

不同中医证型肺结核患者外周血 CD14+单核细胞 IL-1 β 、IL-1Ra 表达水平的差异

张国良 王玲玲 詹森林 曹廷智 汪文斐 张红梅 邓群益 聂广

【摘要】 目的 探讨肺结核患者不同中医证型与 CD14+单核细胞白介素-1 β (interleukine-1 β , IL-1 β)、白介素-1 受体拮抗剂 (interleukine-1 receptor anlagenist, IL-1Ra) 表达水平的相关性。**方法** 选取 104 例肺结核确诊患者为研究对象,其中肺阴亏虚 33 例,阴虚火旺 36 例,气阴两虚 35 例。采集抗凝血并利用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞,与 CD14+免疫磁珠孵育后获得单核细胞,使用结核杆菌裂解物刺激单核细胞,同时设立空白对照。12 小时后收集细胞上清通过酶联免疫吸附法测定 IL-1 β 、IL-1Ra 水平,同时裂解细胞提取总 RNA,利用实时定量 PCR 技术测定 IL1B、IL1RN 基因相对表达量。通过方差分析比较不同证型肺结核患者 IL-1 β 、IL-1Ra 表达水平的差异。**结果** (1)成功建立检测 IL1B、IL1RN 基因的实时定量 PCR 技术,靶基因可以被有效扩增,并且引物具有良好特异性;(2)结核菌刺激后 IL-1 β 蛋白表达水平显著升高,其中肺阴亏虚组显著高于阴虚火旺组和气阴两虚组 ($P<0.05$),阴虚火旺组 IL-1 β 分泌水平又显著高于气阴两虚组 ($P<0.05$)。IL-1B mRNA 表达趋势与蛋白表达趋势一致,肺阴亏虚、阴虚火旺、气阴两虚三组中 IL-1B 基因表达水平依次降低,组与组之间差异均有统计学意义 ($P<0.05$, $P<0.01$);(3)结核菌刺激能够显著增加 IL-1Ra 分泌水平,气阴两虚组显著高于其它两组 ($P<0.05$),而肺阴亏虚组和阴虚火旺组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。同时,在 mRNA 层面气阴两虚组 IL1RN 表达水平显著高于其它两组,差异有统计学意义 ($P<0.05$, $P<0.01$);(4)在结核菌刺激后,IL-1 β /IL-1Ra 比值在肺阴亏虚和阴虚火旺组中明显增高,显著高于气阴两虚组 ($P<0.01$, $P<0.05$)。**结论** IL-1 β 、IL-1Ra 表达水平与肺结核中医病机演变密切相关,由此推测它们不仅可以作为肺结核中医微观辨证的生物标识,也可以作为未来结核病治疗的有效分子靶点。

【关键词】 肺结核; 中医证型; 白介素-1 β ; 白介素-1 受体拮抗剂; 单核细胞

【中图分类号】 R249 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2016.10.003

Discrepancy between IL-1 β and IL-1Ra expression in CD14 + monocytes of different TCM syndrome types of pulmonary tuberculosis patients ZHANG Guo-liang, WANG Ling-ling, ZHAN Sen-lin, et al. Institute of Hepatology, Shenzhen Third People's Hospital, Shenzhen 518112, China.

Corresponding author: ZHANG Guo-liang, E-mail: szdsyy@aliyun.com

【Abstract】 Objective To explore the discrepancy between IL-1 β and IL-1Ra expression in CD14+ monocytes of different TCM syndrome types of pulmonary tuberculosis patients. **Methods** Totally 104 pulmonary tuberculosis patients were recruited, the patients were divided into Lung-Yin deficiency ($n=33$), Yin-Deficiency and Fire-Hyperactivity ($n=36$), and Qi and Yin deficiency ($n=35$). The density gradient centrifugation was used to separate PBMCs from peripheral blood, then CD14+ monocytes were purified after incubation with magnetic beads. Monocytes were stimulated with or without Mtb lysate for 12

基金项目: 国家自然科学基金(81501714); 广东省自然科学基金(2014A030313789); 深圳市科技计划项目(JCYJ20140411111718166)

作者单位: 518112 深圳市第三人民医院肝病研究所(张国良、詹森林、汪文斐、聂广), 结核内科(王玲玲、曹廷智、张红梅、邓群益)

