

# 吲哚美辛栓对急性胰腺炎大鼠促炎和抗炎因子的影响

李 荣<sup>1,2</sup> 韩 真<sup>2</sup> 刘少锋<sup>2</sup> 王运东<sup>2</sup> 汪润芝<sup>2</sup> 何池义<sup>2</sup> 袁鹤鸣<sup>2</sup>

( 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 1. 健康服务中心; 2. 消化内科, 安徽 芜湖 241001)

**【摘要】**目的: 探讨非甾体类非特异性抗炎药吲哚美辛栓对急性胰腺炎大鼠、促抗炎因子的影响及其可能的机制。方法: 48 只雄性 SD 大鼠随机分为急性胰腺炎组、吲哚美辛治疗组和假手术组 3 组。各组于术后 6 h、24 h 两个时间点分批处死大鼠, 检测血清淀粉酶( AMS)、血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-4、IL-10 水平, 观察胰腺标本的大体改变并取胰腺组织经 HE 染色, 采用改良 Schmidt 病理学评分。结果: 吲哚美辛治疗组在血清淀粉酶、胰腺病理评分及促抗炎因子水平方面均较急性胰腺炎组明显改善, 差异具有统计学意义。结论: 吲哚美辛通过调节促炎和抗炎因子的水平, 从而改善胰腺组织炎症反应程度, 在调节免疫平衡方面起了一定的作用。

**【关键词】**急性胰腺炎; 吲哚美辛; 炎症因子

**【中图分类号】**R 576 **【文献标识码】**A

**【DOI】**10. 3969/j. issn. 1002-0217. 2015. 06. 005

## Effects of indomethacin on inflammatory and anti-inflammatory cytokines in rats of acute pancreatitis

LI Rong HAN Zhen LIU Shaofeng WANG Yundong WANG Runzhi HE Chiyi YUAN Heming

Department of Gastroenterology, The first Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

**【Abstract】Objective:** To investigate the effects of indomethacin on the inflammatory and anti-inflammatory cytokines modulation in rats of acute pancreatitis and the potential mechanism of such nonsteroidal anti-inflammatory drugs. **Methods:** Forty-eight male SD rats were randomized into groups of acute pancreatitis( group AP), indomethacin therapy( group IN) and sham operation( group OP). Animals in the three groups were sacrificed respectively at 6 h and 24 h after treatment for determination of serum-amylase( AMS) level. Enzyme-linked immunosorbent assay( ELISA) technique was used to detect the blood levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4 and IL-10. Pathological changes in the pancreas were observed and examined by light microscopy together with modified Schmidt scoring. **Results:** Compared with the other two groups, indexes including blood serum-amylase levels, pathological scores and the blood levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-4 and IL-10, were significantly improved in group IN, and the difference was statistically significant. **Conclusion:** Indometacin may improve the inflammation of pancreas through modulating the serum levels of both inflammatory and anti-inflammatory factors in rats with acute pancreatitis, which suggests that this nonsteroid can function in boosting the immune balance.

**【Key words】** acute pancreatitis; indomethacin; cytokine

急性胰腺炎( acute pancreatitis, AP) 并发多系统器官功能衰竭是其主要死亡原因。促抗炎因子平衡学说认为, 当受到炎症创伤等刺激时, 机体通过大量释放炎症细胞因子启动保护机制, 易出现全身炎症反应综合征( systemic inflammatory response syndrome, SIRS), 继而导致代偿性抗炎反应综合征( compensatory anti-inflammatory responsesyndrome, CARS), 同时伴有内源性抗炎因子过度释放, 使机体出现免疫失衡<sup>[1]</sup>。因此, 如何在发病早期阻断炎症级联反应, 促进促抗炎因子的免疫平衡是防止病情恶化和降低病死率的关键。通过动物实验, 我们发

现吲哚美辛栓对急性胰腺炎大鼠血中炎症细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 和抗炎症细胞因子 IL-4、IL-10 等不同程度的影响, 且对胰腺炎病情有改善作用。

### 1 材料和方法

1.1 动物模型和实验分组 健康雄性 SD 大鼠 48 只, 清洁级, 体质量 200 ~ 250 g, 购自浙江省动物实验中心, 许可证号 sudaF( k7) 120080033。按体质量轻重编号, 随机( 抽签法) 分为急性胰腺炎( AP) 组、吲哚美辛( IN) 组和假手术( SO) 组, 每组又分术后

