

腎虛與衰老的微觀比較研究

沈自尹

復旦大學中西醫結合研究所

上海

衰老最重要的表現是組織與器官的細胞退化、逐漸失去增殖的能力，以及過度的細胞凋亡。隨增齡而老化是個不可抗拒的生理過程，但就每個人而言，年齡變化對各器官組織帶來的影響，個體差異卻很大，僅以年齡制定衰老界限，或從外表來估計衰老程度，往往不夠全面，內在組織器官老化及微觀的基因調節失控可以導致整體老化的加速與老年慢性疾患。

“腎”在五臟之中歷來為醫學家所推崇，喻為先天之本，至明代提出“命門”學說成為生命的根本，全身各臟的陰陽均由腎陰、腎陽來“養”與“溫”，五臟病久都會及腎，腎似乎是各臟器的調節中心。腎又主生長、發育、衰老的生理過程，腎虛可出現一系列“未老先衰”的症狀，如宏觀的腎虛辨證標準：腰膝酸痛、肢軟、牙齒疏鬆、頭髮脫落、耳鳴耳聾、性功能減退等。由於衰老是不可逆的生理過程，老年人必然進入合乎生理規律的腎虛階段，因此屬於“生理性腎虛”。

一、腎虛與衰老在神經內分泌軸上的比較

關於衰老的原因和原理有多種學說，但神經內分泌和免疫功能的改變對於全身性衰老無疑佔有十分重要的地位。腎虛與衰老顯然具有相同的外在表現，為探尋在神經內分泌軸上是否也有共性，70 年代末我們¹曾就此以下丘腦－垂體－靶腺軸三個水平上全套功能測定為指標，在慢性支氣管炎及性功能減退（男性）這兩個病種裏選擇同病異證者（即腎陽虛證組與無特殊見證組）作比較，同時與 65 歲以上老年人組作對比觀察。

測定結果得到如下結論：1. 腎陽虛證在不同靶腺（腎上腺皮質、甲狀腺、性腺）軸有不同環節、不同程度的功能紊亂，採取兩軸平行觀察未見軸間相互影響的證據，可推論腎陽虛證的發病環節為下丘腦（或更高中樞）的調節功能紊亂。2. 老年人甲狀腺及性腺（男）軸的異常改變與腎陽虛證甚為類似，故腎陽虛證之外象意味著下丘腦－垂體－靶腺軸有一定程度的未老先衰，而老年人神經內分泌軸功能失調的主要環節也在下丘腦，符合“生理性腎虛”。

80 年代我們在老年鼠及地塞米松鼠（類比腎陽虛）兩個動物模型上，觀察補腎複方與單味仙靈脾對腎

上腺皮質細胞體外分泌功能的影響。結果補腎複方組與仙靈脾組的腎上腺皮質細胞培養液中皮質酮含量在 Cortrosyn（人工合成 ACTH）刺激下都介於老齡對照組與青齡鼠組之間。在成年地塞米松鼠模型實驗中，亦得到相同的結果，即補腎方組與仙靈脾組的腎上腺皮質細胞培養液中皮質酮含量在 Cortrosyn 刺激下亦都介於模型組與對照組之間。說明老年時腎上腺皮質儲備功能減退與成年時由地塞米松造成的腎上腺皮質功能減退都能被補腎方或仙靈脾所保護。從“以藥測證”的角度，在腎上腺皮質細胞水平上可以看到腎虛與衰老的共性。

二、腎虛與衰老在神經內分泌免疫網路上的比較

自從 Basedovsky 1977 年以大量實驗依據提出著名的 NEI 網路學說，淋巴細胞亦可分泌腦啡肽、ACTH 等免疫遞質、激素，將資訊傳遞給神經內分泌系統。這樣，過去認為各司其職的神經、內分泌、免疫三個系統構成了一個完整的網路系統，這是現代醫學從局部觀點到整體觀念的一大發展和進步，但還缺乏調節網路的手段。90 年代起，我們²以外源性皮質酮造成大鼠下丘腦－垂體－腎上腺－胸腺（HPAT）軸功能抑制模型以類比“腎陽虛”（皮質酮大鼠），觀察溫補腎陽的右歸飲及自擬命門合劑的調節作用。免疫組實驗顯示模型組下丘腦室旁核促腎上腺皮質激素釋放激素（CRH）神經元與正中隆起 CRH 神經纖維、垂體促腎上腺皮質激素（ACTH）細胞等明顯減少；血漿 ACTH、皮質酮含量下降；T 淋巴細胞增殖反應、自然殺傷細胞活性、白細胞介素 2、 γ 干擾素均下降，與對照組比較， $p < 0.05-0.01$ 溫補腎陽組上述各指標均得到明顯改善，與模型組比較 $p < 0.05-0.01$ 說明皮質酮大鼠 NEI 網路功能明顯受到抑制。下丘腦是機體重要的整合中樞，亦是 NEI 網路調節中樞，為準確了解溫補腎陽方藥對 CRF mRNA（此處 CRH 習慣用 CRF）表達的作用及同步對於 HPAT 軸的影響³，以皮質酮大鼠為模型，採用補腎（右歸飲）、健脾（四君子湯）、活血（桃紅四物湯）的對比觀察，結果顯示三組中唯有補腎組可以明顯地提高已受抑制的 CRF mRNA 表達量，同時有效地保護外源性皮質酮對 HPAT 軸功能的抑制，與模型、健脾、活血組相比， $p < 0.01$ 說明溫補腎陽方藥是一個調節 HPAT 軸抑制（腎陽虛）模型的 NEI 網路功能與形態異常的有效手段，並支援腎陽虛定位在下丘腦及與 NEI 網路存在本質聯繫的觀點。

