

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.03.013

温胆汤对肥胖大鼠血清瘦素及下丘脑 STAT3 和 SOCS3 表达的影响

喻松仁, 白洋, 王河宝, 舒晴, 姚琦, 周丽, 王萍, 程绍民, 简晖*

(江西中医药大学, 江西省南昌市湾里区梅岭大道 1688 号, 330004)

摘要 目的 探讨温胆汤治疗肥胖的可能作用机制。方法 采用高脂饮食诱导肥胖大鼠模型, 将造模成功大鼠随机分成模型组和温胆汤组, 每组 8 只, 另将 8 只健康大鼠设为正常组。造模成功后各组大鼠均采用基础饲料喂养, 同时温胆汤组大鼠给予温胆汤 15 g/(kg·d) 灌胃, 模型组和正常组均用等量蒸馏水灌胃, 共持续 6 周。比较各组大鼠体重、Lee's 指数、肥胖率, 检测血清瘦素、血脂 [包括总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 和高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C)] 及下丘脑组织信号转导和转录激活因子 3 (STAT3)、细胞因子信号转导抑制因子 3 (SOCS3) mRNA 及蛋白表达。结果 与正常组比较, 模型组大鼠体重、血脂水平 (除 HDL-C 外)、下丘脑 STAT3 mRNA 和蛋白表达升高, SOCS3 mRNA 和蛋白表达降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 温胆汤组 Lee's 指数、体重、血脂水平 (除 HDL-C 外)、下丘脑 STAT3 mRNA 和蛋白表达明显降低, SOCS3 mRNA 和蛋白表达则显著升高 ($P < 0.01$)。模型组肥胖率为 26.36%, 温胆汤组为 1.06%。结论 温胆汤具有良好的降脂作用, 可能通过调节 JAK2/STAT3 信号通路而调控机体瘦素水平, 从而纠正机体代谢异常。

关键词 肥胖; 温胆汤; 瘦素; 信号转导和转录激活因子 3; 细胞因子信号转导抑制因子 3

肥胖是 2 型糖尿病、心脑血管疾病等多种慢性疾病的重要危险因素^[1]。中医学认为, 肥胖与痰湿密切相关, 痰湿在肥胖及相关疾病的分型和辨证中是极其重要的证素^[2-3]。临床中应用温胆汤随症加减治疗肥胖及肥胖相关疾病, 也取得了显著效果^[4-6]。现代研究表明, 瘦素与肥胖关系极为密切, 其对能量平衡的调节主要通过下丘脑瘦素受体介导的信号转导过程进行, 其中 JAK2/STAT3 信号通路发挥了重要调节作用^[7]。故本研究通过建立肥胖大鼠模型来模拟人类肥胖痰湿病理的形成与发展情况, 并采用温胆汤进行干预, 观察其对肥胖大鼠血清瘦素及下丘脑信号转导和转录激活因子 3 (STAT3) 和细胞因子信号转导抑制因子 3 (SOCS3) 表达的影响, 探讨温胆汤干预肥胖的可能作用机制。

基金项目: 国家自然科学基金 (81302907); 江西省自然科学基金 (20171BAB205080); 江西省教育厅科学技术研究项目 (GJJ170712, GJJ160830)

* 通讯作者: Jianhui126@126.com

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 70 只, 3 周龄, 体重 (60 ± 10) g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (湘) 2016-0002。

1.2 药物

温胆汤由陈皮 10 g、法半夏 10 g、茯苓 10 g、炙甘草 3 g、竹茹 10 g、枳实 10 g、生姜 5 片和大枣 1 枚组成, 购自江西中医药大学杏林国医研究室中医门诊部。以上药物加 10 倍量水, 浸泡 1 h, 煎煮 2 次, 每次 50 min, 合并 2 次滤液, 浓缩至含生药 1 g/ml 药液, 无菌包装密封, 4℃ 冰箱保存备用。

1.3 主要试剂及仪器

2% 戊巴比妥钠 (德国 Sigma 公司, 批号 20110511); 血清总胆固醇 (TC)、甘油三酯 (TG)、低密度脂蛋白胆固醇 (LDL-C) 和高密度脂蛋白胆固醇 (HDL-C) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号分别为 AD20180109、AD20180109、AD20180105、AD20180109); 瘦素

