

• 综述 •

# 肾阳虚动物模型的研究概况

吴启端<sup>1</sup>, 熊带水<sup>2</sup>, 梁文能<sup>1</sup>

(1 广州中医药大学第一临床医学院, 广州 510405; 2 广东省中医研究所, 广州 510095)

**摘要:**总结了常用的肾阳虚动物模型的造模方法, 介绍各类动物模型的症状表现、病理表现及各种生化指标、分子生物学方面的改变, 为研究补肾助阳方药提供参考。

**关键词:**肾阳虚证; 动物模型; 补肾助阳

**中图分类号:** R285.5      **文献标识码:** B      **文章编号:** 1005-9903(2001)06-0054-03

随着中医药研究的深入, 模拟中医临床的某些证候制造各种动物病理模型, 已经是研究工作中不可缺少的一个重要环节。肾阳虚动物模型是肾阳虚证补益方药作用机理研究的工具。自60年代初, 邝安堃教授首次建立了“氢化考的松阳虚”动物模型以来, 各种“阳虚”动物模型的建立以及应用各种“阳虚”模型研究补肾助阳方药药效的研究纷见报刊杂志, 现将其综述如下。

## 1 “氢化考的松阳虚”模型<sup>[1]</sup>

用一定量的外源性糖皮质激素(氢化考的松)使垂体前叶的ACTH释放抑制, 转而使肾上腺皮质分泌类固醇激素的释放减少, 动物出现一系列的“耗竭”现象, 即拱背、蜷曲、游泳存活时间缩短(腰膝酸软)、肢尾冷、挤卧在一起, 肛温降低, 耐寒时间缩短(畏寒肢冷), 雄性动物阴茎勃起潜伏时间延长(性功能低下), 神淡, 反应迟钝, 自发活动时间降低(精神不振), 呼吸深迟(气短而喘), 被毛疏松, 失去光泽(脱毛), 消瘦、尿液白浊等病理状态; 灌服助阳方药后, 动物的病态得到纠正。按照中医脏腑辨证标准, 外源性氢化考的松造成动物外观的病态表现, 符合中医肾阳虚证的临床表现, 用助阳方药治疗, 病变得以改善, 进一步说明动物模型辨证的准确性。该模型是60年代初邝安堃教授首次建立的。实验用16~20g雄性小白鼠, 每日臀部肌肉注射醋酸皮质素, 大剂量0.5mg/d/只, 中剂量0.25mg/d/只(用生理盐水配成不同浓度的混悬液0.1ml)。结果: 中剂量组体重迅速降低, 第9~11d后出现明显的萎靡不振, 竖毛, 毛不光洁, 拱背少动, 反应迟钝, 不规则的深迟呼吸, 严重时爬行困难, 类似肢体瘫痪, 不能行动。部分出现前肢以上颈头部粗大, 胸腰椎明显后突, 持续数次而死亡的病理征象; 大剂量组则在第7d左右出现上述现象。在合用助阳药时, 动物多不出现衰竭现象, 或仅是轻度的虚弱, 体重的减轻不甚明显, 与未合用助阳药的动物显然有别。

