

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.11.011

肠复方对晚期大肠癌患者外周血 CK20 mRNA、端粒酶表达的影响

李伟¹, 梁慧^{2*}, 谢胜军¹

(1. 湖南中医药大学研究生院, 湖南省长沙市岳麓区含浦科教园, 410208; 2. 湖南省肿瘤医院)

摘要 目的 观察肠复方治疗晚期大肠癌的临床疗效。方法 选择晚期大肠癌患者 60 例, 随机分为治疗组和对照组各 30 例, 另选择健康体检者 10 人设为正常组。对照组给予对症支持治疗, 治疗组在对照组基础上给予肠复方, 每日 1 剂。两组均治疗并随访 1 年, 计算患者半年及 1 年生存率。采集正常组外周血, 治疗组及对照组治疗前及治疗 2 个月时采集外周血, 采用荧光定量 PCR 检测外周血中细胞角蛋白 20 (CK 20) mRNA 表达, 并采用免疫吸附法检测端粒酶表达量; 治疗 2 个月后通过 CT 检查评估瘤体控制率; 治疗后观察疾病进展时间。结果 治疗 2 个月后治疗组、对照组瘤体控制率分别为 66.67%、26.67%, 治疗组高于对照组 ($P=0.002$)。治疗组及对照组患者外周血 CK20 mRNA、端粒酶表达量显著高于正常组 ($P<0.01$)。治疗组治疗 2 个月外周血 CK20 mRNA、端粒酶表达较治疗前显著降低 ($P<0.01$), 对照组治疗 2 个月外周血 CK20 mRNA、端粒酶表达较治疗前显著升高 ($P<0.01$); 治疗 2 个月治疗组外周血 CK20 mRNA、端粒酶表达显著低于对照组 ($P<0.01$)。治疗组疾病进展时间明显长于对照组 ($P<0.01$)。治疗组 1 年期生存率明显高于对照组 ($P=0.022$)。结论 肠复方治疗晚期大肠癌有效, 能提高瘤体控制率, 延长疾病进展时间, 提高远期生存获益, 并降低患者外周血中端粒酶及 CK20 mRNA 表达。

关键词 晚期肠癌; 肠复方; 外周循环血; CK20mRNA; 端粒酶;

大肠癌 (colorectal cancer, CR) 包括结肠癌和直肠癌, 是常见的恶性肿瘤之一。据《2015 年中国肿瘤登记年报》^[1] 数据显示, 全国恶性肿瘤发病率中大肠癌排第三位。相关报道称, 早期根治手术后的 5 年生存率可高达 90%, 而有转移的患者, 其 5 年的生存率则低于 10%^[2]。研究显示, 中医药在肿瘤的治疗中不仅提高患者生存率、改善生活质量、延长生存时间等, 而且具有增敏放疗与化疗, 减轻毒副作用, 抑制肿瘤生长稳定瘤体等作用^[3]。当前抗肿瘤药物作用机制的研究已从肿瘤组织的变化转变到肿瘤微环境的变化。相关研究显示, 端粒酶及细胞角蛋白 20 (cytokeratin 20, CK 20) mRNA 的异常表达是肿瘤微转移的标志之一^[4-5]。本文从肿瘤患者外周循环血中端粒酶及 CK20 mRNA 的变化、瘤体控制率、疾病进展时间及生存率, 探讨肠复方对晚期大肠癌患者的临床疗效。

基金项目: 湖南省中医药管理局项目 (2012140); 中南大学湘雅临床大数据系统建设项目 (2013003)

