

大肠癌脾虚证 *bcl-2* 基因表达与健脾康复汤的调节作用

杨传标¹, 薛军², 殷平善³, 左建生¹, 徐克成¹ (¹广州复大肿瘤医院中西医结合科, 广东广州 510300; ²广州中医药大学科技处, 广东广州 510405; ³南方医科大学中医系, 广东广州 510515)

摘要:目的 探讨大肠癌脾虚证与 *bcl-2* 基因表达的相关性及中药健脾康复汤的调节作用。方法 选择中晚期大肠癌脾虚证患者 45 例, 随机分为治疗组和对照组。治疗组口服健脾康复汤, 每日 1 剂, 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。疗程为 2 个月。治疗前后分别检测唾液淀粉酶活性及组织标本 *bcl-2* 基因表达。结果 大肠癌脾虚证患者酸刺激后的唾液淀粉酶活性显著下降, 组织标本 *bcl-2* 基因表达阳性率明显升高。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 ($t=7.822, P<0.01$); 治疗组组织标本 *bcl-2* 基因表达阳性率治疗后较治疗前显著降低 ($\chi^2=4.286, P<0.05$), 对照组 *bcl-2* 基因表达阳性率治疗前后无显著差异。结论 中药健脾康复汤对大肠癌脾虚证患者酸刺激后唾液淀粉酶活性下降的趋势有抑制作用, 对 *bcl-2* 基因表达有调节作用。

关键词: 大肠肿瘤; 中药; 健脾康复汤; 脾虚证; *bcl-2*

中图分类号: R256.3; R735.34 文献标识码: A 文章编号: 1000-2588(2005)10-1268-02

Expression of *bcl-2* gene in spleen deficiency syndrome in colorectal carcinoma and the regulatory effect of *Jianpikangfu* decoction

YANG Chuan-biao¹, XUE Jun², YIN Ping-shan³, ZUO Jian-sheng¹, XU Ke-cheng¹

¹Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Guangzhou Fuda Hospital of Oncology, Guangzhou 510300, China; ²Department of Science and Technology Development and Administration, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; ³Department of Traditional Chinese Medicine, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between spleen deficiency syndrome in colorectal carcinoma and *bcl-2* gene expression, and observe the regulatory effect of *Jianpikangfu* decoction. **Methods** Forty-five advanced colorectal carcinoma patients with spleen deficiency were randomized into *Jianpikangfu* decoction treatment group with also symptomatic treatment with western medicine and control group in which the patients were given expectant treatment with western medicine. The activity of salivary amylase and *bcl-2* expression in the tumor tissues were detected before and after the treatment. **Results** *Jianpikangfu* decoction in combination with western medicine treatment produced more obvious inhibition of reduction in salivary amylase activity than exclusive western medicine treatment ($t=7.822, P<0.01$), and significantly lowered the positivity rate of *bcl-2* expression ($\chi^2=4.286, P<0.05$) in the tumor tissues, which, however, displayed no obvious changes in response to exclusive western medicine treatment. **Conclusion** *Jianpikangfu* decoction can inhibit the decrease in salivary amylase activity and regulate *bcl-2* gene expression in colorectal carcinoma patients with spleen deficiency syndrome.

Key words: colorectal neoplasms; Chinese herbs; *Jianpikangfu* decoction; spleen deficiency syndrome; *bcl-2*

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

收稿日期: 2005-01-18

基金项目: 广东省中医药局科研课题(102009)

Sponsored by Traditional Chinese Medicine Administration Bureau of Guangdong Province(102009)

作者简介: 杨传标, 男, 博士, 副主任医师, 电话: 020-33320278, E-mail: ycbwh@fimmu.com

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,期间不接受放疗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 °C 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 °C 烤 24 h,4 °C 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 *bcl-2* 基因表达阳性率比较

治疗组 30 例中治疗前 *bcl-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 *bcl-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。

bcl-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 *bcl-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,*bcl-2* 基因表达阳性率显著下降,说明 *bcl-2* 基因的正常表达与大肠癌的中医证型有一定相关性,*bcl-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,范森,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-2 and Bax in Pixuzheng of colorectal carcinoma [J]. J Fourth Mil Med Univ, 2003, 24(12): 1111-3.