

医学中的核技术

用放射性受体结合分析法研究补肾填精中药 对老年大鼠脑组织中神经递质受体的影响

官 斌 莫启忠 方 军 徐品初 王菊美 匡兴伟 陈 荣
(上海中医学院)

用放射性受体结合分析法研究了补肾填精中药对雌、雄性老年大鼠脑组织中神经递质受体的影响。实验表明：雌、雄性老年大鼠大脑皮层组织中 α_1 和DA(多巴胺)受体的结合容量(R_t)有不同程度降低，补肾填精中药固真冲剂可明显增加老年大鼠大脑皮层组织中 α_1 和DA受体的 R_t 值，这一作用被认为可能对脑组织产生延缓衰老的作用。

关键词：放射性受体结合分析法 神经递质受体 补肾填精中药 结合容量 解离常数

一、引 言

受体药理学研究揭示了脑功能——学习、记忆、推理和情绪与某些神经递质受体密切相关^[1,2]。脑功能随增龄产生的退行性病变，引起人们高度重视。我们曾报道过补肾填精中药能通过抑制老年动物脑组织中线粒体单胺氧化酶(MAO-A MAO-B)的活性^[3]，推测：该中药也能影响大脑组织中的神经递质受体。选择³H-Spiperone, (³H-氟哌啶醇), ³H-Dihydro-lpranolol (³H-DHA) (³H-双氢心得舒)和³H-Prazosin(³H-哌唑嗪)为放射性标记配体，按J. Z. Fields 等和 J. E. Leysen 等^[4,5]经改进的方法(缓冲液 pH7.4, 受体蛋白含量 2mg/ml 左右, 37℃恒温水浴温育 10min), 测定了滋补肾阳及肾阴方——固真和葆贞冲剂对雌、雄性老年大鼠大脑皮层组织中 α_1 、 β 和DA受体 R_t 和 K_d 值的影响。结果表明：雌、雄性老年大鼠大脑皮层组织中 α_1 、 β 和DA受体的 R_t 值较青年大鼠有不同程度降低，固真冲剂可不同程度增加脑组织中 α_1 、 β 和DA受体的 R_t 值，或有增加趋势。

二、材料和方法

(1) 固真和葆贞冲剂 固真和葆贞冲剂分别由地黄、首乌、女贞子、锁阳、菟丝子等补肾填精中药组成。固真方以滋补肾阳为主，葆贞方以滋补肾阴为主。

(2) 动物分组及喂养 取Wistar大鼠，雌、雄兼用，随机分成青年组(5月龄)、老年组和老年用药组(22月龄)。青、老年组喂普通饲料，老年用药组分别喂添加固真冲剂(固真组)和葆贞冲剂(葆贞组)的饲料，药量相当于临床成人剂量20倍。连续喂药4个月，断头，取出大脑皮层组织，用于 α_1 、 β 和DA受体 R_t 和 K_d 值测定。

(3) 放射性配体 ①³H-DHA, 比活度为1.70TBq/mmol, 放化纯度>98%, 中国原子能科学研究院生产, 为 β 受体的放射性配体。②³H-Spiperone, 比活度为3.26TBq/mmol, Amersham International PLC生产, 为DA受体的放射性配体。③³H-Prazosin, 比活度为

0.814TBq/mmol, 放化纯度 97%。为 α_1 受体的放射性配体, 中国原子能科学研究院生产。

(4) 膜受体的制备 断头处死动物, 取出大鼠大脑皮层, 按 J.Z. Fields 和 J. E. Leysen^[4,5] 氏法制备脑膜受体样本。

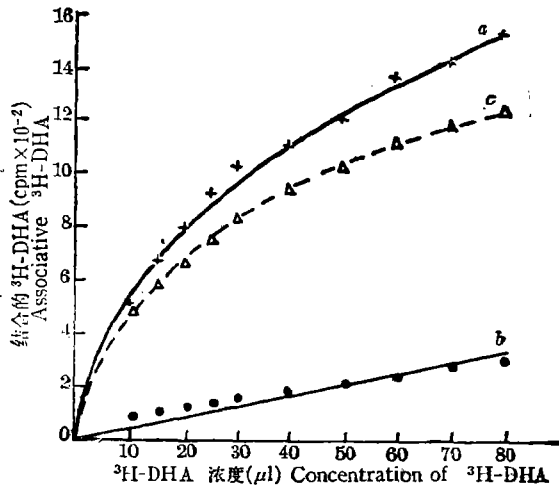


图1 β 受体放射配体结合分析曲线
a. 总结合 b. 非特异性结合 c. 特异性结合, $c=a-b$
Fig. 1 β receptor radio-ligand binding assay curve
a. Total binding b. Non-specificity binding
c. Specificity binding ($c=a-b$)

