维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253-3626(2006)06-0845-03

外源性给予喹啉酸对急性和亚急性炎症动物模型的作用

熊 缨,余华荣,杨 菊,周岐新

(重庆医科大学药学院药理教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:考察喹啉酸对小鼠急性和亚急性炎症的影响。方法:选取昆明种小鼠或者 Wistar 大鼠,分别进行喹啉酸对二甲苯耳壳肿胀小鼠模型、羧甲基纤维素(CMC)囊法大鼠模型、醋酸 - 伊文思兰腹腔毛细血管通透性模型、大鼠棉球肉芽肿模型的影响,以及对小鼠碳粒廓清法模型的影响。结果:喹啉酸对二甲苯所致小鼠耳壳肿胀、CMC 所致大鼠背囊内白细胞聚集和醋酸所致小鼠腹腔毛细血管通透性增加以及大鼠棉球肉芽肿的增生有明显的抑制作用,对小鼠碳粒廓清法测得的巨噬细胞吞噬功能亦有抑制作用。结论:喹啉酸对急性和亚急性炎症具有较好的抗炎作用和一定的免疫抑制作用。

【关键词】喹啉酸;炎症

【中国图书分类法分类号】R977.4 【文献标识码】A 【收稿日期】2006-04-03

Study on the effects of exogenous quinolinic acid on acute and subacute inflammation in animal models

XIONG Yin, et al

(*Department of Pharmacology, School of Pharmacy, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective:* To investigate the anti-inflammatory effects of quinolinic acid. *Methods:* Kunming mouse or Wistar rat was selected to proceed experiments. Influences of quinolinic acid on tumidness caused by dimethylbenzene in mouse's ear, on wandering of rat WBC caused by CMC injection, on increasement of mouse capillary vessel permeability caused by acetic acid, on granuloma in rat's armpit caused by tampon and phagocytosis of mouse were investigated, respectively. *Results:* Obvious suppression of all the inflammatory models was observed. *Conclusion:* Exogenous quinolinic acid is endowed with quite evident anti-inflammatory effects on either acute or subacute animal models with somewhat immunological inhibition.

【Key words】Quinolinic acid; Inflammation

喹啉酸是色氨酸通路的代谢产物,在严重感染过程中或严重创伤后持续增高[1,2]。因此,有人认为这一化合物很可能作为内源性抗炎物质起作用,并可能在严重炎症情况下对机体有一定保护作用。据报道,采用雄性 SD 大鼠足底注射角叉菜胶致水肿模型和角叉菜胶海绵植入模型,在足底注射角叉菜胶前 1 h 腹腔注射喹啉酸,可使角叉菜胶所致的炎症减轻达 80%,减低渗出体积,并抑制角叉菜胶海绵植入引起的白细胞游走;3 h 后喹啉酸的活性开始减弱;但未能减轻花生四烯酸等所致的水肿[3]。

为了进一步研究喹啉酸在炎症过程中的作用,我们选用了急性和亚急性炎症的动物模型,包括小鼠二甲苯模型、醋酸 - 伊文思兰模型、碳粒廓清法模型和大鼠 CMC 囊法模型、棉球肉芽肿模型,通过外源性给予喹啉酸进行试验研究。现将结果报告如下。

作者介绍:熊 缨(1974-),女,博士,主要研究方向:药理学。

1 材料与方法

1.1 实验动物

雄性 NIH 小鼠,清洁级,体重 18~22 g;雄性 Wistar 大鼠,清洁级,体重 200 ± 20 g,均由重庆医科大学实验动物中心提供。上述动物购回后在实验室环境(温度 22~24℃,相对湿度 50%~60%)下饲养 3 日,确认健康无病后用于试验。

