

# 从全基因表达谱角度探讨理冲汤抑制人子宫肌瘤细胞的作用机制

韩虹娟 李冬华 钱睿亚 许昕 黄玉华 倪婧 张武芳 耿建国 赵文景

**【摘要】 目的** 从全基因表达谱角度探讨理冲汤抑制人子宫肌瘤细胞的作用机制。**方法** 采用胶原酶消化法培养子宫肌瘤细胞,并给以理冲汤大鼠含药血清进行干预,提取肌瘤细胞总 RNA,运用 Affymetrix GeneChip PrimeView™ 全基因芯片检测基因表达谱的变化,并进行差异表达基因、基因本体(gene ontology, GO)、信号通路等方面的分析,最后采用实时定量 PCR(Realtime PCR, RT-PCR)对差异基因的表达进行验证。**结果** 结果显示,理冲汤组与空白对照组比较后差异表达基因数量为 1154 个( $P < 0.05$ , 上调基因 Fold change  $> 1.5$ , 下调基因 Fold change  $< 0.5$ ),其中上调基因 630 个,下调基因 524 个;富集的 GO 功能共有 119 条,主要涉及到细胞外基质的改变、细胞凋亡的诱导、细胞黏附等多方面的功能;差异基因富集的信号通路有 73 条,同时,RT-PCR 验证结果也与基因芯片结果趋势一致。**结论** 理冲汤对人子宫肌瘤的治疗作用机制是通过对多基因、多功能、多信号通路的调控而实现的。

**【关键词】** 理冲汤; 子宫肌瘤; 基因表达谱; 分子机制

**【中图分类号】** R285 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.03.007

**Study of molecular mechanism of Lichong Decoction inhibiting human uterine leiomyoma cells based on analysis of gene expression profiles** HAN Hong-juan, LI Dong-hua, QIAN Rui-ya, et al. Department of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Corresponding author: LI Dong-hua, E-mail: dududocor@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the molecular mechanism of Lichong Decoction (LCD) inhibiting human uterine leiomyoma cells through the analysis of differential gene expression profiles of uterine leiomyoma cells. **Methods** Using collagenase digestion cultured uterine leiomyoma cells, and treated by rat serum containing of LCD for 48 hours. Then the pathological changes of uterine leiomyoma cells were observed, and total RNA of uterine leiomyoma cells were extracted. The gene expression profile was detected by whole genome chip testing, then differentially expressed genes (DEGs), gene ontology (GO) and signal pathway were analyzed. The mRNA expressions were verified by real-time PCR (RT-PCR). **Results** Compared with the control group, the growth of LCD group cells significantly inhibited by microscope. The DEGs between the LCD group and the control group ( $P < 0.05$ , Up Regulated Genes Fold change  $> 1.5$ , Down Regulated Genes Fold change  $< 0.5$ ) were 1154, included 630 up-regulated and 524 down-regulated genes. The GO enrichment analysis ( $P < 0.05$ ) showed 119 functions, included extracellular matrix, induction of apoptosis, negative regulation of angiogenesis, cell adhesion, and so on. The signal pathway analysis showed 73 enriched pathways ( $P < 0.05$ ). The verification of mRNA expression by RT-PCR was consistent with that of microarray. **Conclusion** LCD treats uterine leiomyoma through the regulation of multiple genes and multiple signal pathways.

**【Key words】** Lichong Decoction; Uterine leiomyoma; Gene expression profile; Molecular mechanism

基金项目:国家自然科学基金(81373812, 81073096)

作者单位:100069 首都医科大学中医药学院[韩虹娟(硕士研究生)、李冬华、张武芳、耿建国];首都医科大学附属北京妇产医院妇幼保健院(钱睿亚);首都医科大学附属北京中医医院妇科(许昕、黄玉华、赵文景);首都医科大学附属复兴医院月坛社区卫生服务中心中医科(倪婧)