收稿日期: 2015-06-01

作者简介: 李 荣( 1979-), 女, 住院医师, 硕士( 电话) 0553-5739236 ( 电子信箱) whlr2316@163.com;

韩 真, 男, 主任医师, 副教授, 硕士生导师( 电子信箱) hanzhen1028@hotmail.com, 通讯作者。

6 h、24 h 2 个时间点,各 8 只。AP 组模型制作参照传统的 Aho 等<sup>[2]</sup>介绍的方法;IN 组:造模同 AP 组,仅在手术结束时予以吲哚美辛栓 15 mg/kg 纳肛;SO 组:开腹后,翻动十二指肠及胰腺组织数次,不对十二指肠乳头逆行插管,其余均同 AP 组。

1.2 胰腺组织病理学检测 SAP 病变程度评定:由病理科两位医生在光学显微镜下对胰腺组织病理双盲评分,并参照改良 Schmidt 评分标准对胰腺组织损伤进行定量评估。

1.3 血清淀粉酶测定 将肝素钠抗凝管内 1 mL 血清 3000 r/min,离心 10 min,取上清液置于 -80℃ 冰箱保存待检,采用酶法(麦芽 6 糖)检测血清淀粉酶。

1.4 血浆 TNF-α、IL-6、IL-4、IL-10 检测 采用 ELISA 法。

1.5 统计分析 应用 SPSS 18.0 统计软件进行统计分析,实验数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,计量资料均数间比较采用单因素方差分析(ANOVA),两两比较采用 *q* 检验,以  $P < 0.05$  为统计学意义。

## 2 结果

2.1 胰腺组织病理学改变 SO 组可见胰腺组织轻度充血水肿,未见坏死及皂化斑,腹腔无积液,AP 组叶间隙及腺泡间隔显著扩张,原有分叶结构模糊消失,腺泡结构破坏,大量中性粒细胞和单核细胞浸润,局部血管壁坏死、破溃,红细胞进入胰腺组织,可见面积不等的腺细胞坏死。IN 组炎症细胞较 SO 组增多,叶间隙增宽,见胰腺组织充血,水肿,有少量局灶性腺泡坏死,程度较 AP 组减轻(见图 1、2)。

2.2 血清淀粉酶检测 各组血清淀粉酶测定数据满足方差齐性,故采用单因素方差分析,组间比较采用 SNK 和 LSD,结果显示,AP 组和 IN 组血清 AMS

值较 SO 组显著升高( $P < 0.01$ ),AP 组较 IN 组血清 AMS 值明显升高( $P < 0.05$ ),SO 组和 IN 组不同时段血清 AMS 不存在差异( $P > 0.05$ ),AP 24 h 较 AP 6 h 血清 AMS 值明显升高( $P < 0.01$ ),见表 1。

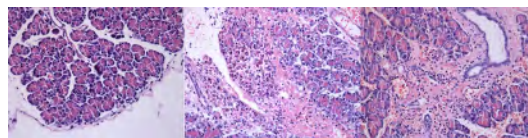


图 1 胰腺组织 6 h 病理改变(HE ×400)

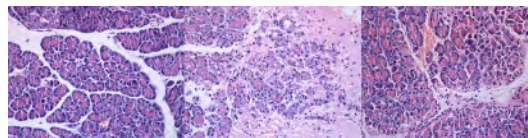


图 2 胰腺组织 24 h 病理改变(HE ×400)

表 1 不同时段血清淀粉酶水平的比较( $\bar{x} \pm s$ , U/L)

组别	6 h	24 h	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
SO 组	679.88 ± 176.09 <sup>a</sup>	509.88 ± 131.64 <sup>a</sup>	2.187	0.046
AP 组	5516.62 ± 1254.90 <sup>b</sup>	7599.00 ± 1312.30 <sup>b</sup>	3.244	0.006
IN 组	3592.50 ± 1266.83 <sup>c</sup>	4543.25 ± 1289.46 <sup>c</sup>	1.488	0.159
<i>F</i> 值	44.327	89.192		
<i>P</i> 值	<0.01	<0.01		

