

· 临床论著 ·

虚寒薄白苔的细胞化学初步研究*

湖南中医学院(长沙 410007)

吴正治[△] 周小青 郭振球^{△△} 李新华

内容提要 本研究首次运用细胞化学定位定性定量技术对 25 例虚寒证患者的薄白舌苔与 20 例正常淡红舌薄白苔舌上皮细胞中的脱氧核糖核酸(DNA)、糖原(PAS)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、酸性 α -醋酸萘酯酶(ANAE)等化学成分进行对比观察,发现虚寒薄白苔舌上皮细胞中的 PAS、DNA 高于正常薄白苔($P < 0.001$, $P < 0.05$),而 SDH、ANAE 活性显著低于正常薄白苔($P < 0.001$, $P < 0.01$),并初步探讨了正常薄白苔的细胞化学特点及虚寒薄白苔的变化机制。

关键词 舌诊 薄白苔 细胞化学 显微分光光度计

舌诊是中医诊断学的重要内容。它集中体现了中医传统的诊法特点及其丰富的临床经验。因此,舌诊研究一直为国内外众多的学者所瞩目。但分析舌诊的进展与现状,感到罗列现象者多,而研究其机理者少⁽¹⁾。运用定量细胞化学技术对舌诊的研究,更属罕见。鉴于此,我们对 25 例典型虚寒薄白苔和 20 例正常薄白苔进行了细胞化学定性定量初步对比观察,以冀从细胞化学角度探讨舌苔形成及其变化的机理,并寻求正常与虚寒薄白苔鉴别诊断的客观、微观化指标。

材料与方法

一、实验对象与分组

1. 观察组 选择胃、十二指肠疾患中医辨证属气虚、阳虚而舌苔薄白者,共 25 例。其中十二指肠溃疡 7 例,胃溃疡 3 例,复合性溃疡 5 例,慢性胃炎 6 例,炎症合并溃疡 3 例,复合性炎症 1 例。男性 15 例,女性 10 例,年龄最大者 56 岁,最小者 24 岁,平均 37.8 岁。

2. 健康组 选择全身各系统无器质性病变,中医辨证无寒热虚实证候,并排除近 1 月内口舌鼻咽的局部病变,舌质淡红,苔薄白者

20 例。其中男 12 例,女 8 例,年龄最小者 21 岁,最大者 50 岁,平均 34.9 岁。

气虚、阳虚证候诊断参照 全国中西医结合虚证会议制订的标准⁽²⁾。所有病例皆经胃镜、钡餐检查确诊为慢性胃、十二指肠疾患。

实验对象要求 0.5 个月内未服用激素类药物,女性不处于经前期和经期。

二、研究方法

1. 舌象观察 根据全国统编教材《中医诊断学》舌像检查方法进行⁽³⁾。嘱患者晨起后勿服用任何中西药物,由实验组专人在自然光线下详细记录舌质及舌苔情况。

2. 制片染色 在观察记录舌象后,先用载玻片刮去舌面上的苔垢物及粘液,再取一洁净光滑的推片用力刮取舌中部舌苔,每例涂片 4 张,分别进行以下 4 种细胞化学染色:(1)Feulgen 反应显示 DNA,对照片不经 60℃ HCl 水解。(2)过碘酸 Schiff 反应显示舌上皮细胞中的糖原(PAS),1%淀粉酶消化 30 min 作方法对照。(3)硝基蓝四氮唑盐(Nitro BT)显示琥珀酸脱氢酶(SDH),对照片去底物琥珀酸钠。(4)Mueller 改良法显示酸性 α -醋酸萘酯酶(ANAE),对照片去底物 α -醋酸萘酯。

3. 定量检测 所用仪器为本室 XFG-01-II 型显微分光光度计。选用一波双区法

*国家自然科学基金资助课题;

[△]博士研究生; ^{△△}指导

(One wavelength two areas method)⁽⁴⁾, 先用电倍增管工作电压 800 V, 测量光源电压 10 V。对舌上皮 PAS、SDH、ANAE 每例检测 10 个大小形状基本相似的中层细胞, DNA 每例随机检测 30 个细胞核。测量波长 PAS 570 nm、DNA 560 nm、SDH 600 nm、ANAE 550 nm。测量数据联机采集, 由微型计算机直接打印出每个细胞的相对含量, 最后得出单细胞水平该物质的平均含量。

