

中性粒细胞游出对血管通透性的影响及地塞米松的抗炎机理¹

侯艳宁、唐汝愚、姚丹帆 (第三军医大学药理教研室, 重庆 630038)

摘要 在鹿角菜胶所致大鼠腹膜炎, 渗出蛋白量随循环 Neu 被氮芥 iv 或 ^{60}Co 照射耗竭而显著降低。地塞米松抑制 Neu 游出, 亦使蛋白渗出显著减少, 但在组胺致炎时只抑制 Neu 游出, 而不减少蛋白渗出, 提示 Neu 游出是增加血管通透性的因素之一。地塞米松抗炎的初始作用是抑制 Neu 游出, 其机理与 Neu 内 cAMP 水平升高及溶酶体酶释放减少有关。

关键词 嗜中性白细胞; 地塞米松; 角叉菜; 组胺; 腹膜炎; 渗出液和滤出液; 白细胞游走

致炎剂导致血管通透性增加有赖于循环中性粒细胞(Neu)的存在, Neu 浸润可能是使血管通透性增加的重要因素之一⁽¹⁾。但耗竭循环 Neu 和补体并不影响致炎部位血管通透性增加⁽²⁾。可见 Neu 游出是否影响血管通透性尚

1987年2月2日收稿 1987年9月9日接受

¹本文于1986年在第二届全国抗炎免疫药理学术会议(泰安)和国际传统药及现代药理学术会议(北京)上宣读。

有争议。本实验探讨不同致炎剂致炎时 iv 氮芥或 ^{60}Co 全身照射耗竭循环 Neu 对血管通透性(血浆蛋白渗出)的影响及地塞米松的抗炎作用机理。

材料和方法

材料 Wistar 大鼠 343 只, 体重 $213 \pm \text{SD} 36 \text{ g}$, ♂, 鹿角菜胶(carrageenin), 辽宁省药物研究所提供。组胺双盐酸盐(histamine), 匈牙利产品。花生四烯酸(arachidonic acid), 贵阳医学院药学系提供。地塞米松磷酸钠注射液(dexamethasone)广州天心制药厂生产。cAMP 放免分析盒, 上海第二医科大学同位素室提供。 β -葡萄糖醛酸酶(β -G)测定反应基质, 本校野战外科研究所药理室提供。

模型制作 大鼠 ip 鹿角菜胶(15 mg/kg)或组胺(30 mg/kg)致炎, 分别在 2 或 3 h 后脱颈处死, 立即 ip 0.2% EDTA Hank's 液 5 ml

灌洗腹腔，用玻璃吸管将腹腔内全部液体吸出置于刻度离心管，放置冰浴中，计量液体容量并作白细胞计数，然后将渗液在冰浴下离心($1890 \times g$, 10 min)取上清液作蛋白定量和 β -G测定，沉降的白细胞经进一步处理作细胞内cAMP含量测定。

分析方法 蛋白定量，采用比色法⁽³⁾。 β -G测定，采用酚酞葡萄糖醛酸比色法⁽⁴⁾。Neu内cAMP提取⁽⁵⁾，用放免分析法测定⁽⁶⁾。

统计处理 组间显著性比较采用单因素方差分析。两个变量间采用线性相关分析。

结 果

致炎后渗液中各项指标的变化 鹿角菜胶致炎组和生理盐水对照组比较，腹腔渗液中的Neu数和蛋白含量均增加($p < 0.01$)。渗液中 β -G含量亦升高($p < 0.01$)。而Neu内cAMP水平虽有下降，但不显著($p > 0.05$)。组胺致炎组和对照组比较，渗液中的Neu数和蛋白含量均增高($p < 0.01$)，而渗液中的Neu内cAMP水平和 β -G含量均无显著性改变($p > 0.05$)。

循环 Neu 被氯芥耗竭后的 大鼠对鹿角菜胶致炎的反应 于致炎前3 d经大鼠尾iv盐酸氯芥1.2, 2.4, 3.6 mg/kg，不同程度地耗竭循环Neu，iv后d4给ip鹿角菜胶致炎。结果显示，随循环Neu数减少，渗液中的Neu数和蛋白含量平行下降，两者呈显著正相关(图1, $r = 0.999$)。

循环 Neu 被⁶⁰Co 全身照射耗竭后的大鼠对几种致炎剂的反应 大鼠经⁶⁰Co(9 Gy)全身

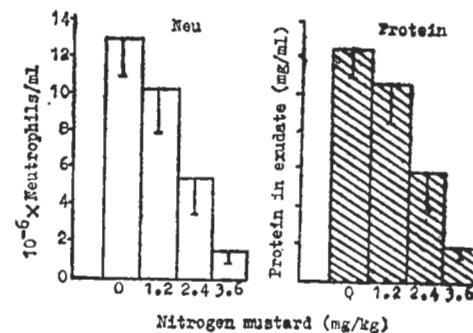


Fig 1. Reduction of carrageenin-induced neutrophil (Neu) emigration and protein exudate in Neu-depleted rats by nitrogen mustard. $n = 10$, $\bar{x} \pm SD$

