

补肾对神经内分泌老化调节作用研究(II)

对老年垂体—肾上腺皮质—淋巴细胞糖皮质激素受体作用的观察

上海医科大学中西医结合研究所 张新民 沈自尹 王文健 张玲娟 陈素珍

垂体—肾上腺皮质—糖皮质激素受体是神经内分泌系统的一个重要组成部分, 又是该系统与免疫系统所构成的机体调节网络的主要下行通道, 其老年性改变不但对内分泌功能, 而且对免疫功能也有重要影响。本文从临床和实验两方面, 观察了老年垂体—肾上腺皮质—淋巴细胞糖皮质激素受体各个水平的变化以及补肾方药对它们的改善作用, 现报告如下。

一、临床研究

1. 观察对象: 选择60岁以上的老年人, 经检查除外心、肝、肾、神经、精神及内分泌严重疾患, 计53例, 随机分为二组: 老年补肾组30例, 男19例, 女11例, 平均年龄66岁, 老年对照组23例, 男16例, 女7例, 平均年龄64岁。另选择40岁以下的健康成年人18例作为成年对照组, 其中男14例, 女4例, 平均年龄32岁。

2. 方药与用法: 老年补肾组服用自拟补肾方“寿而康”片剂, 每次5片, 每日三次, 该方由仙灵脾、菟丝子、制首乌、黄精、黄芪、生地等组成, 日服剂量相当于生药量30克, 连服3个月。老年对照组服用安慰剂, 成年对照组不作特殊处理。

3. 观察结果:

(1) 补肾对老年人肾上腺皮质功能的影响: 采用Cortrosyn试验测定。于早晨8时收集唾液5毫升, 然

后一次静脉注入Cortrosyn 0.25毫克, 再分别于注射后的60分钟和120分钟各取唾液5毫升, 按陆氏法测定唾液皮质醇浓度⁽¹⁾。表1显示, 老年人与成年人之间及老年人服药前后的唾液皮质醇浓度水平都较接近($P > 0.05$)。老年补肾组服药前在Cortrosyn刺激60、120分钟时的唾液皮质醇浓度较基值浓度的增长倍数各明显低于成年对照组($P < 0.01$, $P < 0.05$)。老年补肾组服药后这一增长倍数与成年对照组者相比已无明显差异, 但老年对照组则仍低于成年对照组。老年补肾组服药前后的比较表明, 在Cortrosyn刺激后60、120分钟时的唾液皮质醇浓度较基值浓度的增长倍数都有了明显提高(P 均 < 0.05)。

(2) 补肾对老年人淋巴细胞糖皮质激素受体的影响: 观察对象于清晨8时抽取静脉血, 肝素抗凝, 离心, 将沉淀细胞加入淋巴细胞分离液, 离心后吸出淋巴细胞悬液, 调至 $4 \sim 6 \times 10^6$ 细胞/ml的浓度待测。用近饱和浓度的 ^3H -Dex一点法分析结果, 以淋巴细胞与 ^3H -Dex的特异结合量作为反映其糖皮质激素受体含量的指标^(2,3)。表2的测定结果显示, 老年人的淋巴细胞糖皮质激素受体明显低于成年人, 服药后, 老年补肾组的受体位点数有较大幅度的增加, 已与成年对照组相接近($P > 0.05$)。

表1 补肾对老年人唾液皮质醇浓度(nmol/L)的影响

	老年补肾组		老年对照组		成年对照组
	服药前	服药后	服药前	服药后	
基 值	6.64 ± 3.85(30)	5.91 ± 3.27(30)	6.60 ± 3.81(23)	5.80 ± 2.67(23)	4.59 ± 2.74(18)
刺激后60分钟	16.67 ± 8.50(29)	20.57 ± 9.84(29)	16.38 ± 7.30(21)	17.96 ± 9.05(21)	18.71 ± 6.63(18)
比 值 ^a	2.84 ± 1.42(29)**	4.21 ± 2.69(29)	3.48 ± 2.61(21)	3.30 ± 1.18(21)*	5.46 ± 3.58(18)
刺激后120分钟	22.74 ± 13.40(27)	26.58 ± 11.99(27)	21.03 ± 10.59(21)	22.33 ± 12.90(21)	26.36 ± 11.22(18)
比 值 ^{aa}	4.01 ± 2.14(27)*	6.36 ± 5.01(27)	4.75 ± 3.93(21)	4.26 ± 2.33(21)*	7.29 ± 4.83(18)

