

# 术中植入氟尿嘧啶植入剂对结直肠癌患者外周血 Survivin、CD44V6 的影响

管小倩<sup>1</sup>, 颜丽萍<sup>2</sup>, 田小林<sup>3</sup>, 石晓萍<sup>2</sup>, 李弘<sup>2</sup>

**摘要** 目的 检测结直肠癌患者(Dukes B期、C期)术中植入氟尿嘧啶植入剂后,手术前后外周血 Survivin、CD44V6 的变化,探讨其对肿瘤微转移及预后的影响。方法 64例结直肠癌患者随机均分为两组:治疗组行标准根治术,术中植入氟尿嘧啶植入剂;对照组予标准根治术而术中未应用此药。采用 RT-PCR 法测定手术前后外周血中 Survivin 表达水平,流式细胞术检测 CD44V6 含量。结果 64例结直肠癌患者(Dukes B期、C期)术前各组 Survivin、CD44V6 表达的差异无统计学意义,术后治疗组和对照组 Survivin、CD44V6 水平明显低于术前( $P < 0.05$ ),且治疗组 Survivin、CD44V6 水平明显低于对照组( $P < 0.05$ )。结论 术中植入氟尿嘧啶植入剂可通过降低 Survivin、CD44V6 的表达来抑制肿瘤的微转移,对结直肠癌的预后有着重要意义,有望提高结直肠癌术后的远期疗效。

**关键词** 氟尿嘧啶植入剂; 结直肠癌; 微转移; Survivin; CD44V6

中图分类号 R 735.3

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)01-0085-04

结直肠癌是世界范围内最常见的消化道恶性肿瘤之一,我国结直肠癌的发病率和死亡率居高不下,并且近年来呈现上升趋势<sup>[1]</sup>。目前,结直肠癌的最主要治疗方法仍以手术治疗为主。虽然随着科学发展,医疗水平的提高,结直肠癌的根治效果有了显著提高,但是患者的5年生存率一直徘徊在50%。有研究<sup>[2]</sup>报道,II期和III期结直肠癌根治术后局部复发率高达40%。因此,术中及术后的辅助化疗有望提高其疗效,改善预后。该研究通过检测术中植入氟尿嘧啶植入剂对结直肠癌患者外周血 Survivin、CD44V6 的影响,来探讨其抑制肿瘤微转移的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 病例资料

收集2012年3月~2013年4月于

2013-07-29 接收

基金项目:广西壮族自治区卫生厅计划项目(编号:22012370)

作者单位:<sup>1</sup> 桂林医学院研究生学院内科学系 桂林 541004

<sup>2</sup> 桂林市第二人民医院消化内科 桂林 541001

<sup>3</sup> 桂林医学院附属医院胃肠外科 桂林 541001

作者简介:管小倩,女,硕士研究生;  
颜丽萍,女,主任医师,硕士生导师,责任作者,E-mail:  
371925569@qq.com

桂林市第二人民医院和桂林医学院附属医院普外科收治的结直肠癌患者64例,男37例,女27例;病例纳入标准如下:术前未经化疗、使用免疫抑制剂,经常规系统检查后,无手术禁忌证可按常规行根治性手术。将64例患者随机均分为两组:治疗组在手术结束前根据肿瘤部位将氟尿嘧啶植入剂均匀植入瘤床、肿瘤病灶区域、对应的肠系膜血管根部和相应淋巴回流区域,表面喷洒生物蛋白胶固定,植入范围距吻合口至少4 cm以上,总剂量为600 mg;对照组行根治术后不植入任何药物。两组病例均按《NCCN肿瘤学临床实践指南》的要求进行术后静脉化疗。治疗组年龄45~78岁,对照组年龄43~81岁,两组临床资料比较差异均无统计学意义,见表1。

表1 两组一般临床资料(n)

组别	中位年龄 (岁)	四分位数间距 (岁)	性别		病变部位		Dukes 分期	
			男	女	结肠癌	直肠癌	B期	C期
治疗	60	12	18	14	14	18	12	20
对照	61	16	19	13	13	19	14	18

