

# 中药健脾康复方对大肠癌脾虚证患者K-ras和p53基因突变的抑制作用

杨传标, 薛军, 张德春, 徐克成, 左建生

杨传标, 张德春, 徐克成, 左建生, 广州复大肿瘤医院中西医结合科  
广东省广州市 510300

薛军, 广州中医药大学科技处 广东省广州市 510405

广东省中医药局立项资助项目, No. 102009

项目负责人: 薛军, 510405, 广东省广州市, 广州中医药大学科技处,  
xuejun1969@hotmail.com

电话: 020-33320278

收稿日期: 2004-06-16 接受日期: 2004-07-27

## 摘要

**目的:** 研究中药健脾康复方对大肠癌脾虚证患者K-ras和p53基因突变的抑制作用。

**方法:** 选择中晚期大肠癌患者45例, 随机分为治疗组和对照组。治疗组30例, 在对症支持治疗的基础上口服健脾康复方, 每日1剂, 对照组15例, 只给予对症支持治疗, 疗程为2 mo。观察治疗前后外周血K-ras基因突变率和血清突变型p53基因蛋白含量的变化。

**结果:** 治疗组患者外周血K-ras基因突变率治疗后为26.7% (8/30), 较治疗前的73.3% (22/30)显著下降 ( $P < 0.05$ ); 治疗组患者血清突变型p53基因蛋白含量治疗后 ( $0.82 \pm 0.24$  ng/L) 较治疗前 ( $0.89 \pm 0.21$  ng/L)显著下降 ( $t = 2.34$ ,  $P < 0.05$ )。对照组以上两项指标治疗前后差异无显著意义。

**结论:** 中药健脾康复方具有抑制K-ras和p53基因突变的作用。

杨传标, 薛军, 张德春, 徐克成, 左建生. 中药健脾康复方对大肠癌脾虚证患者K-ras和p53基因突变的抑制作用. 世界华人消化杂志 2004;12(11): 2764-2765

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2764.asp>

## 0 引言

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。健脾康复汤治疗大肠癌脾虚证, 在改善临床症状和提高免疫功能方面有确切疗效<sup>[1]</sup>。我们观察健脾康复汤对大肠癌相关基因K-ras和p53突变的抑制作用, 现将结果报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 诊断参照《新编常见恶性肿瘤诊疗规范大肠癌分册》<sup>[2]</sup>, 经病理学确诊, 脾虚证辨证参照《中药新药临床研究指导原则》<sup>[3]</sup>, 我们选择不能手术根治的大肠癌脾虚证中晚期患者45例, 如接受放疗或化疗, 需结束2 mo以上, 且体力状况评分在60分以上, 估

计生存期超过3 mo。凡合并心、肝、肾或造血系统等严重原发疾病者不列入本研究。所有入选病例以随机原则分为治疗组30例, 男16例, 女14例; 年龄30-65岁, 平均年龄  $52 \pm 9$  岁; 临床病理Ⅱ期3例, Ⅲ期13例, Ⅳ期12例。对照组15例, 男9例, 女6例; 年龄33-65岁, 平均年龄  $50 \pm 11$  岁; 临床病理Ⅱ期4例, Ⅲ期6例, Ⅳ期5例。两组性别、年龄、临床病理分期无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 具有可比性。以上入选病例于中药治疗前后各抽血1次2份, 一份抗凝, 一份不抗凝。抗凝者用于检测K-ras基因突变率; 不抗凝者分离血清, 用于检测突变型p53基因蛋白含量。

**1.2 方法** 治疗组口服健脾康复方(由党参30 g、白术15 g、茯苓15 g、仙鹤草15 g、卷柏15 g、甘草5 g)每日1剂, 同时给予常规对症支持治疗。对照组只给予对症支持治疗。疗程为2 mo, 期间不予放疗和化疗等特殊治疗。外周血K-ras基因突变率检测采用QIAamp公司的DNA Blood Midi Kilt提取血浆DNA, 取1 mL血浆加入15 mL离心管内, 用蛋白酶K溶解蛋白, Buffer A W2和无水乙醇分离沉淀DNA, 高速离心下分离出DNA, 离心液-20℃保存。按照两步RFLP-PCR方法<sup>[4]</sup>检测血浆K-ras基因突变, 第1次PCR反应体积为50 μL, 引物Pr1和Pr2的序列为TCAAAGAATGGTCCTGGACC和ACTGAATATAAACTTGTGCTAGTTGGACCT。取PCR产物5 μL用限制性内切酶MvaI 1.5 U(加拿大MB公司)进行酶切, 取2 μL酶切产物作为模板, 用0.5 μmol引物Pr2和Pr3(TAATATGTCGACTAAAACAAGATTTACCTC)进行第2次PCR扩增。再用MvaI对第2次PCR产物进行酶切, 酶切后DNA片段在30 g/L琼脂糖凝胶中进行电泳分析, 80V电压1 h, 用Pun-pan1细胞株DNA做阳性对照, SW1990细胞株做阴性对照, 电泳结果在紫外线透射仪下观察, 每个样本至少重复检测2遍。血清突变型p53基因蛋白含量检测采用ELISA法检测, 所用突变p53基因蛋白检测试剂盒为Oncogene公司产品, 检测操作严格按照试剂盒说明进行。以上两项指标均治疗前后各检测1次。

