

临床研究

仁术健胃颗粒对慢性萎缩性胃炎癌前病变患者胃癌相关基因的影响

陆为民¹ 沈洪¹ 孙志广¹ 李春婷¹ 吴静¹ 朱云华²
朱长乐² 原田直彦³ 伊藤健一³ 单兆伟¹

摘要 目的:探讨仁术健胃颗粒对慢性萎缩性胃炎(CAG)癌前病变的治疗作用及机理。方法:190例CAG癌前病变患者随机分为两组,治疗组(128例)给予仁术健胃颗粒口服,对照组(62例)给予胃复春片口服,疗程均为6个月。观察两组患者临床疗效、内镜、病理疗效及治疗前后p⁵³、Bcl-2表达积分值的变化。结果:治疗组临床总有效率为91.4%,胃镜总有效率70.3%,对胃黏膜萎缩、肠化、异型增生的总有效率分别为64.1%、66.4%、67.9%,并能降低其病理积分值。免疫组化结果显示,仁术健胃颗粒能显著抑制p⁵³、Bcl-2的表达($P<0.05$)。结论:仁术健胃颗粒对CAG癌前病变的临床症状、胃镜征象、病理变化有显著改善作用,其机理可能与抑制癌基因的激活和抑癌基因的失活,促进胃癌前细胞凋亡有关。

主题词 胃炎,萎缩性/中医药疗法 癌前状态/中医药疗法 @ 仁术健胃颗粒剂

Effects of Renzhu Jianwei Granule on p⁵³ and Bcl-2 in the Patient of Chronic Atrophic Gastritis Precancerous Lesion

Lu Weimin, Shen Hong, Sun Zhiguang, et al.

(Department of Gastroenterology, Jiangsu Provincial Hospital of TCM, Nanjing 210029)

Objective: To explore the therapeutic effect and mechanism of Renzhu Jianwei Granule (RZJWG) in treating chronic atrophic gastritis (CAG) precancerous lesion. **Methods:** One hundred and ninety cases of CAG precancerous lesion were randomly divided into two groups. The treatment group (n=128) were treated with oral administration of RSJWG and the control group (n=62) with oral administration of Weifuchun Tablet (WFCT), for 6 months. The clinical effect, gastroscopic and pathological effects, and scores for p⁵³ and Bcl-2 expression were observed before and after treatment in both groups. **Results:** The total effective rate was 91.4% and the effective rate for gastroscopy was 70.3%; The effective rate for gastric mucosa atrophy, intestinal metaplasia, dysplasia was 64.1%, 66.4% and 67.9%, respectively, and the pathological scores were significantly lowered after treatment in the treatment group. Immunohistochemical analysis showed that RZJWG could significantly inhibit the expression of p⁵³ and Bcl-2 with significant differences ($P<0.05$). **Conclusion:** RZJWG can significantly improve the clinical symptoms, gastroscopic and pathological changes in CAG precancerous lesion. The mechanism is possibly related with inhibition of activation of oncogene and inactivation of suppressor gene to promote apoptosis of precancerous cells.

Key Words Gastritis, atrophic/TCM therapy; Precancerous state/TCM therapy; @ Renzhu Jianwei Granule

慢性萎缩性胃炎(CAG)伴肠上皮化生(IM)和异型增生(Dys)是胃癌的癌前病变^[1]。本研究观察了仁术健胃颗粒对CAG癌前病变的临床疗效及其对胃黏膜组织p⁵³、Bcl-2的影响,并探讨其可能的治疗机理。

1 临床资料

1.1 诊断标准:根据1982年10月重庆全国胃炎诊治座谈会制定的《慢性胃炎的分类及纤维胃镜诊断标准及萎缩性胃炎的病理诊断标准》(试行方案)^[2]及1989年11月中国中西医结合研究会消化系统疾病专业委

员会南昌会议制定的《慢性胃炎中西医结合诊断、辨证和疗效标准》(试行方案)^[3]。

1.2 排除标准:(1)病理诊断疑有癌变及有外科情况者;(2)合并有心、脑、肝、肾、造血等系统严重疾病及精神病患者;(3)妊娠或哺乳期妇女;(4)年龄在18岁以下、65岁以上者;(5)未按规定用药,或中断治疗,无法判定疗效者。

1.3 一般资料:所选病例均系1996~2001年江苏省中医院消化科门诊及住院患者,符合CAG伴IM和(或)Dys气虚血瘀证诊断标准,共190例,随机分为治疗组128例和对照组62例。治疗组男性67例,女61例,年龄26~65岁,平均(48.9±11.3)岁;病程0.3~36年,平均(13.5±9.7)年;伴IM 119例,Dys 56例。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39770919)

