

连黛胶囊对胃肠肿瘤 p21^{ras} 和突变型 p53 蛋白表达调节作用的临床研究^{*}

杨传标¹ 陈蔚文¹ 王建华¹ 张礼康²

内容提要 目的 研究连黛胶囊对胃肠肿瘤 p21^{ras} 和突变型 p53 蛋白表达的调节作用。方法 选择临床中晚期胃肠肿瘤患者 45 例,随机分为治疗组和对照组,治疗组 30 例,在对症支持疗法的基础上口服连黛胶囊,对照组 15 例仅用对症支持疗法,观察治疗前后血清 p21^{ras} 和突变型 p53 蛋白含量变化,同时观察生存质量的变化。结果 治疗组治疗后血清 p21^{ras} 和突变型 p53 蛋白含量显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$),生存质量评分明显提高($P < 0.05$)。对照组各指标治疗前后差异无显著性意义。结论 连黛胶囊具有调节胃肠肿瘤 p21^{ras} 和突变型 p53 蛋白表达的作用。

关键词 连黛胶囊 胃肠肿瘤 p21^{ras} 突变型 p53

Clinical Study on Regulatory Effect of Liandai Capsule on p21^{ras} and Mutant p53 Protein Expression in Gastrointestinal Neoplasm YANG Chuan-biao, CHEN Wei-wen, WANG Jian-hua, et al *The Pirwei-Institute, Guangzhou University of TCM, Guangzhou (510407)*

Objective : To study the regulatory effect of Liandai Capsule on p21^{ras} and mutant p53 protein expression in gastrointestinal (GI) neoplasm. **Methods** : Forty-five patients of GI neoplasm in middle or advanced stage were enrolled and divided randomly into the treated group and the control group to observe the changes of their serum p21^{ras} and mutant p53 protein expression as well as their quality of life (QOL) before and after treatment. **Results** : The content of p21^{ras} and mutant p53 protein expression in the treated group decreased significantly and QOL improved after treatment, $P < 0.05$ or $P < 0.01$, while these changes in the control group were not shown. **Conclusion** : Liandai Capsule has regulatory effect on p21^{ras} and mutant p53 protein expression in GI neoplasm.

Key words Liandai Capsule, gastrointestinal neoplasm, p21^{ras}, mutant p53

胃肠肿瘤的发生发展是一个极其复杂的过程,其中有许多基因及其产物参与作用,对相关基因表达的调节在胃肠肿瘤防治中有重要意义。我们此前的研究显示,连黛胶囊能明显抑制实验性大鼠胃癌相关癌基因的过表达⁽¹⁾。本研究进一步观察对胃肠肿瘤患者 p21^{ras} 和突变型 p53 蛋白表达的调节作用,现将结果报道如下。

资料与方法

1 临床资料 本研究所观察病例为非根治性手术后化疗后的住院患者,诊断标准参照《新编常见恶性肿瘤诊治规范》⁽²⁾,均经病理学确诊。临床病理分期为Ⅱ~Ⅳ期,体力状况卡氏评分在 60 分以上,估计生存期超过 3 个月。心、肝、肾功能明显异常或有其他严重

并发症者不列入本研究。所选病例以随机原则分为两组。治疗组 30 例,男 14 例,女 16 例,年龄 34~65 岁,平均 52.77 岁,病程 0.25~3 年,平均 1.42 年,其中胃癌 17 例,大肠癌 13 例,临床病理分期:Ⅱ期 9 例,Ⅲ期 8 例,Ⅳ期 13 例;组织学分型:乳头状腺癌 2 例,低分化腺癌 15 例,中分化腺癌 5 例,印戒细胞癌 5 例,粘液腺癌 3 例。对照组 15 例,男 6 例,女 9 例,年龄 31~65 岁,平均 51.53 岁,病程 0.3~2.5 年,平均 1.25 年,其中胃癌 8 例,大肠癌 7 例,临床病理分期:Ⅱ期 4 例,Ⅲ期 5 例,Ⅳ期 6 例;组织学分型:乳头状腺癌 1 例,低分化腺癌 7 例,中分化腺癌 2 例,印戒细胞癌 3 例,粘液腺癌 2 例。以上两组资料比较差异无显著性(χ^2 检验, $P > 0.05$),具有可比性。

