

黄芪对老年大鼠脑 M 胆碱受体的调节作用

石瑞如¹ 何路明² 胡雅儿² 翁世艾³ 曹永舒³ 易宁育²

摘要 用放射自显影方法观察自然衰老大鼠不同脑区 M 胆碱受体密度的变化和温阳益气药黄芪的调整作用。结果显示,所得脑切片自显影灰度层次清晰,主要分布在皮质、海马、纹状体等部位,非特异结合灰度很低。老年鼠组皮质、海马、纹状体的灰度显著低于青年鼠组,分别降低 24.87%、14.12%、12.76% (P 均 < 0.05),老年鼠服黄芪组 3 个部位的灰度均明显高于老年鼠对照组,分别升高 24.15%、14.38% 和 13.47% ($P < 0.05$)。表明黄芪对衰老大鼠降低的脑 M 胆碱受体密度有上调作用。

主题词 黄芪/治疗应用 受体,胆碱能/药物作用

M 胆碱受体和大脑高级神经活动有密切关系^[1,2],研究发现,自然衰老动物脑内 M 胆碱受体数目降低^[3],一些抗衰老的中药可以阻止和延缓这种变化的发生^[4]。本工作采用放射自显影方法观察老年大鼠大脑皮质、海马、纹状体部位 M 胆碱受体密度的变化和温阳补气药黄芪的调节作用。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器:二苯羟乙酸奎宁酯(quinuclidinyl benzilate, QNB) 购自美国 Sigma 公司,³H-QNB(比活度 1.5TBq/mmol)和氟自显影片(hyperfilm-³H,简称氟片)购自英国 Amersham 公司。显影液和定影液分别按 D_{19b} 和 F₅ 配方配制^[5]。冰冻切片机为英国 Anglia Scientific 公司的 AS-600 型,计算机图像分析仪为德国 Kontron 公司的 VIDAS 型。黄芪生药[Astragalus membranaceus (Fisch.) Bge. Var. mongholicus (Bge) Hsiao]由上海市药材公司提供,上海医科大学生药教研室鉴定。按传统方法制成水提物,浓缩至每毫升含生药 1g。

1.2 动物模型:纯系 SD 雄性大鼠(上海计划生育研究所动物中心提供)12 只,20 月龄时随机分成两组,老年对照组 6 只,老年服药组 6 只。按每鼠每日 0.25g 生药的用药剂量将黄芪水煎剂加入饮水中,让老年服药组

鼠饮用,老年对照组鼠饮普通水。连续喂药 6 个月后,即 26 月龄时,用放射自显影法测定脑 M 胆碱能受体,测定时以 4~6 月龄同来源同性别的 SD 大鼠 6 只,作为青年对照组。

1.3 方法^[6]:实验分 6 次进行,每次实验时从青年对照组,老年对照组及老年服药组各取 1 只大鼠,共 3 只,相同条件下作平行实验,断头取完整大脑,用冰冻切片机切成 15 μ m 厚的冠状切片,取海马和纹状体部位的切片,前者体积较小,每鼠 6 片,后者体积较大,每鼠 8 片,按切片先后次序编号。每片滴加溶于 pH7.4 磷酸缓冲液的³H-QNB50 μ l,浓度为 1nmol/L。为观察非特异结合情况,取相邻切片加相同量³H-QNB 和 0.1 μ mol/L 非标记 QNB,25 $^{\circ}$ C 条件下保温 2 小时,使受体与配基发生结合反应,随后全部切片依次用冰冷缓冲液和双蒸水洗去未结合部分,冷风干燥后,在暗室中用接触法将标本与氟片贴紧,置暗盒中 4 $^{\circ}$ C,曝射 3 周,显影、定影后,与同一次实验中解剖部位相同,编号相同的完整自显影图片配对。用计算机图像分析仪按内部设定的刻度读出由³H-QNB 与 M 胆碱能受体结合产生的相对灰度值,海马部位的切片分别给出皮质、海马的平均灰度值,纹状体部位分别给出皮质、纹状体的灰度值,最后将灰度值进行配对比较。

2 结果

2.1 老年大鼠大脑皮质、海马、纹状体 M 受体密度的变化:脑切片放射自显影灰度层次清晰,主要分布在皮质、海马、纹状体等部位,非特异结合灰度很低。图像分析仪先将平行的总结合和非特异结合切片的灰度值减去各自氟片的本底,再将两者相减,给出不同脑区的特异性结合灰度分布图。可以看出,老年鼠皮质、海马、纹状体的灰度明显低于青年鼠。图像分析仪还给出不同脑区的平均灰度值。老年鼠 3 个脑区特异结合的灰度均值都低于青年鼠,配对 t 检验,差异均有显著性(表 1),但 3 个脑区变化程度不全相同,皮质区降低近 25%,海马区和纹状体区的降低约为皮质区的一半。

2.2 黄芪对老年鼠几个脑区 M 受体密度的影响:结果见表 2。20 月龄开始连续口服黄芪 6 个月的大鼠,3 个脑区胆碱能 M 受体特异结合的平均灰度值经配对 t 检验表明,黄芪组皮质、海马、纹状体的灰度均显著高于老年对照组。

