

因,痰浊瘀血又使脏腑功能紊乱,加速气血亏损。天然中药尤其是复方在延缓脑老化方面有丰富的实践经验以及潜在的优势,复方中药具有针对疾病多个病理环节进行治疗的特点,较单一因素的治疗具有更大的优势^[7],复方地黄以熟地黄、龟板为君,滋补肾阴,肾主骨生髓充脑;次用人参、山茱萸、山药、何首乌为臣,以补脾益气肾精,君臣共济,气阴两生;再用茯苓、泽泻、牡丹皮、丹参为佐,调和五脏气血,不使滋补太过;最后用石菖蒲、远志为使,以引药入清窍,充脑安神。小鼠 Morris 水迷宫测试表明,复方地黄可以明显缩短实验组小鼠的潜伏期,改善其学习记忆能力,模型组与空白对照组比较,寻找平台的潜伏期长,差异显著($P < 0.05$),表明模型鼠空间探索能力下降。而实验组和治疗组均能缩短潜伏期、增加过台次数,与模型组相比具有明显差异($P < 0.05$),说明防治有效。各给药组与模型组比较,在原平台所在象限游泳距离与总游泳距离的比值更大,差异有显著性($P < 0.05$),表明各给药组对原平台象限的记忆较模型组好,即对 SAM-P/8 小鼠有明显改善记忆作用。

SOD 是机体重要的抗氧化酶,在抗氧化防御体系中起着重要作用,能清除体内过多的自由基,自由基增多能损害生物膜系统及核酸等生物大分子,造成机体衰老。自由基损伤可能是导致脑老化的重要原因,实验组 SOD、ATP 酶活性较高,与对照组比较有显著差异($P < 0.05$),说明复方地黄可以增强 SOD、ATP 酶的活性,是发挥抗衰老作用的机制之一^[8]。用流式细胞仪对细胞凋亡期进行检测发现,模型组出现了 sub-G₁ 凋亡峰,呈现出典型的细胞凋亡特征性改变。实验结果表明,复方地黄可以减少海马神经元

凋亡细胞 DNA 含量和凋亡期的细胞含量,具有抗凋亡作用,有助于老年性痴呆的防治,可发挥延缓衰老作用,和治疗组比较,两者峰值相近,说明复方地黄对痴呆小鼠有确切的治疗效果。研究表明,复方地黄对老年痴呆的作用是多途径,多靶点的,对老年痴呆的神经元具有较好保护作用,可以降低氧化因素自由基对细胞的损伤,有效减少大脑神经元的凋亡,增强实验小鼠的学习和记忆功能,显示了良好的治疗作用。但是复方地黄具体详细的作用机制还有待进一步研究。

参考文献

- 1 邹志杰,胡瑞琅. Alzheimer 氏病的危险因素研究进展[J]. 中国老年学杂志,1995,15(4):254-256
- 2 Goate A, Chartier-Harlin MC, Mullan M, *et al.* Segregation of a missense mutation in the amyloid precursor protein gene with familial Alzheimer's disease [J]. *Nature*,1991,349:704-706
- 3 Li YC, Bao YM, Jiang B, *et al.* Catalpol protects primary cultured astrocytes from in vitro ischemia-induced damage[J]. *Int J Dev Neurosci*,2008,26(3-4):309-317
- 4 魏昌秀,李庆明,蒙荣森. 中药复方脑还丹对快速老化鼠 SAM-P/8 海马 CA1 区超微结构的影响[J]. 贵州医药,2005,29(9):790
- 5 Morris R. Developments of Water-Maze procedure for studying spatial learning in the rat [J]. *Neurosci Methods*,1984,11:471
- 6 Chiu PC, Chan CC, Lin HM, *et al.* The clinical anti-aging effects of topical kinetin and niacinamide in Asians: a randomized, double-blind, placebo controlled, split-face comparative trial[J]. *J Cosmet Dermatol*,2007,6(4):243-291
- 7 刘吉成,牛英才,朱坤杰. 复方地黄对脑老化大鼠学习记忆能力和脑组织 SOD 活性的影响[J]. 中国老年学杂志,2008,11(28):2099
- 8 De Grey AD. Free radicals in aging: causal complexity and its biomedical implications[J]. *Free Radic Res*, 2006,40(12):1244-1249

(收稿:2008-11-18)

(修回:2010-01-08)