作者简介: 张国良(1982-), 博士, 副主任医师。研究方向: 感染病中西医结合诊治研究。E-mail: szdsyy@aliyun.com

hours, the supernatant was collected to detect IL-1 β and IL-1Ra levels using ELISA, and total RNA was purified from cells and gene expression of IL1B and IL1RN was determined with real-time qPCR assay. Finally, the discrepancy was compared with ANOVA analysis. **Results** (1) The expression of IL1B and IL1RN could be detected by real-time quantitative PCR assay with gene specific primers. (2) After Mtb stimulation, IL-1 β level was the highest in Lung-Yin deficiency group compared to Yin-Deficiency and Fire-Hyperactivity group and Qi and Yin deficiency group ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and it was higher in Yin-Deficiency and Fire-Hyperactivity group than that in Qi and Yin deficiency group ($P < 0.05$). There was similar pattern observed in IL1B mRNA level, and IL1B level decreased in the order of Lung-Yin deficiency, Yin-Deficiency and Fire-Hyperactivity, and Qi and Yin deficiency ($P < 0.05$, $P < 0.01$). (3) IL-1Ra expression increased significantly after Mtb stimulation, it was the highest in Qi and Yin deficiency group compared to other two groups ($P < 0.05$), and there was no difference between Yin-Deficiency and Fire-Hyperactivity group and Qi and Yin deficiency group ($P > 0.05$). Similar pattern was also observed in IL1RN level, which Qi and Yin deficiency group had the highest level ($P < 0.05$, $P < 0.01$). (4) After Mtb stimulation, IL-1 β /IL-1Ra ratio increased in Lung-Yin deficiency and Yin-Deficiency and Fire-Hyperactivity groups, which was higher than that in Qi and Yin deficiency ($P < 0.01$, $P < 0.05$).

Conclusion Expression of IL-1 β and IL-1Ra was associated with TCM pathogenesis evolution of pulmonary TB patients, which could be considered as biomarkers of microcosmic syndrome differentiation and effectively therapeutic targets.

【Key words】 Pulmonary tuberculosis; TCM syndrome types; Interleukine-1 β ; Interleukine-1 receptor antagonist; Monocytes

结核病 (tuberculosis, TB) 是由单一感染因素引起的死亡率最高的疾病, 因本病每年全球死亡人数高达 140 万, 是严重危害人类健康的重大公共卫生问题。经过多年努力, 中国结核病流行总体形势有所好转, 但仍是结核病高负担国家之一, 并且耐多药结核 (multidrug resistant tuberculosis, MDR-TB) 的危害也日益凸显^[1]。肺结核 (pulmonary tuberculosis, PTB) 是结核病的主要表现形式, 属于中医“肺癆”范畴, 其病因外为感染癆虫, 内为正气虚弱, 且两者相互为因。结核杆菌属于胞内菌, 可以在 CD14+ 细胞来源的巨噬细胞中复制、存活^[2]。白介素-1 β (interleukine-1 β , IL-1 β) 作为巨噬细胞分泌的重要前炎症因子, 在控制结核菌感染以及转归中扮演重要角色^[3]。IL-1R 拮抗剂 (IL-1Ra) 由 IL1RN 基因编码, 能特异性地与 IL-1 受体结合, 拮抗 IL-1 而发挥其生物学效应^[4]。本研究通过探讨肺结核患者不同中医证型与 CD14+ 单核细胞 IL-1 β 、IL-1Ra 表达水平的相关性, 以期明确肺结核病机演变过程中免疫应答变化特征, 并为中医微观辨证提供新的生物标识。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取于 2014 年 6 月至 2015 年 6 月期间在深圳

市第三人民医院就诊的 104 例肺结核患者为研究对象, 其中男性 65 例, 女性 39 例, 平均年龄 (36.5 ± 13.7) 岁。所有患者均符合 2005 年中华医学会《临床诊疗指南·结核病分册》中的诊断要求^[5], 且痰涂片阳性, 结核菌特异性 IFN- γ Elispot 检测阳性, 均为初治肺结核, 无合并其它感染性疾病、遗传代谢性疾病和自身免疫性疾病等。本研究经深圳市第三人民医院伦理委员会批准, 所有研究对象均签署知情同意书。