還對老年大鼠 NEI 系統作了全面的研究^{4,5}，老年大鼠下丘腦單胺類神經遞質如去甲腎上腺素、多巴胺均下降；激素如 CRH、TRH 亦均下降，垂體的 ACTH、TSH 下降，血漿 ACTH、皮質酮亦均下降；免疫系統如 T 淋巴細胞增殖反應、抑制性 T 淋巴細胞活性、淋巴細胞糖皮質激素受體（GCR）亦明顯下降，與年輕大鼠組比較 $p < 0.05-0.01$ 溫補腎陽組（壽而康）上述各項指標均有明顯改善，與老年對照組比較 $p < 0.05-0.01$ 老化過程與全身 GCR 隨增齡而丟失密切相關，淋巴細胞 GCR 作為 NEI 網路的外周聯結點之一，更表明補腎方藥對衰老所致的 NEI 網路功能減退具有明顯的改善作用。

三、腎虛與衰老 T 細胞凋亡及其相關基因群表達調控的比較

細胞凋亡是一種受細胞外環境和細胞內多基因程式性調控的主動性細胞自殺的死亡方式。它的生理性重要意義在於及時清除體內有害細胞來調節機體的發育、衰老，並維持內環境穩態。在免疫系統的作用尤

其重要。1996 年，免疫衰老權威 Miller⁶ 提出免疫衰老可能與 T 細胞凋亡的加速有關；1997 年，Phelouzat⁷ 等首先觀察到老年人 T 細胞呈過度凋亡，但尚未提出對 T 細胞凋亡的調控手段。

細胞凋亡分為三個基本時相，及啟動（誘導）相、效應（調控）相、清除（降解）相。啟動相是接受體內外死亡信號指令如加熱、輻射、化學試劑、毒素、NO、TNF、CD₃ 等，兩個經典的凋亡相關信號轉導途徑分別是 Fas 途徑和 Bcl-2 途徑⁸。效應相是眾多處凋亡及抗凋亡基因相互促進、相互制約的形式處於動態平衡之中，一旦失衡就進入清除相。清除相的 Caspase 家族在凋亡網路中居中心地位元，Caspase 8 是啟動酶，啟動凋亡的聯級反應，作用與執行酶 Caspase 3，由此啟動核酸內切酶，使 DNA 降解，從 50 Kb 的大片段碎裂到 180-200 bp 的寡聚體這樣的小片段，導致了凋亡。

1998 年，Aggarwal⁹ 首次報道了免疫衰老時 T 細胞凋亡與 Fas、FasL、Bcl-2 等基因群調控密切相關。我們從 1998 年起採用補腎、健脾、活血複方分別對老年人、老年鼠、皮質酮鼠 T 細胞凋亡及其基因群調控模式進行了比較研究。

1. 補腎方對老年人 T 細胞凋亡相關基因群調控模式的研究：44 名 60-89 歲老年人配對，隨機分為補腎益壽膠囊組和安慰劑組，進行雙盲比較研究¹⁰，並以 30 名年輕人，男女各 15 名作為對照組，結果服藥前兩組老年人 T 細胞凋亡率比年輕組顯著升高， $p < 0.01$ ，說明老年人 T 細胞的確呈過度凋亡。我們選擇促凋亡基因 Fas、FasL、TNFR1、Bax，抗凋亡基因 TNFR2、Bcl-2 進行觀察，服藥後補腎組 T 細胞凋亡率顯著下降， $p < 0.01$ 同時，相關的促凋亡基因 FasL、TNFR1 mRNA 表達下調， $p < 0.01$ ；抗凋亡基因 Bcl-2 mRNA 表達上調， $p < 0.05$ ；Fas、TNFR2、Bax mRNA 表達並無變化，安慰劑組均無明顯變化。