酶联免疫试剂盒 (AndyGene Biotechnology Co, LTD, 批号 AD2526Ra); Trizol (美国 Ambion 公司, 批号 15596026); SYBR Green PCR 试剂盒 (美国 KAPA Biosystems 公司, 批号 KM4101); 逆转录 PCR 试剂盒 (日本 TAKARA 公司, 批号 639505); DNase I (加拿大 Fermentas 公司, 批号 AM2295); SOCS3 抗体 (批号 ab14939)、STAT3 抗体 (批号 ab68153), 英国 Abcam 公司; 山羊抗兔 IgG (批号 20170505)、山羊抗鼠 IgG (批号 20170711)、焦碳酸二乙酯 (DEPC, 批号 R1600), 北京 Solarbio 公司; GAPDH 抗体 (德国 CST 公司, 批号 2118); 化学发光试剂 (美国 Millipore 公司, 批号 WBKLS0010); 显影定影试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司, 批号 P0019)。

JM-B 型电子天平 (诸暨市超泽衡器设备有限公司); 35202 型皮尺 (深圳市宝安区西乡新新动力制衣整烫设备行); Aeroset-2000 型全自动生化分析仪 (美国 Abbott 公司); Synergy2 型酶标仪 (美国 BioTek 公司); DU730 型紫外分光光度计 (美国 Beckman 公司); Odyssey 双色红外荧光成像系统 (美国 LI-COR 公司); T100-Thermal Cycler 型聚合酶链式反应 (PCR) 仪、2800-90 型实时荧光定量 PCR 仪、164-5052 型 Powerpac-HC 电泳仪, 美国 Bio-Rad 公司。

1.4 造模方法

肥胖动物模型制作采用高脂饮食诱导肥胖 SD 大鼠模型^[8]。将 SD 大鼠置于江西中医药大学基础医学院动物中心动物房中适应性饲养 1 周后, 用随机数字表法分为造模组 50 只和正常组 20 只。造模组用高脂饲料喂养, 正常组用基础饲料喂养, 共喂养 6 周。高脂饲料配方为: 在 100 g 基础饲料中加入猪油和全脂奶粉各 15 g、蛋黄粉 10 g、猪胆盐 0.5 g 以及浓缩鱼肝油适量等组成, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司加工制成条索状, B 级, 许可证号: SCXK (湘) 2014-0002。造模组按大鼠正常消耗配给高脂饲料, 以次日略有剩余为度。6 周后称取体重, 视体重情况, 按顺序淘汰体重过轻者。根据肥胖模型建立的标准^[8] [(造模动物体重 - 正常动物体重) / 正常动物体重 × 100% ≥ 20%] 筛选大鼠。

1.5 分组与给药

将 22 只造模成功大鼠采用随机数字表法分成模型组和温胆汤组, 每组 11 只。各组大鼠均采用

基础饲料喂养, 自由饮水, 同时温胆汤组大鼠给予温胆汤 15 g/(kg · d) 灌胃, 每日灌胃 1 次。模型组和正常组均予等量蒸馏水灌胃, 共 6 周。

1.6 观察指标及方法

6 周后大鼠于处理前 12 h 禁食不禁水。先称取体重, 然后用 2% 戊巴比妥钠 45 mg/kg 腹腔注射麻醉, 用皮尺量取大鼠鼻尖至肛门的长度为体长; 将大鼠固定于鼠板上, 依次切开腹部皮肤, 分离腹主动脉, 采用 5 ml 含 EDTA 的采血管进行插管取血, 依次抽取 2 管, 每管约 3 ml, 提取血清后, 4℃ 保存。另取下丘脑组织, 置于 1.5 ml 离心管, -20℃ 环境下冷藏。

1.6.1 Lee's 指数和肥胖率计算 测量大鼠体重和体长后根据如下公式进行计算: Lee's 指数 = (末次体重 × 1000)^{1/3} / 体长^[9], 肥胖率 = (造模组体重 - 正常对照组体重) / 正常对照组体重 × 100%。

1.6.2 血脂和瘦素检测 取备用血清, 根据试剂盒说明书, 用全自动生化分析仪进行血脂检测; 待检的血清恢复至室温后, 用瘦素酶联免疫试剂盒经酶标仪测定血清中瘦素水平。每个样取 3 个复孔。