1.2 试剂与仪器

人淋巴细胞分离液 (批号: DKW-KLSH-0100) 购自深圳达科微生物公司, RPMI 1640 培养基 (批号: 11875-093)、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS, 批号: 10437-028) 均购自美国 Gibco 公司, CD14 免疫磁珠 (货号 130-097-052) 购自德国 Miltenyi 公司, 总 RNA 提取试剂盒 (RNeasy Mini Kit, 批号: 74106) 购自德国 Qiagen 公司, SYBR Green 实时定量 PCR 试剂 (批号: RR820A) 购自日本 TAKARA 公司, qPCR 引物委托深圳华大基因研究院合成, IL-1 β 、IL-1Ra 细胞因子 ELISA 检测试剂盒 (批号: DLB50、DRA00B) 购自美国 R&D 公司。CO₂ 细胞培养箱为美国 Thermo Fisher 公司产品, 多功能酶标仪 DTX880 和细胞离心机为德国 Beckman 公司产品, ABI 7500 实时定量 PCR 仪购自美国 ABI 公司, 结核

表 1 实时定量 PCR 技术基因特异性引物序列

基因名称	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
IL1B	TTCTTCGACACATGGGATAACG	TGGAGAACACCACTTGTGTCT
IL1RN	GGAAGATGTGCCTGTCTCTGT	TCTCGCTCAGGTCAGTGATG
GAPDH	GCACCGTCAAGGCTGAGAAC	TGCTGAAGACGCCACTGGA

分枝杆菌裂解物由课题组前期自行制备并保存。

1.3 中医诊断标准

依据国家中医药管理局《中医病证诊断疗效标准》^[6],拟定肺阴亏虚、阴虚火旺、气阴两虚 3 个证型的主症和次症,根据其临床证候、舌象、脉象进行中医辨证分型。所有病例的辨证分型均由两名专科中医师共同完成,分型结果不一致的病例予以剔除。由于阴阳两虚多见于病程日久、迁延难愈患者,且合并艾滋病患者居多,为避免不同疾病中医证型的相互干扰,本研究未纳入阴阳两虚患者。入选病例中肺阴亏虚 33 例、阴虚火旺 36 例、气阴两虚 35 例。不同中医证型人群在年龄、性别分布中差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.4 外周血 CD14+单核细胞的分选

用肝素锂抗凝管采集外周血 5 mL,然后使用磷酸盐缓冲液(PBS)对比稀释,缓慢加入 Ficoll 淋巴细胞分离液上方,采用密度离心法分离出外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs),取 1×10^7 个 PBMCs 与 CD14 免疫磁珠 5 μ L 置于 4℃ 保存,孵育 20 分钟,再使用 MACS 自动磁珠分选仪获得 CD14+单核细胞。

1.5 结核杆菌刺激 CD14+单核细胞

将来源于同一结核病患者的 CD14+单核细胞一分为二,分别接种在 24 孔细胞培养板中两个细胞孔,细胞密度为 2×10^5 个/孔,加入含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基,并放置在 5% CO_2 、37℃ 培养箱中孵育培养,12 小时后,将其中一个细胞孔加入经煮沸处理的结核菌裂解物(Mtb lysate, 20 μ g/mL)刺激。刺激 12 后分别收集细胞和培养上清,细胞裂解后提取总 RNA,上清检测炎症因子 IL-1 β 、IL-1Ra 浓度。另外一个细胞孔则以无细菌刺激作为空白对照。

1.6 总 RNA 的提取及实时定量 PCR 检测

根据 RNeasy Mini Kit 的说明书操作步骤,从 CD14+单核细胞中提取总 RNA。RNA 的质量及浓度检测采用超微量分光光度计测定。取 2 μ L RNA,使用 oligo-T 通用逆转录引物,在逆转录酶的作用下生成 cDNA。使用 IL1B 和 IL1RN 基因特异性引物

进行 qPCR 反应,引物序列见表 1,反应体系如下: 2 \times SYBR Premix Ex Taq 10 μ L,上、下游引物各 0.8 μ L,ROX Reference Dye II 0.4 μ L, cDNA 模板 2 μ L,加双蒸水至 20 μ L。反应条件:95℃ 30 秒,随后 95℃ 5 秒,60℃ 34 秒,共 40 个循环。通过甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)内参基因 Ct 值进行标准化,最终以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 值表示 IL1B 和 IL1RN 基因拷贝数。

