

“通莲汤”联合微波热疗与单纯微波热疗对食管癌患者血清 p53 和癌组织 survivin 表达影响的对比研究

陈树山¹ 贾永森² 田福玲² 闫昕² 曹慧娟² 秦丽娟³ 王召龙¹ 何龙¹

(1.唐山市中医医院,河北唐山 063000;2.河北联合大学中医学院,河北唐山 063000;

3.河北联合大学基础医学院,河北唐山 063000)

摘要 目的:比较通莲汤联合微波热疗与单纯微波热疗对食管癌患者血清肿瘤抑制蛋白 p53(简称 p53)和活体癌组织生存素(survivin)影响的差异。方法:取 38 例局部中晚期食管癌患者血清,随机分为对照组(17 例)和观察组(21 例)。2 组均行微波热疗,观察组加服中药通莲汤。应用酶联免疫吸附法(ELISA)检测患者治疗前后血清 p53;应用免疫组化两步法检测患者活体癌组织 survivin 蛋白。结果:对照组 p53 阳性患者 7 例,观察组 4 例,组间比较差异显著;观察组活体癌组织 survivin 蛋白阳性表达率显著低于对照组。结论:通莲汤联合微波热疗能显著抑制食管癌患者血清 p53 和活体癌组织 survivin 蛋白表达,效果优于单纯微波热疗。

关键词 食管癌 微波热疗 通莲汤 p53 survivin

中图分类号 R735.1

文献标识码 A

文章编号 1672-397X(2014)03-0034-02

我国属于食管癌高发国家,发病人数、患病率、死亡率均位居世界首位^[1]。笔者应用微波热疗联合自拟“通莲汤”治疗老年中晚期食管癌,取得良好的疗效^[2]。研究表明,肿瘤组织抑制蛋白 p53(简称 p53)和生存素(survivin)的过度表达可抑制食管癌细胞凋亡,促进癌细胞生长^[3],是预测该病进展的重要指标。本研究进一步观察了通莲汤配合微波热疗与单纯微波热疗对食管癌患者血清 p53 和活体癌组织 survivin 表达影响的差异。

1 临床资料

选取笔者所在医院 2010 年 8 月~2012 年 8 月确诊为食管癌的患者 38 例。纳入标准:符合食管癌临床诊断标准或病理诊断依据;临床病历资料完整;放、化疗失败复发转移者或年龄大、体质弱不能耐受放、化疗;无热疗禁忌证。38 例患者随机分为对照组(17 例)和观察组(21 例)。观察组:男 14 例,女 7 例;TNM 分期 I 期和 II 期 6 例,III 期 IV 15 例;分化程度高 3 例,中 4 例,低 14 例。对照组:男 10 例,女 7 例;TNM 分期 I 期和 II 期 5 例,III 期 IV 12 例;分化程度高 3 例,中 3 例,低 11 例。2 组基线资料比较,无显著性差异($P>0.05$)。

2 治疗方法

2.1 对照组 采用微波热疗^[2]。每次热疗时间 90min,

每次间隔>72h,4 次为 1 个疗程。

2.2 观察组 微波热疗同对照组。加服活血化瘀、凉血解毒中药通莲汤。药物组成:白花蛇舌草 15g,桃仁 15g,红花 8g,升麻 15g,槟榔 8g,半枝莲 15g。水煎服,每日 1 剂,分 2 次服。自热疗开始至结束后 1 个月。

3 疗效观察

3.1 观察指标 比较 2 组治疗后血清 p53 抗体和癌组织 survivin 蛋白表达。

3.1.1 标本采集 血清标本:38 例食管癌患者抽取空腹静脉血 5mL,以 3000r/min 离心 5min,分离血清后置-20℃保存。活体癌组织标本:采用拉网细胞学方法,使用外置网套的橡胶气囊通过食管,病变组织被网套刮下涂片。

3.1.2 试剂及设备 MTC-3D 微波热疗机(南京启亚医疗设备有限公司),酶标仪(NOVAPATH-450,Bio-Tek 公司),抗突变型 p53 酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(美国 CST 公司),survivin 兔抗人多克隆抗体(美国 CST 公司)。

3.1.3 检测方法 应用 ELISA 检测血清 p53 抗体。使用抗 p53 试剂盒,操作按说明书进行,用酶标仪(波长为 450nm)测定吸光值。根据标准曲线和公式计算血清 p53 抗体的半定量值(kU/L),参考值:血清