作者简介:韩虹娟(1987-),女,2012 级硕士研究生。研究方向:中药防治妇科肿瘤机制研究。E-mail: hanhongjuan0508@126.com

通讯作者:李冬华(1972-),女,博士,教授,硕士生导师。研究方向:中药防治妇科肿瘤机制研究。E-mail: dududocor@163.com

子宫肌瘤(uterine leiomyoma)是女性生殖系统最常见的良性肿瘤,育龄期妇女发生较多,发病年龄多为 30~50 岁,根据部位的不同,其症状以阴道出血、腹部包块、白带增多、疼痛及不孕不育等为主,严重影响妇女的生活质量。迄今为止,子宫肌瘤的发病原因、病理机制尚不十分明确。西医一般认为,其发生发展与雌、孕激素及其受体、生长因子、细胞凋亡、癌基因与抑癌基因、细胞免疫等有关<sup>[1]</sup>。中医多认为子宫肌瘤的发生与正气不足、瘀血内停有关,治疗多选用扶正祛瘀法,且效果显著。本研究旨在通过观察扶正祛瘀法的代表方——“理冲汤”对体外培养人子宫肌瘤细胞基因表达谱变化的调控为切入点,探讨理冲汤抑制肌瘤生长的分子机制,为临床治疗提供理论和实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 组织来源

取自北京妇幼保健院行子宫肌瘤剔除术的患者,将切除的肌瘤组织部分送病理检查,选择肌瘤组织中间部分做子宫肌瘤原代细胞培养。该患者在手术前 3 个月未接受过激素和其他药物治疗,术后病理诊断为肌壁间肌瘤。

### 1.2 主要试剂和仪器设备

DMEM 培养基(Gibco 公司,批号:NXC0586);胎牛血清(Hyclone 公司,批号:608759);0.25% 胰酶(Hyclone 公司,批号:T1300-100);I 型胶原酶(Gibco 公司);PBS 液(Hyclone 公司,批号:NYE0891);TRIZOL 试剂(Invitrogen life technologies,USA,批号:66314);GeneChip (r) PrimeView™ Human Gene Expression Array(Affymetrix,USA);GeneChip® 3'IVT Express Kit(Affymetrix,USA);GeneChip® Hybridization, Wash, and Stain Kit(Affymetrix,USA);RNA 提取试剂盒(QIAGEN);基因芯片洗脱工作站(GeneChip Fluidics Station 450);基因芯片杂交炉(GeneChip Hybridization Oven 645);基因芯片扫描仪(GeneChip Scanner 3000 7G);PCR 仪(ABI geneAMP® PCR system 7500)。

### 1.3 药物血清制备

1.3.1 材料 实验动物:3 月龄 SD 大鼠 24 只,雌性未孕,体质量(220±20)g,SPF 级。购自首都医科大学实验科学动物部,合格证号为 SCXK(京)2012-0001,饲养在首都医科大学实验动物部 SPF 级动物室,正常光照条件,食、水可自由摄取,室温控制在

18~22℃之间。随机将其分为空白对照组,理冲汤组,每组各 12 只。

1.3.2 动物灌服药物的制备 中药煎煮:理冲汤(生黄芪 9 g、党参 6 g、白术 6 g、生山药 15 g、天花粉 12 g、知母 12 g、三棱 9 g、莪术 9 g、生鸡内金 9 g),上述中药饮片均购自北京同仁堂饮片有限责任公司。煎熬过程:按上述处方量取中药饮片,先后水提 2 次。第一次加药材 8 倍量水浸泡 0.5 小时,煎煮 1 小时,煎至将成,加陈醋少许<sup>[2]</sup>;第二次加药材的 6 倍量水煎煮 1 小时,煎至将成,加陈醋少许,合并煎液,过滤,减压浓缩制成含生药 2.28 g/mL 的药液,低温(0~4℃)保存,用前摇匀。

1.3.3 给药方法 理冲汤组每天灌服中药用量为 9.12 g/kg,为成人等效剂量,同时空白对照组的大鼠每天灌以等量生理盐水。连续给药 3 天,每天分 2 次灌服。