* 通讯作者: Lianghui@hnszlyy.com, 13723861287

1 临床资料

1.1 诊断标准

西医诊断标准参照《中国常见恶性肿瘤诊治规范》^[6] 中大肠癌诊断标准, 所有病例均获得组织病理学或细胞学确诊。肿瘤 TNM 分期参照国际分期标准^[7]。

中医辨证标准参照《中药新药临床研究指导原则 (试行)》^[8]、《中医证候诊断治疗学》^[9]、《中医内科学》^[10] 制定。脾虚气滞、湿瘀毒结证, 主症: 神疲倦怠, 肠内肿块, 腹胀痛, 大便结或溏薄, 便血或黑便, 纳呆痞满; 次症: 身困肢乏, 头晕而重, 易汗出, 面色晦暗或暗黄, 口淡不渴, 语声低微, 恶心欲呕, 胃脘痞闷, 纳呆食少, 大便不畅等; 舌淡暗或淡紫, 脉弱或细涩。主症 2 项及次症 1 项加舌脉即可诊断。

1.2 纳入标准

1) 满足上述西医诊断标准及中医辨证标准, 确诊为晚期大肠癌患者; 2) 均经多种 (≥ 2) 化疗方案治疗以后影像学确认病情出现进展; 3) 有

可测量病灶; 4) 无心、肝、肾严重器质性和功能性病变; 5) 年龄 20 ~ 79 岁; 6) 卡氏评分^[4] ≥ 60 分; 7) 预计生存期 3 个月以上; 8) 患者知情同意并签署知情同意书。

1.3 排除标准

1) 出现肠梗阻或不完全性肠梗阻需要紧急处理者; 2) 脑转移或单纯骨转移者; 3) 严重感染者; 4) 胃肠道穿孔倾向患者; 5) 精神病和意识障碍者; 6) 妊娠期及哺乳期妇女。

1.4 一般资料

病例来源于 2014 年 6 月 1 日至 2015 年 6 月 1 日湖南省肿瘤医院的晚期大肠癌患者 60 例, 采用随机数字表法分为治疗组和对照组各 30 例。治疗组中男 18 例, 女 12 例; 年龄 23 ~ 76 岁, 平均 (53.2 $\pm$ 12.5) 岁; 病程 4 ~ 26 个月, 平均 (12.2 $\pm$ 5.4) 个月; 类型: 结肠癌 18 例, 直肠癌 12 例; TNM 分期: 高分化腺癌 8 例, 中分化腺癌 13 例, 低分化腺癌 6 例, 其他 3 例; 转移部位: 肝 10 例, 肺 5 例, 盆腔 3 例, 其他 12 例; 卡氏评分 63 ~ 75 分, 平均 (65.2 $\pm$ 5.79) 分。对照组中男 16 例, 女 14 例; 年龄 29 ~ 79 岁, 平均 (55.9 $\pm$ 11.9) 岁; 病程 5 ~ 23 个月, 平均 (12.3 $\pm$ 5.0) 个月; 类型: 结肠癌 16 例, 直肠癌 14 例; TNM 分期: 高分化腺癌 6 例, 中分化腺癌 14 例, 低分化腺癌 5 例, 其他 5 例; 转移部位: 肝 11 例, 肺 4 例, 盆腔 2 例, 其他 13 例; 卡氏评分 62 ~ 74 分, 平均 (64.2 $\pm$ 4.23) 分。两组患者一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。另选取本单位职工体检正常者 10 例设为正常组, 男 6 例, 女 4 例, 平均年龄 (54.5 $\pm$ 10.9) 岁, 均为体检健康者。肿瘤患者与正常组性别、年龄比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

2 方法

2.1 治疗方法

对照组予以对症支持治疗包括疼痛管理、营养支持及必要时精神心理干预。

治疗组在对照组的基础上加服肠复方, 组成: 党参 30 g, 黄芪 30 g, 白术 15 g, 陈皮 10 g, 半枝莲 30 g, 白花蛇舌草 30 g, 麦芽 15 g, 鸡内金 15 g, 薏苡仁 30 g, 香附 15 g, 郁金 15 g, 莪术 5 g, 土鳖虫 3 条, 壁虎 10 g, 甘草 6 g, 所有药物均为由湖南省肿瘤医院中药房提供, 每日 1 剂, 水煎两次, 早晚温服。两组均治疗并随访 1 年, 随访期内如患者

