

($P < 0.01$)。中药组与西药组肾小球较模型组明显减轻 ($P < 0.05$) (见表 2)。

表 2 各组糖尿病大鼠 4、8、12 周肾脏病理形态改变情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MGA ($10^2 \mu m^2$)			MGV ($10^3 \mu m^3$)		
		4 周	8 周	12 周	4 周	8 周	12 周
正常组	7	250.52 $\pm$ 21.27	283.34 $\pm$ 28.12	301.12 $\pm$ 23.47	267.59 $\pm$ 50.91	293.66 $\pm$ 65.59	312.24 $\pm$ 52.28
模型组	10	326.41 $\pm$ 67.23*	465.96 $\pm$ 98.12**	524.15 $\pm$ 88.76**	336.75 $\pm$ 62.63*	390.57 $\pm$ 75.83**	442.27 $\pm$ 69.63**
中药组	10	261.20 $\pm$ 48.37	347.50 $\pm$ 88.35*	389.69 $\pm$ 67.56***	256.67 $\pm$ 63.55	304.37 $\pm$ 61.89*	339.72 $\pm$ 61.85***
西药组	10	266.46 $\pm$ 41.31	339.88 $\pm$ 84.21*	376.45 $\pm$ 79.87***	238.68 $\pm$ 52.53	294.86 $\pm$ 64.57*	348.87 $\pm$ 67.59***

与正常组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3. 糖微康对 DN 大鼠肾脏皮质 TGF- β_1 基因表达的影响: 12 周后模型组肾脏皮质 TGF- β_1 mRNA 水平为 20.21 ± 9.60 , 较正常单切组 10.51 ± 4.32 明显升高 $P < 0.01$; 中药组和西药组 TGF- β_1 mRNA 水平分别为 12.41 ± 5.11 和 14.01 ± 4.62 , 两组 TGF- β_1 mRNA 水平较模型组均明显下降 ($P < 0.01$)。

三、讨 论

糖尿病肾病是糖尿病最为常见的微血管并发症, 其病理表现为肾小球细胞外基质 (ECM) 的异常沉积, 最终可导致肾小球硬化。多项研究证实: TGF- β_1 表达增强与 ECM 沉积相一致, TGF- β_1 是肾小球硬化的重要介质^[3]。TGF- β_1 在肾小球的持续表达可诱导多种细胞基质蛋白如胶原 I、IV、纤维蛋白 (FN) 等异常增加。Sharma 用 TGF- β_1 抗体阻断其活性可明显减轻肾小球体积的增加和胶原 I、IV、纤维蛋白 (FN) 等蛋白的增加, 提示如果抑制 TGF- β , 在肾脏的过度表达或阻断其作用是防治和延缓糖尿病肾病向肾小球硬化进展的一条有效途径。针对 TGF- β_1 为靶向的治疗以成为近年来的研究热点。如用 TGF- β_1 抗血清中和 TGF- β_1 的作用可降低大鼠抗 Thy-1 肾炎模型的 ECM 过多沉积, 而不影响其正常的修复功能^[3], 但是抗血清有血清毒作用。Isaka 通过大鼠肾动脉用 HVJ-脂质体向抗 Thy-1 肾炎模型导入反义 TGF

- β_1 寡核苷酸, 导致 TGF- β_1 mRNA、其蛋白及 ECM 水平显著下降。该方法可有效地将外源性基因导入靶细胞, 但外源基因过表达时间较短, 仅为数天。虽然 TGF- β_1 为靶向的基因治疗在肾小球硬化动物实验已见效果, 但 TGF- β_1 的多种生物学功能及其与其他细胞因子的相互作用, 使这种方法真正应用于临床治疗尚需进一步研究。

本实验观察中药糖微康对 DN 大鼠治疗作用, 结果显示本药具有减轻肾脏肥大, 下调 TGF- β_1 mRNA 的表达, 表明糖微康可减少肾小球细胞外基质形成, 延缓肾脏肥大进程, 对糖尿病肾脏病变有保护作用, 与开博通组相比较, 治疗效果较为接近。糖微康作用机制可能与 ACEI 类药物相异, 其确切机制有待进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Shankland SJ, Scholey JW. Expression of transforming growth factor β during diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int*, 1994, 46: 430-442
- 2 Shankland SJ, Scholey JW. Expression of transforming growth factor β during diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int*, 1994, 46: 430-442
- 3 刘国元. TGF- β_1 与肾小球硬化关系的研究. 国外医学泌尿系统分册, 2002, 6 (22): 361-364