1.3.4 血清采集 取血之前禁食 12 小时,末次给药 2 小时后,10%水合氯醛腹腔注射麻醉,行心脏取血,3000 r/min、20 分钟离心分离血清。将同组内的血清混合,56℃、30 分钟灭活,0.22 μm 微孔滤膜除菌后分装,-80℃保存备用。

### 1.4 细胞培养及给药方法

1.4.1 细胞原代培养 将子宫肌瘤组织剪碎至 1 cm<sup>3</sup>大小,置于 20 mL 含 3% 双抗(青链霉素)的 PBS 中,密闭冰浴运输。用含 3% 双抗的 PBS 液对组织进行梯度清洗,在漂洗的过程中尽可能的去除血迹及组织外层可能被污染及坏死的部分;漂洗好后,用无菌吸管将组织小块及其无血清培养基一起吸入到离心管中,待组织沉淀,弃上清,向管中加入 0.2% I 型胶原酶 10 mL,37℃水浴消化 1.5~2 小时后,加入足量的完全培养基终止消化,离心、弃上清,再用 70 μm 细胞筛过滤,收集滤液,加入适合浓度的完全培养基接种细胞于培养瓶中,37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中进行孵育培养。以后每 3 天换液 1 次。待细胞融合度达 80%后,传代。

1.4.2 含药血清干预 取第三代细胞消化,调整细胞浓度至 1×10<sup>7</sup>/L,1 mL/孔,接种于 24 孔细胞培养板内,分为空白对照组、理冲汤组。培养 12 小时,待细胞贴壁,PBS 液清洗,空白对照组加入含 20% 无药血清培养液 1 mL,理冲汤组每孔加入 20% 理冲汤含药血清<sup>[3]</sup>的培养液 1 mL,37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 48 小时。

### 1.5 实验方法

含药血清干预子宫肌瘤细胞培养 48 小时后,吸

弃培养液, PBS 清洗, 每孔加入 100  $\mu$ L 的 Trizol, 反复吹打, 目视细胞层裂解完全, 吸至冻存管中,  $-80^{\circ}\text{C}$  保存, 干冰运输, 运用基因芯片表达谱检测法 (Affymetrix GeneChip PrimeView™ Human Gene Expression Array) 取待测样品, 进行样品的 RNA 抽提及纯化, 采用紫外吸收测定法及变性琼脂糖凝胶电泳进行 RNA 质量检测, 合成 cDNA, 最后运用实时定量 PCR 进行验证。

### 1.6 统计学处理

基因芯片所有数据上传并进行归一化处理后运用 Two Class Dif 软件分析系统分析差异表达的基因, GO 分析用于确定差异表达基因的主要功能, 并根据 KEGG 和 BioCarta 数据库对差异表达基因进行相关通路分析, RT-PCR 采用  $\Delta\Delta\text{Ct}$  计算方法。

## 2 结果

### 2.1 含药血清干预

将第 4 代子宫肌瘤细胞消化成细胞悬液, 调整浓度至  $1 \times 10^5/\text{mL}$ , 每孔 100  $\mu$ L 接种于 24 孔培养板, 分为空白对照组、理冲汤用药组, 每组 6 个复孔, 培养 12 小时, 待细胞贴壁后, 理冲汤组各孔分别加入浓度为 20% 的含药血清 1 mL, 空白对照组各孔加入 20% 无药血清 1 mL,  $37^{\circ}\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养, 分别取含药血清干预 24 小时、36 小时、48 小时后, 用倒置相差显微镜在白场下放大 200 倍观察: 空白对照组细胞生长未受明显影响, 仅有轻度的肥大增生; 理冲汤含药血清干预下肌瘤细胞形态随干预时间的变化均出现了明显的改变, 细胞胞浆减少并出现不同程度的萎缩, 细胞轮廓变小变圆, 细胞之间的连接也变得模糊不清, 并且出现部分死亡, 尤以 48 小时达到抑制的高峰, 如图 1 所示。

