

证 的 研 究

白细胞介素-1 等细胞因子与肺阴虚证
本质的相关性研究申维玺¹ 孙 燕² 张叔人² 余桂清³

摘要 应用免疫组化方法研究了白细胞介素-1(IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子(TNF α)与肺阴虚证的关系。结果表明,巨噬细胞等非瘤细胞中 IL-1 β 、TNF α 表达水平与肺阴虚证有关,肺阴虚证组非瘤细胞中 IL-1 β 、TNF α 表达水平高于正常对照组和病人对照组;非瘤细胞中 IL-1 β /IL-6 比值、TNF α /IL-6 比值与肺阴虚证有密切关系,肺阴虚证组非瘤细胞中 IL-1 β /IL-6、TNF α /IL-6 比值高于正常对照组和病人对照组。根据中医证本质标准和本文结果等综合分析,我们初步认为,IL-1 和 TNF 等细胞因子是肺阴虚证的本质。

主题词 肺阴虚/免疫学 白细胞介素-1/免疫学

我们首先提出中医证的本质是细胞内基因诱生性表达的细胞因子和阴虚证本质是白细胞介素-1(IL-1)、肿瘤坏死因子(TNF)等细胞因子^[1~3],为证实这些假说,我们用免疫组化方法研究了肺组织中 IL-1 β 、IL-6、TNF α 表达水平与肺阴虚证的关系,现将结果报告如下。

1 材料和方法

1.1 病例分组:分为 3 组:正常对照组:由于无法选用正常人的大体肺组织标本,故选用术前拟诊为肺癌而行探查手术,术后病理诊断为肺发育畸形或肺良性肿瘤等对全身无明显影响的良性病患者代替正常对照组,如肺错构瘤、肺囊肿、肺乳头状瘤等,无阴虚及其它见证;病人对照组:选用术后病理诊断为肺癌、肺结核病人,无阴虚及其它见证;肺阴虚证组:选用术后病理诊断为肺癌、肺结核等疾病,且具有典型阴虚证候的病人。

1.2 中西医诊断和辨证标准:肺癌、肺结核的诊断均以术后病理诊断为准。中医虚证辨证标准按照中西医结合虚证和老年病专业委员会的标准^[4]。

1.3 临床资料:选择 1997 年 10 月~1999 年 1 月在我院进行手术的肺良性病、肺癌、肺结核病人为对象,共 80 例。正常对照组 12 例,男 7 例,女 5 例;年龄 34~

68 岁,平均 51 岁;疾病种类:肺错构瘤 6 例,支气管肺囊肿 2 例,肺硬化性血管瘤 1 例,乳头状瘤 2 例,平滑肌瘤 1 例。病人对照组 34 例,男 22 例,女 12 例;年龄 40~70 岁,平均 56 岁。分为肺癌和非肺癌病例。24 例肺癌临床病理特点:组织学类型:鳞癌 7 例,腺癌 14 例,小细胞未分化癌 2 例,腺鳞癌 1 例。分化程度:高分化 2 例,中分化 12 例,低分化 8 例,未分化 2 例。TNM 分期:I 期 10 例,II 期 4 例,IIIa 期 5 例,IIIb4 例,IV 期 1 例。非肺癌病例:干酪性肺结核 6 例,机化性肺炎及炎性假瘤 4 例。肺阴虚证组 34 例,男 16 例,女 18 例;年龄 37~72 岁,平均 59 岁。分为肺癌与非肺癌病例两类。27 例肺癌临床病理特点:组织学类型:鳞癌 10 例,腺癌 14 例,腺鳞癌 2 例,小细胞未分化癌 1 例。分化程度:高分化 2 例,中分化 14 例,低分化 10 例,未分化 1 例。TNM 分期:I 期 5 例,II 期 7 例,IIIa 期 8 例,IIIb5 例,IV 期 2 例。7 例非肺癌病例:慢性肺炎及炎性假瘤 2 例,肺结核球 4 例,胸膜炎 1 例。

1.4 测定指标:以手术后大体肺石腊包埋组织为材料,测定了 IL-1 β 、IL-6、TNF α 在肿瘤细胞和非瘤细胞中的表达情况。3 种细胞因子的第一抗体均为鼠抗人 IL-1 β 、IL-6、TNF α 单克隆抗体,购自军事医学科学院北京邦定公司。免疫组化试剂盒使用 Zymed Laboratories Inc 生产的 LAB-SA 免疫组化检测系统,购自北京中山生物公司。

