

金匱腎氣丸对雄激素部分缺乏大鼠血清睾酮及 StAR 蛋白 mRNA 表达的影响

吴天浪¹ 张培海¹ 钟 钦² 曲晓伟¹ 李俊涛³ 常德贵^{1*} 张蜀武¹ 王久源¹

1. 成都中医药大学附属医院男科(成都 610072); 2. 广州邮电医院外科;

3. 河南中医学院第一附属医院男科

摘要 目的 探讨金匱腎氣丸对雄激素部分缺乏模型大鼠血清睾酮及 StAR 蛋白 mRNA 表达的影响。**方法** 将 40 只 SD 大鼠采用腹腔注射环磷酰胺(20mg/kg·d⁻¹)复制模型后,随机分为 4 组,即模型组、金匱腎氣丸高、中、低剂量组,每组各 10 只,分别采用蒸馏水及金匱腎氣丸水溶液高、中、低剂量灌胃,治疗 28d 后,观察血清睾酮及睾丸 StAR 蛋白 mRNA 表达。**结果** 与模型组(98.33±8.36)ng/dl 比较,金匱腎氣丸高剂量组(301.17±46.90)ng/dl、中剂量组(215.46±26.73)ng/dl 血清睾酮显著性升高,差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);金匱腎氣丸高剂量组(11.08±1.45)、中剂量(10.47±1.26)、低剂量组(7.30±1.08)之间睾丸 StAR 蛋白 mRNA 表达水平分别与模型组(4.87±0.95)比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** 金匱腎氣丸可提高雄激素部分缺乏大鼠血清睾酮水平,其机制可能是通过提高睾丸 StAR 蛋白 mRNA 表达水平实现。

关键词 腎氣丸; 大鼠; 睾酮; StAR 蛋白

中图分类号 R 285; R-332

The effect of Jinguishenqi pill on the level of serum testosterone and mRNA expression of StAR in partial androgen deficiency rats

Wu Tianlang¹, Zhang Peihai¹, Zhong Qin², Qu Xiaowei¹, Li Juntao³, Chang Degui^{1*}, Zhang Shuwu¹, Wang Jiuyuan¹

1. Department of Andrology, the Affiliated Hospital, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610072, China; 2. Department of Surgery, Hospital of Post and Telecommunication; 3. Department of andrology, the Affiliated Hospital, Henan University of Traditional Chinese Medicine

Abstract Objectiv To investigate the effect of Jinguishenqi pill on the level of serum testosterone and mRNA expression of StAR in partial androgen deficiency rats. **Methods** Total of 40 SD rat models established by injecting with cyclophosphamide (20mg/kg·d⁻¹) in cavitas were randomly divided into model group(10 rats), treated group1 with high dosage of Jingui Shenqi Pill(10 rats), treated group2 with middle dosage(10 rats) and treated group3 with low dosage(10 rats). All rats in treated group were affused into the stomach with the Jinguishenqi Pill solution. After 28 days treatment, the level of serum testosterone and mRNA expression of StAR were detected. **Results** Compared as that of model group (98.33±8.36)ng/dl, there was a significant change in the level of serum testosterone of treated group1 or treated group2 ($P < 0.05$, $P < 0.01$). A obvious change in mRNA of StAR was also found between model group and treated group($P < 0.01$). **Conclusion** Jinguishenqi pill might modulate the level of serum testosterone in partial androgen deficiency rats by upregulating the expression of StAR.

Key words shenqi pil; rats; testosterone; StAR protein

* 通讯作者, E-mail: cdg998@sina.com

中老年男性部分雄激素缺乏综合征是中老年男子随着年龄的增加雄激素水平下降和(或)靶器官对睾酮(T)及其活性代谢产物敏感性降低为特征的一系列临床症状,病因与雄激素水平下降有关^[1]。临床中我们采用金匱肾气丸治疗本病,取得了良好的疗效,但其具体作用机制尚不清楚。本实验拟通过金匱肾气丸治疗后,观察血清睾酮水平及StAR蛋白mRNA的表达,从睾酮及其合成通路进行相关研究,解释其可能的作用机理。

材料和方法

一、主要材料和仪器

环磷酸胺(江苏恒瑞医药股份有限公司产品)、PCR反应用TaKaRa RNA PCR Kit (AMV) Ver.3.0试剂盒(大连宝生物工程产品)、PCR仪(PX2型、Thermo Hybrid公司)、凝胶成像系统(GEL-DOC型、BIO-RAD公司)。

