

证 的 研 究

脾气虚与脾阴虚大鼠肝、脾组织蛋白激酶 C
活性变化的比较研究易 杰¹ 李德新²

摘要 目的:探讨脾气虚证与脾阴虚证肝、脾组织蛋白激酶 C (PKC)活性变化的异同,揭示脾气虚和脾阴虚的现代生物学基础。方法:采用复合因素塑造大白鼠脾气虚证与脾阴虚证模型;采用底物磷酸化法检测模型大鼠肝、脾组织 PKC 活性。结果:健脾益气 and 滋补脾阴中药对脾组织细胞膜无明显作用,对脾组织细胞浆、肝组织细胞膜和细胞浆 PKC 活性均有明显的降低作用($P<0.01$)。其中,滋补脾阴中药对肝组织细胞浆作用尤为明显,可使其恢复到正常水平。结论:脾气虚证与脾阴虚证肝、脾组织细胞 PKC 活性变化存在一定的差异,同肝组织细胞膜和脾组织细胞浆 PKC 活性变化密切相关;脾气虚与脾阴虚的病理变化与现代医学肝、脾组织的功能相关;健脾益气 and 滋补脾阴中药能够调节脾气虚与脾阴虚大鼠肝、脾组织 PKC 活性,其中滋补脾阴中药的作用靶点可能在肝组织细胞浆。

主题词 脾气虚/代谢 蛋白激酶 C/代谢 脾阴虚/代谢

生命的基本问题是信息问题。细胞信号转导指第一信使刺激作用于细胞表面后,跨膜传递形成胞内第二信使,以及其后的信息分子级联传递、诱导基因表达和引起生理反应的过程。蛋白激酶 C(PKC)广泛参与细胞信息传递、分泌、离子通道调节、细胞增殖和分化等一系列重要的生命过程,在多种细胞中,激活细胞内多肽磷酸化,成为细胞内信号传导过程中的关键分子之一。中医认为,脾主运化,为后天之本,气血生化之源,在人体生命活动中具有重要作用。现代中医认为,脾是一个功能综合性概念,故脾虚时可出现多脏器的功能改变,导致许多疾病的发生。

脾主运化的生理功能主要由脾气和脾阳完成,但脾阴的作用也不容忽视。近些年,对于脾阴的研究已成为脾虚研究的热点。脾虚包括脾气虚、脾阴虚和脾阳虚三种不同的病理变化。脾虚病理实质的研究多侧重于脾气、脾阳和脾阴虚单一病理变化的研究,对于它们之间的比较研究报道较少。本实验对脾气虚与脾阴虚证

模型肝、脾组织细胞膜和细胞浆中 PKC 活性变化进行比较,旨在探讨脾气虚和脾阴虚与肝、脾组织 PKC 活性变化的关系,为脾气虚和脾阴虚的病理实质提供现代生物学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

动物:SD 健康大鼠,雌雄各半,体重 $200\pm 20\text{g}$,由辽宁中医学院实验动物中心提供。

药物:采用自拟健脾益气中药(黄芪 25g,人参 20g,茯苓 15g,山药 10g,白术 20g,甘草 10g)和滋补脾阴中药(沙参 20g,白术 20g,茯苓 10g,山药 15g,白扁豆 20g,陈皮 10g,莲子 15g,紫河车 10g,荷叶 5g,甘草 5g),一次性购于辽宁中医学院附属医院药房,每 100ml 含生药 100g,过滤后 4℃ 冰箱保存待用。造模中药制备方法同治疗药,4℃ 冰箱保存待用。

试剂:protamine 购自 Sigma 公司, $\gamma\text{-}^{32}\text{P}$ ATP 购自北京亚辉生物医学工程公司,其余试剂均为国产分析纯。