1.5 实验方法:组织片经二甲苯脱蜡、梯度酒精逐级脱水后进蒸馏水,3% H_2O_2 浸泡 10 分钟,热抗原修复 5 分钟,山羊血清封闭,滴加抗细胞因子的第一抗体工作液,IL-1 β 、IL-6、TNF α 单克隆抗体,置湿盒内室温下 1 小时;滴加生物素化的第二抗体工作液,置湿盒内室温下 20 分钟;滴加亲和素标记的 HRP,室温下 20 分钟,滴加 DAB 显色液染色;PBS 洗 3 次,苏木素复染,盐酸酒精分化、清水中返蓝,梯度酒精逐级脱水,二甲苯透明、中性树胶封片。每例病人同时做 HE 常规染色片 1 张。

1.6 免疫组化染色判断标准:在细胞膜和/或细胞浆内出现较强、棕黄色或棕红色的染色时为细胞因子染

1 广州市肿瘤医院内科,广东省广州市横枝岗路 78 号(510095)

2 中国医学科学院中国协和医科大学肿瘤医院

3 中国中医研究院广安门医院

收稿日期:1999-09-15;修回日期:2000-04-03

色阳性,无染色者为阴性。根据免疫组化结果的一般判断标准,本文将染色分为:阴性(-)、弱阳性(+)、阳性(++)、强阳性(+++)。设立阳性对照和阴性对照,阳性对照为相应抗体染色阳性的病例组织片;阴性对照用 PBS 代替第一抗体工作液进行对照。

1.7 统计方法:细胞因子与肺阴虚的关系用 Ridit 检验。IL-1 β /IL-6 和 TNF α /IL-6 比值与肺阴虚证关系的统计方法:将免疫组化等级定量结果赋以数值、相除后得出比值,用方差分析统计处理,免疫组化等级结果的数值化标准为:(-)为 1,(+)为 2,(++)为 3,(+++为 4。

2 结果

本文表达 IL-1 β 、IL-6、TNF α 的细胞有肿瘤细胞和非瘤细胞,非瘤细胞主要包括巨噬细胞、淋巴细胞、细支气管粘膜上皮细胞、成纤维细胞等。

2.1 细胞因子蛋白表达水平与肺阴虚证的关系:非瘤细胞中 IL-1 β 表达水平与肺阴虚证的关系见表 1,结果表明,肺阴虚证组非瘤细胞中 IL-1 β 表达水平高于正常对照组和病人对照组($P < 0.05$);病人对照组与正常对照组之间无明显差异($P > 0.05$)。非瘤细胞中 IL-6 表达水平与肺阴虚证的关系见表 2,统计结果表

表 1 3 组非瘤细胞中 IL-1 β 表达水平与肺阴虚证的关系

分 组	例数	-	+	++	+++
正常对照组	12	3	7	1	1
病人对照组	34	4	15	11	4
肺阴虚证组	34	2	3	13	16

表 2 3 组非瘤细胞中 IL-6 表达水平与肺阴虚证的关系

分 组	例数	-	+	++	+++
正常对照组	12	2	7	2	1
病人对照组	34	5	18	9	2
肺阴虚证组	34	5	22	6	1

表 3 3 组非瘤细胞中 TNF α 表达水平与肺阴虚证的关系

分 组	例数	-	+	++	+++
正常对照组	12	5	4	2	1
病人对照组	34	9	17	8	0
肺阴虚证组	34	1	13	18	2

表 4 3 组非瘤细胞中 IL-1 β /IL-6、TNF α /IL-6 与肺阴虚证关系比较($\bar{x} \pm s$)

分组	例数	IL-1 β /IL-6	TNF α /IL-6
正常对照组	12	0.85 $\pm$ 0.21*	0.78 $\pm$ 0.21*
病人对照组	34	1.18 $\pm$ 0.37*	0.96 $\pm$ 0.25*
肺阴虚证组	34	1.69 $\pm$ 0.52	1.31 $\pm$ 0.47

* 与肺阴虚证组比较, $P < 0.01$

明,肺阴虚证组非瘤细胞中 IL-6 表达水平与正常对照组和病人对照组无差异($P > 0.05$)。非瘤细胞中 TNF α 表达水平与肺阴虚证的关系见表 3,结果表明肺阴虚证组非瘤细胞中 TNF α 表达水平高于正常对照组和病人对照组($P < 0.05$);病人对照组与正常对照组之间差别无显著性($P > 0.05$)。