(收稿: 2002-02-20)

IL-8、IL-10 与阴虚证相关的实验研究

广州市肿瘤医院 (广州 510095) 申维玺

中国医学科学院肿瘤医院 (北京 100021) 孙 燕* 张叔人

摘 要 目的 观察 IL-8、IL-10 与阴虚证的关系, 验证阴虚证本质科学假说的正确性。方法 80 例肺癌和肺结核端病人分为良性肿瘤对照组、无阴虚对照组和阴虚证实验组, 用免疫组化方法测定 IL-8、IL-10 在肺组织巨噬细胞等细胞中表达的情况。结果 巨噬细胞等细胞中 IL-8 的表达水平和 IL-8/IL-10 比值与阴虚证有关, 阴虚证实验组病人肺组织中巨噬细胞等细胞中 IL-8 的表达水平和 IL-8/IL-10 比值高于良性肿瘤对照组和无阴虚对照组 ($P < 0.05$); 巨噬细胞等细胞中 IL-10 的表达水平与阴虚证无关 ($P > 0.05$)。结论 本文研究结果支持阴虚证的本质是由于细胞因子网络紊乱的结果的科学假说。

关键词 阴虚证 本质 IL-8 IL-10 免疫组织化学

* 中国工程院院士

近年来，我们在研究中医证本质的过程中提出了中医虚证的本质是细胞因子、阴虚证的发病学机制是由于细胞因子网络紊乱的结果^[1]，为验证这一科学假说，选择于 1997 ~ 1999 年在中国医学科学院肿瘤医院进行手术治疗的肺癌和肺结核等病人为对象，用免疫组化方法研究了白细胞介素 8 (IL-8) 和白细胞介素 10 (IL-10) 的表达水平与阴虚证的关系，现报告如下。

一、资料与方法

1. 西医疾病诊断、中医辨证标准和病例分组：肺癌和肺结核的诊断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。^[10] 本研究病例分为 3 组：良性肿瘤对照组：选用肺错构瘤、肺囊肿、乳头状瘤等疾病的病人，不伴有阴虚及其他见证；无阴虚对照组：选用肺癌、肺结核不伴有阴虚及其它见证的病人；阴虚证实验组：选用肺癌、肺结核等疾病且具有典型阴虚证候的病人。

2. 临床资料：共 80 例病人。良性肿瘤对照组：12 例，男 7 例，女 5 例；年龄范围 34 ~ 68 岁，平均年龄 51 岁。其中肺错构瘤 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。无阴虚对照组：34 例，男 22 例，女 12 例，年龄范围 40 ~ 70 岁，平均年龄 56 岁；其中肺癌 24 例和非肺癌病例 10 例，24 例肺癌临床病理特点：鳞癌 7 例，腺癌 14 例、小细胞未分化癌 2 例、腺鳞癌 1 例。TNM 分期为 I 期 10 例，II 期 4 例，III_a 期 5 例，III_b 期 4 例，IV 期 1 例。10 例非肺癌病例中干酪性肺结核 6 例、机化性肺炎及炎性假瘤 4 例。阴虚证实验组：34 例，男 16 例，女 18 例，年龄范围 37 ~ 72 岁，平均年龄 59 岁；其中肺癌 27 例与非肺癌病例 7 例，27 例肺癌临床病理特点：鳞癌 10 例，腺癌 14 例，腺鳞癌 2 例，小细胞未分化癌 1 例；TNM 分期为 I 期 5 例，II 期 7 例，III_a 期 8 例，III_b 期 5 例，IV 期 2 例。7 例非肺癌病例中慢性肺炎及炎性假瘤 2 例、肺结核球 4 例、胸膜炎 1 例。

