

# 养阴益肾颗粒对糖皮质激素致肾阴虚证大鼠 HPA 轴的影响

王水华\*, 陈帮明, 刘永芳, 吴兆东, 车卫平, 夏晓勤, 黄红恩  
(九江市中医医院, 江西九江 332000)

**[摘要]** **目的:**观察养阴益肾颗粒(YYP)对糖皮质激素(GC)致肾阴虚证大鼠下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴(HPA轴)的影响。**方法:**将60只Wistar大鼠随机分为正常组,模型组,YYP高、中、低剂量组( $6.48, 3.24, 1.62 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )和六味地黄丸组( $0.39 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ),每组10只。除正常组外,其他各组大鼠予氢化可的松 $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  ip 7 d建立肾阴虚证模型。正常组和模型组大鼠予蒸馏水( $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) ig, YYP高、中、低剂量组和六味地黄丸组大鼠予相应药物 ig,共7 d。观察大鼠活动度、体毛、尾色、摄食量、大便、体重等一般情况的变化,摘取两侧肾上腺,称肾上腺质量及计算肾上腺脏器指数,ELISA法检测血浆促肾上腺皮质激素释放激素(CRH),促肾上腺皮质激素(ACTH)和皮质醇(CORT)浓度,RT-PCR检测下丘脑CRH,垂体ACTH,肾上腺CORT mRNA的表达,并行肾上腺组织形态学检查。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠一般情况较差,体重明显减轻( $P < 0.01$ ),肾上腺质量,肾上腺脏器指数,CRH,ACTH,CORT均明显降低( $P < 0.01$ ),CRH,ACTH,CORT mRNA表达明显下调( $P < 0.01$ ),肾上腺病变重;与模型组比较,YYP高、中、低剂量组和六味地黄丸组大鼠一般情况得到改善,给药后体重增加( $P < 0.01$ ),肾上腺质量,肾上腺脏器指数,CRH,ACTH,CORT升高( $P < 0.05, P < 0.01$ ),CRH,ACTH,CORT mRNA表达明显上调( $P < 0.01$ ),肾上腺病变程度减轻。**结论:**养阴益肾颗粒对GC所致肾阴虚证大鼠HPA轴的抑制状态具有拮抗作用。

**[关键词]** 滋阴补肾;糖皮质激素;肾阴虚证;下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)11-0142-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016110142

## Effects of Yangyin Yishen Particle on HPA Axis in Kidney Yin-deficiency Rat Model Induced by Glucocorticoid

WANG Shui-hua\*, CHEN Bang-ming, LIU Yong-fang, WU Zhao-dong,  
CHE Wei-ping, XIA Xiao-qin, HUANG Hong-en  
(Traditional Chinese Medicine Hospital of Jiujiang, Jiujiang 332000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effects of Yangyin Yishen particle (YYP) on HPA axis in glucocorticoid (GC)-induced kidney Yin-deficiency rats. **Method:** Totally 60 Wistar rats were randomly divided into normal group, model group, YYP high-, medium-, low-dose groups ( $6.48, 3.24, 1.62 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) and Liuwei Dihuang wan group ( $0.39 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ), with 10 rats in each group. Except for the normal group, all of rats in other groups were intraperitoneally injected with  $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  hydrocortisone for 7 consecutive days to establish setted up the kidney Yin-deficiency rat model by intraperitoneal injection of  $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$  hydrocortisone for 7 consecutive days. The normal group and the model group rats were gave given distilled water ( $10 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) by intragastrically, the YYP high-, medium-, low-dose groups and Liuwei Dihuang wan group were gave given the corresponding drugs by gavage for 7 days. The general situations changes of in general situations, such as rats activity, body hair, tail, food intake, stool and weight, were observed. The bilateran adrenal glands were removed. The adrenal glands' weight and weight index were measured. The plasma level of corticotropin releasing hormone (CRH), adre-nocorticotropic hormone (ACTH) and cortiso (CORT) were tested