(5) 神经递质受体 R_i 和 K_d 值的测定
按 J. Z. Fields, J. E. Leysen^[4,5] 方法改进后测定 α_1 、 β 和 DA 受体 R_i 和 K_d 值。以 β 受体为例, 其饱和曲线和 Scatchard 图见图 1 和图 2。各组 R_i 和 K_d 值以 t 测验进行统计处理。

(6) 测量仪器 美国 Beckman 公司 LS 9800 液体闪烁计数器。

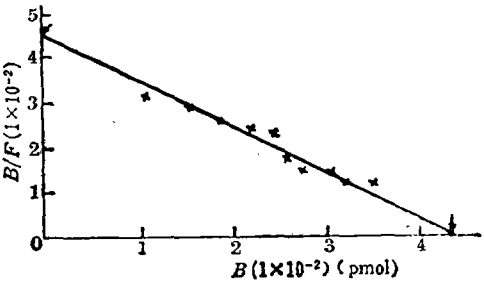


图2 β 受体Scatchard图
Fig.2 Scatchard diagram of β receptor

三、实验结果

1. 固真和葆贞冲剂对雄性老年大鼠大脑皮层 β 受体 R_i 和 K_d 值的影响

雄性老年大鼠大脑皮层 β 受体 R_i 和 K_d 值较青年组鼠降低 ($P<0.01$), 固真冲剂使其 K_d 值明显增大, R_i 有升高趋势 ($P<0.1$), 与老年组鼠比较差异明显 (见表 1); 葆贞冲剂对老年

表1 固真和葆贞冲剂对雄性老年大鼠大脑皮层组织中 β 受体 R_i 和 K_d 值的影响($\bar{x} \pm SD$)
Table 1 Effect of Guzhen and Baozhen recipes on R_i and K_d of β receptor in cerebrum of agedmale rats

组别 Groups	青年组 Young (n=5)	老年组 Senile (n=7)	固真组 Guzhen (n=6)	葆贞组 Baozhen (n=4)
R_i (fmol/mg)	327.30 ± 151.71	129.00* ± 66.80	199.61** ± 74.62	173.40 ± 70.81
K_d (nM)	2.10 ± 0.83	1.44 ± 0.41	3.71*** ± 2.28	3.31*** ± 1.47

* 与青年组比较, $P<0.01$ ** 与老年组比较, $0.05<P<0.1$
*** 与老年组比较 $P<0.05$

大鼠 R_i 和 K_d 值的影响, 经统计处理, R_i 值差异无意义, K_d 值升高。

2. 固真和葆贞冲剂对雌性老年大鼠大脑皮层 β 受体 R_i 和 K_d 值的影响

由表 2 可见, 雌性老年大鼠大脑皮层组织中 β 受体 R_i 值明显低于青年组, 与雄性老年大鼠基本一致(见表 1); 固真和葆贞冲剂均有增加老年大鼠 β 受体 R_i 值的趋势, 但经统计, 差异均不明显。

表 2 固真和葆贞冲剂对雌性老年大鼠大脑皮层组织中 β 受体 R_i 和 K_d 值的影响($\bar{X} \pm SD$)

Table 2 Effect of Guzhen and Baozhen recipes on R_i and K_d of β receptor in cerebrum of aged female rats

组别 Groups	青年组 Young(n=5)	老年组 Senile(n=5)	固真组 Guzhen(n=5)	葆贞组 Baozhen(n=5)
R_i (fmol/mg)	514.81 $\pm$ 287.72	*187.80 $\pm$ 86.73	**376.00 $\pm$ 177.91	**437.00 $\pm$ 297.42
K_d (nM)	3.03 $\pm$ 2.04	4.57 $\pm$ 2.34	3.56 $\pm$ 2.21	3.54 $\pm$ 1.56

*与青年组比较, $P < 0.05$ **与老年组比较, $0.05 < P < 0.1$ K_d 值各组比较, $P > 0.05$

3. 固真和葆贞冲剂对雌性老年大鼠大脑皮层组织中 α_1 受体 R_i 值的影响

在测定固真和葆贞冲剂对雌、雄性老年大鼠大脑皮层组织中 β 受体 R_i 和 K_d 值影响的同时, 我们试探性测定了同一膜受体样本的 α_1 受体 R_i 值, 结果表明: 雌性老年大鼠大脑皮层组织中 α_1 受体 R_i 值与 β 受体一样, 也明显降低, 固真和葆贞冲剂均能使降低了的 R_i 值升高, 与老年组比较, 固真组差异明显($P < 0.05$), 葆贞组有增加趋势(见表 3)。

表 3 固真和葆贞冲剂对雌性老年大鼠大脑皮层组织中 α_1 受体 R_i 值的影响($\bar{X} \pm SD$)

