

细胞、腺上皮细胞中都有 bFGF 的分布,服用大剂量补肾生血药,老龄地鼠子宫 bFGF 表达的整体水平与对照组显著升高,与青年对照组水平接近。

VEGF 是血管内皮细胞特异性的有丝分裂原,可促进 EC 增殖,改变细胞外基质的成分,促进血管的新生^[4]。本实验显示,金黄地鼠子宫内膜中 VEGF 主要分布在血管内皮细胞,属于胞浆内抗原,青年组表达水平较高,服药后,老龄动物子宫 VEGF 整体表达水平提高,接近青年动物水平,与老龄对照组有显著差异。由于 EC 表面有 VEGF 特异受体,此种染色的增强可能是由与 EC 表面受体结合的 VEGF 或被 EC 吸收的 VEGF 的增加引起的^[6]。虽然, bFGF 与 VEGF 有协同作用,但在本实验中这两种因子表达的增长无线性相关。

肾为先天之本,藏有“先天之精”,主人体的生长和发育。《素问·上古天真论》中明确指出了机体的生长、壮老己,与肾气的盛衰有密切关系,女子肾气充盈,则天癸至,生殖功能旺盛,步入老年,肾气衰退,则天癸枯竭,女子胞失却肾精的滋养,逐渐枯萎废用,丧失生殖功能。补肾生血药是根据中医肾生髓理论,在多年临床实践基础上总结出来的方剂,具有滋肾养阴、填精生血的功效^[7]。本方以熟地、山茱萸滋补肾中之阴精,黄芪、阿胶等益气补血,使肾中精气充足,冲任气血旺盛,女子胞得到濡养,功用得以恢复,并可延缓衰老、益寿延年。以往研究发现,本药虽不提高老龄动物的雌激素水平,但具有激素样的作用。结合本结果推测:补肾生血药使肾精充足,髓

海充盈,精血化生有源,促进体内出现类性激素作用,从而刺激子宫组织 bFGF、VEGF 表达的增加,以产生局部促进血管生成样的作用。

参 考 文 献

- [1] Shing Y., Folkman J., Sillias J. Heparin-affinity purification of a tumor derived capillary endothelial cell growth factor[J] Science, 1984, 223: 1296.
- [2] David Zagzag Douglas C. *et al* Immunohistochemical localization of basic fibroblast growth factor in Astrocytomas[J] Cancer Res, 1990, 50: 7393.
- [3] Lawrence F., Brown brygidu berse Vascular permeability factor mRNA and protein expression in human kidney[J] Kidney International, 1992, 42: 1457.
- [4] Werner Risau Angiogenic growth factors[J] Pro. In growth factor Res, 1990, 2: 71.
- [5] R. Montesano J., D. Vassalli *et al* Basic fibroblast growth factor induces angiogenesis in vitro [J] Proc Natl Acad Sci U S A., 1986, 83: 7297.
- [6] Olander J. V., D.T. Connolly *et al* Specific binding of vascular permeability factor [J] Biochem Biophys Res Commun, 1991, 175: 68.
- [7] 吴志华, 姜葆华, 李承军, 等. 肾生髓理论分子基础的研究[J]. 中医杂志, 1996, 37: 91.

收稿日期: 2000-03-05 修回日期: 2000-06-16

作者简介: 王蕾(1972-), 女, 山东人, 中国中医研究院广安门医院实习研究员, 医学硕士, 主要从事肾本质和血管生成活性机理研究。

· 实验研究 ·

肺癌细胞 L-1 β L-6、TNF α 、IFN- γ 与肺癌阴虚证相关的免疫组化研究

申维玺¹, 孙 燕², 张叔人²

(1. 广州市肿瘤医院内科, 广东 广州 510095; 2. 中国医学科学院肿瘤医院, 北京 100021)

摘 要: 目的: 为探讨 L-1、TNF 等相关细胞因子与肺阴虚证的关系, 以验证阴虚证本质是 L-1、TNF 等细胞因子的假说。方法: 51 例肺癌病人分为肺癌无阴虚组和肺癌阴虚组, 以手术后大体肺石腊包埋组织标本为材料, 用免疫组化方法测定了 L-1 β L-6、TNF α 、IFN- γ 在肺癌细胞中的染色情况。结果: 肺癌细胞内 TNF α 与肺阴虚证有关, 阴虚组病例肺癌细胞中 TNF α 染色水平高于肺癌无阴虚组 ($P < 0.05$); 肺癌细胞中 L-1 β L-6、IFN- γ 与肺阴虚证无关 ($P > 0.05$)。结论: 本文结果表明, 肺癌细胞中 TNF α 与肺阴虚证有一定