照射后d4，循环Neu数降至 $869 \pm 415/\text{mm}^3$ 。分组ip鹿角菜胶、花生四烯酸或组胺致炎。结果表明，和未照射的致炎组相比较，鹿角菜胶或花生四烯酸致炎反应显著减轻，渗液量及渗液中的蛋白含量均下降($p < 0.01$)，而组胺致炎组和未照射组比较，渗液量及渗液中的蛋白含量均无显著变化($p > 0.05$ ，表1)。

地塞米松对鹿角菜胶致炎时 Neu 功能及蛋白渗出的影响 致炎前1 h给im地塞米松0.15, 0.5, 1.5 mg/kg，其防治作用呈现出量-效关系，随地塞米松剂量增大，渗液中的Neu数和蛋白含量相应下降，两者呈显著正相关(表2, $r = 0.997$)。

和对照组比较，大、中剂量地塞米松防治组，渗液中Neu内cAMP水平显著升高。 β -G含量显著下降，两者呈显著负相关(表3, $r = 0.996$)。

地塞米松对组胺致炎反应的影响 地塞米松三个剂量组(0.15, 0.5, 1.5 mg/kg)于组胺致炎前1 h im，其防治作用的量-效关系显示，

Tab 1. Responses of Neu-depleted rats by ⁶⁰Co to carrageenin (Car), arachidonic acid (AA) or histamine (His) vs normal rats. $n = 9$, $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

Group	Peritoneal exudate (ml)		Neu in exudate ($1 \times 10^6/\text{ml}$)		Protein in exudate (mg/ml)	
	Normal	Neu-depleted	Normal	Neu-depleted	Normal	Neu-depleted
Saline	3.9 ± 0.2	—	3.9 ± 0.8	—	3.6 ± 0.9	—
Car	6.2 ± 0.6	3.9 ± 0.2**	13.1 ± 2.3	1.5 ± 0.3***	12.8 ± 1.4	3.6 ± 1.5***
AA	5.2 ± 0.5	3.9 ± 0.4**	4.4 ± 1.3	1.8 ± 0.5***	9.2 ± 1.4	2.2 ± 1.0***
His	5.1 ± 0.3	4.6 ± 0.3*	9.8 ± 1.7	2.2 ± 0.6***	9.7 ± 1.7	7.7 ± 2.6*

Tab 2. Effects of dexamethasone on Neu emigration and protein exudate induced by carrageenin/histamine vs normal saline control. n=10 rats, $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$, *** $p < 0.01$

Dexamethasone (mg/kg)	Peritoneal exudate(ml)	Neutrophil (1×10^{-6} /ml)	Inhibition(%) Neu	Protein (mg/ml)	Inhibition(%) Protein
Carrageenin					
Saline	6.16 \pm 0.26	13.12 \pm 2.31	—	12.80 \pm 1.45	—
0.15	5.42 \pm 0.44	9.57 \pm 1.04**	27.1	9.17 \pm 1.32**	28.4
0.50	4.90 \pm 0.29	8.85 \pm 2.02***	38.6	8.25 \pm 1.31**	35.6
1.50	4.51 \pm 0.24	6.71 \pm 1.32***	48.9	6.67 \pm 1.27***	47.9
Histamine					
Saline	5.06 \pm 0.28	9.76 \pm 1.68	—	9.69 \pm 1.71	—
0.15	4.62 \pm 0.26	8.67 \pm 2.44*	10.3	9.41 \pm 2.27*	2.9
0.50	4.56 \pm 0.32	6.90 \pm 1.49**	29.3	9.22 \pm 2.14*	4.8
1.50	4.44 \pm 0.23	6.07 \pm 1.46**	37.8	8.89 \pm 0.95*	8.4

大、中剂量地塞米松组可抑制 Neu 游出($p < 0.05$)，小剂量组的抑制作用不显著。但地塞米松三个不同剂量组对蛋白渗出均无显著抑制作用(表 2)。

Tab 3. Effects of dexamethasone on cAMP level in Neu and release of β -G in rat peritoneal exudate induced by carrageenin. n=10, $\bar{x} \pm SD$. * $p > 0.05$, ** $p < 0.05$

Dexamethasone (mg/kg)	cAMP in Neu (pmol/ 10^6 cell)	β -G (unite)
Saline	0.759 \pm 0.12	2213 \pm 492
0.15	0.960 \pm 0.21*	2074 \pm 760*
0.50	1.187 \pm 0.49**	1862 \pm 244**
1.50	1.224 \pm 0.93**	1813 \pm 352**