1 河南省胸科医院药物研究室,郑州市纬五路 1 号 (450003)

2 上海第二医科大学细胞调控研究室

3 河南医科大学药理教研室

收稿日期:1997-08-25;修回日期:1998-02-26

表1 老年鼠与青年鼠三个脑区灰度值比较($\bar{X} \pm S$)

组别	大脑皮质	海马	纹状体
青年组	31.31 ± 1.59(40)	34.87 ± 1.62(20)	37.50 ± 2.30(20)
老年组	23.46 ± 1.13(40)	30.54 ± 0.98(20)	31.86 ± 2.76(20)
差值	-24.87 ± 2.23*	-14.12 ± 1.98*	-12.76 ± 3.05*

注:差值=(老年鼠灰度值-青年鼠灰度值)/青年鼠灰度值×100%,差值为负表示老年组低于青年组

* 两组比较 $P < 0.01$

表2 黄芪组与老年组3个脑区灰度值的比较($\bar{X} \pm S$)

组别	大脑皮质	海马	纹状体
老年组	24.58 ± 1.44(30)	29.36 ± 1.12(18)	30.49 ± 2.87(16)
黄芪组	31.88 ± 2.24(30)	36.98 ± 2.51(18)	36.99 ± 3.13(16)
差值	+24.15 ± 3.52**	+14.38 ± 2.95*	+13.47 ± 4.26*

注:差值=(黄芪组灰度值-对照组灰度值)/对照组灰度值×100%

差值为正表示黄芪组高于对照组;两组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

胆碱能学说认为,中枢胆碱能系统功能减退是老年脑功能障碍(记忆力减退、行动迟缓、情绪不稳)和老年性痴呆的病因。本实验结果表明,自然衰老大鼠大脑皮质、海马、纹状体3个部位的M胆碱受体数显著降低,这与脑衰老的胆碱能学说相一致。近年来,用试管放射配基结合法和放射自显影法研究自然衰老时脑内M胆碱受体密度变化的报道,结果虽不尽一致,但多数报道证实脑内M胆碱受体密度降低,降低的范围是10%~30%^[3]。本实验用放射自显影法所得结果也证实,老年大鼠脑M胆碱受体密度降低,皮质平均下降幅度接近25%,纹状体和海马下降幅度较小,约为皮质的一半,而且这3个部位胆碱能M受体密度都比其它部位高。所以M胆碱受体密度降低可能是衰老时学习、记忆、认知等功能障碍的重要机制之一。

中医认为,肾气衰退是衰老的主要成因,临床上对老年虚证的辨证,以气虚和阴虚为多^[7],益气药和滋阴药在防治脑衰老中有重要地位,对改善记忆思维能力有一定效果^[8]。本实验结果表明,黄芪对自然衰老大鼠大脑皮质、海马、纹状体部位降低的M胆碱受体数目有显著的上调作用。提示黄芪延缓脑衰老的作用可能与它能提高这3个部位的M受体密度有关。另外,本实验结果也提示中医补气治则在抗脑衰老中可能有重要意义。

4 参考文献

- Mcgaugh JL. Involvement of hormonal and neuromodulatory systems in the regulation of memory storage. *Ann Rev Neurosci*. 1989;12:255.

- Bigl V, Arendt T. cholinergic neurons of the central nervous system; morphofunctional aspects. *Acta Psychiatri Scand*, 1991, Suppl 366:7.
- Muller WE, Stroll L, Schubert T, et al. Central cholinergic functioning and aging. *Acta Psychiatr Scand*, 1991, Suppl 366:34.
- 卞以洁,高汝协,夏宗勤,等.老年大鼠脑M受体的变化及不同类型补益中药的影响. *中药药理与临床*, 1991,7(6):11.
- 刘鼎新.放射自显影术.见:夏宗勤主编. *实验核医学与核药学*.上海:同济大学出版社,1989,264.
- Vilaro MT, Wiederhold KH, Palacios JM, et al. Muscarinic M2 receptor mRNA expression and receptor binding in cholinergic and noncholinergic cells in the rat brain: a correlative study using in situ hybridization histochemistry and receptor autoradiography. *Neuroscience*, 1992,47:367.
- 周文泉.近代我国中医老年医学研究述评. *北京中医学院学报*, 1990,13(5):1.
- 周文泉,刘建华,周鸿.近代中医抗衰老药物研究综述. *中国医药学报*, 1991,6(4):43.

注:本课题为国家自然科学基金资助项目(编号3932004)

• 征 文 •

由中华医学会医史学会主办、定于1999年5月中旬在西安召开“国际孙思邈学术研讨会”。征文内容为:1.孙思邈医学思想及医术现代化问题、孙思邈的社会医学思想、医学伦理学思想;2.孙思邈的养生思想、营养与食疗思想、性卫生及性保健思想;3.孙思邈有关临床及医术研究;4.中国医学史研究及现代化问题;5.世界医学史与中西方医学文化的交流与比较研究。

请于1998年12月30日前将论文及摘要寄至西安市朱雀大街205号西安医科大学卫生管理系王明旭收,邮编:710061.电话:(029) 5261677-22343.