**1.2 主要试剂及药品** RNApure 超纯总 RNA 快速提取试剂盒、逆转录、PCR 试剂盒均购于中国北京艾德莱生物科技有限公司;引物均由美国 Invitrogen 公司合成;检测仪器采用德国 Biometra 公司生产的 PCR 仪;CD44var(V6) (FITC) 标记的鼠抗人单克隆抗体购于美国 eBioscience 公司;阴性对照 FITC Mouse IgG1, K Isotype Ctrl 购于美国 BioLegend 公司;检测仪器采用美国 BD 公司生产 FACS Aria TM III 型流式细胞仪。氟尿嘧啶植入剂(商品名:中人氟安),由芜湖中人科技有限公司出品,批号 20010826,规格 100 mg/瓶。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 标本制备** 所有患者均于术前 1 d 和术后 14 d 清晨空腹时 EDTA 抗凝管静脉采血 2 ml,置于 4 °C 冰箱里。

**1.3.2 RT-PCR 法测定外周血 Survivin 的表达** 用红细胞裂解液破坏红细胞进行外周血单个核细胞富集。利用 RNApure 超纯总 RNA 快速提取试剂盒提取外周血总 RNA,RT-PCR 扩增目的基因 Survivin 和

内参基因  $\beta$ -actin。Survivin 上游引物: 5'-GTCCCTG-GCTCCTCTACTG-3', 下游引物: 5'-GACGCTTCCTAT-CACTCTATTC-3' 扩增长度 174 bp;  $\beta$ -actin 上游引物: 5'-AGAGCCTCGCCTTTGCCGAT-3', 下游引物: 5'-TGCCAGATTTTCTCCATGTCGT-3' 扩增长度 313 bp。Survivin、 $\beta$ -actin 的扩增条件中两者的预变性: 94 °C、3 min, 变性: 94 °C、30 s, 延伸: 72 °C、30 s 终延伸: 72 °C、5 min 均相同, Survivin、 $\beta$ -actin 的退火温度均为 55.2 °C, 时间均为 30 s。Marker 长度为 600 bp。PCR 产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳分离和 EtBr 染色后, 紫外灯下显影拍照。

**1.3.3 各组患者外周血 CD44V6 的表达测定** ① 用两个 1.5 ml EP 管分别取 100  $\mu$ l 抗凝血样本, A 管加入 10  $\mu$ l 抗体, B 管加入 0.5  $\mu$ l 同型, 室温 25 °C 避光孵育 30 min。② 两管分别加入已配好的 900  $\mu$ l 溶血素(用去离子水稀释为 1 : 100), 室温 25 °C 避光孵育 30 min。直至肉眼可见溶血透明。③ 4 °C 离心机 2 000 r/min 离心 10 min。④ 弃上清液, 500  $\mu$ l PBS 重悬洗涤两次。300  $\mu$ l PBS 将细胞重悬后, 过滤上机。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析。计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组内比较用配对设计  $t$  检验, 组间比较用完全随机设计的两样本  $t$  检验。

**2 结果**

**2.1 外周血 Survivin 的表达结果** 术前两组 Survivin 的表达差异无统计学意义; 术后治疗组和对照组 Survivin 的表达均明显低于术前 ( $P < 0.05$ ); 且治疗组 Survivin 的表达低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 见表 2、图 1。

**2.2 外周血 CD44V6 的表达结果** 术前两组 CD44V6 的表达差异无统计学意义; 治疗组和对照组 CD44V6 的表达均明显低于术前 ( $P < 0.05$ ); 且治疗组 CD44V6 的表达低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 见表 3、图 2。

表 2 各组手术前后 Survivin 的表达 ( $n = 32, \bar{x} \pm s$ )

组别	时间	Survivin
对照	术前	1.090 $\pm$ 0.186
	术后 14 d	0.585 $\pm$ 0.207*
治疗	术前	1.157 $\pm$ 0.166
	术后 14 d	0.362 $\pm$ 0.183* $\Delta$

与术前比较: \*  $P < 0.05$ ; 与对照组术后 14 d 比较:  $\Delta P < 0.05$

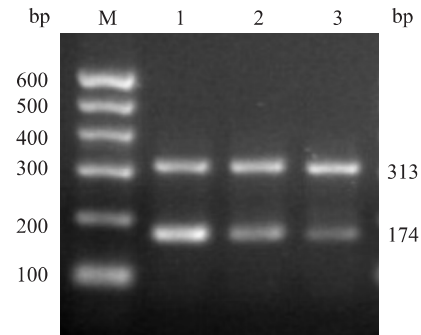


图 1 各组 Survivin 的 RT-PCR 法检测的电泳图

M: Marker; 1: 术前; 2: 对照组术后 14 d; 3: 治疗组术后 14 d

表 3 两组手术前后 CD44V6 的表达 ( $n = 32, \bar{x} \pm s$ )

