

· 临床 ·

养正消积胶囊对胃癌组织 PCNA, p53 蛋白, VEGF 表达的影响

崔兴俊*, 洪艳艳, 毕学杰, 陈江红
(河北以岭医院肿瘤科, 石家庄 050091)

[摘要] **目的:**探讨养正消积胶囊对胃癌组织增殖细胞核抗原(PCNA), p53 蛋白, 血管内皮生长因子(VEGF)表达的影响。**方法:**治疗组运用养正消积胶囊联合化疗, 对照组单纯化疗, 用药 6 个月, 治疗前后均以免疫组化 S-P 法进行 PCNA, p53 蛋白, VEGF 的检测。**结果:**两组 PCNA, p53, VEGF 的表达均明显降低 ($P < 0.01$), 治疗后治疗组 PCNA, p53, VEGF 分别为 $(33.16 \pm 12.6)\%$, $(41.35 \pm 11.4)\%$, $(42.16 \pm 13.61)\%$, 对照组 PCNA, p53, VEGF 分别为 $(63.20 \pm 15.3)\%$, $(59.15 \pm 11.9)\%$, $(63.19 \pm 12.47)\%$, 两组相比有统计学差异 ($P < 0.01$), 治疗组改善优于对照组。**结论:**养正消积胶囊能明显抑制 PCNA, p53 蛋白, VEGF 表达, 进一步阻止逆转胃黏膜上皮的恶性表型, 起到抗癌作用。

[关键词] 养正消积胶囊; 胃癌; PCNA; p53 蛋白; VEGF

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)22-0304-03

Influence of Yangzheng Xiaoji Capsule on Expressions of PCNA, P53 and VEGF in Gastric Cancer

CUI Xing-jun*, HONG Yan-yan, BI Xue-jie, CHEN Jiang-hong
(Oncology Department, Hebei Yiling Hospital, Shijiazhuang 050091, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence of Yangzheng Xiaoji capsule (YXC) on expressions of Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA), P53 protein and vascular endothelial growth factor (VEGF) in gastric cancer tissue. **Method:** Treatment group was treated by YXC combined with chemotherapy for 6 months. The control group was simply treated by chemotherapy for 6 months. The expressions of PCNA, p53 protein and VEGF were determined by s-p dying, and the data were analyzed by statistics. **Result:** The expressions of PCNA, P53 Protein and VEGF in the treatment group were lowered compared with those in the controls. They were $(33.16 \pm 12.6)\%$, $(41.35 \pm 11.4)\%$, $(42.16 \pm 13.61)\%$ in the treatment group, compared with $(63.20 \pm 15.3)\%$, $(59.15 \pm 11.9)\%$, $(63.19 \pm 12.47)\%$ in the controls ($P < 0.01$). **Conclusion:** YXC inhibits expressions of PCNA, P53 protein and VEGF effectively, and so restrains the malignant appearance of stomach mucosal.

[Key words] Yangzheng Xiaoji capsule; gastric cancer; PCNA; p53 protein; VEGF

养正消积胶囊是国药准字号(Z20040095)抗癌新药, 主要由黄芪, 女贞子、人参、灵芝、莪术、绞股

蓝、炒白术、白花蛇舌草、茯苓、半枝莲、土鳖虫、鸡内金、蛇莓、白英、茵陈蒿、徐长卿等组成, 首先引入“络息成积”的络病肿瘤病机新概念, 扶正与祛邪并用, 标本兼顾, 临床用于恶性肿瘤及放化疗患者, 取得了较好疗效^[1-2]。本研究从分子生物学水平观察了养正消积胶囊的抗癌作用, 免疫组化法检测胃癌患者癌组织增殖细胞核抗原(PCNA), p53 蛋白及血管细胞内皮因子(VEGF)的表达, 以揭示其作用机制。

[收稿日期] 20120515(356)

[基金项目] 河北省中医药管理局中医药、中西医结合科研计划项目(2008067)

[通讯作者] * 崔兴俊, 硕士, 副主任中医师, 从事中西医结合治疗肿瘤研究, Tel: 15133163196, E-mail: cxjun20080512@163.com

1 资料与方法

1.1 一般资料 进展期胃癌患者共 106 例,均有电子胃镜及病理学检查明确诊断,诊断标准参照胃癌协作组制定的胃癌诊断标准^[3],年龄 51~65 周岁,治疗组 55 例,其中男 39 例,女 16 例,男女比 2.44:1;年龄 51~63 岁,中位年龄 59 岁;腺癌 39 例,黏液腺癌 16 例;按国际 TNM 分期,Ⅱ期 6 例,Ⅲ期 40 例,Ⅳ期 9 例。对照组 51 例,其中男 36 例,女 15 例,男女比 2.40:1;年龄 54~63 岁,中位年龄 61 岁;腺癌 39 例,黏液腺癌 12 例;按国际 TNM 分期,Ⅱ期 4 例,Ⅲ期 43 例,Ⅳ期 4 例。两组患者性别、年龄、病理类型及转移情况经统计学分析无显著性差异,具有可比性。