1.7 ELISA 测定细胞上清 IL-1 β 、IL-1Ra 浓度

ELISA 试剂盒测定 IL-1 β 、IL-1Ra 浓度。首先加入 200 μ L 样本至反应孔中,室温孵育 2 小时后, PBS 洗涤 3 次,然后加入 200 μ L 酶标二抗室温孵育 1 小时, PBS 洗涤 3 次,最后加入 200 μ L 底物显色,使用 DTX880 酶标仪读取光密度值(optical density, OD),根据标准曲线计算炎症因子浓度,然后比较不同中医证型患者之间表达水平差异。

1.8 统计学处理

数据统计和图表制作均由 GraphPad 5.0 软件完成。其中计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,对数据进行正态分布和方差齐性检验,符合正态分布且方差齐,组间比较运用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-q 检验进行。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义,以 $P<0.01$ 为有显著性统计学差异。

2 结果

2.1 应用实时定量 PCR 技术检测 IL1B、IL1RN 基因表达

如图 1 所示, qPCR 扩增曲线图显示 IL1B、IL1RN 和 GAPDH 基因可以被有效扩增,而溶解曲线图显示不同基因具有特异性溶解曲线,而且曲线峰值单一,提示前期设计的引物具有很好的敏感性和特异性。

2.2 不同中医证型肺结核患者 CD14+单核细胞 IL-1 β 表达水平差异

相对于空白对照,结核菌裂解物能显著刺激 IL-1 β 分泌,其中肺阴亏虚组表达水平最高,显著高于阴虚火旺组和气阴两虚组,差异有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$),其中阴虚火旺组 IL-1 β 分泌水

平又显著高于气阴两虚组 ($P<0.05$)。同时利用 qPCR 技术检测 IL1B 基因表达水平,与蛋白表达水平相一致,在肺阴亏虚、阴虚火旺、气阴两虚三组中 IL1B 基因表达水平依次降低,且组间比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。详见表 2。

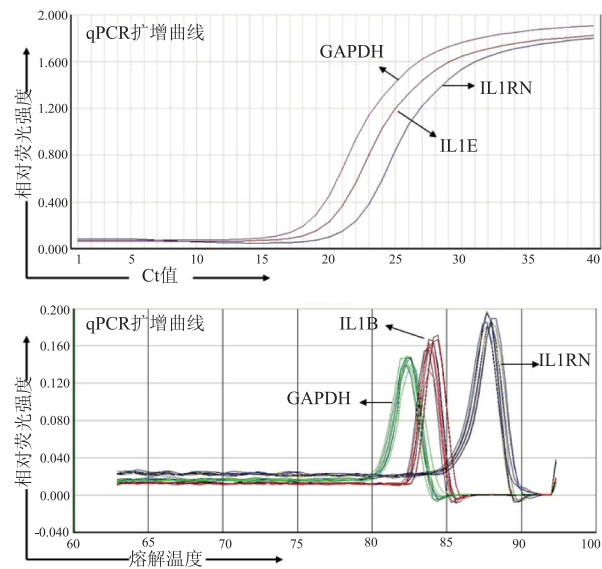


图 1 应用实时定量 PCR 技术检测 IL1B、IL1RN 基因表达

表 2 不同中医证型肺结核患者 CD14+单核细胞 IL-1β 及其 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IL1β	IL1β mRNA (IL1B)
肺阴亏虚组	33		
空白对照孔		78.3±8.5	2.5±0.2
结核菌刺激		1049.0±56.5 ^a	11.6±0.6 ^a
阴虚火旺组	36		
空白对照孔		92.5±11.4	2.5±0.2
结核菌刺激		870.7±46.2 ^{ab}	9.9±0.5 ^{ab}
气阴两虚组	35		
空白对照孔		85.4±7.6	2.4±0.2
结核菌刺激		716.0±44.6 ^{abc}	7.5±0.4 ^{abc}

注:与空白对照孔相比,^a $P<0.01$;与肺阴亏虚组相比,^b $P<0.01$;与阴虚火旺组相比,^c $P<0.05$ 。

2.3 不同中医证型肺结核患者 CD14+单核细胞 IL-1Ra 表达水平差异

在无结核菌刺激的条件下,IL-1Ra 分泌水平在肺阴亏虚、阴虚火旺、气阴两虚三组患者中差异无统计学意义 ($P>0.05$),而结核菌刺激能够显著增加 IL-1Ra 分泌水平,其中气阴两虚组升高最为明显,显著高于肺阴亏虚组和阴虚火旺组,差异有统计学意义 ($P<0.05$),而肺阴亏虚组和阴虚火旺组差异无统计学意义 ($P>0.05$)。IL-1Ra 的编码基因为

