



· 实验研究 ·

肾虚体质孕鼠对子代鼠血液 IgG 水平及生化指标影响的研究^{*}

刘子瑄¹ 李翠娟^{2,3**} 孔馨逸¹

(1. 西京学院, 陕西 西安 710123; 2. 陕西中医药大学, 陕西 咸阳 712046;
3. 陕西省中医体质与疾病防治研究重点实验室, 陕西 咸阳 712046)

摘要:目的 比较正常小鼠与肾虚体质小鼠血液 IgG 水平及生化指标的变化, 探索亲代体质对子代体质的形成及相关疾病发生发展的影响。方法 根据中医学“恐伤肾”的原理, 使用超声波驱鼠仪刺激孕鼠, 致使其惊恐伤肾, 直到小鼠出生后停止恐吓, 使小鼠先天不足, 随机抽取 10 只小鼠作为肾虚体质组, 雌雄各半, 观察各组小鼠一般状况。造模结束后称重, 小鼠眼底采血, Eppen-dorf 管收集, 离心取血清进行生化指标及免疫球蛋白 IgG 的检测。**结果** ①肾虚体质组小鼠体重明显轻于正常对照组小鼠。且身长相对较短, 毛发稀疏, 胆小易惊, 呈蜷缩状, 活动量较少, 食量较小, 与肾虚体质判断依据相符。具有统计学意义($P < 0.05$)。②小鼠血液生化指标检测发现, 与正常对照组比较, 肾虚体质组血液 ALP(碱性磷酸酶)、Ca(钙)、TG(甘油三酯)增高, 差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。肌酐及尿酸在正常对照组及肾虚体质组上差异虽然无统计学意义, 但是肾虚体质组小鼠血液肌酐及尿酸数值呈增高趋势。③小鼠血液 IgG 浓度检测发现, 与正常对照组相比, 肾虚体质组小鼠血液免疫球蛋白 IgG 浓度低于正常对照组, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** 肾虚体质小鼠血液生化指标及免疫球蛋白 IgG 浓度均发生了变化, 说明肾虚体质母鼠对子代鼠肾虚体质的形成产生影响并影响子代鼠的免疫球蛋白水平。

关键词:子代鼠; 正常体质; 肾虚体质; 血液生化指标变化; IgG

中图分类号: Q95-33 文献标识码: A 文章编号: 2096-1340(2022)02-0062-05

DOI: 10.13424/j.cnki.jstcm.2022.02.014

Effect of Pregnant Rats with Kidney Deficiency Constitution on Blood IgG Level and Biochemical Indexes of Offspring Rats

LIU Zixuan¹ LI Cuijuan^{2,3} KONG Xinyi¹

(1. Xijing university, Xi'an 710123, China; 2. Shaanxi University of Traditional Chinese Medicine, Shaanxi Xianyang 712046, China; 3. Shaanxi Key Laboratory of Research on TCM Physical Constitution and Diseases Prevention and Treatment, Shaanxi Xianyang 712046, China)

Abstract: Objective To compare the changes of blood IgG level and biochemical indexes between normal mice and mice with kidney deficiency constitution, and to explore the effect of parental constitution on the formation of offspring con-

^{*} 基金项目: 陕西省中医药管理局中医藏象理论重点实验室建设项目(SZDYJS-2); 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2021JM-475); 咸阳市中医体质与疾病防治重点实验室重点研发计划项目(2019K01-53); 陕西省中医体质与疾病防治研究重点实验室开放课题

