

实验研究

先天肾虚证造模种鼠子代行为的遗传实验研究

王米渠¹ 林 乔² 刘绍唐¹ 严石林¹ 马向东¹ 于 挺¹ 卢朝晖¹ 彭兴甫¹

摘要 采用猫吓孕鼠(恐伤肾),得到子代先天肾虚模型,测试子代初生鼠翻身率、子代少年鼠空地活动范围、子代成年鼠取食芝麻数量,与对照组比较,差异显著。而恐吓后又予补肾的反证组,4种测试结果均接近对照组($P>0.05$),即先天肾虚本能行为失常者,肾气丸有助于康复,而未恐吓非肾虚的对照组,补肾药基本无作用。

主题词 肾虚/遗传学

“肾为先天之本”,要深入于遗传层次研究肾虚的本质,必须造成子一代先天肾虚模型鼠^[1]。我们采用猫吓孕鼠“恐伤肾”的方法建造了这种模型,并且在移植行为遗传学的经典实验方法^[2]上,作了大胆尝试,同时解决了一些技术问题,也提出了新的思路和方法。

1 材料

1.1 动物:昆明封闭群种鼠75日龄,由卫生部成都生物制品研究所动物中心提供。土猫一只,猫笼一只(70cm×50cm×50cm)。

药品:金匱肾气丸,四川中药厂生产(批号950025)。

1.2 测试材料:木板2张(90cm×90cm),上面画有黄白相间的正方形(15cm×15cm)小方格,钢丝粗3mm长2.5m,黑芝麻100g,录音机及有猫叫声的录音带。

2 方法与结果

2.1 先天肾虚证子鼠造模:母鼠48只,雄鼠24只,随机分为恐吓组、反证组、对照组和补肾组。按雌雄2:1比例进行交配,4天后取出雄鼠,对恐吓组和反证组进行恐吓。方法是将猫笼置于鼠笼上面,每日9:00~11:00,15:00~17:00各恐吓一次,共恐吓14天^[3],直到生产前。反证组母鼠在恐吓的同时补肾,饲料中拌有金匱肾气丸悬浊液并烘干,其药量按成人体重比例的10倍量给予。

对照组和补肾组均不恐吓,常规饲养与恐吓组相

同的饲料及取水。补肾组予拌有金匱肾气丸的饲料,其剂量和饲养时间同反证组。

能产子的母鼠于交配后的19~22日时先后产子。得到先天肾虚(恐吓组)、先天肾虚又补肾(反证组)、正常(对照组)、正常追加补肾(补肾组)的子代鼠。

2.2 行为遗传测试结果

2.2.1 初生鼠翻身测试:对子代初生鼠于当天做翻身测试。方法是将初生鼠四脚朝天,背于实验台,观察在30秒钟内能翻身后四脚着地者为翻身成功,否则为失败。结果示,恐吓组29只鼠翻身成功7只(24.1%);反证组33只鼠,成功16只(48.5%);对照组55只鼠,成功24只(43.6%);补肾组35只鼠,成功19只(54.3%)。经统计学处理,恐吓组翻身成功率低于对照组50%左右,经补肾后这种现象多数获得纠正($P<0.05$)。

2.2.2 少年鼠和青年鼠空地测试:将14日龄子代少年鼠和75日龄子代青年鼠分别置于画有方格的木板中央,用秒表计算5分钟内爬行通过的格数,以4只脚进入1格为1分。表1示,恐吓组少年子鼠的爬格数比其余三组减少约50%($P<0.01$),表明先天肾虚少年子鼠的肾气“作强”能力下降和活动范围的缩小;而青年鼠的“作强”能力可得到一定程度的恢复($P>0.05$)。

表1 子代少年鼠与青年鼠空地爬格数比较($\bar{X}\pm S$)

组别	子代少年鼠	子代青年鼠
恐吓组	14.18±9.82(17)	38.54±16.02(13)
反证组	26.23±13.61(21)*	45.14±27.52(21)
对照组	33.85±25.52(20)*	47.96±23.59(12)
补肾组	29.67±14.25(12)*	45.75±16.59(12)

* 与恐吓组比较 $P<0.01$

2.2.3 青年鼠走钢丝测试:将74日龄子代青年鼠置于60°倾斜2米长的钢丝上端,用秒表计算爬行至钢丝下端的时间。结果示,恐吓组15只为33.07±20.51秒,反证组17只为23.26±24.12秒,对照组15只为22.13±10.41秒,补肾组11只为19.64秒。恐吓组走钢丝时间较其他三组延长29.6%~40.6%,但差异无显著性(P 均 >0.05)。

1 成都中医药大学,四川省成都市十二桥街(610075)

