

· 实验研究 ·

固真方对老年大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体作用的研究*

赵伟康 金国琴

内容提要 本研究观察了固真方(含首乌、肉苁蓉、覆盆子等中药)对老年大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体(GCR)位点数和 GCR 核转位率以及血清胸腺因子功能等的影响。结果表明:老年大鼠胸腺细胞 GCR 位点数,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显著低于青年对照鼠, GCR 核转位率则明显高于青年对照鼠,而固真方能明显改善胸腺的上述老年性变化,提示固真方可能是通过抑制老年大鼠胸腺细胞 GCR 由胞浆到核的转位活化能力,从而减弱糖皮质激素对胸腺的抑制作用,提高老年机体胸腺依赖性免疫功能。

关键词 固真方 老年大鼠 胸腺 糖皮质激素受体 血清胸腺因子

Effect of Guzhen Recipe on Glucocorticoid Receptor in Senile Rat Thymocyte Zhao Wei-kang, Jin Gou-qin Dept. of Biochemistry, Shanghai University of TCM, Shanghai (200032)

The effects of Guzhen Recipe (GZ) which composed of *Polygonum multiflorum*, *Cistanche deserticola*, *Rubus chiagii* etc, on the number of thymocyte glucocorticoid receptor (GCR) sites, the GCR nuclear translocation rate, and the activity of serum thymic factors etc in senile rats were observed. The results showed: The number of thymocyte GCR sites, the contents of cytoplasmic protein, nuclear RNA and DNA, the thymus weight/body weight ratio and the serum thymic factors in senile rats were significantly decreased, while thymocyte GCR nuclear translocation rate increased obviously than that of young control rats. GZ, however, was capable of improving the above-mentioned changes of thymus in senile rats markedly, suggesting that GZ might weaken the inhibitory effect of glucocorticoid on the thymus by means of suppressing the translocation activity of GCR from cytoplasm to nucleus in senile rats, thus enhance thymus-dependent immune function in senile rats.

Key words Guzhen recipe, senile rat, thymus, glucocorticoid receptor, serum thymic factors

本实验以大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体(GCR)、胞浆蛋白、核 RNA 和 DNA 含量、胸腺重/体重比值和血清胸腺因子功能为指标,试图从糖皮质激素与胸腺之间的联系,研究固真方对延缓胸腺—神经内分泌网衰老的影响,以阐明补肾方药的免疫药理作用。

2 固真方 本校中药制剂室提供,由首乌、肉苁蓉、覆盆子、牛膝、川续断、枸杞子组成并制成浸膏。临用前将浸膏用冷开水配成饮料(4.8 mg/ml),每鼠每天饮用 30 ml,相当于临床成人每公斤体重剂量的 20 倍。

实验材料

1 动物 SD 雄性大鼠,由本校实验动物中心提供。

方法与结果

1 动物分组 将大鼠按月龄和服药情况分为 3 组:青年对照组,4 月龄,正常饮水及饲料;老年对照组,24 月龄,正常饮水及饲料;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

*国家自然科学基金资助项目
上海中医药大学生化教研室(上海 200032)

天, 连续4个月。

2 测定方法

2.1 糖皮质激素受体(GCR)测定 参照 Scott⁽¹⁾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%。

2.2 胞浆蛋白测定 采用 Lowry⁽²⁾法, 以牛血清白蛋白为标准, 蛋白含量以 mg·Pr/100 mg 湿组织表示。

2.3 核 RNA 含量测定 采用苔黑酚⁽³⁾法, 以酵母 RNA 为标准, RNA 含量以 mg·RNA/100 mg 湿组织表示。

2.4 核 DNA 含量测定 采用二苯胺⁽⁴⁾法, 以鱼精 DNA 为标准, DNA 含量以 mg·DNA/100 mg 湿组织表示。

2.5 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。

2.6 血清胸腺因子功能测定 参照 Grossman⁽⁵⁾法略加修改, 血清胸腺因子以 DPM/50 μ l 血清及 DPM/50 μ l 血清·20 u·PHA 表示。

