

安全。两组肛门排气时间、产褥感染率、产后出血率、术后住院时间以及产后恶露干净时间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。所以,在保障产妇生命安全的情况下,剖宫产同期行子宫肌瘤剔除术具有可行性。有研究主张当肌瘤 $> 5\text{ cm}$ (特别是 $> 10\text{ cm}$), 或为多发性、特殊部位(如阔韧带内、宫角部、直肠窝、宫颈等部位)以及妊娠合并有其他内科疾病者(如妊娠高血压、妊娠糖尿病等)应放弃剔除术,以免发生不可控大出血^[8]。这就要求产科医师具备丰富的临床经验及娴熟的操作技术,能准确掌握临床适应证。术前积极完善各项相关检查,纠正贫血;术中严格分析,因人而异,预估短时间内能完成手术且安全可行的,则术中同时剔除,切忌盲目剔除子宫肌瘤引起产妇术中严重出血,危及生命等状况。

综上所述,对于有经验的产科医师来说,剖宫产时行子宫肌瘤剔除术并不明显增加手术难度、出血量以及术后并发症,能够减少患者再次手术治疗几率和减轻患者心理及经济负担,具有可行性和临床

应用价值,值得推广。

参考文献

- 1 谢 幸,苟文丽. 妇产科学[M]. 第 8 版. 北京:人民卫生出版社, 2013:310-313.
- 2 刘 凡,王丹波. 剖宫产术中子宫肌瘤剔除术临床疗效分析[J]. 中国医学创新,2013,10(12):31-32.
- 3 陆 薇,王维俊,杨夫艳. B-lynch 缝合术在治疗产后出血中的应用[J]. 中国计划生育和妇产科,2014,6(1):52-54.
- 4 王顺顺. 妊娠合并子宫肌瘤 60 例诊断分析[J]. 中国医药指南, 2013,11(18):551-552.
- 5 颜丽娜,郭 萍. 剖宫产同时行子宫肌瘤切除术 118 例回顾性分析[J]. 中国医学创新,2014,11(1):67-68.
- 6 李雅丽,陈映竹,付建红,等. 剖宫产同时子宫肌瘤剔除术分析[J]. 河南诊断与治疗杂志,2002,16(5):339-340.
- 7 符 伟,刘 芳. 球囊压迫宫腔联合 B-lynch 术治疗严重产后出血效果观察[J]. 海南医学,2014,25(3):413-415.
- 8 宋雪凌,杨 孜. 妊娠合并子宫肌瘤[J]. 中国妇产科临床杂志, 2005,6(4):309-311.

[收稿日期 2014-07-28][本文编辑 黄晓红]

博硕论坛·论著

P53 基因表达与食管癌放化疗敏感性关系的研究

江 舟, 黄江琼, 许 杨, 邓彩旧, 陈 龙

作者单位: 545005 广西,柳州市工人医院肿瘤科(江 舟); 530021 南宁,广西医科大学附属肿瘤医院放疗科(黄江琼,邓彩旧,陈龙); 530021 南宁,广西医科大学公共卫生学院流行病学教研室(许 杨)

作者简介: 江 舟(1982-),男,研究生学历,硕士学位,住院医师,研究方向:肿瘤放射治疗。E-mail:jo_821020@sina.com

通讯作者: 陈 龙(1960-),男,研究生学历,硕士学位,副主任医师,研究方向:肿瘤放射治疗。E-mail:clong6@126.com

[摘要] 目的 研究 P53 基因表达与食管癌同步放化疗敏感性的关系,为预测食管癌治疗效果提供参考依据。方法 采用 RT-PCR 方法检测 50 例食管癌患者外周血白细胞中 P53 基因 mRNA 的表达情况。入组病例均予以总量为 60~70 Gy 的三维适形调强放疗及 2 周期同步 DF(顺铂+五氟尿嘧啶)方案化疗,分析 P53 基因表达与同步放化疗疗效之间的关系。结果 P53 阳性组 18 例中,完全缓解(CR)4 例,部分缓解(PR)8 例,稳定(SD)4 例,进展(PD)2 例,治疗有效率为 66.7%;P53 阴性组 32 例中,CR 11 例,PR 20 例,SD 1 例,PD 0 例,治疗有效率为 96.9%。两组疗效比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 食管癌病例中 P53 基因的过度表达可能影响肿瘤细胞对放射治疗及化学疗法的敏感性,检测食管癌 P53 基因的表达可能有助于判断食管癌对于放化疗的反应,并借此判断患者的预后,对于指导临床肿瘤治疗具有一定的参考意义。

