

# 六味地黄汤治疗慢性肾小球肾炎的实验研究

沈 欣, 宗桂珍, 李德凤, 何 伟

(中国中医研究院中药研究所, 北京 100700)

**摘要:** 采用大鼠肾毒血清肾炎和被动 Heymann 肾炎模型, 以六味地黄汤 2、1、0.5g(生药)/kg 连续灌胃给予大鼠 20d, 观察药物对动物多项生化指标、病理学改变及免疫荧光的影响, 发现六味地黄汤对以上两模型大鼠有明显的治疗作用, 各项指标得到了明显改善。

**关键词:** 六味地黄汤; 肾毒血清肾炎; 被动 Heymann 肾炎

**中图分类号:** R285.5    **文献标识码:** B    **文章编号:** 1005-9903(2004)06-0058-03

六味地黄汤是使用历史悠久、应用范围广泛的一传统方药, 具有多种药理活性作用和明显的临床疗效, 其中对慢性肾病的治疗屡见报道<sup>[1]</sup>, 本文采用大鼠肾毒血清肾炎和被动 Heymann 肾炎病理模型, 对于六味地黄汤治疗肾炎的药效进行了探讨。

## 1 材料

**1.1 药物** 六味地黄汤提取物, 棕色粉末, 由中国中医研究院中药研究所化学室提供, 批号: 030220, 阳性对照药环磷酰胺, 由山西泰盛制药有限公司生产, 批号 020506。

**1.2 动物** SD 大鼠, 雄性, 体重 160~180g(另取雄性大鼠, 体重 200±30g, 用于制备血清) 由北京医科大学动物中心提供, 合格证号: 医动字第 01-3054; 新西兰兔, 雄性, 2kg 左右, 解放军 301 医院动物室提供, 合格证号: 军医动字第 B-98014。

**1.3 试剂** 卡介苗原浆, 生物制品所提供, 批号: 20030404; 福氏完全佐剂, FITC 标记羊抗鼠 IgG 荧光抗体, 考马斯亮兰 G-250, 均由 SIGMA 公司提供; FITC 标记羊抗鼠 C3 补体, Cappel 公司, 批号: 01800。

**1.4 仪器** 723 分光光度计, 上海第三仪器厂; ZS-3 型半自动生化分析仪, 北京中生生物工程高技术公司; 台式高速冷冻离心机, 索福 ST21; 尼康光学显微镜; Olympus BH-2 自动显微照像系统; Olympus BH 表面荧光显微镜; Sony DXC-390P 医用彩色 CCD, Image-Pro Plus 软件。

## 2 实验方法

**2.1 六味地黄汤对大鼠 IgG 加速型肾毒血清肾炎的作用观察** 肾毒血清(兔抗大鼠基底膜抗体)的制

备按文献方法复制<sup>[2]</sup>。除空白组 10 只不作处理外, 其余大鼠全部造模。每只造模大鼠尾静脉注射肾毒血清 1mL, 第 2 日足掌皮下注射兔 IgG 6mg(与福氏完全佐剂充分混匀), 注射肾毒血清后 3 周(剔除尿蛋白低于 60mg/24h 的动物)开始试验。

**分组与观测:** 在正式免疫 3 周后, 按 24h 尿蛋白总量均匀分为 6 组, 开始给药, 每日 1 次, 连续 20d。设六味地黄汤 0.5、1.0、2.0g(生药)/kg 灌胃给药; 环磷酰胺(CY) 8mg/kg 腹腔注射为阳性对照; 模型组、空白对照组灌服蒸馏水。观测给药前、给药后 20d 24h 尿蛋白总量以及给药后 20d 时血浆白蛋白、总胆固醇、尿素氮和肌酐含量。

**2.2 六味地黄汤对大鼠被动 Heymann 肾炎的作用观察** 兔抗大鼠 FXIA 血清制备方法参照文献<sup>[3]</sup>。除空白组 10 只外, 其余大鼠足掌皮下注射兔 IgG 6mg/只, 第 2 日尾静脉注射兔抗大鼠 FXIA 血清 1.8mL/只, 待大部分动物尿蛋白量升高后, 按尿蛋白量/24h(<60mg/24h 者剔除)均匀分组给药。