1.6.3 下丘脑组织 STAT3、SOCS3 mRNA 水平检测 取 SD 大鼠下丘脑组织样本 100 mg/只, 以 GAPDH 为内参, 以实时荧光定量 PCR 方法检测 STAT3、SOCS3 mRNA 水平。具体方法: 采用 Trizol 法抽提总 RNA, 清除 DNase I 之后, 采用紫外分光光度计测定其浓度, 取 1 μg 总 RNA, 以 Oligo (dT) 18 为引物、M-MuLV 为逆转录酶进行逆转录反应, 参照 GenBank 中靶基因的序列设计引物, 引物由南京金斯瑞生物科技有限公司合成。STAT3: 上游 GCCACTCTGGTGTTCATA, 下游 GATTCTTCG-CAGGTTGTG, 扩增片段 102bp; SOCS3: 上游 GCGA CCAAGAACCTACGC, 下游 GGCTGCTCCTGAAC-CTC, 扩增片段 188bp; GAPDH: 上游 CAAGT-TCAACGGCAG, 下游 CCAGTAGACTCCACGACAT, 扩增片段 138bp。靶基因和内参分别在最佳条件下及 PCR 循环的线性期内扩增, 按照仪器使用说明进行实时荧光定量 PCR 实验, 数据采用仪器自带软件分析。每个样取 3 个复孔。

1.6.4 下丘脑组织 STAT3、SOCS3 蛋白表达检测 取 SD 大鼠下丘脑组织样本 100 mg/只, 匀浆之后提取总蛋白, 采用 Bradford 法检测蛋白浓度, 调整加样浓度之后进行 SDS-PAGE 电泳, 转膜之后采用一抗、二抗进行免疫反应, 反应之后采用全自动化学发光分析仪检测, 显影和定影之后将胶片进行扫

描存档, 在 Image J 1.48u 软件下分析目标带的光密度值。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计分析软件进行数据处理。计量资料用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组比较用两样本独立 t 检验。多组比较用单因素方差分析法, 方差齐时组间比较采用 LSD 法, 方差不齐时选择 Tamhane's T2 法。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠体重、Lee's 指数和肥胖率比较

模型组和温胆汤组大鼠由于灌胃操作不当地意外死亡和取材不当样品废用后进入统计每组 8 只, 另采用随机数字表法从 20 只正常组大鼠中选取 8 只进入统计。表 1 示, 模型组大鼠体重明显高于正常组和温胆汤组 ($P < 0.01$), 而温胆汤组和正常组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。温胆汤组 Lee's 指数明显低于模型组 ($P < 0.05$)。模型组肥胖率为 26.36%, 温胆汤组肥胖率为 1.06%, 说明温胆汤干预后大鼠肥胖率明显降低。

表 1 各组大鼠体重、Lee's 指数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	体重 (g)	Lee's 指数
正常组	8	441.61 $\pm$ 23.95 **	2.92 $\pm$ 0.07
模型组	8	510.10 $\pm$ 32.48	2.99 $\pm$ 0.04
温胆汤组	8	446.28 $\pm$ 32.87 **	2.90 $\pm$ 0.09 *

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

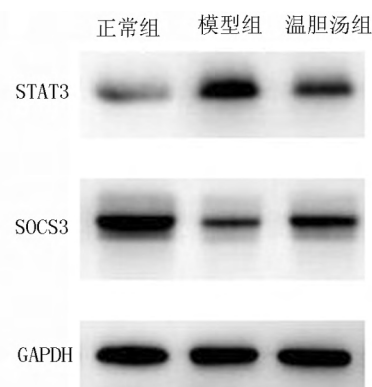
2.2 各组大鼠血清瘦素及血脂水平比较

表 2 示, 与正常组比较, 模型组和温胆汤组大鼠血清瘦素、TC、TG、LDL-C 水平明显升高, HDL-C 水平明显降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较,