**[收稿日期]** 20150323(007)

**[基金项目]** 江西省科技厅科技计划项目(20123BBG70268)

**[通讯作者]** \*王水华,主任医师,教授,硕士生导师,从事中西医结合防治肾脏病的研究工作, Tel: 13907027166, E-mail: jzzyysbk@163.com

by enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA) method. The CRH mRNA of hypothalamus, the ACTH mRNA of pituitary gland, and the CORT mRNA of adrenal gland were checked detected by reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). The adrenal histology of adrenal were inspected by hematoxylin-eosin (HE) staining. **Result:** Compared with the normal group, the general condition of the model group were poorer, showing the weight lost significantly ( $P < 0.01$ ), the weight of adrenal gland and adrenal gland index decreased remarkably ( $P < 0.01$ ), the CRH, ACTH and CORT of plasma reduced ( $P < 0.01$ ), the mRNA expressions of CRH, ACTH and CORT were down-regulated ( $P < 0.01$ ), with severe adrenal lesions. Compared with the model group, the general situations and weight of adrenal gland, adrenal gland index, CRH, ACTH and CORT of the YYP high-, medium-, low-dose group and Liuwei Dihuang wan group rised ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), adrenal glands' weight and weight index, the mRNA of CRH, ACTH and CORT were up-regulated ( $P < 0.01$ ), and CRH, ACTH and CORT mRNA expressions were up-regulated remarkably, and the lesions degree of adrenal reduced. **Conclusion:** The Yangyin Yishen particle has the antagonistic effect against the inhibited HPA axis for kidney Yin-deficiency rat induced by GC.

**[Key words]** nourishing kidney Yin; glucocorticoid; kidney yin-deficiency syndrome; hypothalamus-pituitary-adrenal cortex axis

免疫异常是众多肾脏疾病的重要发病机制,免疫调节或免疫抑制是治疗这些肾脏疾病的重要方法。临床已经证实,长期、大剂量使用糖皮质激素(glucocorticoid, GC)易出现腰膝酸软、五心烦热、口燥咽干、潮热盗汗、失眠等肾阴虚或阴虚火旺的症状。超过一定量的血浆 GC 水平通过负反馈抑制下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素(corticotropin releasing hormone, CRH)分泌,进而抑制垂体促肾上腺皮质激素(adrenocorticotrophic hormone, ACTH)分泌,导致机体内肾上腺自身分泌糖皮质激素如皮质醇(cortisol, CORT)的减少,并且长期大剂量 GC 的反馈抑制使下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴(hypothalamus-pituitary-adrenal cortex axis, HPA)发生形态学改变,如下丘脑 CRH 神经元减少,肾上腺皮质细胞凋亡及肾上腺萎缩<sup>[1-2]</sup>。为此,九江市中医医院研制养阴益肾颗粒(YYP)用于使用 GC 后出现肾阴虚或阴虚火旺症状的治疗,临床研究显示该制剂能明显减轻肾阴虚症状、减轻 GC 的毒副作用以及增强药物疗效<sup>[3-5]</sup>。然而 YYP 在改善肾阴虚症状的同时是否对 HPA 轴抑制状态有改善作用尚不清楚,本试验拟观察该制剂对 GC 致肾阴虚证大鼠 HPA 轴的影响。

## 1 材料

**1.1 动物** 雄性健康 Wistar 大鼠 60 只,体重 180 ~ 220 g,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,动物合格证号 SCXK(沪) 2012-0002。上海中医药大学实验动物中心饲养,无特定病原体(SPF)级环境,12 h 光照,环境温度( $22 \pm 2$ ) °C,相对湿度( $50 \pm 5$ )%,自由饮水,进食标准普通饲料,每笼 5 只。动物使用过程符合上海市动物管理委员会条例。