“氢化考的松阳虚”模型的建立, 为以后的研究奠定了基础, 为其他研究者提供了借鉴。用糖皮质激素造型会因造型

剂类型、给药途径、动物、剂量不同而致造模时间及症状表现程度有所不同, 研究者可视具体情况而定。

糖皮质激素作“阳虚”造型, 为目前较为常用的方法, 动物外形的衰弱与寒象等与“阳虚”患者有类似之处, 又由于大量外源性皮质激素的影响, 使动物肾上腺萎缩, 内源性皮质激素合成及释放减少, 这也与“阳虚”患者皮质功能减退一致。有人<sup>[2,3]</sup>采用阳虚动物模型对肾阳虚证的病理表现、病理机制进行实证探索。发现下丘脑视上核甲细胞数量减少, 乙细胞数量增加, CRF mRNA含量降低; 甲状腺功能减退; 性腺器官退化; 肝细胞线粒体破坏, RNA含量降低; 肝细胞各种酶的活性下降, 肝糖元减少; 全身免疫器官、免疫细胞损害; 肥大细胞减少等病理变化。提示下丘脑细胞的损害和功能紊乱是肾阳虚证的主要病理基础, 下丘脑——垂体——甲状腺、肾上腺、性腺不同环节和不同程度的变化, 是肾阳虚证的主要病理环节, 从而使肾阳虚证的病理认识深化, 临床规范有据。但是, 也有观点<sup>[4,5]</sup>认为, 此类模型与人类“阳虚”有较大距离, “阳虚”患者存在皮质功能低下, 而本类“阳虚”模型是由于外源性皮质激素的注入, 体内皮质激素并不缺乏, 血浆皮质醇反而明显增高。此外, 在大量皮质激素作用下, 肝糖原增加, 肝细胞浆内糖皮质激素受体增加, 这也是同“阳虚”患者肾上腺皮质功能低下不同的, 因此认为本模型是由于药物在体内大量蓄积导致动物亚急性中毒性反应的结果。

薛氏<sup>[6]</sup>使用右归丸治疗肾阳虚模型家兔, 检测实验动物血中微量元素的代谢情况。结果发现: 模型家兔血液微量元素发生了“平衡→失衡→再平衡”的动态变化过程。微量元素与生化指标一样, 在动物体内的生物代谢过程中起着特定的作用, 微量元素是正确评价病证转归和药物疗效的良好指标。

章氏<sup>[7]</sup>使用皮质酮所致肾阳虚模型小鼠研究(肾阳虚)小鼠免疫功能低下与红细胞膜磷脂脂肪酸和血浆磷脂含量的变化关系。结果表明: 皮质酮所致肾阳虚模型小鼠脂肪酸的百分含量变化很大, 尤其是不饱和脂肪酸显著降低, 甚至缺乏, 说明脂肪酸水平的高低直接影响机体的免疫功能活动。

刘氏<sup>[8]</sup>利用糖皮质激素模拟“肾虚”动物模型研究肾虚与听力的关系,初步发现:“肾阴虚”及“肾阳虚”实验豚鼠均出现了听力下降现象,但“肾阴虚”的听力下降以6kHz为明显,而“肾阳虚”的听力下降以2kHz为明显,且“肾阳虚”时2~8kHz听力下降的程度均比“肾阴虚”严重,动物听力下降的程度与其全身“虚弱”症状的程度一致。

## 2 氨基导眠能法<sup>[9]</sup>

氨基导眠能使类固醇激素合成受阻,造成垂体-肾上腺皮质和垂体-性腺轴功能减退的阳虚模型。阳虚和肾虚虽不完全等同,但由于肾阳为元阳真阳,阳虚的病理变化主要责之于肾阳虚,肾又为水火之宅,故肾虚和阳虚的关系密切。在临床上阳虚证表现出的全身机能减退,尤其是内分泌功能低下的征象与肾虚证颇为相似。实验采用雌性新西兰白兔,3~4月龄,1.6~2.4kg,每天胃管投氨基导眠能6mg/kg(用蒸馏水配成10mg/ml混悬液),连续15d。动物表现为体重减轻,体温下降,出现拱背穹起,毛发卷曲,稀疏而无光泽,摄食减少,对外界刺激反应迟钝,萎靡不振等。氨导所致模型家兔的表现兼备了阳虚和肾虚证共有的症状,可用来探讨补肾药的作用机理。