**分组:** 在正式免疫 3 周后, 均匀分为 6 组, 每组 12 只, 开始给药, 每日 1 次, 连续 20d。设六味地黄汤 0.5、1.0、2.0g(生药)/kg 灌胃给药; 环磷酰胺(CY) 8mg/kg 腹腔注射为阳性对照; 模型组、空白对照组以蒸馏水灌胃。观测给药前、给药 20d 尿蛋白总量/24h 以及给药后 20d 时血浆白蛋白、总胆固醇、尿素氮和肌酐含量。给药 20d 后处死全部大鼠取肾, 作形态学观察。一侧肾作常规病理检查(HE, PAS 和 Masson 三色染色), 光镜下观察肾小球增大、系膜细胞数增多、基底膜增厚等肾脏病变程度。连续观察 3 个视野(16×16 倍), 计算每视野中最大切面肾小球的直径(以目镜测微尺小格数为单位), 以计分法计算连

续 3 个视野(10×20 倍)中病变最重肾小球基底膜增厚程度总和以及曲管和间质病变;另一侧肾冰冻切片后,用 FITC 标记羊抗鼠 IgG 及 C<sub>3</sub> 补体作直接荧光染色,用 Sony DXC-390P 医用摄像 CCD 和 Image-Pro Plus 软件摄取显微图象,用软件测定肾小球的荧光强度(灰度值)。

### 3 实验结果

**3.1 六味地黄汤对大鼠 IgG 加速型肾毒血清肾炎的作用** 从表 1~2 结果可见,3 周时造型各组 24h 尿蛋白总量均值为 190mg 左右,模型成立。给药 20d 后,六味地黄汤 2.0、1.0g(生药)/kg 组 24h 尿蛋白明显降低,血浆白蛋白、肌酐测定值亦较模型组有明显改善,六味地黄汤 2.0g(生药)/kg 组血浆总胆固醇较模型组有明显改善,六味地黄汤 0.5g(生药)/kg 组各参数变化幅度较少。

表 1 六味地黄汤对大鼠 24h 尿蛋白量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g/kg)	尿蛋白(mg/24h)	
		给药前	给药 20d
空白		9.0 ± 3.6(10) <sup>2)</sup>	11.3 ± 4.4(10) <sup>2)</sup>
模型		187.24 ± 79.4(13)	169.4 ± 52.7(11)
环磷酰胺	0.008	192.30 ± 105.2(13)	98.8 ± 60.1(11) <sup>1)</sup>
六味地黄汤	2	189.40 ± 109.1(13)	120.3 ± 45.2(13) <sup>1)</sup>
六味地黄汤	1	190.80 ± 111.4(13)	131.4 ± 34.4(13) <sup>1)</sup>
六味地黄汤	0.5	193.50 ± 99.6(13)	145.0 ± 68.3(13)

注:与模型组比<sup>1)</sup> P < 0.05, <sup>2)</sup> P < 0.01, (下同), ( ) 内数字为动物数。

表 2 给药 20d 六味地黄汤对大鼠各项生化指标的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g/kg)	白蛋白 (g)	尿素氮 (mmol/L)	总胆固醇 (mmol/L)	肌酐 (μmol/L)
空白		48.5 ± 2.1 <sup>2)</sup>	5.7 ± 0.9 <sup>1)</sup>	1.7 ± 0.8 <sup>2)</sup>	86.4 ± 13.5 <sup>2)</sup>
模型		30.1 ± 3.2	7.6 ± 1.2	4.8 ± 1.8	162.9 ± 21.3
环磷酰胺	0.008	40.4 ± 3.9 <sup>1)</sup>	6.5 ± 1.7 <sup>1)</sup>	3.2 ± 1.4 <sup>1)</sup>	114.2 ± 17.4 <sup>1)</sup>
六味地黄汤	2	37.5 ± 3.4 <sup>1)</sup>	6.9 ± 2.6	3.6 ± 1.9 <sup>1)</sup>	128.0 ± 18.9 <sup>1)</sup>
六味地黄汤	1	36.3 ± 3.5 <sup>1)</sup>	7.2 ± 1.8	3.8 ± 2.1	138.2 ± 13.8 <sup>1)</sup>
六味地黄汤	0.5	34.1 ± 4.2	7.4 ± 2.1	4.2 ± 1.7	145.1 ± 23.7

