

地黄饮子对果蝇寿命的影响

谢 鸣 卞一明 白 晶

(北京中医药大学基础部 100029)

摘要 以含 2% 和 4% 地黄饮子培养基饲养果蝇观察其对果蝇寿命的影响。结果表明:较之对照组,地黄饮子二个剂量组均能增加果蝇平均和最高寿命;使果蝇生存曲线显著右移;并显著降低 95% 的相对死亡比。提示地黄饮子益寿作用主要影响老年期。

关键词 地黄饮子 果蝇 寿命试验

Effect of Dihuang Yinzi Decoction on Lifespan of Fruit Fly

Xie Ming, Bian Yiming, Bai Jing

(Basic Department, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing, 100029)

Abstract: Effect of Dihuang Yinzi decoction on lifespan of fruit fly were studied. A small clony of drosophila melanogaster of american wild type was set up and the medium was supplied with 2% or 4% Dihuang Yinzi (a chinese medicine decoction for tonifying the kidney). The result revealed an increase of both mean and maximum lifespan of the female or the male fly treated with the decoction, as compared with a control group. The survival curves were shifted to right and 95% ralative ratio of death in Dihuang Yinzi treated groups was significantly lower, indicating that Dihuang Yinzi prolong the lifespan by its effect mainly on the geratic period of the organism.

Key words: Dihuang Yinzi Decoction, Fruit Fly, Lifespan Test

中医认为肾脏精气在生命及衰老中具有主宰作用,补肾是中医延年益寿的重要方法之一。宋《宣明论方》地黄饮子系中医著名补肾方,该方填精滋阴、益火壮阳、补肾养心,在配伍结构以及用药上与中医延年益寿方^[1]颇为接近。为探讨地黄饮子抗衰益寿效用,本研究观察了地黄饮子对果蝇寿命的影响。

1 材料

1.1 果蝇 美国野生型黑腹果蝇 (*Drosophola melanogaster* of American wild

type),雌雄兼用。20 日龄,由北京农业大学畜牧系遗传室提供。

1.2 中药 地黄饮子口服液(含 1g 生药/ml),由本室自制(处方组成:按文献^[2]。制备:用处方组成药物总体积的 2.5 倍量 70℃水浸泡 45 分钟,煎沸后改文火慢煎 1 小时,取煎液;继用药物体积的 2 倍量水先后再煎二次;合并三次煎液,滤过;滤液用文火浓缩至药液浓度为 100%;无菌条件下装瓶,置 4℃备用)。

1.3 方法 按文献^[3]。

1.3.1 培养基 玉米粉 100g,蔗糖 135g,干酵母粉 12g,苯甲酸 1.5g(4ml 95%乙醇溶解),琼脂 15g,蒸馏水(包括中药药液) 740ml。制成不含中药(1号)、含中药 2%(2号)和 4%(3号)浓度的培养基备用。培养条件 3.0×11cm 指管中,倾入培养基 20g 斜置成斜面培养基,每管放果蝇 25 只,用灭菌脱脂棉封口。培养基每 3 天更换一次。培养温度 26±2℃,相对湿度 60%~70%。

1.3.2 分组 果蝇经乙醚麻醉后随机分成正常对照、中药低浓度(2%)和中药高浓度(4%)三组,分别放入 1、2、3 号培养基指管培养。

1.3.3 观察指标 每天上午 9:00 观察并记录死蝇数目。规定每组最后一个死亡的果蝇寿命为该组的最高寿命。除去各组中因换培养基时飞走或封口时挤压致死的果蝇数,统计各组果蝇的平均寿命(组内各个果蝇生存天数的代数和除以果蝇数目)以及最高寿命天数,求各组 5%、50%和 95%果蝇相对死亡比。根据各组果蝇不同时间累积存活率绘制果蝇生存曲线。对各组平均生存天数行 t 检验^[4];对各组生存曲线以及 5%、50%和 95%相对死亡比行 Logrank 检验^[5]。全部数据用 Stata 和 Poms 软件由 386 机处理。

2 结果

2.1 中药地黄饮子对果蝇平均及最高寿命的影响 见表 1。

表 1 地黄饮子(DHYZ)对果蝇寿命的影响

组别	剂量 (%)	果蝇数 (只)	平均寿命 (天, $\bar{X} \pm SE$)	最高寿命 (天)
♂ 对照	-	145	65.6±14.7	84
DHYZ	2	81	72.6±12.2	88
DHYZ	4	90	71.1±10.8**	87
♀ 对照	-	102	67.3±10.6	81
DHYZ	2	69	71.8±8.2**	89
DHYZ	4	71	72.3±8.3**	87