死亡即中止随访。

2.2 观察指标和方法

治疗前及治疗 2 个月后两组患者空腹抽取外周血用实时荧光定量。空腹抽取健康者外周血。

2.2.1 血液 CK20 荧光定量检测 血液 CK20 总 RNA 提取: 按照 RNA 试剂盒 [北京康为世纪 (CW0582) 公司, 批号: 00081512] 操作; 抽提结束用琼脂糖凝胶 (上海前尘生物科技有限公司, 批号: 142045) 电泳查看 RNA 是否完整。RNA 反转录: 以总 mRNA 为模板, 逆转录 cDNA。转录试剂盒来源北京康为世纪有限公司, 批号: 20122。逆转录产物可直接用于 PCR 反应和荧光定量 PCR 反应, 或置于 -20°C 长期保存备用。

实时荧光定量 PCR, 采用 SYBR 法, 在 NCBI 上搜索目的基因的序列, 运用 primer5 软件设计引物, 由上海生工生物工程有限公司合成引物。引物设计: GAPDH, 上游: CTGCCAACGTGTCAGTG-GTG, 下游: TCAGTGTAGCCCAGGATGCC, 产物长度 124bp; CK20, 上游: CCCGAAACCAGAGCA-CAGACAG; 下游: GCCTCCGGGTCAGCAAGAAT; 产物长度: 156bp。反应体系: 95°C 10min, 95°C 5s, 60°C 30s, 循环数 40。观察在 $60 \sim 95^{\circ}\text{C}$ 分析溶解曲线。均获得目的基因 GAPDH 及 CK20 mRNA 扩增及溶解的满意曲线。CK20 mRNA 的值采用相对值表示, 以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 反映各样品相对于对照组样品目的基因的表达水平 (本实验以正常组或各组患者治疗前为对照样品), $\Delta\text{Ct} = \text{目的} \Delta\text{Ct} - \text{内参} \Delta\text{Ct}$; $-\Delta\Delta\text{Ct} = \text{对照组} \Delta\text{Ct} - \text{各样品} \Delta\text{Ct}$ 。实验重复 3 次。实验结果采用相对定量分析, 用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示, 计算各时点 CK20 mRNA 相对表达量。

2.2.2 免疫吸附法检测血清端粒酶 按照试剂盒 (武汉华美生物工程有限公司, 批号: A27038246) 说明书操作, 在 450nm 波长依序测量各孔的光密度 (OD 值), 并在标准曲线上读出端粒酶浓度值。

2.2.3 生存情况 采取电话或门诊复查形式随访生存情况, 每两个月随访 1 次, 记录随访详情及病情变化, 腹部 CT 评价病情治疗效果, 末次随访截止时间为 2016 年 12 月 1 日, 记录疾病进展时间、半年生存率和 1 年生存率情况。

2.3 临床疗效判定标准

采用 2009 年公布的实体瘤疗效评价标准修定版 RECIST1.1 版^[5], 于治疗前及治疗 2 个月通过影像学 (CT、MRI 或 PET-CT) 各检测 1 次, 分为完全缓解 (CR): 所有目标病灶消失; 部分缓解

(PR): 基线病灶长径总和缩小 $\geq 30\%$; 稳定 (SD): 基线病灶长径总和和缩小但未达部分缓解或有增加但未达进展; 进展 (PD): 基线病灶长径总和增加 $\geq 20\%$ 或出现新病灶。瘤体控制率 = (CR 例数 + PR 例数 + SD 例数) / 总例数 $\times 100\%$; 有效率 = (CR 例数 + PR 例数) / 总例数 $\times 100\%$ 。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件处理数据。计量资料用均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 t 检验; 计数资料采用卡方检验; 生存期分析采用 Kaplan-Meier 法, 并通过 Log-rank、Breslow 检验进行比较; $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 两组患者临床疗效比较