组别	时间	CD44V6
对照	术前	9.729 $\pm$ 0.943
	术后 14 d	3.471 $\pm$ 0.496*
治疗	术前	9.557 $\pm$ 1.170
	术后 14 d	1.857 $\pm$ 0.535* $\Delta$

与术前比较: \*  $P < 0.05$ ; 与对照组术后 14 d 比较:  $\Delta P < 0.05$

**3 讨论**

术后机体免疫功能低下, 凝血机制增强, 加之术后 24 h 亚临床灶的癌细胞处于增殖加速阶段, 2~3 d 后达高峰, 7~10 d 后才能恢复正常。显然在增加肿瘤复发与转移的机会的同时, 也产生了大量的对化疗药物敏感性较高的处于增殖期的癌细胞<sup>[3]</sup>。研究<sup>[4]</sup>显示, 手术操作和刺激可增加癌细胞的脱落和微小转移灶的残留, 而术中植入缓释化疗药物, 既安全又具有良好耐受性, 是预防术后复发及转移的

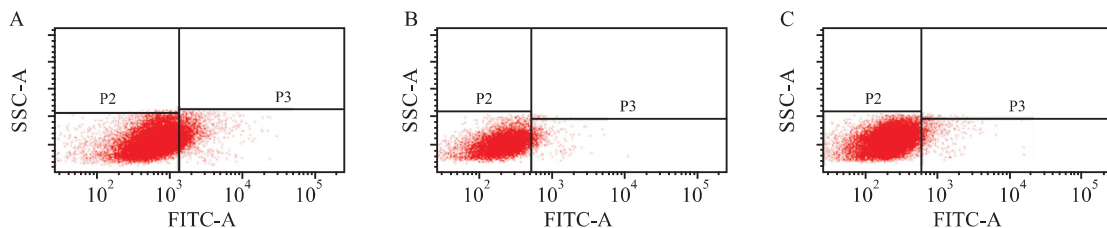


图 2 CD44V6 的流式细胞术散点图

A: 术前; B: 对照组术后 14 d; C: 治疗组术后 14 d

重要途径之一。

Survivin 作为一种凋亡抑制蛋白,可抑制细胞凋亡,促进肿瘤的增殖和生长;同时可参与肿瘤新生血管的形成,进一步促进肿瘤的生长;还可通过调节肿瘤的血管内皮细胞的生长增殖,在肿瘤细胞的浸润、转移中发挥重要作用。有研究<sup>[5]</sup>报道, Survivin 与三维毛细血管网的形成密切相关,其机制可能是介导血管内皮生长因子,上调血管形成素-1 的表达。吕克之等<sup>[6]</sup>也发现, Survivin 参与结直肠癌组织血管生成,对癌细胞的增殖和肿瘤的转移起促进作用。本研究结果显示,氟尿嘧啶植入剂可明显抑制 Survivin 的表达。Survivin 作为微管动力的稳定因子,其在维持血管内皮细胞的顺利分裂和完整性方面具有重要作用,低 Survivin 表达可抑制肿瘤新生血管形成,从而发挥其抑制肿瘤生长、转移的作用,从而对患者的预后可能会起到一定的积极作用。

CD44V6 为目前比较公认的肿瘤转移促进基因。它参与了 3 个肿瘤侵袭转移的过程:肿瘤细胞与血管或淋巴管内皮细胞之间、肿瘤细胞与基膜之间、肿瘤细胞穿出基膜与器官组成细胞之间的黏附。较多研究<sup>[7-9]</sup>报道, CD44V6 的高表达是肿瘤高侵袭、易转移的指标。研究<sup>[10-11]</sup>表明,结直肠癌中 CD44V6 的高表达赋予癌细胞较强的侵袭转移能力,可以作为预测结直肠癌侵袭转移的一个有效指标。本研究结果显示,术后 14 d,治疗组及对照组 CD44V6 表达均明显低于术前,但治疗组 CD44V6 的表达又低于对照组,这可能是由于氟尿嘧啶植入剂在给药区域长时间维持较高的药物浓度,进而杀死术中未切除的残留病灶、微转移灶及腹腔游离癌细胞;其可有效杀灭微转移灶,对肿瘤的预后及复发可能存在良性作用。