**3.2 六味地黄汤对大鼠被动 Heymann 肾炎的作用结果** 从表 3~4 结果可见,3 周时造型各组 24h 尿蛋白总量均值为 220mg 左右,模型成立。给药 20d 后,六味地黄汤 2.0、1.0(生药)g/kg 组 24h 尿蛋白明显降低,血浆肌酐、尿素氮和总胆固醇测定值亦较模型组有明显改善,六味地黄汤 2.0g(生药)/kg 组白蛋白较模型组有明显改善,六味地黄汤 0.5g(生药)/kg 组各参数变化幅度较少。表 5 结果显示,六味地黄

汤各剂量组的肾脏病变包括肾小球增大、基底膜增厚、间质及曲管病变均有不同程度的减轻。表 6 镜下检查显示,模型组动物肾小球内 IgG、C<sub>3</sub> 补体沉积呈弥漫性粗颗粒状,部分连接成线条状;空白对照组无荧光沉积;六味地黄汤 2.0、1.0g(生药)/kg 组 IgG、C<sub>3</sub> 补体沉积颗粒较细小,0.5g(生药)/kg 组改善不明显,其结果和图像灰度值统计结果一致。

表 3 六味地黄汤对大鼠 24h 尿蛋白量的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g/kg)	尿蛋白(mg/24h)	
		给药前	给药 20d
空白		10.7 ± 2.8(10) <sup>2)</sup>	12.7 ± 3.9(10) <sup>2)</sup>
模型		220.4 ± 196.2(12)	201.5 ± 123.6(10)
环磷酰胺	0.008	228.1 ± 184.6(12)	93.0 ± 97.3(10) <sup>1)</sup>
六味地黄汤	2	230.8 ± 175.5(12)	118.7 ± 102.5(12) <sup>1)</sup>
六味地黄汤	1	223.0 ± 158.9(12)	142.8 ± 89.7(12) <sup>1)</sup>
六味地黄汤	0.5	226.4 ± 160.8(12)	150.4 ± 160.8(12)

表 4 给药 20d 六味地黄汤对大鼠各项生化指标的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g/kg)	白蛋白 (g)	尿素氮 (mmol/L)	总胆固醇 (mmol/L)	肌酐 (μmol/L)
空白		39.5 ± 3.0 <sup>2)</sup>	6.8 ± 1.1 <sup>1)</sup>	2.1 ± 1.6 <sup>2)</sup>	132.8 ± 14.1 <sup>2)</sup>
模型		29.8 ± 2.8	9.5 ± 1.2	7.5 ± 1.7	252.7 ± 22.3
环磷酰胺	0.008	37.6 ± 3.2 <sup>1)</sup>	7.4 ± 1.5 <sup>1)</sup>	4.4 ± 2.3 <sup>1)</sup>	168.2 ± 15.2 <sup>1)</sup>
六味地黄汤	2	36.8 ± 2.7 <sup>1)</sup>	7.7 ± 2.7 <sup>1)</sup>	5.3 ± 1.8 <sup>1)</sup>	180.9 ± 24.8 <sup>1)</sup>
六味地黄汤	1	35.4 ± 4.2	7.8 ± 1.4 <sup>1)</sup>	5.7 ± 1.1 <sup>1)</sup>	190.4 ± 20.6 <sup>1)</sup>
六味地黄汤	0.5	32.3 ± 3.9	8.2 ± 2.3	6.4 ± 2.5	215.8 ± 35.1