表 1 示, 治疗 2 个月后治疗组、对照组瘤体控制率分别为 66.67%、26.67%, 治疗组高于对照组 ($P = 0.002$)。

表 1 两组晚期大肠癌患者临床疗效比较 [例 (%)]

组别	例数	CR	PR	SD	PD	有效	瘤体控制
治疗组	30	0	4 (13.33)	16 (53.33)	10 (33.33)	4 (13.33)	20 (66.67)
对照组	30	0	0	8 (26.67)	22 (73.33)	0	8 (26.67)

注: CR, 完全缓解; PR, 部分缓解; SD, 稳定; PD, 进展

3.2 正常组及两组患者治疗前及治疗 2 个月外周血 CK20 mRNA、端粒酶表达量比较

表 2、表 3 示, 两组大肠癌患者治疗前 CK20 mRNA 相对表达量、端粒酶表达量显著高于正常组 ($P < 0.01$)。治疗组和对照组治疗前外周血 CK20 mRNA、端粒酶表达水平组间比较, 差异无统计学

表 2 正常组与两组晚期大肠癌患者治疗前、治疗 2 个月 CK20 mRNA 表达量比较 ($1/\beta$ -GAPDH, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗 2 个月
治疗组	30	1.695 $\pm$ 0.500*	1.153 $\pm$ 0.465 Δ ▲
对照组	30	1.662 $\pm$ 0.634*	1.809 $\pm$ 0.501 Δ
正常组	10	0.575 $\pm$ 0.210	—

注: CK20, 细胞角蛋白 20; 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与本组治疗前比较, $\Delta P < 0.01$; 与对照组治疗 2 个月比较, $\Delta P < 0.01$

表 3 正常组与两组晚期肠癌患者治疗前、治疗 2 个月端粒酶表达比较 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	治疗前	治疗 2 个月
治疗组	30	1.217 $\pm$ 0.459*	0.920 $\pm$ 0.380 Δ ▲
对照组	30	1.178 $\pm$ 0.451*	1.397 $\pm$ 0.493 Δ
正常组	10	0.496 $\pm$ 0.279	—

注: 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与本组治疗前比较, $\Delta P < 0.01$; 与对照组治疗 2 个月比较, $\Delta P < 0.01$

意义 ($P > 0.05$)。治疗组治疗 2 个月外周血 CK20 mRNA、端粒酶表达较本组治疗前显著降低 ($P < 0.01$), 对照组治疗 2 个月外周血 CK20 mRNA、端粒酶表达较本组治疗前显著升高 ($P < 0.01$); 治疗组治疗 2 个月外周血 CK20 mRNA、端粒酶表达显著低于对照组 ($P < 0.01$)。

3.3 两组患者治疗后生存情况比较

截止随访时间 2016 年 6 月 1 日, 所有患者治疗及随访时间均满 1 年, 治疗组失访 2 例, 对照组失访 3 例, 治疗组 28 例和对照组 27 例均纳入 1 年生存率统计。表 4 示, 治疗组疾病进展期明显长于对照组 ($P < 0.01$)。两组半年期生存率比较差异无统计学意义 ($P = 0.363$), 但治疗组 1 年期生存率明显高于对照组 ($P = 0.022$)。

表 4 两组晚期大肠癌患者生存情况比较

组别	例数	疾病进展期 (个月, $\bar{x} \pm s$)	半年生存率 (%)	1 年生存率 (%)
治疗组	28	6.8 $\pm$ 2.3	92.8	71.4
对照组	27	2.7 $\pm$ 1.3	92.5	40.7
统计值		$t = 8.370$	$\chi^2 = 0.122$	$\chi^2 = 5.263$
P 值		< 0.001	0.363	0.022