结 果

一、舌像临床观察 25 例虚寒证薄白苔患者中, 舌质淡白者 10 例, 淡胖或兼齿印者 14 例, 淡红者 1 例。

二、细胞化学染色 舌上皮细胞 DNA Feulgen 反应物呈紫红色, 根据 DNA 含量浓集程度不同呈淡紫到深紫红色不等; PAS 阳性颗粒为紫红色、SDH 呈深紫蓝色、ANAE 呈棕红色, 三者皆位于细胞质中。多数表层细胞呈弱阳性或阴性反应, 中层细胞阳性反应多较强, 基底层细胞在涂片中少见。各方法对照片皆为阴性反应。

三、显微光度定量 虚寒薄白苔与正常薄白苔舌上皮化学成分含量的比较, 见附表。

附表 两组舌上皮细胞各项指标对比分析 ($\bar{x} \pm S$)

组 别	例数	PAS	SDH	ANAE	DNA
		△△△	△△△	△△	△
虚寒薄白苔	25	24.96 ±1.77	52.37 ±2.28	36.37 ±2.17	9.47 ±0.38
正常薄白苔	20	12.68 ±1.49	63.54 ±2.33	40.46 ±2.25	8.37 ±0.42

注: 与正常薄白苔组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$, $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$

上表说明虽同为薄白苔, 但虚寒薄白苔与正常薄白苔在舌上皮细胞内化学成分含量上有显著差异, 其中 PAS、SDH 的变化有高度显著性差异 (P 均 < 0.001), HNAE 低于正常 ($P < 0.01$), 而 DNA 高于正常 ($P < 0.05$)。

讨 论

一、正常薄白苔的细胞化学特点

SDH 是线粒体的标志酶, 其含量决定着

细胞内氧化代谢的强弱; PAS 是细胞生物氧化最主要的反应物; ANAE 则与细胞内物质合成及运输有关⁽⁵⁾。本实验结果: 正常表层细胞各种反应皆为阴性或弱阳性, 说明此层细胞已逐渐衰老退化; 中层细胞内上述成分含量较丰富, 表明细胞内有旺盛的氧化及合成代谢, 从而为舌上皮增殖、分化、迁移、脱落过程的顺利进行提供了能量保障和充足的能源物质。这一过程的相对平衡, 是维持正常薄白苔的关键因素。

二、虚寒薄白苔的细胞化学特点

25 例虚寒薄白苔与正常组相比, SDH、ANAE 活性降低, 而 PAS、DNA 含量相对增高。SDH 活性降低可能与虚寒患者细胞营养物质来源匮乏, 酶蛋白合成不足及线粒体结构或功能异常有关; PAS 增多则可能主要是细胞内生物氧化减少, 分解利用减少所致。一方面, SDH 活性降低影响碳水化合物氧化供能; 另一方面, 虚寒证普遍存在的细胞内 cAMP 降低可抑制糖原磷酸化酶的活性而抑制糖原的分解利用⁽⁶⁾。ANAE 活性降低, 一方面提示舌上皮内质网合成代谢可能低下, 另一方面又表明其角化代谢障碍。Willighagen 等研究表明 ANAE 活性与鳞状上皮的角化成熟有关⁽⁷⁾。内质网合成代谢低下, 细胞生长分化原料不足, 亦可影响角化代谢的速度。

角化越成熟的细胞核酸含量越少, DNA 平均含量较高, 表明虚寒状态下舌上皮角化水平低下。这与袁氏对舌脱落细胞角化指数观察结果是一致的⁽⁸⁾。吴氏亦曾观察到舌上皮细胞的角化程度越高, 其 DNA 含量越少⁽⁹⁾。

显微光度术是随着细胞化学、显微光学、电子学及自动化技术的发展而产生并逐渐完善起来的一门先进技术。它使细胞化学发展到定性、定位和定量相结合的水平⁽⁴⁾。本实验运用细胞化学方法及其显微光度技术, 为虚寒、正常薄白苔的鉴别诊断提供了一定的客观指标, 同时为舌诊微观化及舌诊原理研究开辟了一条新思路。