2.2 细胞因子蛋白表达水平比值与肺阴虚证的关系:表 4 示,肺阴虚证组非瘤细胞内 IL-1 β /IL-6、TNF α /IL-6 比值明显高于正常对照组和病人对照组($P < 0.01$),而病人对照组与正常对照组之间差异无显著性($P > 0.05$)。

3 讨论

细胞因子是基因诱生性表达的一类小分子多肽,与许多疾病和病理生理过程(如炎症、休克等)的发生发展有密切关系^[5~10]。我们在研究证本质的过程中,发现细胞因子与中医证有密切关系,并提出了证的本质是细胞内基因诱生性表达的细胞因子和生长因子的认识。

本文结果表明,表达 IL-1 β 、IL-6、TNF α 的细胞有两类:肿瘤细胞和非瘤细胞。非瘤细胞主要包括巨噬细胞、淋巴细胞、成纤维细胞和细支气管粘膜上皮细胞等。巨噬细胞、淋巴细胞等是机体内各种组织中都存在的细胞类型。非瘤细胞中 IL-1 β 、TNF α 表达水平与肺阴虚证密切相关,临床上肺阴虚证的病理改变和临床症状除有肺部病变和临床表现外,还有全身其它各个系统的结构和功能性异常改变,如植物神经系统、内分泌系统、免疫系统和能量代谢等。巨噬细胞等广泛分布于机体各种组织的特点符合阴虚证候的规律。

研究表明,在细胞因子网络中,IL-1、IL-6、TNF、IL-1 受体拮抗剂(IL-1Ra)、IL-8、IL-10 等与结核病、自身免疫性疾病、恶性肿瘤、革兰氏阴性细菌感染、炎症等的发生发展有密切关系^[5~10],根据它们在这些疾病过程中的作用可分为两类:IL-1、TNF、IL-8 等的作用可以引起慢性炎症改变的病理过程和临床表现;IL-1Ra、IL-6、IL-4 和可溶性细胞因子受体等则是与之相拮抗的细胞因子,它们能拮抗 IL-1 和 TNF 等的生物学作用。当机体在致病因素的作用下,IL-1、TNF 等细胞因子的基因表达增强、细胞因子产生增多、生物学活性升高,而 IL-1Ra、IL-6 和可溶性细胞因子受体等不能有效予以抑制、对抗的情况下则会产生 IL-1、TNF、IL-8 等细胞因子升高的生物学作用,出现一些慢性炎症的病理过程和临床表现。结果表明,巨噬细胞内 IL-1 β /IL-6、TNF α /IL-6 比值与肺阴虚证有密切关系。

根据证本质的分子标准^[1]、对阴虚证的理论研究结果^[4,5]和本文结果等综合分析,我们初步认为,IL-1 和 TNF 等细胞因子是肺阴虚证的本质,其发生机理是:在各种致阴虚证病因的作用下,细胞因子基因表达调控异常,IL-1、TNF 等细胞因子的基因表达增强,而与其拮抗的细胞因子,如 IL-6 等的基因表达相对不足,组织中 IL-1、TNF 的生物学活性相对升高,引起细胞因子网络自稳态失衡,并使神经-内分泌系统也发生相应的继发性改变,从而出现阴虚的证候。

参考文献

- 1 申维玺,孙燕.论中医证的化学本质是蛋白质和多肽和证本质的分子标准.中国中西医结合杂志,1999,19(11):696-698.
- 2 申维玺,孙燕.中医证的本质是细胞内基因表达调控异常产生的细胞因子.河北中西医结合杂志,1998,7(增刊):1-3.
- 3 申维玺,孙燕.用分子生物学理论阐释阴虚证的本质.医学研究通讯,1998,27(8):1-4.

- 4 沈自尹,王文健.中医虚证辨证参考标准.中国中西医结合杂志,1986,6(10):598.
- 5 Dinarello CA. Interleukin-1 and Interleukin-1 Antagonism. Blood,1991,77(8):1627-1652.
- 6 Dinarello CA. Biological basis of Interleukin-1 in disease. Blood,1996,87(6):2095-2147.
- 7 Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. The New England Journal of Medicine,1993,328(2):106-113.
- 8 Ellner JJ. Regulation of the human immune response during tuberculosis. Journal of Laboratory Clinical Medicine,1997,130(5):469-475.
- 9 Feldmann M, Brennan FM, Williams RO, et al. Cytokine expression and networks in rheumatoid arthritis: rationale for anti-TNF α antibody therapy and its mechanism of action. Journal of Inflammation,1996,47:90-96.
- 10 Tilg H, Dinarello CA, Mier JW. IL-6 and apps: anti-inflammatory and immunosuppressive mediators. Immunology Today,1997,18(9):428-432.