^{**} 通讯作者: 李翠娟, 教授。E-mail: ligong1212@sohu.com

stitution and the occurrence and development of related diseases. **Methods** According to the principle of “fear hurting kidney” in traditional Chinese medicine, the pregnant mice were stimulated by ultrasonic rat driving instrument, causing them to panic and injure the kidney until the mice stopped threatening after birth, making the mice congenital deficiency. 10 mice were randomly selected as the kidney deficiency constitution group, half male and half female, and the general conditions of mice in each group were observed. After modeling, the mice were weighed, the blood was collected from the fundus of the eyes, collected with Eppen-dorf tube, and the serum was centrifuged for the detection of biochemical indexes and immunoglobulin IgG. **Results** ① The weight of mice in kidney deficiency constitution group was significantly lighter than that in normal control group. And the body is relatively short, the hair is sparse, timid and easily startled, curled up, with less activity and less appetite, which is consistent with the judgment basis of kidney deficiency constitution. It was statistically significant ($P < 0.05$). ② The detection of blood biochemical indexes in mice showed that compared with the normal control group, the blood ALP (alkaline phosphatase), Ca (calcium) and TG (triglyceride) in the kidney deficiency group increased, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Although there was no significant difference in creatinine and uric acid between normal control group and kidney deficiency constitution group, the values of blood creatinine and uric acid in kidney deficiency constitution group increased. ③ Compared with the normal control group, the detection of blood IgG concentration in mice showed that, the blood immunoglobulin IgG concentration in the kidney deficiency constitution group was lower than that in the normal control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The blood biochemical indexes and the concentration of immunoglobulin IgG in mice with kidney deficiency constitution have changed, indicating that the mother mice with kidney deficiency constitution have an effect on the formation of kidney deficiency constitution and the level of immunoglobulin in offspring mice.

Key words: Offspring mice; Normal constitution; Kidney deficiency constitution; Changes of blood biochemical indexes; IgG

体质是在先天遗传和后天获得因素作用下所形成的人类个体在形态结构、生理功能和心理活动方面所固有的、相对稳定的特性。体质与疾病之间有着密切的联系^[1]。小儿体质不同于成年人,有其特殊的体质特点^[2]。

现代学者对小儿体质的形成因素主要归纳为:先天遗传和后天因素。先天禀赋是决定与影响小儿体质形成和发展的内在原因^[3]。张景岳《类经》有云:“夫禀赋为胎元之本,精气之受于父母者是也。”《幼幼集成》云:“胎弱者,禀受于气之不足也。”可见新生儿体质强弱,抗病能力强弱主要取决于先天禀赋。先天因素对小儿体质构成有着直接影响。《幼科发挥·胎疾》说:“瘦、长短、大小、妍媸,皆肖父母也。”说明了小儿体质与父母体质密切相关。胎儿禀受父母的先天之精,凭借母体的气血孕育濡养,遗传父母双方的体质特征^[4-6]。说明先天因素对小儿体质的形成有着显著的影响。

小儿体质受禀于先天,培养于后天,影响着疾病的发生、发展和病理变化,与疾病的预防和治疗紧密相关。大量研究证明,体质的强弱与免疫功能盛衰密切相关。本课题通过制作肾虚体质小鼠

模型,研究探讨肾虚体质小鼠免疫球蛋白 IgG 水平及血液生化指标的变化,为临床小儿肾虚体质的判断及肾藏象相关疾病的防治提供参考依据。

1 实验材料

1.1 实验动物 选用西安交通大学医学部实验动物中心,许可证号:SCXK(陕)2018-001,7周BALB/C小鼠24只,雌雄各半,于动物实验室分笼饲养。

1.2 主要试剂与仪器 ELISA试剂盒(Service-bio),超声细胞粉碎机(宁波新芝生物),台式高速冷冻离心机(Heal Force),涡旋混合器(Service-bio),超低温冰箱(海尔),全自动研磨仪(赛维尔生物),自动洗板机(Rayto),酶标检测仪(BioTeK),水浴锅(姜堰市天力医疗器械厂有限公司),全自动生化分析仪(深圳雷杜生命科技)。

2 实验方法

2.1 动物模型的建立与分组 成年BALB/C小鼠24只,雌雄各半,于动物实验室分笼饲养1周,雌雄合笼交配,确认母鼠受孕后将12只孕鼠随机分为两组,其中6只孕鼠为I组,孕期正常喂养,分娩后随机抽取10只小鼠作为正常对照组,雌雄各