温胆汤组大鼠血清瘦素、TC、TG、LDL-C 水平降低, HDL-C 水平升高 ($P < 0.01$)。

2.3 各组大鼠下丘脑组织 STAT3、SOCS3 mRNA 和蛋白表达比较

表 3 示, 与正常组比较, 模型组和温胆汤组下丘脑组织 STAT3 mRNA 和蛋白表达显著升高, 而 SOCS3 mRNA 和蛋白表达则显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 温胆汤组大鼠下丘脑组织 STAT3 mRNA 和蛋白表达显著下降, SOCS3 mRNA 和蛋白表达则显著升高 ($P < 0.01$)。各组大鼠下丘脑组织 STAT3、SOCS3 蛋白电泳图见图 1。



注: STAT3, 信号转导和转录激活因子 3; SOCS3, 细胞因子信号转导抑制因子 3

图 1 各组大鼠下丘脑组织 STAT3、SOCS3 蛋白电泳图

3 讨论

温胆汤始载于南北朝名医姚僧垣的《集验方》, 主要由半夏、陈皮、竹茹、枳实、甘草、生姜等组成, 是中医临床最常用的治“痰”基础方。临床医家围绕温胆汤治“痰”这一关键, 已将其

表 2 各组大鼠血清瘦素和血脂水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	瘦素 (pg/ml)	TC (mmol/L)	TG (mmol/L)	HDL-C (mmol/L)	LDL-C (mmol/L)
正常组	24	345.60 $\pm$ 34.01	1.33 $\pm$ 0.18	1.07 $\pm$ 0.32	0.56 $\pm$ 0.06	0.56 $\pm$ 0.21
模型组	24	932.22 $\pm$ 113.18 *	6.41 $\pm$ 0.31 *	3.35 $\pm$ 0.29 *	0.31 $\pm$ 0.06 *	4.74 $\pm$ 0.38 *
温胆汤组	24	560.95 $\pm$ 112.78 * Δ	4.36 $\pm$ 0.22 * Δ	2.59 $\pm$ 0.30 * Δ	0.41 $\pm$ 0.06 * Δ	2.91 $\pm$ 0.26 * Δ

注: TC, 总胆固醇; TG, 甘油三酯; LDL-C, 低密度脂蛋白胆固醇; HDL-C, 高密度脂蛋白胆固醇; 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$

表 3 各组大鼠下丘脑组织 STAT3、SOCS3 mRNA 和蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	STAT3		SOCS3	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
正常组	1.06 $\pm$ 0.35 (24)	0.44 $\pm$ 0.09 (8)	1.10 $\pm$ 0.53 (24)	1.08 $\pm$ 0.05 (8)
模型组	7.78 $\pm$ 5.37 * (24)	1.07 $\pm$ 0.07 * (8)	0.11 $\pm$ 0.12 * (24)	0.67 $\pm$ 0.10 * (8)
温胆汤	2.27 $\pm$ 0.98 * Δ (24)	0.74 $\pm$ 0.09 * Δ (8)	0.25 $\pm$ 0.09 * Δ (24)	0.87 $\pm$ 0.06 * Δ (8)

注: STAT3, 信号转导和转录激活因子 3; SOCS3, 细胞因子信号转导抑制因子 3; 与正常组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; () 内为样本数

广泛应用于肥胖及相关代谢性疾病的防治^[4-6]。本课题组通过文献研究和临床观察,提出“多食→多痰→少气→痰多”是肥胖形成的病理关键^[4],在治疗上当以健脾化痰为主,结合兼症进行综合治疗。故选取具有理气化痰、健脾和胃之温胆汤用于防治肥胖。本研究中大鼠造模后的体重、Lee's 指数、TC、TG、LDL-C 含量显著升高,而采用温胆汤干预后,上述指标则出现明显下降,且可改善 HDL-C 水平,表明温胆汤具有一定的降脂减肥作用,这一点已有相关文献报道^[1]。