注: 表内数据为均值 ± 标准差(例数); ^a刺激后60分钟浓度与基值浓度之比; ^{aa}刺激后120分钟浓度与基值浓度之比; *与成年对照组比较 $P < 0.05$; **与成年对照组比较 $P < 0.01$

表 2 补肾对老年人淋巴细胞糖皮质激素受体的影响(M±SD)

组 别	例数	服 药 前 (位点数/细胞)	服 药 后 (位点数/细胞)
老年补肾组	20	3448±779**	3981±975 [△]
老年对照组	12	3539±700**	3450±808*
成年对照组	13	4312±653	4148±730

* 与成年对照组比较 P<0.05

** 与老年对照组比较 P<0.01

[△] 每例患者服药前后自身对照比较 P<0.05

二、实验研究

1. 实验动物和给药方法: 18~20月龄雄性 Spague-Dawley 大鼠 40 只, 随机分为老年补肾组和老年对照组, 每组 20 只。另以 3~5 月龄同品系雄性大鼠 22 只作为青龄组对照观察。实验用大鼠均由上海医科大学实验动物部提供, 许可证号为 SD-16。老年补肾组以寿而康煎剂饲喂, 剂量为 6 克/公斤/日, 其中, 供 ACTH 细胞检测的大鼠每周给药 5 天, 持续 6 个月, 至 24 月龄时处死, 供肾上腺皮质细胞体外培养用的大鼠连续用药 15 天。老年对照组及青龄组均饲喂自来水。

2. 实验结果:

(1) 补肾对老龄大鼠垂体 ACTH 细胞的影响: 将大鼠断头后立即取出垂体, 以 3:1 饱和苦味酸甲醛固定, 去包膜, 4℃置 24 小时, 以 50~100% 酒精梯度脱水, 氯仿脱色, 石蜡包埋, 切片, 以 ABC 法作免疫组化染色。第一抗体为 1:4000 兔抗鼠 ACTH 血清 (由日本德岛大学赠送), ABC 试剂采用 Vecter 药盒。第二抗体为 1:200 羊兔抗 IgG, A、B 液工作浓度均为 1:100, 染色时各组标本配对进行。最后分别以光镜人工计数和 Q 520 电脑图象分析仪检测每一视野 (0.01 mm²) 中的 ACTH 细胞数。表 3 示, 两种方法均显示老年补肾组和老年对照组大鼠单位视野中 A-

表 3 补肾对老龄大鼠垂体 ACTH 细胞数量的影响(M±SD)

组 别	动物数	光镜检测	图象分析
老年补肾组	10	10.70±1.82* ^{△△}	15.67±2.50* ^{△△}
老年对照组	10	8.94±1.55 ^{△△}	12.36±1.58 ^{△△}
青龄组	10	16.58±3.64	20.53±5.57

与老年对照组比较: *P<0.05, **P<0.01

与青龄组比较: [△]P<0.05, ^{△△}P<0.01

CTH 细胞数均较青龄组大鼠显著下降, 而老年补肾组喂饲“寿而康”后, 其 ACTH 细胞数较未服补肾方的老年对照组明显上升。

(2) 补肾对老龄大鼠肾上腺皮质功能的作用: 将大鼠断头, 取血, 分离血浆, 供皮质酮测定。剖腹取双侧肾上腺, 按常规方法制备细胞悬液后进行培养⁽²⁾; 取培养液测定皮质酮。结果表明, 老年补肾组 (15 只) 血浆皮质酮为 553.13±292.35 nmol/L, 青龄组 (12 只) 为 786.43±340.61 nmol/L, 两组的血浆皮质酮水平无明显差异。表 4 示, 老年鼠肾上腺皮质细胞培养液中皮质酮的浓度及对 Cortrosyn 刺激的反应性均明显低于青龄鼠, 老年补肾组喂饲“寿而康”后, 其肾上腺皮质细胞培养液中皮质酮浓度虽仍显著低于青龄组, 但对 Cortrosyn 的反应性则较老年对照组有了明显提高。