半。另 6 只孕鼠为Ⅱ组,从妊娠第 2 天开始给予恐吓,每日上午 09:00—11:00,下午 14:00—16:00,使用超声波驱鼠仪刺激孕鼠,致使其惊恐伤肾,直到小鼠出生后停止恐吓,使小鼠先天不足,随机抽取 10 只小鼠作为肾虚体质组,雌雄各半,观察各组小鼠一般状况^[7]。

模型特点:先天不足体质模型组小鼠在出生时即表现为体重较轻,身长较短,易惊等先天不足征象,与先天不足体质判断依据相符。

2.2 取材 造模结束称重后,小鼠眼底采血,Eppen-dorf 管收集,离心取血清,立即检测或于-80℃保存待用。

2.3 指标检测及观察

2.3.1 观察两组小鼠一般状况 观察两组小鼠形态、体重、饮食、活动能力等情况。

2.3.2 各组小鼠血液生化指标检测 各组小鼠生化指标:钙、氯、无机磷、肌酐、尿酸、ALT、AST、ALP、GLU、GSP、TG、TC 的检测交由武汉赛维尔生物科技有限公司应用全自动生化分析仪测定。

2.3.3 各组小鼠免疫球蛋白 IgG 水平检测 于武汉赛维尔生物科技有限公司购买的 Servicebio ELISA 试剂盒,按照试剂盒说明书进行操作。根据标准品的浓度和 OD 值做标准曲线,然后根据标准曲线方程计算出样本浓度。

2.4 统计学方法 使用 SPSS 26.0 统计软件,对各指标的不同分组间进行差异性分析。利用 Shapiro-Wilk 检验方法对计量资料进行正态性检验。计量资料满足正态性,不同分组各指标的比较用独立样本 *t* 检验方法,用 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示;计量资料不满足正态性的,不同分组的各指标比较用非参数 Mann-Whitney *U* 秩和检验方法,用 *M*(*P*₂₅,*P*₇₅)的形式表示。*P*<0.05 表明差异具有统计学意义,*P*<0.01 表明差异具有显著统计学意义。

3 结果

3.1 一般状况 正常对照组小鼠皮毛光亮润泽,小鼠反应灵敏,饮食、尿量正常,活动正常。肾虚体质模型组小鼠在出生时即表现为体积较小,3 周后,将母鼠取出,小鼠称重,肾虚体质组小鼠体重明显轻于正常对照组小鼠。且身长相对较短,毛发稀疏,胆小易惊,呈蜷缩状,活动量较少,食量较

小,与肾虚体质判断依据相符。
如表 1 所示,3 周时,与正常对照组比较,肾虚体质组的小鼠体重偏低,具有显著统计学意义(*P*<0.01)。

表 1 第 3 周体重比较结果($\bar{x} \pm s, g$)		
组别	<i>n</i>	3 周体重
正常对照组	10	13.89 ± 0.61
肾虚体质组	10	6.54 ± 2.31 ^{△△}

注:与正常对照组比较,^{△△}表示 *P*<0.01

3.2 各组小鼠血清生化指标

3.2.1 小鼠血液中钙、氯、无机磷的比较 如表 2 所示,与正常对照组比较,肾虚体质组小鼠血液钙(Ca)浓度有所升高,有显著统计学意义(*P*<0.01);肾虚体质组小鼠血液中氯(Cl)及无机磷(IP)的浓度均呈下降趋势,但无统计学意义。

表 2 Ca、Cl、IP 测定情况($\bar{x} \pm s, mmol/L$)				
组别	<i>n</i>	Ca	Cl	IP
正常对照组	10	2.46 ± 0.03	108.57 ± 1.06	2.99 ± 0.26
肾虚体质组	10	2.52 ± 0.02 ^{△△}	107.28 ± 1.36	2.67 ± 0.44

