DOI:10.16016/j.1000-5404.1988.06.002

地塞米松对中性粒细胞吞噬代谢和cAMP含量的影响

何凤慈 唐汝愚 （药理学教研室）

提 要 Carr致炎的大鼠腹腔注射不同剂量（0.5，1.0，2.0mg/kg）的Dex可使Neu吞噬CL峰值和动力学曲线显著下降（$P<0.05$）。同时，Neu内SOD活性和cAMP含量均显著升高（$P<0.05$）。提示Dex可能是作为一种有效的ODFR清除剂发挥抗炎作用的。

关键词 地塞米松；抗炎剂；炎症；嗜中性细胞；清除剂

地塞米松（Dexamethasone，Dex）抗炎作用的研究甚多，但它对中性粒细胞（Neutrophil，Neu）吞噬代谢时产生的来源于活性氧的自由基（ODFR）的作用文献报导尚不一致，争论颇多。本实验研究Dex对大鼠背部气囊炎中Neu产生的超氧阴离子（O_2^-）吞噬化学发光（CL）和细胞内超氧化物歧化酶（SOD）活性及cAMP水平的影响，并分析了Dex的抗炎作用与抑制Neu吞噬代谢及细胞内cAMP浓度的关系。

材 料

动物

Wistar♂大鼠由本校实验动物所提供。

药品和试剂

角叉菜胶（Carrageenin，Carr）为辽宁药物研究所产品。Dex由卫生部药品检定所提供（药典对照品）。cAMP放免测定盒为上海第二医科大学同位素室产品。SOD（54,000单位/mg）为中国科学院上海生化所试剂厂产品。细胞色素C（Cytochrome C，Cyt C，马心Ⅲ型）为美国BDH产品。酵母多糖（Zymosan）为卫生部上海生物制品研究所产品。黄嘌呤氧化酶（Xanthine Oxidase）为美国Sigma产品。黄嘌呤（Xanthine）为上海试剂厂产品。3－氨基苯二甲酰肼（Luminol）为英国Aldrich产品。

方 法 与 结 果

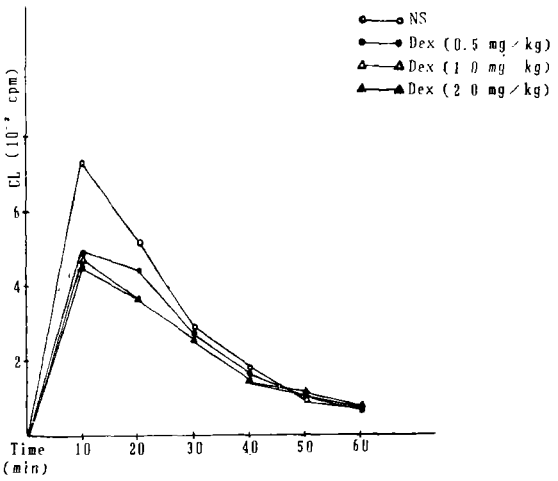
1．Neu的制备[1]

Wistar♂大鼠32只，体重178±SD28g，乙醚轻度吸入麻醉后，向背部正中皮下注射空气10ml形成气囊，第3天补充空气10ml，第6天腹腔注射Dex（0.5，1.0，2.0mg/kg），30min后气囊内注射Carr致炎，6h后腹腔注射戊巴比妥钠25mg/kg麻醉，气囊内注射无钙镁Hank's平衡盐液（HBSS）10ml灌洗，吸出灌洗液置已硅化的试管中（分别经瑞氏染色和苔芬兰染色证实Neu占98%，活细胞占95%以上）。经1800×g离心10min，用HBSS洗2次，调整细胞数后备作进一步实验。

2．Neu吞噬CL

Neu（5×10^6细胞/ml）100μl加于0.8ml 1μmol/L Luminol溶液（用二甲亚砜配成1 mmol/L贮备液，再用HBSS稀释而成），37℃孵育30min，加入已用同种血清调理过的酵母多糖（SOZ）0.1ml，记录时间，经双层瓶保温，用液体闪烁计数器（FJ 2101型）测定10s，并测定不同时间CL，绘制动力学曲线[2]。Neu吞噬SOZ后10minCL最强，尔后逐渐下降。Dex明显抑制Neu CL，使其峰值显著降低（$P<0.05$），并使动力学曲线相应下移（见附图、表）。

附图



?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3. O_2^-生成

Neu（5×10⁶细胞/ml）0.2ml加入0.3ml HBSS中，37℃孵育3 min后加入Cyt C（2.5mg/ml）0.4ml和SOZ 100μl〔对照管中加入SOD 30μl（1 mg/ml）〕，振荡孵育15min后按Cyt C还原法[3]测定、计算Cyt C还原量，结果以nmol Cyt C还原/10⁶细胞/15min表示。与生理盐水对照组比较，不同剂量的Dex（0.5，1.0，2.0mg/kg）均可抑制Neu O_2^-生成（$P<0.05$）（见附表）。

4. Neu内SOD活性

Neu（5×10⁶细胞/ml）经超声细菌粉碎器（UR-200P）60W粉碎30s后，经1800×g离心15min，取上清液按Lowry法进行蛋白定量，并按CL法[4]采用pH10.2碳酸盐缓冲体系（含0.1mmol/L EDTA），用液体闪烁计数器测定10s，计算发光抑制率和SOD比活性（单位/mg蛋白）。不同剂量的Dex均可使Neu内SOD活性显著升高（$P<0.05$）（见附表）。