表2 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, ($\bar{x} \pm S$)

组别	鼠数	胸腺重/体重 (比值)	胞浆蛋白	核 RNA (mg/100 mg 组织)	核 DNA
青年对照	7	0.81±0.16**	2.72±0.71**	1.43±0.37*	3.25±1.03*
老年对照	8	0.46±0.08	1.91±0.21	1.09±0.18	2.15±0.54
老年固真	8	0.56±0.07*	2.53±0.67*	1.30±0.16*	2.78±0.63*

腺胞浆蛋白、核 RNA 和 DNA 含量。

3.3 血清胸腺因子功能的变化, 见表3。

表3 固真方对老年大鼠血清胸腺因子功能的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	鼠数	DPM/50 μ l 血清	DPM/50 μ l 血清· 20 u·PHA
青年对照	9	458.04±75.27**	679.93±233.65**
老年对照	9	246.11±29.62	315.86±85.02
老年固真	8	426.00±154.73**	474.90±116.81**

老年大鼠血清胸腺因子功能显著低于青年对照组, 显示不管有无 PHA 刺激, 胸腺淋巴细胞对³H-胸腺嘧啶核苷(³H-TdR)掺入量均明显下降, 而固真方则能显著提高老年大鼠血清胸腺因子功能。

3 结果

3.1 胸腺细胞 GCR 的变化 见表1。

老年大鼠胸腺细胞 GCR 位点数显著低于青年对照组, 而 GCR 核转位率则明显高于青年对照组; 与老年对照组比较, 固真方可显著增高老年大鼠胸腺细胞 GCR 位点数, 降低 GCR 核转位率, 使上述变化趋向青年鼠。

表1 固真方对老年大鼠胸腺细胞 GCR 核转位率的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	鼠数	位点数/细胞	位点数 /细胞核	核转率 (%)
青年对照	12	1206±266**	175±77	14.92±6.98*
老年对照	12	672±268	231±150	36.74±25.92
老年固真	10	1127±560*	197±206	16.65±12.17*

注: 与老年对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 下表同

3.2 胸腺重/体重比值、胸腺胞浆蛋白、核 RNA 和 DNA 含量的变化 见表2。

老年大鼠胸腺重/体重比值、胸腺胞浆蛋白、核 RNA 和 DNA 含量均明显低于青年对照组; 而固真方可显著提高老年大鼠下降的胸腺重/体重比值、胸

讨 论

近年来国内外学者对胸腺—神经内分泌网的退化在机体衰老过程中的作用颇为重视。根据糖皮质激素与胸腺依赖性免疫功能关系密切, 本研究重点研究了固真方对老年大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体的影响, 以进一步阐明固真方的免疫药理作用。

本研究结果表明: 老年大鼠胸腺细胞糖皮质激素受体位点数虽明显降低, 但糖皮质激素受体核转位率则显著高于青年对照组, 血清胸腺因子功能明显降低, 联系老年鼠淋巴细胞转化率、IL-2 等胸腺依赖性免疫功能的减弱⁽⁶⁾, 提示随增龄糖皮质激素对胸腺的抑制作用加强, 这可能与糖皮质激素受体核转位率明显增高有关, 后者可以使更多的活化 GCR 作用于染色体 DNA, 促进核酸内切酶 mRNA 的转录, 诱