4 讨论

大肠癌属于中医学“肠覃”“锁肛痔”“脏毒”等疾病范畴, 其发病的关键在于正气亏虚, 邪毒积滞而形成肿块^[4], 而在不同的分期又各有所侧重, 多数医家^[12-13]认为, 早期以实为主, 中期虚实夹杂, 晚期属正气衰败。本病虽病位在肠, 但与肝脾肾有着密切的关系, 气滞、血瘀、湿热、邪毒为其关键病理因素。随着现代医学治疗手段的介入, 手术、放化疗后实证比例减少, 虚证比例增加, 以气血、脾肾肝三脏虚衰为常见^[4]。肠复方是湖南省肿瘤医院中西医结合科治疗晚期大肠癌的协定处方, 针对晚期大肠癌患者脾虚气滞、湿瘀毒结的病机特点, 确定了健脾理气、祛湿化淤解毒作为晚期大常癌的基本治法。

研究显示, 肠复方能够抑制大肠癌荷瘤小鼠的肿瘤细胞的增殖、诱导其凋亡, 能够下调荷瘤小鼠肿瘤微环境中血管内皮生长因子 (VEGF) 及基质金属蛋白酶 2 (MMP-2) 等相关因子的表达^[3]。该方以党参、黄芪甘温健脾益气为君, 臣以白术苦温, 燥湿健脾, 加强益气助运之力; 薏苡仁甘淡, 健脾渗湿, 佐以陈皮加强健脾理气化痰之力; 麦芽、鸡内金和胃降逆止呕; 土鳖虫、莪术行气、破血、消瘀; 白花蛇舌草、半枝莲苦寒清热解毒, 兼

以抗癌; 郁金、香附行气活血; 甘草甘温, 益气和, 调和诸药, 为使药。该方汇健脾、理气、化痰、化湿、解毒等为一体, 扶正与祛邪并用, 以扶正为主, 诸药合用共奏扶正气与攻伐肿瘤之功。方中白花蛇舌草、莪术、半枝莲等能够调控肿瘤组织及癌前病变中端粒酶和 CK20 表达^[16-18]。

端粒酶是一种高度特异化核糖蛋白复合体, 异常激活能够修复细胞分裂时端粒 DNA 的丢失, 使细胞不会因端粒消耗而出现凋亡^[19]。端粒酶在正常人体细胞中的活性被抑制, 而在 85% 以上的肿瘤细胞中处于活化状态^[20]。据报道, 健康人群中, 有部分生殖细胞和造血干细胞具有端粒酶活性, 但是这类细胞在外周血中的数量极少^[21]。CK 20 是细胞角蛋白家族中的一员, 具有组织上皮特异性^[22]。CK20 在上皮源性的肿瘤中存在明显的表达, 而外周血、骨髓、淋巴组织中没有任何表达^[23]。由于表达具有较高组织特异性, CK20 是对肿瘤疾病进行诊断、治疗及预后的一个有价值的指标。

本研究结果显示, 与正常健康人相比, 晚期大肠癌患者外周血中 CK20mRNA 及端粒酶高表达; 肠复方能够降低外周血中端粒酶及 CK20 mRNA 表达, 延长疾病进展时间, 提高患者 1 年生存率, 由此我们推断其抗肿瘤机制可能通过降低外周血中特异性肿瘤标志物的表达而发挥作用。在患者生存期的随访中, 观察半年生存期无统计学意义 ($P > 0.05$), 1 年生存期有统计学意义 ($P < 0.05$), 结合大肠癌患者治疗前后外周血中端粒酶及 CK20 mRNA 的特异性表达的变化, 提示肠复方能够延长患者的生存期, 端粒酶及 CK20 mRNA 的高表达能够缩短患者的生存时间, 两者可作为评价肠复方的潜在疗效评价指标。