与对照组比较 ** P<0.05

由表 1 可看出,正常对照果蝇雌雄组间

无显著差别。较之于对照组,4%地黄饮子能显著提高雄蝇和雌蝇平均寿命(P<0.05),2%地黄饮子能显著提高雌蝇平均寿命(P<0.05),对雄蝇平均寿命仅显示提高的作用趋势(P=0.08)。2%与 4%地黄饮子组间无显著差别。地黄饮子各剂量组的雌性和雄性果蝇的最高寿命均较对照组高,2%地黄饮子组雌、雄果蝇均较 4%组高。

2.2 中药地黄饮子对果蝇生存曲线的影响 见图 1 和图 2。

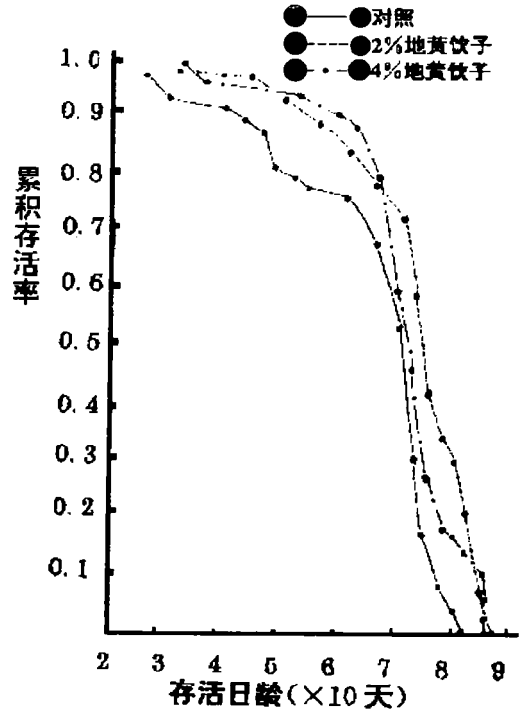


图 1 各组雄性果蝇的生存曲线

由图 1 和图 2 看出,较之于对照组,地黄饮子二个剂量组的雌、雄果蝇的生存曲线均右移。Logrank 检验,雌、雄蝇 χ^2 : 6.76、11.39, P 均<0.001。组间比较:雌、雄蝇地黄饮子高和低剂量组与对照组差异均非常显著(雌蝇 χ^2 : 8.52 和 10.7, 雄蝇 χ^2 : 15.68 和 12.35, P 均<0.01);地黄饮子高、低剂量组组间在雌蝇差异不显著(χ^2 : 3.83, P>0.05),在雄蝇差异显著(χ^2 : 6.43, P<0.05)。

2.3 地黄饮子对果蝇 5%、50%、95%的相对死亡比的影响 表 2。

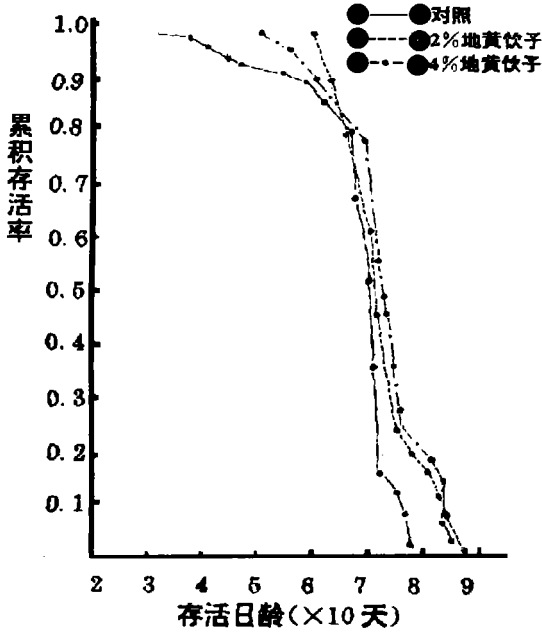


图2 各组雌性果蝇的生存曲线

由表2看出,5%雌雄各组相对死亡比无显著差异,在50%雄性各组相对死亡比中,2%地黄饮子组较对照和4%地黄饮子组的相对死亡比低,且差异显著,在各组95%的相对死亡比中,2%和4%地黄饮子雌、雄各组相对死亡比均较对照组低,差异非常显著,其中雄蝇的2%较4%地黄饮子组的相对死亡比低,差异显著。

表2 不同死亡率各组果蝇相对死亡比(Logrank 检验)

组别	相对死亡比		
	5%	50%	95%
♂对照	1.044	1.066	1.318
2%DHYZ	0.766	0.640**	0.779***
4%DHYZ	1.141	1.247△△△	0.869***△△
♀对照	0.877	1.164	1.317
2%DHYZ	1.208	0.849	0.886***
4%DHYZ	0.961	0.933	0.813***