支气管肺癌黏膜 Cath D、SP-A 和 GLUT-1 的表达及临床意义

曹慧玲 刘师兵 刘晓冬 薛鹏杰 徐冶 刘丹丹

摘要 目的 了解支气管肺癌活组织黏膜组织蛋白酶 D(Cath D)、肺表面活性物质相关蛋白 A(SP-A)和组织葡萄糖转运蛋白 1(GLUT-1)的表达。**方法** 支气管镜下钳取异常组织黏膜 41 例,经光镜病理确诊为支气管肺癌 38 例(其中小细胞肺癌 10 例,鳞状细胞癌 28 例),炎症 3 例。用 SP 免疫组织化学方法检测 Cath D、SP-A 和 GLUT-1 的表达。**结果** ①Cath D:小细胞

基金项目:吉林省教育厅“十一五”科学技术研究项目(吉教科字 2007 第 244 号)

作者单位:132011 吉林省吉林医药学院(曹慧玲、刘师兵、刘晓冬、徐冶、刘丹丹);136000 吉林省四平市神农医院(薛鹏杰)

癌 - 6 例 (60%) , + + 4 例 (40%) ; 鳞状细胞癌 - 4 例 (14%) , + 2 例 (7%) , + + 8 例 (28%) , + + + 14 例 (50%) 。小细胞癌与鳞状细胞癌对 Cath D 的表达有明显差异 ($P < 0.01$) ,后者明显高于前者。鳞状细胞癌分化程度不同 ,Cath D 的表达有明显差异 ($P < 0.05$) ,分化程度越低 ,表达越高 ;②SP - A : + + + 3 例 (炎症) , + + 20 例 (高分化鳞癌 15 例 ,中分化鳞癌 5 例) , + 6 例 (中分化鳞癌) , - 12 例 (小细胞癌 10 例 ,低分化鳞癌 2 例) ;③GLUT - 1 :小细胞癌 - 6 例 , + 2 例 , + + + 2 例 ;鳞状细胞癌 - 5 例 , + 7 例 , + + 11 例 , + + + 5 例 ;炎症 + + + 3 例。小细胞癌与鳞状细胞癌对 GLUT - 1 的表达有明显差异 ($P < 0.05$) ,后者明显高于前者 ;不同分化程度的鳞状细胞癌 ,GLUT - 1 的表达无差异 ($P > 0.05$) ;炎症与鳞癌 GLUT - 1 表达有明显差异 ($P < 0.05$) 与小细胞癌则无差异 ($P > 0.05$) 。**结论** Cath D 有助于鳞状细胞癌的诊断和分化程度的评估 ,SP - A 可能有助支气管黏膜炎症与高恶性度肿瘤组织的鉴别 ,GLUT - 1 在鳞状细胞癌有高表达 ,有助于鳞状细胞癌的诊断和鉴别诊断。

关键词 支气管异常黏膜 组织蛋白酶 D 肺表面活性物质相关蛋白 A 组织葡萄糖转运蛋白 1

The Expression of Cath D, SP - A, GLUT - 1 of Bronchiogenic Carcinoma. Cao Huiling, Liu Shibing, Liu Xiaodong, Xue Pengjie, Xu Ye, Liu Dandan. Jilin Medical School, Jilin 132011, China

Abstract Objective To examine the expression of Cath D, SP - A and GLUT - 1 in patients with bronchiogenic carcinoma. **Methods** A total of 41 patients were included in the study, 10 of whom received the histological diagnosis of small cell lung cancer (SCLC). The other 28 were squamous cell carcinoma (SC) and 3 were inflammation. And all the samples were taken from the patients' tunica mucosa bronchiorum through bronchofibroscope, then we detected the cathepsin D, SP - A and GLUT - 1 following SP immunohistochemistry. **Results** ①Cath D: 6 samples (60%) in group SCLC were negative expression (-6), 4 (40%) were moderately positive (+ + 4), 4 (14%) were negative (-4), 2 (7%) were positive (+2), 8 (28%) were moderately positive (+ + 8) and 14 (50%) were intensive positive (+ + + 14) in the other group. SCLC was significant different from SC in expressing cathepsin D ($P < 0.01$), and the latter group was obviously exceeded with the former one. At the same time, the level of expression depended on the degree of the squamous cell differentiation ($P < 0.05$) ;②SP - A : + + + for 3 (inflammatory), + + for 20 (15 were high differentiation squamous cell carcinoma; others were middle differentiation squamous cell carcinoma), + for 6 (middle differentiation squamous cell carcinoma) and - for 12 (10 were small cell carcinoma and 2 were poorly differentiated squamous cell carcinoma) were found;③GLUT - 1 :strong positive was 10 including 3 inflammatory and 7 well differentiated squamous cell carcinoma; positive was 11 (squamous cell carcinoma); weakly positive was 9 (2 of them were small cell carcinoma, others were squamous cell carcinoma); negative was 6 (small cell carcinoma). **Conclusion** The detection of cathepsin D is of great clinical significance in diagnosing and evaluating differentiation - degree in squamous cell carcinoma. The SP - A may contribute to identification of the tissue belong to bronchial mucosa. The high expression of GLUT - 1 in SC is of great clinical significance in tumor diagnosis.