参考文献

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAADDE PD, et al. Cancer statistics in China [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] COURTNEY RJ, PAUL CL, CAREY ML, et al. A population-based cross-sectional study of colorectal cancer screening practices of first-degree relatives of colorectal cancer patients [J]. BMC Cancer, 2013, 13(1): 1-11.
- [3] 唐小玲, 熊墨年, 陈黎莉, 等. 益气清毒法综合治疗老年晚期结直肠癌的临床疗效 [J]. 中国老年学杂志, 2014, 12(34): 6908-6910.
- [4] 刘少平, 方春华, 胡亚华, 等. 结直肠癌及癌前病变 hTERT mRNA 定量检测及其临床意义 [J]. 胃肠病学与肝病杂志, 2015, 24(1): 32-35.
- [5] 廖信芳, 李柱, 赵宋礼, 等. CK20 免疫组化检测 II 期直肠癌淋巴结微转移对结局的影响 [J]. 江苏医药, 2015, 50(7): 649-651.
- [6] 中国抗癌协会. 中国常见恶性肿瘤诊治规范 [M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 1999: 220-228.
- [7] 中华人民共和国卫生部医政司. 中国常见恶性肿瘤诊治规范 [M]. 2 版. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1993: 3-16.
- [8] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行) [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 361-390.
- [9] 程绍恩. 中医证候诊断治疗学 [M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2000: 652-663.
- [10] 张伯礼, 薛博瑜. 中医内科学 [M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 324-333.
- [11] VAN PERSIJN VAN MEERTEN EL, GELDERBIOM H, BLOEM JL. RECIST revised implications for the radiologist. A review article on the modified RECIST guideline [J]. Eur Radiol, 2010, 20(6): 1456-1467.
- [12] 张雅明. 柏连松运用扶正祛邪法治疗大肠癌的经验 [J]. 上海中医药杂志, 2005, 39(9): 28-30.
- [13] 郑浩, 陆为民. 国医大师徐景藩治疗大肠癌经验 [J]. 湖南中医杂志, 2015, 31(2): 20-21.
- [14] 邱艳艳, 梁波, 胡送姣, 等. 大肠癌中医证型分布特点的现代文献研究 [J]. 上海中医药大学学报, 2014, 28(6): 52-55.
- [15] 梁慧, 李伟, 曾伟, 等. 肠复方对裸鼠肠癌原位移植瘤缺氧诱导因子-1 α 及基质金属蛋白酶-2 的影响 [J]. 江苏中医药, 2016, 48(4): 75-77.
- [16] 史玉荣, 徐海波, 石梦莹, 等. 白花蛇舌草通过 Wnt 信号通路抑制结肠肿瘤干细胞分化 [J]. 中药药理与临床, 2015, 31(1): 133-136.
- [17] 石嵘, 姜立, 周钰宇, 等. 莪术油对乳腺癌 MCF-7 细胞端粒酶活性及 DNA 损伤反应的调控作用 [J]. 中药新药与临床药理, 2010, 21(4): 350-354.
- [18] 李洁, 石俊英. 半枝莲对人肺巨细胞癌细胞株 PG 细胞端粒酶活性的影响 [J]. 中药药理与临床, 2006, 22(3/4): 113-114.
- [19] SHEN ZY, XU LY, LI EM, et al. Telomere and telomerase in the initial stage of immortalization of esophageal epithelial cell [J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(2): 357-362.
- [20] LIU L, LAI S, ANDREWS LG, et al. Genetic and epigenetic modulation of telomerase activity in development and disease [J]. Gene, 2004, 340(1): 1-10.
- [21] 何奇. 大肠癌标本端粒酶活性检测的应用价值 [J]. 华西医学, 2007, 22(7): 12-13.
- [22] MOLL R, SCHILLER DL, FRANKE WW. Identification of protein IT of the intestinal cytoskeleton as a novel type I cytokeratin with unusual properties and expression patterns [J]. J Cell Biol, 1990, 111(2): 567-580.

[23] TAKANO K, KOJIMA T, OGASAWARA N, et al.
Expression of tight junction proteins in epithelium inclu-

ding Ck20-positive M-like cells of human adenoids in vivo
and in vitro [J]. Mol Histol, 2008, 39(3): 265-273.