2 治疗方法 治疗组口服连黛胶囊(由黄连、青黛、吴茱萸组成,广州中医药大学第一附属医院药剂科生产,每粒 0.4g,生产批号 990312),每次 3 粒,每天 3 次,同时给予常规对症支持治疗。对照组仅给予对症

^{*} 广东省教育厅资助课题(No. 9631)

1. 广州中医药大学脾胃研究所(广州 510407) 2. 广东省人民医

支持治疗。疗程为 1 个月。

3 观察指标与检测方法

3.1 血清 p21^{ras}蛋白含量 采用 ELISA 法检测,所用试剂 p21^{ras}单克隆抗体、p21^{ras}蛋白标准品、HRP 标记的抗 p21^{ras}抗体,为 Oncogene 公司产品,参照文献方法⁽³⁾,通过矩阵系列稀释选择抗体的最佳工作浓度,结果确定用于包被的单克隆抗体和标记抗体的适宜浓度是 4μg/ml;以 4μg/ml 浓度的单克隆抗体包被酶标板(100μl/孔,4℃ 放置过夜)洗板 3 次 加入 10% 的小牛血清封闭(37℃ 震荡孵育 30min) ;各孔分别加入不同浓度的标准品溶液或待测血清(100μl/孔,37℃ 震荡孵育 60min) 洗板 5 次 各孔加 4μg/ml 浓度的标记抗体溶液(100μl/孔,37℃ 震荡孵育 60min) 洗板 5 次 各孔加底物显色 ;用酶标仪以 490nm 波长测各孔吸光度,计算血清标本中 p21^{ras}蛋白含量。

3.2 血清突变型 p53 蛋白含量 采用 ELISA 法检测,所用突变型 p53 蛋白检测试剂盒为 Oncogene 公司产品,严格按照试剂盒说明操作。由于该试剂盒内试剂量的限制,实际检测例数略少于本研究的总例数。以上两项指标均治疗前后各检测 1 次。

3.3 生存质量 以世界卫生组织制订的生存质量调查量表 100 条⁽⁴⁾为依据,结合胃肠肿瘤的主要临床表现,拟订 40 个关键问题组成本文评价患者生存质量的调查量表。由患者于开始治疗前和疗程结束后分别填写调查量表各 1 份。表中每一个问题的评分采用 5 类判定评分法,即每一个问题以所选答案的等级进行评分,正常或非常好评 5 分,比较好评 4 分,中等或一般评 3 分,较差评 2 分,很差评 1 分。各个问题评分的和即为其生存质量状况的评分值。

4 统计学方法 采用 SPSS 软件进行统计分析,两组一般资料比较用 χ^2 检验,血清 p21^{ras}、突变型 p53 蛋白含量及生存质量评分治疗前后比较用配对 t 检验,生存质量评分提高与血清 p21^{ras}、p53 蛋白含量变化的相关性分析用直线相关法。

结 果

1 两组治疗前后血清 p21^{ras}、突变型 p53 蛋白含量比较 见表 1。治疗组血清 p21^{ras}蛋白含量治疗后较治疗前显著下降($t = 3.803, P < 0.01$),对照组治疗前后比较差异无显著性 ;治疗组血清突变型 p53 蛋白含量治疗后较治疗前显著下降($t = 2.060, P < 0.05$),对照组治疗前后比较差异无显著性。

2 两组治疗前后生存质量评分比较 见表 2。治疗组患者生存质量评分治疗后较治疗前明显提高

表 1 两组治疗前后血清 p21^{ras}、突变型 p53 蛋白含量比较 (μg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	p21 ^{ras}			突变型 p53		
	例数	治疗前	治疗后	例数	治疗前	治疗后
治疗	30	14.52 ± 4.77	10.63 ± 5.94 **	28	0.86 ± 0.29	0.72 ± 0.30 *
对照	15	14.86 ± 4.62	13.07 ± 5.60	14	0.85 ± 0.22	0.84 ± 0.19

注 与本组治疗前比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表 2 两组治疗前后生存质量评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	生存质量评分	
		治疗前	治疗后
治疗	30	125.23 ± 10.66	131.73 ± 12.73 *
对照	15	127.27 ± 8.77	130.60 ± 7.82

