

学术探讨

肾虚与衰老的微观比较研究

沈 自 尹*

主题词 肾虚/病理生理学 衰老/生理学 痕量元素/代谢

衰老最重要的表现是组织与器官的细胞退化,逐渐失去增殖的能力,以及过度的细胞凋亡。随增龄而老化是不可抗拒的生理过程,但就每个人而言,年龄变化对各器官组织带来的影响个体差异却很大,仅以年龄制定衰老界限,或从外表来估计衰老程度,往往不够全面,内在组织器官老化及微观的基因调节失控可以导致整体老化的加速与老年慢性疾病。

1 肾虚与衰老在神经内分泌轴上的比较

关于衰老的原因有多种学说,但神经内分泌和免疫功能的改变对于全身性衰老无疑占有十分重要的地位。肾虚与衰老显然具有相同的外在表现,为探寻在神经内分泌轴上是否也有共性,20 世纪 70 年代末,我们^[1]曾就此以下丘脑—垂体—靶腺轴 3 个水平全套功能测定为指标,在慢性支气管炎及男性功能减退这两个病种中选择同病异证者(即肾阳虚证组与无特殊见证组)作比较,同时与 65 岁以上老年人组作对比观察。测定结果得到如下结论:(1)肾阳虚证在不同靶腺(肾上腺皮质、甲状腺、性腺)轴有不同环节、不同程度的功能紊乱,采取两轴平行观察未见轴间相互影响的证据,可推论肾阳虚证的发病环节为下丘脑(或更高中枢)的调节功能紊乱。(2)老年人甲状腺及性腺(男)轴的异常改变与肾阳虚证甚为类似,故肾阳虚证之外象意味着下丘脑—垂体—靶腺轴有一定程度的未老先衰,而老年人神经内分泌轴功能失调的主要环节也在下丘脑,符合生理性肾虚。

20 世纪 80 年代,我们在老年鼠及模拟肾阳虚地塞米松鼠两种动物模型上,观察补肾复方与单味淫羊藿(仙灵脾)对肾上腺皮质细胞体外分泌功能的影响。结果肾上腺皮质细胞培养液中补肾复方组与仙灵脾组的皮质酮含量在人工合成垂体促肾上腺皮质激素(Cortrosyn)刺激下均介于老龄对照组与青龄鼠组之间。在成年地塞米松鼠模型实验中,亦得到相同的结果,即肾上腺皮质细胞培养液中补肾复方组与仙灵脾组

的皮质酮含量在 Cortrosyn 刺激下亦都介于模型组与对照组之间。说明老年时肾上腺皮质储备功能减退与成年时由地塞米松造成的肾上腺皮质功能减退都能被补肾方或仙灵脾所保护。从“以药测证”的角度,在肾上腺皮质细胞水平上可以看到肾虚与衰老的共性。

2 肾虚与衰老在神经内分泌免疫网络上的比较

Basedovsky 1977 年以大量实验依据提出著名的 NEI 网络学说,认为淋巴细胞亦可分泌脑啡肽、垂体促肾上腺皮质激素(ACTH)等免疫递质、激素,将信息传递给神经内分泌系统。这样,过去认为各司其职的神经、内分泌、免疫 3 个系统构成了一个完整的网络系统,这是现代医学从局部观点到整体观念的一大发展和进步,但还缺乏调节网络的手段。自 20 世纪 90 年代起,我们用外源性皮质酮造成大鼠下丘脑—垂体—肾上腺—胸腺(HPAT)轴功能抑制模型以模拟“肾阳虚”(皮质酮大鼠)证型,观察温补肾阳的右归饮及自拟命门合剂的调节作用。免疫组化实验显示,模型组下丘脑室旁核促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)神经元与正中隆起 CRH 神经纤维、ACTH 细胞等明显减少,血浆 ACTH、皮质酮含量下降,T 淋巴细胞增殖反应、自然杀伤细胞活性、白细胞介素 2、 γ 干扰素均下降,与对照组比较,差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)^[2]。温补肾阳组上述各指标均得到明显改善,与模型组比较,差异亦有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),说明皮质酮大鼠 NEI 网络功能明显受到抑制。下丘脑是机体重要的整合中枢,亦是 NEI 网络调节中枢,为准确了解温补肾阳方药对 CRF mRNA(此处 CRH 习惯用 CRF)表达的作用及同步对于 HPAT 轴的影响^[3],以皮质酮大鼠为模型,采用补肾(右归饮)、健脾(四君子汤)、活血(桃红四物汤)的对比观察,结果显示,3 组中唯有补肾组可以明显地提高已受抑制的 CRF mRNA 表达量,同时有效地保护外源性皮质酮对 HPAT 轴功能的抑制,与模型、健脾、活血组相比,差异有显著性($P < 0.01$)。说明温补肾阳方药是一种调节 HPAT 轴,抑制(肾阳虚)模型的 NEI 网络功能与形态异常的有效手段,并支持肾阳虚定位在下丘脑及与 NEI 网络存在本质联系的观点。同时还对老年大鼠 NEI 系统作了全面的研究^[4,5],发现老年大鼠下丘脑单胺类神经递质如去