主要仪器:高速离心机(Dupont 公司生产)、F-2000 荧光光度计(日立公司生产)、Beckman LS-180 型液闪仪。

1.2 方法

脾气虚证和脾阴虚证大鼠模型的制作:按雌雄和体重随机分为正常对照组(对照组)、脾气虚证组(模型组 1)、脾阴虚证组(模型组 2)、健脾益气中药组(治疗组 1)及滋补脾阴中药组(治疗组 2),每组 8 只。脾气虚证造模方法根据谢仰洲^[1]方法改进,采用饥饱失常(单日喂饲甘蓝,双日胃饲猪油 3ml/只)和单日游泳至耐力极限,造模时间为 1 个月;脾阴虚证根据王小明^[2]方法改进,在脾气虚证基础上,加伤阴药附子和吴茱萸(前 14 天造模方法同脾气虚证,后 16 天每日胃饲附子和吴茱萸水煎液 3ml/只,含药量为 1g/ml),制成脾气虚证和脾阴虚证模型。

1.2.1 中药对脾气虚证和脾阴虚证大鼠的治疗:依据模型判定标准^[1],判定模型成立后,治疗组采用灌胃的方法,灌服中药 3ml/d,治疗 1 个月。其它各组灌等量

基金项目:辽宁省教委重点资助课题(9807121308)

1 北京中医药大学博士后流动站,北京北三环东路 11 号 (100029)

2 辽宁中医学院

收稿日期:2002-09-09;修回日期:2002-11-25

的生理盐水对照。

1.2.2 评估大鼠脾气虚证和脾阴虚证模型的主要依据:(1)卫生部药政司《中药治疗脾虚证的临床研究指导原则》^[3]中的诊断标准;(2)1986年全国虚证会议确定的《中医虚证辨证参考标准》^[4];(3)《实用中医基础学》^[5]、《实用中医证候动物模型学》^[6];(4)大鼠的生物学特征。

1.2.3 脾气虚证的评估标准:(1)体重下降,消瘦;(2)倦怠,懒动;(3)肛温无明显变化;(4)粪便时软时溏;(5)食量减少;(6)游泳耐力下降。上述(1)~(6)项评估标准中,(1)~(4)为主要指标。

1.2.4 脾阴虚证的评估标准:(1)体重下降,消瘦;(2)易激惹,咬斗;(3)肛温升高;(4)粪便干燥;(5)背毛枯槁无光泽;(6)进食量时增时减,饮水量多;(7)游泳耐力下降。上述(1)~(7)项中,以(1)~(4)为主要指标。

1.2.5 标本的采集:实验结束时,所有动物施行乙醚麻醉,眶下静脉取血后,取新鲜组织,生理盐水洗去血迹,-40℃冰箱保存。PKC活性测定参考 Takai 法^[7]。

2 结果

2.1 脾组织细胞膜和细胞浆中 PKC 活性的变化:表 1 示,脾气虚证和脾阴虚证大鼠脾组织细胞膜中 PKC 活性均明显降低($P<0.01$),但两个模型组间无显著性差异($P>0.05$);脾组织细胞浆中 PKC 活性,模型组 1 无明显变化,模型组 2 明显升高($P<0.01$)。经过治疗脾组织细胞膜 PKC 活性无明显变化($P>0.05$),脾组织细胞浆 PKC 活性显著降低($P<0.01$)。

2.2 肝组织细胞膜和细胞浆中 PKC 活性的比较:表 2 示,除脾气虚证大鼠肝组织细胞膜 PKC 活性无明显变化外,脾气虚证大鼠肝组织细胞浆和脾阴虚证大鼠肝组织细胞膜和细胞浆 PKC 活性均明显升高($P<0.01$),肝组织细胞膜 PKC 活性模型组 1 和模型组 2 之间存在显著性差异($P<0.01$);经过治疗,肝组织细胞膜和细胞浆 PKC 活性均明显下降($P<0.01$),其

表 1 各组大鼠脾组织细胞膜和细胞浆中 PKC 活性比较($\text{pmol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PKC 活性	
		细胞膜	细胞浆
对照组	8	68.09±16.84	60.55±10.74
模型组 1	8	24.14±5.96*	58.44±10.11
模型组 2	8	24.04±3.25*	84.63±18.79*
治疗组 1	8	27.92±3.27*	34.67±8.80*▲
治疗组 2	8	36.35±5.46*	22.27±5.25*△

