

人参养荣汤对衰老小鼠脑神经元形态和密度的影响

胡 瑞* 邓 红* 唐 方*

摘要 目的:观察人参养荣汤对亚急性老化小鼠外观、体重增长率、死亡率、脑神经元形态和密度的影响。方法:69 只 ICR 系小鼠随机分成对照组、模型组、中药组,每组 23 只,模型组、中药组以 D-半乳糖制备老化模型,对照组以等量生理盐水皮下注射;中药组给予人参养荣汤治疗。观察光学显微镜下 Golgi 染色后小鼠脑组织形态和密度的变化。结果:人参养荣汤能明显抑制老化小鼠大脑皮质神经元密度的下降($P < 0.01$),对海马区神经元密度的作用不显著。结论:人参养荣汤对大脑皮质神经元的保护作用可能是其抗衰老机制之一。

主题词 衰老/药物作用 神经元/药物作用 人参养荣汤/治疗应用

Effect of Renshen Yangrong Decoction on Cerebral Neuron Form and Density in Aging Mice

Hu Rui, Deng Hong, Tang Fang

(General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052)

Objective: To observe effects of Renshen Yangrong Decoction on appearance, body weight increasing rate, death rate and cerebral neuron form and density in the sub-acute mice. **Methods:** Sixty-nine ICR mice were randomly divided into a control group, and a model group, a Chinese medicine group, 23 mice in each group. Mice in model group and Chinese medicine group were given D-galactose to make aging model, and the control group were subcutaneously injected with saline. Chinese medicine group were treated with Renshen Yangrong Decoction. Changes of cerebral tissue form and density were observed after Golgi stain under light microscope. **Results:** Renshen Yangrong Decoction could significantly inhibit the decrease of neuron density of the cerebral cortex ($P < 0.01$) and did not significantly influence the neuron density of the hippocampus. **Conclusion:** The protective action of Renshen Yangrong Decoction on neurons of the cerebral cortex is possibly one of mechanisms of its anti-aging effect.

Key Words Aging/drug effect; Neuron/drug effect; Renshen Yangrong Decoction/therapeutic application

研究表明,细胞凋亡可能是导致脑老化过程中神经细胞死亡的重要原因^[1,2],保护神经元免受损伤因素的侵害,是发挥抗衰老作用的重要途径。本研究观察了人参养荣汤对 D-半乳糖致脑老化小鼠外观、体重、进食量、脑神经元形态密度的影响,以探讨人参养荣汤抗衰老的作用机理。

1 材料

1.1 动物及分组:ICR 系雌性小鼠,8 月龄,体重(45 ± 5)g,购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心。小鼠自由进食水,正常饲养 6 个月后,随机分为对照组、模型组、中药组,每组 23 只。

1.2 药物与试剂:人参养荣汤由人参、熟地黄、茯苓、陈皮、当归、炙甘草、白术、白芍、远志、黄芪、肉桂、五味子组成,各组分在方中百分比依次为:9.69%、12.90%、12.90%、6.45%、12.90%、3.23%、12.90%、6.45%、6.45%、4.84%、8.07%、3.23%。冻结干燥粉末由日本津村株式会社提供。D-半乳糖购自 TBD 生物中心。

1.3 仪器:OLYMPUS BX-60 光学显微镜(日本);

OLYMPUS-VSP-3 显微照相系统(日本)。

2 方法

2.1 老化模型制备:将 D-半乳糖溶于生理盐水,配制成浓度为 1% 的溶液,模型组、中药组实验小鼠颈背部皮下注射 D-半乳糖溶液,注射剂量为 0.0012mg/kg 体重,连续 8 周。对照组以等剂量生理盐水皮下注射。

2.2 治疗方法:中药组给予人参养荣汤(500mg/kg 体重灌胃),每日 1ml,对照组及模型组给予等量蒸馏水灌胃,均连续给药 8 周。

2.3 观察指标与方法

2.3.1 总体情况:观察各组小鼠外观、摄食量、体重增长率、死亡率及生存率。

2.3.2 大脑皮质、海马区形态学观察:实验结束后迅速摘取脑组织,10% 甲醛固定,常规包埋,每组随机选取 5 只, Golgi 浸染法染色,于 400 倍光镜下分别观察皮质、海马区的形态学变化。

2.3.3 神经元密度的测定:应用图像分析系统,将 Golgi 染色标本于 400 倍光镜视野下进行形态计量学分析,分别计数皮质、海马各部位每视野下完整神经细胞数目,每个检体连续计测 10 个视野。不同部位神经细胞数目以个数/视野表示,每组 5 只。

2.4 统计学方法:采用 SPSS 11.5 统计软件处理,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间体重增长率、死亡率比较采用率显著性检验;样本均数比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

3 结果

3.1 各组小鼠外观表现比较:与对照组比较,模型组小鼠目光暗淡,毛发稀疏少光泽,甚则隐隐可见皮肤,形体瘦小,动作迟缓;中药组小鼠目光明润含蓄,毛发致密有光泽,形体充实,动作灵活。