注 与本组治疗前比较, * $P < 0.05$

($t = 3.042, P < 0.05$) 对照组治疗前后比较差异无显著性。

3 连黛胶囊治疗后生存质量评分提高与血清 p21^{ras}、p53 蛋白含量变化的相关关系 直线相关分析表明,生存质量评分变化与血清 p21^{ras}蛋白含量变化呈负相关($r = -0.496, P < 0.01$),与血清 p53 蛋白含量变化也呈负相关($r = -0.402, P < 0.05$)。

讨 论

胃肠肿瘤的发生发展与 p21^{ras}和突变型 p53 基因过表达有密切关系。有研究显示,肿瘤患者血清 p21^{ras}和突变型 p53 蛋白含量较正常人显著升高,手术切除肿瘤后,病情减轻,血清 p21^{ras}和突变型 p53 蛋白含量显著下降^(5,6)。目前,中医药调节胃肠肿瘤相关基因表达的研究还比较少,为了探讨中药连黛胶囊治疗胃肠肿瘤的作用机制,我们曾观察连黛胶囊大鼠药物血清对体外培养的人胃癌细胞株增殖周期和自身凋亡的影响,结果表明该制剂对 MGC-803 胃癌细胞株有诱导凋亡和干扰增殖作用⁽⁷⁾。对 MNNG 诱发大鼠实验性胃癌组织中相关癌基因蛋白表达的研究⁽¹⁾显示,连黛胶囊能抑制 ras、c-erbB2 两个原癌基因的激活和过度表达。本研究结果显示,治疗组经连黛胶囊治疗后血清 p21^{ras}和突变型 p53 蛋白含量显著地下降($P < 0.01, P < 0.05$) ;说明连黛胶囊对 ras 基因的激活和 p53 基因的突变有明显抑制作用。另外,生存质量的研究显示,治疗组生存质量评分治疗后显著升高($P < 0.05$),对照组生存质量评分治疗前后比较差异无显著性。连黛胶囊治疗后生存质量评分变化与血清 p21^{ras}和突变型 p53 蛋白含量变化呈负相关($P < 0.01, P < 0.05$),说明随着血清 p21^{ras}和突变型 p53 蛋白含量下降,患者生存质量得到明显提高。此结果提示,抑制 ras 基因的激活和阻止野生型 p53 基因的突变可能是连黛胶囊防治胃肠肿瘤的分子机理之一。

(在完成本文的过程中得到本校周岱翰、徐颂芬、李茹柳、徐勤、叶富强、潘怀耿、王培训、周联、周华、方永奇、李小兵老师及广东省粤北人民医院马晓霖医生的帮助,特此致谢)

参 考 文 献

1. 陈蔚文,徐 勤,李茹柳,等. 连黛胶囊对 MNNG 诱发胃癌基因的作用. 中国医药学报 1997 ;12(增刊):123—124.
2. 中国抗癌协会编. 新编常见恶性肿瘤诊治规范(胃癌分册,大肠癌分册). 北京 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1999:5—26,23—45.
3. 沈关心,周汝麟主编. 现代免疫学实验技术. 武汉 湖北科学

技术出版社,1998:118—120.

4. 万崇华编. 生存质量测定与评价方法. 昆明 云南大学出版社,1999:55—64.
5. Kakkanas A, Spandidos DA. ras p21 onco-protein in the sera of mice carrying an experimentally induced tumor and in human cancer patients. In-Vivo 1990 ;4(2):115—121.
6. Kang-sup Shim, Kwang-Ho Kim, Byeong-Woo Park, et al. Increased serum levels of mutant p53 proteins in patients with colorectal cancer. J Korean Med Sci 1998 ;13:44—48.
7. 周本杰,陈蔚文,王建华,等. 加味左金丸对溃疡性胃癌的药效学研究. 中国医药学报 1999 ;14(4):68—70.