现代研究发现,瘦素在肥胖的发病过程起着重要作用,其是由肥胖基因编码的蛋白质,主要由白色脂肪细胞分泌和产生^[12]。瘦素有调节能量代谢、糖代谢、促进生长发育、参与免疫/炎症反应等多种生物学效应^[13]。瘦素合成的多少主要取决于脂肪细胞体积的大小,当脂肪细胞体积减小时,瘦素的合成和分泌亦减少^[1]。瘦素与瘦素受体结合后引发细胞内信号转导机制非常复杂,而其中发挥重要作用的可能与 STAT3 等因子有关,研究发现其被激活后可通过调控下游靶基因(如 SOCS3 等负性调控因子)的转录发挥食欲与能量代谢的调控作用^[14]。本研究结果发现,模型组血清瘦素水平和下丘脑 STAT3 mRNA 和蛋白表达量均出现显著升高,这可能是随着大鼠肥胖程度的进一步加重,瘦素水平的升高激发了 JAK/STAT 通路中 STAT3 的表达,从而代偿性地抑制肥胖;而经温胆汤干预治疗后,出现了外周血瘦素水平下降,瘦素与受体结合量也随之减少,对 JAK/STAT 通路的刺激减弱,也就使 STAT3 mRNA 和蛋白表达下降,进而达到减肥效果。

SOCS3 作为瘦素信号的负性调节因子,在外周血瘦素水平升高的同时其表达也往往随之增强,这样就抑制瘦素受体后 JAK/STAT 信号转导通路,进而诱发瘦素抵抗,导致肥胖加重^[15]。但本实验中模型组 SOCS3 mRNA 和蛋白表达量较正常组低,而经温胆汤干预治疗后,其 mRNA 和蛋白表达有所恢复,与 Peiser 等^[16]的研究结果相似。究其原因,这可能与高脂饲料的配方、饲养时间及选择的大鼠种系等的不同有关。因此,SOCS3 在 mRNA 和蛋白表达水平的变化是否与瘦素抵抗直接关联,仍须进一步研究。

参考文献

- [1] 牛兴旺,吴桂莲. 肥胖病的研究进展 [J]. 陕西中医, 2009,30(6):762-763.
- [2] 李君玲. 中医辨证治疗儿童肥胖症 67 例 [J]. 中医儿科杂志,2012,8(1):33-34.
- [3] 史晓娜,陶枫,陆灏,等. 肥胖证候和证素分布特征的文献研究 [J]. 上海中医药大学学报,2014,28(4):53-57.
- [4] 黄慧芹. 加味温胆汤治疗单纯性肥胖症 52 例临床观察 [J]. 中医临床研究,2010,2(16):58-59.
- [5] 李淑霞. 温胆汤加减治疗儿童单纯性肥胖症 [J]. 江西中医药,2003,34(8):22.
- [6] 连东辉. 加味温胆汤治疗痰湿壅盛型肥胖性高血压病 60 例 [J]. 河南中医,2012,32(7):913-914.
- [7] 孟宪卿,姜月华,吴赛,等. 刺蒺藜通过瘦素介导的 JAK2/STAT3 通路对肥胖性高血压大鼠肾脏的影响 [J]. 中草药,2017,48(3):539-545.
- [8] CHANDLER PC, VIANA JB, OSWALD KD, et al. Feeding response to melanocortin agonist predicts preference for and obesity from a high-fat diet [J]. Physiol Behav, 2005, 85(2):221-230.
- [9] BUNYAN J, MURRELL EA, SHAH PP. The induction of obesity in rodents by means of monosodium glutamate [J]. Br J Nutr, 1976, 35(1):25-39.
- [10] 喻松仁,舒晴,王萍,等. 肥胖痰湿证形成机制及证治规律探微 [J]. 辽宁中医杂志,2017,44(12):2547-2548.
- [11] 姚凤云,王雅乐. 加味温胆汤不同配伍药组对大鼠营养性肥胖的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(21):134-138.
- [12] 郭春丽,赵晓光. 瘦素在肥胖调节中的作用 [J]. 医学综述,2011,17(1):44-46.
- [13] SOBHAI I, BADO A, VISSUZAIN C, et al. Leptin secretin and leptin receptor in the human stomach [J]. Gastroenterology, 2000, 118(4):178-183.
- [14] BUETTNER C, POCAI A, MUSE ED, et al. Critical role of STAT3 in leptin's metabolic actions [J]. Cell Metab, 2006, 4(1):49-60.
- [15] 唐红珍,蒋凌凤,陈丹丹,等. 针刺对肥胖大鼠 Lee's 指数、胰岛素、瘦素和 SOCS3 水平的影响 [J]. 微创医学,2015,10(6):719-722,726.
- [16] PEISER C, MC GREGOR GP, LANG RE. Leptin receptor expression and suppressor of cytokine signaling transcript levels in high-fat-fed rats [J]. Life Sci, 2000, 67(24):2971-2981.