### 2.2 RNA 质量检测

子宫肌瘤细胞总 RNA 提取的样品经紫外吸收测定法检测定量, 空白对照组和理冲汤组样品 RNA 溶液的  $\text{A}_{260}/\text{A}_{280}$  的比值均为  $1.8 \sim 2.1$ , 各样品中蛋白质杂质少。变性琼脂糖凝胶电泳分析, 各组 28S 和 18S 核糖体 RNA 的带非常亮而浓, 上面一条带的密度大约是下面一条带的 2 倍, 无其他大分子条带, 表明总 RNA 无蛋白质污染, 无降解, 结果见表 1、图 2。

### 2.3 基因表达谱分析

2.3.1 差异基因分析 根据理冲汤用药组与空白对照组两组间基因表达水平分析, 选取  $P < 0.05$ , 上调基因 Fold change  $> 1.5$  以及下调基因 Fold change  $< 0.5$

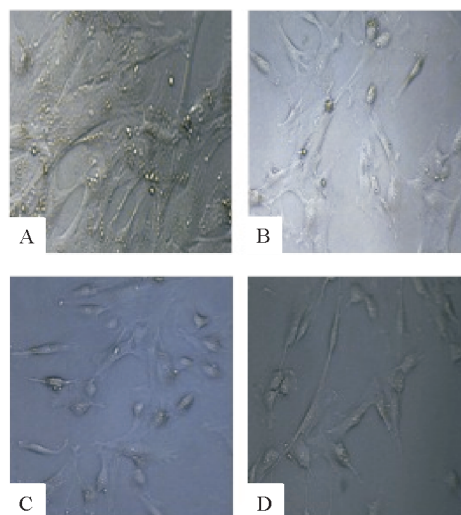


图 1 HE 染色光镜下观察含药血清干预下细胞形态变化

表 1 各组 RNA 纯化后测的浓度

组别	OD <sub>260</sub>	OD <sub>280</sub>	OD <sub>260</sub> /OD <sub>280</sub>	浓度 (ng/ $\mu$ L)
空白对照组	6.872	3.352	2.05	379.2
理冲汤用药组	6.948	3.441	2.02	428.5