* 复旦大学华山医院中西医结合研究所,上海市乌鲁木齐中路 12 号(200040)

收稿日期:2002-03-31

甲肾上腺素、多巴胺均下降;激素如 CRH、促甲状腺释放激素(TRH)亦均下降,垂体的 ACTH、促甲状腺素(TSH)下降,血浆 ACTH、皮质酮亦均下降;免疫系统如 T 淋巴细胞增殖反应、抑制性 T 淋巴细胞活性、淋巴细胞糖皮质激素受体(GCR)亦明显下降,与老年大鼠组比较,差异有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。温补肾阳组(寿而康)上述各项指标均有明显改善,与老年对照组比较,差异有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。老化过程与全身 GCR 随增龄而丢失密切相关,淋巴细胞 GCR 作为 NEI 网络的外周联结点之一,更表明补肾方药对衰老所致的 NEI 网络功能减退具有明显的改善作用。

3 肾虚与衰老 T 细胞凋亡及其相关基因群表达调控的比较

细胞凋亡是一种受细胞外环境和细胞内多基因程序性调控的主动性细胞自杀的死亡方式。它的生理性重要意义在于及时清除体内有害细胞来调节机体的发育、衰老,并维持内环境稳态。在免疫系统的作用尤其重要。1996 年,免疫衰老权威 Miller^[6]提出免疫衰老可能与 T 细胞凋亡的加速有关,Phelouzat^[7]等首先观察到老年人 T 细胞呈过度凋亡,但尚未提出对 T 细胞凋亡的调控手段。

细胞凋亡分为 3 个基本时相,即启动(诱导)相、效应(调控)相、清除(降解)相。启动相是接受体内外死亡信号指令如加热、辐射、化学试剂、毒素、NO、TNF、CD₃ 等,两个经典的凋亡相关信号转导途径分别是 Fas 途径和 Bcl-2 途径^[8]。效应相是众多促凋亡和抗凋亡基因相互促进、相互制约的形式处于动态平衡之中,一旦失衡就进入清除相。清除相的 Caspase 家族在凋亡网络中居中心地位,Caspase8 是启动酶,激活凋亡的级联反应,作用与执行酶 Caspase3,由此激活核酸内切酶,使 DNA 降解,从 50Kb 的大片段碎裂到 180~200bp 的寡聚体这样的小片段,导致了凋亡。1998 年,Aggarwal^[9]首次报道了免疫衰老时 T 细胞凋亡与 Fas、FasL、Bcl-2 等基因群调控密切相关。我们从 1998 年起采用补肾、健脾、活血复方分别对老年人、老年鼠、皮质酮鼠 T 细胞凋亡及其基因群调控模式进行了比较研究。

3.1 补肾方对老年人 T 细胞凋亡相关基因群调控模式的研究:44 名 60~89 岁老年人配对,随机分为补肾益寿胶囊组和安慰剂组,进行双盲比较研究^[10],并以 30 名年轻人(男女各 15 名)作为对照组,结果服药前两组老年人 T 细胞凋亡率比年轻组显著升高,差异有显著性($P<0.01$),说明老年人 T 细胞的确呈过度凋

亡。我们选择促凋亡基因 Fas、FasL、TNFR1、Bax,抗凋亡基因 TNFR2、Bcl-2 进行观察,服药后补肾组 T 细胞凋亡率显著下降($P<0.01$)。同时,相关的促凋亡基因 FasL、TNFR1 mRNA 表达下调($P<0.01$);抗凋亡基因 Bcl-2 mRNA 表达上调, ($P<0.05$); Fas、TNFR2、Bax mRNA 表达无变化,安慰剂组均无明显变化。