二、实验方法

(一) 实验动物

选取40只15月龄SD雄性大鼠,体重250~300g,由成都中医药大学动物实验中心(川实动管127号)提供。实验期间饲养温度为(20.0±3.0)℃,自由摄食饮水。

(二) 造模与分组

参照章振保等^[2]造模方法,SD大鼠每天腹腔注射环磷酸胺20mg/kg,连续5d,造成PADAM大鼠模型。随机分为4个组,即对照组、金匱肾气丸治疗高、中、低剂量组。

(三) 实验药物制备与用法

根据与人体体重等效剂量换算,每日1次,4ml/只灌胃,连续28d,末次给药24h后处死动物。对照组灌服蒸馏水;高、中、低剂量组灌服药物水溶液(生药含量分别为:3.32 g/kg、1.66 g/kg、0.83 g/kg)。

(四) 指标检测

1. 血清睾酮:动物处死后,股动脉采血,离心,取血清2ml, -20℃冷藏备用;采用放射免疫法测定,具体操作步骤按照试剂盒说明书进行。

2. 睾丸StAR蛋白mRNA:动物处死后,睾丸组织剥取被膜后置于Bouin's液,固定24h。利用Primer Premier 5.0设计引物,将引物溶于去离子水中,终浓度调整为20pmol/μl, -20℃保存备用。采用美国TriZol试剂(Cat NO:15596-018)一步法提取总RNA。1.5%琼脂糖电泳确定质量与含量后, -80℃保存备用。配制RT反应液(反应液配制在冰上进

行)以及反应液。将RT反应液10 μl加入反应液,按下述程序完成反应:94℃ 5min, 94℃ 1min, 54℃ 30s, 72℃ 30s 35个循环, 72℃ 10min, 4℃。

(五) 统计学分析

所有数据采用SPSS13.0处理,采用t检验,结果用均数加减标准差($\bar{x} \pm s$)表示,以 $P < 0.05$ 为具有统计学差异。

结 果

一、一般状态观察

造模各组逐渐出现恶寒倦卧,精神萎靡,反应迟钝,少动,皮毛干枯脱落,消瘦,与肾虚症状相似。治疗组大鼠的上述表现均得到不同程度的改善。

二、对大鼠血清睾酮水平的影响

模型组和金匱肾气丸高、中、低剂量组的血清睾酮水平分别为(98.33±8.36) ng/dl、(104.93±8.38) ng/dl、(215.46±26.73) ng/dl和(301.17±46.90) ng/dl。与模型组比较,高、中剂量组血清睾酮显著性升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

三、大鼠StAR蛋白mRNA表达的影响(见图1)

模型组和金匱肾气丸高、中、低剂量组的StAR蛋白mRNA的相对值分别为4.87±0.95、11.08±1.45、10.47±1.26和7.30±1.08。与模型组比较,金匱肾气丸各组之间与其有统计学意义($P < 0.01$);金匱肾气丸各组之间比较,高、中剂量组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$);低剂量组分别与高、中剂量组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

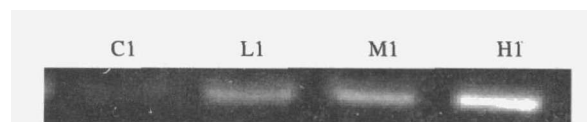


图1 大鼠StAR蛋白之凝胶电泳结果

C1: 对照组; L1: 低剂量组; M1: 中剂量组; H1: 高剂量组

讨 论

奥地利泌尿学会在1994年欧洲男科学研讨会上提出中老年男性雄激素部分缺乏综合征(PADAM)一词,指中老年男性随着年龄的增加而雄激素呈进行性下降,出现一系列部分雄激素缺乏相应的综合征,包括血管舒缩异常、精神心理异常、体能下降、性功能减退等。男性体内血清中具有生物活性睾酮水平的降低是引起本病的主要原因^[3]。睾酮补充疗法(testosterone supplementation therapy, TST)