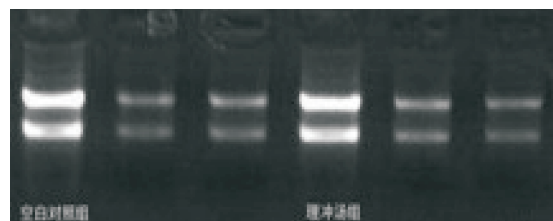


图 2 各组变性琼脂糖凝胶电泳结果

的差异基因, 结果显示, 理冲汤组与空白对照组比较后差异表达基因数量为 1154 个, 其中上调基因 630 个, 下调基因 524 个, 见图 3、4 所示。

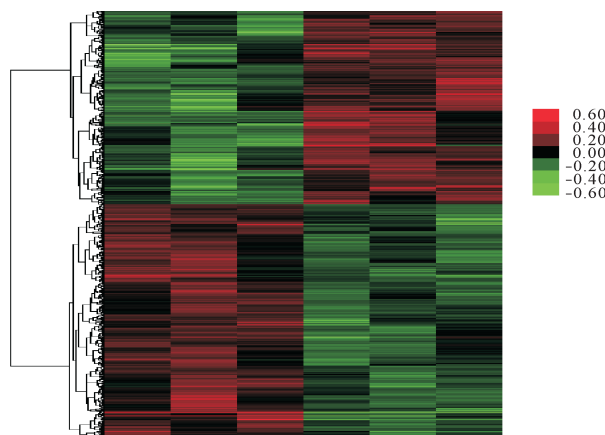


图 3 差异基因聚类分析图

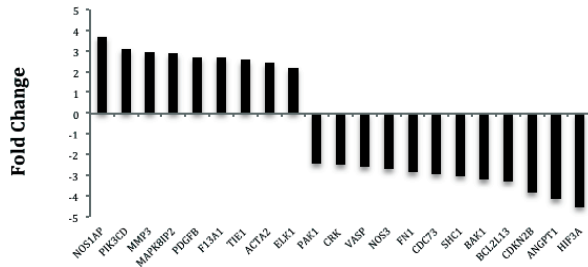


图 4 部分差异基因的变化值

**2.3.2 GO 分析** 将筛选出的差异表达基因进行 GO 分析( $P < 0.05$ )发现,富集的 GO 功能共有 119 条,其中上调的差异基因调节的 GOs 有 45 条,主要涉及信号传导、细胞凋亡的诱导、细胞增殖的负调节、血管生成的负调节等多方面的功能,其中下调的差异基因调节的 GOs 有 74 条,涉及有细胞周期及分化、细胞黏附的调节、细胞外基质的改变和细胞迁移等方面的相关功能,见图 5、6,表 2 所示。

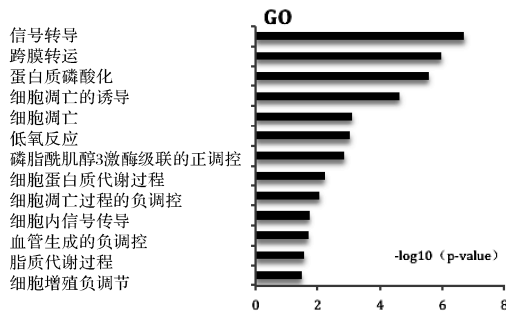


图 5 上调的差异基因调节的部分 GOs

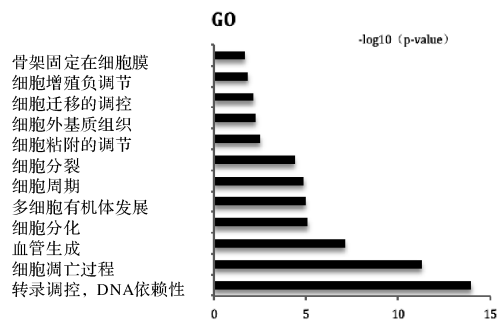


图 6 下调的差异基因调节的部分 GOs

**2.3.3 信号通路分析** 对差异基因进行信号通路分析( $P < 0.05$ ),结果显示,差异基因富集的信号通路共有 73 条,其中上调的差异基因调控 27 条信号通路,包括有细胞凋亡、趋化因子信号通路、白细胞跨内皮迁移、细胞因子及细胞因子受体的相互作用等信号通路;下调的差异基因调控 46 条信号通路,包括 MAPK 信号通路、Wnt 信号通路、TGF- $\beta$  信号通路 p53 信号通路、T 细胞受体信号转导途径、PI3K-Akt 信号通路、HIF-1 信号传导途径等,见图 7、8,表 3 所示。