IL1RN,在 mRNA 水平,气阴两虚组 IL1RN 表达水平显著高于其他两组,差异有统计学意义 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。详见表 3。

表 3 不同中医证型肺结核患者 CD14+单核细胞 IL-1Ra 及其 mRNA 表达水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IL1Ra	IL1Ra mRNA (IL1RN)
肺阴亏虚组	33		
空白对照孔		194.7±10.9	5.3±0.2
结核菌刺激		1087.2±44.6 ^a	11.6±0.5 ^a
阴虚火旺组	36		
空白对照孔		200.1±16.8	5.4±0.3
结核菌刺激		1112.3±56.9 ^a	11.8±0.5 ^a
气阴两虚组	35		
空白对照孔		227.2±16.0	4.8±0.3
结核菌刺激		1315.1±62.8 ^{abc}	13.8±0.6 ^{abc}

注:与空白对照孔相比,^a $P<0.01$;与肺阴亏虚组相比,^b $P<0.05$;与阴虚火旺组相比,^c $P<0.01$ 。

2.4 肺结核患者中医证型与 CD14+单核细胞 IL-1β/IL-1Ra 比值的相关性

根据上述细胞上清 IL-1β 和 IL-1Ra 浓度进一步计算 IL-1β/IL-1Ra 比值,如表 4 所示,与空白对照组比较,肺阴亏虚、阴虚火旺、气阴两虚三组 IL-1β/IL-1Ra 比值差异无统计学意义 ($P>0.05$),而在结核菌刺激后,IL-1β/IL-1Ra 比值在肺阴亏虚和阴虚火旺中显著增高,显著高于气阴两虚组,差异有统计学意义 ($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。详见表 4。

表 4 肺结核患者中医证型与 CD14+单核细胞上清中 IL-1β/IL-1Ra 比值的相关性 ($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	IL-1β/IL-1Ra
肺阴亏虚组	33	
空白对照孔		0.4±0.1
结核菌刺激		0.9±0.1 ^a
阴虚火旺组	36	
空白对照孔		0.6±0.2
结核菌刺激		0.8±0.1 ^a
气阴两虚组	35	
空白对照孔		0.5±0.1
结核菌刺激		0.5±0.1 ^{bc}

注:与空白对照孔相比,^a $P<0.01$;与肺阴亏虚组相比,^b $P<0.01$;与阴虚火旺组相比,^c $P<0.05$ 。

3 讨论

中医学对“肺癆”的认识历史悠久,早在《内经·灵枢》就有记载“咳,脱形,身热,脉小以疾”,详

细描述了肺癆的主症和慢性消耗性特征。晋代《肘后备急方》首次创立“鬼注”“尸注”之名,并认识到本病具有传染性。宋代《三因极一病证方论》首次提出“癆瘵”之名,并与“虚劳”病证划清界限。《普济本事方》记载“肺虫居肺叶之内,蚀人肺体,故成癆疾,咯血声嘶”,认为本病是由“肺虫”引起。《医学正传·劳极》确立了杀虫与补虚两大治疗原则。肺癆病位在肺,肺喜润恶燥,癆虫蚀肺,首耗肺阴,阴不制阳,则现阴虚火旺之候,若阴伤及气,或阴损及阳,则可出现气阴两伤或阴阳两虚之候^[7]。因此朱丹溪提出“癆瘵主乎阴虚”之说,并倡导“滋阴降火”这一治则应贯穿肺癆治疗的始终。

多种微生物感染可以诱导 IL-1 β 产生,如《Nature》报道^[8]白色念珠菌通过激活 NLRP3 炎症小体而促进 IL-1 β 产生并介导宿主抗真菌免疫应答。Mishra 等^[9]发现结核杆菌效应分子 ESAT-6 同样能够被 NLRP3 炎症小体识别并导致 IL-1 β 分泌。动物实验证实 IL1B 基因敲除小鼠在感染结核菌后表现出更高的死亡率和肺脏细菌载量^[10],提示 IL-1 β 及其介导的信号通路在结核保护性免疫中发挥重要作用。IL-1Ra 是一种有高度选择性的竞争性受体拮抗剂,它与受体结合但并不能激活受体,从而抑制 IL-1 β 的多种生物学活性^[4]。IL-1 β /IL-1Ra 比值可以作为评估机体抗结核免疫应答的重要指标。