## 3 腺嘌呤法<sup>[10]</sup>

腺嘌呤是核酸的主要组成成分之一,当机体摄入大剂量腺嘌呤时,异常高浓度的腺嘌呤在黄嘌呤氧化酶的作用下则转变成极难溶解于水的2,8-二羟基腺嘌呤,这种代谢产物沉积于肾小管,引起肾功能衰竭,腺嘌呤代谢产物不仅仅因机械性阻塞肾小管而引起肾功能衰竭,而且还可能由于腺嘌呤代谢产物“毒性”作用,使肾组织中与糖、脂肪、蛋白质代谢有关的多种酶活性受抑制,影响了肾组织的能量代谢。这是腺嘌呤引起“肾阳虚”证候的机理之一。用0.5%腺嘌呤饲料喂养大鼠,并用右归丸进行试验性治疗,以作反证。第30d处死,采血作各项检测。结果:用腺嘌呤饲料喂养大鼠,其体重减轻。生长发育受阻,怕冷蜷缩,精神萎靡,基础体温降低,多尿,排泄代谢废物功能低下,血中睾酮(T)、雌二醇(E<sub>2</sub>)、促黄体生成素(LH)、促卵泡成熟素(FSH)、绒毛膜促性腺激素(CG)含量降低,三碘甲状腺原氨酸(T<sub>3</sub>)、甲状腺激素(T<sub>4</sub>)和皮质醇(F)呈低下趋势,镜检肾组织呈萎缩倾向,结缔组织增生,肾小管之PAS、AKP等反应明显减弱,睾丸组织萎缩,大部分曲细精管退行性变化,精子产生减少或缺损。用补肾温阳代表方右归丸治疗,上述各种证候和生化学、组织学之异常均得到不同程度的改善。作者认为这是一种创新的“肾阳虚”动物模型。

## 4 羟基脲法<sup>[11]</sup>

羟基脲能抑制核苷酸还原酶,从而抑制DNA合成,影响蛋白质代谢,出现一系列虚损症状,符合中医临床病人的病程较长,全身各系统功能均处于一种低水平的表现。将羟基脲研细粉成混悬液,浓度分别为5、10、15、20、30mg/ml,依次为A、B、C、D、E组,灌胃0.5ml/只/d,经7~15d不等,以出现“阳虚”症状为度。其中E组因用药量大,死亡率高而停药,对照组喂等量生理盐水。实验前后分别测定血红蛋白和白细胞

计数,实验后进行耐冻试验、冰水游泳试验,测定脱氧核糖核酸合成率。结果:A组无症状表现,B组有十分之三症状不明显,E、D、B、C分别在第7、8、13、15d左右出现消瘦,弓背蜷缩,活动迟缓,体毛枯疏,甚至成片状脱落,尾巴发凉,眼睁不开等症状,死亡率随着药物剂量增加而递增,耐冻时间随着药物剂量增加而缩短;摸索出C组(7.5mg/只/d)为造型合适剂量后,以此组为准,进一步测定17-羟醇、17-酮醇、肾上腺、睾丸、脾脏。结果:17-羟醇、17-酮醇降低显著,睾丸激素分泌减少,而肾上腺变化不大。A组因剂量小而造型失败,各项指标与对照组无显著差别,B组仍有少数动物没有出现“阳虚”症状,可视为临界状态。而其余各组从死亡率、体重变化、耐冻时间、冰水游泳时间、DNA合成率等检测,药物剂量越大,各项改变越明显,故羟基脲的用量在造型时是一个重要问题,提示C组(7.5mg/只/d)为适宜剂量。因此作者认为用羟基脲制造“阳虚”动物模型,比之用氢化考的松制造的模型有一定优越性,比较接近慢性类型“阳虚”。

黄氏<sup>[12]</sup>研究羟基脲对雄大鼠骨代谢的影响,并与泼尼松比较,结果:羟基脲与泼尼松均能引起大鼠骨质疏松,但二者的作用机理不同,羟基脲主要影响内骨膜面成骨,促使成骨细胞的数量、活性增加,导致骨的形成增加,由于骨的吸收大于骨的形成,最终导致了骨量丢失出现骨髓腔明显增大;而泼尼松主要影响骨外膜面成骨,使该面的皮质骨明显减少。