1.2 纳入标准 ①经胃镜及细胞学检查,符合上述诊断标准的胃癌患者;②年龄 18~65 周岁, Karnofsky 评分 ≥ 60 分,预计生存期 > 6 个月;③无化疗禁忌症,适合本治疗方法的胃癌患者;④符合伦理学标准,授试者知情同意并签署相关文件。

1.3 排除标准 ①妊娠或准备妊娠的妇女、哺乳期妇女;②合并有心血管、肝、肾和造血系统等严重原发疾病、精神病患者;③伴有其他恶性肿瘤的患者。

1.4 治疗方法 治疗组口服养正消积胶囊(4 粒, tid),同时联合化疗:奥沙利铂 $130 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ 入 5% 葡萄糖液 250 mL iv, gtt, 2~6 h, d_1 ; 亚叶酸钙 0.2 g 入 0.9% 氯化钠液 250 mL iv, gtt, d_{1-5} , 5-氟脲嘧啶 $400 \text{ mg} \cdot \text{m}^{-2}$ 入 0.9% 氯化钠液 250 mL iv, gtt, d_{1-5} 。4 周为 1 个周期,连用 6 个周期。对照组单纯予化疗,化疗方案同对照组。

1.5 观察指标 两组患者均于治疗前、后 1 周内行电子胃镜检查,钳取病变组织,经我院病理科,采用免疫组化技术 S-P 法(试剂盒由北京中杉生物技术有限公司提供),在光学显微镜下观察组织切片 PCNA, p53 蛋白, VEGF 的表达,以棕黄色颗粒状染色为阳性细胞,PCNA 与 p53 蛋白主要定位在细胞核内,VEGF 主要定位于胞浆内,先以低倍镜选择均匀清晰的 5 个视野,再换用高倍镜,计数每个视野癌

细胞总数与阳性细胞数,取其平均值,以百分比计算细胞阳性率。

1.6 统计学方法 采用 SARS 软件进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内自身前后比较采用配对 t 检验,组间比较采用成组资料 t 检验, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

两组治疗前后 PCNA, p53 蛋白, VEGF 的表达比较 患者治疗前 3 项指标均呈强阳性表达,表达相当,两组无统计学差异;治疗后,两组 3 项指标的表达均有明显减弱 ($P < 0.01$),治疗组改善明显优于对照组 ($P < 0.01$),表明养正消积胶囊能够有效抑制胃癌患者癌组织 PCNA, p53 蛋白, VEGF 的阳性表达,进而阻止、逆转胃黏膜上皮细胞的恶性表型,有效抑制肿瘤细胞的形成以及诱导肿瘤细胞的凋亡。见表 1。

3 讨论

增殖细胞核抗原(PCNA)是存在于细胞核内的 DNA 聚合酶 δ 的辅助蛋白,在细胞周期的 S 期明显增多, G_2 -M 期迅速减少^[4], 其与 DNA 的复制及肿瘤细胞的增殖密切相关。PCNA 可作为细胞周期的内源性组织标记物,其表达程度与细胞增殖周期关系密切,因此可作为评价细胞增殖活性的指标之一^[5]。p53 基因是目前公认的抑癌基因,其主要生物学功能是引起细胞周期阻滞,阻滞细胞从 G_1 期进入 S 期,同时诱导细胞凋亡和促进分化^[6-8], 监视细胞 DNA 的完整性。当 p53 基因发生缺失或突变时则具有致癌活性,失去了对细胞的监视作用,带着损伤的 DNA 进入 S 期,突变型 p53 基因不仅丧失了抑癌功能,反而具有促进恶性转化的功能,能促进癌细胞生长,而且能明显增强肿瘤细胞的侵袭能力,促进肿瘤的转移^[9]。PCNA 与 p53 蛋白侧重于不同方面反映了肿瘤细胞的恶性状态,因此二者联合检测对评估胃癌的发生发展及预后具有重要意义。