相关性。

关键词: 肺癌; 阴虚证本质; 细胞因子; 免疫组织化学

中图分类号: R 285.5 文献标识码: B 文章编号: 1006-3250(2000)12-0028-03

我们首先提出中医虚证的本质是基因诱生性表达细胞因子和阴虚证本质可能是白细胞介素1(L-1)、肿瘤坏死因子(TNF)等细胞因子的假说^[1-3]。为验证这一假说,选择于1997年10月至1999年1月在中国医学科学院肿瘤医院进行手术治疗的肺癌病人为对象,以术后大体肺石腊包埋组织为材料,用免疫组化方法探讨了肺癌细胞中L-1 β 、白细胞介素6(L-6)、TNF α 和干扰素 γ (IFN- γ)染色水平与肺阴虚证的关系,现报告如下。

材料与方 法

1 病例分组及诊断标准

肺癌无阴虚组:选用术后病理诊断为肺癌,不伴有阴虚及其他见证的病人;肺癌阴虚证组:选用术后病理诊断为肺癌,且具有典型阴虚证候的病人。肺癌的诊断以术后病理组织学诊断为准;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]。

2 临床资料

共51例。肺癌无阴虚组:男16例,女8例。年龄范围40岁~56岁,平均年龄为50岁。组织学类型:鳞癌7例,腺癌13例,小细胞未分化癌2例,肺泡癌1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, III_a期5例, III_b4例, IV期1例。阴虚证实验组:男13例,女14例,年龄范围37岁~62岁,平均年龄52岁。组织学分类:鳞癌10例,腺癌11例,肺泡癌3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, III_a期8例, III_b5例, IV期2例。

3 观察指标

以手术后大体肺石腊包埋组织为材料,测定了L-1 β 、L-6、TNF α 、IFN- γ 在肺癌细胞中的染色情况。4种细胞因子的第一抗体均为鼠抗人L-1 β 、L-6、TNF α 、IFN- γ 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。

4 实验方法

切5 μ m组织片,二甲苯脱蜡,梯度酒精后蒸蒸馏水,3% H₂O₂浸泡10min,热抗原修复5min,正常山羊血清室温下封闭10min,弃去多余血清,滴加抗细

胞因子的第一抗体工作液;L-1 β 、L-6、TNF α 、IFN- γ 单克隆抗体,置湿盒内室温下1h;PBS洗3次;滴加生物素化的第二抗体工作液;滴加亲和素标记的HRP,室温下20min, PBS洗3次,滴加DAB显色液染色,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。免疫组化染色判断标准根据细胞染色的强度和阳性细胞所占比例进行综合判断^[5]:在细胞膜或细胞浆内出现较强,棕黄色或棕红色,颗粒状的染色时定为细胞因子染色阳性,无染色者为阴性。本文将染色结果分为:阴性(-)、弱阳性(+)、阳性(++)、强阳性(+++)。设立阳性对照和阴性对照,阳性对照采用相应抗体染色阳性的病例组织片;阴性对照用PBS代替第一抗体进行对照。

5 统计学方法

细胞因子与肺阴虚的关系用Ridit检验。

结 果

1 细胞因子染色阳性的细胞类型

本文结果表明,L-1 β 、L-6、TNF α 、IFN- γ 染色阳性的细胞有肺癌细胞和非瘤细胞。非瘤细胞包括巨噬细胞、淋巴细胞、支气管粘膜上皮细胞等,其实验结果另文总结。

2 细胞因子染色水平与肺阴虚证的关系

肺癌细胞中L-1 β 染色水平与肺阴虚证的关系见表1。结果表明,肺癌细胞内L-1 β 染色水平与肺阴虚证无明显的相关关系:肺癌阴虚组的癌细胞内L-1 β 染色水平与肺癌无阴虚组无明显差别($P > 0.05$)。

表1 肺癌细胞L-1 β 染色水平与肺阴虚证的关系

| 分 组 | 例数 | - | + | ++ | +++ |
|-------|----|---|----|----|-----|
| 肺癌无阴虚 | 24 | 8 | 10 | 6 | 0 |
| 肺癌阴虚组 | 27 | 5 | 12 | 6 | 4 |