表 4 补肾对大鼠肾上腺皮质细胞培养液皮质酮浓度的影响(nmol/L)

	动物数	刺 激 前	刺 激 后
老年补肾组	10	117.22±77.97*	293.91±86.11 [△]
老年对照组	10	164.67±55.87*	169.11±85.48*
青龄组	12	259.91±81.15	357.86±95.41

* 与青龄组比较 P<0.01

[△] 与老年对照组比较 P<0.01

(3) 补肾对淋巴细胞糖皮质激素受体的作用: 实验大鼠于早晨 8 时断头处死, 剖腹取出脾脏, 经剪碎、过网后制备脾脏淋巴细胞悬液, 调至 5~10×10⁶ 细胞/毫升的浓度待测。用近饱和浓度的 ³H-Dex 一点法分析, 以淋巴细胞与 ³H-Dex 的特异结合量作为反映其糖皮质激素受体含量的指标⁽⁴⁾。结果表明, 老年补肾组 (8 只大鼠) 的淋巴细胞糖皮质激素受体位点数为 6234±1335 (均值±标准差, 下同), 老年对照组 (7 只大鼠) 为 4595±664, 青龄组 (9 只大鼠) 为 5809±1229。显示老年对照组淋巴细胞糖皮质激素受体明显低于青龄组 (P<0.05), 老年补肾组喂饲“寿而康”后, 其受体位点数与老年对照组比较有较大幅度的增加 (P<0.05)。

三、讨论

前一篇主要报道了下丘脑神经递质, 下丘脑、垂体、甲状腺及性腺激素的老年性改变及补肾对它们的改善作用⁽⁵⁾。在神经-内分泌-免疫网络中, 神经内分泌系统通过末梢的效应激素作用于免疫系统是这一调

神经网络的主要下行通道(3)。而垂体-肾上腺皮质-糖皮质激素受体是这一通道最重要的组成部分, 其功能在衰老时同样有明显改变。从上述临床和实验研究资料可获知, 在垂体水平, 老龄大鼠单位视野中 ACTH 分泌细胞数量下降明显, 且分泌细胞的着色变浅, 说明分泌颗粒含量减少。当然由于垂体处于多重反馈调节的中心, 其在 ACTH 分泌细胞功能减退的同时也会对靶腺功能的下降作一定的代偿, 但这种代偿是有限的, 也是不完全的。在肾上腺皮质水平, 老年人的唾液皮质醇基值浓度虽无明显降低, 但在促肾上腺皮质激素制剂 Cortrosyn 刺激后, 其肾上腺皮质反应能力明显减退, 表现为老年人在刺激后 60 分钟和 120 分钟皮质醇浓度较基值的增长倍数显著低于成年人, 说明其肾上腺皮质的储备功能不足。这也可能是老年人应激能力下降、机体抵抗力削弱的一个重要原因。本文同时观察了不同月龄大鼠的血浆皮质酮浓度和体外培养的肾上腺皮质细胞分泌皮质酮的能力及其对 Cortrosyn 的反应性, 结果见老龄鼠的血浆皮质酮水平虽无明显下降, 但体外培养的肾上腺皮质细胞分泌皮质酮的能力则明显低于青龄鼠; 血皮质酮水平变化不明显可能与老龄鼠体内的皮质激素降解速率同时下降有关, 老年人的皮质醇水平无明显下降可能也是这个原因。体外培养的老龄鼠肾上腺皮质细胞对 Cortrosyn 的反应性也较差, 说明动物至老龄时同样有肾上腺皮质储备能力的不足。体外实验的优点是可以摒除体内错综复杂因素的干扰, 有利于搞清特定环节的变化规律。