**1.2 药物及试剂** 养阴益肾颗粒(YYP,九江市中医医院制剂室提供,由熟地黄、山药、山茱萸、茯苓、泽泻、牡丹皮、川芎、白芍、杜仲、龟甲组成,12 g/袋,含生药 4 g/12 g,批号 20130415)。六味地黄丸(浓缩丸)(河南省宛西制药股份有限公司生产,每 8 丸相当于饮片 3 g,批号 130242)。实验时以蒸馏水将药物配置成所需浓度。氢化可的松注射液(天津金耀氨基酸有限公司,批号 1303021),CRH,ACTH,CORT 酶酰免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(中国 Elabscience 公司,批号 201307),苏木素-伊红(HE)染色试剂盒(上海源叶生物科技有限公司,批号 201306-A20),总 RNA 提取试剂盒 Trizol(美国 Invitrogen 公司,批号 15596-026),逆转录试剂盒(美国 Thermo 公司,批号 F-415XL),SYBRGreen PCR 试剂盒(美国 Thermo 公司,批号 K1622)。

**1.3 仪器** JA-1003N 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司天平仪器厂),KD-TS3A 型自动组织脱水机,KD-BM 型生物组织冷冻包埋机,KD-P 型摊片机,KD-H 型烘片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司),HM 325 型轮转切片机(德国 Microm International GmbH 公司),CX41-72C02 型光学显微镜(日本 Olympus 公司),80I 型荧光显微镜 + 数码成像系统(日本 Nikon 公司),M5/M5e 型多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司),F6/10 型手握式电动匀浆机(德国 FLUKO 公司),3K 15 型高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司),ABI-7300 型实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)。

## 2 方法

**2.1 分组** 大鼠适应性饲养 1 周,按照随机数字表

法将 60 只大鼠随机分为正常组,模型组,YYP 高、中、低剂量组(6.48,3.24,1.62 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>),六味地黄丸组(0.39 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>),每组 10 只。

**2.2 造模** 采用短期大剂量使用 GC *ip* 制备大鼠肾阴虚证模型<sup>[6]</sup>,即模型组,YYP 高、中、低剂量组和六味地黄丸组大鼠于每日 15:00 ~ 17:00 时予氢化可的松 50 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> *ip*,正常组大鼠每日予 1 mL 生理盐水 *ip*,共 7 d。大鼠给予 GC 后出现躁动不安、皮毛光泽度差、尾色潮红、竖毛、拱背、进食量减少、大便干结、体重减轻等,与文献报道的肾阴虚动物模型表现一致<sup>[7-8]</sup>,证明造模成功。

**2.3 给药** 造模成功后即开始给药,正常组、模型组大鼠予蒸馏水(10 mL·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,*ig*),YYP 高、中、低剂量组予 YYP (6.48,3.24,1.62 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,*ig*),六味地黄丸组予六味地黄丸(0.15 g·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>,*ig*)。每日 1 次,连续 7 d。

**2.4 指标检测**

**2.4.1 一般情况** 观察各组大鼠造模及给药过程中活动度、体毛、尾色、饮水量、大便、体重的变化。

**2.4.2 肾上腺质量和脏器指数** 取出大鼠双侧肾上腺,剥离周围脂肪组织,用滤纸吸去液体,电子天平分别称重。肾上腺质量取两侧肾上腺质量的平均数。肾上腺脏器指数为肾上腺质量/(体重×100)。

**2.4.3 血浆 CRH,ACTH,CORT 测定** 大鼠处死前 12 h 禁食不禁水。称重,2%戊巴比妥 30 mg·kg<sup>-1</sup> *ip* 麻醉,于 08:00 ~ 09:00 期间腹主动脉取血 2 mL,EDTA 抗凝,立即 3 000 r·min<sup>-1</sup> 离心 15 min 后,分离血浆,-20 ℃ 保存待测。采用 ELISA 法检测,步骤为:对照品稀释,加样,温育,配置洗涤液,洗涤酶标板,加酶标试剂,温育,洗涤,加显色剂 A,B,避光显色,加终止液,正常孔调零,450 nm 波长测量各孔吸收度 A,根据 A 值描绘出标准曲线,计算出每个样品的浓度。