2 成都第二农科研究所遗传室

收稿日期:1997-08-07;修回日期:1998-05-04

2.2.4 成年鼠取食芝麻测试:将 91 日龄的子代成年鼠饥饿 15 小时(实验前 1 天 17:00 至次日 9:00 断食,供水依旧),然后置于放有 72 粒黑芝麻的白色塑料盒中,计算 7 分钟内所吃芝麻的数量(包括部分被食芝麻)。4 个组均在第 1 次测末插入猫叫录音,第 2 次测试时播放其母鼠造模时猫叫的录音。表 2 示,各组成年鼠在既定时间内取食芝麻的数量差异均无显著性。但在猫叫的刺激下,恐吓组与其余各组比较,差异均有显著性($P<0.05\sim 0.01$)。这可提示先天及后天的恐吓均对小鼠基本生活能力有显著的影响。

表 2 子代成年鼠取食芝麻(粒)测试比较($\bar{X}\pm S$)

组别	未插入猫叫测试	插入猫叫测试
恐吓组	28.31 $\pm$ 8.24(13)	46.08 $\pm$ 20.50(13)
反证组	32.52 $\pm$ 12.61(22)	64.51 $\pm$ 15.6(21)*
对照组	27.94 $\pm$ 13.07(18)	70.72 $\pm$ 3.08(18)**
补肾组	22.17 $\pm$ 11.15(12)	65.92 $\pm$ 6.90(12)**

* 与恐吓组比较 * $P<0.05$, ** $P<0.01$

3 讨论

开展中医遗传学研究,第一步应建立子代“先天肾虚证”的动物模型,实验结果表明我们的造模是成功的。猫吓母鼠(恐伤肾)的自然造模方式,既符合中医“肾”的脏象学说理论,也符合实验心理(行为)学原理。并且这种造模法不同于国外流行的电击等理化条件造模法,其优点是利用了猫与鼠的天敌关系,这便于追溯在进化过程中鼠类种群的习性的成因,从而对于脑的分子遗传学等方向可能具有新的意义,值得深入研究,同时这一研究对中医自然医学中遗传学思想也有弘扬作用。

行为遗传学认为,母代长期处于不良情绪刺激下,对子代先天的情绪性及行为表现是有影响的,这个观点符合中医学七情内伤的病机。在我们的实验中,有关行为遗传学上的宏观表征^[4]的 4 种测试结果表明,恐伤肾母鼠均有行为上的异常。空地测试是汤普森(Thompson)的经典实验,其少年惊恐组活动行为量减少了 2/5^[2,5],这与本文结果相近。汤普森实验的成年鼠也减少了 1/3,但我们的结果却无如此明显的差异。这是因为仅造模一代子鼠,到了成年在通常情景下,其行为测试难有显著差异。我们实验中除少年子鼠空地测试外,成年子鼠空地测试、青年子鼠走钢丝测试及青年子鼠取食芝麻(未插入猫叫)测试均无统计学意义。但是当插入猫叫录音后,就测出显著性差异^[5],这是我们对经典方法的重要改进。

对“肾为先天之本”的“肾”的理解,重点之一是本

能行为^[1]。先天肾虚子代模型可见多种本能行为降低(甚至丧失而死亡)或异常,它可从个体的、整体的、动态的行为测试反映出来。行为遗传学称谓的宏观表征,恰恰是中医脏象的“象”,可通过外显行为来量化之。我们从中医脏象五志与情绪心理学相结合出发,使母鼠受到多次极端强化的“先天恐惧刺激,使之处于“恐伤肾”的病理状态,导致本实验中母鼠生殖力降低了一倍^[6]。然而,“母虚子亦虚”,勉强能生殖的母鼠,由于先天之精与胚胎发育的直接因果关系,便产生了子一代先天肾虚鼠,因而表现在本能行为如实验中翻身身体、自由活动、攀登爬行和寻觅食物等基本活动能力降低。这些“恐伤肾”遗传变异的外显行为之病“象”、弱“象”、异“象”,若充分系统研究,并加以规范化,是可以作为先天肾虚证指标的。

开展药理遗传学研究应是中药药理学发展的一个方向。本文的反证组与恐吓组比较,子代初生鼠翻身成功率提高了 1 倍,少年鼠空地测试的活动量也提高近 1 倍,插入猫叫取食芝麻量也提高 1/3,均有显著意义。尽管青年鼠的空地测试、走钢丝测试、成年鼠未插入猫叫的取食芝麻测试等无统计学意义,但其平均数均有所提高。并且本文 4 种 6 次测试中,反证组与对照组的显著性检验都处于同一水平。这些结果不但证实了补肾药(金匱肾气丸)对母鼠肾虚有显著的康复作用,并且也表明其能纠正先天遗传肾虚的病理过程。是否提示了“恐伤肾”影响了有关本能行为的基因表达,补肾药可促进或激活某些有关基因,而使其行为恢复正常?如果能依据中医遗传学思想,结合分子遗传学的理论和方法,深入研究并加以科学论证,对遗传学和药理遗传学就会有特殊贡献。