注: $P > 0.05$

肺癌细胞中L-6染色水平与肺阴虚证的关系见表2。统计学处理结果表明,肺癌细胞内L-6染色水平与肺阴虚证无关:肺癌阴虚组的癌细胞内L-6染色水平与肺癌无阴虚组的差别无统计学意义(P

> 0.05)。

表2 肺癌细胞 L-6染色水平与肺阴虚证的关系

| 分 组 | 例数 | - | + | ++ | +++ |
|--------|----|---|----|----|-----|
| 肺癌无阴虚组 | 24 | 6 | 15 | 2 | 1 |
| 肺癌阴虚组 | 27 | 6 | 18 | 2 | 1 |

注: $P > 0.05$

肺癌细胞中 TNF α 染色水平与肺阴虚证的关系见表3。结果表明, 肺癌细胞内 TNF α 染色水平与肺阴虚证有关: 肺癌阴虚组的癌细胞内 TNF α 染色水平高于肺癌无阴虚组, 差别有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表3 肺癌细胞 TNF α 染色水平与肺阴虚证的关系

| 分 组 | 例数 | - | + | ++ | +++ |
|--------|----|---|----|----|-----|
| 肺癌无阴虚组 | 24 | 7 | 14 | 3 | 0 |
| 肺癌阴虚组 | 27 | 5 | 9 | 11 | 2 |

注: $P < 0.05$

肺癌细胞中 IFN- γ 染色水平与肺阴虚证的关系见表4。结果表明, 肺癌细胞内 IFN- γ 染色水平与肺阴虚证无关: 肺癌阴虚组肺癌细胞内 IFN- γ 染色水平与肺癌无阴虚组的差别无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表4 肺癌细胞 IFN- γ 染色水平与肺阴虚证的关系

| 分 组 | 例数 | - | + | ++ | +++ |
|--------|----|----|----|----|-----|
| 肺癌无阴虚组 | 24 | 11 | 12 | 1 | 0 |
| 肺癌阴虚组 | 27 | 9 | 14 | 3 | 1 |

注: $P > 0.05$

讨 论

细胞因子是基因诱生性表达的多肽, 在疾病的发生发展中起着关键性的作用^[6-9]。我们在研究过程中发现, 细胞因子符合中医虚证本质的标准, 并根据分子生物学理论等提出了阴虚证本质是 L-1、TNF 等细胞因子的假说^[1-3]。

细胞因子主要由巨噬细胞、淋巴细胞、成纤维细胞等合成和分泌。本文研究结果表明, 除巨噬细胞、淋巴细胞、成纤维细胞等外, 肺癌细胞中 L-1 β L-6 TNF α IFN- γ 也常有不同程度的阳性染色, 其机

理可能是由于肺癌细胞的基因突变, 引起基因表达调控异常或肺癌细胞膜上细胞因子受体与相应细胞因子结合等多种因素引起的^[10]。

本文结果表明, 肺癌细胞内 L-1 β L-6 IFN- γ 染色水平与肺阴虚证无关, 因此这些细胞与阴虚证的确切关系还有待于进一步的研究。肺癌细胞 TNF α 染色水平与肺阴虚证有关, 这说明在肺阴虚证的发生发展过程中, TNF α 可能起着更重要的作用。这一实验研究结果与我们对阴虚证本质的理论研究的结果基本符合。

参 考 文 献

- [1] 申维玺, 孙燕. 论中医证的化学本质是蛋白质和肽和证本质的分子标准[J]. 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染色调控异常产生的细胞因子[J]. 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[J]. 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[J]. 中国中西医结合杂志, 1986, 6(10): 598.
- [5] 中华病理学杂志编辑委员会. 全国免疫组织化学技术与诊断标准化专题研讨会会议纪要[J]. 中华病理学杂志, 1996, 25(6): 326-328.
- [6] Dinarello CA. Interleukin-1 and Interleukin-1 Antagonism [J]. Blood 1991, 77(8): 1627-1652
- [7] Dinarello CA. Biological basis of Interleukin-1 in disease [J]. Blood, 1996, 87(6): 2095-2147.
- [8] Dinarello CA and Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease [J]. The New England Journal of Medicine, 1993, 328(2): 106-110
- [9] Ellner JJ. Regulation of the human immune response during tuberculosis [J]. Journal of Laboratory Clinical Medicine, 1997, 130(5): 469-475
- [10] Tran TA K, Kallakury BV, Ambros RA, et al Prognostic significance of tumor necrosis factors and their receptors in nonsmall cell lung carcinoma [J]. Cancer, 1998, 83(2): 275-282