Table 3 Effect of Guzhen and Baozhen recipes on R_i of α_1 receptor in cerebrum of aged female rats

组别 Groups	青年组 Young(n=4)	老年组 Senile(n=4)	固真组 Guzhen(n=4)	葆贞组 Baozhen(n=4)
R_i (fmol/mg)	116.30 $\pm$ 37.91	*60.83 $\pm$ 9.98	**90.41 $\pm$ 13.72	***118.82 $\pm$ 58.20

*与青年组比较, $P < 0.05$ **与老年组比较, $P < 0.05$ ***与老年组比较, $0.05 < P < 0.1$

4. 固真和葆贞冲剂对雄性老年大鼠大脑皮层组织中 DA 受体 R_i 值的影响

实验结果表明: 雄性老年大鼠大脑皮层组织中的 DA 受体 R_i 值与 β 受体一样, 较青年组显著降低($P < 0.01$)。固真冲剂可明显提高老年大鼠大脑皮层组织中 DA 受体的 R_i 值。

表 4 固真和葆贞冲剂对雄性老年大鼠大脑皮层组织中 DA 受体 R_i 值的影响($\bar{X} \pm SD$)

Table 4 Effect of Guzhen and Baozhen recipes on R_i of DA receptor in cerebrum of aged male rats

组别 Groups	青年组 Young(n=6)	老年组 Senile(n=5)	固真组 Guzhen(n=5)	葆贞组 Baozhen(n=4)
R_i (fmol/mg)	878.98 $\pm$ 512.40	*187.81 $\pm$ 49.00	**642.24 $\pm$ 371.00	***349.25 $\pm$ 150.08

*与青年组比较, $P < 0.01$ **与老年组比较, $P < 0.05$ ***与老年组比较, $0.05 < P < 0.1$

四、讨 论

神经递质受体数量和功能的变化与脑功能衰老的关系已被许多实验所证明^[6-8], 我们测定雌、雄性老年大鼠大脑皮层组织中 α_1 、 β 、DA 受体的 R_i 和 K_d 值随增龄产生的相应变化, 与国外报道基本一致^[6-10]。但是, 目前还未找到一种理想的药物能按人们的意志阻止或者延缓神经递质受体随龄产生的变化。中医补肾填精中药对雌、雄性老年大鼠大脑皮层组织中 α_1 、 β 和 DA 受体 R_i 和 K_d 值的影响, 使我们看到了一线希望。尤其是固真冲剂能使老年大鼠降低了的 α_1 、 β 和 DA 受体的 R_i 值明显升高或有升高趋势, 使我们对祖国医学“肾为先天之本”、“生髓”、“脑为髓之海”等理论阐明的“肾”与“脑”之间的内在联系有了进一步的认识。补肾填精中药可能通过改变神经递质受体的数量而改善脑功能。神经递质受体数量和功能可能是中医“脑”和“肾”之间联系的物质基础之一, 值得进一步研究。

参 考 文 献

- [1] A. J. Gower TIPS, 11(1986), 432.
- [2] 韩怡凡等, 生理科学进展, 3(1983), 216.
- [3] 莫启忠等, 核技术, (1987), 10:47.
- [4] J. Z. Fields et al., Brain Res., 136(1977), 578.
- [5] J. E. Leysen et al., Biochem. Pharmacol., 27(1978), 307.
- [6] R. I. Gregermen et al., Aging and hormone, in textbook of endocrinology, Saunders, Philadelphia, 1981 p.1192.
- [7] G.S. Roth, Hormone receptor and responsiveness changed during aging, Genetic modulation in genetic effect on aging, New York, Liss, 1978, p.365.
- [8] G. S Roth, Mech. Aging Dev., 1979, p.497.
- [9] R. H. Cox and J. L. Perhach J. Neurochem., 20(1973), 1777.
- [10] J. Maj et al., Adv. Biochem. Psychopharma, 10(1974), 253.

Research on effect of Traditional Chinese Medicine of tonifying the shen and the deficient essence on neurotransmitter receptor of senile rats by radio-ligand binding assay

Gong Bin Mo Qizhong Fang Jun Xu Pingchu

Wang Jumei Kuang Xingwei Chen Rong

(Shanghai College of TCM)

Abstract

Experiments showed that R_i of α_1 and DA receptors decreased in cerebral cortex of senile rats as compared with young rats. But for the senile rats taking the Traditional Chinese Medicine Guzhen recipes for 4 months the above R_i values were obviously increased, which implied that the recipe had some function of delaying cerebral senility.

Keywords: Radio-ligand binding assay Neurotransmitter receptor Traditional Chinese Medicine of tonifying the shen and the deficient essence Concentration of ligand receptor complex(R_i) Equilibrium dissociation constants(K_d)

(1988年3月10日收到)