* 与对照组比较, $P<0.01$; ▲与模型组 1 比较, $P<0.01$; △与模型组 2 比较, $P<0.01$

表 2 各组大鼠肝组织细胞膜和细胞浆中 PKC 活性比较($\text{pmol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PKC 活性	
		细胞膜	细胞浆
对照组	8	150.02±24.27	92.84±15.84
模型组 1	8	144.33±14.92 [△]	358.21±87.62*
模型组 2	8	285.32±11.60*	302.64±57.29*
治疗组 1	8	102.50±12.01*▲	223.76±61.84*▲
治疗组 2	8	54.51±8.98*△	79.51±16.63 [△]

* 与对照组比较, $P<0.01$; ▲与模型组 1 比较, $P<0.01$; △与模型组 2 比较, $P<0.01$

中,滋补脾阴中药能使肝组织细胞浆 PKC 活性恢复正常水平。

3 讨论

脾气是脾主运化等生理功能的动力,激发和推动脾进行正常的功能活动。脾阴是脾气、脾阳功能活动的物质基础,具有濡养脏腑、四肢百骸的重要作用,与脾气(阳)相辅相成,共同完成脾的生理功能。脾气虚是脾虚证中最常见最基本的病机之一,包括脾虚失运、脾气不升、脾不统血和脾气不荣等。脾阴虚的病因为复杂,各种热邪伤阴,或化热伤阴,影响主运化、化生气血津液的功能,形成脾阴虚。脾阴虚是一个慢性过程,发展缓慢。脾阴虚不能化生脾气,可使脾气虚弱;同时,脾气虚,气不化津,可引起脾阴虚,故脾阴虚与脾气虚的病机常常并存,称为脾的气阴两虚。

近年来,中医脾阴虚证与细胞信息传导相关性的研究多见于第二信使 cAMP、cGMP,研究结果表明,脾阴虚证血浆 cAMP 显著低于正常组,而 cGMP 升高^[8]。现代研究表明,脾虚时磷脂组分发生变化。蛋白激酶 C 是肌醇磷脂信息传导通路的关键环节,广泛分布于多种组织、器官和细胞。有关脾气虚与脾阴虚肝、脾组织细胞膜和细胞浆 PKC 活性变化的比较研究,目前少见报道。本实验结果表明,脾气虚证与脾阴虚证大鼠模型脾组织细胞膜中 PKC 活性均降低,但两个模型组间没有差异;脾气虚证脾组织细胞浆 PKC 活性无明显变化,脾阴虚证脾组织细胞浆 PKC 活性明显升高;说明脾气虚和脾阴虚的差异与脾组织细胞浆 PKC 活性变化有关。脾气虚证肝组织细胞膜 PKC 活性无明显变化,脾气虚证肝组织细胞浆 PKC 活性和脾阴虚证肝组织细胞膜和细胞浆中 PKC 活性均升高,两个模型组间肝组织细胞膜 PKC 活性存在明显差异,说明脾气虚和脾阴虚的差异与肝组织细胞膜 PKC 活性变化有关。中医的脏不同于西医的器官,是以某一系统为主的多系统的功能综合单位,涉及到机体多系统、多器官。脾气虚证与脾阴虚证均可以出现脾、肝组织细胞 PKC 活

性的异常变化,说明脾气虚证和脾阴虚证的病理变化与脾、肝密切相关。同时,肝、脾组织细胞膜和细胞浆 PKC 活性的变化在脾气虚证和脾阴虚证之间主要表现在脾组织细胞浆和肝组织细胞膜,这一结果说明脾气虚证与脾阴虚证的差别同肝组织细胞膜和脾组织细胞浆 PKC 活性变化密切相关。

