

中 药 研 究

固真方对老年大鼠海马和
下丘脑—垂体—肾上腺—胸腺轴作用的研究赵伟康¹ 金国琴¹ 李 文²

摘要 本研究观察到由首乌、肉苁蓉等组成的补肾益精方药——固真方能明显提高老年大鼠海马细胞降低的糖皮质激素受体(GCR)数,提高下丘脑降低的 NE、DA 和 5-HT 含量,降低老年大鼠异常增高的血浆皮质酮,降低胸腺细胞增高的 GCR 核转位率,增强胸腺依赖性免疫功能。提示固真方能通过神经内分泌免疫网、多层次、多环节延缓老年大鼠海马和下丘脑—垂体—肾上腺—胸腺轴的老化作用,从而改善胸腺依赖性免疫功能。

主题词 海马/药物作用 下丘脑—垂体系统/药物作用 @ 固真方

、近年来胸腺—神经内分泌网的衰退在机体衰老过程中的作用日益受到重视^[1,2]。90 年代初国外又提出海马对下丘脑—垂体—肾上腺(HPA)轴的抑制作用呈年龄相关性变化^[3],国内文献报道右归饮对皮质酮造成的下丘脑—垂体—肾上腺—胸腺轴抑制的大鼠模型有保护作用^[4]。本文以中医整体调整观念为指导,在以往下丘脑—垂体—性腺—胸腺(HPGT)轴^[5]研究基础上,将海马和下丘脑—垂体—肾上腺—胸腺(HPAT)轴联系起来,采用同步测试系统研究补肾益精方药——固真方延缓老年大鼠海马和 HPAT 轴的老化作用,从神经内分泌免疫网角度进一步探讨补肾益精方药改善老年机体免疫功能的作用机理。

1 材料与方

1.1 实验动物:SD 雄性大鼠,由本校实验动物中心提供。将大鼠按月龄和服药情况分为 3 组:青年对照组:4 月龄,正常饮水及饲喂;老年对照组:24 月龄,正常饮水及饲喂;老年固真组:从 20 月龄开始服固真方及饲料,每周给药 5 天,停药 2 天,连续 4 个月。

1 上海中医药大学生化教研室,上海市零陵路 530 号 (200032)

2 上海中医药大学附属曙光医院免疫研究室

收稿日期:1995-01-11

固真方由本校中药制剂室提供,主要由首乌、肉苁蓉、覆盆子等补肾中药组成。临用前将浸膏用冷开水配成饮料(4.8mg/ml),每鼠每天饮用 30ml,相当于临床成人每公斤体重剂量的 20 倍。

1.2 测定方法:单胺类神经递质含量测定:参照 Zaczek^[6]法略加修改,采用高效液相层析(HPLC)电化学检测法,测定大鼠海马和下丘脑的单胺类神经递质(NE、DA 和 5-HT)含量。

海马胞浆糖皮质激素受体测定:参照 Michael J^[7]法略加修改,以³H—皮质酮为配体,采用 Sephadex LH—20 柱层析法,结果以饱和浓度的单点分析法求得受体的结合容量。

下丘脑胞浆糖皮质激素受体测定:参照 Charles J^[8]法略加修改,以³H—地塞米松为配体,采用葡聚糖活性炭吸附法,结果以饱和浓度的单点分析法求得受体的结合容量。

血浆皮质酮含量测定:采用放射免疫法检测,由上海市内分泌研究所提供试剂药盒。

胸腺重/体重比值测定:胸腺重量以 mg 湿重为单位,体重以 g 为单位,将胸腺重除以体重即为比值。

胸腺胞浆蛋白测定:采用 Lowry 法,以牛血清白蛋白为标准,检测蛋白含量。

核 RNA 含量测定:采用苔黑粉法,以酵母 RNA 为标准,检测胸腺细胞核 RNA 含量。

核 DNA 含量测定:采用二苯胺法,以鱼精 DNA 为标准,检测胸腺细胞核 DNA 含量。

胸腺细胞糖皮质激素受体(GCR)测定:参照 Scott^[9]法略加修改,完整胸腺细胞 GCR 数以位点数/细胞表示,细胞核 GCR 数以位点数/核表示,GCR 核转位率=(胸腺细胞核 GCR 的放射性强度/完整细胞 GCR 的放射性强度)×100%。

