾液淀粉酶活性差值与对照组比较有显著差异($t=7.822$, $P<0.01$)。

表 1 两组治疗前后唾液淀粉酶活性比较
Tab.1 Comparison of salivary amylase activity between the two groups (Mean±SD)

Group	n	Activity		Activity difference
		Before acid stimulus	After acid stimulus	
Combined treatment	30			
Before treatment		3892±317	2673±273	-1217±312
After treatment		2235±232	2564±301	328±285*
Western medicine	15			
Before treatment		3814±112	2712±258	-1101±269
After treatment		3360±307	2934±191	-428±346

* $P<0.01$ vs western medicine group

2.2 两组治疗前后bc1-2基因表达阳性率比较

治疗组30例中治疗前bc1-2基因阴性表达12例，阳性表达18例，阳性表达率为60%。治疗后重新检测，阴性表达20例，阳性表达10例，阳性表达率为33.3%；治疗后的阳性表达率比治疗前显著降低($\chi^2=4.286$, $P<0.05$)。对照组15例中，治疗前bc1-2基因阴性表达5例，阳性表达者10例，阳性表达率为66.7%；治疗后重新检测阴性表达6例，阳性表达者9例，阳性表达率为60%；治疗前后的阳性表达率比较差异无显著意义。

3 讨论

唾液淀粉酶活性的变化是反映脾虚证的一个客观指标，基础状态下脾虚证患者唾液淀粉酶活性升高，酸刺激后唾液淀粉酶活性显著下降，这一结果得到国内多家单位的验证。1986年全国中西医结合虚证研究与老年病防治会议将其确认为脾虚证的诊断参考指标之一，1993年卫生部颁布的《中药新药临床研究指导原则》将其列为有关治疗脾虚证中药新药临床研究中证候诊断及新药疗效评价的参考指标。本研究用中药健脾康复汤治疗大肠癌脾虚证，使酸刺激后的唾液淀粉酶活性下降的趋势得到逆转，说明大肠癌脾虚证符合脾虚证的一般规律。

bc1-2基因是凋亡抑制基因，可以阻断许多原因引起的细胞凋亡，延长细胞寿命，但不影响细胞的增殖，是抑制细胞凋亡的一个重要因素。由于它阻止了正常的凋亡途径，使DNA损伤的细胞不发生凋亡而保持损伤状态，最终导致单克隆性增生的肿瘤发生[6]。本研究检测大肠癌脾虚证，发现bc1-2基因表达的阳性率较高，与文献报道[7]相符。经过中药健脾康复汤治疗后，bc1-2基因表达阳性率显著下降，说明bc1-2基因的异常表达与大肠癌的中医证型有一定相关性，bc1-2基因的高表达可能是大肠癌脾虚证的分子生物学特征之一。

参考文献：

[1] 杨传标, 殷平善, 薛军. 中药健脾康复汤治疗大肠癌脾虚证临床疗效观察[J]. 河南中医药学刊,

2002, 102(1): 22-3.

[2]中国抗癌协会. 新编常见恶性肿瘤诊治规范(大肠癌分册)[M]. 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1999. 23.

[3]中华人民共和国卫生部药政司. 中药新药临床研究指导原则(第三辑)[M]. 1997. 78.

[4]广州中医学院脾胃研究组. 脾虚患者唾液淀粉酶活性初步研究[J]. 中华医学杂志, 1980, 60(5): 290.

[5]倪灿荣, 范 淼, 许丙基. CSA系统在免疫组织化学中的应用[J]. 临床与实验病理学杂志, 1999, 15(3): 267.

[6]Hannun Y. Apoptosis and the dilemma of cancer chemotherapy[J]. Blood, 1997, 89: 1485-93.

[7]吴苏冬, 周冬枝, 贾宗良, 等. 结肠癌脾虚证p53, Bcl-2和Bax的表达[J]. 第四军医大学学报, 2003, 24(12): 1111-3.

Wu SD, Zhou DZ, Jia ZL, et al. Expression of p53, Bcl-2and Bax in Pixuzheng of colorectal carcinoma[J]. J Fourth Mil Med Univ, 2003, 24(12): 1111-3.

[回结果列表](#)