刘春明等^[9]报道温补脾阳中药能够明显提高脾组织细胞膜中 PKC 活性。本实验结果表明,健脾益气中药和滋补脾阴中药均能降低模型大鼠脾组织细胞浆中 PKC 活性、肝组织细胞膜和细胞浆中 PKC 活性。其中,滋补脾阴中药均能使肝组织细胞浆 PKC 活性恢复至正常水平。实验中还发现,健脾益气中药和滋补脾阴中药均导致脾组织细胞浆和肝组织细胞膜 PKC 活性过度降低,低于正常水平。说明健脾益气中药和滋补脾阴中药均能够使肝组织细胞膜和脾组织细胞浆 PKC 失活。但其调节机制有待进一步实验证实。

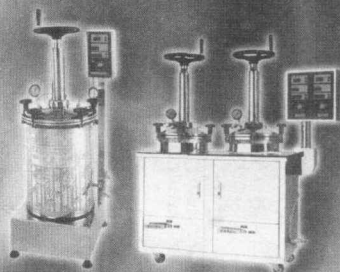
中医认为,脾为后天之本,气血生化之源。PKC 作为信号转导的中心分子之一,与造血等功能有关。黄仁魏^[10]报道 PKC 在红细胞生成素介导的早期信号转导中发挥作用。本实验结果表明,脾气虚和脾阴虚的病理变化与 PKC 活性变化有关。至于是否与 PKC 介导的

造血信号有关,有待今后进一步研究。

参考文献

- 1 谢仰洲,陈琦涛,谢宗岑,等.用过劳和饮食失节法塑造大白鼠脾气虚证模型的研究:生化免疫病理和超微结构观察. 中医杂志,1987,28(5):57-60.
- 2 王晓明,李德新,易杰,等.脾为后天之本的分子生物学基础:脾气虚证大白鼠模型 LPO 及其相关抗氧化酶变化的实验研究. 辽宁中医杂志,1994,21(3):139-141.
- 3 中华人民共和国卫生部药政司.中药治疗脾虚证的临床研究指导原则. 中国医药学报,1988,3(5):71-72.
- 4 沈自尹,王文健整理.中医虚证辨证参考标准. 中西医结合杂志,1986,6(10):598.
- 5 李德新.实用中医基础学. 沈阳:辽宁科技出版社,1985:1-558.
- 6 陈小野.实用中医证候动物模型学. 北京:北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社,1993:1-356.
- 7 Takai Y, Kishimoto A, Iwasa Y, et al. Calcium dependent activation of a multifunctional protein kinase by membrane phospholipids. J Biol Chem,1979,254(10):3692-3695.
- 8 钱先,贝淑英.脾胃阴虚证血浆环核苷酸的对比研究. 中医杂志,1990,31(1):49-50.
- 9 刘春明,李德新,吕爱萍,等.脾阳虚证大鼠模型肝脏和脾脏蛋白激酶 C 活性的实验研究. 辽宁中医杂志,2000,27(1):44-45.
- 10 黄仁魏,李铭权,吴祥元,等.蛋白激酶 C 在红细胞生成素介导的早期信号转导中的作用. 实验血液学杂志,1997,5(4):378-383.

多快好省 煎好药



东华煎药包装设备

6大系列
25个品种
30个办事处
100位维修工程师
3,000家医院药店正在使用
10,000名终端用户见证了
东华10年的奋斗历程

东华原医疗
DONGHUAYUAN MEDICAL

北京东华原医疗设备有限责任公司
电话: 010-89718013
邮编: 102200

紫外线动态空气杀菌机

强力杀菌功能:

85%以上的紫外线波长是253.7nm,杀菌率高达99.9%

动态杀菌:

人机共处,可24小时运转;不妨碍日常生活,
避免空气二次污染

特点:

- 1.噪音小≤36Db(A)
- 2.能耗低
- 3.效果好
- 4.寿命长(灯管可以使用8000小时)

适用:

《消毒技术规范》规定的Ⅱ、Ⅲ类卫生环境,
实验室、制药厂等其他需要杀菌的场所。



地址: 北京市中关村昌平科技园区振超路1号
传真: 010-89718021
网址: www.donghuagroup.com

垂询热线: 800-810-0359