讨 论

本实验通过用不同剂量氮芥不同程度地耗竭循环 Neu，观察鹿角菜胶致炎反应，发现随循环 Neu 数减少，炎症反应减轻，渗液中的 Neu 数和蛋白含量相应下降。提示 Neu 游出对血管通透性有直接影响，Neu 游出是引起血管通透性增加的重要因素之一。当循环 Neu 被 60 Co 全身照射重度耗竭时，鹿角菜胶或花生四烯酸均不能引起炎症渗出。进一步表明这两种致炎剂引起的血管通透性增加有赖于循环 Neu 的存在，在无 Neu 参与时，均不能引起血

管通透性增加。反之，组胺导致血管通透性增加则无需循环 Neu 的存在，因为组胺可直接作用于血管内皮细胞而使血管通透性增加。此实验方法与文献不同，而结果一致⁽¹⁾。但亦有报道与此不一⁽²⁾。

糖皮质激素的抗炎作用是多方面的，一般将其降低血管通透性与抑制 Neu 游出相提并论。本实验表明，地塞米松在鹿角菜胶致炎时，抑制 Neu 游出，亦使蛋白渗出显著减少，但在组胺致炎时只抑制 Neu 游出，而不能对抗组胺直接引起血管通透性增加的作用。这也提示地塞米松抗炎的初始作用可能是抑制 Neu 游出，继之控制血管通透性增加。

炎症反应时降解 cAMP 的磷酸二酯酶(cAMP-PDE)活性升高，Neu 内 cAMP 水平降低，与炎症的进程密切相关^(7,8)。我们的实验证实，地塞米松可使渗出的 Neu 内 cAMP 水平升高，从而使溶酶体酶(β -G)释放减少，以减轻对血管壁的损害，从而发挥其抗炎作用。

参 考 文 献

- 1 Wedmore CV, Williams TJ. Control of vascular permeability by polymorphonuclear leukocytes in inflammation. *Nature* 1981; 289 : 664
- 2 Howes EL, Wong KL, Hartiala KT, Webster

- RO, Rosenbaum JT. Complement and polymorphonuclear leukocytes do not determine the vascular permeability induced by intraocular LPS. *Am J Pathol* 1985; 118 : 35
- 3 Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall JR. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951; 193 : 265
- 4 程世模、蒋耀光、陈昌荣. 胃液 β -葡萄糖醛酸酶活力测定对胃癌诊断的价值. 第三军医大学学报 1981; 3 : 70
- 5 Shi J, Guan YZ, Xie SW. Hog lymphocyte E rosette formation and its effect on change in endogenous lymphocyte cAMP levels. *Chin Med J* 1980; 93 : 709
- 6 Gilman AG. A protein binding assay for adenosine 3',5'-cyclic monophosphate. *Proc Natl Acad Sci USA* 1970; 67 : 305
- 7 Deporter DA, Dunn CJ, Willoughby DA. Cyclic adenosine 3',5'-monophosphate and the mechanism of action of three common anti-inflammatory drugs. *Br J Pharmacol* 1979; 65 : 163
- 8 Naik SR. Increased cyclic AMP-phosphodiesterase activity during inflammation and its inhibition by antiinflammatory drugs. *Eur J Pharmacol* 1984; 104 : 253

Acta Pharmacologica Sinica 1988 May; 9 (3) : 258-261

Effects of neutrophils emigration on vascular permeability and anti-inflammatory mechanism of dexamethasone

HOU Yan-Ning, TANG Ru-Yu, YAO Dan-Fan

(Department of Pharmacology, Third Military Medical College, Chongqing 630038)

ABSTRACT In rat peritonitis induced by ip carrageenin, depletion of circulating neutrophils (Neu) either by iv nitrogen mustard (1.2, 2.4, 3.6 mg/kg) or by exposure to ^{60}Co (9 Gy) caused the decrease in number of Neu and amount of protein in exudate. However, in histamine-induced peritonitis, although the depletion of circulating Neu by ^{60}Co decreased Neu emigration, the protein exudate was not reduced. Dexamethasone (0.15, 0.5, 1.5 mg/kg) im 1 h before ip carrageenin suppressed both Neu emigration and protein exudate. On the other hand, dexamethasone only inhibited Neu emigration, but had no significant inhibitory effect on

protein exudate induced by histamine.

The results revealed that the increase in vascular permeability induced by carrageenin was dependent on the presence of circulating Neu, so that Neu emigration may be responsible for the exudation of plasma protein through the blood vessel wall. In addition, the primary action of dexamethasone may be an inhibitory action on Neu emigration and then control the vascular permeability.

KEY WORDS neutrophils; dexamethasone; carrageenin; histamine; peritonitis; exudates and transudates; leukocyte migration