血清胸腺因子功能测定:参照 Grossman^[10]法略加修改。

淋巴细胞转化(LTT)试验:取脾细胞经 ConA 诱

导,采用³H-TdR 法测定淋巴细胞的转化功能。

白介素 II(IL-2)的测定:取脾细胞经 ConA 诱导,上清液采用 CTLL-2 细胞法测定 IL-2 的活性^[11]。

自然杀伤细胞(NK)功能测定:取大鼠脾细胞,与 K₅₆₂细胞孵育,测定 K₅₆₂细胞破坏时释放的 LDH 量,以检测 NK 细胞的功能。

IL-2 诱导的杀伤细胞功能(LAK):用高剂量的 IL-2、诱导大鼠的 T 细胞,使之产生杀伤细胞,然后用测定 NK 细胞活性法测定 LAK 细胞活性。

2 结果

2.1 对海马、下丘脑单胺类神经递质含量的影响:表 1

表 1 固真方对老年大鼠海马、下丘脑单胺类神经递质含量(ng/mg 组织)的影响

组 别	海 马		下 丘 脑		
	NE	5-HT	NE	DA	5-HT
青年对照组	0.296±0.032(10) [▽]	0.063±0.013(7)*	2.378±0.715(17) [△]	0.087±0.022(16) [△]	0.197±0.022(7)
老年对照组	0.216±0.047(7)	0.044±0.015(7)	1.430±0.262(7)	0.058±0.026(13)	0.135±0.061(7)
老年固真组	0.313±0.085(7)*	0.049±0.008(7)	1.680±0.102(9)*	0.091±0.019(10)*	0.279±0.055(10) [▽]

注:表中数据为均值±标准差(鼠数),下同 与老年对照组比较,*P<0.05 △P<0.01 ▽P<0.001

表 2 固真方对老年大鼠海马胞浆皮质酮受体数、下丘脑胞浆糖皮质激素受体数、血浆皮质酮含量的影响

组 别	海马胞浆皮质酮受体数 (fmol/mg·Pr)	下丘脑胞浆糖皮质激素受体数 (fmol/mg·Pr)	血浆皮质酮 (μg/ml 血浆)
青年对照组	195.49±66.53(9) [△]	116.53±41.89(9)	33.81±9.72(7) [△]
老年对照组	104.76±43.00(9)	81.01±43.96(10)	47.88±6.90(10)
老年固真组	153.96±51.15(10)*	113.55±65.36(9)	32.08±11.75(9) [△]

与老年对照组比较,*P<0.05 △P<0.01

表 3 固真方对老年大鼠胸腺重/体重比值、胸腺胞浆蛋白核 RNA 和 DNA 含量的影响

组 别	胸腺重/体重 (mg/mg)	胸腺胞浆蛋白 (mg/mg)	RNA (mg/100mg)	DNA (mg/100mg)
青年对照组	0.81±0.16(7) [△]	2.72±0.71(7) [△]	1.43±0.37(7)*	3.25±1.03(7)*
老年对照组	0.46±0.08(8)	1.91±0.21(8)	1.09±0.18(8)	2.15±0.54(8)
老年固真组	0.56±0.07(8)*	2.53±0.67(8)*	1.30±0.16(8)*	2.78±0.63(8)*

与老年对照组比较,*P<0.05 △P<0.01

2.3 对大鼠胸腺重/体重比值、胸腺胞浆蛋白、核 RNA 和 DNA 含量的影响:表 3 示,与青年鼠比较,老年大鼠胸腺重/体重比值、胸腺胞浆蛋白、核 RNA 和 DNA 含量均显著降低;固真方可明显提高老年大鼠降低的胸腺重/体重比值、胸腺胞浆蛋白、核 RNA 和 DNA 含量。

2.4 对胸腺细胞糖皮质激素受体(GCR)及其核转位率的影响:检测青年对照组大鼠 12 只,老年对照组大鼠 12 只,老年固真组大鼠 10 只,表 4 示:与青年鼠比较,老年大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体(GCR)位点数显著下降,而 GCR 核转位率则明显提高。固真方可显