**2.4.4 下丘脑 CRH,垂体 ACTH,肾上腺 CORT mRNA 表达测定** 取下丘脑、垂体、左侧肾上腺,置于液氮中保存。采用实时荧光定量 PCR 检测。用

Trizol 提取总 RNA,逆转录试剂盒逆转录 cDNA,具体步骤按试剂盒说明书进行。CRH,ACTH,CORT 引物设计参照有关文献,经基因库核实,由上海基尔顿生物科技有限公司合成。CRH 引物为上游 5'-CCGCAGCCGTTGAATTC-3';下游 5'-AGATATCGCTATAAAGACACT-3',721 bp。ACTH 引物为上游 5'-GGGCAAGCGCTCCTACTCC-3';下游 5'-GGGGCGTCTGGCTCTTCTC-3',300 bp。CORT 引物为上游 5'-CTTCTGACTTTCCTTGCCCTG-3';下游 5'-GTCTTTCC TGCCGCTTAG-3',103 bp。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)引物为上游 5'-GGCAAGTTCAATGGCACAGT-3';下游 5'-AAGGTGGAGGAATGGGAGTT-3',725 bp。总反应体系为 20 μL。扩增条件:95 ℃ 预变性 10 min,95 ℃ 变性 15 s,60 ℃ 退火 45 s,40 个循环。溶解曲线:95 ℃ 15 s→60 ℃ 1 min→95 ℃ 15 s→60 ℃ 15 s。采用仪器自带软件 ABI Prism 7300 SDS Software 分析 CRH,ACTH,CORT mRNA 相对表达量。

**2.4.5 肾上腺组织形态学** 将右侧肾上腺置于 10% 福尔马林中固定。石蜡组织常规脱水、透明,4 μm 石蜡切片行 HE 染色,光学显微镜下观察。

**2.5 统计学分析** 采用 SPSS 16.0 软件处理,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**3 结果**

**3.1 一般情况观察** YYP 低剂量组、六味地黄丸组在造模过程中各死亡大鼠 1 只。除正常组外,其余各组大鼠自注射氢化可的松 2 d 后出现躁动不安、皮毛色泽渐差、尾色潮红、竖毛、拱背、进食量减少、体重减轻、大便干结,YYP 高、中、低剂量组和六味地黄丸组大鼠给药后上述表现逐渐改善。造模前各组大鼠体重比较无统计学意义;与正常组比较,模型组大鼠成模后体重明显减轻( $P < 0.01$ );与模型组比较,给药后 YYP 高、中、低剂量组和六味地黄丸组大鼠体重显著增加( $P < 0.01$ )。见表 1。

表 1 YYP 对 GC 致肾阴虚证大鼠体重的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effect of YYP on weight in GC induced kidney Yin-deficiency rat ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	造模前	造模后	给药后
正常	10	-	266.40 ± 11.87	300.80 ± 12.72	303.50 ± 14.66
模型	10	-	259.67 ± 12.88	245.83 ± 5.38 <sup>1)</sup>	232.43 ± 15.23 <sup>1)</sup>
YYP	10	6.48	254.43 ± 13.64	246.62 ± 7.73	253.18 ± 10.64 <sup>3)</sup>
	9	3.24	251.44 ± 14.90	246.89 ± 9.74	259.70 ± 9.91 <sup>3)</sup>
	10	1.62	253.11 ± 12.83	245.32 ± 8.56	249.43 ± 9.32 <sup>3)</sup>
六味地黄丸	9	0.39	258.33 ± 13.97	244.78 ± 5.54	251.06 ± 6.66 <sup>3)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup> $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup> $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

**3.2 各组大鼠肾上腺质量及脏器指数的比较** 与正常组比较,模型组大鼠肾上腺质量和脏器指数均明显降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,YYP 高、中、低剂量组和六味地黄丸组肾上腺质量显著增加( $P < 0.01$ ),YYP 高剂量组和六味地黄丸组肾上腺脏器指数升高( $P < 0.05$ ),中剂量组显著升高( $P < 0.01$ )。见表 2。