(本文承中国中医研究院谢锦玉研究员指导, 谨谢)

参考文献

1. 匡调元. 中医病理研究. 第1版. 上海: 上海科技出版社, 1980: 97.
2. 沈自尹, 等. 中医虚证辨证参考标准. 中西医结合杂志 1986; 6(10): 598.
3. 邓铁涛. 中医诊断学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 1987: 123.
4. 胡匡祐. 细胞定量吸收光度方法. 细胞生物学杂志 1984; (3): 136.
5. Hardonk MJ, et al. Eezyne histochemistry as a link between biochemistry and morphology. Progr Histochem Cytochem 1976; (2): 18.
6. 金敬善. 慢性胃炎脾气虚证的临床实验研究. 中医杂志 1989; (8): 21.
7. 文冬生. 非特异性酯酶与肿瘤. 湖南医药杂志 1981; (1): 58.
8. 袁肇敏, 等. 155例薄白苔脱落细胞检测结果分析. 中国医药学报 1989; (1): 35.
9. 吴章芳, 等. 100例脱落细胞的观察. 福建中医药 1982; (1): 33.

益气补肾中药对多发性骨髓瘤患者外周血 T 细胞亚群的影响

北京市肿瘤防治研究所(北京 100034)

刘淑俊 章新奇 赵玉亮 王 欣 宛凤玲 孔家军 崔 杰*

多发性骨髓瘤患者伴有 T 细胞亚群的变化, 化疗及放疗可加深对 T₄ 细胞的抑制。本研究有助于了解益气补肾方配合化疗能否逆转骨髓瘤患者 T 细胞亚群的失平衡状态。

临床资料 1990 年 8 月~1993 年 3 月在我院住院治疗的骨髓瘤患者 20 例(初治 10 例, 复发 3 例, 原单一化疗 7 例)。全部患者进入本组观察前未经系统中医治疗。本次采用益气补肾中药配合化疗的综合疗法。于治前、治后 1~2 个月及 3 个月以上分别检测 T 细胞亚群。15 名健康医务人员为对照组。

治疗方法 益气补肾方由生黄芪、炒党参、细生地、女贞子、桑寄生、枸杞子、菟丝子、补骨脂、透骨草、骨碎补组成, 每剂生药 137 g, 每周服 5 剂, 连服 3 个月以上。化疗方案: 初治患者采用 VBAP-VMCP 方案, 复发者用 CP 或 VAD 方案。被检者外周血的 T 细胞亚群用免疫酶方法测定。单抗 OKT 系列由北京医科大学微生物教研室提供。酶标的兔抗鼠 IgG 由我所生化室和免疫室提供。按文献方法操作计数(赵怀宇, 等. OKT 单克隆抗体检测人 T 淋巴细胞的免疫酶法. 中国免疫杂志 1989; 5(3): 165)。

结果 见附表。20 例患者 OKT₃, OKT₄, OKT₈, OKT₄/OKT₈ 均明显低于正常对照组, 用中药配合化疗后 OKT₃, OKT₄, OKT₈, OKT₄/OKT₈ 均上升。中药治疗 3 个月以上者尤为明显。与对照组相比, 除 OKT₃ 低于正常外, 余均恢复至正常水平。

附表 益气补肾方治疗前后骨髓瘤患者外周血 T 细胞亚群的变化 (% , $\bar{x} \pm Sx$)

组别	例数	OKT ₃	OKT ₄	OKT ₈	OKT ₄ /OKT ₈
对 照	15	62.53 ±1.39	42.8 ±1.22	24.47 ±1.02	1.78 ±0.02
患者治前	20	45.35 ±2.48*	29.46 ±1.98*	19.9 ±1.42**	1.52 ±0.08**
治后 1~2 月	18	50.11 ±2.02*	34.4 ±1.74*	23.5 ±1.67	1.52 ±0.08**
治后 3 月	16	54.85 ±1.96**	40.14 ±1.82	24.0 ±1.63	1.77 ±0.12