药理遗传学对子代^[7]或种群的药代动力、药物效应和药理毒性学方面在作深层次研究。尽管天然药物的药代动力学研究有一定困难,但子代药效学研究还是可以起步的,本研究已显示了先天补益肾气药物效应的功能,有很好的苗头。关于中药的药理毒性遗传学,目前中医学界仅作了一些间接目的的工作^[8],今后需要做药理遗传方面的工作。

总之,本实验采用猫鼠天敌方法,第一次建造先天肾虚证模型,并移植和建立了一些行为遗传的新方法,以评定先天肾虚证的证状,同时考察了先天补肾药的疗效,中医学、中医遗传学有一定的创新开拓作用,对行为遗传学、情绪心理学和药理遗传学等也会有一些新的启示。

4 参考文献

1 王米渠. 论从“肾为先天之本”到“中医遗传学”. 中国中医

基础医学杂志, 1996, 2(4): 3.

- Thompson WR. Behavior Heredity on Emotion, Science, 1957, 125: 698.
- 沈雁, 匡调元, 张传荣, 等. “恐伤肾”的实验研究. 中国医药学报, 1991, (1): 13.
- 王米渠, 曾祥国, 马向东, 等. “恐伤肾”造模对子代脑髓超微结构的观察. 成都中医药大学学报, 1996, 19(4): 37.
- Thompson WR. Communication of emotional intent by

facial expression. J Abnorm Soc Psychol 1964: 129.

- 王米渠, 段光周, 马向东, 等. “恐伤肾”母鼠的行为与生殖功能的实验研究. 中医杂志, 1997, 38(3): 176.
- Kalow W. Development of pharmacogenetics from a perspective. Behavior Genetics, 1995, 25(3): 298.
- 姜廷良. 六味地黄丸的生殖毒性的研究. 见陈奇主编: 中药药理研究的方法. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 159.

* 本工作系国家自然科学基金项目(批准号: 39570848)

北京医海林音像书店向您推荐以下图书

●《中国医学大成》该书系近代著名医学家曹炳章先生编录前贤明清的重要著作而成, 共计 136 种, 内容丰富, 且其中多为珍本、孤本, 所以受到医药界的广泛珍视, 因其为繁体字, 未加标点, 不易阅读, 此次出版, 对全书重新标点, 采用简装横排的形式, 按以下 10 个分册出版。《内经分册》84 元, 《伤寒金匮分册》127 元, 《诊断分册》99 元, 《温病分册》124 元, 《内科杂病分册》89 元, 《眼科外科分册》75 元, 《妇科儿科分册》146 元, 《医家医话分册》108 元, 《医论分册》124 元, 《本草医方分册》110 元。全套购买免收邮费, 每套 982 元。

●《清宫医案研究》498.00 元(免邮费)。由中国中医研究院与中国第一历史档案馆有关专家通力合作, 历时数载完成的这部巨著, 首次对我国现存极其珍贵的清代宫廷医案档案, 上自顺、康、下迄光、宣, 作了系统整理研究, 不仅展示了清代历朝帝后、妃嫔及王公大臣之病情医事, 名医国手之辨治经验, 以及某些视为禁例之宫廷药治、床前施治, 更可贵的是编者还撰选了高质量的系列论文, 揭示了清代宫廷医学之成就及独特经验, 于医学史都具有极高的参考价值。

●《金元四大医学家名著集成》85.00 元。金元四大医学家是指我国历史上金元时期的刘完素、张子和、李东垣、朱丹溪。他们在医学上有着重大贡献, 并各具特色。刘完素为“寒凉派”, 张子和为“攻下派”, 李东垣为“补土派”, 朱丹溪为“滋阴派”。时至今日, 四大家的学术思想和临证经验, 仍被广泛应用于中医理论研究和临床实践。此书收集了他们各自有代表性的名著 25 种, 并编辑了总目录。

●《万密斋医学全书》91.00 元。万全(字图南)是我国明代伟大的临证医学家, 在我国医学史上以儿科、妇科、痘疹等著称。其所著《万密斋医学全书》更是继《千金方》之后我国的又一部中医医学全书。本书含《养生四要》《保命金书》《伤寒指南》《广嗣纪要》《万氏妇科》《妇科发挥》《奇难杂症》《片玉心书》《片玉痘疹》《痘疹心法》。