**3.3 各组大鼠血浆 CRH,ACTH,CORT 的比较** 与正常组比较,模型组大鼠 CRH,ACTH,CORT 均显著降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,YYP 高、中、低剂量组和六味地黄丸组大鼠 CRH,ACTH,CORT 均显著升高( $P < 0.01$ )。见表 3。

**3.4 各组大鼠下丘脑 CRH,垂体 ACTH,肾上腺 CORT mRNA 表达的比较** 与正常组比较,模型组大鼠下丘脑 CRH,垂体 ACTH,肾上腺 CORT mRNA 表达均显著降低( $P < 0.01$ );与模型组比较,YYP

高、中、低剂量组和六味地黄丸组大鼠下丘脑 CRH,垂体 ACTH,肾上腺 CORT mRNA 表达均显著升高( $P < 0.01$ )。见表 4。

表 2 YYP 对 GC 致肾阴虚证大鼠肾上腺质量及脏器指数的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Effect of YYP on adrenal gland weight and weight index in GC induced kidney Yin-deficiency rat ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	肾上腺质量 /mg	肾上腺脏器指数 / × 10 <sup>-2</sup> mg·g <sup>-1</sup>
正常	10	-	18.30 ± 0.76	6.15 ± 0.53
模型	10	-	11.25 ± 0.94 <sup>1)</sup>	4.87 ± 0.59 <sup>1)</sup>
YYP	10	6.48	12.86 ± 0.69 <sup>3)</sup>	5.33 ± 0.25 <sup>2)</sup>
	9	3.24	14.89 ± 0.74 <sup>3)</sup>	5.96 ± 0.27 <sup>3)</sup>
	10	1.62	12.42 ± 0.65 <sup>3)</sup>	5.10 ± 0.21
六味地黄丸	9	0.39	13.98 ± 0.87 <sup>3)</sup>	5.49 ± 0.28 <sup>2)</sup>

表 3 YYP 对 GC 致肾阴虚证大鼠血浆 CRH,ACTH,CORT 的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effect of YYP on plasma level of CRH, ACTH, CORT in GC induced kidney Yin-deficiency rat ( $\bar{x} \pm s$ ) μg·L<sup>-1</sup>

组别	n	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	CRH	ACTH	CORT
正常	10	-	45.32 ± 5.43	100.26 ± 5.82	165.05 ± 21.23
模型	10	-	23.65 ± 6.37 <sup>1)</sup>	68.53 ± 5.26 <sup>1)</sup>	87.78 ± 16.94 <sup>1)</sup>
YYP	10	6.48	35.55 ± 4.60 <sup>3)</sup>	81.02 ± 5.01 <sup>3)</sup>	125.85 ± 15.64 <sup>3)</sup>
	9	3.24	41.58 ± 4.73 <sup>3)</sup>	87.87 ± 7.41 <sup>3)</sup>	142.92 ± 18.34 <sup>3)</sup>
	10	1.62	31.46 ± 5.23 <sup>3)</sup>	76.44 ± 6.65 <sup>3)</sup>	116.43 ± 16.79 <sup>3)</sup>
六味地黄丸	9	0.39	36.13 ± 5.67 <sup>3)</sup>	80.11 ± 5.73 <sup>3)</sup>	120.07 ± 17.56 <sup>3)</sup>

表 4 YYP 对 GC 致肾阴虚证大鼠 CRH,ACTH,CORT mRNA 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Effect of YYP on CRH,ACTH,CORT mRNA expression in GC induced kidney Yin-deficiency rat ( $\bar{x} \pm s$ )