Key words Bronchiogenic carcinoma; Cathepsin D; Pulmonary surfactant - associated protein - A (SP - A); Glucose transporter - 1 (GLUT - 1)

支气管肺癌是我国病死率最高的恶性肿瘤,但支气管镜下肉眼分辨炎症或肿瘤有一定困难。有研究表明非小细胞癌 Cath D 和 GLUT - 1 呈现高表达状态,SP - A 是炎症的一种标示性蛋白,虽然它是肺泡Ⅱ型细胞肺表面活性物质的主要成分之一,但也在细支气管、支气管上皮内有灶性表达。近期,我们采用纤维支气管镜钳取可疑支气管肺癌组织黏膜 41 例,先经光镜病理进行初步检查,然后用 SP 方法做 Cath D、SP - A 和 GLUT - 1 表达的测定。结果显示:Cath D 有助于鳞状细胞癌的诊断和分化程度的评估,SP - A 可能有助支气管黏膜炎症与高恶性度肿瘤组织的鉴别,GLUT - 1 在鳞状细胞癌有高表达,有助于鳞状细胞癌的诊断和鉴别诊断。

材料与方法

1. 材料:对经影像学检查见有明确近肺门处块影患者 41

例行纤维支气管镜检查(纤维支气管镜为日产 Olympus BF 40,外管腔直径 5.9mm),镜下发现肿瘤样新生物并钳取黏膜标本。10% 甲醛溶液固定保存,经光镜病理检查后再继续进行免疫组化检查。

2. 光镜病理:标本做石蜡切片,HE 染色,200 倍光镜专人观察,做出明确病理诊断。

3. 免疫组化:用 S - P 方法进行免疫组织化学检测。S - P 超敏试剂盒(兔),产品编号 KIT - 9706/9707/9708;兔抗人 Cath D 免疫组化多克隆抗体,产品编号 RAB - 0029;兔抗人 SP - A 单克隆抗体,产品编号 MAB - 0311;兔抗人 GLUT - 1 免疫组化单克隆抗体为 I 抗(1:300 稀释),产品编号 Rev - 090407C。以上产品均购于福州迈新生物技术开发有限公司。依据说明书步骤进行脱蜡复水、0.01mol/L 柠檬酸盐(产品编号 MVS - 0066)缓冲液热修复、过氧化酶阻断、加一抗二抗、显色、封片。设立阴性空白对照片(以 PBS 代替一抗),用试剂盒提供的阳性表达组织切片做阳性对照。400 倍光镜下观察

棕色颗粒数量和分布情况,结果分为4个等级-、+、++和+++^[1]。

4. 数据处理:定性结果用等级资料 χ^2 检验,结果以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 为有意义。

结 果

1. 不同临床病理类型支气管肺癌黏膜 Cath D 的表达:见表1。

表1 不同病理类型支气管肺癌 Cath D 表达(n)

	n	-	+	++	+++
小细胞未分化癌	10	6		4	
鳞状细胞癌	28	4	2	8	14
高分化鳞状细胞癌	8		2	2	4
中分化鳞状细胞癌	18	4		6	8
低分化鳞状细胞癌	2				2

病理类型:鳞癌组织较小细胞癌 Cath D 表达明显增高, $\chi^2 = 11.49, P < 0.01$;鳞癌病理分级:鳞癌病理分级与 Cath D 的表达有显著差异, $\chi^2 = 7.46, P < 0.05$ 。

2. 不同临床病理类型支气管肺癌黏膜 SP-A 的表达:炎症与支气管肺癌相比,SP-A 明显增高($P < 0.05$);炎症与小细胞癌相比,SP-A 增高非常明显($P < 0.001$);肿瘤组织中鳞癌比小细胞癌的表达高($P < 0.05$);分化程度越高 SP-A 表达也呈增高趋势。

3. 不同临床病理类型支气管肺癌黏膜 GLUT-1 的表达(表2)。

表2 小细胞癌与鳞状细胞癌 GLUT-1 的表达对比(r)

	n	-	+	++	+++
小细胞未分化癌	10	6	2		2
鳞状细胞癌	28	5	7	11	15
低分化鳞状细胞癌	5	2		3	
中分化鳞状细胞癌	13	3	4	5	1
高分化鳞状细胞癌	10		3	3	4