3.2 补肾、活血复方对老年大鼠 T 细胞凋亡相关基因群调控模式的比较研究:18 月龄 Wistar 大鼠 40 只,随机分为老年对照组、两个补肾组(补肾益寿胶囊、右归饮)、活血组(桃红四物汤),服药 6 个月,故本实验以 24 月龄作为老年鼠,另设 5 月龄年轻鼠 10 只^[11]。结果老年对照组 T 细胞凋亡率显著高于年轻组($P<0.01$),两个补肾组 T 细胞凋亡率与老年对照组相比明显下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$),与老年人 T 细胞凋亡规律一致,活血组与老年对照组相比则无显著差异。

关于 T 细胞凋亡相关基因群的变化,可见老年组促凋亡基因 Fas、FasL、TNFR1mRNA 表达明显高于年轻组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),Bax 未见明显变化;抗凋亡基因 TNFR2、Bcl-2 mRNA 表达则明显低于年轻组($P<0.05$ 或 $P<0.01$);凋亡蛋白酶 Caspase8、Caspase3 活性升高($P<0.01$),表明老年大鼠胞 T 细胞过度凋亡是由促凋亡基因的高表达及抗凋亡基因的低表达所致。两个补肾方都可下调促凋亡基因 FasL、TNFR1mRNA 表达,且削弱 Caspase8、Caspase3 的活性,从而显著干预了老年大鼠的 T 细胞凋亡。活血方能下调促凋亡基因 TNFR1 mRNA 表达,但未能抑制 Caspase8、Caspase3 的活性,故并未影响 T 细胞凋亡。

3.3 补肾、健脾复方对皮质酮大鼠 T 细胞凋亡相关基因群调控模式的研究:4 月龄雄性 SD 大鼠 50 只,随机分为正常组、模型组、补肾益寿组、右归饮组、四君子汤组,用药组以药物灌胃连续 14 天,正常组及模型组以蒸馏水代替药物灌胃。结果表明,模型组 T 细胞凋亡百分率明显增高,与正常组相比,差异有显著性($P<0.01$),两个补肾组 T 细胞凋亡百分率均低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),健脾的四君子汤组与模型组相比则无显著差异。表明外源性皮质酮加速 T 细胞凋亡,而补肾可拮抗皮质酮促 T 细胞凋亡的作用。

关于 T 细胞凋亡相关基因群的变化,从模型组与正常组的比较中可见,模型组促凋亡基因 Fas、FasL、TNFR1、Bax mRNA 表达高于正常组,而抗凋亡基因 Bcl-2、TNFR2 mRNA 表达则低于正常组($P<0.05$ 或 $P<0.01$),表明模型组 T 细胞过度凋亡与老年鼠一样,亦是与促凋亡基因高表达及抗凋亡基因低表达

有关。两个补肾复方可下调 FasL、TNFR1mRNA 表达,同时上调 Bcl-2 mRNA 表达,并显著降低 Caspase8、Caspase3 的活性($P<0.05$ 或 $P<0.01$),干预了 T 细胞凋亡,从而拮抗外源性皮质酮的免疫抑制作用。虽然健脾的四君子汤可上调 Bcl-2 mRNA 表达,但未能抑制 Caspase8、Caspase3 的活性,故并未影响 T 细胞凋亡。

基因不是单独发生作用,基因的活动涉及基因组中一群基因的协同与程序化表达,从而使生命活动有条不紊地进行。基因群在体内存在着互相对立又互相依赖的对子,可相互制约又可相互转化,好比中医学阴阳五行中所讲的相生相克的情况。衰老、疾病、证候亦就是由不同层次的基因群失衡,内环境稳态被打破。综合上述结果,表明老年人、老年大鼠与模拟肾虚证的皮质酮大鼠在 T 细胞凋亡及相关基因群表达方面具有基本一致的模式,且初步显示补肾复方在与健脾、活血类复方的比较中,其调控 T 细胞凋亡方面是使高表达的促凋亡基因表达下调与低表达的抗凋亡基因表达上调的协同作用,重塑基因平衡从而逆转了衰老及肾虚证 T 细胞过度凋亡的趋势,恢复内环境稳态。