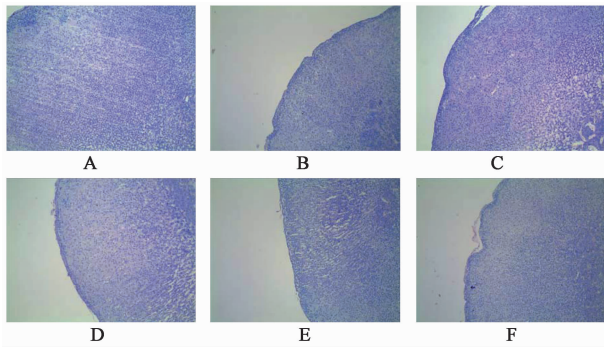
组别	n	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	CRH	ACTH	CORT
正常	10	-	0.39 ± 0.01	0.54 ± 0.01	0.90 ± 0.04
模型	10	-	0.10 ± 0.01 <sup>1)</sup>	0.30 ± 0.02 <sup>1)</sup>	0.55 ± 0.03 <sup>1)</sup>
YYP	10	6.48	0.28 ± 0.01 <sup>3)</sup>	0.42 ± 0.01 <sup>3)</sup>	0.78 ± 0.02 <sup>3)</sup>
	9	3.24	0.33 ± 0.01 <sup>3)</sup>	0.49 ± 0.02 <sup>3)</sup>	0.85 ± 0.02 <sup>3)</sup>
	10	1.62	0.20 ± 0.01 <sup>3)</sup>	0.40 ± 0.014 <sup>3)</sup>	0.70 ± 0.03 <sup>3)</sup>
六味地黄丸	9	0.39	0.29 ± 0.01 <sup>3)</sup>	0.42 ± 0.01 <sup>3)</sup>	0.77 ± 0.03 <sup>3)</sup>

**3.5 各组大鼠肾上腺组织形态学观察** 正常组大鼠肾上腺皮质球状带、束状带、网状带结构清楚,细胞核核膜光滑,核仁可见,类脂质空泡较多。模型组大鼠肾上腺皮质变薄,皮质各层变窄,部分细胞产生退行性变,表现为核染色深,核膜出现褶皱,核仁不明显甚至核固缩,类脂质空泡变小、变少。YYP 高、中、低剂量组大鼠肾上腺皮质各层较模型组增厚,以中剂量组增厚最明显,退行性变细胞明显减

少,细胞核核膜清晰,核仁可见,核固缩少见,胞体大小基本正常,类脂质空泡较多。六味地黄丸组大鼠肾上腺皮质各层较模型组增厚,退行性变细胞较模型组减少,少量细胞有核染色深,核固缩,类脂质空泡偶见。见图 1,2。

#### 4 讨论

糖皮质激素作为临床广泛应用的药物,具有抗炎、抗过敏、抗休克和免疫抑制作用,但同时又有许



A. 正常组; B. 模型组; C.  $YYP 6.48 g \cdot kg^{-1}$  组; D.  $YYP 3.24 g \cdot kg^{-1}$  组; E.  $YYP 1.62 g \cdot kg^{-1}$  组; F. 六味地黄丸  $0.39 g \cdot kg^{-1}$  组(图 2 同)

图 1  $YYP$  对 GC 致肾阴虚证大鼠肾上腺皮质厚度的影响 (HE,  $\times 100$ )

Fig.1 Effect of  $YYP$  on adrenal cortical thickness in GC induced kidney Yin-deficiency rat (HE,  $\times 100$ )

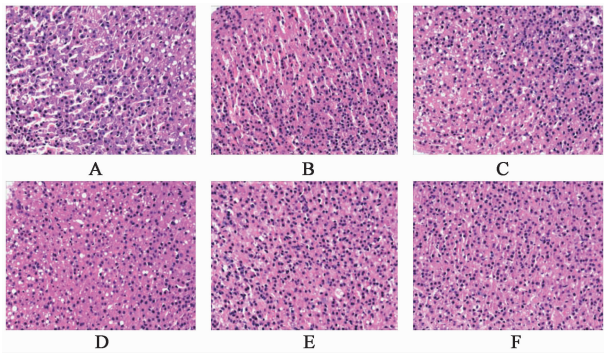


图 2  $YYP$  对 GC 致肾阴虚证大鼠肾上腺组织形态学的影响 (HE,  $\times 400$ )