Effect of *Changfufang* (肠复方) on Expression of Peripheral CK20 mRNA and Telomerase in Colorectal Cancer Patients

LI Wei¹, LIANG Hui², XIE Shengjun¹

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, 410208; 2. Hunan Cancer Hospital)

ABSTRACT Objective To observe the clinical efficacy of *Changfufang* (肠复方) in treating advanced colorectal cancer. **Methods** Sixty advanced colorectal cancer were randomized into treatment group and control group with 30 patients in each group. Another 10 healthy people were set as the normal group. The control group was given symptomatic and supportive care, in addition to which the treatment group was administered *Changfufang* with one dose per day. The treatment and follow-up period was 1 year. After 1-year follow-up, half-year and one-year survival rates were calculated. The peripheral blood of the normal group was collected, peripheral blood of the treatment group and the control group before treatment as well as at the second month of treatment. Expression of peripheral cytokeratin 20 (CK20) mRNA was detected by fluorescence quantitative PCR and telomerase activity was detected by immunosorbent assay. At the end of the second month of treatment, the tumor control rate was evaluated by CT examination; the time to progression was observed after treatment. **Results** After two months of treatment, the tumor control rates of the treatment group and the control group were 66.67% and 26.67%, respectively with significant difference ($P = 0.002$). The expressions of peripheral CK20 mRNA and telomerase in the treatment group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.01$). At the second month of treatment, the expressions of peripheral CK20 mRNA and telomerase in the treatment group decreased significantly ($P < 0.01$), while those in the control group increased significantly ($P < 0.01$), and those in the treatment group was significantly lower than those in the control group ($P < 0.01$). The time to progression in the treatment group was significantly longer than that in the control group ($P < 0.01$). The one-year survival rate in the treatment group was significantly higher than that in the control group ($P = 0.022$). **Conclusion** *Changfufang* seems to be effective in treating advanced colorectal cancer, it could improve the tumor control rate, prolong the time to progression, improve long-term survival benefit, and reduce the expressions of peripheral telomerase and CK20 mRNA.

Keywords advanced colorectal cancer; *Changfufang* (肠复方); peripheral circulation; CK20 mRNA; telomerase

(收稿日期: 2017-01-12; 修回日期: 2017-03-11)

编辑: 王利芬

(上接第 915 页)

Experience of WANG Qi in Treating Fever Caused by Hidden Pathogen Using *Gegen Huangqin Huanglian Decoction* (葛根黄芩黄连汤)

ZHANG Zengliang^{1,2}, YAO Haiqiang¹, LI Wei¹, WANG Ji¹, LI Yingshuai¹, ZHANG Huimin¹, ZHANG Yan¹, SUN Ranran¹, LI Changming¹, ZHANG Yajun², LI Lingru¹

(1. Constitution and Reproductive Medicine Research Center, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing, 100029; 2. Chinese Medicine School, Inner Mongolia Medical University)

ABSTRACT Professor WANG Qi holds that clinical use of *Gegen Huangqin Huanglian Decoction* (葛根黄芩黄连汤) should follow the original intention of *Treatise on Febrile Diseases* (伤寒论). Prof. WANG points out that note-making writers' records could not be used instead of the original intention. Classical prescriptions can not be limited as the special prescriptions to treat certain diseases either. *Gegen Huangqin Huanglian Decoction* mainly treats diseases of superficies and interior simultaneous heat in clinical use; it is not specially designed for diarrhea. In the process of syndrome differentiation, symptoms of "running pulse" and "dyspnea-sweating" should be emphasized. Taking cases of Prof. WANG treating fever caused by hidden pathogen with this prescription, the authors introduce the clinical use of *Gegen Huangqin Huanglian Decoction*. The cases show that *Gegen Huangqin Huanglian Decoction* is effective in fever of unknown origin in children, adults and the aged.

Keywords hidden pathogen; fever; *Gegen Huangqin Huanglian Decoction*; experience of famous doctor; WANG Qi

(收稿日期: 2016-09-06; 修回日期: 2017-03-03)

编辑: 侯建春