注:与正常对照组比较,^{△△}表示 *P*<0.01

3.2.2 小鼠血液中肌酐、尿酸的比较 如表 3 所示,与正常对照组比较,肾虚体质组小鼠血液中肌酐(Cr)及尿酸(UA)浓度呈增高趋势,但无统计学意义。

表 3 Cr、UA 测定情况($\bar{x} \pm s, \mu mol/L$)			
组别	<i>n</i>	Cr	UA
正常对照组	10	33.03 ± 4.93	81.35 ± 13.39
肾虚体质组	10	45.17 ± 14.14	120.77 ± 63.31

3.2.3 小鼠血液中 ALT、AST、ALP 的比较 如表 4 所示,与正常对照组比较,肾虚体质组小鼠血液中的 ALT、AST 浓度均有升高趋势,但无统计学意义。肾虚体质组小鼠血液 ALP(碱性磷酸酶)浓度高于正常对照组,具有统计学意义(*P*<0.05)。

表 4 ALT、AST、ALP 测定情况($\bar{x} \pm s, U/L$)				
组别	<i>n</i>	ALT	AST	ALP
正常对照组	10	40.23 ± 6.84	59.12 ± 5.66	381.37 ± 9.78
肾虚体质组	10	43.10 ± 3.23	64.30 ± 8.17	480.43 ± 73.29 [△]

注:与正常对照组比较,[△]表示 *P*<0.05

3.2.4 小鼠血液中 GLU、GSP 的比较 如表 5 显示,与正常对照组比较,肾虚体质组小鼠血液中的葡萄糖(GLU)呈下降趋势,但无统计学意义。肾

虚体质组小鼠血液中的 GSP(果糖胺)呈下降趋势,但无统计学意义。

表 5 GLU、GSP 测定情况($\bar{x} \pm s$, mmol/L)			
组别	n	GLU	GSP
正常对照组	10	12.19 \pm 1.55	4.32 \pm 0.56
肾虚体质组	10	11.44 \pm 1.14	4.17 \pm 0.73

3.2.5 小鼠血液中 TG、TC 的比较 如表 6 所示,与正常对照组比较,肾虚体质组小鼠血液 TG(甘油三酯)升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。与正常对照组比较,肾虚体质组小鼠血液总胆固

醇(TC)呈降低趋势,但无统计学意义。

表 6 TG、TC 测定情况($\bar{x} \pm s$, mmol/L)			
组别	n	TG	TC
正常对照组	10	1.42 \pm 0.16	3.18 \pm 0.08
肾虚体质组	10	1.69 \pm 0.11 [△]	2.98 \pm 0.34

注:与正常对照组比较,[△]表示 $P < 0.05$

3.3 免疫球蛋白检测结果 通过表 7 可知,免疫球蛋白 IgG 浓度在正常对照组和肾虚体质组上差异具有统计学意义($P < 0.05$),肾虚体质组小鼠血液免疫球蛋白 IgG 浓度低于正常对照组。

表 7 IgG 浓度比较结果				
变量	正常对照组(n=10)	肾虚体质组(n=10)	Z	p
IgG(ng · mL ⁻¹)	9843130.54(7285044.09,11271770.49)	7316762.66(5097592.71,8567912.93) [△]	-2.268	0.023 [△]