## 5 甲状腺切除法<sup>[12]</sup>

甲状腺机能减退者体内的代谢普遍减慢,基础代谢率低。中医辨证甲减患者大多具有脾肾阳虚症状,以温肾补阳药治疗,临床症状好转,基础代谢率升高,血浆cAMP升高,因此切除动物甲状腺造成的“阳虚”动物模型,可模拟人类的阳虚症。实验采用雌性3月龄纯种新西兰白兔,体重1.7~2.2kg在无菌、麻醉条件下,将甲状腺组织全部摘除,手术前后检测血清钙含量,证明甲状旁腺机能未受损伤。该法采用切除甲状腺,模拟临床阳虚,造成甲低兔模型,并对畏寒主证,肢冷主证,迟脉主证,少饮特征,外观表现,氧耗量,血清甲状腺激素(TT<sub>4</sub>、TT<sub>3</sub>),皮质醇含量进行验证,并辅助以温补肾阳中药进行疗效反证,表明甲低兔模型的证候表现是符合阳虚辨证的。

邹氏<sup>[14]</sup>利用甲减法造模,探讨肾阳虚证与CAG模型的相关性。观察胃粘膜病理和形态计量,酶学变化,DNA倍性,增殖活性,CEA,PCNA,p53蛋白表现,超微结构,血清PCA阳性率,血浆胃泌素、胃动素和胰高血糖素含量,脑组织5-HT,5-HIAA含量。结果:肾虚胃炎胃粘膜有明显萎缩,慢性炎症和一定程度的不典型增生,细胞增殖动力学,超微结构和DNA方面的改变,伴有酶学、胃肠道激素、自身免疫的变化,并与脑内神经递质和外观变化相关。作者认为肾虚是CAG的本质病理。

## 6 他巴唑型<sup>[15]</sup>

他巴唑为硫脲类抗甲状腺药,能降低甲状腺功能,用以造型,可出现甲减型阳虚证。取7~8周龄雌性小鼠连续服用他巴唑(用0.03%他巴唑水溶液代替饮水2~3个月)2~3

个月后,耗氧率明显降低,注射氨甲后血浆cGMP峰值明显高于正常,但在本实验中,注射异丙后血浆cAMP峰值与正常动物无差别,给此类动物喂服附子、肉桂后耗氧率升高,注射氨甲后血浆cGMP峰值降低,生地、龟板作用相反,耗氧率无明显改变,cGMP峰值则比不用药的模型更高。

### 7 苯甲酸雌二醇法<sup>[16,17]</sup>

苯甲酸雌二醇法能诱发大鼠小鼠“下丘脑—垂体—性腺轴”受抑制而造成肾阳虚模型,动物出现活动能力减弱、抗疲劳功能下降等表现。方法:小鼠腹腔注射苯甲酸雌二醇注射液0.04ml,连续10天;大鼠每日1次皮下注射苯甲酸雌二醇0.5ml(500mg),连续10d。

### 8 利血平法<sup>[18]</sup>

小鼠注射利血平,几十分钟后可出现皮肤温度下降,形寒肢冷的阳虚模型;也可给小鼠小剂量皮下注射利血平,连续5~14d,可呈现阳虚模型症状。

### 9 人工高血糖法<sup>[19]</sup>

林氏在进行家犬高血糖模型实验中发现家犬糖负荷状态下血浆环核苷酸及皮质醇的变化与临床观察报道的“阳虚”病人及氢考II型小白鼠“阳虚”模型血浆环核苷酸系统的变化基本一致,故提出用高血糖建立“阳虚”动物模型的设想。

本文将各种常用的研究方法及其结果加以概述,以便科研工作者参考,比较其利弊。作者也曾因研究需要,参考大量文献方法制备“阳虚”动物模型,但是发现有些造型方法仍不够理想,动物死亡率高,状态极差,与我们用来作临床研究有差别。例如,用糖皮质激素造模,剂量大动物过于衰弱甚至死亡,剂量小动物不出现症状;又如肌注给药,动物因肌注而致腿瘸,在很大程度上影响动物的状态,以致于影响实验结果;而腺嘌呤法,由于药物混在饲料里,很难确保药物的剂量,而致造型程度不一致,用此模型来观察药物疗效,不一定能确切反映其结果。故而怎样选择合适的方法作为研究工具,既能把实验顺利完成,又能得到理想结果,是研究者应该慎重考虑的问题。研究一种较为合适的造型方法,为补肾助阳方药药效学研究提供一个好的研究模型,是以后研究工作的重点。