2. 補腎、活血複方對老年大鼠 T 細胞凋亡相關基因群調控模式的比較研究：18 月齡 Wistar 大鼠 40 只，隨機分為老年對照組、兩個補腎組（補腎益壽膠囊、右歸飲）、活血組（桃紅四物湯），服藥 6 個月，故本實驗以 24 月齡作為老年鼠，另設 5 月齡年輕鼠 10 只¹¹。結果老年對照組 T 細胞凋亡率顯著高於年輕組， $p < 0.01$ ，兩個補腎組 T 細胞凋亡率與老年對照組相比均明顯下降， $p < 0.05-0.01$ ，與老年人 T 細胞凋亡規律一致，活血組與老年對照組相比則無顯著差異。

關於 T 細胞凋亡相關基因群的變化，可見老年組促凋亡基因 Fas、FasL、TNFR1 mRNA 表達明顯高於年輕組， $p < 0.05-0.01$ ，Bax 未見明顯變化；抗凋亡基因 TNFR2、Bcl-2 mRNA 表達則明顯低於年輕組， $p < 0.05-0.01$ ；凋亡蛋白酶 Caspase 8、Caspase 3 活性升高 $p < 0.01$ ，表明老年大鼠 T 細胞過度凋亡是由促凋亡基因的高表達及抗凋亡基因的低表達所致。兩個補腎方都可下調促凋亡基因 FasL、TNFR1 mRNA 表達，同時削弱 Caspase 8、Caspase 3 的活性，從而顯著地干預了老年大鼠的 T 細胞凋亡。活血方能下調促凋亡基因 TNFR1 mRNA 表達，但未能抑制 Caspase 8、Caspase 3 的活性，故並未影響 T 細胞凋亡。

3. 補腎、健脾複方對皮質酮大鼠 T 細胞凋亡相關基因群調控模式的研究：4 月齡雄性 SD 大鼠 50 只，隨機分為正常組、模型組、補腎益壽組、右歸飲組、四君子湯組，用藥組以藥物灌胃連續 14 天，正常組及模型組以蒸餾水代替藥物灌胃¹²。結果表明模型組 T 細胞凋亡百分率明顯增高，與正常組相比 $p < 0.01$ ，兩個補腎組 T 細胞凋亡百分率均低於模型組， $p < 0.05-0.01$ ，健脾的四君子湯組與模型組相比則無顯著差異。表明外源性皮質酮加速 T 細胞凋亡，而補腎可拮抗皮質酮促 T 細胞凋亡的作用。

關於 T 細胞凋亡相關基因群的變化，從模型組與正常組的比較中，可見模型組促凋亡基因 Fas、FasL、TNFR1、Bax mRNA 表達高於正常組，而抗凋亡基因 Bcl-2、TNFR2 mRNA 表達則低於正常組， $p < 0.05-0.01$ ，表明模型組 T 細胞過度凋亡與老年鼠一樣，亦是與促凋亡基因高表達及抗凋亡基因低表達有關。兩個補腎複方均可下調 FasL、TNFR1 mRNA 表達，同時上調 Bcl-2 mRNA 表達，並顯著降低 Caspase 8、Caspase 3 的活性， $p < 0.05-0.01$ ，干預了 T 細胞凋亡，從而拮抗外源性皮質酮的免疫抑制作用。雖然健脾的四君子湯可上調 Bcl-2 mRNA 表達，但未能抑制 Caspase 8、Caspase 3 的活性，故並未影響 T 細胞凋亡。

基因不是單獨發生作用，基因的活動涉及基因組中一群基因的協同與程式化表達，從而使生命活動有條不紊地進行。基因群在體內存在著互相對立又互相依賴的對子，可相互制約又可相互轉化，好比中醫學的陰陽五行中所講的相生相剋的狀況。衰老、疾病、證候亦就是不同層次的基因群失衡，內環境穩態被打破。綜合上述結果，表明老年人、老年大鼠與類比腎陽虛證的皮質酮大鼠在 T 細胞凋亡及相關基因群表達方面具有基本一致的模式，且初步顯示補腎複方在與健脾、活血類複方的比較中，其調控 T 細胞凋亡方面是使高表達的促凋亡基因表達下調與低表達的抗凋亡基因表達上調的協同作用，重塑基因平衡從而逆轉了衰老及腎陽虛證 T 細胞過度凋亡的趨勢，恢復內環境穩態。