肿瘤的发生、发展及其侵袭转移是一个多因素、多阶段的复杂过程,而血管生成是其重要的前提条

表 1 两组治疗前后胃癌组织中 PCNA, p53 蛋白, VEGF 的表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	时间	PCNA	p53	VEGF
治疗	55	治疗前	76.35 \pm 17.3	69.11 \pm 13.2	82.27 \pm 16.11
		治疗后	33.16 \pm 12.6 ^{1,2)}	41.35 \pm 11.4 ^{1,2)}	42.16 \pm 13.61 ^{1,2)}
对照	51	治疗前	75.36 \pm 17.9	73.18 \pm 14.1	81.34 \pm 14.69
		治疗后	63.20 \pm 15.3 ¹⁾	59.15 \pm 11.9 ¹⁾	63.19 \pm 12.47 ¹⁾

注:与组内治疗前比较¹⁾ $P < 0.01$;与对照组治疗后比较²⁾ $P < 0.01$ 。

件之一,VEGF 是新生血管形成的中心调控因子,其主要功能包括:①促进血管内皮细胞增殖和新血管的形成;②增加血管通透性;③促进淋巴内皮细胞生长。因此在胃癌的发生发展过程中,VEGF 不仅有利于血管形成,还有利于癌细胞侵入血管或向邻近基质扩散,促进肿瘤浸润转移;诸多研究显示,VEGF 表达与肿瘤大小、微血管密度(MVD)、胃癌浆膜浸润、国际通用肿瘤分期(TNM 分期)、淋巴转移、远处转移、恶性程度等呈高度正相关^[10-11]。

近年来,胃癌的中医中药研究颇多,其病理因素不外乎气滞、血瘀、痰阻、湿浊、热毒、脾虚等,养正消积胶囊首次运用络病学说探讨论治恶性肿瘤中医病理机制,主要包括:络气郁滞、络脉瘀阻、络脉绌急、络脉瘀塞、络息成积,制定出“健脾补肾、散结通络、解毒抗癌”治疗大法,标本兼治,使脾肾健旺、瘀祛痰消、热清毒化、络通积除,突破了以往“活血化瘀、软坚散结”的传统治疗观点。本研究表明,养正消积胶囊能够有效抑制恶性细胞的增殖,抑制 P53 基因的突变,以及抑制新生血管生成、抑制内皮细胞的分化与迁移,从而减少肿瘤的增殖、浸润和转移,达到治疗肿瘤的目的。同时养正消积胶囊能够明显提高 CD3、CD4、CD4/CD8 阳性百分率,增强 NK 细胞的活性,提高机体免疫力^[2],进一步证实了养正消积胶囊扶正抗癌的功用,从而开辟了从络病论治肿瘤的有效新途径。

[参考文献]

[1] 张水燕,谷春华.养正消积胶囊辅助介入化疗治疗原发性肝癌的随机双盲多中心临床研究[J]. 疑难病杂志,2009,8(8):461.
[2] 崔兴俊,马文龙.养正消积胶囊对进展期胃癌化疗患者细胞免疫功能的影响[J]. 疑难病杂志,2011,10(9):703.
[3] 陈庚延,薛赛琴.最新国内外科疾病诊疗标准[S].

北京:学苑出版社,1992:1194.

[4] Celis J E, Celis A. Cell cycle-dependent variations in the distribution of the nuclear protein cyclin proliferating cell nuclear antigen in cultured cells: subdivision of S phase [J]. Proc Natl Acad Sci U S A. 1985, 82(10):3262.
[5] Hsieh T C, Burfeind P, Laud K, et al. Cell cycle effects and control of gene expression by resveratrol in human breast carcinoma cell lines with different metastatic potentials [J]. Int J Oncol, 1999, 15(2):245.
[6] Bronner M P, Culin C, Reed J C, et al. The bcl-2 proto-oncogene and the gastrointestinal epithelial tumor progression model [J]. Am J Pathol, 1995, 146(1):20.
[7] Lauwers G Y, Scott G V, Karpeh M S. Immunohistochemical evaluation of bcl-2 protein expression in gastric adenocarcinomas [J]. Cancer, 1995,75(9):2209.
[8] Maehara Y, Tomoda M, Hasuda S, et al. Prognostic value of p53 protein expression for patients with gastric cancer—a multivariate analysis [J]. Br J Cancer, 1999,79(7/8):1255.
[9] 王波,杨志宏,殷新光,等. P53 蛋白、PCNA 在胃癌中表达及其生物学行为关系的研究[J]. 实用肿瘤学杂志,2003,17(4):274.
[10] 李盛安,熊枝繁.胃癌组织中 COX-2、VEGF 的表达及临床意义[J]. 胃肠病学与肝病学杂志,2007,16(2):139.
[11] Nakanishi S, Yamane K, Kamei N, et al. The effect of polymorphism in the intestinal fatty acid-binding protein 2 gene on fat metabolism is associated with gender and obesity amongst non-diabetic Japanese-Americans [J]. Diabetes Obes Metab,2004,6(1):45.

[责任编辑 何伟]