是目前主要的治疗措施,其疗效较为满意,但对前列腺和心血管疾病具有潜在危险性^[4]。

中医无本病名的记载,但在大量中医古籍中有类似的认识。如《素问·上古天真论》“丈夫……五八肾气衰,发堕齿槁…八八则齿发去。”对本病的治疗,多将其归属于“虚劳”、“脏躁”、“郁证”等范畴。近年来,我们临床应用金匱肾气丸治疗本病取得了较好的疗效。金匱肾气丸为汉代张仲景所创名方之一,原方由八味药组成:干地黄 24g,山茱萸、山药各 12g,泽泻、牡丹皮、茯苓各 9g,桂枝、附子(炮)各 3g,方中补阳与补阴配伍,阴阳并补,而以补阳为主,滋阴之中配入少量桂、附以温阳,目的在于阴中求阳,少火生气。现代医学研究表明:金匱肾气丸具有良好的调节血管、神经以及抗衰老作用,适合用于该病的治疗^[5, 6]。

StAR 蛋白 (Steroidogenic acute regulatory protein) 是类固醇合成急性调控蛋白,是将胆固醇转运至线粒体内膜的载体蛋白,对睾酮的合成有着重要的意义^[7]。

本研究表明,金匱肾气丸对雄激素部分缺乏大鼠的一般状况有不同程度的改善,可提高其血清睾酮水平及 StARmRNA 的表达,从而达到治疗本病的目的。其治疗本病的机制可能为:通过提高睾酮合成中转运蛋白 StARmRNA 的表达,从而影响胆固醇的转运并干扰睾酮的合成途径,最终达到提高血清

睾酮水平。但睾酮的合成与分泌受到下丘脑和垂体的调控,下丘脑和垂体的结构或功能的改变,直接影响睾酮的合成和分泌。健康老年男性可能存在 LH 脉冲幅度降低,脉冲频度减少以及 LH 的不规律性释放,也会对睾酮的水平造成影响。此外,是否还存在其他治疗途径或机制,仍有待进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 Harman SM, Meter EJ, Tobin JD, *et al.* Longitudinal effects of aging on serum total and free testosterone levels in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(2): 724-731
- 2 章振保,杨庆涛.淫羊藿甙抗大鼠雄激素部分缺乏的实验研究. *中国男科学杂志* 2006; 20(3): 47-50
- 3 郭应禄,李宏军.男性更年期综合征.北京:中国医药科技出版社,2004: 54-66
- 4 Francis RM. Androgen replacement in aging men. *Calcif Tissue Int* 2001; 69(4): 235-238
- 5 陈武山.王琦教授对男性更年期辨治经验. *河北中医药学报* 2000; 15(1): 39-40
- 6 张家玮,张爱林.金匱肾气丸药理研究进展. *浙江中医杂志* 2001; 36(9): 408-409
- 7 王启荣,杨则宜.类固醇激素合成急性调控蛋白(star)与睾酮的生物合成. *中国运动医学杂志* 2004; 23(5): 591-595
(2008-04-20 收稿)

· 消息 ·

第三届长城国际男科论坛 (GIAF2008) 论文获奖名单 (1)

作者	单位	文章
Linjian Mo ¹ , Ju Zhang ² , Jiandang Shi ² , Qiang Xuan ¹ , Xiaoli Yang ¹ , Min Qin ¹ , Chunhua Liao ¹ , Chung Lee ³ , Helmut Klocker ⁴ , Zengnan Mo ^{1*}	Institute of Urology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, China.	hK7 promotes the invasion and induces the epithelial-mesenchymal transition (EMT) like morphological changes of human prostate cancer cell DU145
Xiang Wang, M.D., Ph.D. a Qiang Ding, M.D., Ph.D. a Yuanfang Zhang, M.D., Ph.D. a Huilin Wang Ph.D. a Lianghong Ma, M.D., Ph.D. a Xiangyang Xie M.Sc. b	Department of Urology, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai, P. R. China Shanghai Experimental Animal Center, China Science Academy, Shanghai, P. R. China	Spermatogenesis and Fertility after Freeze-Thawed Spermatogonial Stem Cell Transplantation in Busulfan Treated Infertile Mouse Model
Ji-Hong Liu ^{1*} , Ying Zhan ¹ , Tao Wang ¹ , Jiang-Nan Feng ² , Heng-Jun Xiao ¹ , Zhong-Yuan Li ¹ , Zhao-Hui Zhang ¹ , Jun Chen ¹ , Shao-Gang Wang ¹ , Zhang-Qun Ye ¹	1 Department of Urology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science & Technology, Wuhan, China 2 GeneSil Biotechnology Co., Ltd, Wuhan, China	Knock Down PDE5A3 Gene of Human Corpus Cavernosum Smooth Muscle Cells by siRNA <i>in vitro</i>