附表　地塞米松对中性粒细胞吞噬CL峰值、O_2^-生成和细胞内SOD活性及cAMP浓度的影响（$\bar{X}\pm SD$，n=8）

组别	剂量 (mg/kg)	O_2^- (nmo/10⁶ cell/15min)	SOD (unit/mg protein)	CL峰值 (10³ cpm)	cAMP (pmol/10⁶ cell)
生理盐水	—	11.1±2.7	12.5±3.2	7.3±4.3	0.6±0.1
地塞米松	0.5	7.8±2.3*	14.5±2.4*	4.7±0.9*	0.9±0.2**
地塞米松	1.0	6.1±2.3*	16.1±0.7*	4.6±1.6*	0.8±0.2*
地塞米松	2.0	7.8±2.5*	15.5±1.6*	4.6±1.5*	0.8±0.2*

与对照组比较　*$P<0.05$，　**$P<0.01$。

5. Neu内cAMP水平

用10%三氯醋酸将Neu悬液调整至5×10⁶细胞/ml，置-25℃ 6～8 h后，融冻用饱和水乙醚提取3次，离心（1800×g，15min）后按10⁶细胞/管分样，真空干燥，按RIA[5]测定cAMP含量，Dex组Neu内cAMP水平显著升高（$P<0.05$）（见附表）。

讨　论

在炎症反应过程中Neu呼吸急增（Respiratory burst）和花生四烯酸代谢，尤其是脂氧酶途径均可产生ODFR，加重组织损伤。Dex诱导合成磷脂酶A_2抑制蛋白脂皮素，抑制PGs和LTs的生成，因而抑制ODFR生成。Niwa[6]等证明Neu使不依赖Luminol增强、放大的Neu吞噬CL增强，而Dieter[7]等报导Dex仅能抑制PGE的生成，不能抑制O_2^-的生成。还有文献报导糖皮质激素半体内（ex vivo）给药抑制类风湿性关节炎病人单核细胞O_2^-生成，而体外（in vitro）则无直接影响。本实验结果表明，腹腔注射不同剂量的Dex可使SOZ刺激Neu O_2^-生成和CL峰值及动力学明显抑制。另外，Dex抑制O_2^-生成的同时，还可升高Neu内SOD活性。提示Dex清除ODFR的作用在某种程度上是通过诱导内源性SOD合成而实现的，在某种意义上是一种有效的ODFR清除剂。

cAMP对PGs等炎症介质的合成具有重要的负反馈调节作用。外源性cAMP类似物（如dcAMP）或经PGE刺激腺苷酸环化酶及茶碱抑制磷酸二脂酶均可抑制Neu O_2^-，间接地证明了cAMP介导ODFR清除作用[8]。本实验结果也表明Dex除具有抑制O_2^-生成和CL外，还可使Neu内cAMP水平显著升高，这可能是Dex抗炎作用的机理之一。

参考文献

1. Edwards JCW, et al. The formation of structure with the features of synovial lining by subcutaneous injection of air: An in vivo tissue culture system. J Pathol 1981; 134: 147

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2. 董元林，等。白细胞化学发光的微量全血恒温测定法。 中华微生物和免疫学杂志 1986；6：144
3. Zimmerman CA, et al. Functional and matabolic activity of granulocytes from patients with adult respiratory distress syndrome. Am Rev Respir Dis 1983; 127:290
4. 李益新，等。超氧化物歧化酶活力测定的新方法—化学发光法。生物化学与生物物理进展 1983；2：59
5. 张象贤，等。血小板环磷酸鸟苷的放射免疫分析法。中华核医学杂志 1983；3：94
6. Niwa Y, et al. Luminol—indenpendent chemiluminescence by phagocytes is markedly enhanced by dexamethasone, not by other glucorticosteroids. Inflammation 1987; 11:163
7. Dieter P, et al. Differential inhibition of prostaglandin and superoxide production by dexamethasone in primary cultures of rat Kupffer cells. Eur J Biochem 1986; 159:451
8. Lin LK, et al. Reactive oxygen production, arachidonic acid metabolism and cyclic AMP in macrophages. Biochem Biophys Res Commun 1983; 114:549

（收稿：1988.5.21；修回：1988.9.15）

Effects of Dexamethasone on Neutrophil Phagocytic Metabolism and cAMP Concentration

He Fengchi and Tong Ruyu (Department of Pharmacology, Third Military Medical College)

Dexamethasone(Dex) was injected with 3 doses(0.5, 1.0, 2.0mg/kg) into the carrageenan-induced inflamed peritoneal cavity of rats. It was found that the peak and kinetics of neutrophil (Neu) phagocytic chemoluminescence were depressed, the superoxide anion production was reduced ($P<0.05$); both superoxide dismutase activity and adenosine cyclic monophosphate (cAMP) concentration in Neu increased significantly ($P<0.05$ respectively). The results indicate that Dex probably is a free radical scavenger as an anti-inflammatory agent.

Key words: Dexamethasone; Anti-inflammatory agents; Inflammation; Neutrophils; Scavenger

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net