注: 与对照组比较, *P<0.001, **P<0.05

讨 论 多发性骨髓瘤患者 T 细胞亚群表现明显的不平衡。大多数国内外学者认为该病患者 OKT₃, OKT₄, OKT₄/OKT₈ 明显低于正常人。OKT₈ 值相对或绝对增加, 放、化疗后 OKT₄ 下降尤著且可持续数年。已知, 多数辅助 T 细胞具有产生 IL-2 的能力, 而 IL-2 的抗肿瘤作用已日益受到重视。很多肿瘤、免疫缺损病经外源性 IL-2 治疗可取得较好效果。因此, 提高 OKT₄ 水平就有可能提高 IL-2 水平与机体本身抗癌能力。骨髓瘤患者 T₄ 细胞还参与 B 细胞的抗体形成过程。骨髓瘤的治疗除强烈化疗以期达到最大杀伤力以外, 促使免疫功能的恢复也是一个未能完满解决的问题。我们的资料证明通过中西医结合治疗可改善骨髓瘤患者的生存质量, 提高生存期。

Abstract of Articles

An Initial Study of Cytochemistry on Thin-White Coating of Tongue with Deficiency-Cold Syndrome

Wu Zheng-zhi (吴正治), et al

Shenzhen Institute of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, (518029)

The method of qualitative and quantitative analysis and localization of cytochemistry were used to observe the epithelial cells of the thin-white coating of tongue from 25 patients with Deficiency Cold Syndrome (DCS) and 20 normal persons. Results showed that the level of intracellular DNA, PAS of the epithelial cells in the DCS group were markedly enhanced, while the activities of succinate dehydrogenase (SDH) and acid α -naphthyl acetate esterase (ANAE) were reduced significantly compared to normal group, $P < 0.05$, 0.001 , 0.001 , 0.01 respectively.

Key words glossoscopy, thin-white coating, cytochemistry, microspectrophotometry

(Original article on page 649)

Changes of Oxygen Free Radical and Prostacyclin in Thromboangiitis Obliterans and Its Relationship with Syndrome Differentiation

Ge Jin-wen (葛金文), Jiang Yi-ping (江一平), He Shi-lin (贺石林), et al

Hunan College of TCM, Changsha (410007)

Malondialdehyde (MDA) and 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels in plasma and erythrocyte superoxide dismutase activities (Ery-SODA) were observed in 56 cases of thromboangiitis obliterans (TAO). The results showed that: (1) Ery-SODA and 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels lowered and MDA raised significantly in TAO ($P < 0.01$), compared with that in control. (2) 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels were markedly related with Ery-SODA and MDA in TAO ($P < 0.01$). (3) Ery-SODA and 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels were lower and MDA higher in III phase of TAO than that in II phase. (4) Ery-SODA and 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels markedly declined and MDA contents elevated significantly in Dampness-Heat (DH) and Heat-Toxin (HT) group, compared with that in Yin-Cold (YC) group and Blood-Stasis (BS) group, respectively ($P < 0.05$, $P < 0.01$); all above substances between YC and BS group or between DH and HT group had no significant differences ($P > 0.05$). (5) Ery-SODA and 6-keto-PGF $_{1\alpha}$ levels were lower and MDA higher in Heat Syndrome than that in Cold Syndrome ($P < 0.01$). It suggested that oxygen free radical and lipid peroxide response that might participate in vascular endothelial cell injury in TAO markedly increased and the detection of these substances might provide complementary evidences for syndrome differentiation of TAO.

Key words thromboangiitis obliterans, oxygen free radical, prostacyclin, vascular endothelial cell, Syndrome Differentiation

(Original article on page 652)

Observation on Treatment of Qing-Shen Tiao-Zhi Tablet (轻身调脂片) for Hyperlipemia in Middle and Old-Aged Subjects

Xu Fang (徐放), Fu Hong-mei (富红梅)

Dept. of Gerontology, Shenyang Institute of TCM, Shenyang (110003)

The effect of Qing-Shen Tiao-Zhi (QSTZ) tablet which consisted of *Rheum palmatum* and *Alismatis orientale* etc. on serum TC, TG, HDL-C, LDL-C and atherogenic index (AI) was reported in 73 senile hyperlipemic patient, while another 21 patients took Yue Jian Cao (YJC) oil