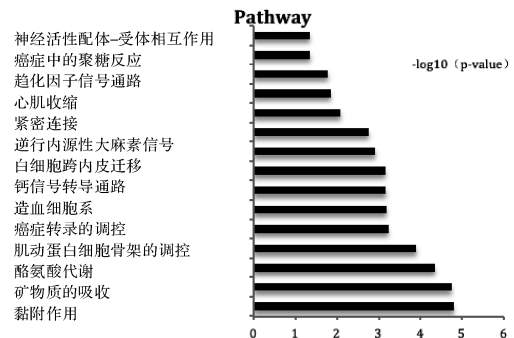


图 7 上调的差异基因调节的信号通路

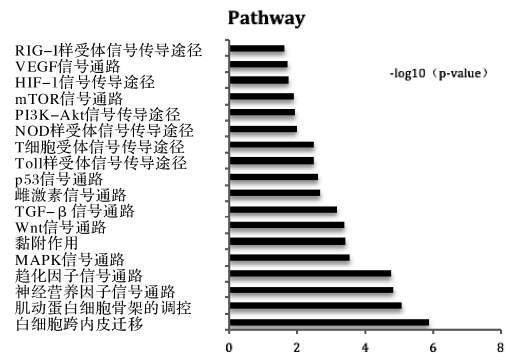


图 8 下调的差异基因调节的信号通路

**2.3.4 实时定量 PCR (RT-PCR) 验证** 选取与子宫肌瘤密切相关的 NOS3、SHC1、FN1、ANGPT1 等 4 个基因进行 RT-PCR 验证,结果显示,4 个基因在实

表 2 部分差异基因 GO 功能注释结果

GO Term	生物进程	数目	P 值	基因名
GO:0006915	细胞凋亡过程	31	5.17342E-12	BAK1; AKT2; MAPK14; CKAP2
GO:0001525	血管生成	14	7.42573E-08	SHC1; FN1; ANGPT2; IL8
GO:0030154	细胞分化	16	7.64983E-06	BMP1; USP42; TSNAX
GO:0007049	细胞周期	12	1.24445E-05	CDC73; SPIN1; DIXDC1; NEK3
GO:0030155	细胞黏附	4	0.002964461	PPP1R12A; PKP4; ROCK1; IL8
GO:0030198	细胞外基质	8	0.00527938	POSTN; FN1; FBN1; ITGAV
GO:0030334	细胞迁移的调控	4	0.006763752	PITX2; AJUBA; AKT2; UNC5C
GO:0008285	细胞增殖的负调控	10	0.013921294	IL8; CDC73; BAK1; CDKN3

表 3 部分差异基因 KEGG 通路注释

KEGG 信号通路	数目	P 值	基因名
p53 信号通路	5	0.00241223	ZMAT3;THBS1;CCNB2;CASP3;CCNB1
HIF-1 信号通路	5	0.01723721	AKT2;CAMK2G;AKT3;HIF1A
细胞外基质受体作用	6	0.02556	TNC;ITGA1;ITGB6;THBS1
血管内皮生长因子信号通路	4	0.01831048	PIKSR1;MAPK14;AKT3;AKT2
PI3K-Akt 信号传导系统	10	0.01116518	FN1;AKT2;ITGAV;FGFR2;CREB1;PIK3R1
TGF- $\beta$ 信号通路	6	0.00066069	THBS1;SP1;CDKN2B;PTX2

时定量 PCR 与基因芯片的表达水平趋势一致,故可提示基因芯片的结果基本可靠,见图 9 所示。

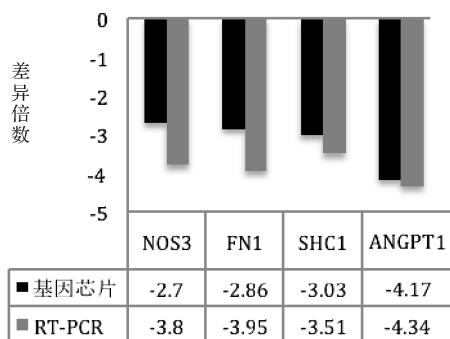


图 9 基因芯片检测结果与实时定量 PCR 结果比较

### 3 讨论

“理冲汤”出自清代名医张锡纯先生之《医学衷中参西录》,是扶正祛瘀立法治疗子宫肌瘤的代表方,方中党参、黄芪、山药、白术益气健脾;三棱、莪术、鸡内金活血破瘀,消癥散结;天花粉养阴解毒,知母凉润,既可济参芪之热,又可滋肾水之枯。温而不燥,凉而不寒,攻补结合。全方体现了扶正祛邪兼顾,消癥瘕而不伤正,益气血而不碍散癥瘕的宗旨。中医认为子宫肌瘤是“正虚”为本,“血瘀”为标,“本虚标实”是其病机关键,因此,选用具有扶正益气、祛瘀消癥功效的理冲汤是治疗子宫肌瘤的理想方剂。