注:与正常对照组比较,[△]表示 $P < 0.05$

4 讨论

体质是因脏腑、经络、气血、阴阳等的盛衰偏颇而形成的人体素质特征^[1]。身体的素质特征根据脏腑气血阴阳的功能状态以及邪气的有无,分为正常体质与病理体质两大类^[8]。体质决定了健康状况,人体从健康到亚健康再到疾病的发展过程,关键因素就是体质的特征。疾病发生是以一定的病理体质为主要物质基础的,是病症形成和表现的基础,具有相关疾病发生的倾向性^[9]。肾虚体质是临床最常见的病理体质类型之一。中医学认为肾为先天之本,其功能主要有主藏精,主管人体的生长发育与生殖,主水,主纳气,在体合骨,生髓通脑,其华在发,开窍于耳。肾虚体质的小儿往往容易出现肾精不足,在婴幼儿可表现为生长发育不良,出现五迟(立、行、齿、发、语迟)、五软(头项软、口软、手软、足软、肌肉软)等现象,视为先天不足。先天不足的婴幼儿往往发育不良,免疫力低下,自我调节能力、适应环境能力和康复自愈能力都比健康婴幼儿低下^[10]。与健康婴幼儿相比较,肾虚体质婴幼儿生长发育缓慢,免疫系统较弱,抗病能力低下。中医学认为,“气”是构成人体及维持生命活动的最基本物质,是促进人体生长发育及抵御外邪的重要因素。“气”又分为元气、宗气、营气及卫气,其中“卫气”能够抵抗外邪侵袭,自我调节,维持机体生理功能的稳定,促进经络气血的循行,清除体内病原物质的作用与免疫系统的功能十分相似^[11]。有研究发现第二道防线

中免疫细胞均由造血干细胞分化而来,根据“肾主骨”“藏精”“生髓”理论认为“肾骨卫气”参与了体内固有免疫反应中病原微生物的清除^[12]。《灵枢·营卫生会》云:“卫出于下焦。”指出了卫气功能与肾藏象密切相关,那么卫气功能的盛衰与免疫功能的强弱同样具有密切的联系^[13]。

新生儿元气未散,其抗病能力的强弱取决于先天禀赋。新生儿主要依靠通过母体胎盘输入的免疫球蛋白 IgG 起到免疫保护作用。IgG 是血清中含量最多的一种免疫球蛋白,约占血清总免疫球蛋白量的 80%,在免疫系统的防御功能中发挥着重要作用。未感染其他病原的新生儿体内主要的免疫球蛋白就是 IgG,可见免疫球蛋白 IgG 水平的高低可以用来说明新生儿的抗病能力^[14]。本实验检测小鼠血液 IgG 浓度发现,与正常对照组相比,肾虚体质组小鼠血液免疫球蛋白 IgG 浓度低于正常对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。有相关研究表明,慢性肾炎患者,免疫球蛋白 IgG 的降低是肾阳虚的主要表现^[15]。李丽华等^[16]通过对 100 例反复呼吸道感染气虚体质患儿的免疫球蛋白进行检测,分析发现免疫球蛋白 IgA、IgG 与正常对照组比较均有一定程度的紊乱。黄晓利等^[17]采用四君子汤联合穴位按摩法治疗呼吸道感染,发现脾虚患儿治疗前后血清 IgG 水平较治疗前显著升高。谭艳^[18]采取中医体质类型病症结合免疫调节,治疗常见小儿湿疹、荨麻疹等变态反应性皮肤病疾病,通过改善病儿体质及免疫功能提高疗效。

效果显著,是小儿体质学理论与免疫学结合在临床上的成功运用。肾虚体质小鼠血液免疫球蛋白IgG浓度发生了变化,说明肾虚体质亲代对子代的免疫球蛋白水平产生了影响,同时也影响了子代的抗病能力。3周时各组小鼠体重进行比较发现,肾虚体质小鼠体重明显轻于正常对照组小鼠体重,差异具有显著统计学意义($P < 0.01$)。通过观察发现肾虚体质小鼠身长相对较短,毛发稀疏,胆小易惊,呈蜷缩状,活动量较少,食量较小,与肾虚体质判断依据相符^[19]。说明了亲代体质特点对子代体质的形成具有重要影响,并进一步影响子代生长发育及抗病能力。本实验研究结果发现,与正常对照组相比,肾虚体质组小鼠血液ALP、Ca、TG升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。碱性磷酸酶(ALP)的升高是反映小儿发育不良,佝偻病,软骨病,黄疸等疾病的重要依据。甘油三酯(TG)偏高说明其代谢功能失常,往往与甲状腺功能低下,肾病综合征等疾病相关。肌酐、尿酸浓度两组相比较虽无统计学意义,但相较于正常对照组都呈增高趋势。血液肌酐及尿酸浓度可以反映肾小球的滤过功能,肌酐及尿酸呈升高趋势表明肾小球过滤功能失常^[20]。本实验结果表明肾虚体质组与正常对照组小鼠血液中的成分确实发生了变化,且与正常对照组相比较,有显著差异。证明了亲代体质特征对子代鼠体质的形成以及对相关疾病的易感性有一定的影响。