综上所述,术中植入氟尿嘧啶植入剂可以在术后第一时间及时、方便地将药物给到任何可能肿瘤残留的部位,降低了系统性的毒副反应,具有缓释和靶点的双重优势<sup>[12-13]</sup>。本研究显示,氟尿嘧啶植入剂可明显抑制 Survivin 的表达,降低 CD44V6 的表达,对术后结直肠癌患者的微转移的杀灭作用,对肿瘤的预后及复发可能起到积极作用。因此,氟尿嘧啶植入剂的独特给药方式可提高结直肠癌的临床治

疗期望。但由于本研究的样本量较少,观察时间较短,大肠癌术中、术后连续化疗是否能提高患者的长期生存率尚未明确,有待大样本长时间的进一步研究。

## 参考文献

- [1] Melissa M, Ahmedin J, Robert A, et al. Worldwide variations in colorectal cancer [J]. *Ca Cancer J Clin* 2009, 59(6): 366-78.
- [2] 冯瑞, 李明焕, 于金明. 158 例 II 和 III 期直肠癌根治术后不同治疗方法疗效分析 [J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2009, 23(3): 224-5.
- [3] Sethna K S, Sugarbaker P H. New prospects for the control of peritoneal surface dissemination of gastric cancer using perioperative intraperitoneal chemotherapy [J]. *Cancer Ther* 2004, 2(2): 79-84.
- [4] 梁正, 孙晓光. 结直肠癌术中腹腔植入缓释氟尿嘧啶的临床研究 [J]. *中国现代医学杂志* 2009, 19(23): 3593-7.
- [5] Xiaoyuan C, Longbang C, Jinghua W, et al. Survivin: a potential prognostic marker and chemoradiotherapeutic target for colorectal cancer [J]. *J Med Sci* 2010, 179(3): 327-35.
- [6] 吕克之, 尹路, 樊绮诗, 等. Survivin 基因在结直肠癌中的表达及其对预后的判断价值 [J]. *中国临床医学* 2008, 15(4): 497-9.
- [7] Eren B, SarM, Oz B, et al. MMP-2, TIMP-2 and CD44v6 expression in non-small-cell lung carcinomas [J]. *Ann Acad Med Singapore*, 2008, 37(1): 32-9.
- [8] Afify A, Purnell P, Nguyen L. Role of CD44s and CD44v6 on human breast cancer cell adhesion, migration, and invasion [J]. *Exp Mol Pathol* 2009, 86(2): 95-100.
- [9] 翁密霞, 吴秀环, 杨秀萍. E-cadherin、CD44V6 和 PCNA 在非小细胞肺癌组织中的表达及意义 [J]. *癌症* 2008, 27(2): 191-5.
- [10] Liu Y J, Yan P S, Li J, et al. Expression and significance of CD44s, CD44v6, and nm23mRNA in human cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(42): 6601-6.
- [11] 徐胜美, 马红梅, 郭东. CD44 和 CD44v6 在大肠癌的表达及其意义 [J]. *广东医学* 2010, 31(5): 584-6.
- [12] 黄展宝, 颜丽萍, 李弘, 等. 氟尿嘧啶缓释剂对人结直肠癌裸鼠肿瘤凋亡的机制研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2013, 48(2): 107-10.
- [13] 陈文山, 罗武陵, 刘丹, 等. 术中局部植 5-氟尿嘧啶缓释颗粒治疗大肠癌 68 例分析 [J]. *重庆医学* 2009, 38(13): 1702-3.