通过分析子宫肌瘤细胞在理冲汤的干预治疗下基因表达谱的变化,发现与细胞凋亡相关基因 Bcl-2、Bak1 在理冲汤的治疗干预下呈现表达下调。B 淋巴细胞瘤白血病-2 蛋白 (B-cell lymphoma-2, BCL-2) 是一种凋亡抑制基因产物,能够延长细胞的生命,并且它能通过与雌激素的相互协调,共同导致子宫肌瘤的发生;同时,Palomba 等<sup>[4]</sup>的研究也证实,肌瘤组织的 Bcl-2/Bak 阳性比率显著高于同源的子宫肌层;Bcl-2 表达阳性率高的细胞寿命长、凋亡缓慢,细胞就会堆积导致肿瘤的发生<sup>[5]</sup>,说明子宫肌瘤的发病机制与细胞增殖和凋亡的过程明显相关,而本课题结果也显示子宫肌瘤细胞在理冲汤的干预下

Bcl-2 基因的表达成下调趋势,因此有理由认为,理冲汤抑制子宫肌瘤细胞的生长的作用与调控细胞凋亡的基因表达量下降有关。

子宫肌瘤的发生、发展不仅与细胞的增殖、凋亡调控紊乱有关,也与局部微环境中的血管无序生长有关。如果没有新生血管生成,肿瘤组织将保持休眠状态或发生退化。血管生长因子在肌瘤的病理机制中主要作用于异常血管系统和纤维瘤的生长与存活,而异常的血管新生又是子宫肌瘤细胞得以不断增殖的关键因素,因此,抑制相关血管生长因子的表达,成为了治疗子宫肌瘤的潜在策略<sup>[6]</sup>。促血管生成素 (angiopoietins, Ang) 是近年来发现的血管生长因子,主要存在 Ang-1、Ang-2、Ang-3 和 Ang-4 四种亚型,其中 Ang-1 与 Ang-2 两者较活跃。Nakayama 等<sup>[7]</sup>运用免疫组化法检测 1317 例子宫肌瘤的 Ang-1 表达,其阳性率为 76.5%,结果表明血管生成素在子宫肌瘤的生长、分化中起到重要作用。Ang-1 的作用机制是通过与内皮细胞特异性酪氨酸酶受体 (Tie-2) 结合而诱导自身使之磷酸化,随后促进新生血管周围支持细胞的聚集,降低血管的通透性,从而促进新生血管稳定性的增加。也有文献显示,Ang-1 的促血管生成作用也依赖于基础水平血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 的表达,在人脐静脉内皮细胞和成纤维细胞的共培养系统中,成纤维细胞分泌基础量 VEGF,在该系统中加入 Ang-1 能促进血管管腔形成,而抗 VEGF 和抗 VEGFR-2 中和抗体能有效阻断 Ang-1 的作用<sup>[8]</sup>。理冲汤组的基因芯片分析结果显示与血管生成相关的 Ang-1 的表达明显下调,并且差异基因富集的信号通路也包括有对肿瘤血管生成起重要调控作用的 VEGF 信号传导系统,由此可以看出理冲汤治疗子宫肌瘤的作用机制可能与下调 Ang-1 的表达,调控血管生成相关信号通路,进而抑制肿瘤血管生成有关。

综上所述,理冲汤对子宫肌瘤的治疗作用机制主要体现在两个方面。一是,通过对细胞凋亡相

关基因 Bcl-2 等的表达抑制;二是,通过调控与肿瘤血管生成密切相关的 Ang/Tie-2 信号传导通路而实现的。因此,深入研究分析这些基因及其参与的信号传导通路,将有利于进一步了解肌瘤的发病机制,从而能更好、更有目地的筛选预测目标和干预位点,为今后在治疗子宫肌瘤方面提供新的思路。