3.2 各组小鼠日摄食量、体重、死亡率比较:各组小鼠日摄食量均呈下降趋势,而各组间比较差异无显著性意义。各组小鼠体重增长率亦呈下降趋势,模型组体重增长率明显低于对照组 ($P < 0.05$),而中药组与对照组比较,差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。至实验结束,3 组小鼠死亡数依次为:对照组 1 只、中药组 2 只、模型组 4 只,模型组死亡率呈显著升高 ($P < 0.05$),死亡原因因为多发肿瘤(乳腺肿瘤、眶内肿瘤)及肺内感染等,见表 1。

表 1 各组小鼠体重增长率、死亡率、生存率比较 (%)

组别	鼠数	体重增长率	死亡率	生存率
对照组	23	93.75	4.35	95.65
模型组	23	79.31	17.39	82.61
中药组	23	91.00	8.70	91.30

3.3 各组小鼠大脑皮质、海马区形态学比较:光镜下可见,模型组小鼠皮质神经元及树突数目减少,树突短缩、神经元胞体及其邻近的树突形状不规则,横向发出的基树突和顶树突侧枝部分消失,并见轮廓崩溃现象。与之相对,中药组多数检体可见神经元及树突棘密度增加,树突长度较长,分枝较多,胞体轮廓清晰、形状规则。在海马区,模型组小鼠神经元树突的长度缩短,突触密度降低,锥体细胞仅 1、2 层,核仁体积小。而中药组小鼠神经元树突的长度较长,突触密度较高,锥体细胞有 3、4 层,核仁体积较大。

3.4 各组小鼠神经元密度比较:神经元密度计测结果显示,在大脑皮质和海马区两部位,模型组神经元密度明显低于对照组 ($P < 0.01$);中药组皮质神经元密度较模型组明显增高 ($P < 0.01$),海马区神经元密度虽呈增高趋势,但差异无显著性意义 ($P > 0.05$),见表 2。

表 2 各组小鼠大脑皮质及海马区神经元

密度比较(个/视野, $\bar{x} \pm s$)			
组别	鼠数	皮质	海马区
对照组	5	15.04 $\pm$ 1.09	31.62 $\pm$ 3.07
模型组	5	8.64 $\pm$ 0.90**	22.97 $\pm$ 2.53**
中药组	5	43.70 $\pm$ 0.86▲	26.25 $\pm$ 2.81*

与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, ▲ $P <$

4 讨论

中医学认为,某些局部的改变,往往与全身脏腑、气血、阴阳的虚实盛衰有关,分析局部的变化,可以判断内在的改变。因此,本实验通过观察老化鼠体重增长率、摄食量、外观体态的变化,了解其内在脏腑气血的盈亏。结果表明,随着年龄的增长,气血运行迟滞,脏腑功能日渐衰退,脾胃运化功能减退,摄食量下降,气血化源不足,是引发机体衰老,导致体重减轻,滋生内伤疾患,发生肿瘤积聚,甚至死亡的主要原因之一。本实验中,随着年龄的增长,各组小鼠摄食量呈无统计学意义的下降趋势,而模型组体重明显降低,考虑由于肠黏膜上皮细胞吸收功能减退所致。而中药组小鼠体重虽呈下降趋势,但与对照组比较差异无显著性意义。亦有实验证实,人参养荣汤延缓衰老的机制在于通过改善老龄鼠小肠黏膜生理性退行性变,增加消化酶活性,促进肠黏膜上皮细胞吸收功能,提高与改善脾胃运化功能,增加摄入量,调整气血生化之源,提高生存率^[3]。

近年研究表明,神经系统细胞凋亡现象与年龄呈正相关,许多退行性疾病都与神经元过早、过度凋亡相关,并且神经元无再生能力。神经系统的衰老变化包括神经元数量的减少、退行性变化,树突棘和突触数目降低,脑组织萎缩、重量减轻,故神经元的变化是神经系统衰老的特征^[4]。为此,本实验将计测加龄鼠脑组织神经元数量作为评价脑神经衰老程度的量化指标。结果表明,亚急性衰老模型鼠脑组织结构出现明显衰老特征,给予人参养荣汤干预治疗后,大脑皮质神经元数目接近自然老化鼠,退行性变化明显改善,显示人参养荣汤可有效改善、延缓亚急性衰老鼠脑组织细胞结构的损伤。因皮质神经元具有调节机体运动的功能,镜下所见皮质神经元密度的改变与机体外在运动状况的变化相一致。表明该方药对小鼠高龄期气血两虚体征的改善,不仅限于传统的机体外在表现,还包括对衰老机体组织器官、细胞结构的保护与改善。从而使中医学调和气血、“补后天以养先天”、从脾论治的传统抗衰老理论得到科学的论证。

参考文献

- 1 Friedlich AL, Butcher LL. Involvement of free oxygen radicals in beta amyloidosis: an hypothesis. *Neurobiol Aging*, 1994, 15(4): 443~455.
- 2 李磷, 丁安伟. 衰老机理研究进展. *西北药学杂志*, 2000, 4(4): 177~178.
- 3 唐方. 人参养荣汤促进老龄鼠小肠黏膜上皮细胞纹状缘消化吸收机能的作用研究. *天津医药*, 2001, 29(5): 297~299.
- 4 王永雁, 田清溪, 马瑾瑜. 人类衰老学. 上海: 上海医科大学出版社, 1995: 2, 28.