1.2 药物及试剂

喹啉酸标准品,购自 Aldrich 公司,批号 WI53201。用三蒸水配制成 5 mg/ml 溶液。

阿司匹林原粉,新华制药有限公司生产,批号 0408075。用三蒸水配制成 12 mg/ml 溶液。

伊文思兰,Fluka 产品,上海化学试剂采购站分装。批号 04-03-01。

维普资讯 http://www.cqvip.com

醋酸泼尼松,仙居制药有限公司生产,批号 040772。

醋酸地塞米松,仙居制药有限公司生产,批号 040235。

中华墨汁,北京一得阁制。临用时以生理盐水稀释 5 倍。

其他试剂均为分析纯。

1.3 实验仪器

YP600 电子天平,FA1004 电子分析天平, 上海第二天平仪器厂生产;Vitalab micro 半自动生化分析仪;TCL-16G 冷冻离心机,80-2B 离心机, 上海安亭科学仪器厂产品;723 型分光光度计,上海第二分析仪器厂生产。

1.4 动物分组

称重记录后随机分为 4 组:空白对照组(生理盐水)、阳性药物组(详见试验步骤)、大剂量喹啉酸组(0.35 mg/g)、小剂量喹啉酸组(0.07 mg/g)。

1.5 实验方法

1.5.1 喹啉酸对小鼠腹腔毛细血管通透性的影响 所用阳性药物为阿司匹林(0.078 mg/g)。腹腔注射给药后 1 h、3 h、6 h,每组各取 5 只小鼠, 尾静脉注射 2 %伊文思兰溶液(0.01 ml/g),同时腹腔注射 0.2 %的醋酸溶液 0.2 ml/ 只。20 min 后处死,以 6 ml 生理盐水冲洗腹腔,收集冲洗液,离心,取上清液,于半自动生化分析仪上 590 nm 处比色,以吸收度(OD)值判断腹腔毛细血管通透性。

1.5.2 喹啉酸对二甲苯所致小鼠耳壳肿胀的影响 所用阳性药物为阿司匹林(0.078 mg/g)。腹腔注射给药后 30 min,各鼠右耳外侧正中处分别滴加二甲苯 50 μl 致炎, 左耳作对照。致炎后 0.5 h、2 h、4 h、6 h,每组各取 5 只小鼠,尾静脉注射给予 0.5%伊文思兰液 0.01 ml/g,30 min 后处死。沿耳廓基线剪下两耳,用 9 mm 直径打孔器各在左、右耳同一部位打下圆耳片,以两耳片重量差为肿胀度指标。

1.5.3 喹啉酸对大鼠 CMC 囊白细胞游走的影响 所用阳性药物为醋酸泼尼松(7.5 mg/kg)。试验前 1 天用灭菌注射器吸取经注射用生理盐水洗涤的空气 5 ml,注射于大鼠肩背部正中形成圆形气囊。次日各鼠按体重腹腔注射给予药液或生理盐水,1 h 后各于气囊内注入高压灭菌的 0.5%CMC 液 5ml 致炎。致炎后 1h、3h、6h,每组各取 5 只大鼠,用灭菌注射器穿刺 CMC 囊,吸取囊内液 0.1 ml(吸取囊液前用手指轻轻按摩 CMC 囊四周使囊液均匀), 加入于 0.05%亮甲酚蓝液 2 ml 中,轻轻充分摇匀,取混合液灌入白细胞计数盘上在显微镜下计数白细胞,换算为囊液中白细胞总数。

1.5.4 喹啉酸对大鼠棉球肉芽肿的影响 所用阳性药物为醋酸地塞米松(0.75 mg/kg)。在乙醚浅麻醉和无菌手术条件下,于大鼠左右腹股沟处各剪一小口,以血管钳扩充皮下组织,每侧皮下植入一只灭菌棉球(20 ± 1 mg),而后缝合。术后肌注青霉素 1 次抗感染。每组 10 只大鼠, 每天注射给药 1 次,连续 7 天。第 8 天断头处死,剥离带肉芽组织的棉球,剔除脂肪组织,60 ℃烘烤 12 h 后称重,带肉芽组织的棉球重量减去棉球原始重量即为肉芽重量。用 t 检验比较各组肉芽肿重量差异,并计算抑制率。