四神半夏泻心汤治疗慢性泄泻 30 例

熊志凌*

慢性泄泻临床以排便次数增多,大便稀薄或完谷不化,甚至水样便为特征,每日量超过 200g,病程在 2 月以上。可见于西医肠道激惹综合征,吸收不良综合征等。笔者以四神半夏泻心汤治疗慢性泄泻 30 例,获满意疗效,现报告如下。

1 临床资料

55 例患者均为门诊病人,随机分为治疗组 and 对照组。治疗组 30 例,男性 14 例,女性 16 例;年龄 18~72 岁,平均年龄 42 岁。对照组 25 例,男性 10 例,女性 15 例;年龄 21~69 岁,平均年龄 40 岁。两组病情经统计学处理,无显著差异,具有可比性($P>0.05$)。

2 治疗方法

治疗组方用四神丸合半夏泻心汤加味,药物组成:补骨脂 20g,肉豆蔻去油 15g,吴茱萸 8g,五味子 10g,姜半夏 10g,黄芩 12g,黄连 8g,干姜 8g,党参 15g,黄芪 30g,木香 12g,甘草 5g。水煎服,每日 1 剂,服药期间停用其它药物。对照组选用江西弋阳制药厂生产的肠炎宁片,每次 4 片,每日 3 次,服药期间停用其它药物。

3 疗效标准及结果

治愈:临床症状消失,大便每日 1~2 次。量正常而且成形,大便常规无异常,半年以内无复发。显效:临床症状基本好转,大便每日次数较以前明显减少,量接近正常,大便常规接近正常,半年内复发 1~2 次。无效:大便次数减少,停药后复发。治疗组 30 例,治愈 21 例,显效 7 例,无效 2 例,总有效率 93.3%;对照组 25 例,治愈 6 例,显效 10 例,无效 9 例,总有效率 64%。两组差异有显著性($P<0.05$),治疗组明显优于对照组。

* 重庆市三峡中心医院(404000)

收稿日期:2000-04-07

4 典型病例

例 1:陈某某,男,57 岁,教师。1999 年 7 月 12 日就诊。患者反复腹泻 6 年余,大便稀,每日次数达 5 次以上。给学生上课时被迫中断而去方便。往往不被学生理解而遭耻笑,内心非常痛苦。曾作全消化道钡餐、纤维结肠镜检查均无器质性病变,大便常规正常,有时可发现少许血细胞,肝功能正常。经抗炎治疗,未见好转。症见形体消瘦、身倦乏力。腹部听诊,肠鸣音亢进。舌淡红、苔白润,脉沉细。拟上方 3 剂煎服,第 4 天复诊时,自述大便次数明显减少到每日 3 次。继服原方半月,大便恢复到每日 1~2 次,至今未复发。

例 2:张某某,女,38 岁。本市制药厂工人,1998 年 4 月 6 日就诊。自述每日大便 3~4 次,反复发作半年余,特别是每餐饭后必解大便。曾作全消化道钡餐检查无器质性病变,为小肠机能亢进。大便常规少许白细胞、食物残渣和脂肪球。症见面色苍白,全身困倦乏力,舌淡苔白厚、脉沉细。拟上方 3 剂煎服。复诊时自述病情好转,继服原方半月,大便恢复正常。

5 讨论

慢性泄泻属中医“久泄”、“久痢”、“休息痢”范畴,病程日久,正虚邪恋。《景岳全书·泄泻》曰:“泄泻之本,无不由于脾胃”。但汪昂又曰:“久泄皆由肾命火衰,不能专责脾胃。”所以慢性泄泻,病位在肠胃,病机为脾肾阳虚、胃肠失于温煦,运化失司,湿盛则濡泄。虽以虚损为主,但绝不是纯虚,纯寒,临床以寒热错杂,虚实夹杂为主。故选方用药以四神丸温补脾肾,涩肠止泻,半夏泻心汤重在调和胃肠。寒热并用合其阴阳,辛开苦降顺其升降。一般用药 5~10 天,大便次数开始减少成形,症状缓解而达到临床治愈。而且综合疗效优于对照组,值得进一步研究运用。