1 江苏省中医院消化科,南京市汉中155号(210029)

2 江苏省中医院病理科 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3 日本九州大学

收稿日期:2005-08-25;修回日期:2005-12-31

对照组男性 33 例, 女性 29 例; 年龄 30~64 岁, 平均 (47.5±13.5) 岁; 病程 0.5~34 年, 平均 (11.6±8.8) 年; 伴 IM 57 例, Dys 29 例。两组患者性别、年龄和病程均具有可比性。

2 治疗及观察方法

2.1 治疗方法: 治疗组服用仁术健胃颗粒(药物组成: 黄芪 15g, 白术 10g, 薏苡仁 15g, 莪术 10g, 黄芩 10g 等, 由江苏省中医院制药厂生产, 每包 10g), 每次 1 包, 每日 3 次。对照组服用胃复春片(胡庆余堂制药厂生产), 每次 4 片, 每日 3 次。两组均以 3 个月为 1 个疗程, 共服药 2 个疗程。治疗期间停药一切影响本试验的药物。

2.2 观察指标及方法: 胃镜征象按 CAG 胃镜下诊断标准, 主要观察胃黏膜颜色改变、血管透见、病变范围等; 以胃窦、胃体大小弯分别计分^[4], 并结合临床实际, 根据悉尼系统胃炎分类法^[5]内镜部分对充血、水肿、糜烂、黏膜白相、颗粒增生、血管透见、胆汁反流等做详细记录, 观察用药前后的变化情况。常规病理诊断参照 1982 年全国胃癌防治研究协作组病理组制定的标准^[6], 将胃黏膜萎缩、肠上皮化生、异型增生按轻、中、重分别计为 1、2、3 分。各部位组织得分之和为各项目总积分。免疫组化病理采用 S-P 法, 鼠抗 p53(D0-7)、Bcl-2 抗体及 S-P 试剂盒均为美国 Maxin Biotech 公司产品。所有切片经常规脱蜡、水化后, 用 3% 过氧化氢去除内源性酶, 0.4% 胃蛋白酶消化。DAB 显色, 苏木素衬染, 用 PBS 液代替第一抗体作阴性对照, 用已知的阳性标本切片作阳性对照。p53 蛋白棕色颗粒位于胞核内, Bcl-2 癌基因蛋白以腺上皮细胞核膜、胞浆出现棕色颗粒为阳性, 根据染色强度及阳性细胞数分为阴性(-)、弱阳性(+)、中等度阳性(++) 和强阳性(+++), 并分别计 0、1、2、3 分。其中治疗组检测了 45 例患者, 对照组检测了 30 例患者。

2.3 统计学方法: 病理积分比较采用 *t* 检验, 两组改善率的比较采用 χ^2 检验。

3 治疗结果

3.1 疗效评定标准: 参考《中药新药治疗萎缩性胃炎的临床研究指导原则》^[7] 及 1989 年 11 月中国中西医结合研究会消化系统疾病专业委员会南昌会议制定的《慢性胃炎中西医结合诊断、辨证和疗效标准》(试行方案)^[3] 制定。(1) 治愈: 临床症状消失或基本消失, 总积分减少 80% 以上; 胃镜复查糜烂、充血等黏膜急性炎症消失, 黏膜颗粒增生或结节状改变基本消失, 慢性炎症好转达轻度; 病理检查腺体萎缩、肠上皮化生、异型增生及炎症复常或消失。(2) 显效: 临床症状明显改善,

总积分减少 60% 以上; 胃镜复查黏膜急性炎症和颗粒增生或结节状改变基本消失, 总积分减少 60% 以上; 病理检查腺体萎缩、肠上皮化生或异型增生有一项消失, 或总积分分别减少 60% 以上。(3) 有效: 临床症状有所改善, 总积分减少 30%~60%; 胃镜复查胃黏膜急性炎症和颗粒增生或结节状改变有所减轻, 总积分减少 20%~60%; 病理检查萎缩或肠上皮化生或异型增生某一项总积分减少。(4) 无效: 未达到有效标准或反加重者。

