DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.01.003

消炎痛和苯丙酸衍生物对小白鼠腹腔白细胞数量、巨噬细胞吞噬功能及细胞内cAMP含量的影响

唐汝愚 姚丹帆 何凤慈 刘仪侠 李淑惠

（药理学教研室）

提 要

本实验研究了消炎痛、芬布芬、酮布洛芬、萘普生及地塞米松对小白鼠腹腔渗出液白细胞数量和巨噬细胞吞噬功能的影响。在治疗剂量下，消炎痛和酮布洛芬均使渗出液中白细胞数量显著地减少（$P<0.01$）；芬布芬和萘普生虽有减少，但无统计学意义；地塞米松亦有效地使白细胞减少（$P<0.05$）。所试药物均显著地抑制巨噬细胞的吞噬功能，降低吞噬率（$P<0.01$）和吞噬指数（$P<0.01$）。此外还用放射免疫测定法测定了细胞内cAMP含量的变化，芬布芬和酮布洛芬显著地增加细胞内cAMP含量（$P<0.05$）。这提示其抗炎作用可能部分通过细胞内cAMP含量的升高而介导的。

近十年来，采用的新非类固醇抗炎药（NSAID）主要有两类[1]：吲哚类的代表药物为消炎痛，苯丙酸衍生物包括芬布芬(Fenbufen)、酮布洛芬(Ketoprofen)及萘普生(Naproxen)等。本实验试验这些药物对白细胞数量和巨噬细胞吞噬功能的影响，也是研究其抗炎作用的一个重要方面；并测定细胞内cAMP含量的变化，以阐明其部分作用机理。

材料与方法

药品和试剂：芬布芬、酮布洛芬、消炎痛均由西南合成制药厂提供。萘普生由广州第八制药厂提供。地塞米松磷酸钠注射液市售（广州天心制药厂，批号830907）。蛋白胨市售（上海东海制药厂，生化试剂）。cAMP放免分析盒由上海第二医学院同位素室供应。灭活金葡菌的制备：取金黄色葡萄球菌菌落置于pH7.4 PBS液中，经100℃水浴30分钟灭活，离心去上清液，用PBS配成菌悬液，用72型分光光度计选波长为600μm，D=0.2比浊，分装备用。用前再用PBS稀释5倍。

方法：健康昆明株小白鼠雌雄各半，随机分组。连续灌胃给药5天，第三天腹腔注射5%灭菌蛋白胨液2ml，48小时后脱颈椎处死。参照常规方法[2]用显微镜作渗出液细胞计数。离心（1000转/分，10分钟）取沉淀细胞，加入灭活金葡菌液和小牛血清各0.1ml，置37℃孵育30分钟后推片、瑞氏染色，计数巨噬细胞吞噬率和吞噬指数。（每鼠二片，取其均值）。

按Sni Jing等提取cAMP的方法[3]略加修改，制备细胞悬液（2×10^6/ml）。采用放免分析法（cAMP RIA）[4]测定巨噬细胞内cAMP的含量，并计算出pmol/10^6细胞的含量。

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

结　果

一、对白细胞数量的影响：

空白组在用5％蛋白胨2ml 48小时后腹腔渗出液中白细胞总数平均为5000/mm^3左右，其中主要是单核细胞，约占73％。与空白组比较生理盐水组白细胞数量减少不显著；用药组在治疗剂量下，地塞米松组白细胞数量减少显著（$P<0.05$），消炎痛和酮布洛芬组减少非常显著（$P<0.01$），而芬布芬组和萘普生组虽有减少但无统计学意义（$P>0.05$）。（详见表1）。

二、对腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响：

结果表明地塞米松、消炎痛、芬布芬、萘普生、酮布洛芬均使腹腔巨噬细胞吞噬功能（吞噬率和吞噬指数）明显降低，与空白组比较相差非常显著（$P<0.01$）。（详见表2）。

三、对细胞内cAMP含量的影响：

表1　几种NSAIDs对白细胞数量的影响（$\bar{X}\pm SD$）

药　物	剂　量 (mg/kg/日)	动物数	白细胞总数 (千/mm^3)	白细胞分类（％） 单核	淋巴	中性
空白组		10	5.16±1.20	73.5±4.7	22.2±7.4	3.8±1.6
生理盐水	等容量	10	4.25±0.59	73.5±3.7	22.2±4.1	4.3±1.4
地塞米松	0.05	10	4.19±0.14*	77.2±2.2	19.5±1.8	3.3±1.7
消炎痛	5.0	10	3.84±0.41**	76.8±7.5	19.1±6.3	4.3±2.9
酮布洛芬	50	10	3.41±0.72**	71.4±4.7	25.6±5.6	4.2±1.0
芬布芬	100	10	4.65±0.49	74.2±4.6	21.6±4.6	4.2±2.3
萘普生	100	10	4.56±1.77	79.2±5.5	18.2±4.0	3.7±1.3

** 与空白组比较$P<0.01$，* $P<0.05$

表2　几种NSAIDs对巨噬细胞吞噬功能的影响（$\bar{X}\pm SD$）

药　物	剂　量 (mg/kg/日)	动物数	吞噬率（％）	吞噬指数
空白组		10	29.8±4.94	0.407±0.09
生理盐水	等容量	10	29.2±4.83	0.38±0.11
地塞米松	0.05	10	19.7±2.41**	0.24±0.04**
消炎痛	5.0	10	17.7±2.53**	0.22±0.04**
酮布洛芬	50	10	16.2±2.37**	0.25±0.14**
芬布芬	100	10	22.2±4.39**	0.27±0.04**
萘普生	100	10	17.5±2.95**	0.22±0.05**