注:各时间段,不同组间两两比较采用 *q* 检验,两组间字母不同表示  $P < 0.05$

2.3 血清 TNF-α、IL-6、IL-4、IL-10 检测 各组血清细胞因子测定数据满足方差齐性,故采用单因素方差分析,组间比较采用 SNK 和 LSD,结果显示,TNF-α、IL-6 值 AP 组和 IN 组血清较 SO 组显著升高( $P < 0.05$ ),且 AP 组较 IN 组升高明显( $P < 0.05$ ),而 IL-4、IL-10 值 AP 组和 IN 组较 SO 组显著降低( $P < 0.05$ ),且 AP 组较 IN 组降低明显( $P < 0.05$ ),同一细胞因子不同时段比较差异有显著性( $P < 0.05$ ),具体表现为促炎因子 TNF-α、IL-6 值随时间推移呈下降趋势,而抗炎因子 IL-4、IL-10 值随时间推移呈上升趋势(见表 2)。

表 2 大鼠各时段细胞因子水平的比较( $\bar{x} \pm s$ , pg/mL)

组别	TNF-α		IL-6		IL-4		IL-10	
	6 h	24 h	6 h	24 h	6 h	24 h	6 h	24 h
SO 组	151.10 ± 6.77 <sup>a</sup>	131.28 ± 6.72 <sup>a</sup>	95.60 ± 5.10 <sup>a</sup>	79.53 ± 4.25 <sup>a</sup>	38.18 ± 2.11 <sup>a</sup>	48.53 ± 2.82 <sup>a</sup>	32.03 ± 1.44 <sup>a</sup>	36.66 ± 1.47 <sup>a</sup>
AP 组	252.70 ± 26.81 <sup>b</sup>	205.65 ± 5.83 <sup>b</sup>	138.14 ± 18.45 <sup>b</sup>	118.54 ± 6.29 <sup>b</sup>	18.53 ± 2.34 <sup>b</sup>	24.30 ± 3.37 <sup>b</sup>	18.19 ± 0.96 <sup>b</sup>	20.99 ± 1.30 <sup>b</sup>
IN 组	169.03 ± 5.92 <sup>c</sup>	147.25 ± 5.12 <sup>c</sup>	108.34 ± 11.50 <sup>a</sup>	89.32 ± 6.42 <sup>c</sup>	30.37 ± 4.68 <sup>c</sup>	39.76 ± 6.85 <sup>c</sup>	25.62 ± 3.55 <sup>c</sup>	30.50 ± 4.11 <sup>c</sup>
<i>F</i> 值	88.257	349.084	22.932	99.934	73.720	54.527	73.795	71.964
<i>P</i> 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注:各时间段,不同组间两两比较采用 *q* 检验,两组间字母不同表示  $P < 0.05$

## 3 讨论

目前认为炎症细胞过度活化及炎症介质细胞因

子的失控性释放在急性胰腺炎的发展进程中是个至关重要的因素,是导致胰腺持续坏死和多脏器功能

衰竭( multiple organ dysfunction syndrome ,MODS) 的重要机制之一<sup>[3]</sup>。

急性胰腺炎时 ,各种炎症细胞遭到异常激活 释放大量的细胞因子和炎症介质 ,促使瀑布样级联反应的发生 ,促炎细胞因子如 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-8 等过量释放 导致 SIRS 的发生。但单核巨噬细胞活化后释放促炎因子的同时也释放如 IL-10、IL-4 等内源性抗炎介质 ,导致 CARS 的发生<sup>[4]</sup>。促炎因子的过度反应及不平衡 ,导致胰腺炎症、甚至胰腺坏死并造成胰外多脏器损伤 ,并诱导新的细胞因子和炎症介质产生 ,循环中出现第二次细胞因子高峰 ,造成恶性循环 ,机体相继发生多脏器功能障碍 ,最终发展成多器官功能衰竭<sup>[5]</sup>。大量动物实验及临床资料表明 ,在急性胰腺炎中血清和细胞内的某些细胞因子( IL-1、IL-6、IL-8 和 TNF- $\alpha$  等) 的浓度均明显升高 ,其浓度与急性胰腺炎的病情严重程度呈正相关; 而阻断炎症介质的作用可降低急性胰腺炎的严重程度并提高治疗效果<sup>[6]</sup>。本实验中急性胰腺炎组动物模型造模后血中的炎症性细胞因子 TNF- $\alpha$  和 IL-6 以及具有免疫抑制效应的炎症性细胞因子 IL-4 和 IL-10 均明显增高 ,证明了在急性胰腺炎病程中的确存在免疫应激和免疫抑制先后并存的双向免疫异常状态。

目前 治疗急性胰腺炎的药物很多 抑制胰酶分泌的药物有生长抑素及其类似物、甲磺酸加贝酯、乌司他丁等。但无论是生长抑素还是加贝酯都存在价格昂贵、需要持续用药等缺点。因此寻找疗效确切、使用方便、价格适宜的药物预防和治疗急性胰腺炎仍是近年研究的热点。