在本研究中,结核菌刺激能够显著诱导 CD14+ 单核细胞分泌 IL-1 β 和 IL-1Ra,而以肺阴亏虚患者 IL-1 β 表达水平最高,随着病机演变,阴虚火旺患者逐渐降低,至气阴两伤阶段,其表达水平最低,提示 IL-1 β 表达水平与病机演变密切相关,而且 IL-1 β 作为机体抗结核感染免疫的重要指标,也可以作为中医正气损伤的有效生物标识。此外,研究发现气阴两虚患者 IL-Ra 表达水平显著升高,因此推测对于肺癆后期患者,IL-Ra 升高竞争性抑制 IL-1 β 介导的抗结核免疫应答,从而导致病情迁延难愈。IL-Ra 不仅可以作为气阴两虚证型的微观辨证标签,也有希望作为未来结核病治疗的分子靶点。

总而言之,本研究证实在肺结核早期(肺阴亏虚型),主要表现为高 IL-1 β 、低 IL-Ra 表达;在疾病

中期(阴虚火旺型),IL-1 β 水平逐渐降低;而在疾病后期(气阴两虚型),则呈现低 IL-1 β 、高 IL-Ra 的临床表型。以上结果提示在肺结核病机演变过程中,IL-1 β 介导的宿主保护性免疫逐渐弱化,而 IL-Ra 介导的病理性免疫逐渐增强。根据本研究结果,在未来结核病治疗中,需要在中医辨证施治的基础上,适当配伍合适的免疫调节剂,如黄芪多糖和黄芪皂苷已被证实可以促进巨噬细胞分泌 IL-1 β ^[11],这是未来研究的主要方向。

参 考 文 献

- [1] Chiang CY, Van Weezenbeek C, Mori T, et al. Challenges to the global control of tuberculosis [J]. *Respirology*, 2013, 18 (4): 596-604.
- [2] Monack DM, Mueller A, Falkow S. Persistent bacterial infections: the interface of the pathogen and the host immune system [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2 (9): 747-765.
- [3] Jayaraman P, Sada-Ovalle I, Nishimura T, et al. IL-1 β promotes antimicrobial immunity in macrophages by regulating TNFR signaling and caspase-3 activation [J]. *J Immunol*, 2013, 190 (8): 4196-204.
- [4] Moltó A, Olivé A. Anti-IL-1 molecules: new comers and new indications [J]. *Joint Bone Spine*, 2010, 77 (2): 102-107.
- [5] 中华医学会. 临床诊疗指南·结核病分册[M]. 北京:人民卫生出版社, 2005: 7-9.
- [6] 国家中医药管理局. 中医病证诊断疗效标准[M]. 南京:南京大学出版社, 1994: 3.
- [7] 王梅, 陈红兵, 王波, 等. 肺结核合并支气管结核中医证候分布规律初探 [J]. *中医中药*, 2013, 10 (26): 116-118.
- [8] Gross O, Poeck H, Bscheider M, et al. Syk kinase signalling couples to the Nlrp3 inflammasome for anti-fungal host defence [J]. *Nature*, 2009, 459 (7245): 433-436.
- [9] Mishra BB, Moura-Alves P, Sonawane A, et al. Mycobacterium tuberculosis protein ESAT-6 is a potent activator of the NLRP3/ASC inflammasome [J]. *Cell Microbiol*, 2010, 12 (8): 1046-1063.
- [10] Mayer-Barber KD, Andrade BB, Barber DL, et al. Innate and adaptive interferons suppress IL-1 α and IL-1 β production by distinct pulmonary myeloid subsets during Mycobacterium tuberculosis infection [J]. *Immunity*, 2011, 35 (6): 1023-1034.
- [11] 陈丹, 刘光陵, 吴雪琼. 具有抗结核作用中药及其成分研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2015, 17 (1): 128-131.

(收稿日期: 2016-07-04)

(本文编辑: 韩虹娟)