激素要通过与靶细胞上受体的结合才能发挥生理效应。淋巴细胞不同于一般靶细胞, 它的糖皮质激素受体是神经内分泌系统向免疫系统传递信息的一个重要窗口。本文观察到, 无论是老年人周围血的淋巴细胞, 还是老龄鼠的脾脏淋巴细胞, 它们的糖皮质激素受体都明显低于成年人或青龄鼠, 反映神经-内分泌-免疫网络在老化过程中其内部的联络调节、整合能力均有所削弱。

中医理论认为, 人体的生、长、壮、衰是由生命不同阶段中肾精、肾气的充盈亏损决定的, 现代医学则认为这一过程与神经内分泌的调节作用密切相关, 以中医专为肾虚而设的补肾气、填肾精的治疗对神经内分泌系统的老化有明显改善作用。本文结果显示, 在垂体水平, 补肾老龄大鼠单位视野中 ACTH 分泌细胞数量明显上升; 在肾上腺皮质水平, 虽然补肾后老年人唾液皮质醇浓度及老年鼠肾上腺皮质细胞体外分泌皮质酮的能力无明显变化, 但老年人对 Cortrosyn 的反应性有所提高, 在刺激后 60 和 120 分钟其唾液皮质醇

浓度较基值浓度的增长倍数显著上升, 与成年人已无明显差异; 老龄鼠肾上腺皮质细胞培养液中加入 Cortrosyn 后, 其皮质酮的增长幅度也明显高于老龄对照组。补肾后老年肾上腺皮质储备能力的提高, 对于增强机体对抗有害因子的侵袭能力和面对复杂的内外刺激维持内环境的稳定具有十分重要的意义。补肾后无论是老年人的周围血中还是老龄鼠脾脏的淋巴细胞的糖皮质激素受体数量都有明显上升, 这样就能有力地加强神经-内分泌-免疫网络的下行通道的信息传递, 有利于整个网络的整合与协调。

综上所述, 可以认为: (1) 补肾延缓衰老在很大程度上是因为它能延缓老年神经内分泌功能的减退; (2) 大鼠肾上腺皮质细胞体外培养实验证明, 补肾作用广泛, 对中枢以下各个环节也有直接的影响; (3) 补肾能增强老年机体的功能储备, 能加强神经内分泌系统与免疫系统的联系, 因此, 尽管其作用是多环节甚至是多途径的, 但主要还是调节、整合, 这正是中医药的特色和精华所在, 今后进一步加强对以补肾为代表的整体调节疗法的研究, 不但对阐明中医脏腑的本质及相应的治疗方法的机制有重要意义, 而且对深入了解诸如神经-内分泌-免疫网络对机体的整合调节功能也不无帮助。

参 考 文 献

- (1) 陆永仁, 唾液类固醇激素测定的临床意义. 中华内分泌代谢杂志 1986; 2(4):105.
- (2) 王惠, 等. 肾上腺皮质细胞的体外培养方法和初步应用. 上海医科大学学报 1988; 15(5):342.
- (3) 田英, 等. 人白细胞糖皮质激素受体的测定. 中华核医学杂志 1983; 1:27.
- (4) 李峰, 等. 大鼠脾淋巴细胞糖皮质激素受体的测定. 第二军医大学学报 1988; 9(3):213.
- (5) 张新民, 等. 补肾对神经内分泌老化调节作用研究(I) 中华杂志 1991; (11):43.
- (6) 杨贵贞. “神经-内分泌-免疫调节网络”研究之我见. 中国免疫学杂志 1990; 6(2):120.

· 新书出版消息 ·

人体正常值手册 日本河合忠编写, 顾红等译。书中不仅囊括了临床常用的检验项目, 还介绍了近年临床检验学方面的最新进展, 书末附有中英文索引。是协助医师临床诊断的得力助手。本书为 48 开袖珍本, 每本 5 元, 欲购者请汇款至北京中医学院外文教研室(100029)陈苏收, 注明册数。

伤寒论译释 陈亦人主编, 上海科技出版社出版。精装每册估价 20 元, 请速到当地新华书店预定。