鳞癌组织较小细胞癌 GLUT-1 的表达明显增高($\chi^2 = 2.35, P < 0.05$);不同分化程度的鳞状细胞癌之间 GLUT-1 的表达无明显差异($\chi^2 = 0.99, P > 0.05$);炎症与小细胞癌 GLUT-1 表达的 $\chi^2 = 1.16, P > 0.05$;炎症与鳞状细胞癌 GLUT-1 表达的 $\chi^2 = 2.10, P < 0.05$ 。但是由于炎症例数很少,很难得出结论性的结果。

讨 论

Cath D 是溶酶体性蛋白酶,属于酸性溶酶体蛋白酶,存在于所有细胞中,具有刺激细胞生长,溶解基膜、细胞外基质和结缔组织能力。当 Cath D 基因过度表达时可造成溶酶体靶通道的过度负荷,导致溶酶体酶的释放,从而促进有丝分裂、基膜、细胞外基质的

溶解,加速癌细胞的生长和转移。Cath D 在肿瘤侵袭、转移中起重要作用,其高表达的恶性肿瘤多生长快、分化程度差、易发生转移和预后差^[2]。本实验中一般认为恶性程度较高的小细胞未分化癌组织的 Cath D 表达比鳞状细胞癌明显低,其机制尚待探讨,可能与不同肿瘤的发生机制及标本例数较少有关。已有文献表明非小细胞癌 Cath D 的表达与肿块大小、TNM 分期呈正相关($P < 0.05$),与淋巴结转移呈显著正相关($P < 0.01$),与3年存活率呈负相关($P < 0.05$)^[3],说明组织蛋白酶 D 在判断非小细胞肺癌淋巴结转移潜能及预后判断方面有重要价值,是淋巴结转移的重要标志^[4]。

SP-A 是肺表面活性物质的重要组成成分,其含量约占肺表面活性物质总量的10%,主要在Ⅱ型细胞中强烈表达。已经发现 SP-A 可作为天然多克隆激活物刺激淋巴细胞增生,逆转 PS 脂质成分的抑制作用,提示 SP-A 与 PS 脂质成分相互拮抗参与肺特异性免疫调控。SP-A 还可趋化 AM 并刺激其产生氧自由基,对吞噬全过程均有促进作用。因此 SP-A 与许多肺疾病密切相关,主要用于对 ALI、ARDS 等炎症性疾病的诊断、鉴别诊断和临床监测,甚至可作为急性肺损伤高危患者预警和预后指标^[5]。SP-A 除在Ⅱ型细胞中强烈表达外,也在细支气管、支气管上皮内有灶性表达,特别是在炎症组织中表达增强^[6]。利用这一特点,对镜下异常支气管黏膜进行 SP-A 表达的观察,对于难用肉眼分辨的炎症抑或肿瘤组织进行鉴别有一定意义。由于观察例数较少,肿瘤不同组织类型之间有无差异尚不能得出有意义结论。

GLUT-1 是细胞借以转运葡萄糖的一种蛋白质,在人类所有组织中均存在,对葡萄糖具有很高的亲和力。有资料表明 GLUT-1 在肺癌等多种组织中有过度表达,因此可以作为这些肿瘤的辅助检查方法和鉴别诊断依据^[7]。由于肿瘤细胞有不可控制地过度增长的特性,肿瘤细胞只能通过过度摄取葡萄糖来增加能量的供给,该方式是通过 GLUT-1 的合成增加来实现的,所以 GLUT-1 的表达强弱与肿瘤的预后也有明显关系^[8]。本实验中鳞状细胞癌标本中 GLUT-1 阳性染色的棕红色颗粒主要沉积在细胞膜和细胞质内,与小细胞肺癌的着色相比颗粒明显粗大、数量明显增多。多数文章描述了非小细胞肺癌中 GLUT-1 表达增高的实例,但对小细胞肺癌为何表达不高做出满意的解答^[9,10]。GLUT-1 表达既然与肿瘤组织高代谢有关,小细胞癌的代谢不能说不高,

为何其 GLUT-1 未见增高,也许不能单纯用代谢增强,葡萄糖需要增多来简单解释这一现象,可能与组织病理类型本身特点有关。尽管鳞状细胞癌光镜病理分期非常明确,但分期的差别没有导致 GLUT-1 表达的差异,可能 GLUT-1 仅对不同类型的肿瘤细胞鉴别有意义而对临床分期没有意义。炎症时,组织代谢也非常活跃,但程度远不及肿瘤状态,所以 GLUT-1 表达比肿瘤低。由于本次实验炎症标本太少,不能得出有实际意义的结论。