**统计学处理** 采用SPSS软件进行统计分析, 治疗前后外周血K-ras基因突变率比较用 $\chi^2$ 检验, 治疗前后血清突变型p53基因蛋白含量比较用 $t$ 检验。

## 2 结果

治疗组30例治疗前取外周血检测K-ras基因突变, 阳性16例, 阴性14例, 治疗后重新检测结果阳性8例, 阴

性22例,经 $\chi^2$ 检验治疗前后差异有显著意义( $P<0.05$ ).对照组15例治疗前K-ras基因突变阳性者7例,阴性8例,治疗后检测阳性者8例,阴性7例,经 $\chi^2$ 检验治疗前后差异无显著意义;治疗组血清突变型p53基因蛋白含量,治疗前为 $0.89 \pm 0.21$  ng/L,治疗后为 $0.82 \pm 0.24$  ng/L,治疗后较治疗前显著下降( $t=2.34$ ,  $P<0.05$ ).对照组血清突变型p53基因蛋白含量治疗前( $0.87 \pm 0.23$  ng/L)后( $0.88 \pm 0.27$  ng/L)差异无显著意义.

### 3 讨论

祖国医学认为,大肠癌发病的内因是脾虚,在大肠癌本虚标实的病理机制中,脾虚是根本环节,脾虚是大肠癌复发和转移的病理基础.卢振霞 *et al*<sup>[5]</sup>研究发现,大肠癌组织中K-ras、p53基因突变者,易发生淋巴结转移,表明K-ras、p53基因突变直接或间接促进了大肠癌的进一步发展及转移.我们检测中晚期大肠癌脾

虚证患者,发现存在K-ras、p53基因突变现象,而经中药健脾康复方治疗1疗程后,外周血K-ras基因突变率下降,血清突变型p53基因蛋白含量亦明显降低.说明K-ras、p53基因突变可能是大肠癌脾虚证的证候特征之一,抑制K-ras、p53基因突变可能是中药健脾康复方对大肠癌脾虚证治疗作用的分子机制.

### 4 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.河南中医药学刊 2002;17:22-23
- 2 中国抗癌协会.新编常见恶性肿瘤诊治规范大肠癌分册.北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1999:23
- 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) 1997:78
- 4 Mulcahy HE, Lyautey J, Lederrey C, qi Chen X, Anker P, Alstead EM, Ballinger A, Farthing MJ, Stroun M. A prospective study of K-ras mutations in the plasma of pancreatic cancer patients. *Clin Cancer Res* 1998;4:271-275
- 5 卢振霞,孙延霞,侯治富,张秀梅. p53和K-ras基因突变在大肠癌发病中的作用.吉林大学学报(医学版) 2002;28:392-394

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 临床经验 •

## 体外胃电起搏反馈治疗小儿胃食管反流实验与临床研究

李旭,李心元,荣道健

李旭,李心元,荣道健,中国医科大学第二临床学院小儿外科  
辽宁省沈阳市 110004

项目负责人:李心元,110004,辽宁省沈阳市,中国医科大学第二临床学院小儿外科. yy\_11@sina.com

电话:024-83956508

收稿日期:2004-07-31 接受日期:2004-08-25

### 摘要

目的:探讨小儿胃食管反流的病因,体外胃电起搏反馈治疗的临床疗效.

方法:通过兔胃排空障碍动物模型及42例胃食管反流患儿进行体外胃电起搏反馈治疗,选择胃电图参数及胃排空率变化为指标,观察治疗效果.

结果:确定胃食管反流患儿的主要病因是胃排空障碍,蠕动节律紊乱,胃幽门窦十二指肠蠕动不协调;胃电起搏反馈治疗后患儿临床症状明显改善,胃排空增快,胃排空率增加( $78.8 \pm 6.2\%$ ,  $P<0.05$ ),半排时间缩短( $54.2 \pm 9.3$  min,  $P<0.05$ ),胃生物电节律趋于正常(餐前  $75.4 \pm 18.7$  次/min,餐后  $81.5 \pm 17.7$  次/min),治疗后患儿餐前、餐后的主功率分别较治疗前明显增

加( $2197 \pm 2233$ ,  $2448 \pm 2136$ ,  $P<0.05$ );兔动物模型起搏治疗后胃排空率增加( $70.1 \pm 6.2\%$ ,  $P<0.05$ ),半排时间缩短( $105.2 \pm 16.3$  min,  $P<0.05$ ).

结论:胃电起搏可使胃节律紊乱正常化,促进胃排空,恢复胃幽门窦十二指肠的协调蠕动,是治疗小儿胃食管反流的有效方法.

李旭,李心元,荣道健.体外胃电起搏反馈治疗小儿胃食管反流实验与临床研究.世界华人消化杂志 2004;12(11):2765-2767

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/2765.asp>

### 0 引言

小儿生理性胃食管反流(gastroesophageal reflux, GER)虽然部分患儿可以自愈,但多数病程长而演变成病理性反流造成频繁呕吐,吸入性肺炎,严重者导致患儿发育延迟,甚至窒息猝死等.临床上对本病治疗多采用药物、体位、饮食等保守疗法,效果不好,是国内外研究的前沿课题.我们已通过猪仔<sup>[1]</sup>动物模型实验及临床病例观察<sup>[2]</sup>,认为胃排空障碍、蠕动节律紊乱、胃幽门窦