** 与空白组比较$P<0.01$

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

实验证明在一般治疗剂量下，几种抗炎药均可提高腹腔巨噬细胞内cAMP的水平，但程度各不相同。芬布芬和酮布洛芬提高cAMP水平十分显著（分别为$P<0.01$和$P<0.05$），地塞米松、消炎痛和萘普生亦使cAMP含量增加，但无统计学意义($P>0.05$)（详见表3）。

表3　几种NSAIDs对巨噬细胞内cAMP含量的影响（$\bar{X}\pm SD$）

药　物	剂　量 (mg/kg/日)	动物数	cAMP含量 (pmol/10^6细胞)
空白组		8	0.553±0.239
生理盐水	等容量	8	0.789±0.298
地塞米松	0.05	10	0.604±0.346
消炎痛	5.0	10	0.967±0.724
酮布洛芬	50	10	1.25±0.71 *
芬布芬	100	10	1.136±0.43 **
萘普生	100	10	0.854±0.786

**与空白组比较$P<0.01$，*$P<0.05$

论　讨

白细胞具有明显的趋化性，能通过变形运动穿出血管进入组织间隙。本实验用蛋白胨诱发白细胞游走到腹腔内，以单核细胞数量最多，占70%以上，与Grroud等[5]用角叉菜胶引起的胸膜炎渗出液单核细胞的数量基本一致。

NSAIDs抑制白细胞游走的机制很复杂，一般认为主要是由于抑制花生四烯酸代谢产物的生成。当小剂量选择性地抑制环氧酶时，脂氧酶产物则增多，特别是白三烯B_4，激发趋化性的作用比PG强，反而增加白细胞游走。本实验采用的消炎痛和酮布洛芬的剂量较大，可能是足以非特异性地阻止脂氧酶产物的生成，抑制白细胞游走[2][6][7][8]。

NSAIDs的作用机理除抑制PG合成外，还可能作用于腺苷酸环化酶系统，抑制磷酸二酯酶使细胞内cAMP含量升高[1]。已经证明，cAMP可使膜稳定，包括多形核白细胞和巨噬细胞内溶酶体膜，而防止酶的释放，抑制吞噬功能，降低白细胞的活动性。Deporter等报道，用焦磷酸盐结晶注射入大鼠胸膜腔引起的炎症中，消炎痛、地塞米松和秋水仙碱均能使白细胞内的cAMP水平显著升高[11]。本实验结果只表明芬布芬和酮布洛芬使细胞内cAMP含量显著增加。

参考文献

1. Lee S Simon, et al: Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs. N Engl J Med 1980;302, 1179

2. 周金黄主编：药理学进展（抗炎免疫药理分册）.《抗炎药筛选规程（试用稿）》，人民卫生出版社，1982，p176

3. Sni Jing, et al: Hog Lymphocyte E Rosette Formation and Its Effect on Changes in Endogenous Lymphocyte cAMP Levels. Chinese Medical J 1980; 93(10):709

4. cAMP放射免疫测定盒使用说明书 1984

5. Willoughgy DA, et al: Inflammation: Mechnism and Treatment. International Medical Publishers 1982, p335

6. Ferreira SH, et al:Inflammation and Anti-inflammatory Therapy (Katonag, Blengis JR, Eds) 1974, p133

7. Goodman and Gilman: The Pharmarcological Basis of Therapeutics. Drug Therapy of Inflammation. 1980, 6th ed, Macmillan Publishing Co. New York, p.684

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

8. Abruzzo JL: New Anti-inflammation Drugs. Ann Intern Med 1978; 89,131

9. Smith MJH: Aspirin and Prostaglandins. Some recent development of agent actions, 1978; 427

10. Weiss B, et al: Selective Cyclic Nucleotide Phosphodiesterase Inhibitors as Potential Therapeutic Agents. Annu Rev Pharmacol Toxical 1977; 17,441

11. Deporter DA, et al: cAMP and the Mechanism of Action of Three Common Anti-inflammatory Drugs. Br J Pharmac 1979; 65,163

Effects of Indomethacin & Phenylpropionates on Quantity of Leucocytes, Phagocytosis of Macrophages & Intracellular cAMP Level in Mouse Peritoneal Exudate

Tang Ruyu et al

(Department of Pharmacology, Third Military Medical College)

This paper is to report our study on the effects of indomethacin, fenbufen, keto profen, naproxen and dexamethasone on the number of leucocytes, the phagocytosis of macrophages and the intracellucar cAMP level in the peptone induced peritoneal exudate of mouse and on the comparison of thses drugs with dexamethasone.

Under therapeutic dosage, indomethacin and ketoprofen could significantly decrease the number of leucocytes in the exudate ($P<0.01$), but the effects of fenbufen and naproxen were of no statistical significance. Dexamethasone was also effective to reduce the leucocyte number ($P<0.05$). The four NSAIDs tested and dexamethasone all could inhibit both the percentage and index of the macrophage phagocytosis in the exudate ($P<0.01$). The changes of cAMP in leucocytes were estimated with RIA. It was found that the intracellular cAMP level could be markedly increased by fenbufen ($P<0.01$) and ketoprofen ($P<0.05$). It seems that the anti-inflammatory effects of these drugs may be mediated partly through the elevated content of cAMP in leucocytes.

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