参考文献

- 1 Chung JK, Lee YJ, Kim SK, *et al.* Comparison of [¹⁸F]fluorodeoxy glucose uptake with glucose transporter-1 expression and proliferation rate in human gloma and non-small-cell lung cancer [J]. Nucl Med Commun, 2004, 25(1): 11-17
- 2 Tetu B, Brisson J, Wang CS, *et al.* Expression of cathepsin D, stromelysin-3, and urokinase by reactive stromal cells on breast carcinoma prognosis [J]. Cancer, 2001, 92(11): 2957-2964
- 3 李强,黄波,李奕.组织蛋白酶 D 在非小细胞癌中的表达及临床意

- 义[J].实用肿瘤杂志, 2006, 20(3): 208-209
- 4 王忠民,唐怀好,杨红伟,等.非小细胞肺癌组织蛋白酶 D 和 P 选择素表达的临床研究[J].中国医师杂志, 2004, 6(3): 324-326
- 5 Cheng IW, Ware LB, Greene KE, *et al.* Prognostic value of surfactant proteins A and D in patients with acute lung injury [J]. Crit Care Med, 2003, 31(1): 20-27
- 6 董文,陈美云.肺表面活性蛋白 A 与急性肺损伤[J].中国急救医学, 2004, 24(11): 824-826
- 7 Rudlowski C, Moser M, Becker AJ, *et al.* GLUT-1 mRNA and protein expression in ovarian borderline tumors and cancer [J]. oncology, 2003, 66(5): 404-410
- 8 Macheda ML, Rogers S, Best JD. Molecular and cellular regulation of glucose transporter (GLUT) proteins in cancer [J]. J Cell Physiol, 2005, 202(3): 654-662
- 9 马丽,郑洪,刁晓源.非小细胞肺癌组织中 GLUT-1 的表达及临床意义[J].中国肺癌杂志, 2007, 10(6): 526-528
- 10 钟秀君,周建英,丁伟,等.葡萄糖转运蛋白 1、3 在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义[J].浙江预防医学, 2006, 18(7): 12-14

(收稿:2009-11-30)

(修回:2010-01-09)

免煎方剂中药对草酸钙结晶生长影响的研究

黄小平 陈协辉 陈丽萍 苏娜 潘达亮 黄进明 陈日来

摘要 **目的** 探讨三金三子汤免煎方剂中药对草酸钙结晶生长的影响。**方法** 采用⁴⁵Ca-CaCl₂掺入的结晶生长动力学模型,研究不同作用时间免煎方剂中药对草酸钙结晶生长的影响。**结果** 从免煎方剂中药组 5min 滤液内 cpm% 明显减少,与对照组同时时间点的水平相当,20~120min 诸时间点的 cpm% 与对照组比较, cpm % 减少幅度甚小,甚至接近回复总放管水平。**结论** 免煎方剂中药对草酸钙结晶生长有明显的抑制作用,抑制作用与用药时间呈依赖关系。为临床应用此免煎方剂中药临床治疗尿路结石患者提供一定的试验依据。

关键词 中药 草酸钙结晶

The Study of the Effect of Non-decocting Chinese Traditional Medicine on the Growth of Calcium Oxalate Crystal. Huang Xiaoping, Chen Xiehui, Chen Liping, Su Na, Pan Daliang, Huang Jinming, Chen Rilai. The 2nd People's Hospital of Futian District, Shenzhen, Guangdong 518049, China

Abstract Objective To explore the effect of san jin san zi soup non-decocting Chinese traditional medicine on the growth of calcium oxalate crystal. **Methods** We applied the ⁴⁵Ca-CaCl₂ incorporated crystal growth kinetic model and investigated the effect of non-decocting Chinese traditional medicine on the growth of calcium oxalate crystal on different action time. **Results** The filtrate's cpm percentage(%) obviously decreased after the non-decocting Chinese traditional medicine acted 5 minutes, which was as much as that of the control group concurrent testing. The filtrate's cpm% decreased less significantly than that of the control group after the non-decocting Chinese traditional medicine acted from 20 minutes to 120 minutes, and even it was approximately near to the initial level. **Conclusion** The non-decocting Chinese traditional medicine has the inhibitory action on the the growth of calcium oxalate crystal, and the

基金项目:广东省中医药管理局科研课题(2007251)

作者单位:518049 广东省深圳市福田区第二人民医院

通讯作者:陈协辉,电子信箱:xhchen66@126.com