[关键词] 食管癌; P53; 基因表达; 聚合酶链反应

[中图分类号] R 735 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2015)01-0029-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2015.01.10

Study on the relationship between expression of gene P53 and sensitivity of esophageal carcinoma to concurrent radiotherapy and chemotherapy JIANG Zhou, HUANG Jiang-qiong, XU Yang, et al. Department of Oncology, the Worker Hospital of Liuzhou City, Guangxi 545005, China

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between gene P53 expression and sensitivity of esophageal carcinoma to the concurrent radiotherapy and chemotherapy, and provide a prediction for the treatment of esophageal carcinoma. **Methods** The expression of P53 mRNA in peripheral blood leukocytes of 50 patients with esophageal carcinoma was detected by RT-PCR (reverse transcription-PCR) method. Patients were treated by 60 ~ 70 Gy radiotherapy and two cycles of conventional synchronous DF (fluorouracil and cisplatin) chemotherapy. The relationship between P53 gene expression and therapeutic effect of radiotherapy with concurrent chemotherapy was analyzed. **Results** The group of P53-positive patients ($n=18$) showed complete recovery (CR) in 4 cases, partly recovery (PR) in 8 cases, stability (SD) in 4 cases, progression of disease (PD) in 2 cases. The group of P53-negative patients ($n=32$) showed CR in 11 cases, PR in 20 cases, SD in 1 case, none of PD case. The efficacy of P53-negative patients was significantly better than that of P53-positive patients ($P<0.05$). **Conclusion** The over-expression of P53 gene may influence the sensitivity of tumor cells to radiotherapy and chemotherapy. Therefore, detecting the expression of P53 gene may help to determine the response of esophageal carcinoma to the radiotherapy and chemotherapy, and to determine the prognosis of patients. It has a value for clinical cancer therapy.

[Key words] Esophageal carcinoma; P53; Gene expression; Polymerase chain reaction (PCR)

食管癌 (esophageal carcinoma) 是严重威胁人类生命的恶性肿瘤之一。目前食管癌的临床疗效较差、病死率高。这是由于本病早期症状隐匿,故大部分到临床就诊的患者都是中晚期,已经失去手术机会。所以,对于非手术的食管癌患者,放疗和(或)化疗成为主要治疗手段。目前尚缺乏预测本病疗效的方法。本研究拟寻找一种肿瘤标记物并对其进行监测以便及早发现食管癌并且预测其疗效及预后,为临床医师进行有效的诊疗提供指导。P53 基因是目前在肿瘤生物学研究领域中被研究得最为深入的基因之一。现在已发现在至少 50% 的肿瘤细胞有 P53 基因的突变或者失活^[1,2],食管癌细胞中 P53 基因的突变率可达到 50% 以上^[3],因此本组选择 P53 基因进行研究。以往对基因表达的研究主要是通过组织学的检验而完成,但是对未进行手术的患者做组织学基因表达检测则不甚方便^[4,5]。所以,本组通过测定研究对象外周血白细胞 P53 基因的表达水平,以初步探讨其是否可以作为一种无创伤性的食管癌肿瘤标记物,来预测放化疗疗效、预后,以便指导治疗提供新思路。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选择于 2013-06 ~ 2013-12 在广西医科大学附属肿瘤医院放疗科住院治疗的食管癌患者 50 例。病例纳入标准:(1)经病理学确诊为鳞癌、腺癌。(2)年龄 20 ~ 80 岁。(3)KPS 评分 > 70 分。(4)未手术患者(无手术指征或患者不愿意手术)。(5)治疗前未经放疗。(6)治疗前可行化疗,但须与