本实验利用现代科学方法,探索了中医学小儿肾虚体质的相关科学依据,阐释了亲代体质对子代体质形成的先天因素作用的内涵,为进一步探索中医小儿体质的现代化研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 孙理军. 中医体质理论研究述评[J]. 陕西中医药大学学报, 2016, 39(6): 1-7.
- [2] 王徐静, 王晓鸣. 小儿中医体质类型研究述要[J]. 河南中医, 2011, 31(12): 1347-1350.
- [3] 张泽, 张君. 小儿体质中医研究进展[J]. 中医临床研究, 2013, 5(2): 118-120.
- [4] 黄晓利. 中医学对小儿体质的研究初探[J]. 中医儿科杂志, 2013, 9(1): 6-8.
- [5] 丁舟. 基于古籍整理的肾藏象理论研究[D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2018.
- [6] 李婷, 梁超. 中医禀赋与疾病的相关性[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2016, 4(12): 124-126.
- [7] 孙理军, 李翠娟, 王震, 等. 肾虚质实验动物模型的构建方法与评价[J]. 时珍国医国药, 2013, 24(1): 247-249.
- [8] 刘子瑄, 李翠娟. 基于治未病理论的肾藏象相关疾病防治研究[J]. 陕西中医, 2015, 36(2): 202-203.
- [9] 王琦. 中医体质三论[J]. 北京中医药大学学报, 2008, 31(10): 653-655.
- [10] 张天佐. 中医“先天”理论的文献研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2010.
- [11] 李奕祺. 肾主外的理论研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2002.
- [12] 李晶, 赵良辰, 唐幸林子, 等. 中医“卫气”与现代免疫调节及肿瘤发生的关系[J]. 中医肿瘤学杂志, 2019, 1(2): 18-22.
- [13] 黄飞, 刘铜华, 樊雅梦. 纵论“卫出下焦”乃《黄帝内经》本义[J]. 西部中医药, 2018, 31(5): 42-46.
- [14] 钟柏松, 苏树蓉, 石锦萍, 等. 易感儿体质与体液免疫变化关系的研究[J]. 上海中医药杂志, 1999, 5(3): 39-40.
- [15] 孙理军. 论《内经》体质理论与免疫学的关系[J]. 陕西中医学院学报, 2001, 24(1): 7-8.
- [16] 李丽华, 陈小凤, 杨铭昊, 等. 反复呼吸道感染患儿体质与免疫功能关系的探讨[J]. 中国中西医结合儿科学, 2009, 1(6): 535-538.
- [17] 黄晓利, 张艳君. 四君子汤联合穴位按摩对脾虚体质反复呼吸道感染患儿免疫功能的影响[J]. 四川中医, 2013, 31(2): 64-66.
- [18] 谭艳, 李立翠. 体质病症结合及中医免疫调节方法治疗小儿变态反应性皮肤病疾病[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(8): 881-882.
- [19] 薛昶, 孙理军, 郝蕊. 肾虚体质大鼠生理指标变化的实验研究[J]. 陕西中医, 2008, 29(4): 505-506.
- [20] 缪淑贤, 颜群, 卢英, 等. 血清肌酐、尿素、尿酸和胱抑素C在肾功能损伤的诊断价值[J]. 江苏医药, 2018, 44(6): 661-663.

(收稿日期: 2020-01-14 编辑: 崔春利)