导合成多种特异性抑制蛋白⁽⁷⁾，抑制胸腺细胞对葡萄糖的摄取和RNA聚合酶活性，从而抑制DNA、RNA和蛋白质的生物合成，使胸腺组织逐渐萎缩，胸腺重量减轻，胸腺功能退化⁽⁸⁾，结果严重影响到外周胸腺依赖性免疫功能。而固真方能显著降低胸腺细胞糖皮质激素受体核转位率，从而减弱了糖皮质激素对胸腺的抑制作用，提高老年大鼠血清胸腺因子功能，这可能是补肾益精方药提高老年机体胸腺依赖性免疫功能的重要原因。联系老年大鼠下丘脑—垂体—肾上腺轴活动亢进，血浆皮质酮显著高于青年鼠⁽⁹⁾，而固真方能明显改善上述老年性变化，提示补肾益精方药改善胸腺依赖性免疫功能的作用可能是通过下丘脑—垂体—肾上腺—胸腺(HPAT)轴来实现的。考虑到固真方有延缓下丘脑—垂体—性腺—胸腺(HPGT)轴衰老的作用⁽¹⁰⁾，表明补肾益精方药既能作用于HPGT轴，又能影响HPAT轴，其改善胸腺依赖性免疫功能的作用是多层次、多环节的综合结果。这符合中医的阴阳平衡、整体调整的观念。

参 考 文 献

1. Scott HK, Fauzia FQ and Joel HS. An alternative approach to the quantitation of glucocorticoid-receptor complexes in the nuclei of lymphoid cells. *Endocrinology* 1982; 110(3) : 708.
2. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, et al. Protein

measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 1951; 193 : 265.
3. Schjeide OA. Micro estimation of RNA by the cupric-ion catalyzed orcinol reaction. *Analytical Biochemistry* 1969; 27 : 473.
4. Abraharm GN, Clare S and John HV. Modified diphenylamine reaction for increased sensitivity. *Analytical Biochemistry* 1972; 49 : 547.
5. Grossman CJ, Sholiton LJ and Rosolle GA. Estradiol regulation of thymic lymphocyte function in the rat. Mediation by serum thymic factors. *J Ster Biochem* 1982; 16 : 683.
6. 章育正, 姚颂一, 赵慧娟, 等. 固真胶囊对老年大鼠免疫功能的影响. *上海中医学院学报* 1990; 4(1) : 52.
7. Voris BP and Donald AY. Glucocorticoid-induced proteins in rat thymus cell. *The Journal of Biological Chemistry* 1981; 256(21) : 11319.
8. Durant S. In vivo effects of catecholamines and glucocorticoids on mouse thymic cAMP content and thymolysis. *Cell Immunol* 1986; 102 : 136.
9. Sergio S, Anna DS, Luciano A. Age-related changes in hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis activity in the rat. *Neuroendocrinology* 1990; 52 : 150.
10. 赵伟康, 潘迎宪, 万淑媛. 固真方对老年雄性大鼠下丘脑—垂体—性腺—胸腺轴作用的实验研究. *中医杂志* 1989; 30(12) : 43.

(收稿: 1993—09—13 修回: 1994—10—20)

· 简 讯 ·

澳首次批准医院临床试验中药

由北京同仁堂中药厂生产的治疗丙型肝炎的中成药(代号为CH-100), 经澳洲国泰中药公司进口, 首次被批准在澳洲正规医院做临床试验。该药由国泰公司的中医顾问、中医硕士杨伊凡, 从众多已证明治疗肝炎有效的中药中挑选出19种, 再从药理和临床上证明其作用, 拟成配方和剂量, 经由中国肝炎专家鉴证并在坎培拉国家药物局备案和申请了专利。中药在澳洲正规医院做临床试验, 史无前例, 而CH-100丙型肝炎药经过一年多的资料准备, 于1994年11月初被猎人区(Hunter Area)药物研究委员会批准在纽卡素(New Castle) John Hunter 医院60例患者作临床研究, 为期6个月, 3个月可有初步报告, 9个月后有最终报告。

中药治疗肝炎临床研究由 John Hunter 医院胃肠消化道专家贝迪(Robert Batey)副教授负责。悉尼大学讲师艾伦(Alan Bensoussan)在试验中负责设计、数据处理和写报告等部分。中医药能在澳洲正规医院做临床试验已属破禁, 为今后中医药在澳洲的运用推进一大步。

[摘自 《自立快报》(澳大利亚)1994; 11. 18, 第1版。]