放疗开始时间间隔 28 d 以上。排除标准:(1)食管腺样囊腺癌、未分化癌、粘液表皮样癌及食管癌肉瘤较少见,且生物学特点与常见的鳞癌、腺癌有别,故不考虑入组。(2)年龄 < 20 岁, > 80 岁。(3)KPS ≤ 70 分。(4)已行手术。(5)已行放射治疗。(6)本次放疗前 28 d 内行化疗。(7)怀孕或哺乳期患者。(8)其他部位有原发恶性肿瘤。(9)恶病质。(10)贫血。(11)需要治疗的严重的肝、肾、心、肺疾患。

1.2 治疗方法 采用 Elekta synergy (瑞典)直线加速器进行三维适型放疗。放疗剂量采用 6MV-X 线,每次 1.8 ~ 2.0 Gy,每周 5 次。放疗总剂量 60 ~ 70 Gy。放射野包括食管原发病灶、食管旁、纵隔和锁骨上区阳性淋巴结以及淋巴结预防照射区。对于远处转移,如脑转移和骨转移者给予转移病灶剂量 30 Gy/10 次。放疗中给予患者同步的顺铂 + 氟尿嘧啶 (DF) 化疗方案,每 4 周重复一次。同步放化疗前后分别行颈胸部 CT 检查,根据世界卫生组织 (WHO) 肿瘤疗效评价标准进行疗效判定,根据治疗前后 CT 检查结果对比分为完全缓解 (CR)、部分缓解 (PR)、稳定 (SD) 和进展 (PD),CR 和 PR 为治疗有效,SD 和 PD 为治疗无效。

1.3 P53 基因表达检测 入院第 2 天晨起空腹时抽取研究对象静脉血 2 ml,用 Trizol 液提取法提取总 RNA,提取总 RNA 必须在收样后 4 h 之内完成。采用 RT-PCR (reverse transcription-polymerase chain reaction) 方法检测外周血白细胞中 P53 基因 mRNA 表达。逆转录试剂盒为美国 Fermentas 公司产品,引

物购自生工生物工程(上海)有限公司,见表 1。取 PCR 反应产物在电泳槽上进行电泳,完成后在凝胶成像系统下观察目的条带同时做灰度分析,P53 基因的相对表达量为 P53 与 GAPDH 的灰度比值。

表 1 各个基因引物的序列以及扩增长度

基 因	引物序列(5'-3')	扩增产物长度(bp)
P53	F:5'-GTT TCC GTC TGG GCT TCT TG-3'	197
	R:5'-CAC AAC CTC CGT CAT GTG CT-3'	
GAPDH	F:5'-ACA GTC AGC CGC ATC TTC TTT -3'	651
	R:5'-CCA TCA CGC CAC AGT TTC C-3'	

1.4 统计学方法 应用 SPSS16.0 统计软件进行数据处理,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验,等级资料比较采用秩和检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象一般情况 50 例经病理学确诊为鳞癌 45 例,腺癌 5 例。患者 34 ~ 78 岁,平均 52.1 岁。男 48 例,女 2 例。所有病例均为 II ~ IV 期,未行手术。50 例均为初诊患者,其中 3 例在本次就诊前采用过 2 ~ 4 个疗程化疗,均为 DF 方案。

2.2 基因表达检测电泳图 见图 1。

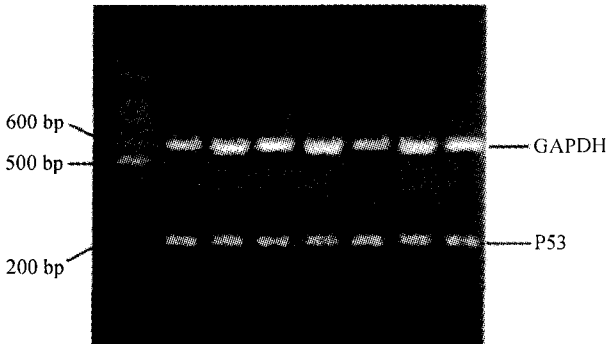


图 1 mRNA RT-PCR 扩增产物的琼脂糖凝胶电泳图

2.3 外周血白细胞中 P53 基因 mRNA 的表达情况 在外周血白细胞 P53 mRNA 阳性组 18 例,P53 mRNA 表达量为 (0.44 ± 0.13) ,P53 mRNA 阴性组 32 例,P53 mRNA 表达量则为 (0.08 ± 0.04) ,两组比较差异具有统计学意义($t = 2.64, P < 0.01$)。