3.2 两组临床疗效比较: (1) 总体疗效: 治疗组治愈 39 例, 显效 50 例, 有效 28 例, 无效 11 例, 总有效率 91.4%; 对照组治愈 9 例, 显效 15 例, 有效 23 例, 无效 15 例, 总有效率 75.8%; 治疗组治愈和显效共 89 例 (69.5%), 对照组为 24 例 (38.7%), 治疗组显著高于对照组 ($P<0.05$)。(2) 胃镜疗效: 治疗组治愈 32 例, 显效 37 例, 有效 21 例, 无效 38 例, 总有效率 70.3%; 对照组治愈 9 例, 显效 11 例, 有效 13 例, 无效 29 例, 总有效率 53.2%, 治疗组总有效率显著高于对照组 ($P<0.05$)。(3) 病理疗效: 治疗组萎缩治愈 34 例, 显效 37 例, 有效 11 例, 无效 46 例, 总有效率 64.1%; IM 治愈 24 例, 显效 29 例, 有效 26 例, 无效 40 例, 总有效率 66.4%; Dys 治愈 17 例, 显效 11 例, 有效 10 例, 无效 18 例, 总有效率 67.9%。对照组萎缩治愈 10 例, 显效 12 例, 有效 6 例, 无效 34 例, 总有效率 45.2%; IM 治愈 5 例, 显效 9 例, 有效 10 例, 无效 33 例, 总有效率 42.1%; Dys 治愈 1 例, 显效 2 例, 有效 5 例, 无效 21 例, 总有效率 27.6%。两组比较, 治疗组对萎缩、IM、Dys 的疗效显著优于对照组 ($P<0.05$)。

3.3 两组患者治疗前后胃镜征象变化比较: 表 1 示, 两组患者治疗后胃镜征象较治疗前均明显改善, 组间比较, 治疗组对糜烂、黏膜白相和胆汁反流的改善显著优于对照组 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表 1 两组患者治疗前后胃镜征象变化比较 (例)

胃镜征象	治疗组 (128)			对照组 (62)		
	治疗前	治疗后	改善率 (%)	治疗前	治疗后	改善率 (%)
充血	97	11	88.7	48	9	81.3
水肿	81	8	90.1	43	6	86.0
糜烂	72	9	87.5*	45	12	73.3
黏膜白相	116	40	65.5*	57	36	36.8
颗粒增生	93	51	45.2	39	23	41.0
血管透见	85	42	50.6	40	23	42.5
胆汁反流	69	6	91.3**	34	16	52.9

与对照组同项目比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$

3.4 两组患者治疗前后病理积分变化比较: 表 2 示, 两组患者病理积分均较治疗前明显改善 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 但治疗组改善更为显著 ($P<0.05$)。

表 2 两组患者治疗前后病理积分变化比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	时间	萎缩	肠上皮化生	异型增生
治疗组	治疗前	5.0±2.2(128)	3.0±1.5(119)	2.6±1.4(56)
	治疗后	2.4±1.3(128) *△	1.1±0.9(119) **△	0.9±0.8(56) **△
对照组	治疗前	4.9±1.9(62)	2.9±1.6(57)	2.5±1.3(29)
	治疗后	3.4±1.4(62) *	1.9±1.2(57) *	1.7±0.9(29) *

与本组治疗前比较, * $P<0.05$, ** $P<0.01$;与对照组治疗后比较, △ $P<0.05$ 。表中括号内为例数

3.5 两组患者治疗前后 p53、Bcl-2 蛋白表达积分变化比较:表 3 示, 治疗组治疗后 p53、Bcl-2 蛋白表达积分均较治疗前明显下降($P<0.05$), 对照组治疗后 p53 蛋白表达积分亦下降($P<0.05$), 但 Bcl-2 蛋白表达积分无明显改善($P>0.05$)。

表 3 两组患者治疗前后 p53、Bcl-2 蛋白表达积分变化比较(分, $\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	p53	Bcl-2
治疗组	治疗前	45	1.9±0.8	1.6±0.5
	治疗后	45	1.0±0.5 *	0.9±0.5 *
对照组	治疗前	30	1.9±0.7	1.7±0.5
	治疗后	30	1.1±0.7 *	1.6±0.6