与对照组比 **P<0.05, ***P<0.01,与2%DHYZ组比 △△P<0.05,△△△P<0.01

3 讨论

以果蝇寿命实验研究生物衰老特性及探讨抗衰老药物效用是衰老研究中最常用的方法。在了解果蝇生存中较常用的特征参数有平均存活天数和最高寿命^[6],或兼用半数死亡时间^[7],但这些特征值并不能完全表现果蝇生存分布状态。首先单一平均存活天数无法显示对应于不同存活率的存活天数的函数趋势;同时生命早期较高的存活率使平均生存天数提高却可能掩盖群体并非长寿的事实,以最后一个死亡的果蝇生存天数作为群体的最高寿命则难免包括很大的偶然性。本研究在绘制雌雄各组果蝇生存曲线的基础上,将连续不同时间点的存活数看成是一个N维存活率向量,然后进行各组生存的差异性检验。为进一步考察各组果蝇早、中、晚各不同年龄段的生存情况,求算各组5%、50%、95%的相对死亡比(即相对应95%、50%、5%的存活比),以能较全面了解中药地黄饮子对果蝇的生存作用。

实验表明,较之对照组,地黄饮子4%的雌、雄蝇和2%的雌蝇不仅平均生存天数显著提高、最高寿命延长,同时其各组生存曲线均显著右移以及95%相对死亡比显著减低。雄蝇2%地黄饮子组的平均生存天数虽未有统计学意义,但其生存曲线明显右移,最高寿命较对照组甚至较4%浓度组高,50%、95%的相对死亡比也显著降低,显然应该认为2%地黄饮子有延长果蝇寿命的作用。由此看来,较之平均存活天数及最高寿命,生存曲线则更能表征群体的生存状况,特别是在平均存活天数与最高寿命不一致时,生存函数以及5%生存率的Logrank检验对合理评断延寿作用会很有意义。

正常对照组果蝇生存曲线因雌雄性别有所不同:雄蝇和雌蝇存活率分别在40日龄和60日龄点开始明显下降;地黄饮子的二个不同剂量对雌雄果蝇的生存曲线的影响主要是使下降前段明显上抬或右移,其次是对75以上日龄段。说明地黄饮子延寿作用包括对生

命早期抗病和后期防衰二方面。有趣的是雌雄果蝇各组生存曲线中的60~75日龄段均显示相似的陡降趋势,这一生存分布特征与各组接近的中位存活天数较为一致。提示实验中的果蝇生命期中的一个重要的死亡控点可能在此区间,该段曲线上抬则有可能延长生物群体的寿命。

相对死亡比为实际死亡数与期望死亡数之比。相对死亡比小,表明死亡率低,生存率高。表2表明,地黄饮子高、低剂量均降低雌、雄果蝇95%的相对死亡比,表明地黄饮子对果蝇生存影响主要是作用接近95%死亡率(即5%生存率)区间,而此区间主要反映的是果蝇老年期,因此认为地黄饮子对老年的抗衰作用更为突出。

从雄蝇各组的不同死亡率区段的相对死亡比以及最高寿命来看,地黄饮子低剂量较高剂量优;而地黄饮子2%和4%二个剂量对雌蝇生存影响的作用则较为接近。试验提示以抗衰益寿为目的长期使用补肾方则可能以小量为宜。已知地黄饮子滋阴补阳而以补阳为重,雌、雄蝇寿命对地黄饮子不同剂量的差异反应是否与性别体质中的阴阳偏颇有关,有待研究证实。

地黄饮子虽是强力补肾方,但传统上根据制方原意多强调其息风功效,临床上本方

主要用于肾虚类风证的治疗。本研究表明地黄饮子有益寿效用。有研究表明中医延年益寿以补肾方药最为多见^[8,9],实验也曾证实以补肾药为主组成的补益方有益寿作用^[10],本研究也发现以补肾为主要功效的地黄饮子确有益寿效用,这为从现代意义上理解中医“肾命相关”的理论提供了有力的实验证据,同时也为探讨地黄饮子临床用于抗衰老的可能性提供了一定的逻辑依据。

参 考 文 献

- [1]戴 慎. 南京中医学院学报 1989;(3):3
- [2]许济群,王绵之. 方剂学. 上海:上海科学技术出版社,1985:169
- [3]王厚德. 老年学杂志 1983;1(2):4
- [4]四川医学院主编. 医学统计学. 北京:人民卫生出版社,1982:21
- [5]冯士雍. 数学的实践与认识 1982;(4):68
- [6]赵晓红等. 老年学杂志 1986;4(2):17
- [7]杨毓瑛等. 中国医院药学杂志 1991;11(9):387
- [8]李 干. 浙江中医杂志 1986;21(2):542
- [9]黄保民. 湖南中医学院学报 1987;7(2):1
- [10]陈可冀等. 中医杂志 1985;26(7):25

(致谢:本文数据由协和医科大学统计教研室韩少梅老师帮助处理)