2.4 两组临床疗效比较 P53 阳性者 18 例(CR 4 例,PR 8 例,SD 4 例,PD 2 例)。P53 阴性者 32 例(CR 11 例,PR 20 例,SD 1 例,PD 0 例),两组之间疗效比较差异有统计学意义($Z = 2.02, P < 0.05$)。P53 阴性组疗效明显好于 P53 阳性组。P53 阴性组患者治疗前后 CT 图像比较见图 2。



④治疗前 ⑤治疗后
一食管鳞癌 T3N2M0 患者经 P53 基因检测为阴性,④治疗前食管病灶及纵隔淋巴结肿大;⑤治疗后食管病灶及纵隔淋巴结消退达到 CR

图 2 P53 阴性组患者治疗前后 CT 图像比较

3 讨论

3.1 食管癌发病率逐年上升,在临床做出诊断的时候有相当数量病例已到晚期,这类患者失去了手术治疗的机会,他们的主要治疗方法为放疗和(或)化疗^[6]。随着肿瘤分子生物学的不断发展,肿瘤基因表达和临床治疗敏感性之间的关系正受到越来越多的关注。目前研究已发现了一些肿瘤抑制基因和癌基因的异常可影响肿瘤细胞凋亡和对辐射的敏感性^[7]。细胞周期的变化会影响肿瘤放射治疗的敏感性,大部分细胞在 G_1 期对辐射有相当大的抵抗性,但是在细胞周期过程中向 S 期转变时,细胞对放疗敏感性比之前逐渐增加,最敏感的期限出现在 G_1/S 期交界点。细胞受到辐射的敏感性在 G_1/S 期点是最高的,DNA 切除修复细胞的能力在达到相应的剂量照射后会明显降低,DNA 损伤修复难以进行,从而诱导细胞凋亡^[8]。而进入 S 期之后细胞对放化疗的敏感性又会下降,敏感性最低时为 S 晚期。而当进入 G_2 期与 M 期后,肿瘤细胞又会对放化疗毒性表现出较高的敏感性^[9]。所以,凡是参与细胞周期调节的基因产物都有可能改变肿瘤细胞对放射线的敏感性。

3.2 有研究表明有数个肿瘤对放射线的敏感性与 P53 基因有相当密切的关系。抑癌基因 P53 司职细胞周期调控的负向因子,参与肿瘤发生发展过程。P53 基因的表达产物可将肿瘤细胞阻滞在 G_1/G_0 期,从而抑制肿瘤细胞,如果 P53 基因缺失和发生突变可导致恶性肿瘤细胞的增殖和生长^[10]。到目前为止,P53 基因和肿瘤细胞放射学上关系的研究开展得比较少。但有研究表明,在多种肿瘤细胞中发现缺失或发生突变的 P53 基因,CDK4 的活性不能得到有效抑制,因而不能够阻止细胞由 G_1 期向 S 期过渡而导致细胞过度增殖,肿瘤细胞对射线敏感性随着其逐步向 S 期的过渡而不断降低。如果在肿瘤细胞株中植入 P53 基因,将会增强肿瘤对放射线的敏感性。P53 基因植入细胞后放射敏感性将会增

强,已在肺癌、黑色素瘤、原发性肝细胞癌等许多实体肿瘤中获得证实。肺腺癌细胞 H460 和 A549 中植入 P53 基因后,再比较照射后细胞的存活曲线,结果显示其存活分数明显要低于转染之前,放射敏感性的改变与细胞处在 G_2/M 期所占比例有关。将 P53 基因植入黑色素瘤细胞中,研究存活曲线的结果时发现转染后细胞的放射敏感性得到了明显增加。在缺失 P53 的肝癌细胞株 A1235 和 198 中,将外源性 P53 基因转染其中,发现其放射效应得到明显的提高^[11]。