示,老年鼠海马、下丘脑单胺类神经递质均较青年鼠明显下降(P<0.05,P<0.01,P<0.001),喂饲固真方的老年大鼠海马 NE 和下丘脑 NE、DA、5-HT 较老年对照组大鼠明显升高(P<0.05,P<0.001),但对海马 5-HT 升高不明显(P>0.05)。

2.2 对海马胞浆皮质酮受体数、下丘脑胞浆糖皮质激素受体数、血浆皮质酮含量的影响:表 2 示,老年鼠海马胞浆皮质酮受体数较青年明显降低,血浆皮质酮含量较青年组显著升高,固真方可明显提高海马胞浆皮质酮受体数(P<0.05),显著降低血浆皮质酮含量(P<0.01)。但各组大鼠下丘脑胞浆糖皮质激素受体数却无明显差异(P>0.05)。

著增高老年大鼠胸腺细胞 GCR 受体位点数,降低 GCR 核转位率,使其趋向青年鼠。

表 4 固真方对老年大鼠胸腺 GCR 数及其核转位率的影响

组 别	位点数/细胞	位点数/核	核转位率 (%)
青年对照组	1206±266(12) [△]	175±77(12)	14.9±6.9(12)*
老年对照组	672±268(12)	231±150(12)	36.7±25.9(12)
老年固真组	1127±560(10)*	197±206(10)	16.7±12.2(10)*

与老年对照组比较,*P<0.05 △P<0.01

2.5 对胸腺依赖性免疫功能的影响:表 5 示,老年大

鼠血清胸腺因子功能较青年鼠明显下降,显示出不管有无 PHA 刺激,胸腺淋巴细胞³H-胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)掺入量明显降低;老年大鼠 LTT、IL-2 和 NK

细胞活性显著下降,LAK 细胞活性呈下降趋势但无统计学意义。固真方能显著提高老年大鼠血清胸腺因子功能,明显改善老年大鼠各项免疫指标。

表 5 固真方对老年大鼠胸腺因子功能及免疫指标的影响

组 别	dpm/血清	dpm/血清/PHA	LTT (cpm)	IL-2 (IU/10 ⁵ 细胞)	LAK (%)	NK (%)
青年对照组	458.04±75.27(9)▽	679.93±233.65(9)▽	19442±7521(7)*	51.42±8.07(7)*	21.36±1.495(7)	32.72±1.824(7)*
老年对照组	246.11±29.62(9)	315.86±85.02(9)	9374±2257(8)	36.27±8.43(8)	19.90±0.583(8)	25.54±4.810(8)
老年固真组	426.00±154.73(8)▽	474.90±116.81(8)*	15990±6638(8)*	43.71±9.82(8)*	23.90±2.476(8)*	39.83±5.12(8)▽

与老年对照组比较,*P<0.05 △P<0.01 ▽P<0.001

3 讨论

本研究结果表明,与青年鼠比较,老年大鼠海马 NE、5-HT 和下丘脑 NE、DA 和 5-HT 含量显著下降,海马皮质酮受体(GCR)数明显降低,下丘脑 GCR 数有下降趋势,与此同时,血浆皮质酮含量则显著高于青年鼠。联系文献报道,下丘脑 NE、5-HT 能抑制下丘脑、垂体分泌 CRF、ACTH^[12],海马 GCR 对下丘脑有抑制性调节作用^[3],推测老年大鼠呈现高皮质酮血症,与海马 GCR 数和下丘脑单胺类神经递质含量下降有关。而固真方能明显延缓上述老化现象,从而抑制 HDA 轴的活动亢进,降低老年大鼠增高的血浆皮质酮含量,使之趋于正常。