3. 实验方法：以手术后大体肺石腊包埋组织为材料，测定了 IL-8、IL-10 在肺癌细胞和巨噬细胞、淋巴细胞、成纤维细胞和支气管粘膜细胞等细胞中的染色情况。第 I 抗体为鼠抗人 IL-8、IL-10 的单克隆抗体。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。实验步骤为：切 5 μ m 组织片；二甲苯脱腊；梯度酒精后进蒸馏水；3% H₂O₂ 浸泡 10 分钟；热抗原修复 5 分钟；正常山羊血清室温下封闭 10 分钟；弃去多余血清；滴加抗细胞因子的第一抗体工作液，IL-8、IL-10 单克隆抗体，置湿盒内室温下 1 小时；PBS 洗 3 次；滴加生物素化的第二抗体工作液，置湿盒内室温下 20 分钟；PBS 洗 3 次；滴加亲和素标记的 HRP，室温下 20 分钟；PBS 洗 3 次；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。每例病人同时进行 HE 常规染色片 1 张。免疫组化染色评价标准：在细

胞膜和细胞浆内出现较强、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。综合国内外免疫组织化学结果的判断标准，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 I 抗进行对照。

4. 统计学分析方法：IL-8 和 IL-10 与阴虚证的关系用 Ridit 检验。IL-8/IL-10 比值与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。

二、结 果

1. IL-8、IL-10 表达的细胞类型：本文结果表明表达 IL-8、IL-10 的细胞主要是巨噬细胞、淋巴细胞、成纤维细胞、支气管粘膜上皮细胞和肺癌细胞等。

2. IL-8、IL-10 的表达水平与阴虚证的关系：巨噬细胞等细胞中 IL-8、IL-10 的表达水平与阴虚证的关系见表 1 和表 2，结果表明阴虚证实验组中肺组织巨噬细胞中 IL-8 的表达水平高于良性肿瘤对照和无阴虚对照组 ($P < 0.05$)；无阴虚对照组与良性肿瘤对照组之间无差别 ($P > 0.05$)；各组巨噬细胞中 IL-10 的表达水平无显著差别 ($P > 0.05$)。

表 1 巨噬细胞中 IL-8 表达水平与阴虚证的关系

分组	例数	-	+	++	+++
良性肿瘤对照组	12	3	6	3	0
无阴虚对照组	34	6	15	10	3
阴虚证实验组	34	2	8	13	11

表 2 巨噬细胞中 IL-10 表达水平与阴虚证的关系

分组	例数	-	+	++	+++
良性肿瘤对照组	12	2	6	2	2
无阴虚对照组	34	5	16	10	3
阴虚证实验组	34	4	18	8	5

3. IL-8/IL-10 比值与阴虚证的关系：巨噬细胞中 IL-8/IL-10 比值与阴虚证的关系见表 3，结果表明阴虚证实验组巨噬细胞中 IL-8/IL-10 的比值明显高于良性肿瘤对照组和无阴虚对照组 ($P < 0.05$)。

表 3 巨噬细胞中 IL-8/IL-10 比值与阴虚证的关系

分组	例数	范围	均数	标准差
良性肿瘤对照组	12	0.62 ~ 1.52	0.89	0.25
无阴虚对照组	34	0.50 ~ 2.02	1.20	0.39
阴虚证实验组	34	0.61 ~ 2.82	1.69	0.52

三、讨 论

临床实践表明在结核病、自身免疫性疾病、肺癌、肝癌、革兰氏阴性细菌感染和一些慢性炎症等的发生发展过程中常会出现典型的阴虚证候,这种现象说明这些疾病与阴虚证密切相关。根据医学模式的唯一性原理和病与证的统一性原理,我们可以推断出这些相关疾病的发病学机理和发病学过程中就包含了阴虚证的本质和发病学机理,因此,如果能全面分析现代医学近年来在这些相关疾病的发病学机理研究方面取得的新进展和新理论,从整体上掌握这些相关疾病的整体发病学过程,我们就可能从中发现了阴虚证的本质。