3.3 本研究通过对人体食管癌的 P53 蛋白表达进行研究,从而了解 P53 表达与临床放化疗疗效之间的关系,为今后非手术食管癌患者的临床放化疗的指导提供参考。本研究证实,在失去手术机会的中晚期食管癌患者外周血中存在着高频 P53 过表达,表明 P53 基因与食管癌的发生和发展有着非常密切的关系。进一步分析发现,食管癌放化疗的敏感性受到 P53 基因是否过度表达的影响,P53 阴性表达的肿瘤患者对放化疗的疗效明显好于 P53 阳性患者。因此,食管癌患者放化疗敏感性可能以 P53 基因表达量的检测作为参考指标之一。食管癌外周血 P53 基因表达的研究,能够反映癌瘤组织的一些生物学特性,根据 P53 的表达量,指导临床放化疗方案的合理制定^[12]。从本研究的结果引发思考,对于外周血 P53 阳性表达的食管癌患者,试图通过结合 P53 基因治疗和放射治疗,是否会获得肿瘤治疗的最佳疗效,这是今后值得进一步研究和探索的方向。但本研究由于样本量少,研究结果可能存在一定偏倚,还需要进一步扩大样本量进行验证。

参考文献

- Meulmeester E, Jochemsen AG. p53: a guide to apoptosis[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2008, 8(2):87-97.
- Dey A, Verma CS, Lane DP. Updates on p53: modulation of p53 degradation as a therapeutic approach[J]. Br J Cancer, 2008, 98(1):4-8.
- El-Kafrawy SA, Abdel-Hamid M, El-Daly M, et al. P53 mutations in hepatocellular carcinoma patients in Egypt[J]. Int J Hyg Environ Health, 2005, 208(4):263-270.
- Zhou G, Chiu D, Qin D, et al. The establishment of the duplex real-time RT-PCR assay for the detection of CD44v6 in pancreatic cancer patients and clinical application[J]. Biotechnol Appl Biochem, 2012, 59(1):55-63.
- Kossenkova AV, Dawany N, Evans TL, et al. Peripheral immune cell gene expression predicts survival of patients with non-small cell lung cancer[J]. PLoS One, 2012, 7(3):1-8.
- Aujesky R, Hajdúchb M, Neoral C, et al. P53-prognostic factor of malignant transformation of Barrett's esophagus[J]. Biomed Pap Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2005, 149(1):141.
- Bergqvist M. Radiosensitivity in lung cancer with focus on p53: a review based on a doctoral thesis[J]. Ups J Med Sci, 2003, 108(2):124.
- Kawabe S, Roth JA, Wilson DR, et al. Adenovirus-mediated p53 INK4 a gene expression radiosensitizes non-small cell lung cancer cells in a p53-dependent manner[J]. Oncogene, 2000, 19(47):5359-5366.
- Roth JA, Grammer SF, Swisher SG, et al. Gene replacement strategies for treating non-small cell lung cancer[J]. Sem in Radiat Oncol, 2000, 10(4):333-342.
- Garcia-España A, Salazar E, Sun TT, et al. Differential expression of cell cycle regulators in phenotypic variants of transgenically induced bladder tumors: implications for tumor behavior[J]. Cancer Res, 2005, 65(4):1150-1157.
- Qin HX, Nan KJ, Yang G, et al. Expression and clinical significance of TAp73alpha, P53, PCNA and apoptosis in hepatocellular carcinoma[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(18):2709-2713.
- 张晓智,金莉,王晓莉,等.食管癌和宫颈癌组织中 p53 蛋白过度表达及其与放疗敏感性的关系[J].西安大学学报,2000,21(1):44-45,70.

[收稿日期 2014-06-11][本文编辑 刘京虹]

《中国临床新医学》杂志投稿须知

凡投本刊的稿件,务请补全以下内容与项目:

- 中文摘要、关键词(按规范格式书写)。
- 英文题目,作者(汉拼),英文单位名称,英文摘要和关键词(按规范格式书写)。
- 论文的统计学处理方法。
- 单位投稿介绍信。
- 作者简介(姓名、出生年月、性别、学历、学位、职称、研究方向)。
- 须寄(送)A4纸打印稿一份,并发电子邮件到本编辑部。
- 第一作者联系地址、邮编、电话和 E-mail。

· 本刊编辑部 ·