非甾体抗炎药( non steroidal anti-inflammatory drugs ,NSAIDs) 其作用机制为抑制环氧合酶( cyclooxygenase ,COX) ,阻断花生四烯酸转化为前列腺素 ,从而产生解热、镇痛和消炎作用。COX 分为 COX-1 和 COX-2。COX-1 属于管家基因。而 COX-2 则是一种早期炎症阶段较上游的酶类 ,在多种炎症介质、细胞因子和癌基因等的诱导下表达。据此推测抑制 COX-2 的诱导催化作用将会对急性胰腺炎及全身炎症反应的治疗起到积极作用。本研究经过经过吲哚美辛处理的治疗组大鼠在术后 6 h、24 h 血清中促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 较对照组急性胰腺炎组明显降低 ,而抗炎因子 IL-4、IL-10 则较对照组明显增高 ,提示 NSAIDs 在调节免疫、减轻炎症反应方面的作用。

急性胰腺炎患者常有持续的疼痛和发热 ,吲哚

美辛是最强的 PG 合成酶抑制药物之一 ,临床常用于急性胰腺炎时疼痛和发热的对症治疗。从理论上讲 ,NSAIDs 完全可用于急性胰腺炎的治疗。我国邹晓平等进行了一项大样本荟萃分析得出非甾体抗炎药能降低 ERCP 术后胰腺炎的总发病率 ,也能降低中重度 ERCP 术后胰腺炎的发病率; 且非甾体抗炎药没有导致不良反应增加 ,便宜 ,安全 ,给药方式简单。建议内镜医生广泛使用非甾体抗炎药 ,使患者获益<sup>[7]</sup>。此前的研究多认为 NSAIDs 用于预防 ERCP 术后胰腺炎的作用机制主要在于抑制磷脂酶 A2 和抗炎反应 ,因此日本及欧洲内镜协会在 PEP 防治指南中作为一级证据列出<sup>[8-9]</sup>。但吲哚美辛在调控促炎因子方面的作用研究较少 ,本实验结果显示 ,经吲哚美辛预处理的大鼠在胰腺组织病理改变、血清淀粉酶等评价指标上均较对照组明显改善 ,同时两组促炎因子和抗炎因子呈现不同的变化 ,提示 NSAIDs 在调控促炎因子的免疫平衡方面发挥了一定的作用 ,但其作用机制仍有待进一步实验证实。

【参考文献】

- [1] 赵玉沛 朱预 张圣道. 胰腺病学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2007: 712 - 727.
- [2] Aho HJ ,Koskensalo SM ,Nevalainen TJ. Experimental pancreatitis in the rat. Sodium taurocholate-induced acute haemorrhagic pancreatitis [J]. Scand J gastroenterol ,1980 ,15( 4) : 411 - 416.
- [3] 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南 [J]. 中华消化杂志 2013 33: 217 - 222.
- [4] Mayerle J ,Dummer A ,Sendler M *et al.* Differential roles of inflammatory cells in pancreatitis [J]. J Gastroenterol Hepatol ,2012 ,27 Suppl 2: 47 - 51.
- [5] Gregoric P ,Sijacki A ,Stankovic S *et al.* SIRS score on admission and initial concentration of IL-6 as severe acute pancreatitis outcome predictors [J]. Hepatogastroenterology 2010 57( 98) : 349 - 353.
- [6] Gunjagal. Circulating cytokine levels in acute pancreatitis-model of SIRS/CARS can help in the clinical assessment of disease severity [J]. Inflammation 2012 35( 2) : 758 - 763.
- [7] Ding Xiwei ,Chen Min ,Huang Shuling *et al.* Nonsteroidal anti-inflammatory drugs for prevention of post-ERCP pancreatitis a meta-analysis [J]. Gastrointestinal endoscopy 2012 76: 1152 - 1159.
- [8] Shinju Arata ,Tadahiro Takada ,Koichi Hirata. Post-ERCP pancreatitis. JPN Guidelines 2010 [J]. Hepatobiliary Pancreat Sci ,2010 ,17: 70 - 78.
- [9] Dumonceau JM ,Andriulli A ,Deviere J. European Society of Gastrointestinal Endoscopy ( ESGE) Guideline: Prophylaxis of post-ERCP pancreatitis [J]. Endoscopy 2010 42: 503 - 515.