Fig.2 Effect of  $YYP$  on adrenal histomorphology in GC induced kidney Yin-deficiency rat (HE,  $\times 400$ )

多副作用。从中医学角度来讲,生理剂量下的糖皮质激素具有“少火生气”之意,在大剂量激素使用的情况下,此“纯阳”之药易“阳胜耗阴”,影响阴精内敛、不能发挥其滋养作用而造成肾阴亏虚或阴虚火旺,出现亢奋、焦躁不安,潮热、盗汗等类肾上腺皮质功能亢进症状。医源性皮质醇增多症在早期出现向心性肥胖、多血质外貌、高血压等症状,此与阴虚火旺的病机相符合。长期大剂量应用糖皮质激素可使肾上腺皮质功能减退,甚至腺体萎缩。因此,在长期、大剂量使用 GC 时配予适当药物减轻外源性 GC 导致的阴液亏损以及拮抗 GC 对 HPA 轴的抑制能够减轻 GC 的毒副作用。

本实验通过在短时间内给予大鼠大剂量氢化可的松,复制出外源性 GC 致肾阴虚的实验动物模型。结果显示,给予氢化可的松注射 2 d 后大鼠即开始逐渐出现躁动不安、皮毛色泽渐差、尾色潮红、竖毛、拱背、进食量减少、体重减轻、大便干结等,此与人的

阴虚症状基本吻合,说明模型成功建立。模型组 HPA 轴功能处于抑制状态,给予养阴益肾颗粒后其抑制状态得到改善,血浆 CRH, ACTH, CORT 水平上升且其组织基因表达上调,肾上腺组织病理改变减轻,以养阴益肾颗粒中剂量组疗效最显著,且优于六味地黄丸组,此与国内其他滋阴药干预 GC 致肾阴虚证大鼠 HPA 轴研究结果基本一致。史正刚等<sup>[9]</sup>研究显示知柏地黄丸能显著提高糖皮质激素性肾阴虚幼龄大鼠血浆 CRH, ACTH, CORT 及肾上腺脏器指数,可有效拮抗外源性 GC 对 HPA 轴的抑制作用;李思迪等<sup>[10]</sup>应用醋酸可的松复制的肾阴虚模型 HPA 轴功能下降,六味地黄丸能提高大鼠 ACTH, CORT 水平;段晓红等<sup>[11]</sup>研究显示糖皮质激素肾阴虚模型大鼠体重降低、肾上腺质量降低,滋肾阴方能显著提高大鼠体重、肾上腺质量。黎林森等<sup>[12]</sup>研究表明六味地黄丸对长期使用 GC 引起的肾上腺和胸腺功能减退甚至腺体萎缩有预防作用,具有一定的兴奋 HPA 系统的作用。六味地黄丸能兴奋肾上腺皮质功能,明显降低大鼠肾上腺维生素 C 含量,进而对抗 GC 引起的肾上腺皮质功能减退<sup>[13]</sup>;其血中移行成分对氢化可的松致肾阴虚动物模型具有保护作用,能保持体重、改善肾上腺脏器指数等<sup>[14]</sup>。

养阴益肾颗粒是九江市中医医院在六味地黄丸基础上加白芍、杜仲、龟甲、川芎研制而成,临床用于使用糖皮质激素时减轻肾阴虚的症状。纵观方中用药,熟地黄滋阴补肾,山茱萸补养肝肾,山药补益脾阴,泽泻利湿泄浊,丹皮清泄相火,茯苓淡渗脾湿,白芍敛阴止汗,龟甲滋阴补肾,杜仲补肝肾,川芎活血行气,全方共奏滋阴补肾的功效。据现代研究显示,白芍具有调节 HPA 轴功能并增加 GC 分泌水平的作用<sup>[15]</sup>;杜仲具有促进人体内 17-羟皮质类固醇的分泌,兴奋垂体-肾上腺皮质系统、增强肾上腺皮质功能的作用<sup>[16]</sup>;龟甲水提液能抑制甲亢型肾阴虚模型小鼠体重减轻,提高自主活动,抑制甲状腺、胸腺、脾脏和肾上腺的萎缩<sup>[17]</sup>;川芎活血行气,以防滋补药过于粘腻。

[致谢]此实验在上海中医药大学肾病研究所完成,得到了何立群教授、黄迪副主任研究员的指导与支持,特表示感谢!