1.5.5 喹啉酸对小鼠碳粒廓清法廓清指数的影响 所用阳性药物为环磷酰胺(100 mg/kg)。每日肌注给药 1 次,连续给 8 天。末次给药后 1 h、2 h、4 h、6h,每组各取 5 只小鼠,于尾静脉注入稀释 5 倍的中华墨汁 0.1 ml/10g。注入墨汁后 1 min、5 min 用玻璃毛细管分别从球后静脉丛取血 20 μl,溶于 3 ml 0.1% Na_2CO_3 溶液中摇匀, 以分光光度计在波长 650 nm 下比色,测定 OD 值,计算廓清指数 K。

2 结果与分析

2.1 喹啉酸对早期炎症的影响

醋酸 - 伊文思兰模型、二甲苯耳壳肿胀模型均为炎症早期模型。具体数据见表 1。

在 1 h 至 6 h 内, 喹啉酸对醋酸所致小鼠腹腔毛细血管的通透性增高有明显的抑制作用。大剂量喹啉酸、小剂量喹啉酸和阳性药物阿司匹林相比,效果差异不显著。

阿司匹林(0.078 mg/g)和两种剂量的喹啉酸均能显著抑制二甲苯引起的小鼠耳壳肿胀。阿司匹林的抑制作用达峰时间为 4 h, 喹啉酸的抑制作用达峰时间为 2 h。在 2~4 h 内,喹啉酸对二甲苯所致小鼠耳壳肿胀的抑制作用优于阿司匹林,且小剂量喹啉酸的抑制作用与阿司匹林有显著差异。大剂量喹啉酸和阿司匹林的抑制作用无显著差异。小剂量喹啉酸的抑制作用优于大剂量喹啉酸。

2.2 喹啉酸对炎症中期的影响

CMC 囊法是炎症中期模型。具体数据见表 1。

CMC 致炎后 3 h,对照组 CMC 囊内白细胞游出已有一定数目,至 6 h 的白细胞数明显增加。醋酸泼尼松于 7.5 mg/kg 剂量能显著抑制 CMC 囊炎灶内两个时相的白细胞游出。大剂量喹啉酸可显著抑制两个时相炎灶内的白细胞聚集,表明其对炎症中期的细胞反应也有明显抑制作用,且该抑制作用的出现时间早于醋酸泼尼松。小剂量喹啉酸未表现出明显的抑制作用。

2.3 喹啉酸对炎症晚期的影响

棉球肉芽肿法是炎症晚期模型。具体数据见表 1。

地塞米松、大剂量喹啉酸、小剂量喹啉酸均可显著抑制亚急性炎症时成纤维细胞的增生。地塞米松的抑制作用优于大剂量、小剂量的喹啉酸,大剂量喹啉酸的抑制作用优于小剂量喹啉酸,但三组数据间无显著性差异。