收稿日期: 2000-01-11 修回日期: 2000-06-11

作者简介: 申维玺 (1958-), 男, 医学博士, 广州市肿瘤医院副主任医师, 从事恶性肿瘤中西医结合研究和中医证本质研究。近年来在国内外首先提出中医虚证的本质是细胞内基因诱生性表达的细胞因子理论假说。

Immunohistochemical Research of Correlation between $L-1\beta$ $L-6$ $TNF\alpha$ $IFN-\gamma$ in Lung Cancer Cells and Lung Cancer Yin-deficiency Syndrome

SHEN Wei-xi¹, SUN Yan², ZHANG Shu-ren³

(1. Guangzhou Tumor Hospital, Guangzhou 510095;

2. Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021)

Abstract Object: To observe the correlation between $L-1\beta$ $L-6$ $TNF\alpha$ $IFN-\gamma$ in lung cancer cells and lung Yin-deficiency syndrome Method: 51 patients were divided into 2 groups: lung cancer non-Yin-deficiency group, lung cancer Yin-deficiency group. $L-1\beta$ $L-6$ $TNF\alpha$ $IFN-\gamma$ were determined in postoperative paraffin-embedded specimen with immunohistochemistry. Result: The results showed that there was a close correlation between $TNF\alpha$ and lung Yin-deficiency syndrome $TNF\alpha$ content in lung cancer cells was higher in lung cancer Yin-deficiency group than in lung cancer non-Yin-deficiency group ($P < 0.05$). Conclusions: The results showed $TNF\alpha$ in lung cancer cells was related to lung Yin-deficiency syndrome

Key words Lung cancer; Yin-deficiency essence; Cytokines; Immunohistochemistry

• 临床基础 •

从部位论治咳嗽的体会

卢世秀¹, 王 凡²

(1. 首钢总医院中医科, 北京 100041; 2. 北京护国寺中医医院, 北京 100035)

咳嗽是肺部疾病的主要症状, 一般治疗或从病因论治, 如从寒、从热、从燥, 或从脏腑病机论治, 如痰湿蕴肺、肝火犯肺、肺肾阴虚等。笔者在长期的临床实践中发现, 由于病邪侵犯的部位不同, 因而咳嗽具有不同的特点, 根据这些特点采取相应的治法, 选用相应的药物可取得较好的疗效。下面谈一点体会。

1 咳在咽喉

此种咳嗽系由咽部疾患所引起, 病在声门以上, 以往不被重视, 虽古籍中有呛咳、干咳、痒咳等论述, 但以喉源性咳嗽命名却是近年的事。其临床特点是, 咳嗽同时伴有咽干咽喉作痒或不适, 患者常诉咽部有蚁行感或有异物感, 干咳少痰, 虽有痰亦为咽喉部的分泌物, 量少质粘, 咳而不爽, 夜间咳甚, 轻者时或一咳, 重者咽部奇痒, 咳嗽不止, 彻夜不能眠, 非饮水不能缓解。咳嗽可持续较长时间, 甚或经年累月不易治愈。临床发现, 此病多发生在外感之后, 特别是在

气候干燥的秋、冬、春季更易发病, 其病机为素体阴津不足致咽喉失润, 局部抵抗力下降。外邪侵袭易稽留于此, 刺激咽喉部的咳嗽反射器而引发咳嗽。故此咳嗽并不涉及肺与支气管, 而是属于现代医学的喉科疾病。治疗当以利咽为法, 通过清利咽喉来止咳。用药当选作用于咽喉部者, 如银花、连翘、牛蒡子、板蓝根、蝉衣、桔梗、玄参等清热利咽之品。由于大多数患者因咽痒而咳, 根据“无风不做痒”的理论, 利咽剂中又应加入祛风止痒之品, 如蝉蜕、僵蚕、荆芥、薄荷等。再根据病因及兼症的不同选配其他药物, 如咽干欲饮可配芦根、花粉、麦冬、沙参、乌梅; 咽有异物感配浙贝、海浮石、半夏、射干、陈皮、茯苓; 久咳不止配诃子、五味子; 伴有鼻塞、流涕等表证者, 加荆芥、防风、苏叶等。

病案1: 刘×, 男, 46岁, 司机。1999年1月20日初诊。咳嗽半年不愈, 时轻时重, 近1月因外感而加重。