(收稿 2001-05-18 修回 2001-07-10)

胃肠功能性疾病中医疗效评价与生存质量关系初探

周福生¹ 张庆宏² 黄志新¹ 罗 琦¹ 王建华^{1△}

近几十年来,随着现代化进程的发展,健康已不再是简单的没有疾病和虚弱状态,而是身体上、精神上和社会活动的完好状态,从而摒弃了狭隘的躯体健康概念,强调了其心理和社会内涵。

功能性胃肠疾病(functional gastrointestinal diseases, FGD)正是这样一种与精神心理因素密切相关的疾病,它是指有胃肠道不适症状如腹痛、腹胀、早饱、大便习惯改变等,持续时间超过 3 个月,经过临床、实验室、影像学(B 超、内镜、X 线等)、组织学等检查排除可能解释症状的器质性疾病者[中华医学杂志 1999 ;79(10):799—780]。FGD 临床以功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)和肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)最为多见。

由于诊断标准和疗效判定标准不一,极大地影响了对本病的进一步深入研究,随着在基础研究和临床实践的深入,研究人员发现:尽管 60%~80% 患者与胃肠运动异常有关,但精神心理状态在疾病的发生发展过程中起着越来越重要的作用。根据神经免疫学理论,持久而强烈的情绪波动必然干扰和破坏机体的神经系统和内分泌系统,弱化或损害防御机制,其次标签效应极可能引起病人的心理失衡,出现压抑、焦虑、沮丧等精神心理症状,并最终影响病人对治疗的信心和降低生存质量。

传统的药物评价多考虑安全性及有效性,这种关注生命的保存与局部躯体功能的改善的评价指标体系益显不足:其一,未能表达健康的全部内涵;其二,未能体现具有生物、心理和社会的人的整体性和全面性;其三,未能反映出现代人更看重活得好而不以活得有多长为主要生存指标的积极心态。

生存质量(quality of life, QOL)在药物的评价方面具有较大的优势,它可以克服传统药物评价的不足。尤其在临床治疗期间,不同的病人对相同的药物的生理和心理的反应却不尽相同,期间细微的差异难以用药物结构和作用机制加以解释,但却可以从心理和社会因素中得以说明。

据世界卫生组织(WHO QOL-100, Gevena WHO, 1995)的

定义 QOL 是一个人在其生活的文化和价值系统的背景下,对其所处的地位和状况的感觉,与个人的目标、期望、标准和所关心的事物有关,是机体健康、个人卫生状态、独立生活水平、社会关系、个人信念以及与明显环境特征有关内容的集合,概括起来可以包括五大类 24 个方面。目前生存质量在医学领域的应用有以下几个方面(生存质量测量与评价方法. 昆明 云南大学出版社,1999:223—228):(1)一般及特殊人群健康状况评定;(2)肿瘤及慢性病患者生存质量测评;(3)临床治疗方案的评价与选择;(4)预防性干预及保健措施的效果评价;(5)卫生资源配置与利用的决策;(6)探讨健康影响因素及防治重点。

生存质量用于药物疗效评价的量表在中医领域已经运用多年,如生存质量在中医药治疗中风疗效评价中的应用、中药复方提高原发性高血压及心血管疾病患者的生存质量研究。有学者通过 WHO-QOL 100 量表的简化,观察中药提高胃肠疾病患者生存质量的研究[中药新药与临床药理 1997 ;8(9):179—181 广州中医药大学学报 1997 ;14(4):225—227]。多数研究者只是将国外的量表,尤其是一些普适性量表如世界卫生组织生存质量量表(WHO-QOL 100)、健康状况调查表(SF-36)等直接应用于临床研究,很少有学者按照 WHO 的量表制定原则研制适合于中医药特色的专业量表。

我们认为:尽管胃肠功能性疾病间存在有不同的生存质量问题,而且相互之间有很大的差异,但胃肠从生理、病理生理及心理上还是具有很多相似或相同之处,这些相同、相似或不同之处能够通过生存质量核心量表形式表现出来。众多的报道显示中医药治疗胃肠功能性疾病有一定的效果,但由于中医证候的模糊性和不确定性,临床效果难以有效评价,极大的限制了中医药在这一领域的发展。可根据中医理论体系的特点并吸取国内外生存质量评定法的经验,结合 WHO 生存质量量表的研制指导原则,制定出一套临床操作性强的胃肠功能性疾病中医疗效评价的生存质量核心量表,克服中医辨证的模糊性和不确定性,为中医辨证标准化和疗效评价客观化服务,提高 FGD 患者的生存质量。

(收稿 2001-06-18)

1. 广州中医药大学脾胃研究所(广州 510407) 2. 广州中医药大学 99 级博士
△指导 万方数据