肾阳虚的造模方法还有很多,如环磷酸胺、庆大霉素法、缺铁饲料法、猫吓鼠法、急病及肾法、锁阳水提物法、肾上腺素全切法、频繁交配法、强迫游泳法、持续低温受冻法、雷公藤多甙法等等。这些方法的使用率不高,也不被肯定,故本文不详细列举。

目前,“阳虚”证的临床研究方面已取得了一些进展,如何使这一研究进一步深入,以揭示“阳虚”的本质,加强实验是至为重要的。而进行补肾助阳方药药效学研究,则离不开“阳虚”动物模型的研制。

### 参考文献:

[1] 邝安堃,吴裕,丁霆,等.某些助阳药对于大剂量皮质素

所致耗竭现象的影响[J].中华内科杂志,1963,(2):113.

[2] 施玉华.动物模型在中医药理论形态学研究中的应用[M].北京:全国中医药动物模型研讨会论文集,1993.48.

[3] 沈自尹.中医肾的古今论[J].中医杂志,1997,(5):48.

[4] 彭国瑞,许志奇,杨学海,等.不同糖皮质激素所致“阳虚”动物模型的实验研究[J].中医杂志,1984,25(4):74-76.

[5] 杨学海,彭国瑞,许志奇,等.不同糖皮质激素所致“阳虚”动物模型血浆皮质醇、反质酮含量变化的观察[J].中医杂志,1984,25(11):72-73.

[6] 薛莎,汤学军,马威,等.微量元素测定对右归丸治疗肾阳虚疗效的评价[J].湖北中医学院学报,2000,2(1):18-20.

[7] 章建民,张红,周羽琪,等.肾阳虚模型小鼠红细胞膜磷脂脂肪酸含量变化观察[J].浙江中医杂志,2000,35(3):128-129.

[8] 刘蓬,邱宝珊,王士贞,等.强的松豚鼠肾虚模型的听力观察[J].广州中医药大学学报,1999,16(1):1-4.

[9] 蔡连香,李宏广,魏袁琳,等.养血补肾片对阳虚证动物模型卵巢功能的影响[J].中国中西医结合杂志,1998,18(10):620-622.

[10] 郑东平,朱燕俐,丁名城,等.腺嘌呤诱发“肾阳虚”动物模型的研制[J].中国医药学报,1990,5(3):68-73.

[11] 刘福春,张家庆,李菊仙,等.羟基脲制造“阳虚”动物模型的研究[J].吉林中医药,1984,(5):31-33.

[12] 黄连芳,廖进民,吴铁,等.不同致“阳虚”药对大鼠骨代谢影响的实验研究[J].中国中医骨伤科杂志,1997,4(5):1-4.

[13] 徐敏,欧明,丘和明,等.甲状腺机能低下阳虚兔模型的造型研究[J].中医杂志,1990,(6):45-49.

[14] 邹世洁,陈小野,常超英,等.肾阳虚型CAG模型的胃粘膜病理和相关变化研究[J].实验动物科学与管理,1998,15(3):29-33.

[15] 夏宗勤,胡镇球,胡雅儿,等.四种“阳虚”模型的建立及其与环核苷酸系统的关系[J].中西医结合杂志,1984,4(9):543-545.

[16] 李震.肾主生殖的现代实验研究[J].实用中西医结合杂志,1997,10(7):625-626.

[17] 岳玉英.壮元丹的主要药效学研究[J].中药新药与临床药理,1994,5(4):25-27.

[18] 苗明三.实验动物和动物实验技术[M].北京:中国中医药出版社,1997.276.

[19] 林佩冲.人工高血糖家犬血浆环核苷酸的变化与“阳虚”动物模型关系初探[J].甘肃中医,1996,9(4):4-5.