## 右美托咪定对胃癌根治术中瑞芬太尼复合丙泊酚全麻药量及麻醉效果的影响

王红仙<sup>1,2</sup>, 张野<sup>1</sup>, 李云<sup>1</sup>, 王斌<sup>1</sup>

**摘要** 目的 观察胃癌根治术中右美托咪定辅助全身麻醉对患者围术期血流动力学、麻醉药用量以及术后镇静镇痛的影响。方法 择期全麻行胃癌根治术患者 40 例, 随机均分为右美托咪定(D)组和对照(C)组, D组麻醉诱导前 15 min 静脉泵注右美托咪定 0.6 μg/kg, 维持为 0.4 μg/(kg·h), 直至术毕前 40 min, C组则给予等量的生理盐水。观察注药前(T<sub>1</sub>)、麻醉诱导前(T<sub>2</sub>)、气管插管前即刻(T<sub>3</sub>)、插管后 1 min(T<sub>4</sub>)、切皮时(T<sub>5</sub>)、探查时(T<sub>6</sub>)、拔管后即刻(T<sub>7</sub>)的脑双频指数(BIS)、平均动脉压(MAP)、心率(HR), 记录丙泊酚和瑞芬太尼的用量, 术后 4 h 内的镇静评分 Ramsay 和视觉模拟评分 VAS 情况。结果 T<sub>2</sub> 时 D 组 BIS 值明显低于 T<sub>1</sub> 和 C 组( $P < 0.01$ ); 与 C 组比较, T<sub>2</sub>、T<sub>4</sub>~T<sub>7</sub> 时 D 组 MAP 明显降低, HR 明显减慢( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); D 组丙泊酚和

瑞芬太尼的用量明显低于 C 组( $P < 0.05$ ); D 组术后 1 h 和 4 h 的 Ramsay 评分明显高于 C 组, VAS 评分明显低 C 组( $P < 0.05$ )。结论 右美托咪定辅助全身麻醉可产生明显的镇静、镇痛效应, 减少麻醉药的用量, 降低了患者术后的不适感。

**关键词** 右美托咪定; 全身麻醉; 胃癌根治术; 镇静; 镇痛  
中图分类号 R 459.9

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)01-0088-04

右美托咪定是一种新型高选择性 α<sub>2</sub> 肾上腺素能受体激动药, 具有较强的镇静、镇痛和抗交感神经作用<sup>[1]</sup>; 其静脉注射起效时间约 15 min, 持续输注 1 h 达到峰浓度; 成人分布半衰期约为 6 min, 消除半衰期约为 2.0~2.5 h<sup>[2]</sup>。右美托咪定在麻醉诱导和维持中, 有助于维持术中患者的镇静、镇痛及心血管功能的稳定<sup>[3]</sup>。该研究旨在观察右美托咪定辅助全身麻醉对胃癌根治术患者围术期血流动力学、麻醉药用量及术后恢复的影响。

### 1 材料与方法

**1.1 一般资料** 本研究经医院伦理委员会批准, 患

2013-09-16 接收

基金项目: 安徽医科大学校基金(编号: 2010xkj098)

作者单位: <sup>1</sup>安徽医科大学第二附属医院麻醉科, 合肥 230601

<sup>2</sup>安徽医科大学第四附属医院麻醉科, 合肥 230022

作者简介: 王红仙, 女, 主治医师;

张野, 男, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail:

zhangye\_hassan@sina.com

## Impact of intra-abdominal implantation fluorouracil sustained release implant on the expressions of Survivin, CD44V6 in patients with colorectal cancer

Guan Xiaoqian<sup>1</sup>, Yan Liping<sup>2</sup>, Tian Xiaolin<sup>3</sup> et al

(<sup>1</sup>Dept of Internal Medicine, Guilin Medical College Graduate School, Guilin 541004; <sup>2</sup>Dept of

Gastroenterology, The Second People's Hospital of Guilin, Guilin 541001; <sup>3</sup>Dept of Gastrointestinal Surgery,

The Affiliated Hospital of Guilin Medical College, Guilin 541001)

**Abstract Objective** To observe the pre-operational and post-operational changes of the expressions of Survivin, CD44V6 in patients with colorectal cancer after intra-abdominal implantation fluorouracil sustained release implant.

**Methods** The peripheral blood levels of Survivin were detected by RT-PCR and CD44V6 by FCM in 64 patients (fluorouracil sustained release implant was implanted intra-abdominally in 32 patients undergoing radical colorectal cancer surgery in the experimental group, while 32 cases undergoing radical surgery only served as controls) diagnosed with colon cancer. **Results** No significant differences of Survivin and CD44V6 were detected between the two groups before operation( $P > 0.05$ ). Survivin and CD44V6 levels were lower ( $P < 0.05$ ) in the patients of the experimental group than the controls after operation. **Conclusion** Fluorouracil sustained release implant can inhibit the expression of Survivin and CD44V6 to effect the colorectal cancer micro transfer.

**Key words** fluorouracil implants; colorectal cancer; micro transfer; Survivin; CD44V6