●《济阴济阳纲目》每册: 140.00 元。该书是《济阴纲目》和《济阳纲目》的首次合刊注本。精心整理校注, 阴阳相济, 珠联璧合, 是一部具有重要文献价值和较高实用价值的中医临证医学百科全书。其中保存的八千余首历代名方, 具有极大的开发价值。《济阴纲目》114 卷, 论述经、带、胎产以及妇产科杂病的诊断和治疗。其中选取并保存了《宝鉴》《妇人良方大全》《薛氏医案》, 尤其是王肯堂《女科证治准绳》等著名医家医著, 许多珍贵治疗经验。《济阴纲目》108 卷, 主要论述内科杂证以及外科、妇科、皮肤、五官、口咽等诸病的辨证和治疗。是现存明代医籍中不可多得而又亟待整理的重要著作。至今尚未有校勘印本公世。

●《冯氏锦囊秘录》系浙江名医冯兆张著的一部综合性医书。冯氏历时 30 余年, 汇集各家精要, 结合己见, 著成此书。该书内容包括临证各科病症, 及痘疹、药物、脉诊、导引养生, 并采集民间验方、秘方, 内容丰富, 流传颇广。冯氏诊治疾病, 主张因时、因地、因人制宜, 曾归纳三法、四因、五治、六淫、八要等几方面, 条理清晰, 别具一格, 不仅具有较高的理论价值, 而且具有较高的临床应用价值。每册: 94.00 元。

●《名医类案(正续编)》是由《名医类案》与《续名医类案》两部书组成。前者是由明代名医江绳武子编集, 清代名医魏之贤增补, 清末名医王孟英点校。此两部书编写体例相同, 所集内容宏富, 是集我国古代医案之大成的名著。每册: 102.00 元。

●《证治准绳》为明代著名医家王肯堂所撰。全书包括《杂病》八卷, 《类方》八卷, 《伤寒》八卷, 《医方》六卷, 《妇科》九卷, 《杂考》五卷, 共计六册, 四十四卷。其中《杂病》与《类方》两种内容相关, 前者专论杂病证治, 后者专载所用方药, 二者实为姊妹篇。其余四部独立成篇, 分述了伤寒及儿、妇、儿、科疾病的脉因证治。由于该书论各科证治, 条分缕析, 博采众家所长, 平正公允, 故本书自问世以来, 颇为历代医家所推崇, 是一部中医临床治疗的重要著作。每册: 208.00 元。

●《医学纲要》本书系明代医家张景岳之代表作。全书共 40 卷, 汇集明以前医学之大成, 并结合个人见解分论述。纲目清晰, 资料丰富, 内容包括阴阳脏腑、运气占候、各科病症论治、针灸及调摄等, 其特点是每论一证, 先引历代有关论述, 治法区分为正门与支门, 取各家之长, 体现同病异治的原则。该书是一部颇具法度的中医类图书。每册: 98.50 元。

●《黄元御医学全书》清·黄元御撰, 包括《素问悬解》《灵枢悬解》《难经悬解》《伤寒悬解》《金匮悬解》《伤寒杂论》《四圣悬解》《素问微旨》《长沙药解》《玉麟药解》11 种医著, 均系《四库全书总目提要》所著录者。以上 11 种黄氏医籍均予全书点校, 简体横排印刷。每册: 103.00 元。

●《平乐正骨》本书以全面系统地介绍了平乐正骨的经验 and 现实水平。全书 130 万字, 插图 1400 余幅, 图文并茂, 对每个骨伤疾病的治疗, 力求体现平乐正骨的经验、筋骨并重、内外兼治三个原则的手法治疗、器具固定、药物疗法、功能疗法的系列治疗方法。每册: 108.00 元。

实用专病方临床大全 98.00	中成药临床应用指南 39.00	中医辨证论治大全 85.00	叶天士治法大全 36.00	毒病本草 96.00, 医宗金鉴 110.00
骨性疾病的临床与研究 49.00	老年病临床研究 99.00	医方十经经典全录 66.00	常见病最新疗法 46.00	简明实用中医学 63.00
胃肠病和肝病的治疗研究 76.00	常见病的中成药治疗 28.50	临证之验(秘方新编) 55.20	千金方方论 110.00	常用药物新用途临床大全 96.00
中现代临床应用手册 34.50	中药新药研制与申报 57.00	金匮要略汤证论治 67.00	中药别名考 91.00	中医古籍大本 498.00
当代中药外治临床大全 83.00	病毒性肝炎防治研究 44.80	中医诊断学 145.00	奇效良方 77.00, 医学入门 68.00	(免邮费)
中医古代医方全书 150.00	中国特色医疗大全 108.00	中医药专利大全 51.70	汤医大全 69.00, 张氏医通 49.50	临床中医学 230.00(免邮费)

欲购者请汇款至北京东直门内北新仓 18 号中医杂志医海林音像书店 刘振海 收, 邮政编码: 100700. 电话: (010) 64035632. 请在汇款单附言栏写清所购书名、数量及邮政编码。备有详细书目函索即寄。

(广告费: 9809-15)