参考文献

- 1 沈自尹,陈剑秋,陈响中,等.老年人与肾虚证患者的甲状腺轴功能对比观察.中西医结合杂志,1982,2(1):9-12.
- 2 蔡定芳,沈自尹,张玲娟,等.右归饮对大鼠下丘脑-垂体-肾上腺-胸腺轴抑制模型的影响.中国免疫学杂志,1994,10(7):236-239.
- 3 沈自尹.肾虚证的定位研究.中国中西医结合杂志,1997,17(1):50-52.
- 4 张新民,沈自尹,王文健,等.补肾中药对老年神经-内分泌和免疫系统作用机理的研究.中国中西医结合杂志,1994,14(11):686-688.
- 5 张玲娟,沈自尹,王文健,等.补肾益气法对淋巴细胞糖皮质激素受体老年性改变的影响.中国中西医结合杂志,1990,10(10):583-585.
- 6 Miller RA. The aging immune system: primer and prospectus. Science, 1996,273(5271):70-74.
- 7 Phelouzat MA, Arbogast A, Laforge T, et al. Excessive apoptosis of mature T lymphocytes is a characteristic feature of human immunosenescence. Mech Aging Dev, 1996,88(1-2):25-38.
- 8 齐义鹏,齐兵,刘奇玲. asy 与 asyip: 一类新的细胞凋亡诱发基因. 科学通报,2000,45(23):2465-2468.
- 9 Aggarwal S, Gupta S. Increased apoptosis of T cell subsets in aging humans: altered expression of Fas (CD95), Fas ligand, Bcl-2, and Bax. J Immunol, 1998,160(4):1627-1637.
- 10 沈自尹,郑振,郭为民,等.补肾法延缓免疫衰老的临床与实验研究.中国中西医结合杂志,2002,22(3):12-15.
- 11 郭为民,沈自尹,陈瑜,等.补肾、活血类复方对老年大鼠 T 细胞凋亡相关基因表达调控模式的比较研究.中国中西医结合杂志,2002,22(3):39-42.

解毒化瘀汤治疗慢性前列腺炎 200 例

海志刚* 曹建西*

自 1997~2000 年 12 月,我们采用固定方剂解毒化瘀汤为主辨证治疗慢性前列腺炎 200 例,取得较好疗效,现将结果报告如下。

1 临床资料

全部病例均系我院门诊或住院患者,年龄 18~54 岁,已婚 236 例,未婚 24 例。病程 5 个月~17 年。患者随机分为解毒化瘀汤治疗组 200 例和前列康片对照组 60 例。

诊断依据:(1)临床表现:尿频、尿痛,排尿不畅,尿不尽感,疼痛常放射至阴茎头及会阴部。排尿终末或大便用力时有乳白色分泌物自尿道口排出。常有睾丸、精索、会阴、腰骶部疼痛,部分患者伴有小腹拘急隐痛,性功能障碍,神经衰弱症状及反复尿路感染。(2)前列腺直肠指检:前列腺增大、饱满、质软或有结节,前列腺有不同程度的压痛。(3)前列腺液常规:卵磷脂小体减少或缺如,镜检可见白细胞增多 $>10\sim15$ 个/高倍视野,或有成堆的白细胞,有脂肪巨噬细胞。凡具备(1)和(2)、(3)任何

一项者即可确诊

2 治疗及观察方法

解毒化瘀汤组成:败酱草 30g,重楼 30g,蒲公英 30g,土茯苓 30g,生大黄 12g,延胡索 15g,川楝子 15g,赤芍 25g,丹参 30g,川芎 15g,红花 10g。伴腰痛、性功能减退者加杜仲 15g,淫羊藿 15g;伴尿频明显,夜尿增多者加巴戟天 20g、益智仁 15g;伴心烦急躁、失眠多梦者合用甘麦大枣汤、百合知母汤;伴有前列腺增生或有结节者加三棱 15g、莪术 15g、穿山甲 10g。上方第 1、2 煎共取药汁 600ml,每次服 200ml,每日 3 次温服。第 3 煎加水坐浴,每日 1 次,每次 30 分钟。1 个月为 1 个疗程。

对照组口服前列康片,每次 4 片,嚼碎温水冲服,每日 3 次,每日以热水坐浴 1 次,每次 30 分钟。1 个月为 1 个疗程。

3 治疗结果

治疗结果:解毒化瘀汤治疗组:1~3 个疗程治疗后,痊愈 62 例,显效 106 例,有效 26 例,无效 6 例。总有效率为 97%。前列康片对照组痊愈 9 例,显效 26 例,有效 18 例,无效 7 例,总有效率为 88.3%。两组比较差异有显著性($P<0.05$ 或 $P<0.01$),治疗组疗效优于对照组。

* 河南中医学院第一附属医院外科,郑州市人民路 19 号

(450000)

收稿日期:2002-04-24