本实验结果还表明,与青年鼠比较,老年大鼠胸腺细胞 GCR 位点数明显降低,但 GCR 核转位率则显著增高,与胸腺 E₂、DHT 受体变化一致^[5];胸腺胞浆蛋白、核 RNA 和 DNA 含量、胸腺重/体重比值,以及血清胸腺因子功能均明显低于青年鼠;LTT、IL-2 和 NE 细胞活性明显下降,LAK 细胞活性亦有下降趋势。这可能是由于老年大鼠持续的高皮质酮血症和胸腺 GCR 核转位率增加,使更多活化的 GCR 作用于胸腺染色体 DNA,影响基因表达,从而抑制胸腺 DNA、RNA 和蛋白质的生物合成,抑制胸腺细胞的增殖、分化和成熟,加速胸腺萎缩、胸腺功能退化的结果。而固真方能显著改善上述胸腺依赖性免疫功能,可能主要通过抑制老年大鼠胸腺细胞 GCR 核转位率,减弱糖皮质激素对胸腺的抑制作用,增加胸腺指数,改善胸腺微环境,延缓胸腺退化,提高血清胸腺因子功能,从而增强了老年大鼠 LTT、IL-2 和 LAK 细胞活性等胸腺依赖性免疫功能。

联系固真方对老年大鼠 HPGT 轴的延缓衰老作用,提示固真方既能影响 HPGT 轴,又能作用于海马和 HPGT 轴,通过多层次、多环节调整老年机体的海马和胸腺神经内分泌网,从而改善胸腺依赖性免疫功能。这不仅表明了中药的整体调整特点,同时也为“肾藏精”,

“肾主骨、生髓”,“脑为髓之海”,“冬不藏精,春必病温”等中医理论的内在联系,提供了一定的实验依据。

4 参考文献

- Grossman C J, et al. J Ster Biochem 1983; 19: 461.
- Grossman C J, et al. Progress in clinical biochemistry and medicine 1986; 4: 9.
- Lauren J, et al. Endocrine review 1991; 12(2): 118.
- 蔡定芳,等. 中国免疫学杂志 1994; 10(4): 236.
- 赵伟康,等. 中医杂志 1989; 30(12): 43.
- Zaczek R, et al. J Neural Transmission 1982; 53: 1.
- Michael J, et al. Neuroendocrinology 1992; 55: 204.
- Charles J E, et al. Brain Research 1989; 478: 248.
- Scott H K, et al. Endocrinology 1982; 110(3): 708.
- Grossman C J, et al. J Ster Biochem 1982; 16: 683.
- Florence B, et al. J Immunology 1984; 132(1): 261.
- Lehnert H, et al. Res Exp Med 1989; 189: 289.

国家自然科学基金资助课题

千古秘典重放光彩 《中医古籍孤本大全》

我国当代中医古籍发掘研究巨大工程、国家“八五”规划项目——大型线装古籍系列丛书《中医古籍孤本大全》首批 10 种书已正出版,江泽民主席为这套丛书亲笔题写书名。

据调查,历代流传下来的中医古籍约万余种,由于种种原因,其中沦为孤本者约有千余种左右。这些孤本经书散存于国内外图书馆、博物馆和私人藏书家中,尘封闭锁,不为公众所知。《中医古籍孤本大全》是在国家中医药管理局领导下,由全国中医药图书情报工作委员会组织全国数十位著名中医药学家及图书馆界之学者,首次对这些散存各地而行将绝本的中医孤善本书进行了大规模的调查研究,首批选出 10 种内容翔实、版本精良,并有极高学术价值、文献研究及临床实用价值之珍品出版。这套丛书采用了传统印刷技术影印,线装,力求保持原书风貌,印刷装帧均典雅精美,具有永久的保存价值。为各类型图书馆和个人珍藏提供了绝佳的精品,具有极高的实用价值。该套丛书包括:延龄要要(二卷)380 元、恩济堂方书(五卷)550 元、眼科六要(二卷)180 元、神效集(二卷)190 元、百代医宗(十卷)790 元、本草真詮(二卷)440 元、世医通要法(二卷)580 元、神农本草经会通(二卷)880 元、经络图说 270 元、新刻幼科百效全书(三卷)380 元。

均免费邮寄,欲购者请汇款至北京东直门内北新仓 18 号中医杂志社科技服务中心刘振海收,邮政编码:100700,电话:(01)4035632,传真:(01)4013971。详细介绍函索即寄。