表 5 六味地黄汤对大鼠 Heymann 肾炎肾小球组织

病理改变的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g/kg)	肾小球 直径	肾小球 基底膜增厚	曲管间 质病变
空白		16.5 ± 0.9 <sup>2)</sup>	0 <sup>2)</sup>	0 <sup>2)</sup>
模型		25.8 ± 1.5	6.7 ± 0.9	1.9 ± 0.8
环磷酰胺	0.008	20.4 ± 1.2 <sup>1)</sup>	2.5 ± 1.2 <sup>1)</sup>	0.7 ± 0.6 <sup>2)</sup>
六味地黄汤	2	22.7 ± 1.3 <sup>2)</sup>	3.3 ± 1.5 <sup>2)</sup>	0.9 ± 1.1 <sup>2)</sup>
六味地黄汤	1	23.6 ± 0.9 <sup>1)</sup>	3.8 ± 1.2 <sup>2)</sup>	1.1 ± 1.5 <sup>2)</sup>
六味地黄汤	0.5	25.9 ± 1.9	4.3 ± 1.6 <sup>2)</sup>	1.4 ± 1.4

注:肾小球直径、基底膜增厚和曲管间质病变的度量见材料与方

表 6 六味地黄汤对大鼠 C<sub>3</sub> 补体 IgG 免疫荧光灰度的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量 (g/kg)	图像灰度值	
		C <sub>3</sub> 补体	IgG
空白		62.3 ± 8.1 <sup>2)</sup>	44.2 ± 6.6 <sup>2)</sup>
模型		162.1 ± 24.6	133.1 ± 18.5
环磷酰胺	0.008	94.7 ± 18.4 <sup>1)</sup>	82.2 ± 16.1 <sup>2)</sup>
六味地黄汤	2	102.8 ± 14.6 <sup>2)</sup>	90.5 ± 15.9 <sup>2)</sup>
六味地黄汤	1	110.5 ± 20.3 <sup>1)</sup>	93.8 ± 13.7 <sup>1)</sup>
六味地黄汤	0.5	138.2 ± 27.2	108.4 ± 19.1

## 4 讨论

六味地黄汤出自宋代《小儿药证直诀》，以熟地等六味中药组方，全方三补三泻，滋补肝肾、益脾清火，滋补而不留邪，降浊而不伤正，被应用于多病症的治疗<sup>[4]</sup>。近年来它对慢性肾炎治疗的有效性引起了关注<sup>[5]</sup>，其补肾固精、养阴清利的功效和慢性肾炎本虚标实的病机特征相一致，药理学实验也证明它具有明显的免疫调节功能和改善肾功能的活性，我们在此基础上用两种肾炎模型进行了实验探讨。结果表明，以六味地黄汤给药 20d，对大鼠肾毒血清肾炎模型和被动 Heymann 肾炎模型有明显的治疗作用，表现在明显升高白蛋白、降低尿蛋白、血浆尿素氮、胆固醇和肌酐，肾组织的病损也有明显改善，亦可明显减少 IgG 和 C3 补体在肾小球的沉积。以上结果对临床治疗慢性肾炎以及探讨治疗机理提供了一定的药理学实验依据。

## 参考文献:

- [1] 熊初利,周更瑞,曾日古. 六味地黄汤治疗肾病综合征 68 例[J]. 湖南中医导报, 1996, 2(4): 49.
- [2] Mikio I, Hisaharu Y, Kyoko O, et al. Crescentic type nephritis induced by anti glomerular basement membrane (GBM) serum in rats, Japan [J]. J. Pharmacol. 1983, 33: 1145-1154.
- [3] Mikio I, Yasunori A, Akihiko S, et al. Accelerated passive Heymann nephritis in rats as an experimental model for membranous glomerulonephritis and effects of azathioprine and prednisolone on the nephritis, Japan [J]. J. Pharmacol. 1989, 49: 101-110.
- [4] 聂伟, 张永祥. 六味地黄汤的现代研究进展[J]. 中药药理与临床, 1998, 14(5): 41.
- [5] 李帆. 六味地黄汤合雷公藤治疗 IgA 肾炎[J]. 山东中医杂志, 2001, 20(11): 676.