# 参 考 文 献

- [1] Munro MG. Uterine leiomyomas, current concepts: pathogenesis, impact on reproductive health, and medical, procedural, and surgical management[J]. Obstet Gynecol Clin North Am, 2011, 38(4):703-731.
- [2] 张锡纯. 医学衷中参西录[M]. 北京:人民卫生出版社, 2010:489.
- [3] 郑九波,李冬华,韩虹娟,等. 理冲汤对体外培养人子宫肌瘤细胞增殖和形态的影响[J]. 中医药导报,2012,18(10):12-15.
- [4] Palomba S, Orio F Jr, Russo T, et al. Antiproliferative and proapoptotic effects of raloxifene on uterine leiomyomas in postmenopausal women [J]. Fertil Steril, 2005, 84(1):154-161.
- [5] Nakashima T, Tanaka R, Yamashita Y, et al. Aranorodin and a novel derivative inhibit the anti-apoptotic functions regulated by Bcl-2 [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2008, 377(4):1085-1090.
- [6] Tal R, Segars JH. The role of angiogenic factors in fibroid pathogenesis: potential implications for future therapy[J]. Hum Reprod Update, 2014, 20(2):194-216.
- [7] Nakayama T, Inaba M, Naito S, et al. Expression of angiopoietin-1, 2 and 4 and Tie-1 and 2 in gastrointestinal stromal tumor, leiomyoma and schwannoma[J]. World J Gastrointestinal, 2007, 13(33):4473-4479.
- [8] Saito M, Hamasaki M, Shibuya M. Induction of tube formation by angiopoietin-1 in endothelial cell/fibroblast co-culture is dependent on endogenous VEGF [J]. Cancer Sci, 2003, 94(9):782-790.

(收稿日期:2014-09-10)

(本文编辑:董历华)

## 晚期胃肠道肿瘤正虚程度与外周血肿瘤缺氧相关蛋白关系

李鳌 陆文秀 赵璐 袁旭 张勇 张强 朱晏伟 孙珏 范忠泽 许建华

**【摘要】 目的** 探讨晚期胃肠道肿瘤正虚程度与外周血肿瘤缺氧相关蛋白之间的关系。**方法** 普陀医院肿瘤科 2012 年 4 月 1 日到 2013 年 4 月 10 日 IV 期胃肠道肿瘤患者 46 例,以卡氏(Karnofsky Performance Status, KPS)评分、中医症候(气短、纳差、爪甲不荣)作为评价患者正虚指标,并根据正虚指标分别分组,采用酶联免疫吸附法检测患者血清中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、骨桥蛋白(osteopontin, OPN)、碳酸酐酶 IX(carbonic anhydrase IX, CAIX)水平。**结果** 经成组  $t$  检验,晚期胃肠道肿瘤患者 KPS $\leq 60$  分组与 KPS $> 60$  分组比较,前者 VEGF、OPN、CAIX 水平分别是后者的 1.75 倍( $P < 0.05$ )、1.10 倍( $P > 0.05$ )、1.68 倍( $P < 0.05$ )。晚期胃肠道肿瘤具有气短、纳差、爪甲不荣症状患者外周血 VEGF、OPN、CAIX 水平均明显高于无上述症状患者(爪甲不荣组 CAIX 除外),其中以 VEGF 指标均有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 晚期胃肠道肿瘤正虚程度与外周血缺氧相关蛋白 VEGF、OPN、CAIX 相关。

**【关键词】** 胃肠道肿瘤; 正虚; 缺氧相关蛋白; 血管内皮生长因子; 骨桥蛋白; 碳酸酐酶 IX

**【中图分类号】** R735.2 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.03.008

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81073105,81273733);上海市普陀区自主创新项目

作者单位:200062 上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科 上海中医药大学中西医结合肿瘤介入研究所[李鳌、赵璐(博士研究生)、陆文秀(硕士研究生)、袁旭、张勇、张强、朱晏伟、孙珏、范忠泽、许建华]

作者简介:李鳌(1984-),2012 级在读博士研究生。研究方向:中医药治疗胃肠道肿瘤临床与实验研究。E-mail:wo-shi-li-ao@126.com

通讯作者:许建华(1962-),博士,主任医师,博士生导师。研究方向:中医药治疗胃肠道肿瘤临床与实验研究。E-mail:xujianhua50@126.com