细胞因子(Cytokine)在疾病的发生发展过程中起着关键性作用。细胞因子网络(Cytokine Network)的含义侧重于从功能的角度描述体内各种细胞因子基因表达的相互调控和生物学效应的相互作用(协同、拮抗和相互提供发挥效应的生物学背景等)的复杂生物学关系,这对于研究和认识人类疾病的病理生理学发病机制具有重要意义。实验研究证明白细胞介素1(IL-1)、IL-6、IL-8、IL-10肿瘤坏死因子(TNF)、IL-1受体拮抗剂(IL-1Ra)等细胞因子与结核病、自身免疫性疾病、革兰氏阴性细菌感染等的发生发展有密切关系,但这些细胞因子在这些疾病中发挥的生物学作用是不同的,IL-1、TNF、IL-8等炎性细胞因子群是引起炎症表现的细胞因子群,而IL-1Ra、IL-6、IL-10、可溶性细胞因子受体等细胞因子群则是与炎性细胞因子群相拮抗的细胞因子群,二类细胞因子群之间相互作用和拮抗,当这两类细胞因子群生物学活性的相互拮抗状态是处于平衡状态时,则不会出现明显的炎症病理改变和临床表现,但当IL-1Ra、IL-10等细胞因子群不能拮抗炎性细胞因子的生物学活性时,则会出现炎症的各种病理变化和临床表现,如发热、五心烦热、消瘦、舌红、脉搏细速等。通过综合的比较研究,我们发现结核病、自身免疫性疾病等疾病中出现IL-1、TNF、IL-8等细胞因子生物学活性相对升高的状态时,与中医阴虚证候的临床表现相符合。根据这一现象和相关的研究,我们提出了阴虚证本质的科学假说。

传统以来,中医证本质的实验研究往往设立正常人对照组,这在许多实验研究中是难以做到的,如本实验研究中由

于无法获得正常人的大体肺组织标本,故本文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、肺错构瘤、肺囊肿、肺乳头状瘤等良性肿瘤代替正常人对照组,一般来说,当这些良性肿瘤处于局限期时,不会对于全身引起明显的病理生理学改变,可以代替正常人对照组。实际上,根据统计学原理,某种疾病的对照组已经排除的这种疾病对于证本质的影响,故此从统计学的角度来讲,在证本质的许多实验研究中是不需要设立正常人对照组的。

本文结果表明,肺组织巨噬细胞等细胞中IL-8的表达水平和IL-8/IL-10比值与阴虚证密切相关,阴虚实验证组病人肺组织巨噬细胞的IL-8表达水平和IL-8/IL-10比值高于良性肿瘤对照组和无阴虚对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),巨噬细胞中IL-10的表达水平与阴虚证无关($P < 0.05$)。这一结果符合我们的理论研究结果。结合分析文献资料和本研究结果^[1-5],我们认为,阴虚证的本质是细胞因子、其发病学机制是由于机体在各种致病因素的损害作用下,IL-1、TNF等细胞因子群的基因表达相对增强、生物学活性相对升高,而与之相拮抗的细胞因子群,如IL-1Ra、IL-10等细胞因子群不能有效地与之相拮抗,从而引起细胞因子调控网络紊乱的结果;由于细胞因子调控网络的本质性功能紊乱,使得细胞因子网络信号传导调控紊乱,引起机体各个系统、器官、组织和细胞都发生一系列的继发性变化,从而出现阴虚证的各种病理生理改变和临床表现等。

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及证本质的分子标准.中国中西医结合杂志,1999,19(11):696-698
- 2 申维玺,孙燕.用分子生物学理论阐释阴虚证本质.医学研究通讯,1998,27(8):1-4
- 3 申维玺.论中医证的现代医学属性和概念.中医杂志,2001,42(5):307-309
- 4 申维玺.分子生物学理论技术是架起中西医结合的桥梁.新中医,2000,32(4):3-4
- 5 申维玺.论中医证本质的科学内涵.中国中医基础医学杂志,2001,7(6):10-14

(收稿:2003-01-16)

甘露消毒丹加减治疗流感高热的临床分析

北京中医院急诊科(100013) 姚卫海 周爱国 曲剑华 韩旭

1998年11月~1999年1月是流感流行季节,我们在此期间,应用甘露消毒丹加减治疗流感所致的高热45例(同时设立对照组),效果显著,总结如下。

一、一般资料

所有病例均为1998年11月~1999年1月在我院急诊科就诊的病人,纳入标准为:确诊为流感,病程在72小时以内,就诊时体温超过38.5℃,就诊前2小时内没有服过解热镇痛药,无严重并发症。共90例。随机分为甘露消毒丹组