与本组治疗前比较, * $P<0.05$

4 讨论

CAG 癌前病变属中医学“胃痞”、“胃脘痛”等范畴。经过多年的临床实践,我们认为脾胃气虚,血瘀热郁是 CAG 癌前病变的病机关键,气虚、血瘀、热郁三者互为因果,恶性循环是导致 CAG→IM→Dys→胃癌多步骤转化的主要环节,治疗当以益气健脾固其本,活血清热祛其标为大法,故在此基础上研制了仁术健胃颗粒。本方以黄芪为君,黄芪味甘微温,禀土之正味,为补中益气之要品;白术苦甘性温,乃“扶植脾胃,消食除痞之要药”(《本草汇言》),薏苡仁味甘淡性微寒,功能健脾利湿,现代药理研究证实其有一定的抗肿瘤作用,与黄芪相伍,可增益气健脾之功;莪术味辛苦性温,功能行气破血消积兼助消化,与黄芪相伍,达益气活血之效;黄芩性味苦寒,能入脾经,“疗胃中热”(《名医别录》),善于祛除胃中湿热蕴滞之邪,以治胃中郁热之证。诸药相合,共奏健脾益气,活血消痞,清热和胃之功。本方补中寓通,补中兼清,扶正而无恋邪之弊,祛邪而无伤正之虑,气血同调,正本清源。

胃癌的发生是多个癌基因激活和抑癌基因失活协同作用的结果,在胃黏膜癌变或促癌变过程中,主要有癌基因 Bcl-2、Ha-ras、C-myc 的激活和抑癌基因 p53 等的失活^[8]。此外,胃癌前病变与细胞凋亡 APO 的关系也日益受到重视,研究表明,突变的 p53 蛋白不能引

起 APO,从而导致体内突变细胞增多,成为生长失控的癌前细胞;而癌基因 Bcl-2 及其相关基因等可阻抑 APO。细胞受这两方面的基因调控,调控基因的失常使 APO 数目减少,从而允许分裂细胞的累积和阻止去除带有恶性潜能基因的改变,增加了肿瘤的发生率^[9]。因此, APO 在细胞的发育、增殖、分化、成熟、死亡等过程中起着重要作用,通过 APO,机体能及时清除过多的、受损的或危险的细胞(如癌前细胞等)。故可将胃癌的发生设想为一个简单的平衡问题,即:上皮细胞的累积率=细胞的增殖率-细胞的死亡率^[10]。当各种原因引起胃黏膜上皮细胞过度累积时,就有可能引起胃癌的发生,因此细胞凋亡的异常是胃癌发生的重要原因之一。

本研究结果显示,在胃黏膜癌前病变中,已经存在 APO 相关基因的改变, Bcl-2 及突变型 p53 蛋白的表达均增高, APO 受到抑制,这可能是胃黏膜癌前病变向胃癌发展的重要机制之一。而仁术健胃颗粒能抑制 Bcl-2、p53 的表达,提示其可能通过抑制癌基因的激活和抑癌基因的失活,促进胃癌前细胞凋亡,阻止胃癌前细胞的无限增殖和累积,从而逆转胃癌前病变,防止其向胃癌发展。此外,现代药理研究结果表明,本方中黄芪、白术、黄芩等可诱导白介素-2、干扰素的产生,促进癌前细胞发生 APO,而黄芪还可刺激机体分泌肾上腺皮质激素,提高机体激素分泌水平,诱导 APO 的发生,有关这方面的机制值得进一步探讨。

参考文献

1 戴自英.实用内科学.第10版,北京:人民卫生出版社,1997:1585.
2 李益农,萧树东,张锦坤.慢性胃炎的诊治问题.中华内科杂志,1983,22(5):261~262.
3 周建中,陈泽民,危北海.慢性胃炎中西医结合诊断、辨证和疗效标准(试行方案).中西医结合杂志,1990,10(5):318~319.
4 戴高中,单兆伟.胃舒合剂治疗萎缩性胃炎癌前病变的临床研究.中国中西医结合脾胃杂志,1994,2(3):8~11.
5 Misiewicz JJ.悉尼系统:新的胃炎分类法.国外医学内科学分册,1991,18(7):289~292.
6 全国胃癌防治研究协作组病理组.胃及十二指肠黏膜活检病理.沈阳:辽宁人民出版社,1981:29.
7 郑筱萸主编.中药新药临床研究指导原则.北京:中国医药科技出版社,2002:128~129.
8 吕有勇.多基因变异与胃黏膜细胞癌变的关系.中华消化杂志,1996,16(1):9~12.
9 皋岚湘,丁华野. Bcl-2 基因与恶性肿瘤.国外医学生理、病理科学与临床分册,1996,16(2):69.
10 Takahashi M, Ota S, Shimada T, et al. Hepatocyte growth factor is the most potent endogenous stimulant of rabbit gastric epithelial cell proliferation and migration in primary culture. J Clin Invest, 1995, 95(5):1994~2003.