Effect of *Wendan Decoction* (温胆汤) on Serum Leptin and Expression of STAT3 and SOCS3 in Hypothalamus of Obese Rats

YU Songren, BAI Yang, WANG Hebao, SHU Qing, YAO Qi, ZHOU Li, WANG Ping, CHENG Shaomin, JIAN Hui

(Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004)

ABSTRACT Objective To investigate the possible mechanism of *Wendan Decoction* (温胆汤) in the treatment of obesity. **Methods** A rat model of obesity induced by high-fat diet was randomly divided into model group and *Wendan Decoction* group, with 8 rats in each group, and 8 healthy rats were set as normal group. After successful modeling, the rats in each group were fed with basal diet. The rats in *Wendan Decoction* group were given 15 g/(kg · d) of *Wendan Decoction*. The model group and the normal group were treated with the same amount of distilled water, for 6 weeks. The body weight, Lee's index, and obesity rate of each group were compared. Serum leptin and blood lipids including total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and hypothalamic signal transducers and activators of transcription 3 (STAT3), suppressor of cytokine signaling 3 (SOCS3) mRNA and protein expression were measured. **Results** Compared with the normal group, the body weight and blood lipid levels (except HDL-C), hypothalamic STAT3 mRNA and protein expression, and SOCS3 mRNA and protein expression were decreased in the model group ($P < 0.01$). Compared with the model group, the Lee's index, body weight, blood lipid level (except HDL-C), hypothalamic STAT3 mRNA and protein expression were significantly decreased, and SOCS3 mRNA and protein expression were significantly increased ($P < 0.01$). The obesity rate of the model group was 26.36%, and that of the *Wendan Decoction* group was 1.06%. **Conclusion** *Wendan Decoction* has a good lipid-lowering effect, which may regulate the body's Leptin level by regulating JAK2/STAT3 signaling pathway, thus correcting the body's metabolic abnormalities.

Keywords obesity; *Wendan Decoction*; leptin; signal transducers and activators of transcription 3; suppressor of cytokine signaling 3

(收稿日期: 2018-09-06; 修回日期: 2018-11-01)

编辑: 邓 媛

(上接第 231 页)

Effects of Tonifying Kidney and Benefiting Marrow Method on Non-motor Symptoms of Parkinson's Disease with Kidney Deficiency and Marrow Reduction

CHEN Lu¹, WEI Yifan², LIU Ming¹, MA Lizhen¹, CHEN Zhigang¹

(1. Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078; 2. Traditional Chinese Medicine Hospital of Xi'an City)

ABSTRACT Objective To explore the effects of tonifying kidney and benefiting marrow method on non-motor symptoms of Parkinson's disease with kidney deficiency and marrow reduction. **Methods** A total of 60 patients with Parkinson's disease with kidney deficiency and marrow reduction were randomly divided into a treatment group and a control group. Both groups were treated based on the western medicine of anti-Parkinson's disease, and the treatment group was added with the recipe of tonifying kidney and benefiting marrow method for 3 months. The Parkinson disease sleep scale (PDSS), fatigue scale, Epworth somnolence scale, and constipation scale were scored before treatment, 1 and 3 months after treatment. The Montreal cognitive assessment scale (MoCA) was used to explore the clinical effects. **Results** After 3 months' treatment, the total effective rate was 90.00% in the treatment group, and 66.67% in the control group, the treatment group significantly higher than the control group ($P < 0.05$). After 3 months' treatment, scores of the PDSS, fatigue scale, Epworth somnolence scale, and constipation scale of the treatment group were lower than before treatment, and lower than the control group at the same time ($P < 0.05$). There was no difference in the MoCA score of the 2 groups before and after treatment ($P > 0.05$). **Conclusion** Tonifying kidney and benefiting marrow method is effective in improving the non-motor symptoms of Parkinson's disease with kidney deficiency and marrow reduction, such as fatigue, daytime sleepiness, sleep disorders and constipation.

Keywords Parkinson's disease; tonifying kidney and benefiting marrow method; kidney deficiency and marrow reduction syndrome; sleep disorders; constipation; fatigue

(收稿日期: 2018-07-15; 修回日期: 2018-10-11)

编辑: 叶 晨