ABSTRACTS FROM ORIGINAL ARTICLES

Clinical and Experimental Studies on Treatment of 82 Cases of Premature Beat with Zao Bo Ling

Li Shuqing, Niu Chengzao, Mu Ling

Zao Bo Ling was adopted for treatment of 82 cases of premature beat (treatment group) and Rythmol and Isoptin were used as control groups. At same time, animal experiment was carried out. Results showed that premature beat was effectively controled and palpitation, chest distress and other symptoms were relieved obviously in the treatment group. Zao Bo Ling also could treat severe heart failure and did not have toxic side-effects. The total effective rate was 78.0% with significant difference as compared with that of the Rythmol group and the Isoptin group respectively ($P < 0.05$), and the animal experiment proved that it could strengthen myocardial contractive power. It is suggested that Zao Bo Ling has reliable therapeutic effect for premature beat.

Authors' address: First Affiliated Hospital of Jinzhou Medical College, Jinzhou 121001.

Key words: Extra Systole/TCM therapy @Zao Bo Ling
(Original article on page 410)

Clinical Observation on 35 Cases of Polycystic Ovary Syndrome Treated with Tonifying the Kidney Plus Acupuncture Sang Haili

Tonifying the kidney plus acupuncture method was used for treatment of 35 cases of polycystic ovary syndrome (treatment group). Bu Shen Huo Xue Capsules No. I, II, III and IV were respectively administrated according to different syndrome types such as kidney deficiency accompanied with blood stasis and stagnation of phlegm and retention of heat in liver and gallbladder, and different time of menstrual cycle. Acupuncture treatment for promoting ovulation was carried out on the 12th day of menstruation. Results indicated that the cured rate was 48.6% and 33.3%, the total effective rate was 91.4% and 80.0%, the ovulation rate was 82.9% and 80.0%, the pregnancy rate was 42.9% and 26.7%, recovering-normal rate of menstrual cycle was 94.3% and 80.8% in the treatment group and the Clomiphene control group respectively. The treatment group in the clinical therapeutic effect, the pregnancy rate, recovering-normal rate of menstruation was significantly superior to those of the control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$).

Author's address: The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, Jinan 250012

Key words: Polycystic ovary syndrome/TCM therapy
(Original article on page 412)

Investigation on Picture of the Tongue Before and After Transplantation of Hemopoietic Stem Cells in 44 Cases of Malignant Hematopathy

Li Haiyan, Feng Sizhou, Qian Linsheng, et al.

Picture of the tongue was observed in 44 cases of malignant hematopathy before and after transplantation of hemopoietic stem cells. Results showed that before transplantation, 28/44 cases were thin fur and after transplantation the picture of the tongue had obvious change, at the early stage 29/44 cases were thick and greasy fur, 14/44 cases were dark-purplish proper of tongue, and at the late stage of transplantation 15/44 cases were thick and greasy fur, and 14/44 cases were brown, grey or black fur. From the point of view of traditional Chinese medicine, this therapy has effect on the organism in the series of patients and has a certain directive significance for clinical treatment based on differentiation of symptoms and signs.

Authors' address: Hospital of Hematopathy, Institute of Hematology, China Xiehe Medical University, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin City 300020

Key words: Hematopathy/surgical operation Hemopoietic stem cell

(Original article on page 422)

Study on Correlatively of Interleukin-1 and Other Cellular Factors with Essence of Deficiency of the Lung-yin

Shen Weizi, Sun Yan, Zhang Shuren, et al.

The relations between of interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor (TNF α) and lung yin-deficiency syndrome were studied by means of immunohistachemical method. Results indicated that expression levels of IL-1 β and TNF α in macrophages and other non-tumor cells were correlated with lung yin-deficiency syndrome, expression levels of IL-1 β and TNF α in non-tumor cells of lung yin-deficiency syndrome group were higher than those of normal control group and patient control group; the IL-1 β /IL-6 ratio and TNF α /IL-6 ratio in non-tumor cells were closely related with lung yin-deficiency syndrome, IL-1 β /IL-6 ratio and TNF α /IL-6 ratio in non-tumor cells of lung yin-deficiency group were higher those of the normal control group and the patient control group. The authors hold that IL-1 β and TNF α cellular factors are essence of yin-deficiency.

Authors' address: Guangzhou City Hospital of Tumor, Guangzhou 510095.

Key words: Deficiency of the Lung-yin/immunology
(Original article on page 423)