基金项目:河北省中医药管理局科研计划项目(2013236);唐山市科学技术研究与发展计划项目(121302115a)

p53 抗体<0.85kU/L 为阴性,0.85~1.15kU/L 为可疑阳性,>1.15kU/L 为阳性。

采用 En Vision 两步法进行免疫组化染色,分析患者癌组织 survivin 蛋白表达。步骤按说明书进行,所有切片均在同一光强度,同一放大倍数下进行图像分析,染色阳性物质呈棕黄色颗粒状。随机计数 10 个视野,记录每个视野的阳性表达率(阳性细胞数/全视野细胞数),取其均数作为每例样本阳性表达率的评定依据。所占比率为 0~5%为阴性(-),5%~25%为弱阳性(+),25%~50%为中度阳性(++),50%以上为强阳性(+++)。

3.2 统计学方法 使用 SPSS18.0 软件进行统计学分析,计数资料采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3.3 治疗结果

3.3.1 治疗前后 2 组患者血清 p53 抗体的检测 治疗前 2 组患者血清 p53 阳性率比较无显著性差异($P>0.05$)。治疗后观察组较之对照组 p53 阳性病例数显著减少,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 观察组与对照组患者治疗前后血清 p53 抗体表达比较($v=1$)

组别	例数	治疗前		治疗后	
		阳性	阴性	阳性	阴性
观察组	21	13	8	4	17
对照组	17	11	6	9	8
χ^2 值		0.032		4.795	
P 值		0.859		0.029	

3.3.2 治疗后 2 组患者活体癌组织 survivin 蛋白表达 见表 2。

表 2 观察组与对照组活体癌组织 survivin 蛋白阳性细胞表达率($v=1$)

组别	例数	阴性(-)	阳性			阳性率(%)
			+	++	+++	
观察组	21	7	5	4	5	66.7*
对照组	17	1	4	4	8	94.1

注:与对照组比较,* $P<0.05$ 。

4 讨论

食管癌属中医学“噎膈”范畴,系由于饮食不节,情志失调,正气内虚所致,由此产生气滞痰凝、热毒蕴结、血瘀不化。通莲汤活血祛瘀,清热解毒,破气导滞,升清降浊,胃气乃通,获得国家发明专利^[4]。肿瘤微波热疗是近三十年来迅速发展的一门交叉学科,是加热灭活癌细胞的有效治疗新方法,可以直接杀伤肿瘤细胞,诱导肿瘤细胞凋亡,抑制肿瘤血管生成,提高机体免疫功能^[5]。笔者将两者结合用于临床食管癌患者,观察了该

治疗方案对患者血清 p53 和活体癌组织 survivin 的影响。

研究发现大多数恶性肿瘤患者的血清中均检测到 p53 抗体。王晖等^[6]研究表明,食管癌患者血清抗 p53 抗体的阳性率明显高于正常人,所以认为检测血清中的 p53 抗体可以作为食管癌辅助诊断的指标。survivin 基因是近年来发现的一种新的抗凋亡因子,是凋亡蛋白抑制因子的家族成员,可对抗 G2/M 期诱导的凋亡,在癌组织中过表达可克服凋亡检测点,由于 survivin 基因对凋亡的抑制,细胞得以异常增殖及恶性转化,造成肿瘤发生发展。有研究显示,食管癌组织中的 survivin 和 p53 具有相似表达趋势^[7],该研究为 survivin 和 p53 作为联合靶点治疗食管癌提供了理论依据。

本研究观察到食管癌患者经通莲汤联合微波热疗后 p53 阳性率较之单纯微波热疗组显著降低,表明检测食管癌患者血清 p53 抗体对食管癌的治疗效果评价有一定参考价值。本研究通过拉网细胞学法提取到活体癌组织,经免疫组化法检测出 survivin 基因在中药联合热疗治疗后,阳性率显著下降,较之单纯热疗组具有显著性差异。

5 参考文献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69
- [2] 陈树山, 贾永森, 秦丽娟, 等. 通莲汤联合微波热疗治疗老年中晚期食管癌. 长春中医药大学学报, 2013, 29(4): 585
- [3] Chang E, Donahue J, Smith A, et al. Loss of p53, rather than beta-catenin overexpression, induces survivin-mediated resistance to apoptosis in an esophageal cancer cell line. J Thorac Cardiovasc Surg, 2010, 140(1): 225
- [4] 贾永森, 马会霞, 王志文, 等. 治疗食管癌的活血行气中药制剂及其制备方法. 中国: ZL201110308544.0, 2013 年 4 月 10 日
- [5] 张文征, 张翠莲, 陈信义. 微波热疗治疗肿瘤的临床应用体会. 中国医药指南, 2012, 10(21): 70
- [6] 王晖, 王胜. 食管癌患者 p53 表达的临床意义. 中国现代医生, 2012, 50(20): 136
- [7] 赵文鹏, 路平, 苗战会, 等. p53、survivin 在食管癌中的作用. 现代生物医学进展, 2010, 10(6): 1140

第一作者: 陈树山(1968-), 男, 本科学历, 主治医师, 从事外科临床研究。

通讯作者: 贾永森, jysen@163.com

收稿日期: 2013-12-05

编辑: 韦 杭 吴 宁