[参考文献]

[1] Kozyra E F, Wax R S, Burry L D. Can 1 microg of cosyntropin be used to evaluate adrenal insufficiency in critically ill patients? [J]. Ann Pharmacother, 2005, 39(4):691-698.

- [ 2 ] Siraux V, De Backer D, Yalavatti G, et al. Relative adrenal insufficiency in patients with septic shock: comparison of low-dose and conventional corticotropin tests[J]. Crit Care Med, 2005, 33(11):2479-2486.
- [ 3 ] 邓滔,吴兆东.养阴益肾颗粒联合地塞米松、氮芥、降纤酶治疗难治性肾病综合征 30 例[J].实用中医内科杂志,2011,25(12):57-59.
- [ 4 ] 黄霞云,于萍,王水华,等.养阴益肾颗粒联合西药治疗成人紫癜性肾炎 52 例[J].江西中医药,2006,37(284):45-46.
- [ 5 ] 邓宏韬,吴伟,王国斌,等.养阴益肾颗粒联合地塞米松、氮芥、降纤酶治疗不同病理类型狼疮性肾炎分析[J].江西中医药,2012,43(349):30-32.
- [ 6 ] 梁汝圣,徐宗佩.大鼠肾阴阳虚模型建立方法[J].吉林中医药,2008,28(9):685-687.
- [ 7 ] 孙敬方.动物实验方法学[M].北京:人民卫生出版社,2002:490.
- [ 8 ] 陈主初.实验动物学[M].长沙:湖南科技出版社,2001:163.
- [ 9 ] 史正刚,潘墨墨,张士卿.知柏地黄丸对肾上腺皮质激素型肾阴虚幼龄大鼠血浆 CORT、ACTH、CRH 及肾上腺脏器指数和组织学结构的影响[J].中国中医基础医学杂志,2006,12(3):167-171.
- [ 10 ] 李思迪,蒋宁,周文霞,等.六味地黄汤对肾阴虚小鼠 HPA 轴和 HPG 轴的调节作用研究[J].中国药理学通报,2009,25(增刊):293-296.
- [ 11 ] 段晓红,黄建华,孙伟,等.糖皮质激素肾阴虚模型相应激素受体的表达及滋肾阴方的干预研究[J].中华中医药学刊,2012,30(9):2116-2119.
- [ 12 ] 黎林森,邵文森.六味地黄丸防治医源性柯兴氏综合征[J].实用中西医结合杂志,1995,8(9):525-527.
- [ 13 ] 陈敏,宋琪雯,张力.六味地黄丸(汤)药理研究进展[J].中国新医药,2004,3(1):48-50.
- [ 14 ] 王喜军,张宁,孙晖,等.六味地黄丸血中移行成分对氢化可的松致大鼠肾虚动物模型的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2008,14(2):33-37.
- [ 15 ] 易剑峰,汤响林.芍药苷对胶原诱导型关节炎大鼠下丘脑-垂体-肾上腺轴的影响[J].中国药理学与毒理学杂志,2013,27(4):668-672.
- [ 16 ] 徐诗论.杜仲对垂体-肾上腺皮质功能的影响[J].中草药,1982,13(6):24-27.
- [ 17 ] 顾迎寒,卢先明,蒋桂华,等.不同品种龟甲滋阴作用的对比研究[J].时珍国医国药,2007,18(6):1417-1418.

[责任编辑 周冰冰]