《素問·上古天真論》：“女子七歲腎氣盛，二七天癸至……四七筋骨堅……七七任脈虛，天癸竭……丈夫八歲腎氣實，二八腎氣盛……五八腎氣衰……八八齒發去……。”腎氣盛衰與生、長、壯、老、已密切相關，人到老年自然有腎氣衰退的種種表現，所以衰老是“生理性腎虛”。至於腎虛與衰老之間是否有共同的內涵，中醫傳統以證效關係，也就是“以藥測證”來加以檢驗。從以上研究結果可以看到補腎方藥都能有效地作用於網路、系統、細胞、分子各個微觀層次，對於腎虛與衰老都有相同的調節效應。固然腎虛與衰老在老化上有時間的先後、程度的差異以及各個臟器、組織和代謝的不同，但在統管全身的 NEI 網路這一範疇裏，呈現了宏觀與微觀的高度一致性，證明腎虛與衰老有著本質上的內在聯繫。

參考文獻

1. 沈自尹、陳劍秋、陳響中等，老年人與腎陽虛證患者的甲狀腺軸功能對比觀察，中西醫結合雜誌，2：9-12，1982。
2. 蔡定芳、沈自尹、張玲娟等，右歸飲對大鼠下丘腦—垂體—腎上腺—胸腺軸抑制模型的影響，中國免疫學雜誌，10：236-239，1994。
3. 沈自尹，腎陽虛證的定位研究，中國中西醫結合雜誌，17：50-52，1997。
4. 張新民、沈自尹、王文健等，補腎中藥對老年神經—內分泌和免疫系統作用機理的研究，中國中西醫結合雜誌，14：686-688，1994。
5. 張玲娟、沈自尹、王文健等。補腎益氣法對淋巴細胞糖皮質激素受體老年性改變的影響，中國中西醫結合雜誌，10：583-585，1990。
6. Miller RA. The aging immune system: primer and prospectus, Science, 273:571-573, 1996.
7. Phelouzat MA, Arbogast A, Laforge T et al. Excessive apoptosis of mature T lymphocytes is a characteristic feature of human immune senescence, Mech Aging Dev, 88:25-38, 1997.

8. 齊義鵬、齊兵、劉青珍，*asy* 與 *asyip*：一類新的細胞調亡誘發基因，*科學通報*，45：2465-2468，2000。
9. Aggarwal S, Gupta S. Increased apoptosis of T cell subsets in aging humans: altered expression of Fas (CD95), Fas ligand, Bcl-2, and Bax *J Immunol*, 2:112-124, 1998.
10. 沈自尹、鄭振、郭為民等，補腎法延緩免疫衰老的臨床與實驗研究，*中國中西醫結合雜誌*，22：12-15，2002。
11. 郭為民、沈自尹、陳瑜等，補腎、活血類複方對老年大鼠 T 細胞凋亡相關基因表達調控模式的比較研究，*中國中西醫結合雜誌*，22：39-42，2002。
12. 陳瑜、沈自尹、陳偉華等，補腎、健脾複方對皮質酮大鼠 T 細胞凋亡信號相關基因群調控模式的對比研究，*中醫藥學刊*，2004。

COMPARATIVE STUDY OF KIDNEY DEFICIENCY SYNDROME AND SENESCENCE

Shen Ziyin

Institute of Integrated Chinese and Western Medicine, Fudan University, Shanghai

Kidney Qi plays a very important role in processes of birth, growth, strength, senescence and death during human life. Kidney Qi displays a kind of deterioration when senescence comes. So senescence is called “physiological Kidney deficiency” also. We have done a series of researches in order to the question that if there exists a common connotation between Kidney deficiency syndrome and senescence. First we compared these two statuses on such macroscopical levels as neuroendocrinological systems and Neurology-Endocrinology-Immune network followed by comparing related parameters on microscopical levels such as cellular, molecular and gene expression levels. At the same time we also applied the method of “verifying syndrome by the way of medicinal treatment” to these studies. All our results demonstrated that there are common or similar manifestation with respect to dysfunction of neuroendocrinological systems, impaired function of NEI networks, as well as the excessive apoptosis of T lymphocytes and the unbalanced expression pattern of apoptosis regulatory genes. We also verified that Kidney-tonifying recipes had consistent and identical modulatory effects on Kidney deficiency syndrome and senescence, and embodied these effects on systematic, network, cellular, molecular and gene expression levels. All these researches tell us that although Kidney deficiency syndrome and senescence are different when they are referred to as timing, degree, organ localization and metabolism, they still display a kind of highly comparable consistency in the fields of systematically governing network-NEI network and T lymphocytes apoptosis and expression pattern of apoptotic genes macroscopically and microscopically.

In summary, there indeed exist essential and intrinsic relationship between Kidney deficiency syndrome and senescence.