2.4 喹啉酸对免疫功能的影响

碳粒廓清法衡量的是对免疫功能的影响。具体

维普资讯 http://www.cqvip.com

表 1 喹啉酸对各个动物模型的作用情况

组别	指标	对照组	阳性药物组	大剂量喹啉酸组	小剂量喹啉酸组
1h	腹腔冲洗液 OD 值	0.615 ± 0.016	0.401 ± 0.112*	0.511 ± 0.061**	0.480 ± 0.029***
	耳壳肿胀度 (mg)	7.10 ± 0.81	7.63 ± 0.79	8.10 ± 0.72	7.23 ± 1.09
	WBC值(10^3)	9.72 ± 1.6	10.6 ± 4.7	9.2 ± 3.2	10.3 ± 4.8
	廓清指数	0.077 ± 0.018	0.026 ± 0.012**	0.033 ± 0.015*	0.041 ± 0.016*
3h	腹腔冲洗液 OD 值	0.724 ± 0.056	0.413 ± 0.096**	0.549 ± 0.051**	0.489 ± 0.047**
	耳壳肿胀度 (mg)	8.27 ± 0.51	7.23 ± 0.46*	6.81 ± 0.56*	4.00 ± 0.92***
	WBC值(10^3)	17.5 ± 3.8	9.4 ± 3.5*	10.4 ± 2.9*	16.2 ± 2.5
	廓清指数	0.073 ± 0.017	0.020 ± 0.005**	0.026 ± 0.008*	0.030 ± 0.011*
6h	腹腔冲洗液 OD 值	0.759 ± 0.069	0.502 ± 0.057**	0.602 ± 0.053*	0.543 ± 0.067*
	耳壳肿胀度 (mg)	12.07 ± 2.20	6.70 ± 1.32*	8.61 ± 0.75*	8.10 ± 0.65*
	WBC值(10^3)	22.3 ± 2.6	13.9 ± 1.6**	16.4 ± 2.3**	20.9 ± 3.3
	廓清指数	0.070 ± 0.012	0.028 ± 0.009*	0.047 ± 0.009*	0.057 ± 0.010
棉球肉芽肿重(mg)		40.8 ± 1.8	26.4 ± 5.3**	26.4 ± 5.3**	33.6 ± 4.3*

与对照组相比，*P<0.05，**P<0.01，***P<0.001

数据见表 1。

环磷酰胺对小鼠巨噬细胞吞噬功能具有极为显著的抑制作用。大剂量喹啉酸和小剂量喹啉酸则具有显著的抑制作用。大剂量喹啉酸的抑制作用优于小剂量喹啉酸。大剂量喹啉酸组和小剂量喹啉酸组之间的差异没有统计学意义。4 h 时环磷酰胺组与小剂量喹啉酸组的廓清指数有显著性差异，6 h 时环磷酰胺组与大、小剂量喹啉酸组的廓清指数均有显著性差异。

3 讨 论

一般而言，炎症可分为早、中、晚三期，即血管反应期、细胞反应期及炎灶屏障形成期。血管反应期以毛细血管扩张、通透性亢进及渗出水肿为主；细胞反应期以白细胞向炎灶内聚集为主，这是致炎因子诱生体内多种炎症介质而引起的白细胞向炎灶的趋化运动，并由此而诱发机体炎症－免疫反应；炎灶屏障形成则以纤维组织增生为主。本试验充分考虑到了炎症的 3 个阶段，采用了 4 种急性炎症动物模型（醋酸致小鼠腹腔毛细血管通透性增高模型、二甲苯致小鼠耳壳肿胀模型、碳粒廓清法模型和大鼠 CMC 囊法模型）以及 1 种亚急性炎症动物模型，观察喹啉酸水溶液的抗炎作用。结果证实：喹啉酸对炎症过程中出现的渗出、肿胀、白细胞聚集和增多等均具有抑制作用，说明该物质具有良好的抗炎作用，能抑制炎症急性期白细胞游走和亚急性期成纤维细胞增生，减轻炎症反应的发生程度。同时，喹啉酸还具有一定的免疫抑制作用。但其抗炎作用是否与免疫抑制作用有关，尚需进一步研究。

因此，我们认为外源性给予的喹啉酸在炎症情况下能够起到一定的机体保护作用，但内源性产生的喹啉酸是否作为抗炎物质起作用尚待证实。

参 考 文 献

[1] Mackay GM, Forrest CM, Stoy N, et al. Tryptophan metabolism and oxidative stress in patients with chronic brain injury [J]. Eur J Neurol, 2006; 13(1): 30-42.

[2] Heyliger SO, Mazzio EA, Soliman KF. The anti-inflammatory effects of quinolinic acid in the rat[J]. Life Sci, 1999; 64(14): 1177-1187.

[3] 徐淑云，卞如谦，陈修. 药理实验方法学[M]. 北京：人民卫生出版社，1994.715.